

양만장 사육조에서 분리한 *Edwardsiella tarda*의 약제 내성과 R Plasmid

최민순, 김영길

군산대학교 해양산업대학 수족병리학과

서해안 일원의 가온 양만장 사육조로부터 분리한 *E. tarda*균에 대한 약제내성검사 및 내성균의 내성인자 전달 시험을 실시하였다. 공시한 항생제에 대한 내성률은 LM, PM, SD, SF 등에는 100%, AP, CH, SM, OT 및 CP 등에는 89% 이상, OA 및 KM에는 70% 정도 그리고 AK, GM 및 EF 등에는 30% 이하의 내성률을 보였으며, 이와같은 내성률은 각 양만장에서 분리한 균주간에 차이를 보이지 않았다. 내성유형은 총 34유형으로 모든 분리균주가 8~14개의 다제내성을 보였으며, 그 중 LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM(22주, 21.4%) 및 LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA(12주, 11.7%) 유형등이 고빈도로 출현하였다. 내성균의 내성인자 전달유형은 총 55형으로 단제에서 13제까지의 다양한 내성인자가 전달되었는데, 그 중 LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA(10주, 10%), LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM(7주, 7%) 및 LM PM SD SF CP CH AP OA(7주, 7%) 등의 다제내성유형이 고빈도의 전달률을 보였으며, 약제별로는 GM, EF 및 AK 등에는 저빈도(0~20%), OT, SM, KM 및 OA 등에는 중등도(49~62%), AP, PM, LM, SF, CP, CH 및 SD 등에는 고빈도(71~94%)로 내성인자를 전달하였다.

Key Words : *Edwardsiella tarda*, eel-ponds, drug resistance, R plasmid

근래에 항균제가 양식산업에 이용되어 질병의 예방 및 치료에 크게 기여하고 있음은 주지의 사실이다(Aoki and Kitao, 1981; Grave *et al.*, 1990). 그러나, 항균제의 남용 및 오용 등으로 인한 내성균의 출현, 특히, 다제내성균의 증가로 인해서 각종 양식 산업에 이용되고 있는 화학요법제의 사용은 양식장에서 발병되는 세균성 질병의 치료에 전혀 효능이 없을 것이라는 지적도 있다(Aoki and Kitao, 1985).

장내세균과에 속하는 *Edwardsiella tarda*는 사육수 및 침전물 등에 분포하는 기회감염균으로서 각종 양식 어류등에 감염되어 경제적으로 많은 손실을 초래하고 있으며(Bang *et al.*, 1992; Kanai *et al.*, 1988; Lee *et al.*, 1990; Ryu *et al.*, 1993; Park, 1989). 특히 뱀장어에 있어서 *Edwardsiellosis*는 각 양만장의 사육 환경조건의 차이, 선별작업에 의한 뱀장어의 혼입과 환수에 따른 사육수의 변화로 인하여 발병시기가 일정하지 않을 뿐만

아니라, 어체의 크기 및 계절에 관계없이 연중 발병하는 고질적인 질환이다. 본 병의 치료 및 예방을 위한 효과적인 방법은 확립되지 않았으며 단지 화학요법 및 항생요법에 의존하고 있는 실정이다(Minagawa *et al.*, 1983; Park *et al.*, 1983; Aoki and Kitao, 1985).

저자 등은 본 병의 치료 및 예방 대책을 세우기 위한 실험의 일환으로 서해안 일원의 가온 양만장을 대상으로 한 사육조에서 *E. tarda*균을 분리하고 이들 분리균의 항균제 내성 검사와 내성인자 전달 시험을 실시하였던 바 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 공시균주의 분리 및 동정

1992년 10월에서 1993년 4월 사이에 서해안 일원 5개의 가온 양만장의 사육조에서 간이 동정법(Waytt *et al.*,

1979)에 준하여 총 103주의 *E. tarda* 균을 분리 동정하여 공시하였다(Fig. 1).

