

한국산 메기(*Silurus asotus*)의 질병에 관한 연구 III. *Edwardsiella ictaluri* 감염증

박성우 · 김영길

군산대학교 수족병리학과

1993 년 전북도 관내에서 순환여과식으로 사육중인 한국산 메기에 세균성 질병이 발생하여, 이 질병에 의한 폐사율이 4 개월 동안에 30% 에 달하였다. 병어는 양어지의 가장자리에서 두부를 위로 한채 힘없이 물표면을 헤엄치거나 때로는 회전 발광유영을 하는 개체가 많았다. 외견상 특징적인 증상은 두부와 가슴지느러미의 기부에 궤양 병소가 형성되거나 아랫턱 주변의 출혈을 주증상으로 하고 있었다. 병어의 뇌, 신장, 비장 및 간장으로부터 원인균을 분리하여 생화학적 특성과 생물학적 특성을 조사한 바, *Edwardsiella ictaluri* 로 동정되었다. 분리균을 한국산 메기, 차널메기 및 잉어에 복강주사하여 병원성을 조사한 결과 한국산 메기와 차널메기에는 병원성이 있었지만, 잉어에 대한 병원성은 없었다.

Key Words : *Edwardsiella ictaluri*, Korean catfish, Characteristics, Pathogenicity

Edwardsiella ictaluri 의 감염증은 Hawke(1979)에 의해 차널메기, *Ictalurus punctatus* 에 Enteric septicemia 를 일으키는 균으로 처음으로 보고되어져, Hawke 등(1981)에 의해 동정되어졌다. Hawke(1979)는 이 균은 숙주 특이성이 강하여 ictalurid 의 어류 이외에는 감수성이 없는 obligate pathogen 이라 하였고, 이는 Plumb 과 Schnchez(1983)에 의해 blue tilapia, *Sarotherodon aureus* 에는 약간의 감수성이 있을 뿐, golden shiner, *Notemigonus crysoleucas*, largemouth bass, *Micropterus salmoides*, bighead carp, *Aristichthys nobilis* 에는 감수성이 없는 것이 입증되어졌다. 그러나 최근 *E. ictaluri* 의 감염실험에서 차널메기보다는 감수성이 낮지만, European catfish, *Silurus glanis*(Plumb and Hilge, 1987), 왕연어, *Onchyrinchus tshawytscha* 와 무지개송어, *O. mykiss*(Baxa and Hedrick, 1989)에 감수성이 있는 것으로 밝혀졌다. 또한

Walterman 등(1985)은 빈사상태에 있는 danio, *Danio devario* 의 뇌로부터, Kasoranclandra 등(1987)은 walking catfish, *Clasias betrach* 에서 *E. ictaluri* 를 분리하였다고 보고함으로써 ictalurid 에 한정된 병원균이 아니라 조건에 따라서는 다른 어종에도 발병할 가능성이 있다는 것이 강하게 시사되어지고 있다.

우리나라의 내수면 양식은 댐, 호소에서의 가두리양식의 환경오염에 따른 규제 때문에 점차 육상사육으로 전환되고 있는데, 한국산 메기를 대상어류로 하는 경우가 많으며 특히 전남북지방과 충남 내륙지방에서 지수식 또는 순환여과식에 의한 양식이 매년 증가되고 있는 추세이다. 지금까지 한국산 메기의 세균성 질병으로는 종묘생산기의 대량폐사와 양식중에 빈발하는 *Aeromonas hydrophila* 감염증(Kuge et al., 1992; 한 등 1993)과 해안과 가까운 곳에서 양식시 발병하는 *Vibrio ordalii*(김 과 이, 1993)에 의한 비브리오

병의 보고가 있을 뿐이다. 본 연구는 1993년 11월에 전북도내의 한국산 메기 양어장에서 발병하여 대량폐사를 일으킨 질병의 원인을 조사한 결과, *E. ictaluri*의 감염에 의한 것임을 밝혀내고, 이 질병의 발병상황, 원인균의 특성 및 병원성에 대하여 보고한다.

