

시판 수산물에서 분리한 *Vibrio parahaemolyticus*와 *Morganella morganii*의 항균제 내성과 내성 전이

이예지 · 김은희[†]

전남대학교 수산생명의학과

Antimicrobial resistance and resistance transfer of *Vibrio parahaemolyticus* and *Morganella morganii* from commercial fisheries products

Ye Ji Lee and Eunheui Kim[†]

Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 59626, Korea

The purpose of this study was to investigate the antimicrobial resistance and resistance transfer of *Vibrio parahaemolyticus* and *Morganella morganii* isolated from fish products purchased from fish markets in Yeosu April - December 2017. These bacteria were identified by biochemical test and PCR results, and the transfer of antimicrobial resistance was confirmed by the broth mating method. To isolate the transconjugants formed during conjugation, TSA medium containing 50 µg/ml of ampicillin (AMP), and 150 µg/ml of streptomycin (SM) or 30 µg/ml of oxytetracycline (OT) was used. *M. morganii* isolates showed low susceptibility to AMP, amoxicillin (AML), and colistin (CT), erythromycin, OT, and tetracycline, compared to *V. parahaemolyticus* resistance to AMP, AML, and CT. The conjugation of *V. parahaemolyticus* or *M. morganii* with *Escherichia coli* resulted in the separation of *V. parahaemolyticus* and *M. morganii* showing SM resistance as transconjugants. Meanwhile, *Edwardsiella tarda* transconjugants showing AMP and AML resistance were obtained from the broth mating of *V. parahaemolyticus* and *E. tarda*. But the transfer of the VPA0477 which is a β-lactamase gene of *V. parahaemolyticus* was not confirmed. These results suggest that resistance transfer between pathogenic bacteria is bidirectional and progresses in a wide variety of patterns.

Key words: *V. parahaemolyticus*, *M. morganii*, Antimicrobial resistance, Resistance transfer

우리나라는 일본, 중국과 더불어 세계적으로 1인당 수산물 소비량이 많은 국가 중의 하나이다. 한국농촌경제연구원의 식품수급 조사결과에 따르면, 국민 1인 1일당 수산물공급량은 2000년 84.06 g에서 2016년 105.9 g으로 2000년 대비 약 26% 증

가한 것으로 나타났다 (KREI, 2017). 수산물의 소비량이 증가하고 영양원으로서 중요성이 커짐에 따라 수산 식품의 위생문제 또한 점점 중요해지고 있다. *Vibrio parahaemolyticus*는 오염된 수산물의 섭취로 인해 사람에게 식중독을 일으킬 수 있고, *Morganella morganii*는 히스타민을 생성함으로써 인체에 알레르기 반응을 유발하는 세균으로 알려져 있다. 특히 고등어 과 어류에 많이 함유되어 있

[†]Corresponding author: Eunheui Kim
Tel: +82-61-659-7171, Fax: +82-61-659-7179
E-mail: ehkim@jnu.ac.kr

는 histidine은 histidine decarboxylase (HDC)에 의해 히스타민으로 전환되며 히스타민이 다량 함유되어 있는 어패류를 섭취할 경우 histamine poisoning으로 두드러기, 두통 등의 증상이 나타나는 경우가 많으며, 요로감염 및 폐렴, 패혈증, 세균성 복막염과 같은 심각한 질병 또한 일으킬 수 있다 (Taylor, 1986; Isobe *et al.*, 1994).

