

## 동절기 한국 남해안의 궤양증 및 복수증 양식 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)로부터 *Vibrio* 종의 분리

이훈구 · 김희제 · 김 일

부산 수산 대학교 미생물학과

### Isolation of *Vibrio* Species from Cultured Flounders (*Paralichthys olivaceus*) with Ulcers and Ascites in the Southern Coast of Korea during the Winter Season

Lee, Hun-Ku, Hee-Je Kim and Il Kim

Department of Microbiology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

**ABSTRACT:** This study was performed for the purpose of surveying the distribution and characteristics of the *Vibrio* species in the diseased farm flounders (*Paralichthys olivaceus*) during the winter season in Korea. Samples were collected along the southern coast in the Sinam, Keoje Island, and Yeosu areas from November '90 to February '91. Nine species of *Vibrio* were identified as *V. tubiashii* (85 strains), *V. damsela* (78 strains), *V. anguillarum* (21 strains), *V. campbelli* (9 strains), *V. fluvialis* (9 strains), *V. costicola* (1 strain), *V. alginolyticus* (1 strain), *V. gazogenes* (1 strain), *V. marinus* (1 strain), and unidentified 3 groups of bacteria (154 strains) which may have related with *V. tubiashii* were isolated. Eleven kinds of discs (BBL Co.) were used for antibiotic susceptibility test and 116 strains were selected for the experiment. Most bacteria were powerfully inhibited their growth by 4 antibiotics such as cephalothin, chloramphenicol, colistin, and tetracycline, but they were poorly inhibited by 4 antibiotics such as carbenicillin, kanamycin, penicillin G, and streptomycin.

**KEY WORDS** □ *Vibrio* species, Farm Flounders (*Paralichthys olivaceus*)

## 서 론

1990년 11월 신암 지역에 있는 넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 양식장에서 출혈성 궤양증이 집단 발생하여 양식 넙치의 대량 폐사가 있었다. 이 질병 원인은 세균이나 바이러스에 의해서 비교적 단기간에 집단적으로 발생한 넙치 전염병으로 추정되었다. 질병의 원인을 규명하기 위해서는 일차적으로 병어체로부터 분리된 미생물군이 밝혀져야 되며 우점종으로 분리된 균종이 무엇인가 추적되어야만 한다.

넙치 (*Paralichthys olivaceus*)는 가자미목 (Order Pleuronectida)의 넙치과 (Family Bothida)에 속하는 어종으로 우리나라에서는 1984년 양식이 성공되어 현재 남해, 동해, 서해안 일대에서 육상 양식 시설을 이용하여 대량으로 축양하고 있다 (Kim *et al.*, 1988).

그러나 과밀도 양식과 인공적인 환경조건 때문에 어체가 약화되어 여러가지 질병에 의한 대량 폐사가 유발되고 있다. 그 중 *Vibrio*속, *Edwardsiella*속 등 몇 종류의 세균군이 넙치를 비롯한 여러 양식 어종에게 궤양증이나 복수증 등의 질병을 유발하는 것으로 보고되어 있다 (Bullock and Herman 1988, Egidius 1987, Kusuda *et al.*, 1976, Lee *et al.*, 1990).

*Vibrio*속 세균들은 Gram 음성, 호염성 간균으로 현재 30여종의 균종이 보고되어 있고 그 중 약 10여종은 사람에게도 병원균으로 작용하며 다른 수종의 *Vibrio*들은 넙치를 비롯한 여러 종류의 해수 및 담수 어류에 치명적인 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다. 그중에서 *V. anguillarum*은 출혈성 궤양을 비롯하여 복수증, 인구 돌출증 등을 유발하는 대표적인 어류 병원균이다 (Baumann *et al.*, 1984, Kelly *et al.*,

1991, Hickman *et al.*, 1982, Clarridge *et al.*, 1985). 최근에는 *V. damsela* (Love *et al.*, 1981), *V. ordalii* (Chart and Trust, 1984), *V. salmonicida* (Egidius *et al.*, 1986), *V. carchariae* (Grimes *et al.*, 1984) 등 몇 종류의 *Vibrio* 균들이 어병의 새로운 원인균으로 밝혀지고 있다.

본 연구자들은 출혈성 폐양어의 집단 발병을 계기로 하여 일차적으로 세균종을 조사할 필요성을 느꼈다. 그 결과 남해안의 신암을 비롯한 거제도, 여수 지역의 넙치 양식장에서 겨울철 저수온기에 발생된 출혈성 폐양어를 중심으로 복수어, 정상어 및 양식장내의 해수 등으로부터 수종의 *Vibrio* 균을 우점종으로 분리하였고, 이들에 대한 항균제 감수성 시험을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 조사 기간 및 지역

조사 기간은 신암 지역의 경우 1990년 11월 부터 1991년 2월 까지 4개월이었고 거제 및 여수 지역은 1991년 1월부터 2월 까지 월 1회씩 2회이었다.