재료 및 방법

1. 병어

순환여과식으로 메기를 사육하고 있는 전북도 소재의 A 수산 양어지에서 채집한 빈사상태에 있는 병어(평균체장 32.2 cm, 평균체중 337.2 g) 6미를 시료로 하여 외부증상 및 내부증상을 관찰한 후 원인균의 분리에 사용하였다.

2. 원인균의 분리 및 성상검사

Tryptic soy agar(Difco, TSA)와 brain heart infusion agar(Difco, BHIA)의 평판배지에 병어의 간장, 비장, 신장, 뇌 및 체표의 환부를 도말접종한 다음 25°C에서 24-48시간 배양하였다. 생화학적 검사는 분리균을 BHIA로 25°C에서 24시간 전배양한 후 상법에 따라 실시하였다. 다만 H₂S의 생산, 포도당으로부터의 가스 생산, KCN에서의 발육, 운동성 및 식염내성의 경우에는 25°C와 37°C에서 배양한 결과를 판정하였으며, Gelatin 액화시험은 20°C에서 배양하였다. 대조균으로는 *E. ictaluri* ATCC 33202와 *E. tarda* FSW 801040(넙치 복강액유래)를 사용하였다.

3. 병원성

BHIA에 접종하여 25°C에서 24시간 배양한 분리균(B-1)을 멸균생리식염수로 희석하여 한국산 메기(평균체장 17.3 cm, 평균체중 78.3 g),

차널메기(평균체장 19.3 cm, 평균체중 97 g) 및 잉어(평균체장 17.5 cm, 평균체중 189.5 g) 각 5미에 0.1 ml씩 복강주사하여 40×61×40 cm의 아크릴제 수조에 수용하여 24.5-25.5°C에서 10일간 사육하면서 폐사율을 조사하였다. 접종균의 농도는 한국산 메기와 차널메기는 2×10⁸, 2×10⁷ 및 2×10⁶ cells의 3 농도, 잉어는 2×10⁷ 및 2×10⁶ cells의 2 농도로 하였다. 대조로서는 멸균생리식염수를 동량 주사하였다. 또 폐사어의 뇌를 BHIA에 접종하여 접종균의 재분리를 시도하였다.

결과 및 고찰

1. 발병현황

병어를 채포한 양어장에서 본 질병이 처음으로 발생한 것은 1993년 11월 27일로서 송어용 부상사료를 투여하고 있었으며, 사육수온은 24°C였다. 병어는 양어지의 가장자리에서 힘없이 유평하거나 두부를 위로 한채 회전발광유영을 하고 있는 개체가 많았다. 외부증상으로는 체표의 점상출혈과 두부, 체표 및 가슴지느러미의 직후방에 직경 1-5 mm의 궤양병소가 형성되고 복부팽만, 위턱과 아래턱 주변의 출혈, 가슴지느러미 기부의 출혈, 항문 주변의 발적과 용기등의 증상을 나타내는 개체가 많았다(Fig. 1-A, 1-B). 부검하여 보면 신장과 비장의 종대 및 뇌출혈이 주증상이었다. 병어가 회전발광유영하는 것은 뇌의 출혈로 인한 평형기능의 상실에 기인하는 것으로 추정되어진다.

양어장의 사육일지를 근거로 하여 본 질병에 의한 일간 폐사미수와 누적폐사율을 계산하여 Fig. 2에 표시했다. 본 질병에 의한 일일 폐사량은 적게는 10-20미, 많게는 50-60미씩 폐사하여, 조사기간 동안(40일)에 총사육량 14톤중 5톤가량이 폐사함으로써 누적폐사율은 약 30%

Fig. 1. Korean catfish infected with *Edwardsiella ictaluri* naturally (A, B) and experimentally (C, D). A, Ulceration on the skull of the fish is representative clinical sign (arrow); B, Lateral view of a diseased fish, showing small ulceration at the base of the pectoral fin and around the mouth (arrow); C, Hemorrhage on the mandible and the depigmented part on the skull (arrow); D, Petechial hemorrhage occurred on the operculum and belly.

