

韓國産메기(*Silurus asotus*)의 疾病에 關한 研究 *Aeromonas hydrophila*에 의한 皮膚 潰瘍病

韓圭三, 崔寅烈, 裴貞俊, 金榮吉*, 李根光*, 金榮眞**

全羅北道 家畜衛生試驗所 井邑支所*, 群山大學校 水質病理學科**, 全羅北道家畜衛生試驗所

Studies on disease of catfish(*Silurus asotus*) in Korea Pathology of skin ulcerous by *A. hydrophila*

Kyu-Sam Han, In-Yeol Choi, Joung-Joon Bae, Young-Gill Kim*,
Keun-Kwang Lee* and Young-Jin Kim.

Chong up Branch of Chunbuk Veterinary Service Laboratory

* Department of Fish Pathology, Kun San National University, Korea

** Chunbuk Veterinary Service Laboratory

Abstract

The *Aeromonas* strains were isolated from diseased cultured catfish(*Silurus asotus*) in the ponds near by Gochang of Chunbuk. The present isolates were identified as *A. hydrophila* based on their biological and biochemical characteristics. The isolates of *A. Hydrophila* were named GC-1, GC-2, GC-3, GC-4 and GC-5. Five strains were grew optimally at temperatures 35°C, pH 7.5 and in 0.5 to 1% NaCl. This bacterium(GC-1) was injected into health catfish in order to prove the causative agent of ascites and haemorrhagic ulcers. The symptoms in catfish infected by this challenge method were observed to be very similar to the symptoms of a natural infection, but controls did not show any abnormal symptoms during the experimental period. At 24 post-injection, the red spot developed around the injection site and the haemorrhagic ulcers was extended near the gill and ventral fin.

Five strains were tested for drug sensitivity by plate method. All strains were sensitivity to gentamicin and resistant to penicillin, streptomycin and tetracycline.

Key word : Catfish, *A. hydrophila*, challenge, gentamicin.

緒 論

던 高蛋白 淡水魚로서 우리나라와 中國, 臺灣 그리고 日本 등에 分布 棲息한다. 國民 生活의 向
메기(*Silurus asotus*)는 오래전부터 食用해왔 上으로 그 消費가 增加함에 따라 最近에는 全國

各地의 內水面을 利用한 露地 飼育場과 加溫 施設된 集約的 養殖場이 急增하고 있으나, 高密度 飼育으로 因한 水質汚染과 耐病力 弱화로 各種 疾病이 發生하여 그 被害가 날로 커 지고 있는 實情이다.

지금까지 메기의 疾病에 關해서는 Meyer 등¹⁾이 美國產 channel 메기(*Ictalurus punctatus*)에서 *E. tarda*에 依해 誘發된 疾病에 關해 報告하였으며, De Figueiredo 등²⁾은 channel 메기에서 分離한 서로 다른 *A. hydrophila*의 毒性에 對해 研究하였고, Fijan³⁾은 바이러스性 疾病인 CC바이러스에 對해 報告를 하였다. 또한 Kuge 등⁴⁾은 日本產 메기 稚魚의 大量 弊死 原因은 *A. hydrophila*에 依해 發生한 것이라고 報告하였다. 그러나 韓國產 메기 疾病에 關해서는 金⁵⁾이 *Epistylis* 蟲과 토끼 윤충(*Lepadella ovalis*)에 의한 類似 白點蟲症을 報告한 바 있으며, 또한 金 등⁶⁾은 韓國產 養殖 메기에서 *Vibro* sp.를 分離하여 그 一部 特性과 病徵을 調査하여 報告하였을 뿐, 메기에 關한 水因性, 細菌性, 바이러스性 그리고 곰팡이性 疾病에 關한 研究은 아직까지 없는 實情이다. 本 研究은 露地 養殖場에서 飼育中에 腹水가 생기고 筋肉에 潰瘍이 形成된 弊死 直前의 메기로 부터 原因菌 *A. hydrophila*를 分離하고, 同 分離菌을 正常魚에 人工感染시켜 發病된 病症과 菌의 特性을 調査하였기에 報告하고자 한다.

材料 및 方法

供試魚

1992년 6월부터 11월까지 全羅北道 高敏郡 一圓의 메기 養殖場에서 飼育中 發病된 病魚 47마리에서 病原菌을 分離하여 試驗에 使用하였으며, 이때 病魚의 肉眼的 所見도 함께 調査하였다.