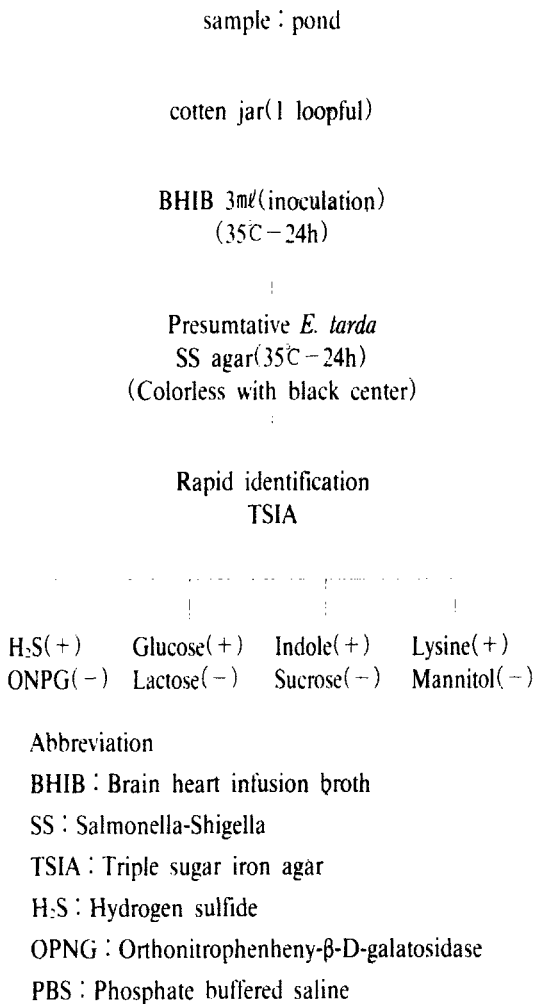


Fig. 1. A simple method for isolation and identification of *E. tarda* from eel culture pond

2. 공시항균제

시중에서 시판중인 streptomycin(SM, 동화제약), kanamycin(KM, 동화제약), gentamicin(GM, 종근당), enrofloxacin(EF, 한국동물약품), ampicillin(AP, 삼양화학), oxytetracycline(OT, 한국화이자), penicillin(PM,

녹십자), chloramphenicol(CH, 종근당), amikacin(AK, 근화제약), cephalosprin(CP, 동아제약), sulfamethazine(SF, 한국미생물), sulfadimethoxine(SD, 한국바이엘), oxolinic acid(OA, 삼진제약) 및 lincomycin(LM, 한국업존) 등의 항균제를 구입하여 각각의 약제를 MacLowry *et al.*(1970)과 Wolf *et al.*(1970)의 방법에 따라서 적당한 용매로 용해시킨 후 멸균 증류수로 희석하여 사용하였다(Table 1).

3. 약제 내성 시험

Brain heart infusion agar(BHIA, Difco Lab. pH 7.2)배지에 계대배양한 분리 균주를 brain heart infusion broth(BHIB, Difco Lab. pH 7.2)에 18시간 배양한 대수증식기의 균주를 상기한 농도의 약제가 첨가된 Muller Hinton agar(MHA, Difco Lab. pH 7.2) 평판배지에 접종, 35°C, 48시간 배양한 다음 발육하지 않으면 감수성, 발육하면 내성으로 판정하였으며, 동시에 내성균의 분포 및 다제내성 빈도를 파악하였다.

4. 접합시험에 사용한 배지 및 균주

BHIB를 증균배지로 사용하였으며, 공여균(donor)으로는 항균제 감수성검사 결과 내성균주를, 수용균(recipient)으로는 전북대학교 의과대학 미생물학교실로부터 분양받은 nalidixic acid(NA, Sigma)에 내성인 대장균 ML 1420주를 사용하였다. 선택배지는 NA 100µg/ml와 제1표의 항생제중 필요에 따라 내성을 보인 1제를 함께 첨가한 MacConkey agar(MA, Difco Lab. pH 7.2)를 사용하였다.

5. 약제내성전달시험

본 시험은 Ha *et al.*(1980) 방법에 준해서 실시하였다. 간기하면 35°C, 18시간 배양한 공여균과 수용균의 균액을 1:4의 비율로 혼합하여 35°C, 18시간 배양한 후 내성을 전달받은 수용균을 검출하기 위하여 NA(100µg/ml)와 1제의 항균제를 첨가한 선택배지에 접종하여 48시간 배양 후 이 배지상에서 증식하면 약제내성전달 양성으로 판정하였다.