조사 지역은 남해안의 거제도와 여수 돌산도의 넙치 양식장과 동남에 위치한 신암의 넙치 양식장이었다. 양식장 시설은 모두 육상 수조식형으로 시멘트 탱크 시설이었으며 거제지역에서 조사된 양식장은 순환 여과식 설비를 갖추고 있었다. 수온은 신암이 1월 혹한기에 13°C 정도였고, 여수 지역이 6-7°C 였으며, 거제도 지역은 가온하여 평균 17°C로 균일하게 유지시키고 있었다.

### 2. 검체

출혈성 폐양어, 복수어, 정상어, 양식장 해수(수조내 해수 및 배수구 해수) 등으로부터 균주가 분리되었다.

출혈성 폐양어는 11월에 주로 신암 양식장에서 다량 관찰되었고 1월 이후 감소되었다. 복수어는 2월 중 거제 지역의 1년생 치어(10-15 cm 정도)에서 주로 발생되었고 그 일부는 출혈성 폐양증을 동반하였다. 출혈성 폐양어의 장기 적출시 간이 노란색으로 변색된 경우가 있었고, 복수어의 장기 적출시 복수가 심했을 때는 간을 비롯한 신장 등이 심하게 괴사되어 있었다 (Fig. 1).

### 3. 분리 및 동정

양식장 해수 및 배수로부터 균체 분리는 계단 희석하여 TCBS 및 tryptic soy 한천 배지에 고르게 도말하였고, 증균시킬 경우 tryptic soy 액체 배지(2% NaCl 첨가, pH 8.0) 10 ml에 검체 원액을 1 ml씩 가하여 20°C, 48시간 배양하였다.

조직으로부터 균체분리는 폐양 어체인 경우, 폐양 부위 · 위 · 간 · 신장, 복수어체인 경우 간 · 장 · 위 · 신장 등이었고, 정상어인 경우 위와 장이었으며 해당 장기를 1g 정도 적출하여 해수에서 균 분리하는 방법과 동일하게 배양하였다.

동정 방법은 Baumann *et al.*, (1984) 및 Kelly *et*

*al.*, (1991)를 따랐고 배지 제조는 Mac Faddin(1980) 및 Difco Manual (1985)에 준하였다.

### 4. 항생제 감수성 시험

분리된 균주 중 지역별, 월별을 기준으로 무작위 추출한 116균주에 대하여 Bauer-Kirby Disc 확산법 (1966)에 의한 항균제 감수성 시험을 실시하였다.

Müller Hinton 한천 배지와 ampicillin(Ap), carbenicillin(Cb), cephalothin(Ce), chloramphenicol(Cp), colistin(Col), gentamicin(Gm), kanamycin(Km), nalidixic acid(Nal), penicillin G (Pc), streptomycin(Sm), tetracycline(Tc) 등 11종의 항균제 (BBL 社)를 사용하였다. 감수성 기준은 Lorian(1980)에 준하였다.

## 결 과

### 1. 생화학적 동정

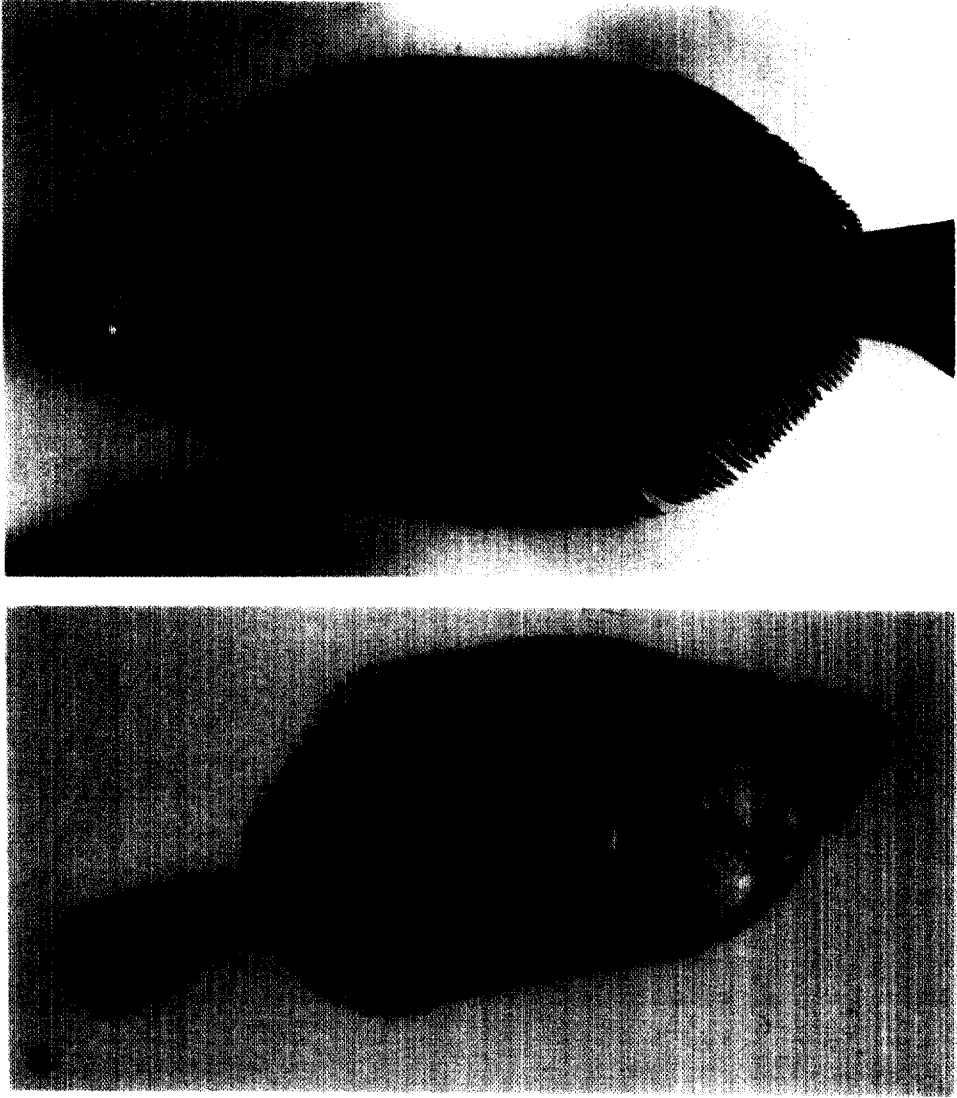
동정기 한국 남해안의 넙치 양식장에서 출혈성 폐양증 넙치, 복수증 넙치, 건강한 넙치 및 양식장 해수로부터 분리된 *Vibrio* 균종에 대한 생화학적 동정 결과와 그 분리원은 Table 1과 같다.