의학 기술의 발전과 인구증가로 인하여 사람의 약물 의존도가 높아짐에 따라 항균제 내성균의 출현 및 확산이 빨라지고 있다. 이로 인해 세계 각국은 세계보건기구 (WHO)의 내성균대책을 위한 글로벌 행동계획에 적극적으로 협조하고 있다 (Lee and Kim, 2019). 우리나라 또한 임상분야 뿐만 아니라 비 임상분야에서 항균제 내성균 발생상황을 지속적으로 모니터링하면서 적극적 대응에 나서고 있다 (KCDC, 2016). 병원균의 항균제 내성은 유전자 돌연변이나 이동성 인자인 R-plasmid, transposon, integron 등을 매개로 하여 다른 세균으로부터 내성 유전자를 획득하여 발생할 수 있다. 그러므로 비 임상 세균일지라도 다양한 경로를 통해 인체 병원세균으로 내성을 전이시킴으로써 치료에 어려움을 가져올 수도 있다 (Barcelos *et al.*, 2018). 또한 양식 어류의 중요 치료제에 대해 내성을 나타내는 세균들이 수서환경에 출현하여 어류 병원 세균과의 접촉을 통해 내성 전이가 이루어진다면 어류 양식 산업에도 큰 손실을 가져올 수 있다. Liu *et al.* (2013)은 *V. parahaemolyticus*를 공여균으로 하여 전이 실험을 한 결과 quinolone계 내성 유전자와 class I integron이 transconjugant의 plasmid 상에서 발견되었다고 보고한 바 있다.

따라서 본 연구에서는 시판 수산물에서 분리한 *V. parahaemolyticus*와 *M. morgani*가 장내세균인 *Escherichia coli*와 어류병원세균인 *Edwardsiella tarda*간의 항균제 내성의 상호 전이 가능성을 알아봄으로써 항균제 저항성 및 그 전달의 위험성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

사용균주

본 연구에서 사용된 세균은 2017년 4월부터 12

월 사이에 여수의 수산시장에서 구입한 수산물로부터 분리된 *V. parahaemolyticus* 4균주 (Lee and Kim, 2019)와 *M. morgani* 4균주이며 (Table 2), 내성전이 실험을 위해 *E. coli* HB101 (ATCC 33694)와 2002년 완도의 넙치 병어에서 분리하여 본 연구실에서 보관 중인 *E. tarda* 107 균주를 사용하였다. Thiosulfate citrate bile salts sucrose agar (TCBS, BD) 배지를 이용하여 수산물 검체로부터 분리한 청록색 집락들은 생화학적 특성을 분석하여 (Fig. 1) *Vibrio* spp. 와 *Morganella* sp.로 간이 동정하였다 (Shotts, 1991). *V. parahaemolyticus*는 이전 연구에서 동정된 결과 (Lee and Kim, 2019)를 따랐으며,

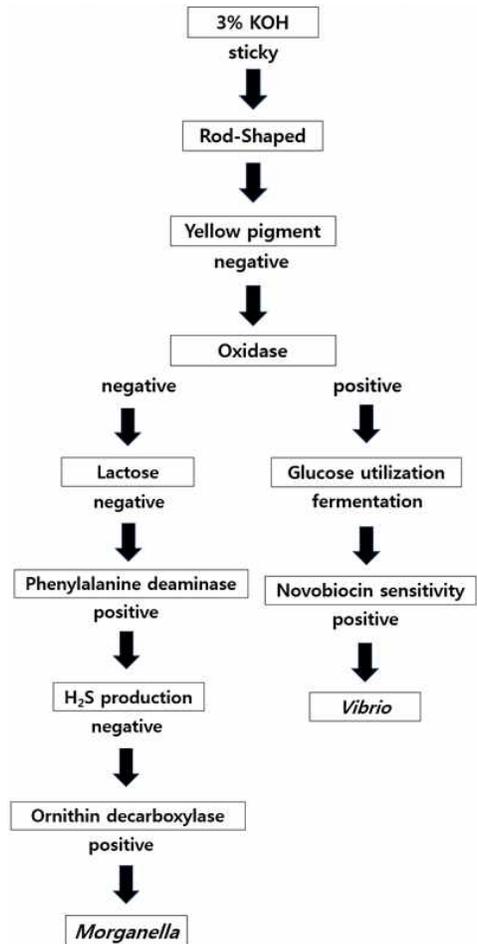


Fig. 1. Flow chart for identification of bacteria isolated from commercial fisheries

*M. morganii*는 HDC 검출용 프라이머 (hdc)로 PCR을 실시하여 (MyGenie96, Bioneer) 709 bp의 band를 확인하여 추가 동정하였다 (Table 1). 결과 비교를 위해 한국미생물보존센터에서 분양받은 *M. morganii* subsp. *morganii* (KCCM 11497)를 표준균주로 사용하였다.