Table 1. Drugs and Preparation of Antimicrobial Stock Solution

Drugs	Conc.($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)*	Solvent**
Kanamycin(KM)	30	0.01M PBS
Gentamicin(GM)	10	0.1M PBS
Streptomycin(SM)	10	Distilled water
Enrofloxacin(EF)	10	◇
Ampicillin(AP)	10	◇
Oxytetracycline(OT)	30	◇
Penicillin(PM)	10#	◇
Chloramphenicol(CH)	30	Ethyl alcohol
Amikacin(AK)	10	Distilled water
Cephalosprin(CP)	30	◇
Oxolinic acid(OA)	10	◇
Lincomycin(LM)	2	◇
Sulfamethazine(SF)	300	◇
Sulfadimethoxine(SD)	300	◇

* From Frankel, A. C. *et al.*(1970), Gradwohls Clin. Lab. Procedures and Diag. p. 1400.

** From MacLowry, J. D. *et al.*(1970), Appl. Mic. 20(1) : 46~49.

IU(International Unit)

결 과

1. 분리균의 약제내성률

양만장 사육수로부터 분리한 *E. tarda*(103주)균에 대한 14종의 항균제에 대한 내성 검사를 실시한 성적은 제 2표와 같이 LM, PM, SD 및 SF 등에는 모든 균주가 100%의 내성을 보였으며, 다음으로는 CP(99%), CH(98%), SM(97%), OT(91%), AP(89%), OA(78%), KM(62%), AK(29%), GM(18%), 및 EF(14%) 순으로 내성을 보였다.

2. 양만장간의 내성균 비교

각 양만장별 사육조에서 분리한 *E. tarda*균에 대한 약제 감수성 검사를 실시한 성적은 Fig. 2와 같이 대부분의 양만장에서 LM, PM, SD, SF, CP, CH, SM 및 OT 등의 약제에 대해서는 90% 이상의 고빈도의 내성을, KM,

OA 및 AP 등에는 50~90%의 내성을, GM, EF 및 AK 등의 약제에는 0~30%의 저빈도의 내성을 보여 각 양만장간에 차이를 보이지 않았다.

3. 분리균의 약제 내성유형

공시한 항균제에 대한 내성 유형은 제 3표와 같이, 총 34유형으로, 모든 분리균주가 8~14제의 다제내성유형을 보였으며, 이들 내성 유형중 LM, PM, SD, SF, CP, CH, SM, OT, AP, OA, KM(22주, 21.4%) 및 LM, PM, SD, SF, CP, CH, SM, OT, AP, OA(12주, 11.7%) 유형 등이 고빈도로 출현하였다.

4. R plasmid 전달률

공시 내성균주의 내성인자 전달 빈도는 제 4표와 같이 SD(97주, 94%), CH(90주, 89%), CP(89주, 86%), SF(88주, 85%), LM(84주, 82%) 및 PM(79주, 77%) 등

Table 2. Drug resistance of *E. tarda* isolated from eel culture-ponds

Antibiotics	Resistant strains	
	No.**	% #
LM*	103	100
PM	103	100
SD	103	100
SF	103	100
CP	102	99
CH	101	98
SM	100	97
OT	94	91
AP	92	89
OA	80	78
KM	64	62
AK	30	29
GM	19	18
EF	14	14

* Abbreviation : see table 1

** : A total number of strains was 103

: % of total strains

에는 비교적 고빈도로, AP(64주, 71%), SM(54주, 54%), OA(48주, 62%), OT(46주, 49%) 및 KM(34주, 53%) 등에는 중등도로, AK(6주, 20%) 및 EF(5주, 36%) 등에는 저빈도로 나타났으며, GM에 대한 내성인자는 모든 분리균주에서 전달되지 않았다.

5. R plasmid 전달유형

공시한 항균제에 대한 R plasmid 전달률은 제 5표와 같이, 총 53유형으로, 단제에서부터 13제의 다제내성 전달이 이루어졌으며, 그 중 LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA(10주, 10%), LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM(7주, 7%) 및 LM PM SD SF CP CH AP OA(7주, 7%) 등의 다제내성유형등이 고빈도로 출현하였다.