原因菌의 分離

原因菌의 分離를 爲하여 病魚의 體表面을

70% alcohol로 消毒한 후 즉시 潰瘍 部位와 肝, 腎臟, 아가미에서 原因菌을 分離하였다. 이때 使用한 培地는 Difco Manual⁷⁾, 細菌의 同定은 MacFaddin⁸⁾과 Cowan and Steel's⁹⁾의 方法에 依하여 實施하였다.

人工感染 試驗

人工感染시키기 爲하여 養殖場에서 輸送해온 健康한 메기(약 80g)를 實驗室(室溫 25±2℃)의 水槽(1×0.45×0.40m)에 1週日間 適應 시킨後 個體當 8.6×10⁶ C.F.U / 0.25ml을 筋肉 注射하였고, 對照群은 0.65% 滅菌 生理食鹽水를 同一한 方法으로 感染日부터 發病時까지 病症을 繼續 觀察하였다.

原因菌의 生物學的 性狀調査

原因菌의 pH 및 鹽分 濃度別 發育 狀態와 MacConky, SS, TSA의 培地上에서 各各 發育 與否를 確認하였다.

藥劑 感受性試驗

藥劑 感受性試驗을 하기 爲하여 MaFarland 標準濁度 No. 5에 맞춘 菌株液을 Mueller-Hinton 平板 培地에 고르게 塗抹한 後 各各의 抗生劑 디스크(BBL Co.)를 一定한 間隔으로 올려 놓고 37℃에서 18時間 培養하여 形成된 發育 抑制帶의 直徑을 測定하여 藥劑 感受性 與否를 判斷하였으며, 正確度を 기하여 爲하여 *E. coli* ATCC 25922를 對照 菌株로 使用하였다.

結 果

原因菌의 分離 및 同定

病魚로부터 菌을 分離하여 同定한 結果, 大部

分이 *Aeromonas*屬 細菌들으로써 이들中 *A. hydrophila*가 주로 分離되었다.

原因菌이 *A. hydrophila* 인지의 與否를 確認하기 爲하여 人工接種 試驗한 結果, 養殖場에서 發病된 疾病과 同一한 症狀인 腹水와 潰瘍을 일으키면서 斃死하였다. 따라서 本病의 原因菌은 *A.*

*hydrophila*로 同定되었으며, 分離하여 試驗에 使用한 菌株는 各各 GC-1, GC-2, GC-3, GC-4, 그리고 GC-5로 命名하였다.

菌株의 生化學的 性狀은 表 1과 같다. 모든 菌株는 緬羊 血液培地上에서 β 溶血性을 나타냈고, gram 陰性의 杆菌으로 運動性은 活潑하였다.

Table 1. Biochemical characteristics of the isolates

Characteristics	The present isolates				
	GC-1	GC-2	GC-3	GC-4	GC-5
Hemolysis	β	β	β	β	β
Gram stain	-	-	-	-	-
Motility	+	+	+	+	+
Indol production	+	-	+	+	+
H ₂ S production	+	-	+	+	+
Gas production	+	+	+	+	+
O-F test	F	F	F	F	F
MR test	+	+	+	+	+
VP reaction	+	+	-	+	+
Gelatin hydrolysis	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+
Urease	+	+	+	+	+
KCN	+	+	+	+	+
Citrate	+	+	+	+	+
Acid from Glucose	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+
Raffinose	-	+	-	-	-
Starch	+	+	+	+	+
Manitol	+	+	+	+	+
Inositol	-	-	-	-	-
Dulcitol	-	-	-	-	-
Salichin	+	+	+	+	+
Growth at MC agar	+	+	+	+	+
SS agar	+	+	+	+	+
TS agar	+	+	+	+	+

MC : MacConkey

SS : *Salmonella shigella*

TS : Trypticase soy

GC-2와 GC-5의 菌株는 indole을 發生하지 않았다. H₂S는 GC-2만 陰性이었고, Gas는 全 菌株가 生産되었다. O-F試驗과 MR還元試驗에서도 모든 菌株가 陽性을 나타내었고, VP反應에서는 GC-3에서만 還元되지 않았다. Gelatin을 모두 液化시켰고, catalase, oxidase, KCN과 citrate도 모두 陽性으로 나타났으나, Urease는 GC-1, GC-2, GC-5만이 分解되었다.

糖分解 試驗에서 모든 菌株는 glucose, mannose, maltose, starch, mannitol, salicin으로부터 酸을 生産하였으나, raffinose, inositol, dulcitol에서는 反應이 없는 것으로 나타났다.

