

養殖魚類의 細菌性疾病의 診斷과 對策

田 世 圭

釜山水産大學 水族病理學科

Detection and Control of Bacterial Diseases of Cultured Fishes in Korea

Seh-Kyu CHUN

Department of Fish Pathology,

National Fisheries University of Pusan, Pusan, 608-023, Korea.

This is a comprehensive study for considering the effective treatment and control program of bacterial disease occurring in common carp, israel carp, color carp, crucian carp, eel and tilapia by clarifying the causes, mechanism of infection and onset and the diagnostic criteria.

As a first step, the authors investigated the external views, gross and histopathologic findings of diseased fish using 450 infected fishes obtained from various farmer of Korea.

This infection was characterized by hyperemia, hemorrhage and swelling of body surface and fins, congestion of liver, spleen, kidney, inflammation of intestine, hemorrhagic inflammation of various tissues, and necrosis and ulcer of various tissues were accompanied in serious cases.

Bacteriologically, *Aeromonas hydrophila* and *Edwardsiella tarda* were isolated from these fishes. Particularly in the regular check on 222 eels, 177 strains were isolated as 29.94% of *Aeromonas hydrophila*, 48.58% of *Edwardsiella tarda* and 21.47% of *Flexibacter columnaris*. *Flexibacter columnaris* was isolated from corroded gill of eels. The identical disease was occurred by inoculating the isolated *Aeromonas hydrophila* and *Edwardsiella tarda* and the identical strains were isolated from infected experimental fishes.

The eels which were diagnosed *Aeromonas* disease from Kwangju, Pusan accompanied hemorrhage, swelling of body surface and fins, inflammation of stomach and intestine containing mucous fluids mixed with the pathogens. Color carp and crucian carp which were inoculated with the isolated 5 strains of *Aeromonas hydrophila* died within 3 or 4 days accompanying with the characteristics of *Aeromonas* disease.

Edward disease was characterized by abscesses of body surface, pus formation with concentration on phagocytes. The size of abscesses increased with progression of disease. There were also various abscesses at internal organ and white nodules appeared in kidney. Histologically, various progressive granuloma were examined without inflammation of intestine.

Columnaris disease of eels showed no hemorrhage except slight white body color. In autopsy, most of internal organs appeared normal and there were no septic odors. The only character was corrosion of gills.

In order to treat these bacterial diseases, infected fishes must bathe in 20ppm chloramphenicol or kanamycin solution for 1 hour. Besides, medication program in oral ingestion of 75mg/kg chloramphenicol per day continuing for 5 to 7 days.

After injecting the formalin treated *Aeromonas hydrophila* antigen into carp, relatively high agglutination titer showed between 3 weeks and 6 weeks. Though this titer decreased from that time, it was continued for 18 weeks.

In the case of injecting the formalin treated *Edwardsiella tarda* antigen into tilapia, the titer also increased.

But tilapia which were immersed in the suspension fluid of the formalin treated *Edwardsiella tarda* showed no increase of the titer.

緒 論

内水面에서 어류를 양식하는 目的은 어류를 集約的으로 사육하여 경제적 가치를 높이는 데 있다. 魚類를 高密度로 사육하면 곧 環境水가 오염되고, 그로 인해 각종 疾病이 流行되어 성장 장애를 일으키거나 죽게 된다.

養殖魚類에 流行되는 疾病中, 病原性細菌에 의하여 죽는 피해가 가장 크다. 이들 원인균은 대부분 양어장 물과 바닥의 펄에서 檢出되며 病魚의 腸内에서도 分離된다. Wakabayashi 등 (1976)은 뱀장어의 飼育水中에서 *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* 등의 病原菌을 分離同定하였고, Kanai 등 (1977)은 양식 뱀장어의 腸内細菌을 조사한 結果 病原菌屬인 *Aeromonas* sp., *Vibrio* sp., *Edwardsiella* sp., *Pseudomonas* sp. 등이 높은 比率로 檢출된다고 하였다. Minagawa 등 (1983)은 뱀장어 飼育水와 低質에서 년중 높은 비율로 *Edwardsiella tarda*가 檢出된다고 하였으며, Ishihara 등 (1982)은 環境水의 조건에 따라 *Edwardsiella tarda*의 발육과 성장에 差異가 있다고 하였다. Wakabayashi 등 (1979)은 病魚의 各臟器에서 病原菌이 가장 잘 分離된다고 하였으므로, 우리나라 각 양어장에서 流行되고 있는 병어를 수집하여 病原菌을 分離同定하였다.

釜山과 光州地域 양만장에서 週期的으로 病魚를 수집하여 内外診斷, 病原菌分離, 藥劑感受性試驗을 통하여 치료, 豫防하게 하였고, 연구실로 보내온 잉어, 이스라엘 잉어, 틸라피아도 같은 方法으로 試驗하였다.

材料 및 方法

1985년 3월부터 1986년 5월까지 부산 및 광주 지역의 병든 양식 뱀장어와 健康한 뱀장어를 합쳐 222

마리를 주기적으로 8회에 걸쳐 수집하여 調査하였으며, 또한 이 기간중에 전국에서 本 魚病診斷研究室에 診斷을 의뢰 해온 병든 잉어 80마리, 이스라엘 잉어 60마리, 틸라피아 90마리를 합쳐 總計 452마리를 해부학적 증상과 병리조직학적 검사를 하는 동시에 병원균을 분리 동정하였고, 分離菌의 病原性試驗, 藥劑感受性試驗을 실시하였다.

시험한 모든 병어는 Tricaine methane sulfonate (MS 222), 또는 Urethane (Ethyl carbonate, Junsei chemical Co.)으로 마취한 후 해부하였다 (Table 1.)

병원균 분리 병어의 아가미, 간장, 신장에서 병원균을 분리하였는데 아가미에서 병원균을 분리하기 위하여서는 Kanai (1977)의 改良된 *Cytophaga* 培地 (Tryptone 0.5g, Yeast extract 0.5g, Beef extract 0.2g, Sod. acetate 0.2g, Cal. chloride 0.2g, Agar 15.0g, D.W. 100ml, pH.7.4)를 사용했으며 간장과 신장에서 병원균을 분리할 때는 Nutrient Agar (Difco), BHI Agar (Difco), Tryptic Soy Agar (Difco), SS Agar (Difco)를 사용하였다.

실험어의 처리과정은 Kevin (1985) Procedures for the Detection and Identification of certain Fish pathogens (A.F.S.)에 따라 신장, 간장 및 아가미를 무균적으로 小組織片을 취해 배지에 찍고, 白金耳로 전체 면에 고르게 발라서 25°C, 2-5일간 배양하였다 (Wakabayashi 1979). 또한 조직표본용으로 組織小片을 固定液에 보존하였다. *Cytophaga* agar에서 자란 黃色 褶락을 따서 운동성조사 및 gram 염색을 한 후 다음실험을 위하여 보관했다. 또한 다른 培地에서 자란 褶락도 斜面培地에 보관하면서 gram 염색, cytochrome oxidase, 운동성, OF 시험을 실시하고, 형태 및 생화학적, 생화학적 성상을 MacFaddin (1980)과 Cowan (1974)에 준하여 실시하여 Bergey's manual of systematic bacteriology 1卷 (1984)과 Cowan (1974)의

Table 1. Sources of diseased fishes used in this study

Name of fish	No. of fish examined	Body weight of fish examined (g)	Source (location)
Common carp <i>Cyprinus carpio</i>	80	20-800	Yongsan Kunsan Haman
Israel carp <i>Cyprinus carpio</i>	60	20-900	Chunchon Taegu Kimhae
Eel <i>Anguilla japonica</i>	222	18-150	Kwangju Pusan Myungji
Tilapia <i>Sarotherodon niloticus</i>	90	10-200	Taegu Tamyang

Manual for the Identification of Medical Bacteria를 참고로 하여 分類 동정하였다.

抗血清 參照用菌株

일본 동경대학 Wakabayashi교수로 부터 분양받은 *Flexibacter columnaris* EK28, T-13, *Aeromonas hydrophila* A-10, *Vibrio anguillarum* PB15, SG7701, *Pseudomonas anguilliseptica* NCMB 1949, *Edwardsiella tarda* FPC 22, SU703과 일본 히로시마대학 Muroga교수로부터 분양받은 *Vibrio anguillarum* PT 76 86, PT 77171을 참조 항혈청제조와 생리실험에 이용했다.

凝集試驗에 使用한 抗血清은 *Aeromonas hydrophila* A-10, *Edwardsiella tarda* Sakazaki SU 703, 두 菌株을 각각 免疫原으로 하여 Sakazaki(1967)의 方法에 따라 만들어진 토끼 免疫血清이다. 凝集素價는 Micro-titer法으로 測定하였다. 濕重量으로 10^8 cell로 懸濁液을 만들고 100°C, 1時間 加熱한 것을 凝集反應의 抗原으로 하였다.

分離菌의 病原性 試驗

잉어, 이스라엘잉어, 뱀장어, 틸라피아의 병어에서 분리한 *Aeromonas hydrophila* C-2, C-4, Is-4, Is-5, E-19의 5菌株과 *Edwardsiella tarda* E-20, T-6, T-10의 3菌株에 대한 病原性을 調査하였다. 분리균을 각각 BHI寒天培地에서 25°C, 20시간 培養한 다음

滅菌된 生理的 食鹽水에 懸濁시켰다. 이때의 菌株은 10^8 CFU/ml의 濃度로 하였다. 健康한 20g 비단잉어, 20g 붕어 및 26g 틸라피아의 등지느러미 하부 근육에 0.1ml씩 菌液을 接種하였다.

生菌을 接種한 후 10個의 같은 條件을 유지하게 설치된 유리水槽(40×50×40cm)에 수용하고(2個는 對照) 生死如否를 관찰하였다.

分離菌의 藥劑 感受性

增菌用培地에서 배양한 菌液을 performance standards for Antimicrobial Disc Susceptibility test NCCLS의 Agar 확산방법에 따라 도말하고 건조시킨 후 항생제(3段階 및 1段階 濃度 disc, Eiken社 및 SHOWA社)를 놓고 25°C에서 48時間 培養한 후 形成된 抑制帶를 觀察했다. *Flexibacter*의 경우엔 Cytophaga broth, 25°C, 48時間 배양한 菌液을 Cytophaga agar에 균고루 接種한 다음 같은 방법으로 항생제 disc를 놓고 25°C에서 48시간 배양한 다음 그 抑制帶의 直徑을 測定하였다.