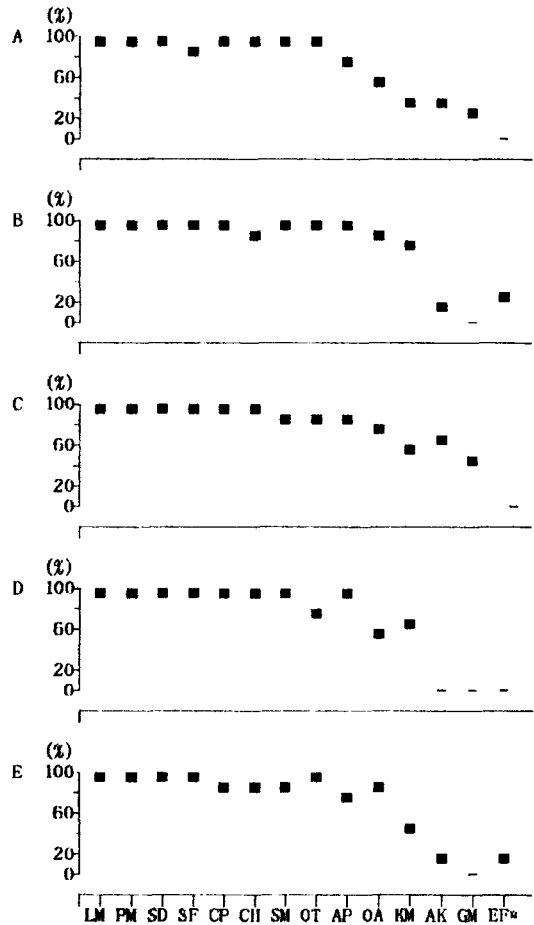


Fig. 2. Comparison of drug resistance among the eel farms(*E. tarda*).

A(28 strains), B(20 strains), C(19 strains),

D(18 strains), E(18 strains)

* Abbreviation : see table 1

고 찰

최근 약제내성의 유전학적 연구에 의하여 R plasmid가 발견된 이래 어류의 병원성 세균에 대한 약제 내성 검사가 외국등지에서 많이 이루어져 왔으며, 그 결과 고도의 내성균이 검출됨이 보고되어 이의 역학적 중요성이 강조되고 있다(Aoki T and Kitao, 1981; Aoki T, 1993; Dubnau et al., 1986; Grave et al., 1990).

Table 3. Multiple drug resistant patterns of *E. tarda* isolated

Resistant patterns	Resistant strains	
	No.	%
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM AK GM EF*	2	1.9
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM AK GM	6	5.8
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM AK EF	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM AK	6	5.8
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM EF	5	4.9
LM PM SD SF CP CH SM OT OA KMAK GM	3	2.9
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM GM	2	1.9
LM PM SD SF CP CH SM OT AP KMAK GM	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA AK GM	1	1
LM PM SD SF CP CH SM AP OA KMAK GM	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM	22	21.4
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA EF	4	3.9
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA AK	2	1.9
LM PM SD SF CP CH SM OT AP KMAK	2	1.9
LM PM SD SF CP CH SM OT AP AK GM	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT OA AK GM	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT OA KMEF	1	1
LM PM SD SF CP CH OT AP OA KMAK	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA	12	11.7
LM PM SD SF CP CH SM OT AP KM	4	3.9
LM PM SD SF CP CH SM AP OA KM	2	1.9
LM PM SD SF CP CH OT OA KMAK	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT OA EF	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT AP GM	1	1
LM PM SD SF CH SM OT AP OA KM	1	1
LM PM SD SF CP SM OT AP OA KM	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT AP	7	6.8
LM PM SD SF CP CH SM AP KM	2	1.9
LM PM SD SF CP CH SM OT OA	2	1.9
LM PM SD SF CP CH SM AP OA	1	1
LM PM SD SF CP SM OT OA AK	1	1
LM PM SD SF CP CH SM AP	3	2.9
LM PM SD SF CP CH OT AP	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT	1	1
Total 34	103	100

* Abbreviation : see table 1

Table 4. Frequency of transferred R plasmid of resistant strains

Antibiotics	No. of resistant strains**	resistance transferred	
		No.***	% #
SD*	103	97	94
CH	101	90	89
SF	103	88	85
CP	102	89	86
LM	103	84	82
PM	103	79	77
AP	92	64	69
SM	100	54	54
OA	80	48	62
OT	94	46	49
KM	64	34	53
AK	30	6	20
EF	14	5	36
GM	19	0	0