原因菌의 人工感染

人工感染 試驗에 使用한 菌株는 GC-1이다. 6×10⁶/C.F.U/0.25ml 菌體數를 筋肉注射하여 病症의 進行 過程을 觀察한 結果는 다음과 같다. 感染 24時間 程度에 注射한 部位가 發赤되기 始作하였으며, 아가미와 배지느러미 部位에서도

赤色の 微細한 斑點이 觀察되었다. 感染 時間이 經過될수록 發赤部位는 점차 擴大되면서 몸 全體로 번져가고, 過量으로 粘液이 分泌되어 體色이 될수록 白濁되면서, 水槽 底面에 힘없이 遊泳하다가 斃死되었는데(그림 1), 이들 感染魚의 發病時 肉眼的 所見을 보면, 魚體의 크기에 關係없이 發病되었으며, 먼저 口과 꼬리지느러미 部位의 體表가 하얗게 變色되고, 이어서 그 部位에서 많은 粘液의 分泌와 함께 微細한 出血斑點이 나타났다. 發病後 2~3日이 經過하면 頭蓋骨 上段과 등지느러미 基部, 배지느러미 基部의 腹側 筋肉이 甚하게 鬱血을 보이며 病魚는 攝食하지 못하고 徐徐히 斃死된다. 腹部는 腹水가 차서 甚하게 膨滿되며, 體表의 鬱血部位는 表皮가 剝離되면서 潰瘍이 차츰 커지게 된다. 腹部를 切開하면 腹水가 流出되며, 肝과 腎臟이 甚하게 變色되어 있고, 內臟은 彈力이 없으며, 膽囊은 濃紫色으로 腫大되며 腹腔壁에서 微細한 充血 部位를 볼 수 있었다. 人工感染시켜 發病한 病魚의 이와 같은

Table 2. Antimicrobial resistance of *A. hydrophila* isolates

Antibiotics (Concentration)	Resistance types				
	GC-1	GC-2	GC-3	GC-4	GC-5
Streptomycin(S 10 g)	R	R	R	R	R
Penicillin(P 10IU)	R	R	R	R	R
Gentamicin(GM 10 g)	S	S	S	S	S
Kanamycin(K 30 g)	S	S	R	S	S
Tetracycline(TE 30 g)	R	R	R	R	R
Lincomycin(L 15 g)	S	R	R	R	R
Neomycin(N 30 g)	S	S	R	S	S
Ampicillin(AM 10 g)	R	S	R	R	R
Erythromycin(E 15 g)	S	S	R	R	R
Cephalothin(Cf 30 g)	S	S	R	S	R
Chloramphenicol(C 30 g)	R	S	S	R	S
Trimethoprim	S	R	S	R	S
Sulfamethoxazole(SXT 23.75 g)					

R : Resistant S : Sensitivity

病症 所見은 養殖場에서 發病한 病魚와 同一한 所見을 나타냈다.

生物學的 性狀

分離菌株는 MacConkey, SS, TSA 培地에서 잘 發育하였으며, 發育可能 鹽分濃度는 0~4% 이지만 最適 鹽分濃度는 0.5~1%이었다. 發育可能 pH는 5~10이었고, 最適 pH는 7.5이었다.

藥劑 感受性 調査

藥劑 感受性 試驗 結果는 표 2와 같다. 모든 菌株는 gentamicin에 感受性을 나타내었으나, 反面에 penicillin, streptomycin과 tetracycline에 耐性을 나타내었다. neomycin과 kanamycin에는 GC-3만이 抵抗性을 보였으나, cephalothin, choramphenicol, trimethoprim /sulfamethoxazole과 erythromycin에는 一部 菌株가 感性을

보였다.

考 察

本 研究에서 나타난 養殖 메기 疾病의 主要 症狀은 體表의 出血性 潰瘍과 腹水症이었다. 이들 症狀은 大部分 同時에 隨伴되고 있었는데, 그 原因菌은 *A. hydrophila*로 同定되었다. *A. hydrophila*, *A. Solbia*, *A. salmonicida*菌은 Ventura등¹⁰⁾, Whittington등¹¹⁾에 의하여 魚病을 일으키는 細菌으로 이미 報告된 바 있으며, 또한 鰻장어의 기적病(Red pest of freshwater Eel)은 *A. hydrophila*에 依해서 發病되는 것으로 유럽에서는 Susswasseraal Rotseuch(독일) 등으로 오래 전부터 불리어져 왔다. 江草¹²⁾, Liobrera등¹³⁾은 가물치의 一種인 *Ophinocephalus striatus*의 潰瘍 部位에서 *A. hydrophila*를 分離, 報告하였으며, 高橋 등¹⁴⁾은 금붕어에서, Kuge 등⁴⁾도 日本産 메기중 孵化後 約 7日된 稚魚를 大量 斃死시킨 原