免疫試驗

室內水槽 12個에 잉어 (500g 平均體重) 10마리씩 수용하고, 사육하면서 免疫獲得 與否를 확인하였다. 모두 地下水를 使用했으며 每日 體重의 1% 정도의 配合飼料를 투여하였다. 實驗期間中 水溫은 17.8~21.6°C로 유지시켰다.

免疫抗原: 병어인 잉어, 이스라엘잉어, 뱀장어에서分離한 *A. hydrophila* C-2, Is-5, E-19를 각각 普通寒天斜面培地에 25°C, 24時間 培養하고 滅菌生理食鹽水에 濃菌量 6mg/ml比率로 각각 懸濁 시켰다. 이것을 0.5%의 포르말린을 加하여 37°C, 48시간 방치한 후 生菌이 없는 것을 확인하고 滅菌生理食鹽水로 3回 洗淨後 포르말린 死菌抗原으로 하였다(C-2, Is-5, E-19 抗原). 각 잉어(500g)에 0.4ml 筋肉内 接種하고, 다시 1주일후에 0.6ml를 추가 接種하였다.

採血: Heparin處理한 주사기를 사용하여 잉어의 尾動脈에서 採血하였다. 抗原 接種후 3주일 간격으로 採血하여 3,000rpm, 10分間 원심분리한 血清을 凝集素價의 測定用에 使用하였다.

凝集素價의 測定

원심분리하여 얻은 血清을 PBS로 倍數段階별로 희석하고 각각 일정량의 抗原을 加하여 37°C에 2시간 反應시킨 후 4°C에서 20시간 방치하였다가 凝集 有無를 肉眼的으로 觀察하였다. 血清을 56°C, 30分間 加熱하여 非働化시킨 결과 反應이 明白하지 않으므로 이 실험에는 非働化하지 않았다.

結果 및 考察

1. 病魚의 外部症狀

병어의 외부 症狀을 觀察하여 Table 2에 나타냈다.

Table 2. Revealed frequency of external symptoms of diseased fishes used in this study

Name of fish					
	Common carp	Israel carp	Eel	Tilapia	Total
No. of fish	80	60	222	90	452
Symptom	%	%	%	%	%
Congestion and hemorrhage surface of body	85.0	78.0	75.6	46.2	71.2
Basal part of Caudal fin	82.5	75.0	65.3	26.4	62.3
Basal part of dorsal fin	35.1	38.1	73.1	28.1	43.6
Basal part of pelvic fin	52.4	51.6	74.2	26.2	51.1
Basal part of pectoral fin	16.2	19.1	6.2	0	10.83
Basal part of anal fin	26.1	24.4	0	12.1	15.65
Abdomen	51.1	48.4	26.2	38.4	41.03
Anas	38.6	45.6	38.3	26.4	37.23
Eyelid	18.6	15.2	28.1	58.4	54.73
Protrusion of scale exophthalmos	18.2	10.2	0	0	7.1
Ulcer of skin	5.6	4.2	12.6	8.6	7.75

診斷한 병어는 대부분 체표에 充血 또는 出血 증상이 나타났으며, 때로는 지느러미에도 나타났다. 부위별로 구분하여 보면 체표의 充血과 出血이 71.2%를 차지했다. 일반적으로 체표에 이와같은 症狀이 나타나면 지느러미나 항문에도 나타났다. 따라서 部位別로 중복되는 증상이 많았다. 진단한 452마리중 充血과 出血이 보이는 것이 꼬리 지느러미 기부에 62.3%, 등지느러미 기부에 43.6%, 배지느러미에는 26.2%, 가슴지느러미에는 10% 정도 나타났다. 복부에 充血과 出血이 41.03% 나타났고, 항문 가장자리에 37.23%나 나타났다(Plate 3).

눈꺼풀이나 눈가장자리에도 34.73% 充血되어 있었

다. 이상과 같은 充血과 出血은 病原菌에 의한 질병 증세로 *Aeromonas hydrophila*나 *Aeromonas salmonicida* 또는 *Pseudomonas anguilliseptica* 나 *Vibrio anguillarum* 등에 의한 증상이다. 특히 체표면에 궤양이 형성되는 뱀장어는 대부분 *Edwardsiella tarda*에 의한 궤양병으로서 간이나 비장에도 궤양이 생겨 죽게 된다. 이와같은 증상이 뱀장어에 12.6% 틸라피아에 8.6%나 나타났다. 특히 틸라피아에 출혈과 충혈을 나타내면서 표피 潰瘍이 많이 나타나는 증상은 새로운 병으로 추정되었으나 이와같은 症狀이 나타나는 틸라피아에서는 100% *Edwardsiella tarda* 균이 분리되었다(Plate 4).

Table 3. Revealed frequency of anatomical symptoms of the diseased fishes used in this study

Name of fish	Name of fish				
	Common carp	Israel carp	Eel	Tilapia	Total
No. of fish	80	60	222	90	452
Symptom	%	%	%	%	%
Gill : Fading	52.6	56.2	48.6	50.0	51.85
Liver(Heptopancreas) :					
Congestion	28.6	30.2	18.7	26.2	25.93
Fading	18.8	14.2	15.1	18.2	16.58
Dissolution	10.6	11.2	10.8	11.2	10.95
Spleen :					
Congestion	32.1	21.2	26.2	18.2	21.9
Swelling	18.2	16.6	11.2	11.8	14.45
Kidney :					
Congestion	19.2	26.2	11.6	21.6	19.65
Swelling	16.2	19.6	12.6	18.2	16.65
Fading	12.5	11.8	10.2	11.6	11.53
Dissolution	2.6	8.1	6.2	7.1	6.0
Pancreas :					
Congestion	—	—	18.1	1.2	9.65
Swelling	—	—	12.6	2.6	7.6
Intestine :					
Congestion	62.6	43.1	28.4	18.6	38.18
Standing mucus	56.2	42.6	18.5	20.1	34.35
Dissolution	21.6	18.2	11.6	10.2	15.4
Abdominal wall :					
Congestion and Hemorrhage	32.6	11.6	18.2	11.2	18.4

2. 病魚의 解剖學的 소견

病魚의 해부학적 소견을 Table 3에 표시하였다. 病魚에 따라 약간의 차이는 있으나 병어의 아가미는 51.85%나 퇴색되어 있었다. 이중에는 黃色汚泥를 지니며 아가미가 유착되어 있는 것도 포함되며, 부분적으로 피사된 아가미도 관찰되었다. 이와같은 부분을 직접 *Cytophaga agar*에 도말하여 배양하면 *Flexibacter columnaris*균이 분리되었다. 간에 있어서도 병변이 관찰되었으며 여기서 간의 병변은 잉어나 이스라엘 잉어의 경우 간장과 체장이 합쳐 있기 때문에 肝脾臟의 변화를 말하고 뱀장어와 툴라피아는 간 만을 뜻한다. 해부도중에 血管 절단으로 인한 간퇴색을 막기 위하여 특히 주의하였다. 검붉은 색으로 나타나는 울혈도 간 기능에 큰 장애가 되는데 이와같은 현상이 잉어 28.6%, 이스라엘 잉어 30.2%나 되었다. 반대로 퇴색된 것이 잉어 18.8%, 이스라엘 잉어 14.2%나 나타났다. 脾臟의 울혈과 부종은 비장의 병변이라 할 수 있다. 脾臟울혈은 잉어 32.1%, 이스라엘 잉어 21.2%, 비장의 부종이 잉어 18.2% 이스라엘 잉어 16.6%였다. 신장의 울혈과 부종 및 용해는 신장의 세균성 염증을 뜻한다.

腎臟의 浮腫이 가장 잘 관찰되었는데 잉어 16.2%, 이스라엘 잉어 26.2% 뱀장어 11.6%, 툴라피아 21.6%로 병변이 심한 편이었으나 신장 피막을 박리시킬때 腎臟이 용해되는 것은 炎症이 극심한 것을 뜻한다.

이상과 같은 증상은 모두 병원균에 의한 염증증상으로서 잉어와 이스라엘 잉어의 경우에는 *Aeromonas* 균에 의한 질병으로 추정되었으며, 뱀장어와 툴라피아의 경우는 *Edwardsiella*균에 의한 질병으로 추정되었다. 腸出血이나 장내 점액물도 중요한 증상이지만 장관의 충혈도 쉽게 관찰되었다. 해부했을때 腸에 나타난 充血, 出血의 흔적은 장관의 심한 염증을 의미한다. 장출혈이 잉어의 경우 62.6%, 이스라엘 잉어의 경우 43.1%나 나타났다. 장관내에 점액이 충만한 것은 잉어 56.2%, 이스라엘 잉어 42.6%이었다. 이 모든 증상은 병의 진행여하에 따라 증상의 차이를 나타냈다.

3. 잉어의 病理組織學的 소견

근육: 체표에 出血이 적은 병어의 근육은 근섬유의 배열이 정상적이며 큰 변화는 없었다. 出血이 심한 근섬유는 얽혀서 일정한 배열이 이루어지지 않았다. 또한 근섬유의 부분적인 壞死와 원형세포 및 세균의 集落도 보였다.

간장: 혈관의 확장이 쉽게 관찰되고 肝實質細胞의 배열이 얽혀져 불규칙하고 세포와 세포간의 간격

이 확장되어 임파세포의 침윤이 심해지면서 각 실질 세포사이에 적혈구의 모임이 관찰된다. 더욱 증상이 심한 잉어는 확장된 혈관에 혈구가 고이고, 肝實質細胞가 일그러지면서 핵축과 핵봉괴가 일어난다. 때로는 간세포의 피사도 관찰된다.

신장: 잉어의 신장 간질에 원형세포가 침윤되고, 세뇨관의 확장과 위축이 심해지며 세뇨관 상피 세포의 핵축과 핵봉괴가 일어나고 있다.

비장: 잉어의 脾臟은 動脈瘤를 형성하고, 脾臟를 중심으로 임파계 세포와 적혈구가 충만되면서 세포의 피사가 심해진다. 잉어나 이스라엘 잉어의 장기에서 볼 수 있는 이와 같은 비장조직의 병변은 *Aeromonas hydrophila* 균이 분리된 장기에서 더욱 심하였는데 이는 *Aeromonas hydrophila* 에 의한 병리조직의 변화라 추정된다.

4. 뱀장어의 病理組織學的 소견

근육: 근섬유에는 이상이 없으나 피하지방조직의 혈관에 적혈구가 충만되고 진피에도 출혈이 심했다.

간장: 뱀장어의 간세포는 脂肪變性을 일으키고 類洞內에 好中球 및 큰단핵세포의 침윤 번식이 심해지면서 문맥에 불완전 폐쇄성 化膿性血栓이 나타난다.