* Abbreviation : see table 1

** : A total number of strains was 103

*** : No. of transferred strains

: % of transferred strains

본 조사에서 분리군의 공시한 약제에 대한 내성률은 LM, PM, SD, SF 및 등에는 100%, AP, CH, SM, OT 및 CP 등에는 89% 이상, OA 및 KM 등에는 70% 정도, 그리고, AK, GM 및 EF 등에는 30% 이하로 보였으며, 이와 같은 성적은, 양만장별로 비슷하게 나타났는데, 한번도 이동 사실이 없는 양어장의 어류 세균에서도 CM, OT 및 Sulfamonomethoxin 등에 대한 R plasmid가 항생제 사용 빈도에 비례하여 빈도가 높게 나타난다는 보고(Thageshima *et al.*, 1985)에 미루어 사용 빈도에 비례하여 내성현상이 나타난 것으로 보여지며, 공시한 양만장간의 어류의 이동 사실여부에 대해서는 불분명하며 이에 대한 역학조사가 필요하리라 사료된다.

4-Quinolone제제 중의 하나인 EF에는 비교적 낮은

내성(14주, 13%)을 보였는데, 이는 4-Quinolone제제등이 어류질병의 주요 원인체인 그람 음성세균에 대한 높은 감수성을, R plasmid매개 내성전이 빈도가 적고, 사람, 가축 및 어류등에서 매우 탁월한 효과를 보이며, 또한 약동력학이 20°C에서 10°C보다 훨씬 효과적이었다는 점(Martinsen *et al.*, 1991; Barnes *et al.*, 1990) 등은 앞으로 가온 양만장의 세균성 질환의 예방 및 치료 대책에 4-Quinolone제제등의 사용이 실효를 거둘 것으로 추정된다.

한편 수산용으로는 비교적 사용되지 않고 있는 일부의 약제(GM 및 AK)에서도 비록 저빈도이나 18~29%의 내성을 보인 점 등도 간과해서는 안될 것이며, 본 조사에서 공시한 모든 군이 8~14세의 다제내성의 출현양상을 보이고, 10제 이상의 다제내성 출현율이 전체의 80% 이상을 차지하였으며, 이들 내성 유형중 LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM(22주 21.4%) 및 LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA(12주, 11.7%) 등의 다제내성유형이 고빈도 출현되어 다제내성균 확산의 심각성을 보여주었다. 이는 항생제 비처리 사육조에서 분리된 *E. tarda*균에서도 AP, KM, TC 및 OT 등의 항생제 내성이 발현되었다는 보고(Roland *et al.*, 1991)와 양만장의 침전물에 축적된 CP, OA 및 OT 등의 항균효과가 장기간 소실되지 않는다는 보고(Cravedi *et al.*, 1980; Bjorkrond *et al.*, 1990) 등과 약제내성 균의 출현 및 증가요인으로 항생제의 과다한 사용, 빠른 교체 및 사료첨가 등을 지적하였으며, 특히 사료에 첨가된 항생제는 거의 어류에 섭취되지 않고 외부로 유출된다는 보고(Grave *et al.*, 1990) 등은 사육조 세균의 내성획득은 치료에 사용한 항생제 뿐만 아니라 사료에 첨가된 항균제에 의해서도 증가될 것으로 유추되어 이들에 대한 추시가 필요하리라 사료된다. 또한 *E. tarda*균이 사육조에서 계절별 차이없이 연중으로 분리되고, 혈청학적으로 병원성 균주가 높은 분포를 보였다는 점(Park *et al.*, 1989; Park, 1989) 등에 미루어, 선별시 뱀장어와 내성균의 동시 혼입에 따른 약제내성화를 더욱 확산시켰을 것으로 추정된다.