Table 2. Antimicrobial resistance of *A. hydrophila* isolates

Antibiotics (Concentration)	Resistance types				
	GC-1	GC-2	GC-3	GC-4	GC-5
Streptomycin(S 10 g)	R	R	R	R	R
Penicillin(P 10IU)	R	R	R	R	R
Gentamicin(GM 10 g)	S	S	S	S	S
Kanamycin(K 30 g)	S	S	R	S	S
Tetracycline(TE 30 g)	R	R	R	R	R
Lincomycin(L 15 g)	S	R	R	R	R
Neomycin(N 30 g)	S	S	R	S	S
Ampicillin(AM 10 g)	R	S	R	R	R
Erythromycin(E 15 g)	S	S	R	R	R
Cephalothin(Cf 30 g)	S	S	R	S	R
Chloramphenicol(C 30 g)	R	S	S	R	S
Trimethoprim	S	R	S	R	S
Sulfamethoxazole(SXT 23.75 g)					

R : Resistant S : Sensitivity

因菌이 *A. hydrophila*였다고 報告하였는데, 本 研究 結果도 이와 一致하였다. 우리나라에서는 아직까지 메기의 疾病에 對한 報告는 거의 없는 實情이다. Lee등¹⁵⁾은 養殖 가물치의 腹水症의 原因菌은 *E. tarda*라고 報告하였으며, 또한 Lee¹⁶⁾는 메기 疾病에서와 비슷한 出血性 潰瘍症에 걸린 養殖 가물치로부터 *Aeromonas*屬 菌株을 分離하고 그中 *A. hydrophila* 보다 *A. veronii*가 主 原因菌이었다고 報告하여, 本 研究에서 出血性 潰瘍症을 誘發한 *A. hydrophila*와는 약간 相異하였지만 *Aeromonas*屬 菌株가 出血性 潰瘍症을 誘發한다는 것은 一致하는 것으로 나타났다.

또한 本 研究에서 分離한 *A. hydrophila*의 生物學的 性狀들도 田¹⁷⁾과 江草¹²⁾가 報告한 *A. hydrophila*의 性狀과 類似하였다. 藥劑 感受性試驗에서는 Kuge등⁴⁾은 *A. hydrophila*가 tetracycline에, 高橋등¹⁴⁾은 chloramphenicol에 感受性を 보였다가 報告한 反面에, 本 研究에서 分離한 *A. hydrophila*는 tetracycline에 모든 菌株가 抵抗性を 나타내 差異를 보였지만 streptomycin에서는 모든 菌株가 抵抗性を 나타내 그 結果는 一致하였다. 이러한 結果는 各 養殖場마다 藥劑 使用頻道에 따라 若干의 差異는 있는 것으로 生覺된다. *A. hydrophila*는 條件 病原體中의 하나로써, 魚類가 環境的, 生理的 스트레스를 받으면 大量으로 疾病을 誘發하며(Haley 등¹⁸⁾, Fliermans 등¹⁹⁾, Groberg 등²⁰⁾), 環境 要因 즉 不適合한 水溫(Rasheed²¹⁾), 溶存 酸素 不足(Rock 등²²⁾과 Plumb 등²³⁾), 高濃度의 窒酸(Handeson 등²⁴⁾)등 이다. 이러한 여러가지 要因들은 疾病 誘發과 아주 密接하기 때문에 메기를 飼育하는 養殖場에서는 水質의 惡化에 의한 스트레스를 最少化시켜 줌으로써 本 病을 豫防하는 것이 重要하다고 思料되었다.

結 論

全北 高敞郡 一圓에서 發病한 養殖 메기(*Silurus asotous*)로부터 *Aeromonas*屬 菌株을 分

離하였다.

分離된 菌株을 生物學的 生化學的 特性에 基礎하여 調査한 結果, *A. hydrophila*로 同定되었다. 分離된 *A. hydrophila*를 各各 GC-1, GC-2, GC-3, GC-4 그리고 GC-5라 命名하였다.