신장: 뱀장어의 신장에는 크고작은 膿瘍이 관찰되었다. 血栓局所의 주위에 있는 造血組織에 好中球가 모여있으며, 그 一部는 식균상과 細菌의 세포내 증식상이 보인다. 이와같은 好中球血栓과 미소농창이 많이 발견된다.

이와 같은 현상은 툴라피아에서도 발견 되었다. 뱀장어에서 分離한 *Edwardsiella tarda* 菌을 툴라피아의 등지느러미 하부근육에 접종한 결과 툴라피아에 Edward병이 발생되었다. 그 툴라피아의 신장 조직을 관찰하여 뱀장어 신장과 같은 병변을 보았다. 신장의 造血組織을 中心으로 크고 작은 膿瘍이 형성되었다. 때로는 더욱 심해져서 壞死巢가 形成되고 나아가서는 肉芽腫이 形成되었으며 세뇨관과 絲球體까지도 壞死시켰다. 腎實質細胞도 變性되어 壞死된 것도 나타났다.

비장: 뱀장어의 비장에도 크고 작은 膿瘍이 산발적으로 관찰되었다. 이 농창은 好中球의 침윤이 적으며 水腫을 일으킨 모양이다. 脾臟에는 細網細胞가 유리되어 있으며 多核巨大細胞도 많이 나타났다. 때로는 이들 세포가 壞死되고 용해되며 崩壞된 부분도 관찰되었다.

뱀장어에서 分離한 *Edwardsiella tarda* 菌을 툴라피아 등에 접종한 후 Edward 병이 발생된 툴라피아의

비장조직을 보면 비수를 중심으로 병소가 형성되며, 이 병소가 괴사되면서 肉芽腫이 형성되었다.

그 가장자리의 비수는 空胞化 되었으며 때로는 變性 赤血球와 血鐵素가 나타나면서 많은 병소를 형성하는 것을 관찰할 수 있었다.

5. 釜山·光州地域의 養殖 鰻장어의 細菌性疾病

1985년 3월부터 1986년 5월까지 부산, 광주 지역의 양식 鰻장어를 주기적으로 수집해, 총 222마리를 조사하여 병원균을 분리하였다. 광주지역 A, B, C, D 號池 및 부산지역 E, F, G 號池의 鰻장어는 병든 것을 調査하였고 명지 鰻장어는 대조로 健康한 것을 調査하였다(Table 4).

Table 4. Seasonal distribution of bacterial infections among pond cultured Eels in 1985 to 1986

Date	Pond	Fish No.	Examined Mark			Fish infected with				
						<i>A. hydrophila</i>	<i>E. tarda</i>	<i>F. columnaris</i>	not identified	
1985										
6, Mar.	A	3	1	2	3	2		3		
	B	3	4	5	6	5		5,	6	6
	C		7	8	9	7,	8	7,	8	
	D	3	10	11	12	10,	11	11,	12	
10, Apr.	E	3	13	14	15	13	14	14		
	F	3	16	17	18	16,	17,		18	17
	G	3	19	20	21	19		20		21
6, May.	H	3	22	23	24			22		
	I	3	25	26	27			26	27	
	J	3	28	29	30					
18, May.	A	3	31	32	33	31,	32	32		33
	B	3	34	35	36	35,	36	34,	36	34
	C	3	37	38	39	37		37,	39	39
	D	3	40	41	42	41		42		39
10, Jun.	E	3	43	44	45			43,	44	44
	F	3	46	47	48			47		48
	G	3	49	50	51			49,	51	51
25, Jun.	H	3	52	53	54					
	I	3	55	56	57					
	J	3	58	59	60					
6, July	A	3	61	62	63	62		62,	63	63
	B	3	67	68	69			64	66	65
	C	3	67	68	69			0		68,
	D	3	70	71	72			71,	72	71
18, July	E	3	73	74	75			74,	75	74
	F	3	76	77	78			76,	77	
	G	3	79	80	81			79,	80	
1, Aug.	H	3	82	83	84					
	I	3	85	86	87					
	J	3	88	89	90					
25, Aug.	A	3	91	92	93	92			93	
	B	3	94	95	96	95			95	96

	C	3	97	98	99			98	99	99	
	D	3	100	101	102			101,	102		
16, Sep.	E	3	103	104	105	104	105	103,	104		
	F	3	106	107	108	107		108		108	
	G	3	109	110	111			110		111	
1, Oct.	H	3	112	113	114						
	I	3	115	116	117						
	J	3	118	119	120						
18, Oct.	A	3	121	122	123	121,	123	122,	123		
	B	3	124	125	126	125		126		124	
	C	3	127	128	129	128,		127,	129	129	129
	D	3	130	131	132	130		130,	131	131	
10, Nov.	E	3	133	134	135	133,	134	134,	135	134	
	F	3	136	137	138	136		137,	138	137	
	G	3	139	140	141	140		139,	140	141	
	H	3	142	143	144						
	I	3	145	145	145						
	J	3	148	149	150						
1, Dec.	A	3	151	152	153	152		153			
	B	3	154	155	156	155		155,	156		
	C	3	157	158	159	157		159			
	D	3	160	161	162			162			
18, Dec.	E	3	163	164	165	164		165,		165	
	F	3	166	167	168	166,	167	167,	168	168	
	G	3	169	170	171	170		171		169	
1986											
15, Jan.	H	3	172	173	174						
	I	3	175	176	177						
	J	3	178	179	180						
5, Mar.	A	3	181	182	183	182		183			
	B	3	184	185	186	184,	185	186			
	C	3	187	188	189			189		189	
	F	3	190	137	191			192			
20, Apr.	E	3	193	194	195	194		192			
	F	3	196	197	198	196		197,	198	197	
	G	3	199	200	201			200	201		
5, Jay.	H	3	202	203	204						
	I	3	205	206	207						
	J	3	208	209	210						
25, May.	A	3	211	212	213	212,	213	211,	212	211,	212
	B	3	214	215	216	214,	215	214,	216	215	
	C	3	217	218	219	218,	219	217,	218	217	
	D	3	220	221	222	220,	221	222		220,	221

Total

35
29.94(%)86
48.58(%)38
21.47(%)

광주 뱀장어는 비닐하우스를 이용한 温室加温池에서 飼育되며, 水質은 植物性 플랑크톤에 의한 정화기능을 가졌으며 매일 약 1/3량의 환수를 하고 있었다. 이와같은 飼育方法은 植物性 플랑크톤의 量에 따라, 日照시간에 따라 정화기능에 큰 차이를 나타냈다. 여름철 장마기에는 물변화가 심하여 암모니아 아질산이 증가됨으로 질병이 많이 발생되었다. 한편 부산의 뱀장어는 生物膜을 이용한 循環濾過式加温池에서 飼育되었으며, 水質은 回轉圓板에 번식된 질산균에 의하여 정화되었고, 日光을 차단하여 植物性 플랑크톤의 번식은 억제되었다. 그러나 여기에서도 뱀장어 질병은 유행되었다. 그 이유로서는 여과되지 않은 河川水를 바로 飼育池에 注入하고, 병든 種苗을 구입하여 양식하고 있기 때문이었다. Minagawa등(1983), Wyatt등(1979), Wakabayashi등(1976)은 水中에서 각종 병원균을 檢出하고 Kanai등(1977), Park(1983), Takahashi등(1984), Wakabayashi등(1973), Sugita등(1979), Ugajin(1979) 등은 뱀 및 어류의 장내에서 각종 병원균을 분리하였다. 우리나라의 경우 種苗을 구입하여 사육하게 되면 대부분 질병 때문에 대량 폐사시키는 경우가 있다. 그 이유로서 대부분의 種苗에서 병원균과 기생충이 검출되기 때문이다. 외관상 건강하게 보이지만 옮기고 난 뒤 1주일에서 1개월만에 반드시 질병이 발생된다. 환경이 바뀔수록 잠복했던 병원균이 번식하기 때문으로 추정된다. 또한 잠복된 기생충은 병원성 세균의 번식을 촉진시켜 준다. 따라서 부산 양만장의 뱀장어는 년중 질병이 유행된 것으로 추정된다(Table 4).

대조로 조사한 鳴旨 뱀장어는 回轉圓板式 生物膜을 이용한 循環濾過式加温 飼育池로서 完全 여과된 河川水만을 사용하여 매일 1/10량을 환수하였다.

河川水를 여과하는 이유는 주입하고 있는 사육수가 수문이 설치되어 농업용수로 사용되는 湖水와 같은 물로서 이 水中에는 각종 병원성 세균과 기생충이 쉽게 檢出되었기 때문에 3m의 모래(2~3mm)層을 통과시켜 여과된 물을 사용하였다. 이 양어장의 뱀장어에서는 병원균이 거의 검출되지 않았다.

모든 뱀장어는 70% 알콜 스폰지로 體表面을 닦아낸 후 Urethane(A/S SYNTHETIC)으로 마취시킨후 해부하여 아가미, 간, 신장 순으로 小組織片을 分離培養地에 찍어서하여 도말 확산 하였다.

자라난 집락은 특색있는 것을 따서 再次分離한 결과 *Aeromonas hydrophila* 53菌株(29.98%), *Edwardsiella tarda* 86菌株(48.58%), *Flexibacter columnaris* 38菌株(21.47%)가 分離되었다. 分離된 총 177菌株와 동정되지 못한 1菌株를 합치면 178菌株가 되는데, 동정하지 못한것은 분리도중에 오염된 것으로 보고 여

기에서는 제외하였다. 또한 이 조사기간 중 뱀장어에서는 *Vibrio anguillarum*과 *Pseudomonas anguilliseptica*는 분리되지 않았다.

광주지역 A, B, C, D號池의 뱀장어 96마리에서 분리된 병원균은 *A. hydrophila* 35菌株(36.46%), *E. tarda* 50菌株(52.08%), *F. columnaris* 22菌株(22.92%)였다. 이중에는 11%의 混合感染이 있었다.

부산지역 E, F, G 號池의 뱀장어 63마리에서도 *A. hydrophila* 18菌株(28.57%), *E. tarda* 33菌株(52.38%), *F. columnaris* 16菌株(25.40%)가 分離되었다. 여기에서도 6.45%의 混合感染이 나타났다. 鳴旨 H, I, J 號池의 健康한 뱀장어 63마리중에서 5월에 *E. tarda*가 3마리에서 3菌株(0.48%)만이 분리되었다. *A. hydrophila*와 *F. columnaris*는 분리되지 않았다. 그 이유로, 사용되는 모든 물은 여과된 것을 사용했기 때문이라 추정된다. 분리된 *E. tarda*는 먹이인 실지렁이로 부터 감염된 것으로 추정되며 5월에 14일간 抗生物質을 투여하여 치유시켰다. 그 이후에는 병원균이 분리되지 않았다.