한편, R plasmid의 전달실험 결과에서는 GM에는 내

Table 5. Frequency of transferred R plasmid in *E. tarda* isolated

Resistant patterns transferred	Incidence of pattern	
	No.	%
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM AK EF*	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM AK	2	2
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM EF	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM	7	7
LM PM SD SF CP CH SM OT AP KM AK	2	2
LM PM SD SF CP CH SM OT OA KM EF	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA	10	10
LM PM SD SF CP CH SM OT AP KM	5	5
LM PM SD SF CP CH OT AP OA KM	2	2
LM PM SD SF CP CH SM AP OA KM	2	2
LM PM SD SF CP CH SM OT OA KM	1	1
LM PM SD SF CP CH SM OT OA EF	1	1
LM PM SD SF CP SM OT AP OA EF	1	1
LM PM SD SF CH SM OT AP OA KM	1	1
LM PM SD SF CP CH SM AP OA	4	4
LM PM SD SF CP CH SM OT OA	2	2
LM PM SD SF CP CH OT AP KM	2	2
LM PM SD SF CP CH SM OT AP	1	1
LM PM SD SF CP CH SM AP KM	1	1
LM PM SD SF CP CH AP OA AK	1	1
LM PM SD SF CP CH AP OA	7	7
LM PM SD SF CP CH SM AP	3	3
LM PM SD SF CP CH SM KM	1	1
LM PM SD SF CP CH AP KM	1	1
LM PM SD CP CH OT AP OA	1	1
LM SD SF CP CH SM AP OA	1	1
LM PM SD SF CP OT AP KM	1	1
PM SD SF CP CH SM AP KM	1	1
LM PM SD SF CP CH AP	2	2
LM PM SD SF CP CH OA	1	1
LM PM SD CP CH SM AP	1	1
LM SD SF CP CH SM OT	1	1
LM PM SD SF CP CH	4	4
LM PM CP CH OT AP	1	1
LM SD SF CP CH AP	1	1
LM SD SF CP CH KM	1	1
LM SD SF CH OT SM	1	1
PM SD SF CP CH SM	1	1
LM SD SF CP CH	4	4
LM PM SF CP CH	1	1
LM PM SD CH AP	1	1
LM SD SF CH OA	1	1
PM SD CP CH	2	2
PM SD SF CP	2	2
SD CP CH SF	2	2
SD CP CH KM	1	1
SD SF CP	1	1
SD SF CH	1	1
LM SD	1	1
SD CH	1	1
SF SM	1	1
SD	3	3
OT	1	1
Total 53	101	100

* Abbreviation : see table 1

성균주 모두가 내성인자를 전달하지 않았으며, AK 및 EF 등의 약제에는 20~36%의 저빈도의 OT, SM, KM 및 OA 등의 약제에는 49~62%의 중등도의 AP, PM, LM, SF, CP, CH 및 SD 등의 약제에는 71~94%로서 고빈도의 내성인자의 전달률을 보였으며, 또한 내성전달 유형은 총 53유형으로, 단제에서부터 13제의 다제내성전달이 이루어졌으며, 그중 LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA(10주, 10%) 및 LM PM SD SF CP CH AP OA(7주, 7%)의 유형등이 고빈도로 출현하였다. 본 실험에서 약제에 고빈도의 내성을 갖는 내성균일수록 내성 전달률이 높아지는 경향을 보였는데, 이는 양식장 간에 항생제 사용 빈도에 비례하여 약제의 내성출현빈도가 각각 다르게 나타난다는 보고(Aoki and Kitao, 1981; Thageshima *et al.*, 1985) 등으로 보아 과도한 양의 항생제의 사용으로 인한 약제내성의 발현율의 증가 및 약제내성 전달률이 높게 나타난 것으로 보여진다. *Aeromonas hydrophilla*균의 경우에 20°C에서 10°C보다 약제내성전달이 10~20배 정도가 높게 이루어졌다는 보고(Stamm, 1989)는, 본 실험에서 공시한 *E. tarda*균이 가운 양만장의 사육수라는 점으로 미루어 내성균의 분포가 빠르게 확산되어져서 다제내성 빈도율이 높게 나타난 것으로 사료된다.

난래에 양식산업에 있어서 세균성 질병의 예방에 많이 이용하여 실효를 거두고 있는 것으로 알려진 Quinolones제제중의 하나인 OA에 대한 내성화가 증가추세를 보이는데(Aoki *et al.*, 1989; Sugida *et al.*, 1989; Grave *et al.*, 1990), 이는 OT에 내성을 보이는 *A. hydrophilla* 균주에서 OA에 대한 감수성을 저하시키는 교차내성인자(37Kd)가 존재하며 그 작용기전은 세포외막의 투과성을 저하시키는 것과 관련되어진다는 점(Barnes *et al.*, 1990)으로 보아 본 실험에서 OT약제의 내성발현 94(91%)주 중 46(49%)주, OA 내성발현 78(76%)주 중 48(62%)주의 내성전달을 보인 점등은 교차내성인자에 의한 내성 발현 가능성을 추정할 수 있겠으나 본 실험만으로는 불분명하며 이에 대한 추사가 필요하리라 사료된다. 어류에서 분리된 세균에서 CH, TC, sulfamonomethoxine 및 Furazolidone 등의 전달성 R plasmid를 검출, 분리

하였으며 이들 중 일부의 DNA 구조가 매우 유사하고, 이들의 R plasmid의 전달 발현체가 동시에 발현되어 진다는 보고(Aoki and Takai, 1981; Aoki *et al.*, 1985; Thageshima *et al.*, 1985; Aoki T., 1993) 등에서 공시한 본 균의 다제내성의 발현이 같은 기전에 의해서 발현되어졌을 것으로 추정된다.