*V. tubiashii*(85주), *V. damsela*(78주), *V. anguillarum*(21주), *V. campbellii*(9주), *V. fluvialis*(9주), *V. alginolyticus*(1주), *V. costicola*(1주), *V. gazogenes*(1주), *V. marinus*(1주) 등 총 9종 206주가 동정되었고, *Vibrio*속으로 인정되는 미동정 균주로는 group 1(74주), group 2(52주), group 3(28주), 총 154주가 분리되었다.

생화학적 시험 결과 분리된 360주의 전 균주가 Gram 음성 간균이었고 이들은 모두 KIA 배지상에서 K/A로 H<sub>2</sub>S를 생성하지 않았으며, 반고체 배지상에서 운동성을 나타내었다. TCBS배지상에서 분리된 *Vibrio*는 모두 원형의 convex형이었고 *V. damsela*, *V. campbellii*, *V. marinus*는 녹색 집락이었으며 나머지 균종은 황색 집락을 나타내었다.

*V. tubiashii*, *V. anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. campbellii* 등 4종이 indole을 생성하였고, *V. costicola*와 *V. gazogenes* 2종이 MR 음성 반응이었으며 *V. damsela*와 *V. alginolyticus* 2종이 VP 양성 반응이었다. *V. tubiashii*, *V. anguillarum*, *V. fluvialis*, *V. gazogenes* 4종과 *V. campbellii*의 일부가 citrate를 탄소원으로 이용하였다. Urease는 대다수 균종에서 생성되지 않았고, gelatinase는 *V. damsela* 1종만이 생성하지 못하였으며, phenylalanine deaminase는 *V. alginolyticus* 1종만이 생성하였다. KCN 배지에서는 *V. alginolyticus*를 제외한 모든 균종이 발육하지 못하였고, malonate는 *V. tubiashii*만 이용하였다.

*V. alginolyticus*와 *V. campbellii* 2종만이 lysine decarboxylase를 생성하였고, *V. tubiashii*, *V. damsela*, *V. anguillarum*, *V. costicola*, *V. fluvialis* 5종이 ornithine decarboxylase를 생성하였다. 분리된 전 균주가 glucose로부터 산을 생성하였고, *V.*



**Fig. 1.** Diseased farm flounders (*Paralichthys olivaceus*). The samples were collected at Sinam, Keoje and Yeosu during the winter season.

A: Flounder with haemorrhagic ulcer.

B: Ascitic flounder which abdomen was swollen by ascite. Most ascitic flounders were affected with hernia and haemorrhagic ulcer with complications.

*damsela*만이 가스를 생성하였다. 전 균주가 lactose, ducitol, adonitol, inositol, raffinose, rhamnose 등 6종의 당을 이용하지 못하였다. Salicin과 xylose는 *V. gazogenes*만이 분해하였고 mannitol은 *V. marinus*만이 분해하지 못하였다. Sucrose는 *V. damsela*, *V. campbellii* 및 *V. marinus* 3종만 분해하지 못하였다.

호염성 시험은 전 균주가 NaCl이 전혀 없는 배지에서는 발육이 불가능하였고 1-6% NaCl이 가해진

배지에서 발육하였다. 8%와 10% NaCl이 가해진 배지에서는 *V. alginolyticus*만 발육하였다.

미동정된 균종들인 group 1, 2, 3은 *V. tubiashii*와 유사한 생화학적 성질을 가지고 있었으나 group 1은 arginine과 sucrose, group 2는 sucrose와 mannitol, group 3은 sucrose를 분해하지 못하는 점이 구별되었다.