모든 PCR 산물은 1.5~2% agarose gel에서 전기영동하여, 자외선 조사기(UVIVue, UVLtec, UK)로 관찰하였다. 또한 분리균의 16S rRNA gene sequences를 확인하기 위한 universal primer로 PCR을 실시하였으며 (Table 1), 약 1400 bp의 PCR 산물을 정제하여 (AccuPrep, Bioneer) sequencing을 의뢰하였다 (SolGent Co.). 얻어진 염기서열은 NCBI (National center for biotechnology information)의 BLAST search를 통해 상동성을 비교하여 세균을 확정하였다.

항균제 감수성 시험

항균제 감수성 시험은 디스크 확산 법으로 실시

하였다 (NIFS, 2017). 액체배지에서 배양된 세균을 원심분리하여 상층 액을 제거하고 0.85% NaCl 용액으로 McFarland 0.5 (1.5×10^8 CFU/ml)로 조정 한 후 MHA (Muller Hinton agar, BD)에 도말하였다. 15분 이내에 항균제 디스크를 도말평판 위에 고착시켜 35°C에서 24시간 배양한 후 형성된 생장저지대의 직경을 측정하였다. 항균제 감수성은 CLSI (Clinical and laboratory standards institute)의 Enterobacteriaceae와 *Vibrio cholerae* 기준 (CLSI document, 2013)과 비교하여 결정하였다. 항균제는 총 13종으로 의료 관련 감염병 관리에 주요하게 사용되는, ceftazidime (CAZ, Oxoid), cefotaxime (CTX, Oxoid), imipenem (IPM, Oxoid), amoxicillin (AML, Oxoid), ampicillin (AMP, BD), amikacin (AK, Oxoid), gentamycin (CN, Oxoid), colistin (CT, Oxoid), ciprofloxacin (CIP, BD), nalidixic acid (NA, BD)과 어류 양식에서 중요하게 쓰이는 약제, erythromycin (E, BD), oxytetracycline (OT, Oxoid), tetracycline (TE,

Table 1. Primers and PCR conditions for the detection of histidine decarboxylase(HDC) and the identification of various bacteria

Primer ¹⁾	Sequence (5'-3')	Product (about bp)	Reaction	Cycle
hdc-F	TCH ATY ARY AAC TGY GGT GAC TGG RG ²⁾	709	94°C, 3 min	1
			94°C, 1 min	35
hdc-R	CCC ACA KCA TBA RWG GDG TRT GRC C	709	58°C, 1 min	
			72°C, 1 min	
EDt-F	TTC CGC AAC CAT GAT CAA AG ³⁾	278	72°C, 10 min	1
			95°C, 5 min	1
EDt-R	AGG CAT ATA TCC ACT CAC TG	278	95°C, 30 sec	35
			55°C, 30 sec	
fD1	AGA GTT TGA TCC TGG CTA G ⁴⁾	1400	72°C, 30 sec	30
			72°C, 5 min	
rP2	ACG GCT ACC TTG TTA CGA CTT	1400	95°C, 10 min	1
			95°C, 30 sec	30
rP2	ACG GCT ACC TTG TTA CGA CTT	1400	45°C, 30 sec	
			72°C, 30 sec	
			72°C, 10 min	1

¹⁾Detection primers for *M. morganii* (hdc), *E. tarda* (EDt), and universal 16S rRNA gene (fD1 and rP2)

²⁾Takahashi *et al.*, 2003

³⁾Sakai *et al.*, 2009

⁴⁾Weisburg *et al.*, 1991

Table 2. Origin of bacterial isolates used in this study and their identification by analysis of 16S rRNA gene sequence

Identification	Isolate	Origin	Identity (%)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (Lee and Kim, 2019)	SS 15-5	Shrimp	99
	SC 19-5	Sea squirt	99
	MC 23-1	Manila clam	98
	SC 28-5	Sea squirt	98
<i>Morganella morganii</i>	FSF 7-3	Fine spotted flounder	98
	SS 15-31	Shrimp	98
	SS 20-3	Shrimp	98
	SS 24-4	Shrimp	97

BD)을 사용하였다.