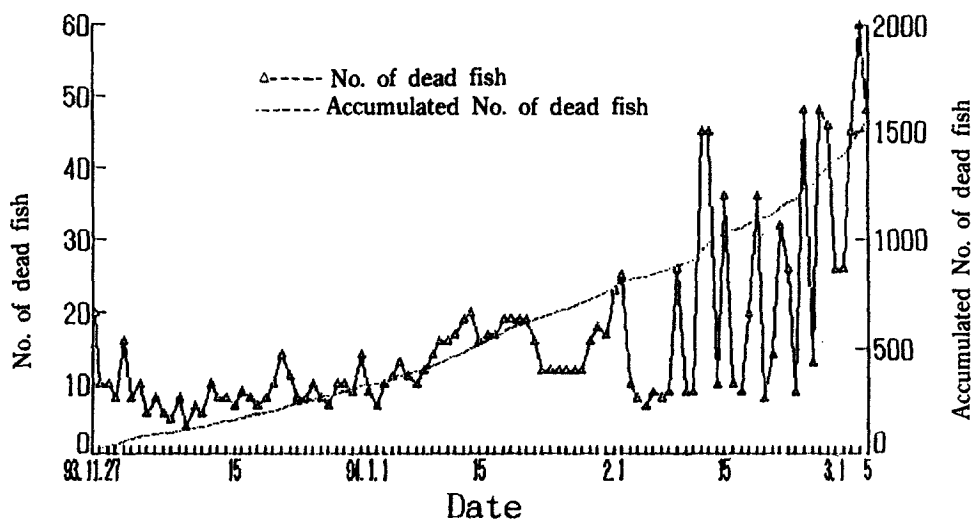


Fig. 2. Daily mortality caused by naturally occurring *Edwardsiella ictaluri* infection in Korean catfish, *Silurus asotus*.

정도로 장기간에 걸쳐 만성적으로 진행되는 것이 특징적이었다.

2. 분리균의 성상

분리에 사용한 장기와 환부 모두에서 원인균으로 추정되는 세균의 분리가 가능하였는데, 특히 뇌에서는 거의 순수상태로 분리되어졌다. 또 TSA 에서는 원인균의 발육이 늦은 반면 BHIA 에서 잘 자랐다. 따라서 본 질병의 원인균의 분리에는 BHIA 를 사용하여 뇌에서 분리하는 것이 가장 좋을 것으로 생각되어진다.

Table 1. Baterial strains used in this study

Strain	Origin	Isolated date
B-1	Brain, catfish	1994. 3. 12
B-2	"	"
B-3	"	1994. 3. 23
B-4	"	"
BL-1	Lesion on the head, catfish	"
BL-2	"	"
SL-1	Lesion on the skin, catfish	"
SL-2	"	"
<i>Edwardsiella ictaluri</i>		
ATCC 33202		
<i>Edwardsiella tarda</i>		
Peritoneal fluid, plaice		FSW 81040

Table 2. Biochemical and biophysical characteristics of the isolates compared with those of *Edwardsiella ictaluri* and *E. tarda*