광주지구와 부산지구 에서는 매년 10~20g의 뱀장어 黑子인 種苗을 구입하여 成鱚으로 성장시키는데 種苗때 이미 각종 병원균에 감염된 것을 모르고 구입하여 사육한 예와 장기간에 걸쳐 이와같은 병원균이 양어장에 정착되어 殘存하다가 새로운 종묘가 들어오면 곧 감염되는 두가지 감염 경로를 생각할 수 있었다. 이것을 입증하는 것으로서 대조로 백한 명지 양어장은 아직까지 한번도 흑자인 종묘를 구입하여 사육한 적이 없으며 매년 실뱀장어에 실지렁이를 먹여 사육하다가 사육지로 옮겨 배합사료로서만 사육하였고 사육수는 여과시켜 사용함으로써 병원균의 침입이 없었던 것으로 추정된다.

Table 5에 나타난 것과 같이 광주나 부산지역의 뱀장어는 세균성질병이 심한 편이며 *A. hydrophila*와 *E. tarda*균을 한마리의 뱀장어에서 동시에 분리된 예가 되었으며 *E. tarda*와 *F. columnaris*균이 같이 분리된 예와 *A. hydrophila*와 *F. columnaris*가 동시에 분리되는 경우도 있었다. 광주산 뱀장어에 있어서 *A. hydrophila*와 *E. tarda*가 혼합감염된 것이 가장 많아 14.58%나 되었다. 한 마리의 병든 뱀장어에서 3種의 병원균이 분리된 것이 2예나 있었다. 반면 명지에서는 혼합감염된 것은 한例도 없었다(Table 5).

실뱀장어의 초기 먹이로서 실지렁이를 투여하는 한 *E. tarda*병의 근절은 기대하기 힘든 것으로 생각된다.

6. 分離菌의 病原性

분리균중 C-2가 가장 강한 病原性을 나타냈다

Table 5. Incidence of the mixed infections

Fish pond	No. of fish examined	<i>A. hydrophila</i> + <i>E. tarda</i>	<i>E. tarda</i> + <i>F. columnaris</i>	<i>A. hydrophila</i> + <i>E. tarda</i>	<i>A. hydrophila</i> <i>E. tarda</i> + <i>F. columnaris</i>
Kwangju (A,B,C,D)	96	14(14.58%)	11(11.45%)	4(4.16%)	2(2.09%)
Pusan (E,F,G)	63	5(7.93%)	9(14.28%)	0	1(1.58%)
Myungji (H,I,J)	63	0	0	0	0
Total	222	19(8.56%)	20(9.0%)	4(1.8%)	3(1.35%)

(Table 6).

10⁸cells/10g 接種한 비단잉어 10마리가 모두 96시간 만에 9마리가 죽었다. 또한 이스라엘 잉어에서 분리한 Is-4를 같은 수로 接種한 붕어에서도 9마리가 죽었는데 Is-5를 接種한 붕어는 6마리만 죽었다. 뱀장어에서 분리한 E-19는 더욱 약해서 4마리만 죽었다 (Table 6).

分離菌株中 예비실험을 통하여 毒力이 강하다고 추정되는 菌株을 택하여 病原性 시험을 실시 하였는데 *Aeromonas hydrophila* 菌株에도 40~100%의 폐사율의 차이를 나타냈다. 죽은 비단잉어와 붕어는 심한 潰瘍을 일으켰다. 죽지 않은 接種魚는 接種部位가 膨隆되거나 그 가장자리가 出血性疾病으로 나타나다가 시일이 경과됨에 따라 서서히 치유되었다(Plate 1, 2)

E-20, T-6, T-10을 각각 10⁸cell씩 接種한 붕어는 72시간만에 6마리 죽었다. T-6을 같은 수 接種한 틸라피아는 120시간만에 8마리 죽고, T-10을 같은 수 接種한 틸라피아는 168시간만에 6마리가 죽었다 (Plate 5, 6, 7).

*Edwardsiella tarda*는 뱀장어나 틸라피아에는 강한 病原性을 나타내나, 붕어에는 病原性이 약한것 같다. 병어인 잉어나 이스라엘 잉어에서도 *Edwardsiella tarda*가 분리되지 않았다(Table 7).

生菌接種 48時間後 : 細菌接種 部位表面이 腫大되고 비늘이 일어서며, 體側 筋肉内の 注射部位가 壞死된다. 生菌接種部位에는 細菌이 增殖되고, 근섬유가 變性되고 괴사되어 용해된다. 肝臟에서는 炎病性 細胞內 細菌 증식이 보인다. 肝細胞는 壞死된다. 脾臟에

Table 6. Pathogenicity of the isolated strains to carp fishes (Dose 10⁸ cells/10g fish body weight, intramuscular injection)

Strains	Date 1985,	Name of fish examined	Number of fish died/tested	Mortality (%)	Average time to death(hr.)
C-2	Jun.	Color carp	10/10	100	96
C-4	Jun.	Color carp	9/10	90	98
Is-4	Jun.	<i>Carassius carassius</i>	9/10	90	145
Is-5	Jun.	<i>Carassius carassius</i>	9/10	90	126
E-19	Apr.	<i>Carassius carassius</i>	4/10	40	160
E-20	Apr.	<i>Carassius carassius</i>	6/10	60	72
T- 6	July.	Tilapia	8/10	80	120
T-10	July.	Tilapia	8/10	80	168

Table 7. *Aeromonas*, *Edwardsiella*, *Columnaris* strains used in this study

Strains	Organisms	Matter sampled
C- 2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Carp
C- 4	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Carp
C- 7	<i>Flexibacter columnaris</i>	Carp
Is- 4	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Israel carp
Is- 5	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Israel carp
Is- 8	<i>Flexibacter columnaris</i>	Isreal carp
E-19	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Eel
E-20	<i>Edwardsiella tarda</i>	Eel
E-21	<i>Flexibacter columnaris</i>	Eel
T- 6	<i>Edwardsiella tarda</i>	Tilapia
T-10	<i>Edwardsiella tarda</i>	Tilapia
T-16	<i>Flexibacter columnaris</i>	Tilapia

있어서도 細菌增殖을 수반한 壞死病巢가 나타난다. 腎臟에 있어서도 細菌增殖이 심하여 炎症性細胞에 의한 貧食現像과 壞死巢가 보인다.

生菌接種 96時間 後 : 細菌接種部位는 腫大되고, 潰瘍을 形成한다. 生菌注射部位의 筋肉組織은 融解되고 膿樣物이 고인다(Plate 7). 죽은 틸라피아의 肝臟, 脾臟 및 아가미는 퇴색되어 있다. 肝臟에는 細菌을 둘러싼 壞死巢가 보인다. 이것을 外側에서 2~3層으로 둘러싼 上皮細胞層이 形成되어 肉芽腫이 形成된다(Plate 8.9).

7. *Aeromonas hydrophila*

분리균 C-2, C-4, Is-4, Is-5, E-19의 형태를

Table 8. Morphological characteristics of the isolates

Characteristics	Strains				
	C-2	C-4	Is-4	Is-5	E-19
Cell-form	Short rods				
Size	1.9-2.7×0.8-1.3μm				
Gram stain	Negative				
Motility	Active				
Flagella	A single polar flagellum				
Acid fast	Negative				
Agar colonies	Circular, light yellow, moist, glistening, slightly raised				
Broth culture	Well-grown, muddy				

Table. 8에 표시하였다. 모두 Gram 陰性이며, 單鞭毛로서 활발히 운동하는 短杆菌으로서 크기는 1.9~2.7×0.8~1.3μm였다.

Nutrient agar상에서는 모두 25°C, 24시간만에 1mm 직경의 집락을 형성하고, 48시간 후에는 2mm 전후의 집락으로 성장되었다. 집락은 正圓形이고, 가장자리는 圓滑하고, 중심부가 약간 움기되고 습윤성 광택이 있다. 배양초기에는 무색 투명하나 시간이 지남에 따라 연한 황색을 띤다(Table 8).

生化學的 性狀

잉어에서 분리한 C-2와 C-4는 같았으나 이스라엘 잉어와 뱀장어에서 분리한 Is-4, Is-5, E-19는 약간의 차이가 있었다. 오히려 Is-4, Is-5, E-19는 유사한 성상을 나타냈다. Indole반응에 있어서 C-2, C-4는 陰性인데 비하여 Is-4, Is-5, E-19는 陽性이었다. MR실험은 Is-4은 ±인데 비하여 E-9는 陰性이었다. 암모니아 생산에 있어서도 C-2, C-4는 陽性인데 비하여 Is-4, Is-5, E-19는 陰性을 나타냈다. Mannose 분해에 있어서도 C-2, C-4는 酸만을 生産했으나 Is-4, Is-5, E-19는 酸과 Gas를 生産하였다. Trehwlose Dextrin Starch 분해에 있어서도 C-2, C-4는 酸만을 生産하는데 비하여 Is-4, Is-5, E-19는 酸과 Gas를 生産했다. 따라서 C-2, C-4의 性狀이 유사하고 Is-4, Is-5, E-19 性狀이 유사하였다(Table 9).

生物學的 性狀

분리균의 生物學的 性狀을 Table 10에 표시하였다.