내성 전이

1) Conjugation

V. parahaemolyticus, *M. morganii* 분리균주와 *E. coli* HB101 (SM^R, streptomycin resistance)과 *E. tarda* 107 (OT^R, oxytetracycline resistance)균주를 5 ml의 TSB에 각각 접종하여 35°C에서 24시간 전배양한 후 1대 1의 비율로 혼합하여 24시간 동안 정치 배양 하였다. 이후 약제가 함유된 배지에 100 µl씩 도말하여 배양한 후 자라난 집락을 transconjugant로 분리하였다. *E. coli*와의 conjugation으로부터 transconjugants를 분리하기 위해 AMP 50 µg/ml와 streptomycin (SM) 150 µg/ml이 첨가된 TSA배지를 사용하였고, *E. tarda*와의 conjugation에서 생겨난 transconjugants를 분리하기 위해 AMP 50 µg/ml와 OT 30 µg/ml이 첨가된 TSA배지를 사용하였다.

2) 전이 내성 확인

순수 분리된 transconjugants는 TCBS와 SS (*Salmonella-Shigella*)배지에서 나타나는 배양 특성과 PCR 결과로 균을 확인하였다 (Table 1). Transconjugants의 항균제 내성 전이 여부도 디스크 확산법으로 확인하였으며, AMP 내성 정도는 plate dilution 법을 통해 알아보았다. AMP를 농도 200 µg/ml부터 1/2씩 희석한 TSA 배지를 제작하여, 전배양한 시험균액 (McFarland 0.5 농도)을 5 µl씩 접종한 후 35°C에서 24시간 동안 배양하여 균의 성장을 확인하였다.

결과 및 고찰

분리균주의 특성

여수 소재 수산시장에서 구입한 수산물에서 분리된 *M. morganii* (Table 2)의 생화학적 성장과 특이 프라이머를 이용한 PCR 결과는 모두 표준 균주와 일치하였다 (Table 3, Fig. 2). *M. morganii*는 TCBS 배지에서 청색 집락을 형성할 뿐 아니라 생화학적 성장에서 *V. parahaemolyticus*와 많은 공통점을 가지고 있으므로 분리 동정에는 특이 프라이머를 이용한 균주 확인이 반드시 필요해 보였다. *M. morganii*는 균 자체가 인체에 직접 allergy성 식중독을 일으키는 것은 아니나, pH 2의 산성 조건에서 살아남을 수 있으며 (Young *et al.*, 1996), 42°C 환경에서도 성장이 가능하므로 체내로 유입되었을 때 다량의 히스타민 생성 가능성도 있다. 그러

Table 3. Biochemical characters of *Morganella morganii* isolated from commercial fisheries products in Yeosu

	Isolate	<i>Morganella morganii</i>
	3% KOH	Sticky
	Oxidase	-
	O-F test	O/F
	Novobiocin	+
	Phenylalanine deaminase	+
TSI	H ₂ S	-
	K/A	K/A
	Gas	+
LIM	Lysine decarboxylase	-
	Indole	+
	Motility	+
	Ornithin decarboxylase	+

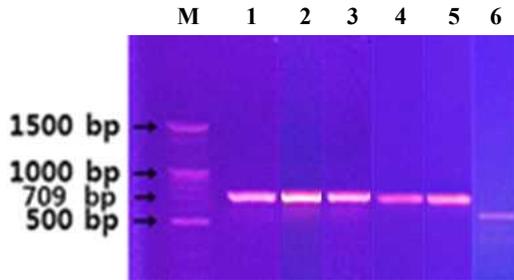


Fig. 2. PCR assay for the detection of histidine decarboxylase (HDC) gene for the identification of *Morganella morganii*. Lanes: M, 100 bp size marker; 1, KCCM 11497 *M. morganii*; 2, FSF 7-3; 3, SS 15-31; 4, SS 20-3; 5, SS 24-4 isolates; 6, *V. parahaemolyticus*.

므로 HDC의 활성 제어를 위한 한약재 및 해조류 추출물의 효과에 관한 연구도 보고된 바 있다 (Jung *et al.*, 2013).