5菌株는 모두 pH 7~8%, NaCl 0~3% 範圍에서 잘 發育하였다. GC-1 菌株를 健康한 메기 筋肉에 人工感染시킨 結果, 養殖場에서 感染된 症狀에서 同一한 症狀이 나타났으나, 對照群은 전혀 發病하지 않았다.

感染 24時間 후 感染部位가 發赤되기 始作하였으며, 아가미와 배지느러미 部位에는 出血性 潰瘍이 점차 擴張되었다. 藥劑 感受性試驗에서 5 菌株는 모두 gentamicin에 感受성이 있었으나, penicillin, streptomycin, tetracycline은 전혀 感受성이 없었다.

參 考 文 獻

1. Meyer FP, Bullock GL. 1973. *E. tarda*, a new pathogen of channel catfish(*Ictalurus punctatus*). Appl Microbiol. 25 : 155-156.
2. De Figueiredo J, Plumb JA. 1977. Virulence of different isolates of *A. hydrophila* in channel catfish. Aquaculture. 11 : 349-354.
3. FiJan NN. 1968. Progress report on acute mortality of channel catfish fingerling caused by a virus. Bull Of Int Epizoot. 69 (7-8) : 1167-1168.
4. Kuge T, Takahashi K, Barcs I, et al. 1992. *A. hydrophila*, a causative agent of mass mortality in cultured Japanese catfish larve(*Silurus asotus*). 27(2) : 57-62.
5. 金榮吉. 1990. 韓國 魚病學會 제6회 學術發表要旨. pp.1, 1991. 韓國 魚病學會 제8회 學術發表要旨. pp.2-3.
6. YG Kim, KK Lee, KS Han. 1993. Studies on catfish(*Silurus asotous*) disease in

- Korea-1. Pathology on vibriosis. Unpublished.
7. Difco Lab. 1984. Difco manual 10th ed. Difco Lab.
 8. Macfaddin JF. 1980. Biochemical tests for identification medical bacteria. Williams & Wilkins. Baltimore /London
 9. Cowan and Steel's. 1974 Manual for the identification of medical bacteria. Cambridge. Univ Press.
 10. Ventura MT, Grizzle JM. 1988. Lesions associated with natural and experimental infection of *A. hydrophila* in channel catfish, *Ictalurus punctatus*(Rafinesque). J Fish Dis. 11 : 397-407.
 11. Whittington RJ, Gudkovs N, Carrigan MJ, et al. 1987. Clinical, microbiological and epidemiological findings in recent outbreaks of goldfish ulcer disease due to atypical *A. salmonicida* in south-eastern Australia. J Fish Dis. 10 : 353-362.
 12. 江草 周三. 1984. 魚病學. 恒星社厚生閣. 79-87p.
 13. Liobrera AT, Gautan RQ. 1987. *A. hydrophila* associated ulcerative disease epizootic in Laguna de Bay. Philippines. Aquaculture. 67 : 273-278.
 14. 高橋取之介. 川名俊雄. 中村多惠子. 1975. 魚病研究 9 : 187-192, 魚病研究 10 : 22-30.
 15. HK Lee, HK Seong, LH Park, et al. 1990. The study on the experimental ascite by *E. tarda* in snakehead(*Channa argus*). Bull. Kor. Fish. Soc. 25(3) : 353-360.
 16. HK Lee, 1992. Pathology of ulcerous disease in cultivated snakehead, *Channa argus*. Kor J Microbial. 30(3) : 164-170.
 17. 田世圭, 1977. 魚類 疾病. 太和 出版社. 11-56p.
 18. Haley R, Davis SP, Hide JM, 1967. Environmental stress and *A liquefaciens* in American and threadfin shad mortalities. Prog. Fish Cult. 29 : 193.
 19. Fliermans CB, Gorden RW, Hazen TC, et al. 1977. *Aeromonas* distribution and survival in a thermally altered lake. Appl Environ Microbiol. 33 : 114-122.
 20. Groberg WJ, McCoy RH, Pilcher KS, et al. 1978. Relation of water temperature to infections of coho salmon(*Oncorhynchus Icisutch*), chinook salmon(*O. tshawytscha*), and steelhead trout(*Salmo gairdneri*) with *A. salmonicida* and *A. hydrophila*. J. Fish Res Board Can. 35 : 1-7.
 21. Rasheed VMS. 1978. Effect of temperature on the virulence of *A. hydrophila* in fingerling channel catfish, *Ictalurus punctatus*. M.S. Thesis. Auburn Univ Auburn AL. 30p
 22. Rock I, Nelson HM. 1965. Channel catfish and gizzard shad mortality caused by *A. liquefaciens*. Prog Fish-ult. 27 : 138-141.
 23. Plumb JA, Grizzle JM, De rigueiredo J. 1976. Necrosis and bacterial infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* Following hypoxia. J Wildl Dis. 12 : 247-253.
 24. Handeson LA, Grizzle JM, 1985. Nitrite induced predisposition of channel catfish to bacterial diseases. Prog Fish-ult. 47 : 8-101.
 25. Walters GR, Plumb JA. 1980. Environmental stress and bacterial infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. J Fish Biol. 17 : 177-186.