## 2. 월별 및 지역별 분포

분리된 *Vibrio* 균종의 월별 및 지역별 분포 결과는



Table 1. Continued.

Test	% Positive for <i>Vibrio</i> species											
	<i>V. tubiashii</i> (85) <sup>a</sup>	<i>V. damsela</i> (78)	<i>V. anguillarum</i> (21)	<i>V. alginolyticus</i> (1)	<i>V. campbellii</i> (9)	<i>V. costicola</i> (1)	<i>V. fluvialis</i> (9)	<i>V. gazogenes</i> (1)	<i>V. mitsurinus</i> (1)	Group 1 (74) <sup>b</sup>	Group 2 (52)	Group 3 (28)
10% NaCl	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
Growth at												
20°C	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
25°C	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Lysine decarboxylase	0	0	0	100	100	0	0	0	0	0	0	0
Arginine dihydrolase	100	100	95	0	0	100	100	0	0	0	100	100
Ornithine decarboxylase	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0
Gas Glucose	0	55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Acid Production from												
Glucose	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Lactose	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sucrose	100	0	100	100	0	100	100	100	0	0	0	0
Mannitol	100	100	100	100	0	100	100	100	0	100	0	100
Ducitol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salicin	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0
Adonitol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Inositol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sorbitol	0	0	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0
Arabinose	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0
Raffinose	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rhamnose	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Xylose	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0

<sup>a</sup> Number of isolates, <sup>b</sup> Unidentified *Vibrio* species, <sup>c</sup> Yellow colony on the TCBS agar, <sup>d</sup> Green colony on the TCBS agar

Table 2. *Vibrio* species isolated from Sinam, Keoje and Yeosu

Month	Species	Area			Total
		Sinam	Keoje	Yeosu	
Nov. '90	<i>V. damsela</i>	28 <sup>a</sup>			28
	<i>V. fluvialis</i>	2			2
	<i>V. tubiashii</i>	1			1
	<i>V. alginolyticus</i>	1			1
	<i>V. costicola</i>	1			1
	<i>V. gazogenes</i>	1			1
	<i>V. marinus</i>	1			1
Dec. '90	<i>V. damsela</i>	17			17
	<i>V. tubiashii</i>	13			13
	<i>V. anguillarum</i>	4			4
	<i>V. fluvialis</i>	1			1
Jan. '91	<i>V. tubiashii</i>	10	32	10	52
	<i>V. anguillarum</i>	12	5	0	17
	<i>V. fluvialis</i>	3	0	0	3
	Unidentified <i>Vibrio</i> Group 1	26	21	23	70
Feb. '91	<i>V. damsela</i>	6	27	0	33
	<i>V. tubiashii</i>	15	2	2	19
	<i>V. campbellii</i>	0	9	0	9
	<i>V. fluvialis</i>	3	0	0	3
	Unidentified <i>Vibrio</i> Group 1	2	0	2	4
	Group 2	19	7	26	52
Group 3	9	14	5	28	
Total		175	117	68	360

<sup>a</sup>Number of isolates

Table 2와 같다. 90년 11월에는 *V. damsela*(28주), *V. fluvialis*(2주), *V. tubiashii*(1주), *V. alginolyticus*(1주), *V. costicola*(1주), *V. gazogenes*(1주), *V. marinus*(1주) 등 7종 35균주가 분리되었다. 90년 12월에는 *V. damsela*(17주), *V. tubiashii*(13주), *V. anguillarum*(4주), *V. fluvialis*(1주) 등 4종 35균주가 분리되었다. '91년 1월에는 *V. tubiashii*(52주), *V. anguillarum*(17주), *V. fluvialis*(3주) 등 3종 72주가 동정되었고 미동정 *Vibrio* group 1이 70주가 분리되었다. 91년 2월에는 *V. damsela*(33주), *V. tubiashii*(19주), *V. campbellii*(9주), *V. fluvialis*(3주) 등 4종 64주가 동정되었고, 미동정 *Vibrio* group 1이 4주, group 2가 52주, group 3이 28주가 분리되었다.

동정된 균주들의 지역별 분포는 신암 지역의 경우 90년 11월과 12월에 *V. damsela*가 우점종으로 나타났고 *V. tubiashii*는 12월중에 부각되기 시작하여 91년 2월에 우점종으로 부상되었다. 거제 지역의 경우 91년 1월에는 *V. tubiashii*가 32주(86%)로 우점종을 나타내었고, 91년 2월에는 급격하게 감소되어 *V. damsela*가 27주(72%)로 우점종이 되었다.

여수 지역의 경우 91년 1월중에는 *V. tubiashii*가 10주(100%)로 우점종이었다. 미동정 균주는 91년 1월에

group 1이 공통적으로 세 지역에서 다량 분리되었고, 2월에는 group 2가 중점적(미동정 균주 84주중 52주 62%)으로 분리되었다.