항균제 감수성 패턴

*V. parahaemolyticus*는 균주에 따라 AML, AMP, CT에 낮은 감수성을 보였으나 (Lee and Kim, 2019), *M. morganii*는 균주에 따라 AML, AMP, CT, E, OT, TE에 낮은 감수성을 보였다 (Table 4). 그러나 의료 관련 주요 약품들에 대해서는 높은 감수성

을 나타냄으로써 이들 균은 인체 감염 시 약물에 의한 치료 가능성이 높을 것으로 생각된다. *V. parahaemolyticus*의 AMP 내성은 고도내성으로 빈번히 발생하고 있지만 명확한 발생기전은 알려져 있지 않다. Tetracycline계 약물은 양식 현장에서 널리 사용되고 있는 항균제이나 *V. parahaemolyticus* 분리균주는 모두 OT와 TE에 높은 감수성을 보인 반면, *M. morganii*는 균주에 따라 높은 저항성을 보였다. 이러한 *M. morganii*의 OT 및 TE 저항성은 양식 과정에서 수산약품의 사용 여부와 관련이 있을 것으로 생각되며, 양식어류 병원체의 OT 및 TE 저항성과의 연관성에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다. 또한 시판 수산물에서 *V. parahaemolyticus* 보다 빈번하게 출현하면서 동시에 다양한 약제에 내성을 보인 *M. morganii*의 인체 감염 상황과 인체 유해 세균들의 항균제 내성 유전자 전이에 대한 검토가 필요하다.

내성 전이 특성

*V. parahaemolyticus*와 *M. morganii* 분리균과 *E. coli*와의 conjugation과정을 통해 형성된 transconjugants의 특성을 알아본 결과, 이들은 모두 TCBS에서 청색집락을 형성했으며 검출 kit와 특이 프라이

Table 4. Antimicrobial sensitivities of bacteria isolated from commercial fisheries products

Drug (µg)	Isolate	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ²⁾				<i>Morganella morganii</i>			
		SS15-5	SC19-5	MC23-1	SC28-5	SS15-31	SS20-3	SS24-4	FSF7-3
Ceftazidime (30)		++++ ¹⁾	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Cefotaxime (30)		++++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Imipenem (10)		++++	++++	++++	++++	++	+++	+++	+++
Amoxicillin (10)		+	+	+	+	-	-	-	-
Ampicillin (10)		+	+	+	+	+	-	-	-
Amikacin (30)		++	++	++	++	+++	+++	+++	+++
Gentamycin (10)		++	++	++	++	++	+++	+++	+++
Colistin (10)		+	+	+	-	-	-	-	-
Ciprofloxacin (5)		+++	+++	++++	+++	++++	++++	++++	++++
Nalidixic acid (30)		++++	++++	++++	++++	++++	+++	++++	++++
Erythromycin (15)		++	++	++	++	-	-	-	-
Oxytetracycline (30)		+++	+++	++++	++++	-	-	++++	++++
Tetracycline (30)		+++	+++	++++	++++	-	-	++++	+++

¹⁾Clear zone : -, ≤8mm ; +, 9~≤15 ; ++, 16~≤20 ; +++, 21~≤25 ; +++++, >25

²⁾Reorganization of the contents in Lee and Kim (2019).

머를 이용한 PCR 및 16S rRNA gene sequence분석에서 각각 SM 내성을 획득한 *V. parahaemolyticus* (EcVp)와 *M. morgani* (EcMn)로 확인되었다 (Table 5). 이와 같이 *V. parahaemolyticus*가 SM내성을 획득하게 된 메커니즘에 대해서는 추가 조사가 필요한 부분이다. 한편 *V. parahaemolyticus*와 *M. morgani* 분리균을 *E. tarda*와 conjugation한 결과, *V. parahaemolyticus*와의 conjugation에서는 transconjugant

집락이 (VpEd) 형성되었으나, *M. morgani*에서는 어떤 집락도 형성되지 않았다 (Table 6). *E. tarda*와의 conjugation에서 얻어진 집락은 SS배지에서 검은색으로 성장하였고 특히 primer인 EDtT (Table 1)를 이용한 PCR에서 278bp의 산물을 생성하였으며 16S rRNA gene sequence분석 결과 AMP와 AML 내성을 획득한 *E. tarda*로 확인되었다 (Table 6). 그러나 이들 transconjugant *E. tarda*에서는 *V. para-*