Table 9. Biochemical characteristics of the isolates

Characteristics	Straoms				
	C-2	C-4	Is-4	Is-5	E-19
VP reaction	+	+	+	+	+
MR test	+	+	±	+	+
Indole production	-	-	+	+	+
IPA reaction	-	-	-	-	-
H ₂ S production	+	+	+	+	+
O-F test	F	F	F	F	F
Gelatin hydrolysis	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	+	+	+	+	+
MR reduction	+	+	+	+	+
Litmus milk	C	C	C	C	C
Catalase	+	+	+	+	+
Oxidase	+	+	+	+	+
Cytochrome oxidase	+	+	+	+	+
Ammonium production	+	+	+	+	+
Urease	+	+	-	-	-
KCN test	-	-	-	-	-
Arginine hydrolysis	+	+	+	+	+
Arginine decarboxylase	+	+	+	+	+
Lysine decarboxylase	-	-	-	-	-
2,3-butandiol dehydroge - nase	+	+	+	+	+
Malonate utilization	-	-	-	-	-
D-tartrate utilization	-	-	-	-	-
Hemolysis	+	+	+	+	+
Cleavage of carbohydrate :					
Glucose	A	A	A	A	A
Fructose	A	A	A	A	AG
Rhamnose	-	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-	-
Galactose	A	A	A	A	AG
Mannose	A	A	AG	AG	AG
Lactose	-	-	-	-	-
Saccharose	A	A	A	A	AG
Maltose	A	A	A	A	AG
Trehalose	A	A	AG	AG	AG
Cellobiose	-	-	-	-	-
Raffinose	A	-	-	-	-
Glycogen	A	A	A	A	AG
Dextrin	A	A	AG	AG	AG
Starch	A	A	AG	AG	AG
Inulin	-	-	-	-	-

Mannitol	A	A	A	A	A
Inositol	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-
Addnitro	-	-	-	-	-
Glycerin	A	A	A	A	AG
Dulcitol	-	-	-	-	-
Salicin	A	A	A	A	AG

F : fermentation, C : coagulation, A : acid, G : gas

Table 10. Biological characteristics of the isolates

Characteristics	Strains				
	C-2	C-4	Is-4	Is-5	E-19
McConkey agar	+	+	+	+	+
SS agar	+	+	+	+	+
NaCl range	0-4%	0-4%	0-4%	0-4%	0-4%
pH range	5-9	5-8	5-8	5-8	5-8
Temperature	10-37°C	10-37°C	10-37°C	10-37°C	10-37°C

모든 菌株는 MacConkey 寒天培地와 SS 寒天培地上에서 자라났다. 食鹽濃度도 4% 까지 발육되었으며 특히 0~2% 까지 잘 자랐다. pH도 다같이 5~8범위에서 발육되었다. 발육온도는 25~35°C까지 잘 자랐으나 발육 가능온도는 10~37°C로 측정되었다(Table 10).

血清學的 性狀

동경대학에서 분양받은 *A. hydrophila* A-10 抗血清에, 分離한 抗原 C-2, C-4, Is-4, Is-5, E-19의 凝集反應을 본 결과, C-2, C-4에는 320배, Is-4, Is-5에서는 160배, E-19에서는 640배에서 凝集됨으로서 모두 *A. hydrophila* 菌種임을 확인할 수 있었다. 분리균의 형태, 생물 및 生化學的 性狀을 *Bergey's manual of Determinative Bacteriology* 1卷(1984)과 *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria*(1974)에 기재된 것과 비교한 결과 *Aeromonas hydrophila*로 同定할 수 있었다.

8. *Edwardsiella tarda*

形態 및 生物學的 性狀

분리균의 크기는 0.5~1.0×0.3~0.5μm의 短杆菌으로서 Gram 陰性인 周毛性인 周毛性鞭毛를 지니며 활발한 運動性이 있었다. BHI 寒天培地에서 25°C, 24시간 만에 0.5mm의 colony가 形成되고, 48時間만에 1mm의 正圓形이고, 中心部가 隆起된 灰白色 colony가

성장된다. MacConkey 寒天培地와 SS 寒天培地에서 자라나 BTB Teepol 寒天培地에서는 자라나지 않았다. 發育溫度는 10~40°C이지만, 20~30°C에서 가장 잘 자랐다. pH는 6.0~9.0 범위에서 자라날 수 있으나, 7.2~7.4에서 가장 잘 자랐다. 食鹽濃度는 0~2% 까지 자랄 수 있으나 2% 이상에서는 자라지 못했다(Table 10).

生化學的 性狀

분리균의 catalase反應은 陽性이었으며, oxidase反應은 陰性이었다. 포도당을 발효적으로 이용하고 가스를 生産하였다.

Gelatin을 액화하지 않으며, 窒酸鹽을 還元시켰다. 전분과 arginine을 加水分解하지 않으며, glucose, fructose, mannose, galactose 및 glycerol을 分解하여 酸과 가스를 生産한다(Table 11).

血清學的 性狀

동경대학에서 분양받은 *Edwardsiella tarda* SU 703 菌을 포르말린으로 죽인것을 토끼에 接種하여 얻은 抗血清에 대한 凝集價는 E-20이 320배, T-6가 620배의 凝集素價를 나타냈다. 이상의 결과를 綜合하여 보면 다음과 같다.

Bergey's manual 1卷(1984)에는 *Edwardsiella tarda*를 다음과 같이 定義하였다. 즉 周毛性인 杆菌으로

Table 11. Comparison in characteristics between the isolates from diseased Eels and Tilapia(*Edwardsiella tarda*)

Characteristics	Isolates		<i>E. tarda</i> SU 703
	E-20	T-6	
Gelatin	-	-	-
Litmus milk	-	-	-
Indole	+	+	+
Hydrogen sulfide	+	+	+
Nitrate reduction	+	+	+
VP reaction	-	-	-
MR test	+	+	+
Urease	-	-	-
Catalase	+	+	+
Cytochrome oxidase	-	-	-
Hugh-Leifson test	F	F	F
KCN test	-	-	-
Tributyrate digestion	-	-	-
Starch hydrolysis	-	-	-
Ammonium	-	-	-
Lysine decarboxylase	+	+	+
Arginine decarboxylase	-	-	-
Ornithine decarboxylase	+	+	+
Kauffmann-Petersen broth :			
Citrate	+	+	+
Tartrate	-	-	-
Mucate	-	-	-
Citrate utilization(SIMONS')	-	-	-
Malonte utilization(EWING' s)	-	-	-
Gas from glucose	+	+	+
Acid from :			
Glucose	+	+	+
Xylose	-	-	-
Arabinose	-	-	-
Fructose	+	+	+
Galactose	+	+	+
Mannose	+	+	+
Sucrose	-	-	-
Maltose	-	-	-
Glycerol	+	+	(+)
Mannitol	-	-	-
Inositol	-	-	-

莢膜이 없으며 炭素源으로서 malonate와 citrate를 利用하지 않으며, TSI 寒天培地에서 H_2S 를 生産한다. Indole를 生産하고, lysine 및 ornithine을 脱炭酸化시켜며 많은 菌株는 mannitol을 발효하지 않는다고 하였다. 또한 Cowan and Steel's manual 第2版(1974)에서도 *Edwardsiella tarda*를 다음과 같이 定義하였다.

運動性이 있는 Gram 陰性 杆菌으로서 好氣性 또는 通性 嫌氣性이다. Catalase 陽性, oxidase 陰性이며, 포도당을 발효적으로 분해한다. TSI寒天培地에서 H_2S 를 生産한다. 분리균은 Table 11에서 表示한바와 같이 모두 이 定義에 充足되었다. 血清學的 性狀에 있어서도 이미 알고 있는 *E. tarda* 抗血清과 凝集됨으로서 이들 分離菌을 *Edwardsiella tarda*로 동정하는 것이 타당하다고 생각된다.

*Edwardsiella tarda*는 뱀등의 장내세균으로 알려져 있으며 사람이나 가축에서도 검출된다. 양식 뱀장어에는 오래전 부터 에드워드병으로 알려져 왔으며 이것은 실지령이를 통하여 감염되는 것으로 알려져 있다.

9. *Flexibacter columnaris*

温室加温水槽에서 飼育되고 있는 뱀장어는 초여름에 아가미병으로 대량 폐사되는 경우가 많다. 1985년도 전국적으로 아가미병이 유행되어 큰 피해를 입었다. 광주지구의 경우 낮과 밤의 수온차가 심한 5월에 대량폐사 되었는데, 1차적인 원인은 장기간에 걸쳐 암모니아나 아질산이 축적되어 있는 상태에서 2차로 수온차이가 심해져서 *F. columnaris*균이 대량번식되어 폐사가 일어난 것으로 추정된다.

아가미병에 감염된 뱀장어는 힘없어 수면이나 못가장자리를 떠돌아 다니거나, 모서리에 정지하고 있다. 그러나 외관상 아무런 병변을 볼 수 없으며 다만 체색이 회게 보이며 아가미가 약간 오목하게 함몰된 것과 같은 느낌이 든다. 이 부위를 손으로 누르면 피가 혼합된 점액이 나온다.

이와 같은 병어의 아가미 뚜껍을 절개하여 보면 홍도색 아가미 위에 汚泥가 고여 있고 황갈색의 粘質物이 보이기도 하며 아가미 일부가 부식된 것도 볼 수 있다. 반면 내장의 변화는 보이지 않으며 일반 세균성질병에서 볼 수 있는 *症도 없었다. 먹이도 정상적으로 먹기 때문에 外部診斷만으로는 진단하기 힘들다.

形態 및 生物學的 性狀

분리균은 0.3~0.5 μ m의 넓이와 5~15 μ m의 길이를 지닌 긴 杆菌으로서 gram陰性이며 鞭毛는 없지만 菌體의 한끝을 고정시키고 다른 쪽은 屈曲운동을 하였

다. *Cytophaga*寒天培地에서 25 $^{\circ}C$, 48時間만에 木樹根狀의 가장자리를 지닌 黃色 colony가 形成되었다. 발육온도는 15~32 $^{\circ}C$ 이지만 25~30 $^{\circ}C$ 에서 가장 잘 자랐다. 鹽分耐性에 있어서도 0.5%까지 자랐다. E-21, C-7만은 1%까지 자랐으나, 나머지는 1%에서는 자라지 않았다(Table 12).

生化學性狀

분리균의 生化學的性狀을 Table 12에 表示하였다.

Catalase, cytochrome oxidase陰性이며, H_2S , indole은 生産하지 않았다. Casein, gelatin을 分解하며, cellulose는 分解하지 않았다. Glucose, fructose를 分解하며 lactose, galactose, sucrose를 分解하지 않았다. Maltose, cellobiose, melibiose를 分解하고 arabinose xylose를 分解하지 않았다(Table 12).

이상의 결과를 종합하면 다음과 같다.

Bergey's manual 第1卷(1984)에 의하면 *Flavobacterium*屬으로 分類하는 것이 타당하다고 생각되나, Wakabayashi, Egusa, and Fryer(1980), Colwell(1969), Wakabayashi(1980), Wakabayashi and Egusa(1974), 田·孫(1985)등에 따르면 *Flexibacter columnaris*로 同定하는 것이 타당하다고 인정되었다.

10. 藥劑感受性

잉어, 이스라엘잉어, 뱀장어, 틸라피아에서 분리한 C-2, C-4, Is-4, Is-5, E-19, E-20, T-6, T-10, *A. hydrophila*와 *E. tarda*에 대한 藥劑感受性을 Table 13에 나타냈다.

Penicillin에 대해서는 耐性을 나타내는데 比하여 chloramphenicol과 nalidixic acid에 대해서는 강한 感受性을 나타냈다. Tetracycline과 furazolidone에 대해서는 弱한 感受性을 나타냈는데, 이는 각 양어장에서 이와 같은 藥劑를 빈번히 使用했기 때문으로 생각된다(Table 13).