Characteristics	Present isolates	<i>E. ictaluri</i>	<i>E. tarda</i>	Characteristics	Present isolate	<i>E. ictaluri</i>	<i>E. tarda</i>
Gram stain	-	-	-	Acid from			
O-F	F	F	F	Cellulose	-	-	-
Cytochrome oxidase	-	-	-	Dulcitol	-	-	-
Catalase	+	+	+	Esculin	-	-	-
H ₂ S production	-	-	+	Fructose	+	+	+
Indole	-	-	+	Galactose	+	+	+
Methyl red	+	+	+	Glucose	+	+	+
V-P (Voges-Proskaur)	-	-	-	Inocitol	-	-	-
Simmon's citrate	-	-	-	Lactose	-	-	-
Nitrate	+	+	+	Maltose	+	+	+
Gelatin liquefaction	-	-	-	Mannose	+	+	+
Lipase	-	-	-	Raffinose	-	-	-
KCN	-	+	+	Rhamnose	-	-	-
Casein hydrolysis	-	-	-	Ribose	+	+	+
Starch hydrolysis	-	-	-	Salicin	-	-	-
Decarboxylase				Sorbitol	-	-	-
Arginine	-	-	-	Sucrose	-	-	-
Lysine	+	+	+	Xylose	-	-	-
Ornithine	+	+	+	Motility at			
Malonate utilization	-	-	-	25°C	+	+	+
Kauffman-Peterson				37°C	-	-	+
D-tartrate	-	-	-	Tolerance to NaCl			
Gas from glucose at				1.5%	+	+	+
25°C	+	+	+	3%		+	+
37°C	-	-	+				
Acid from							
Adonitol	-	-	-				
Arabinose	-	-	-				

BHIA 에서 25°C, 48 시간 배양한 분리균은 원형의 주변 원활, 중앙이 불룩한 투명의 집락을 형성하였다. 분리균의 성상은 Table 1 에 나타난 분리균 8 균주와 대조균주를 사용하여 검사한 것을 Table 2 에 나타냈다. 분리균은 그람음성의 간균으로 포도당을 발효적으로 분해하였으며, oxidase 음성으로 황화수소를 생성하지 못하였다. 또 인돌, 구연산 이용, V-P 반응은 음성이었지만 MR 은 양성이었다. KCN 존재하에서는 발육, 주석산 이용은 음성이었고 포도당을 이용하여 가스를 생산하지 못하였다.

기질로 사용한 탄수화물 중에서 Fructose, Galactose, Glucose, Maltose, Mannose 와 Ribose 는 분해하여 산을 생성하였으나 나머지의 당은 이용하지 못하였다. 또 25°C 에서는 활발한 운동을 하였지만, 37°C 에서는 운동이 저지되었다. 1.5% 의 식염존재하에서는 자랐지만 3% 의 식염농도에서는 자라나지 못하였다. 분리균의 이러한 성상은 대조균으로 사용한 *E. tarda* 의 성상과 비슷하지만 H₂S의 생성, indole, KCN, 포도당으로부터의 가스 생산, 37°C 에서의 운동성, 3% 식염내성에서 차이가 나지만, *E. ictaluri* 와는 대부분의 모든 성상에서 일치하여 Hawke 등(1981)이 보고한 *E. ictaluri* 의 성상과도 일치하였다. 또 Waltman 등(1986)이 119 주의 *E. ictaluri* 의 성상을 비교하여 포도당 분해에 의한 가스생산과 H₂S 의 생산등에서 차이가 보이지만, 생화학적으로 거의 동일 성상을 나타내는 것으로 보고한 것과 같이 메기에서의 분리균도 그의 결과와 일치하고 있어 *E. ictaluri* 로 동정하였다.

3. 병원성

한국산 메기, 차넬메기 및 잉어에 대한 병원성은 Table 3 에 표시하였다. 분리균은 메기에 대하여 높은 감수성을 가진 반면 잉어에 대한 감수

Table 3. Pathogenicity for catfish, channel catfish and common carp of B-1 strain of *Edwardsiella ictaluri* isolated from diseased fish by intraperitoneal inoculation

Fish species	Challenge dose (cells/fish)	No. of dead fish			No. of fish died/total
		Days after inoculation			
		1-3	4-7	7-10	
Catfish,	2×10^8	5	-	-	5/5
<i>Silurus asotus</i>	2×10^7	2	3	-	5/5
	2×10^6	0	1	1	2/5
Control	0.1 ml*	0	0	0	0/5
Channel catfish,	2×10^8	5	-	-	5/5
<i>ictalurus punctatus</i>	2×10^7	0	0	2	2/5
	2×10^6	0	0	2	2/5
Control	0.1 ml*	0	0	0	0/5
Common carp,	2×10^8	0	0	0	0/5
<i>Cyprinus carpio</i>	2×10^7	0	0	0	0/5
Control	0.1 ml*	0	0	0	0/5

Water temperature was maintained within 24.5 ~ 25.5°C.