### 3. 병어체로부터 우점종으로 분리된 *Vibrio*

병어체로부터 분리된 *Vibrio*는 Table 3과 같다. *V. tubiashii*는 52주가 분리되었고 분리원은 케양어에서 46주, 복수어에서 6주였다. *V. damsela* 43주가 분리되었고 분리원은 케양어에서 17주, 복수어에서 26주였다. *V. anguillarum*은 케양어에서만 16주 분리되었다. 미동정 균주 group 1은 33주가 분리되었고 케양어에서 23주, 복수어에서 10주였다.

### 4. 항균제 감수성

동정된 균주중 무작위 추출하여 선정된 8종 116균주에 대한 항균제 감수성 시험 결과는 Table 4와 같다.

Ap에 대하여는 *V. campbellii*, *V. costicola*, *V. fluvialis* 등 3종, Ce에 대하여는 *V. tubiashii*, *V. damsela*, *V. campbellii*, *V. fluvialis*, *V. marinus* 등 5종, Cp에 대하여는 *V. damsela*를 제외한 7종, Col에 대하여는 8종, Gm에 대하여는 *V. tubiashii*, *V. damsela*, *V. campbellii*, *V. marinus* 등 4종, Nal에 대하여는 *V. damsela*, *V. alginolyticus*, *V. costicola*, *V. marinus* 등

**Table 3.** Sources of the dominant *Vibrio* species in diseased flounders

Source		<i>V. tubiashi</i>	<i>V. damsela</i>	<i>V. anguillarum</i>	Group I
Ulcerous	Flounder	46 <sup>a</sup>	17	16	23
	ulcer	45	13	16	19
	stomach	0	1	0	0
	liver	1	1	0	4
	kidney	0	2	0	0
Ascitic	Flounder	6	26	0	10
	ascites	6	14	0	10
	liver	0	6	0	0
	intestine	0	2	0	0
	stomach	0	2	0	0
Normal	Flounder	4	18	0	2
	intestine	4	16	0	2
	stomach	0	2	0	0
Seawater of farms		29	17	5	39
Total		85	78	21	74

<sup>a</sup>Number of isolates

**Table 4.** Antibiotic susceptibility by disc diffusion method of 116 *Vitro* strains

Antibiotic	% of <i>Vibrio</i> strains susceptible (No. of strains studied)							
	<i>V. tubiashii</i> (48) <sup>a</sup>	<i>V. damsela</i> (46)	<i>V. anguillarum</i> (9)	<i>V. alginolyticus</i> (1)	<i>V. campbellii</i> (5)	<i>V. costicola</i> (1)	<i>V. fluvialis</i> (5)	<i>V. marinus</i> (1)
Ampicillin	75	74	56	0	80	100	100	0
Carbenicillin	60	22	33	0	40	I <sup>b</sup>	60	0
Cephalothin	92	94	67	0	100	I	100	100
Chloramphenicol	100	52	100	100	100	100	100	100
Colistin	98	96	100	100	100	100	100	100
Gentamicin	92	83	67	I	100	0	20	100
Kanamycin	10	28	22	0	20	0	0	I
Nalidixic acid	54	91	22	100	40	100	60	100
Penicillin G	2	2	0	0	0	I	20	0
Streptomycin	48	28	33	I	80	I	0	I
Tetracycline	92	35	100	100	100	100	100	0

<sup>a</sup>Tested strains. <sup>b</sup>Intermediate

4종, Sm에 대하여는 *V. campbellii* 1종, Tc에 대하여는 *V. damsela*와 *V. marinus*를 제외한 6종이 감수성을 나타내었다. 균종별 다약제 내성 유형은 다음과 같다 (Table 5).

*V. damsela*는 시험된 46균주 중 44주가 1종류 이상의 항균제에 대하여 내성을 나타내었다. 1종의 항균제에 내성을 나타낸 균주는 15주, 2종의 항균제에 다약제 내성을 나타낸 균주는 8주, 3종의 항균제에 다약제 내성을 나타낸 균주는 7주, 4종의 항균제에 다약제 내성을 나타낸 균주는 8주, 5종의 항균제에 다약제 내성을 나타낸 균주는 4주, 11종의 전 항균제에 다약제 내성을 나타낸 균주는 2주였다.

*V. tubiashii*는 시험된 48균주중 30균주가 1종류 이상의 항균제에 대하여 내성을 나타내었다. 1종의 항

균제에 내성을 나타낸 균주는 14주, 2종의 항균제에 다약제 내성을 나타낸 균주는 4주, 3종의 항균제에 다약제 내성을 나타낸 균주는 5주, 4종의 항균제에 다약제 내성을 나타낸 균주는 3주, 5종의 항균제에 다약제 내성을 나타낸 균주는 4주였다.

*V. anguillarum*은 시험된 9주중 7주가 1종류 이상의 항균제에 대하여 내성을 나타내었다. 1종의 항균제에 내성을 나타낸 균주는 1주, 2종의 항균제에 다약제 내성을 나타낸 균주는 4주, 3종의 항균제에 동시 내성을 나타낸 균주는 2주였다.