*Flexibacter columnaris*의 항생제에 대한 감수성을 EIKEN과 SHOWA製의 disk를 사용하여 실험한 결과를 Table 14에 나타냈다. *Flexibacter*는 standard method에 의한 Muller Hinton배지를 사용하는 것보다 *Cytophaga*寒天培地를 사용하니 더욱 잘 자라났으므로 *Cytophaga*寒天培地를 이용하였다.

Penicillin에 대해서는 耐性을 지니나, erythromycin, chloramphenicol, tetracycline, nalidixic acid에 대해서는 강한 感受性을 나타냈다. Kanamycin과 gentamycin, furazolidone에 대해서는 弱한 感受性을 나타냈다(Table 14).

특히 藥劑感受성에 대해서는 變動이 심한 것을 관찰할 수 있었다. Tetracycline에 感受性이 높은 결과를

Table 12. Summary of characteristics of *Flexibacter columnaris* isolated from eels, carps, tilapia and comparison with closely related organisms

Characteristics	Isolates				<i>F. columnaris</i>
	E-21	C-7	Is-8	T-10	T-13
Gram staining	—	—	—	—	—
Shape	slender rod 0.3–0.5 x 6–15	slender rod 0.4–0.5 x 5–15	slender rod 0.3–0.5 x 5–16	slender rod 0.3–0.6 x 5–14	slender rod 0.3–0.5 x 5–15
Motility	+	+	+	+	+
Aerobic growth	+	+	+	+	+
Anaerobic growth	—	—	—	—	—
Growth in 10°C	+	+	+	+	+
25°C	+	+	+	+	+
30°C	+	—	—	+	+
NaCl tolerance :					
Growth in 0%	+	+	+	+	+
0.5%	+	+	—	—	—
1.0%	+	+	—	—	—
2.0%	—	—	—	—	—
Production of :					
catalase	+	+	+	+	+
cytochrome oxidase	+	+	+	+	+
hydrogen sulfide	—	—	—	—	—
indole	—	—	—	—	—
Degradation of :					
casein	+	+	+	+	+
gelatin	+	+	+	+	+
starch	+	+	+	d	—
chitin	+	+	d	—	—
cellulose	—	—	—	—	—
Fermentation of :					
glucose	+w	+w	d	d	—
fructose	+	+	+	+	+
lactose	—	—	—	—	—
galactose	—	—	—	—	—
sucrose	—	—	—	—	—
maltose	+	+	+	+	+
cellobiose	+w	+w	+w	+w	+w
melibiose	+w	+w	+w	+d	+d
arabinose	+	+	—	—	—
xylose	—	—	—	—	—
raffinose	+w	+w	+w	+w	+w
inulin	+w	+w	+w	+d	+d

adonitol	-	-	-	-	-
mannitol	-	-	-	-	-

+ : positive, +w : weakly positive, - : negative, d : diverse

Table 13. Antimicrobial sensitivity of *A. hydrophila* and *E. tarda* isolated from diseased fish (sensitivity disks "EIKEN & SHOWA)

Antibacterials agent	Concn. (μg)	Levels of sensitivity Strains							
		C-2	C-4	Is-4	Is-5	E-19	E-20	T-6	T-10
Penicillin	30	-	-	-	-	-	-	-	-
Erythromycin	30	+	+	+	+	+	+	+	+
Kanamycin	30	++	++	++	++	++	++	++	++
Chloramphenicol	30	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Oleandomycin	30	-	-	-	-	-	-	-	-
Gentamicin	30	+	+	-	-	+	+	+	+
Tertaciline	30	++	++	++	++	++	++	++	++
Nalidixic Acid	50	+++	+++	+++	+++	++	+	++	++
Furazolidone	20	+	+	+	++	++	+	+	-

Describes the zone of inhibition in millimeters :

- : resistant, + : 0-9, ++ : 10-19, +++ : 20-30

Table 14. Antimicrobial sensitivity of four strains of *F. columnaris* isolated from diseased fish (sensitivity disks "EIKEN & SHOWA)

Antibacterials agent	Concn. (μg)	Levels of sensitivity Strains					<i>F. columnaris</i>
		C-7	Is-8	e-21	T-16	T-13	
Penicillin	30	-	-	-	-	-	
Erythromycin	30	+++	+++	+++	+++	+++	
Kanamycin	30	+	+	+	+	+	
Chloramphenicol	30	+++	+++	+++	+++	+++	
Oleandomycin	30	++	++	++	++	++	
Gentamicin	30	+	+	+	+	+	
Tertaciline	30	+++	+++	+++	+++	+++	
Nalidixic Acid	30	+++	+++	+++	+++	+++	
Furazolidone	20	++	++	+	+	+	

Describes the zone of inhibition in millimeters :

- : resistant, + : 0-9, ++ : 10-19, +++ : 20-30

영어 2~3회 tetracycline을 사용하면 치유효과가 없어지는 것을 볼 수 있었다. 이때에 tetracycline에 대한 내성이 높게 나타났다.

따라서 병이 流行될 때 마다 藥劑感受性시험을 실시하여 적절한 藥劑를 투여하여야 되리라 생각된다.

이와같은 결과는 Aoki등(1871), Aoki등(1973), Aoki(1981)등의 보고와는 차이가 있다. 그동안 약제의 무절제한 사용에 따라 내성균이 많이 생겼는 것으로 생각된다.

11. 免疫效果 調査

1978년 Gould와 Fryer등에 의하면 어류를 면역시키는 경제적인 Vaccine 투여방법을 개발하였다.

즉, 7.0kg/cm²壓力을 지닌 液體噴霧器를 이용하여 Vibrio Vaccine을 Vaccination하여 높은 免疫價를 獲得하였다고 하였다. 이 噴霧 Vaccination(Spray Vaccination)은 경구적 Vaccine보다 높은 免疫이 獲得되는 것이 判明되었다 한다.

Itami(1980)도 양식잉어(*Plecoglossus altivelis*)에 Vibrio vaccine을 Spray Vaccination한 결과 Vaccine種類에 따라 큰 差異가 있었는데 포르말린死菌Vaccine이 가장 높은 凝集價를 獲得하였으며, 또한 가장 장기간 유지되었고, 포르말린死菌에 Bentonite을 첨가한 것이 더욱 효과가 있다고 하였다. 따라서 集團免疫 獲得方法으로는 Spray Vaccination이 가장 유효하다고 인정된다.

豫備實驗으로 經皮 Vaccination과 浸漬 Vaccination으로 免疫 可能性 如否를 조사 하였다.

Table 15에 나타난 바와같이 잉어, 이스라엘 잉어 및 뱀장어에서 분리한 *A. hydrophila* C-2, Is-5, E-19를 接種한 잉어와 抗血清에 대한 凝集價는 높게 나타났다.

C-2를 接種한 잉어는 1주일만에 80배에서, 3주일만에 640배, 6주일만에 1,280배로 그 凝集價가 증가되다가 9주 및 12주일 것은 320배로 減少되었다.

Is-5를 接種한 잉어는 1주일만에 160배, 3주일만에 1,280배, 6주일만에 2,560배로 증가하였다가 9주일 및 12주일후에는 640배로 減少되었고, 15주일만에는 160배로 감소되었다. 뱀장어에서 분리한 E-19를 接種한 잉어는 1주일만에 160배, 3주일만에 2,560배로 증가하다가 9주일후에는 640배로, 12주일후에도 640배로 감소되었다. 18주일이 지나니 모두 40배로 減少되는 것으로 보아서 15주정도의 免疫效果를 기대할 수 있었다. Vibrio균과 같이 Aeromonas균도 O抗原에 대하여 단기간에 높은 抗體를 生産하는 能力이 있는 것으로 추정되나 빨리 그 力價가 감소되는 결합이 있다 Gould등(1078), Itami(1980).

變温動物에 있어서의 抗體生産能力은 水温에 따라 심한 차이가 난다. Nybelin(1935) 및 Pliszka(1939)는 魚類의 抗體生産能力은 10℃이하에서는 일어나지 않는다고 하였으며, Mann(1935)은 잉어의 경우 18~20℃에서 가장 높은 凝集價를 얻었다고 하였다. Dulf(1942)는 연어와 송어類에 있어서는 10℃에서도 抗體가 生産된다고 하였다.

Hosina(1962)는 뱀장어에 *A. hydrophila*를 接種하여 水温6~10.5℃에서 56일간 사육한 결과 凝集價 320~640을 얻었다고 하였다. 반면 Autalion(1979)은 水温 25℃下에서의 잉어는 抗原接種으로 9日만에 抗體가 生産되었으나, 水温 12℃下에서는 抗原接種후 5~6個月이 지나도 抗體가 檢出되지 않았다고 하였다. 또한 25℃에서 抗體生産을 시킨후 12℃ 水温에 옮겨도 正常的인 免疫反應이 일었다고 했다.

따라서 魚類의 免疫反應은 水温에 影響을 받는 것으로 생각된다. 본 실험에 있어서는 잉어 飼育水温을 18.0~21.6℃로 유지시켰다. Table 15에서 보는 것과 같이 단기간에 높은 凝集價가 얻어지는 반면, 지속성이 없이 빨리 凝集價가 減少되었다. 免疫抗原接種후 6週만에 最高에 達했으며, 18주후에는 平均凝集價 40으로 저하되었다. 이 점은 알수 없으나 Kimura(1970)가 무지개송어에 *A. salmonicida*의 加熱死菌을 接種한 후 18주만에 平均 2,048의 凝集價를 얻은 결과와는 큰 차이가 있다.

生菌에 의한 攻擊試驗

Vaccine을 接種한 후 3주일후에 *A. hydrophila* C-2 生菌에 의한 攻擊試驗을 한 결과 C-2 포르말린死菌區에서는 20%의 폐사가 일어났고, Is-5 포르말린死菌區에서는 10%의 폐사율이 나타난 반면 對照區에서는 100%가 폐사되었다.

9주후에 다시 生菌接種을 한 결과 C-2區에서는 50%, Is-5區에서는 20%, E-19區에서는 10%의 폐사율을 나타냈으며 對照區에서는 100% 폐사되었다.

이상을 綜合하니 포르말린死菌에 의한 感染防禦效果가 있으므로 *A. hydrophila*는 Vaccine에 의한 豫防 可能性이 있다고 인정된다.

Hoshina(1962)는 *A. punctata*(*A. hydrophila*)와 *Edwardsiella tarda*(*Paracolonobacterium anguillimortiferum*) 같은 量의 포르말린 死菌을 근육에 接種한 후, 生菌 攻擊시험을 한 결과 Vaccine의 有效性을 확인하였다. Hara(1976)는 산천어에 *A. salmonicida*의 經口적으로 Vaccine을 투여한 결과 免疫效果가 있었다고 했다. 또한 Kawai(1981)는 은어에 Vibrio병 經口 Vaccine의 有效性을 확인 하였다. Kusuda(1980)는 은어 Vibrio병의 浸漬法 Vaccine의 有效性을 확인했다. 따

Table 15. Changes in agglutinin titer formalin-killed cells of *A. hydrophila* in the carp.