한편, OA와 Miloxacin의 혼합처리시 저농도에서도 치료 효과가 뛰어났다는 점(Aoki *et al.*, 1989)은 약제의 단독처리보다는 혼합처리가 바람직하리라 사료되고, 사육조의 좋은 환경이 어체의 건강과 세균성질환의 예방에 주요한 작용을 한다는 점(Aoki and Takai, 1981)을 고려해 볼 때 약제의 부분별한 오용 및 남용은 반드시 개선되어져야 하리라 사료된다.

참 고 문 헌

- Aoki, T. and T. Kitao : Drug resistance and transferable R plasmid in *Edwardsiella tarda* in fish culture ponds. *Fish Pathol.* 15 : 277~281, 1981.
- Aoki T., T. Kanazawa and T. Kitao : Epidemiological surveillance of drug resistant *Vibrio anguillarum* strains. *Fish Pathol.* 29(2/3) : 199~208, 1985.
- Aoki T., T. Kitao and M. Fukudome : Chemotherapy against infection with multiple drug resistant strains of *Edwardsiella tarda* in cultured eel. *Fish Pathol.* 34(3) : 161~168, 1989.
- Aoki T. : Drug resistance in fish pathogenic bacteria. *J. Fish Pathol.* 6(1) : 57~64, 1993.
- Bang J. D., S. K. Chun, S. I. Park and Y. J. Choi : Studies on the biochemical and serological characteristics of *Edwardsiella tarda* isolated from cultured flounder. *paralichthys olivaceus* *J. Fish Pathol.* 5(1) : 29~35, 1992.
- Barnes A. C., C. S. Lewin, H. S. Hastngs and S. G. B. Amyes : Federation of europa microbiological societies 3~5, 1990.
- Bjorklund H., J. Bonerstam, G. Bylund : Residues