Table 5. Antimicrobial resistance of the bacteria used in broth mating and their transconjugants

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Morganella morgani</i>	Transconjugant ¹⁾	
	HB101	SC28-5	SS20-3	EcVp	EcMn
Ceftazidime					
Cefotaxime					
Imipenem					
Amoxicillin		R	R	R	R
Ampicillin		R	R	R	R
Amikacin				R	R
Gentamycin				R	R
Colistin		R	R	R	R
Ciprofloxacin					
Nalidic acid					
Erythromycin			R		R
Oxytetracycline			R		R
Tetracycline			R		R
Streptomycin (150 µg)	R	S	S	R	R

¹⁾EcVp, *V. parahaemolyticus*; EcMn, *M. morgani*

Table 6. Antimicrobial resistance of the bacteria used in broth mating and their transconjugants

	<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Morganella morgani</i>	Transconjugant ¹⁾	
	107	SC19-5	FSF7-3	VpEd	MnEd/EdMn
Ceftazidime					
Cefotaxime					
Imipenem					
Amoxicillin	S	R	R	R	
Ampicillin	S	R	R	R	
Amikacin					
Gentamycin					none
Colistin	R		R	R	
Ciprofloxacin					
Nalidic acid	R			R	
Erythromycin	R		R	R	
Oxytetracycline	R			R	
Tetracycline	R			R	

¹⁾VpEd and MnEd, *E. tarda* ; EdMn, *M. morgani*

Table 7. Resistance tendencies to various concentrations of ampicillin and PCR results of the bacteria used in broth mating and their transconjugants

		<i>Vibrio parahaemolyticus</i> SC 19-5	<i>Edwardsiella tarda</i> 107	Transconjugant (VpEd= <i>E. tarda</i>)
AMP (µg/ml)	25	+	+	+
	50	+	-	+
	100	+	-	+
	200	+	-	+
VPA0477		+	-	-
PCR with EDtT primer		-	+	+

haemolyticus 분리균주에서 확인된 class A β-lactamase 유전자인 VPA0477 (Park, 2014)은 검출되지 않았다. 따라서 AMP에 대해 고도 내성을 나타내는 *E. tarda*의 AMP 내성이 (Table 7) *V. parahaemolyticus*로부터 전이된 것인지, 교차 내성 또는 변이에 의한 내성 유도인 지는 추가 확인이 필요하다. 한편 어류병원세균인 *E. tarda*로부터 인체 유해균인 *V. parahaemolyticus*와 *M. morganii*로의 내성 전이는 확인되지 않았다.

이와 같은 결과는 내성균의 빠른 출현과 생물위해성 세균들 간의 내성 전달은 양방향성임을 시사한다. 그러므로 다양한 경로를 통해 항균제 내성균이 양식 수산생물 또는 인체에 감염되거나 그 내성을 전달시킬 수 있으므로 항균제 사용 및 내성균 출현에 대한 지속적인 모니터링이 필요하다.

요 약

본 연구에서는 2017년 4월부터 12월 사이에 여수 수산시장에서 구입한 수산물로부터 분리된 *Vibrio parahaemolyticus*와 *Morganella morganii*의 내성특성을 알아보고 장내세균인 *Escherichia coli*와 어류병원균인 *Edwardsiella tarda*와의 내성전이 가능성을 알아보았다. Broth mating 법으로 실시한 conjugation에서 형성된 transconjugants를 분리하기 위하여 ampicillin(AMP) 50 µg/ml와 streptomycin (SM) 150 µg/ml 또는 oxytetracycline(OT) 30 µg/ml이 첨가된 TSA배지를 사용하였다. AMP, amoxicillin (AML), colistin(CT)에 낮은 감수성을 보였던 *V. parahaemolyticus*와 달리 *M. morganii*는 AMP, AML, CT, erythromycin, OT, tetracyclin등에 감수성이 낮

았다. *V. parahaemolyticus*와 *M. morganii*를 *E. coli*와 conjugation을 실시한 결과 transconjugants인 *E. coli*는 분리되지 않은 반면 SM내성을 획득한 *V. parahaemolyticus*와 *M. morganii*가 분리되었다. 한편 *V. parahaemolyticus*와 *E. tarda*의 broth mating에서는 AMP와 AML 내성을 획득한 *E. tarda* transconjugant가 분리되었다. 그러나 *V. parahaemolyticus*의 β-lactamase 유전자인 VPA 0477의 전이는 확인되지 않았으며, *E. tarda*의 내성이 전달된 *V. parahaemolyticus*나 *M. morganii*는 검출되지 않았다. 이와 같은 결과는 생물 위해성 세균들 간의 내성전이 양방향성이며 매우 다양한 패턴으로 진행되고 있음을 시사한다.