Strain	Number of fish	Mean of body weight	Geometric mean of agglutinin titer(1 :)						
			Weeks after immunization						
			1	3	6	9	12	15	18
Control	5	500(g)	0	0	0	0	0	0	0
C - 2	10	400(g)	80	640	1,280	320	320	80	20
Is - 5	10	500(g)	160	1,280	2,560	640	640	160	40
E - 10	10	600(g)	160	1,280	2,560	640	640	160	40
Mean of water temperature($\frac{1}{2}$)			18.0	18.6	19.4	19.6	20.7	20.8	21.6

라서 이 Vaccine을 양식어류에 미리접종하여 둔다면 豫防效果가 클 것으로 추정된다(Table 15).

전국 뱀장어 温室加温池에서 년중 검출되는 *Edwardsiella tarda*에 의한 피해가 크다. 또한 孢子蟲과 다른 병원균과의 混合 감염일 때는 폐사율이 높은 것이 특징이었다.

이와같이 유행되는 Edward병은 뱀장어 뿐만 아니라 틸라피아에도 심한 피해를 주며 잉어, 금붕어, 은어, 무지개송어, 매키, 송어, 참돔등 담수어와 해산어에서도 감염된 것이 증명되었다.(Wakabayashi등(1973), Hoshina(1962), Meyer(1973), Miyaxhita(1984), Kusuta(1970), Kusuta(1977), Kusuta(1981))

이와같이 광범위하게 감염되는 Edward병의 예방이 시급한 문제로 대두되었다.

*Edwardsiella tarda*는 血清型을 달리하는 菌株간에 있어서의 病病性에 차이가 있으며(朴등 1982), O抗原에 대한 免疫應答에도 異見이 있다.(Fulvio등(1983)) *Vibrio Vaccine*인 경우 포르말린死菌 O抗原에 의한 근육주사법 浸漬法 및 *Spray Vaccination*으로 높은 防禦免疫能力이 확인되었다. Gould and Fayer(1978), 田(1985), Sahai 등 (1984), Aptipa등 (1977), Aoki(1984), Kawano(1983), Gould(1978).

*E. tarda*의 경우 건강한 뱀장어 장내에서도 검출되고 병어의 장내에서도 검출되며, 사육수중과 뱀에서도 검출된다. 병어의 장내 내용물에서 수많은 *E. tarda*균이 분리되지만 腸組織에는 아무런 病變이 일어나지 않았다. Ullah & Arai(1983)는 뱀장어와 넙치에서 분리한 *E. tarda* 菌株에 대하여 각종 병원성을 조사한 결과 菌體가 지닌 溶血毒性이 토기 피부에 대한 塊死毒性을 가지나 大腸菌이 가지는 腸管毒素은 인정되지 않았다고 하였다. 이와 같은 사실은 腸内の *E. tarda*는 腸組織에 病巢를 형성하는 특징을 가진다. 병리학적으로 纖維素性化膿炎이다(Plate. 8).

본 실험에서 뱀장어에서 분리한 *E. tarda*를 틸라피아에 접종하고 그 동태를 조사한 바, 毒을 지닌 菌株 일지라도 접종한 틸라피아는 자연 치유되었다. *E. tarda*가 魚體의 血液中에서 증식하는데는 條件이 따르는 것 같다(Table 16).

Table 16. Agglutinin titer of anti-*E. tarda* SU 703, E-20 rabbit sera against *E. tarda* E-20, T-10, T-6 isolates

Antiserum	<i>Edwardsiella tarda</i> antigen			
	strain			
	SU703(F)	E-20(F)	T-6(F)	T-10(F)
Anti <i>E. tarda</i> SU 703	2560	640	620	320
Anti <i>E. tarda</i> E - 10	160	2560	1280	1280

(F) : Formalin-Killed

*E. tarda*는 細網內皮細胞나 好中球 등의 食細胞에 捕食되어도 그들 細胞內에서 증식하고, 나아가서 塊死되어 膿을 만든다. 따라서 免疫應答의 기구가 成立되기 힘든 것을 알 수 있다. Fulvio등(1983)은 *E. tarda*의 lipopolysaccharide(LPS), 培養濾液 및 포르말린死菌을 각각 뱀장어 筋肉內接種하여 그 血清의 抗體價를 測定하였더니 抗體價의 上昇이 확인되었다. 그러나 攻撃후의 生殘率은 lipopolysaccharide 免疫群이 가장 높았으며, 포르말린死菌이나 LPS가 다같이 높은 凝集反應을 나타냈으나 lipopolysaccharide抗原이 Vaccine으로서 가장 유효하다고 인정된다.

포르말린死菌 懸濁液에 浸漬시킨 틸라피아는 凝集價를 나타내지 않았으므로 防禦免疫效果는 기대할 수

없었다. Song등(1982)에 의하면 反復浸漬시키므로서 對照群에 比하여 높은 防禦免疫을 기대할 수 있다고 하였다.

要 約

잉어科 魚類인 잉어, 이스라엘잉어, 붕어와 뱀장어 틸라피아에서 발생하는 細菌性疾病에 대하여 그 病因을 밝혔고, 감염과 발병과정을 해명함과 동시에 診斷上 기준이 되는 특징을 明白히 하여 효과적인 예방과 치료대책을 강구한 종합적인 연구 結果이다.

全國各地에서 발생하는 잉어, 이스라엘잉어, 붕어, 뱀장어 및 틸라피아 등 450마리의 病魚에 대하여 外部症狀, 해부학적 소견, 병리조직학적 소견, 병원균 분리 동정 등으로 세균성질병 診斷의 기준이 되는 특징을 明白히 하였다.

이들 세균성질병은 體表나 지느러미에 充血이나 出血이 심하고, 肝臟·脾臟·腎臟에 울혈이 일어나고 장관에 炎症이 일어나며, 各組織에 出血性炎症이 관찰된다. 症狀이 심한 것은 各組織의 壞死 및 膿瘍이 형성된다.

이상과 같은 病魚를 細菌學的으로 調査한 結果 *Aeromonas hydrophila*와 *Edwardsiella tarda*균이 순수 분리 동정되었다.

특히 주기적으로 調査한 222마리의 병든 뱀장어에서 177病原菌株를 분리하였는데 *Aeromonas hydrophila*가 29.94% *Edwardsiella tarda*가 48.58%, *Flexibacter columnaris* 21.47%였다. 이중 *Flexibacter columnaris*는 아가미가 부식된 뱀장어의 아가미에서 분리되었다.

이들 分離 菌株中 *Aeromonas hydrophila*와 *Edwardsiella tarda*를 실험어류에 접종한 結果 같은 病이 발생되었고, 발병된 실험어류에서 접종한 병원균이 분리되었다.

광주, 부산 등지에서 수집한 병든 뱀장어로부터 분리되어 *Aeromonas hydrophila*병으로 진단된 뱀장어는 지느러미와 體表에 出血이 일어나 부어올랐으며, 腸과 胃에도 炎症이 일어나고 있었다. 腸의 내용물은 병원균이 混合된 粘液物質로서 腸炎을 유발시키고 있었다. 분리된 *A. hydrophila*의 5菌株를 비단잉어와 붕어에 접종한 結果, 3-4일만에 발병되어 죽었으며 죽은 실험어는 모두 *A. hydrophila*병의 특징을 나타냈다.

병든 뱀장어에서 *Edwardsiella tarda*균이 분리되어 Edward병으로 진단된 병어는 體表에 膿瘍이 形成되며 膿과 같이 다수의 貧食細胞가 集結되어 있었다. 중상이 진행됨에 따라 組織이 용해되어 膿瘍이 大形化되었다.

內臟에 있어서도 크고 작은 膿瘍이 보였는데 특히 胃腸에는 흰 結節이 다수 나타났다. 병리조직학상으로는 진행중인 크고 작은 肉芽腫이 다수 관찰되었으나, 장염은 관찰되지 않았다.

병든 뱀장어중 아가미가 부식되고 *Flexibacter columnaris*가 분리되어 Columnaris병으로 진단된 뱀장어는 體色이 약간 회게 보일뿐 다른 外部症狀인 出血과 充血은 전혀 나타나지 않았다.

해부하여 보아도 아가미가 약간 부식되어 있었으나 각 내장은 正常的이었으며 腐敗臭가 전혀 나지 않았다.

이들 세균성 질병을 치료하기 위해서는 20ppm의 chloramphenicol 또는 kanamycin에 1시간 약욕시키거나, 하루에 chloramphenicol 75mg을 1kg에 해당되는 병어에 5~7일간 투여하여야 한다.

포르말린 처리한 *Aeromonas hydrophila*항원을 잉어에 주사한 결과 3주에서 6주사이에 높은 응집가를 나타냈으며, 비록 凝集價는 감소되었지만 18주까지 지속되었다.

포르말린 처리한 *Edwardsiella tarda*항원을 틸라피아에 주사한 결과 높은 凝集價가 나타났으나, 포르말린 처리한 *Edwardsiella tarda*균을 현탁시킨 용액에 浸漬시킨 틸라피아는 凝集價를 나타내지 않았다.

