

제주산 양식넙치(*Paralichthy olivaceus*)로부터 분리된 β - 용혈성 연쇄구균(*β -Streptococcus sp.*)의 특성

허문수 · 송춘복 · 이제희 · 여인규 · 전유진 ·
이정재 · 정상철 · 이기완 · 노섬 · 최광식 · 이영돈*
제주대학교 해양생산과학부, *제주대학교 해양연구소

서 론

제주도의 넙치양식은 1986년부터 종묘생산기술개발을 계기로 육상양식이 시작되어 1997년 12월 말에는 5,500여톤을 생산하기에 이르렀다. 넙치양식 업체의 수도 최근에 와서 급격히 증가하고 있으며 시설규모도 소규모에서 대규모로 전환하는 경향이 있다. 또한 사육방법도 고밀도로 사육하는 경우가 많고 부주의한 사육관리 등으로 각종 질병이 발생되고 있다(Lee and Ha, 1991). 연쇄구균은 1873년 Lister에 의하여 처음으로 분리되어 *Bacterium lactis*로 보고된 것이 최초이고, 이균은 현재의 *Streptococcus lactis*에 해당하고 이후 계속해서 1874년 Billroth에 의해 사람이나 동물의 화농창에서 분리된 균에 이름이 붙여진 것이 이 명칭의 시작이었고 이렇게 하여 연쇄구균의 연구는 시작되었고 벌써 120년 이상이나 되었다. 양식어에서 연쇄구균에 의한 패혈증은 1957년의 일본의 시즈오카현의 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*)에서 처음으로 발견되었다(Hoshina et al., 1958). 우리나라에서도 양식넙치를 비롯하여 방어, 조피볼락 등에 폐사를 가져와 막대한 손실을 일으키고 있다(Chun, 1989; Lee, 1991). 양식넙치의 세균성 질병에 있어서는 복합약제 내성균의 의한 감염이 많이 나타나므로 치료 및 예방대책을 세우는데 많은 어려움이 있는 실정이다. 본 연구에서는 연쇄구균의 특성 및 연쇄구균에 의해 생성된 용혈소의 특성등을 조사하였다.

재료 및 방법

시험어는 2000년 8월과 10월의 2회에 걸쳐 제주도 일원 넙치 육상 양식장을 대상으로 연쇄구균에 감염되어 증상을 나타낸 평균 체중 약 200g의 넙치를 연쇄구균의 분리용 시험어로 사용하였고 병어의 환부, 신장, 간, 혈액 및 비장조직을 양식장 현장에서 1.5% NaCl이 첨가된 brain heart infusion agar(BHIA, Difco)에 무균적으로 도말하여

30℃에서 24~28시간 배양하여 분리하였다.

병어의 환부, 간, 비장, 혈액 및 신장을 각 부위별로 1g 또는 1ml씩 채취하여 homogenize하여 멸균해수로 10단계씩 희석시킨 후, 희석액 0.1ml씩을 BHIA배지에 평판 도말하여 30℃에서 3일간 배양 후 생균수를 구하였다. 감수성 시험은 1.5% NaCl를 첨가한 Muller-Hinton medium(Difco, USA)에 균일하게 도말하여 disc 확산법으로 실험하였다. 병원성 시험은 병어의 환부에서 분리한 연쇄구균을 BHI배지에 증균시켜 0.85% 생리식염수로 현탁한 다음 2차례에 걸쳐 건강한 넙치(전장 15~20cm) 5마에 각각 1.5×10^9 cells/fish, 1.5×10^7 cells/fish 농도로 복강에 0.1ml씩 주사하였고 대조구는 0.85% 생리식염수를 0.1ml씩 복강에 주사하여 300 l FRP수조에 수용한 후 증상의 재현 여부를 통한 병원성을 확인하였고, 배양균주는 pH 7.8로 조정된 5ml의 Todd-Hewitt Broth(THB, Difco)에 접종하여 25℃에서 48시간 전배양하였고, 전배양액을 10%(v/v) fetal bovine serum(FBS) 첨가한 pH 7.0의 100ml THB에 접종한 후 shaking한 상태로 25℃에서 20시간 배양하였다. 배양액을 3,000rpm에서 15분간 원심분리를 행한 후 배양상층액을 -20℃에 보존하였다. 용혈활성측정은 배양 상층액에서 용혈반응에 대한 배양온도와 배양시간에 대한 효과는 배양 상층액 1ml와 2%의 양적혈구 부유액 3ml를 0.85% 생리식염수에서 혼합하였다. 4, 25, 37 혹은 55℃에서 배양한 후 그 혼합물은 2,000rpm에서 10분간 원심분리하였다. 양 적혈구를 첨가하지 않은 배양 상층액의 세포 부유액을 대조 상층액으로 하여 용혈반응 현상을 측정하였다.

결과 및 고찰

감염어로부터 분리된 연쇄구균은 형태적으로 연쇄상의 Gram 양성균이었고, Catalase와 Oxidase에 음성이었다고, 용혈성 시험에서는 β -용혈성을 나타내었다. 감염어에서 각 장기별 생균수에서는 환부, 신장, 혈액 그리고 뇌순으로 연쇄구균이 검출되었다. 약제 감수성에서는 Ampicillin, Ciprofloxacin 등에 감수성이 있었지만 Erythromycin 등에는 감수성이 없었다. 복강에 주사하여 병원성 시험을 한 결과 10일 이내에 전량 폐사하는 강한 병원성을 보였다. 감염균의 용혈성에 대한 특성은 56℃, 30분의 배양에서 용혈활성이 빠르게 증가되고 최대값에 도달되었고 또한 pH 5.5-6에서 높은 활성값을 보였다.

참고문헌

- Boomker, J., Imes, G.D. Camerson, C.M. Naude, T.W. and Schoonbee, H.J. 1979. Trout mortalities as a result of *Streptococcus* infection. J. Vet. Res., 46, 71~78.
- Chun, S.K. 1989. A streptococcal disease of freshwater fish. J. Fish. Pathol., 2, 31~36.
- Eijiro Kawahara., Hiroshi Sako, Setsuao Nomura and Riichi Kusuda. 1991. Properties of hemolysin produced by β -hemolytic *streptococcus* sp. isolated from yellowtail(*Seriola quinqueradiata*). 26(4), 177~181.