본 연구는 유전자재조합실험승인 하에 진행되었다 (전남대학교 제 2018-001호).

References

- Barcelos, D.H.F., Knidel, C. and Fernandes, C.G.L.: Emergence and dispersion of resistance genes by the aquatic environment: a review. *Pollution*, 4:305-315, 2018.
- CLSI : Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI document M100-S23 (M02-A11). CLSI, Wayne, PA. USA. 2013.
- Isobe, H., Motomura, K., Kotou, K., Sakai, H., Satoh, M. and Nawata, H.: Spontaneous bacterial empyema and peritonitis caused by *Morganella morganii*. *J Clin Gastroenterol.*, 18:87-88, 1994.
- Jung, S.A., Kim, D.H., Kim, K.B.W.R., Kim, H.J., Jeong, D.H., Kang, B.K., Bark, S.W., Pak, W.M., Kim, B.R., Byun, M.W. and Ahn, D.H.: Inhibitory effects of his-

- tamine production in mackerel muscle by medicinal herbs and seaweed extracts. J Korean Soc Food Sci Nutr., 42:1263-1269, 2013.
- KCDC (Korea Centers for Disease Control and prevention) : One health collaboration project proposal. http://www.prism.go.kr/homepage/entire/retrieve/EntireDetail.do?research_id=1351000-201700044. 2016.
- KREI(Korea Rural Economic institute): 2016 Food balance sheet. 32: p.19, 2017.
- Lee, Y.J. and Kim, E.: Virulence factors and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from commercial fisheries product. Korean J. Fish Aqua Sci., 52(6). 2019 (in press)
- Liu, M., Wong, M.H.Y., and Chen, S.: Molecular characterization of a multidrug resistance conjugative plasmid from *Vibrio parahaemolyticus*. Int J Microbiol, 42:575-579, 2013.
- National Institute of Fisheries Science(NIFS): Antibiotic resistant bacteria inspection manual (11-1192266-000 195-01). GMK communication, Busan Korea. 34-38. 2017.
- Park, K.S.: Application of the β -lactamase (VPA0477) gene for the detection of *Vibrio parahaemolyticus* by polymerase chain reaction. Kor J Fish Sci., 47:740-744. 2014.
- Sakai, T., Yuasa, K., Sano, M. and Iida, T.: Identification of *Edwardsiella ictaluri* and *E. tarda* by species-specific polymerase chain reaction targeted to the upstream region of the fimbrial gene. J Aquat Anim Health, 21:124-132. 2009.
- Shotts, E.B.: II. Flow chart for the presumptive identification of selected bacteria from fishes. In: Suggested procedures for the detection and identification of certain finfish and shellfish pathogens. Thoesen JC. ed. American Fisheries Society. Bethesda. Maryland. 1-6. 1991.
- Takahashi, H., Kimura, B., Yoshikawa, M. and Fujii, T.: Cloning and sequencing of the histidine decarboxylase genes of Gram-negative, histamine producing and their application in detection and identification of these organisms in fish. Appl Environ Microbiol., 69:2568-2579. 2003.
- Taylor, S.L.: Histamine food poisoning: Toxicology and clinical aspects. Crit Rev Toxicol., 17:91-128, 1986.
- Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A., and Lane, D.J.: 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. J Bacteriol., 173:679-703. 1991.
- Young, G.M., Amid, D. and Miller, V.L.: A bifunctional urease enhances survival of pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Morganella morganii* at low pH. J Bacteriol., 178:6487-6495, 1996.

Manuscript Received : Nov 6, 2019

Accepted : Dec 9, 2019