* Injected with physiological saline

성은 없었다. 한국산 메기에 2×10^8 cells 을 접종한 경우 1 일 후부터 거의 모든 개체가 옆으로 누운 상태의 이상유형, 입 주변 특히 위턱과 아래턱의 발적, 구간부에 발적 또는 직경 1-2 mm 의 미소궤양병소의 형성 및 가슴지느러미의 경골기조에 발적이 생겨, 접종 2 일부터 3 일 사이에 전량 폐사하였다. 2×10^7 cells 을 접종한 경우 접종 3 일 후에 아래턱에 점상출혈, 아가미뚜껑 내부의 발적, 구간부의 발적, 가슴지느러미의 발적, 항문발적과 복부팽만의 증상이 나타나서 폐사하기 시작하여 7 일 이내에 전량 폐사하였다. 2×10^6 cells 을 접종 4 일 후부터 입 주변부, 가슴지느러미기부, 체표에 발적, 두부의 퇴색이 생기면서 폐사되기 시작하여 실험기간 동안에 2 미가 폐사하였다(Fig. 1-C, 1-D). 차넬메기의 경우

에도 한국산 메기와 유사한 증상을 나타내었으나, 한국산 메기보다는 감수성이 낮았다. 또 잉어의 경우는 두 접종 농도 모두 외부증상이나 폐사가 관찰되어지지 않아 잉어에 대한 실험적 감염은 성립되지 않았다.