### 고 찰

출혈성 궤양어, 복수어, 정상어, 양식장 해수 등의

**Table 5.** Antimicrobial resistance patterns

No. of drug resistant	Resistance patterns					
	<i>V. damsela</i>		<i>V. tubiashii</i>		<i>V. anguillarum</i>	
1	Cb	(1) <sup>a</sup>	Pc	(14)	Pc	(1)
	Cp	(1)				
	Pc	(11)				
	Tc	(2)				
2	Cb Pc	(2)	Cb Pc	(2)	Cb Pc	(3)
	Nal Tc Pc	(1)	Pc Sm	(2)	Km Sm	(1)
	Pc Sm	(2)				
	Pc Tc	(3)				
3	Cb Pc Sm	(1)	Ap Cb Pc	(3)	Ap Cb Pc	(2)
	Cp Ce Pc	(2)	Km Pc Sm	(2)		
	Cp Pc Tc	(2)				
	Cp Sm Tc	(1)				
4	Nal Pc Tc	(1)				
	Ap Cb Pc Tc	(3)	Ap Cb Pc Tc	(1)		
	Cb Cp Pc Tc	(2)	Ap Cb Pc Sm	(2)		
	Cb Pc Sm Tc	(1)				
5	Cp Pc Sm Tc	(1)				
	Km Pc Sm Tc	(1)				
	Ap Cb Cp Pc Tc	(1)	Ap Cb Km Pc Sm	(2)		
	Ap Cb Pc Sm Tc	(2)	Ap Cb Pc Sm Tc	(1)		
11	Cp Km Pc Sm Tc	(1)	Col Gm Km Sm Tc	(1)		
	Ap Cb Cp Col Ce, Gm Km Nal Pc Sm Tc	(2)				
Total		44		30		7

<sup>a</sup>Number of strains

검체로부터 가장 많이 분리된 균종은 *V. tubiashii*였다. 분리된 *V. tubiashii*의 생화학적 성상은 이미 보고된 동정 기준과 잘 일치되었다. 그리고 이 균종은 굴 유충과 같은 쌍각류 연체 동물 유충의 병원균으로써 처음 보고되었다(Hada *et al.*, 1984, West *et al.*, 1986).

두번째로 많이 분리된 *V. damsela*의 생화학적 성상은 Love *et al.*, (1981), Kelly *et al.* (1991)의 동정 기준에 완전히 일치되었다. 이 균종은 damselfish (*Chromis punctipinnis*)의 케양으로부터 최초로 분리되었고 그 후 damselfish뿐만 아니라 dogfish (*Squalus acanthias*) 및 갈색 상어 (*Carcharhinus plumbeus*)에서도 출혈성 피부 케양을 일으키는 것으로 보고되었다(Grimes *et al.*, 1984). 이 균종은 사람에게도 창상 감염을 유발하는 것으로 밝혀졌다. 균이 분리된 창상 감염 환자 6명에 대하여 역학 조사한 결과 이들은 모두 해안에서 가오리나 산호초 등에 의하여 상처를 입은 것으로 나타났다 (Morris *et al.*, 1982, Clarridge and Zigelboim-Daum 1985). 세번째로 많이 분리된 균종은 *V. anguillarum*(21주)으로써 이들의 생화학적 성상은 Baumann *et al.*, (1984)

등과 잘 일치되었다. 이 균종은 오래전부터 대표적인 어류 병원균으로서 알려져 왔으나 사람에게는 질병 원인이 되지 않는 것으로 보고되어 있다(Jo 1979, Egidius 1987).

이들 3종의 우점종 외에 6종의 *Vibrio*가 검체들로부터 분리되었으며 그 생화학적 성상은 *V. alginolyticus*, *V. campbellii*, *V. gazogenes* 및 *V. marinus*가 Baumann *et al.*, (1984)과 West *et al.*, (1986)의 동정 기준에 잘 일치되었고 *V. costicola*는 Garcia *et al.*, (1987), *V. fluvialis*는 Brenner *et al.* (1983)의 동정 기준에 잘 일치되었다. 항균제 감수성 시험에서 Cp, Ce, Col, Tc 등 4종의 항균제는 분리된 여러 균종들에 대하여 우수한 항균력을 나타내었지만 Cb, Km, Pc, Sm 등 4종의 항균제는 상대적으로 항균력이 떨어졌다. 보다 중요한 문제는 다약제 내성균주의 출현이다. 그 이유는 식품으로써 이용될 어체내의 항균제 잔류문제 뿐만 아니라 넙치 양식장 내에서 질병 구제와도 밀접한 관계가 있기 때문이다.

다약제 내성 균주의 출현은 plasmid의 전이가 그 원인인 것으로 밝혀졌고 비록 한 배양장 내에서 적은 수의 개체가 나타났다고 하더라도 얼마 후에는 그



주변의 세균들에게 까지 내성이 전달될 수 있다 (Mitushashi 1969, Mitushashi *et al.*, 1960, Watanabe 1963). 항균제 감수성 시험 균주 116균주 중 56균주 (48.3%)가 2종 이상의 항균제에 다약제 내성을 나타내었다. 특히 *V. damsela*의 경우는 조사된 46균주 중에서 2종 이상의 약제에 63%정도가 다약제 내성을 나타내었고, 13%정도가 5종 이상의 항균제에 다약제 내성을 나타내었으며 그 중 2균주 (4.3%)가 전 항균제에 대하여 동시 내성을 나타낸 사실은 우려할 만한 일이라고 생각된다.