Reference

- Aoki, T. and S. Egusa(1971): Drug sensitivity of *Aeromonas liquefaciens* isolated from freshwater Fish. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 37(3), 176-185.
- Aoki, T. and T. Watanabe(1973): Studies of Drug-resistant bacteria isolated from eel-pond water and intestinal tracts of the eel. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 39(2), 121-130.
- Aoki, T. and K. Kawand(1981): Changes in Drug-resistance of *Vibrio anguillarum* in Cultured Ayu, *Plecoglossus altiveitis*. in Japan. J. Fish. Diseases, 4, 223-230.
- Aoki, T., M. Saki, and S. Takahashi(1984): Protective Immunity in Ayu, Vaccinated by Immersion with *Vibrio anguillarum*. Fish Pathology, 19(3), 181-185.
- Abtalion, R. R., Q. Wajdani, Z. Malik, R. Sharabani, and M. Kuczyminer(1973): Influence of environmental temperature on the immune response in fish. Curr. Topics. Microbiol. Immun.,

- 61, 1-35.
- Amandi, A., S.F. Hiu, J.E. Rohovec, and J.L. Fryer (1982) : Isolation and characterization of *Edwardsiella tarda* from fal Chinook salmon. Appl. Environ. Microbiology, 43(6), 1380-1384.
- Bullock, G. L. (1972) : Studies on selected Myxobacteria pathogenic for Fishes and on Bacterial Gill Disease in Hatchery-Reared Salmonids. U.S. Fish. Wildl. Serv. Tech. Paper, 60, 30pp.
- Colwell, R. (1969) : Numerical Taxonomy of the Flexibacteria. J. Gen. Microbiol., 58, 207-215.
- Cowan, S. T. (1974) : Manual for the Identification of medical bacteria 2nd. Cambridge Univ. Press. London. 238pp.
- 田世圭(1983) : 高密度 養魚 養殖水槽の 疾病対策. 韓水誌, 10(2), 103-110.
- 田世圭・孫相奎(1985) : 틸라피아에서 分離한 *Flexibacter columnaris* 性狀. 韓水誌, 18(4), 369-373.
- 田世圭・金鎮禹(1985) : *Vibrio* 菌에 대한 養魚의 免疫反應. 韓水誌, 18(5), 464-470
- Duff, D. (1942) : The oral immunization of trout against, *Bacterium salmonicida*. J. Immunol., 44, 87-94.
- Fijan, N. N. and P. R. Voorhees(1969) : Drug sensitivity of *Chondroceccus columnaris*. Veterinarxki arhiv. Zagreb. Knjiga, XXX/X, (910) 259-267.
- Gould, R. W., P. J. O'Leary, R. L. Garrison, J. S. Rohovec, and J. L. Fryer(1978) : Spray Vaccination : A method for the Immunization of Fish. Fish Pathology, 13(1), 63-68.
- Gould, R. W., P. Antipa, and D. F. Amend (1979) : Immersion Vaccination of Sockeye Salmon with two pathogenic strains of
- Hosina, T.G(1964) : ムナギの鱧赤病に関する研究. 東京水大特報. *V. anguillarum*. J. Fish. Res. Board. Can., 36, 222-225. 6, 1-104.
- Hara, T., K. Inoue, S. Morikawa, and F. Tashiro(1976) : Vaccination trials for control of furunculosis of salmonids in Japan. Fish Pathology, 10, 227-235.
- Hatai, K., S. Ogawa, and N. Yasunaga(1982) : Pathogenicity of *Edwardsiella tarda* Isolated from Cultured Red Sea Bream. Bull. Nagasaki pref. Institute Fish. No. 8, 67-73.
- Itani, T. and R. Kusuda(1980) : Studies on Spray Vaccination against Vibriosis in Cultured Ayu -1. Bull. Japan. soci. Scien. Fish., 46(5), 533-536.
- Ishihara, S. and R. Kusuda (1982) : Growth and Survival of *E. tarda* Bacteria in Environmental water. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 48(4), 483-488.
- Kimura, N.(1969) : A New Subspecies of *Aeromonas salmonicida* as an Etiological agent of furunculosis on *Oncorhynchus masou* and *O. gorbuscha* rearin for maturity part 2, on the serological properties. Fish Pathology, 3(2), 45-52.
- Kimura, N., H. Wakabayashi, and S. Kudo (1978) : Studies on bacterial gill transmitting gill disease, in salmonids, 1. Selection of bacterium transmitting gill disease. Fish Pathology, 12, 233-242.
- Kusuda, R., and Y. Takahashi (1970) : Studies on the scale protrusion diseases of Carp Fishes. 1. Fish Pathology, 4(2), 87-95.
- Kusuda, R., T. Toyoshima, Y. Iwamura, and H.H. Sako (1976) : *E. tarda* from and Epizootic of Mulletts(*Mugil cephalus*) in Okitsu Bay. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 42(3), 171-175.
- Kusuda, R. and S. Ishihara(1981) : The Fate of *E. tarda* Bacteria after intramuscular injection of Eels. Bull. Japan. Soc. Sci., 47(4), 475-479.
- Kanai, K., H. Wakabayashi, and S. Egusa (1977) : Comparison of Intestinal Microflora between Healthy and diseases Pondcultured Eels. Fish Pathology, 12(3), 199-204.
- Kawai, K. and R. Kusuda(1983) : Efficacy of the Lipopolysaccharide vaccine vibriosis in cultured Ayu. Bull. Japan. Soc. Sci., 49(4), 511-514.
- Kawano, K., T. Aoki, and T. Kitao(1984) : Duration of protection against vibriosis in Ayu *Plecoglossus altivelis* vaccinated by Immersion and oral Administration with *Vibrio anguillarum*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 50(5), 771-774.
- Krieg, N. R. and J. G. Holt ed. (1984) : Bergey's Salati, manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. 964. pp. Williams & Wilkins, Baltimore, U.S.

A.

- Kevin, H. G (1985) : Procedures for the Detection and Identification of Certain Fish Pathogens. 3rd. Ed Fish Health section, American Fisheries Society, Oregon.
- Lewin, R. A. (1969) : A Classification of Flexibacteria. J. Gen. Microbiol., 58, 189.
- Meyer, F. R. and G.L. Bullock (1973) : *E. tarda* a New pathogen of Channelcatfish. appl. Microbiology, 25(1), 155-156.
- Macfaddin, J. F. (1980) : Biochemical tests for Identification of Medical Bacteria. Williams & Wikins, P. 526, U.S.A.
- Minagawa, T., T. Nakai, and K. Muroga (1983) : *Edwardsiella tarda* in Eel. culture Environment. Fish Pathology, 17(4), 243-350
- Miyashita, T. (1984) : *Pseudomonas fluorescens* and *E. tarda* isolated from diseased Tilapia. Fish Pathology, 19(1), 45-50.
- Nybelin (1935) : Untersuchungen uber den bei Fischen Krankheit serregenden Spaltpilz *Vibrio anguillaum*. Medd. Undersokn-Anst. Sotvat-ten Fish. Stockhalm, 8-62.
- National Committe for linical Laboratory standards. (1976) :
Performance standards for antimicrobial disc Susceptibility tests.
- Pliszka (1939) : Unter suchungen uber die Agglutinine vei Karp fen vorlaufige mitteilug. Zbl. Bakt. Hyg. I. Olig., 143, 262-264.
- Park, S. I., H. Wakabayashi, and Y. Watanabe (1983) : Serotype and Birulence of *Edwardsiella tarda* isolated from eel and their environment. Fish Pathology, 18(2), 85-89.
- Sakazaki (1967) : studies on th Asakusa group of Enterobacteriaceae (*E. tarda*). Japan. J. Med. Sci. Biol., 20, 205-212.
- Sorimachi, M., and S. Egusa (1971) : Aerobic Bacteria in the Intestines of pond-cultured Eels. Fish Pathology, 6(1), 1-7.
- Sugita, H., Y. Ishida, and H. Kadot (1980) : Media for the Enumeration and Isolation of Aerobic Bacteria in gastrointestinal of *Tilapia nilotica*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 46(1), 91-95.
- Song, Y.L., G. H. Kou, and K. Y. Chen (1982) : Vaccination conditions for the Eel, with *Edwardsiella anguillimortifera* Bacterin. CAPD Fisheries Series, 8, 18-25.
- Salati, F., K. Kawai, and F. Kusuda (1983) : Immunoresponse of Eel against *Edwardsiella tarda* Antigens. Fish Pathology, 18(3), 135-141.
- Selati, F., K. Kawai, and F. Kusuda (1984) : Immune response of Eel to *Edwardsiella tarda* Lipopolysaccharide. Fish Pathology, 19(3), 187-192.
- Saki, M., T. Kitao, J. S. Rohovec, and J. L. Fryer (1984) : Comparision of the cellular immune response of Fish vaccinated by Immersion and injection of *Vibrio anguillarum*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 50(7), 1187-1192.
- Takahashi Y., and H. Hujino (1984) : Growth of Epiphytic Bacteria on the body surface, skin, gill, and intestinal tract of Carp under breeding conditions. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 50 (5), 735-742.
- Ugajtn, M. (1979) : Studies on the Taxonomy of Major microflora on the Intestina contents of salmonids. Bull. Japan. Soc. Sci. Fixh., 45(6), 721-831.
- Wakabayashi, H., and K. Kira, and S. Egusa (1970) : Studies on columnaris diseases of pond-cultured Eels-1. characteristics and Pathogenicity of *Chondrococcus columnaris* Isolated from pond cultured eels. Bull. Japan. Soc. Sci. fish., 36(2), 147-155.
- Wakabayashi, H., and S. Egusa (1973) : Studies changes of Bacterial infections among pond-cultured Eels. Fish Pathology, 8(1), 91-97.
- Wakabayashi, H., K. Kanai, and S. Egusa (1976) : Ecological studies of Fish pathogenic Bacteriz in eel farm-1.
Isolation of Aerobic Bacteria from pond water. Fish Pathology, 11(2), 63-66.
- Wakabayashi, H., and S. Egusa (1979) : What is the Best organ for the Isolation of Eel-pathogen. fish Pathology, 13(4), 201-203.
- Wakabayashi, H. (1980) : Bacterial gill diseases of salmonid Fish. Fish Pathology, 14(4), 185-189.
- Wakabayashi, H., and S. Egusa, and J. L. Fryer (1980) : Characteritics of filamentous bacteria Isolated from a gill diseases of Salmonids. Can. J. fish. Aqua. Sci., 37, 1499-1504.
- Wyatt, L., R. Nickelson, and C. Vaderzant (1979) :

Edwardsiella tarda in Freshwater Catfish and Their environment. Appl. Environ. Microbiology, 38(4), 710–714.

- Plate 1. Crucian carp representing reddish fin, 24hrs after intramuscular infection of the *A. hydrophila* strain Is-5.
- Plate 2. Color carp representing swelled reddish abdomen and scale protrusion, 24 hrs after intramuscular injection of the *A. hydrophila* strain Is-5.
- Plate 3. Naturally infected Israel carp representing hemorrhagic body surface.
- Plate 4. Naturally infected eels representing reddish fin, and body surface ulceration.
- Plate 5. Color carp representing reddish abdomen and body surface ulceration, 48 hrs after intramuscular injection of the *A. hydrophila* strain E-19.
- Plate 6. Tilapia representing hemorrhagic body surface, 24hrs after intramuscular injection of the *E. tarda* strain E-20.
- Plate 7. Tilapia representing many white lesion of the body surface, 96hrs after intramuscular injection of the live *E. tarda* strain E-20.
- Plate 8. Liver of tilapia(Plate 7) representing focal necrosis with the bacteria-laden inflammatory cells, after 96 hrs direct smear, x2000.
- Plate 9. Liver of tilapia(Plate 7) representing small granuloma in the infected lesion after 120 hrs, H-E stain, X400.