Plumb 과 Sanchez(1983)은 *E. ictaluri*의 감염증은 차널메기를 비롯하여 white catfish, *I. catus* 와 Brown bullhead, *I. nebulosus* 등의 ictalurid 에만 감염되어지는 숙주 특이성이 강한 균으로 그외의 어종에 대하여는 병원성이 없다고 하였다. 그러나 Waltman 등(1985)은 빈사상태에 있는 danio 의 뇌로부터 *E. ictaluri* 를 분리하여 danio 에 복강주사에 의한 재감염실험을 시도한 결과 96 시간내에 100% 폐사하는 높은 병원성을 나타내었다. Kasoranchandra 등(1987)도 walking catfish 에 발생한 세균 감염증의 원인균을 *E. ictaluri* 로 보고하는 등 ictalurid 이외의 어종에서도 *E. ictaluri* 의 감염증이 보고되어지고 있다. 또한 European catfish, *Silurus glanis*(Plumb and Hilge, 1987), 왕연어와 무지개송어에 인공감염이 성립되는 것으로 보아 타어종에도 발병할 가능성은 있다고 추정할 수 있다. 한국산메기에 발생한 *E. ictaluri* 균이 어떠한 경로를 거쳐서 유입 발병되었는가는 불분명하지만, 이 병원균이 차널메기와 동일장소에서 사육중인 한국산 메기에 전달되어 숙주 특이성이 강하기 때문에 발병하지 않았지만, 장기간 동일 사육지에서의 사육에 의한 적응의 형태로 메기에 대한 감수성이 증강되어 독력이 강화된 것으로 추정되어진다. Plumb 과 Quinlan(1986)의 지적처럼 *E. ictaluri* 는 편성 병원균(obligate pathogen)이 아닐 가능성이 높아 환경요인 즉 수온, 바닥침전물의 유기물 축적 상태등에 따라 숙주를 벗어나서도 장기간 생존이 가능하게 되어 다른 어종에의 발병가능성도 예견되어지므로 이에 대한 대비를 철저히 하여야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- Baxa, D. V. and Hedrick, R. P. : Two more species are susceptible to experimental infections with *Edwardsiella ictaluri*. Am. Fish. Soc. Newsletter, 17(1) : 4, 1989.
- 한규삼 · 최인열 · 배정준 · 김영길 · 이근광 · 김영진 : 한국산 메기 (*Silurus asotus*)의 질병에 관한 연구. I. *Aeromonas hydrophila* 에 의한 피부궤양병. 한국가축위생학회지, 16 : 103-110, 1993.
- Hawke, J. P. : A bacterium associated with disease of pond cultured channel catfish, *Ictalurus punctatus*. J. Fish. Res. Bd. Can., 36 : 1508-1512, 1979.
- Hawke, J. P., Mcwhorter, A. C., Steigerwatt, A. G. and Brenner, D. J. : *Edwardsiella ictaluri* sp. nov., the causative agent of enteric septicemia of catfish. Int. J. Syst. Bacteriol., 31 : 396-400, 1981.
- Kasoranchandra, J., Rogers, W. A. and Plumb, J. A. : *Edwardsiella ictaluri* from walking catfish *Clarias batrachus* L., in Thailand. J. Fish Dis., 10 : 137-138, 1987.
- 김영길 · 이근광 : 한국산 메기 (*Silurus asotus*)의 질병에 관한 연구. II. 비브리오병에 관하여. 한국어병학회지, 6(1) : 1-10, 1993.
- Kuge, T., Takahashi, K., Barcs, I. and Hayashi, F. : *Aeromonas hydrophila*, a causative agent of mass mortality in cultured Japanese catfish larvae (*Silurus asotus*). Gyobyo Kenkyu, 27 : 57-62, 1992.
- Plumb, J. B. and Sanchez, D. J. : Susceptibility of five species of fish to *Edwardsiella ictaluri*. J. Fish Dis., 6 : 261-266, 1983.
- Plumb, J. B. and Quinlan, E. E. : Survival of

- Edwardsiella ictaluri* in pond water and bottom mud. Prog. Fish Cult., 48 : 212-214, 1986.
- Plumb, J. B. and Hilge, V. : Susceptibility of European catfish (*Silurus glanis*) to *Edwardsiella ictaluri*. J. Appl. Ichthyol., 48 : 212-214, 1987.
- Waltman, W. D., Shotts, E. B. and Blazer, V. S. : Recovery of *Edwardsiella ictaluri* from danio (*Danio devario*). Aquaculture, 46 : 63-66, 1985.
- Waltman, W. D., Shotts, E. B. and Hsu, T. C. : Biochemical characteristics of *Edwardsiella ictaluri*. Appl. Environ. Microbiol., 51 : 101-104, 1986.

Studies on disease of catfish, *Silurus asotus*, in Korea.**III. *Edwardsiella ictaluri* infection.****Sung-Woo Park and Young Gill Kim**

*Department of Fish Pathology, College of Ocean Science & Technology,
Kunsan National University, Kunsan 573-400, Korea*

A new bacterial infection occurred among the cultured Korean catfish, *Silurus asotus*, in Chunbuk prefecture, Korea, 1993. This disease produced about 30% mortality in the fish for 4 months. The diseased fish was swimming listless at the water surface with head up and tail down, sometimes spinning in circles. The most outstanding clinical sign was ulceration on the skull and at the base of the pectoral fins. The causative organism was isolated from the brain, kidney, spleen and liver of diseased fish, and identified as *Edwardsiella ictaluri* by the biochemical and biophysical characteristics. After intraperitoneal inoculation of the isolate, the pathogenicity was proved positive for Korean catfish, *S. asotus*, and channel catfish, *Ictalurus punctatus*, but negative for carp, *Cyprinus carpio*.

Key Words : *Edwardsiella ictaluri*, Korean catfish, Characteristics, Pathogenicity