본 실험에서 분리된 *Vibrio*들이 신암 지역에서 집단 발생된 넙치의 출혈성 궤양증의 직접적인 원인균으로 작용하였는 지의 여부는 현재 얻어진 결과만 가지고는 단정짓기 어렵다. 그러나 질병의 원인균 규명의 가장 기본적인 과정은 병든 개체로부터 의심이 되는 균종이 우선 분리되어야만 한다. 이러한 관점에서 고찰할 때 앞서 우점종으로 분리된 3종의 균종과 미동정된 group 1은 적어도 출혈성 궤양증과 어떤 관계가 있 지 않나 추정된다.

그 이유는 11월 중에 신암 지역에서 출혈성 궤양증이 만연되었고 개체에 따라서는 복수종과 출혈성

궤양증이 합병증으로 나타났다. 이들 병어체의 병소 조직, 장기, 간, 복수 등으로 부터 균주를 분리한 결과 *V. damsela*가 우점종으로 분리되었고 특히 합병증 어체의 복수, 위, 장, 간, 신장 등에서 많이 분리되었다. *V. damsela*는 출혈성 궤양 조직(17주)에서 보다는 궤양증과 복수증이 합병증으로 나타난 개체(26주)들에서 많이 분리되었다 12월 이후 부터는 궤양증이 진정되었고 1월 이후는 거의 사라졌다. 12월 이후 전 지역에서 궤양 조직으로부터 고르게 *V. tubiashii*(45균주)가 다량으로 분리되었다. *V. anguillarum*은 12월과 1월에 출혈성 궤양 조직으로부터 16주가 분리되었다. 이를 근거로 이미 여러 종류의 어류에 병원균으로 널리 알려진 *V. anguillarum* 외에 우점종으로 분리된 *V. tubiashii*와 *V. damsela* 그리고 *V. tubiashii*와 생물학적 성상이 매우 유사한 group 1이 양식 넙치의 겨울철 궤양성 질병에 새로운 원인균일 가능성을 배제할 수 없다. 이들에 대한 감염력 검사 (ID50), 독성 시험 (LD50) 등과 환경 요인에 의한 실험실 감염능 등은 차후에 더 상세히 조사되어야 될 과제라고 생각된다.

## 적 요

1990년 11월 신암 지역의 넙치 양식장에서 양식 넙치(*Paralichthys olivaceus*)에 출혈성 궤양증이 다량 발생되었다. 이를 계기로 본 연구는 동절기 한국 남해안 지역에 있는 넙치 양어장에서 출혈성 궤양증 넙치를 중심으로 하여 복수종 넙치, 건강한 넙치 및 양식장 해수 등에서 *Vibrio*를 분리하고 이들에 대한 항균제 시험을 실시한 결과이다. *V. tubiashii*(85주), *V. damsela*(78주), *V. anguillarum*(21주), *V. campbellii*(9주), *V. fluvialis*(9주), *V. alginolyticus*(1주), *V. costicola*(1주), *V. gazogenes*(1주), *V. marinus*(1주) 등 9종 206주가 동정되었고, *Vibrio*속으로 인정되는 미동정 균주 3 group 154주가 분리되었다. 항균제 시험을 위하여 분리균주 중 116균주를 선별하여 11종의 항균제 disc(BBL社 제품) 시험을 실시하였다. 그 결과 cephalothin, chloramphenicol, colistin, tetracycline 등 4종의 항균제는 우수한 항균력을 나타내었으나, carbencillin, kanamycin, penicillin G, streptomycin 등 4종의 항균제는 항균력이 떨어졌다. 시험한 116균주 중 43.8%인 56균주가 2종 이상의 항균제에 대하여 내성을 나타내었다. 특히, *V. damsela*의 경우 63%가 2종 이상의 항균제에 대하여 내성을 나타내었고 13%가 5종, 4.3%가 시험한 11종의 전 항균제에 대하여 내성을 나타내었다.

