

## 뱀장어 아가미 울혈증에 관한 연구

### III. NaCl처리가 울혈증 치료에 미치는 영향

최민순 · 박관하 · 최상훈 · 김영길 · 김종면\* · 조정곤\* · 장선일\*\*

군산대학교 해양산업대학 수족병리학과

전북대학교 수의과대학\*

수산진흥원 서해연구소\*\*

뱀장어에 인위적으로 스트레스를 가하여 아가미 울혈증을 발생시킨 후에 NaCl 처리에 따른 CVS의 울혈증의 치료효과 및 혈액성상의 변화에 미치는 영향을 조사하였다. 스트레스 직후에 고빈도의 발병율을 보였던 아가미 및 간의 울혈증은 염처리 후 3일째까지는 감소되었으나, 4일 이후에는 별 영향이 없었다. 혈액성분중 스트레스 후 증가되었던 Ht, Met-Hb, Ca<sup>++</sup>, GOT, GPT, LDH 및 glucose치 등과 감소되었던 Mg<sup>++</sup> 및 Hb치 등은 염처리 3일까지는 회복율이 촉진되었으나, 그 이후에는 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 알부민 및 총단백치는 염처리 기간동안 별 변화가 없었다. 이상의 결과는 스트레스에 의해 발병된 아가미 울혈증에 대한 염처리법은 초기 3일까지는 효과가 있으나, 그 이상의 기간에는 전혀 효과적이지 못함을 보여준다.

Key Words : Stress, Congestion, CVS, NaCl

최근에 주로 양식 뱀장어에 있어서 다발하는 아가미 울혈증은 어체의 크기 및 계절에 관계없이 발병되면서, 일단 발병시에는 누적폐사율의 증가로 인하여 경제적으로 막대한 손실을 초래한다. 본 증상은 외관상으로 뚜렷한 임상 소견을 보이지 않으면서, 아가미 중심정맥동 Central venous sinuses(CVS)의 강한 울혈을 특징으로 한다(Egusa *et al.*, 1989; Foscarini, 1989; 1992; 김 등, 1994; 최, 1994). 한편, 본증의 발병기전에 관한 연구는 여과성 병원체 감염증, 내분비의 변화로 인한 무기 이온의 감소증 및 선별시에 가해지는 handling 및 온도차 등에 의한 스트레스성에 의한 것으로 보고되고 있다(Tanaka and Egusa, 1992; Ikeda, 1992; Inouye *et al.*, 1994; 김 등, 1994). 본 증에 대한 예방 및 치료대책으로는 사육수온의 상승 및 염처리등을

실시하고 있으나 그 효과에 대한 구체적인 연구는 아직 미흡한 실정이다. 이에 저자 등은 본증에 대한 그 예방 및 치료대책을 수립하기 위한 일환으로 스트레스를 가하여 울혈증을 유발시킨 후에 NaCl 처리를 시간별로 처리하여 울혈증의 치료효과에 미치는 영향을 조사하였던 바 그 결과를 보고하고자 한다.

#### 재료 및 방법

##### 1. 공시어의 사육

울혈증 발생률이 없었던 양만장에서 체중 100g 정도의 뱀장어를 구입하여 울혈증상이 없음을 확인한 후, 96L(60×40×40cm)의 유리수조에 27℃로 사육하였다. 매일 24℃의 사육수를 2회 환수하여

순치 시켰다.

## 2. 발병실험

김 등(1994)의 방법에 준하여 어체에 스트레스(handling 및 수온의 변화)를 가하였다. 즉, 27°C의 사육수의 온도를 자연적으로 22°C로 낮춘 다음 무작위로 채집한 뱀장어를 5분간 공기중에서 심하게 흔든 후에 0.85%의 NaCl 수조에 1주일간 사육하면서 매일 10미씩 희생시켜 울혈증의 발병여부를 조사하였다. 이때 대조군으로는 NaCl을 함유되지 않은 지하수를 이용하여 1주간 사육하였다.

## 3. 병변검사

사육조로부터 무작위로 채집한 후 가능한한 스트레스를 주지 않기 위해서 뱀장어(100~150g)의 경부를 절단한 후 한쪽 아가미의 세편을 절취하여 광학현미경( $\times 40\sim 100$ )으로 울혈증의 발병여부를 관찰하고, 아울러 내부장기의 이상유무를 관찰하였다.