- of oxytetracycline in wild fish and sediments from fish farms ; *Aquaculture* 86 : 359~367, 1990.
- Cravedi J. P., G. Choubert and G. Delous : Digestibility of chloramphenicol, oxolinic acid and oxytetracycline in rainbow trout and influence of these antibiotics on lipid digestibility *Aquaculture* 16 : 133~141, 1987.
- Dubnau D. and M. Monod : The regulation and evolution of MLS resistance in antibiotic resistance genes : Ecology : transfer and repression. pp. 369~387. *cold spring Harbor Lab.* 1986.
- Franke S., S. Petimann and A. C. Sonnewith : Gradwols clinical laboratory method and their interpretation. C. V. Mosby Co. p. 1. 400-1, 413, 1970.
- Grave K., M. Engelstad, N. E. Soli and T. Hastein : Utilization of antibacterial drugs in salmonid farming in norway during 1980~1988. *Aquaculture* 86 : 347~358, 1990.
- Ha T. U., J. H. Lee and H. K. Lee : Antibiotic resistance and elimination of R plasmids of *Staphylococcus aureus*. *The jumbuk univ. med. j.* 4(1) : 157~162, 1980.
- Jeong H. D. and S. K. Chun : The utilization of antibiotics and the treatment of bacterial disease. *J. Fish Pathol.* 5(1) : 37~48, 1992.
- Kanai K., S. Tawaki and Y. Uchida : An ecological study of *Edwardsiella tarda* in flounder farm. *Fish Pathol.* 23 : 41~47, 1988.
- Lee H. K., H. K. Seong, L. H. Park, K. R. Jo and Y. J. Kim : The study on the experimental asite by *Edwardsiella tarda* in snakehead(*Channasid*). *Bull. Korean Fish. Soc.* 23(5) : 353~360, 1990.
- MacLowry, J. D., M. J. Jaqua and S. T. Selepak : Detailed methodology and implementation of semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. *Appl. microbiol.* 20 : 46~49, 1970.
- Martinsen B., E. Myhr, E. Reed and T. Hastein : *In vitro* antimicrobial activity of sarafloxin against Clinical isolates of bacteria pathogenic to fish. *J. of aquatic animal health* 3 : 235~241, 1991.
- Minagawa, T., T. Nakai and K. Muroga : *Edwardsiella tarda* in eel culture environmental. *Fish pathol.* 17(4) : 243~250, 1983.
- Park S. I., H. Wakabayashi and Y. Wayanave : Serotype and virulence of *Edwardsiella tarda* isolated from eel and their environment. *Fish Pathol.* 18(2) : 85~89, 1983.
- Park S. I. : Studies on immuno-responses of eel. *Anguilla japonica*-I. serological studies on *Edwardsiella tarda*. *J. Fish Pathol.* 2(2) : 83~90, 1989.
- Roland M. Mcphearson, Angelo depaola. : Antibacterial resistance in gram negative bacteria from cultured catfish and aquaculture ponds. *Aquaculture* 99 : 203~211, 1991.
- Ryu H. Y., W. Y. Cho, C. S. Lee and G. J. Heo : Detection of *Edwardsiella tarda* the pathogenic bacteria in freshwater fishes by means of the indirect fluorescent antibody technique. *Korean. J. Vet. Serv.* 16(2) : 111~119, 1993.
- Stamm J. M. : *In vitro* resistance by fish pathogens to aquacultural antibiotics. including the quinolones difloxin and sarafloxin. *J. Aquatic animal Health* 1 : 135~141, 1989.
- Sugita H., C. Miyajima, M. Fukumoto, H. Koyama and Y. Deguchi : Effect of oxolinic acid on fecal microflora of goldfish(*Carassius auratus*) *Aquaculture* 80 : 163~174, 1989.
- Takashima N., T. Aoki and T. Kitao : Epidemiological surveilence of drug resistant strains of *Pasteurella piscida*. *Fish Pathol.* 20 : 209~217, 1985.
- Wyatt L. E., R. I. I. Nickelson and C. Vanderzant : *Edwardsiella tarda* in fresh water catfish and their environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 39(4) : 710~714, 1979.

Antibiotic Resistance and R Plasmids in *Edwardsiella tarda*

Min-Soon Choi and Young-Gill Kim

Department of Fish Pathology, Kunsan National University, Chunbuk 573-400, Korea

A total 103 strains of *Edwardsiella tarda* was isolated from eel culture-ponds and examined for drug resistance, distribution and transferabilities of R plasmids.

The drugs used were lincomycin(LM), penicillin(PM), sulfamethazine(SF), sulfadimethoxine(SD), cephalosprin(CP), chloramphenicol(CH), streptomycin(SM), oxytetracycline(OT), ampicillin(AP), oxolinic acid(OA), kanamycin(KM), amikacin(AK), gentamicin(GM) and enrofloxacin(EF).

Two strains were resistant to the all drugs used, and all isolates were multiply resistant to drugs(at least 8 among 14 drugs), mostly restricted to LM(103 strains), PM(103 strains), SD(103 strains), SF(103 strains), CP(102 strans), CM(101 strains), SM(100 strains), OT(94 strains), AM(92 strains), OA(80 strains), KM(60 strains), AK(30 strains), GM(19 strains) and EF(14 strains), in combination at high degree showing 34 different drug resistant patterns. The most frequently encountered patterns were LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM(22 strains, 22.4%) followed by LM PM SD SF CP CH SM OT AP(7 strains, 6.8%), LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA KM AK GM(6 strains, 5.8%) and LM PM SD SF CP CH SM OT AM OX KM AK GM(6 strains, 5.8%).

Transfer experiment of drug resistance showed that of 103 resistant strains, 100 strains(97%) transferred part or all resistance to all drugs, indicating that most isolates carried conjugally transferrable R plasmids determining multiple drugs. The most frequently observed transferable R plasmids were LM PM SD SF CP CH SM OT AP OA(10 strains), LM PM SD SF CP CH SM OT AP OX KM(7 strains) and LM PM SD SF CP CH AP OA(7 strains).

These results suggested that eel culture-ponds were highly contaminated with different strains of *Edwardsiella tarda*, and that contaminated bacteria might be highly multiple resistant strains to drugs, carrying transferable R plasmids.

Key Words : *Edwardsiella tarda*, eel-ponds, drug resistance, R plasmid