## REFERENCES

- Baumann, P., A.L. Furniss, and J.V. Lee, 1984. Genus I. *Vibrio*, p. 518-538. In Krieg N.R. (ed.), Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 1. The William & Wilkins Co., Baltimore.
- Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck, 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Amer. J. Clin. Pathol.*, **45**, 493-496.
- Brenner, D.J., F.W. Hickman-Brenner, J.V. Lee, A.G. Steigerwalt, G.R. Fanning, D.G. Hollis, J.J. Farmer, R.E. Weaver, S.W. Joseph, and R.J. Seidler, 1983. *Vibrio jurnissii*(formerly aerogenic biogroup of *Vibrio fluvialis*), a new species isolated from human feces and the environment. *J. Clin. Microbiol.*, **18**, 816-824.
- Bullock, G.L., and R.L. Herman, 1985. *Edwardsiella* infections of fishes. U. S. Fish and Wildlife Service, Fish Disease Leaflet 71. Kearneysville, West Virginia.
- Chart, H. and T.J. Trust, 1984. Characterization of the surface antigens of the marine fish pathogens *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. *Can. J. Microbiol.*, **30**, 703-710.
- Clarridge, J.E. and S. Zigelboin-Daum, 1985. Isolation and characterization of two haemolytic phenotypes of *Vibrio damsela* associated with a fatal wound infection. *J. Clin. Microbiol.*, **21**, 302-306.
- Difco Lab. 1984. Difco manual 10th ed. Difco Lab., Detroit Michigan U. S. A.
- Egidius, E., R. Wiik, K. Andersen, K.A. Hoff, and B. Hjeltnes, 1986. *Vibrio salmonicida* sp. nov., a new fish pathogen. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **36**, 518-520.
- Egidius, E. 1987. Vibriosis: Pathogenicity and pathology. A Review. *Aquaculture* **67**, 15-28.
- Garcia, M.T., A. Ventosa, F. Ruiz-Berraquero, M. Kocur. 1987. Taxonomic study and amended

- description of *Vibrio costicola*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **37**, 251-256.
11. **Grimes, D.J., J. Stemmler, H. Hada, E.B. May, D. Manoval, F.M. Hetrick, R.T. Jones, M. Stoskopf and R.R. Colwell**, 1984. *Vibrio* species associated with mortality of sharks held in captivity. *Microbiol. Ecol.*, **10**, 271-282.
  12. **Hada, H.S., P.A. West, J.V. Lee, J. Stemmler, and R.R. Colwell**, 1984. *Vibrio tubiashii* sp. nov., a pathogen of bivalve mollusks. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **34**, 1-4.
  13. **Hickman, F.W., J.J. Farmer, D.J. Brenner**, 1982. Identification of *Vibrio hollisae* sp. nov. from patient with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.*, **15**, 395-401.
  14. **Jo, Y., K. Ohnishi and K. Muroga**. 1979. *Vibrio anguillarum* isolated from cultured yellow tail. *Fish Pathol.*, **14**, 43-47.
  15. **Kelly, M.T., F.W. Hickman-Brenner, and J.J. Farmer**, 1991. *Vibrio* p. 384-395. In Balows, A. (ed.). *Manual of clinical microbiology* 5th ed. *Amer. Soc. Microbiol.*
  16. **Kim, D.S., S.C. Cheong, S.R. Park, and J.K. Lee**, 1988. Cytogenetic and biochemical studies on the flatfish, *Paralichthys olivaceus*. *Bull. Nat. Fish. Res. Dev. Agency.*, **42**, 135 -142.
  17. **Kusuda, R., T. Toyoshima, Y. Iwamura, and H. Sako**, 1976. *Edwardsiella tarda* from an epizootic of mullets (*Mugil cephalus*) in Okitsu Bay. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **42**, 271-275.
  18. **Lee, H.K., H.K. Seong, L.H. Park, K.R. Jo, and Y.J. Kim**, 1990. The study on the experimental ascite by *Edwardsiella tarda* in snakehead(*Channa argus*). *Bull. Korean Fish. Soc.*, **23**, 353-360.
  19. **Lorian, V.** 1980. Antibiotics in laboratory medicine. Williams & Wilkins Co. Baltimore.
  20. **Love, M., D. Teebkon-Fisher, J.E. Hose, J.J. Farmer, F.W. Hickman, and G.R. Fanning**. 1981. *Vibrio damsela*, a marine bacterium, causes skin ulcers on the damselfish *Chromis punctipinnis*. *Science.*, **214**, 1139-1140.
  21. **Mac Faddin, J.F.**, 1980. Biochemical tests for identification of medical bacteria 2nd ed. Williams & Wilkins Co., Baltimore.
  22. **Mitsuhashi, S.**, 1969. The R factors. *J. Infect. Dis.*, **119**, 89-100.
  23. **Mitushashi, S., K. Harada, and H. Hashimoto**. 1960. Multiple resistance of enteric bacteria and transmission of drug resistance to other bacteria by mixed cultivation. *Jap. J. Exp. Med.*, **30**, 179-184.
  24. **Morris, Jr. J.G., R. Wilson, D.G. Hollis, R.E. Weaver, H.G. Miller, C. O. Tacket, F.W. Hickman, and, P.A. Blake**. 1982. Illness caused by *Vibrio damsela* and *V. hollisae*. *The Lancet*. 1294-1297.
  25. **Watanabe, T.**, 1963. Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria. *Bacteriol. Rev.*, **27**, 87-115.
  26. **West, P.A., P.R. Brayton, T.N. Bryant, and R.P. Colwell**, 1986. Numerical taxonomy of *Vibrio* isolated from aquatic environment. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **36**, 531-543.

(Received October 21, 1991)

(Accepted November 10, 1991)