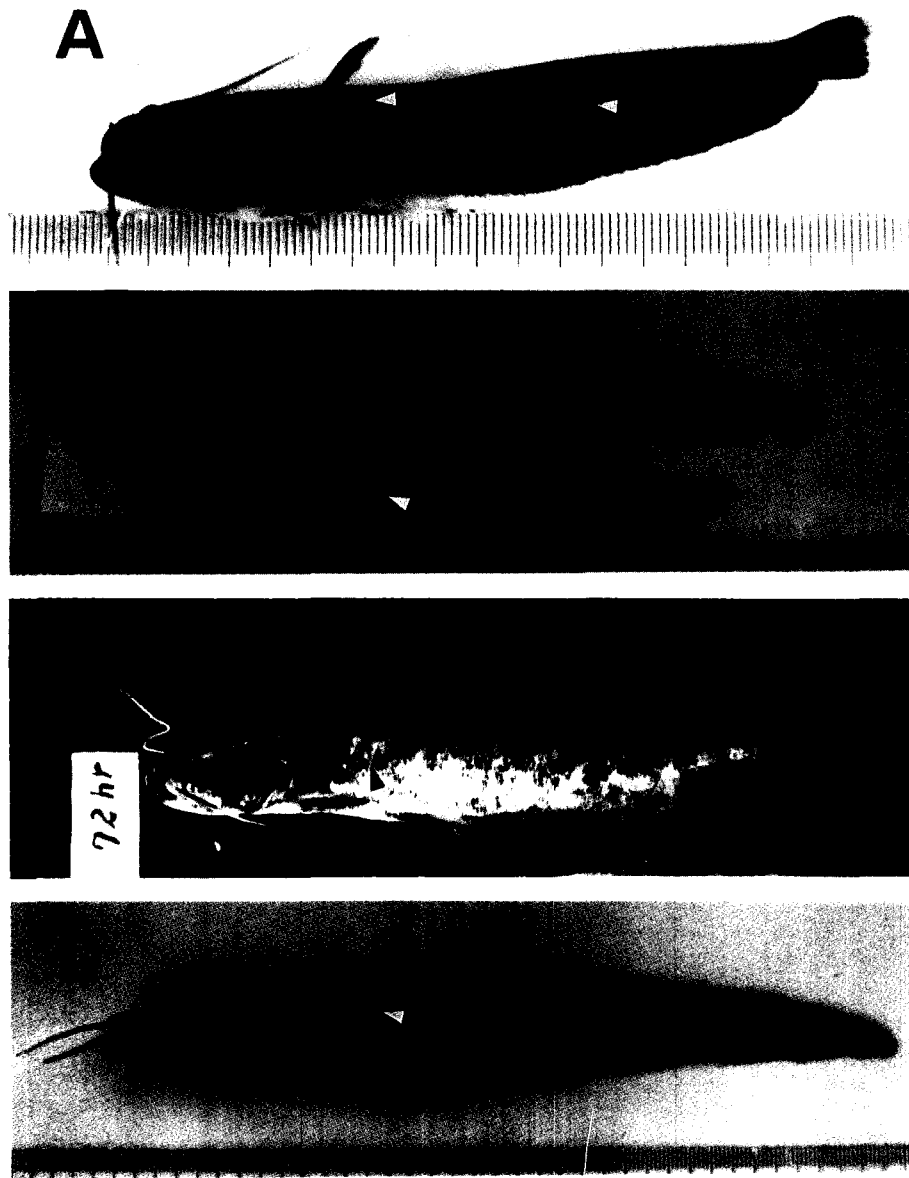


Photo 1. Catfish(*S. asotous*) with typical lesions caused by *A. hydrophila*(A, B) and symptoms of experimentally induced infection(C, D). Haemorrhagic ulcer was marked by arrows.