## 4. 혈액성분 분석

희생된 어체로부터 헤파린(100,000 IU, Sigma)을 처리한 튜브에 채혈한 다음 혈액성분을 분석하였다. 즉, Haematocrit(Ht)는 microhaematocrit법, haemoglobin(Hb)은 Cyanmethemoglobin법 그리고 Methemoglobin(Met-Hb)은 Evelyn과 Malloy등(1938)의 방법에 준하여 실시 하였다. 또한 헤파린 처리 혈액을 3,000rpm에서 10분간 원심분리시킨 후 상청액의 혈장으로부터 총단백은 Biuret법, 알부민은 BCG법, glutamic pyruvic transaminase(GPT), glutamic oxalacetic transaminase(GPT) 등은 Reitman Frankel법, 마그네슘은 키시딜블루법, 칼슘은 OCPC법 및 글루코스는 효소법 등으로, 시판되고 있는 임상용 kit(ASAN PHARM. Co., LTD)를 사용하여 측정하였다.

## 결 과

### 1. NaCl처리가 아가미 및 간의 울혈증 치료에 미치는 영향

어체에 인위적으로 스트레스를 가한 후 0.85% NaCl 사육수에 1주간 방치시키면서 NaCl이 아가미 및 간의 울혈증의 변화에 미치는 영향을 조사하였던 바, 그 결과는 Fig. 1과 같다. 즉 스트레스 후 아가미 및 간등에 고빈도의 발병율을 보였던 울혈증은 염처리군에서는 1~3일까지는 빠른 회복율을 보이다가 4일 이후에는 완만하게 증가를 보여준 반면에 대조군의 경우에는 5일까지는 완만하게 감소되다가 다시 증가되었다.

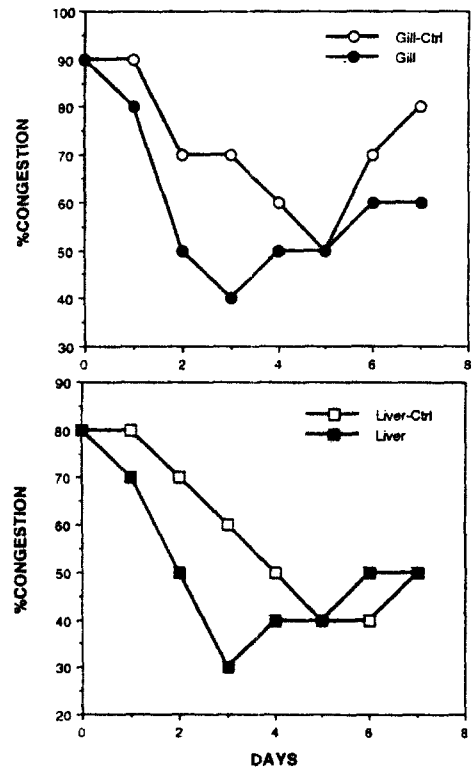


Fig. 1. The changes of gill and liver congestions in eels acclimated to NaCl(0.85%) for 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7days after handling stress. Values represent averages from ten fish per group. \*Ctrl; control.

2. NaCl 처리가 Ht, Hb 및 Met-Hb에 미치는 영향

염처리시 Ht, Hb 및 Met-Hb에 미치는 영향을 조사한 성적은 Fig. 2와 같다. 즉 증가된 Ht치의 회복율은 대조군의 경우에 있어서는 3일까지 미약 하였으나, 염처리군에는 염처리 1일째부터 빠른 회복율을 보여 주었으나, 4일째 부터는 염처리 유무에 관계없이 대조군과 큰 차이를 보이지 않았다. Hb치는 대조군의 경우에는 1일째에는 약간의 감소를 보이다가 2일째부터 회복되는 경향을 보여주었으나, 염처리군의 경우에는 염처리 1일째부터 회복율의 증가를 보여주었다.그렇지만 4일 이후에는 염처리에 관계없이 다소 감소되었다. 한편, Met-Hb치는 대

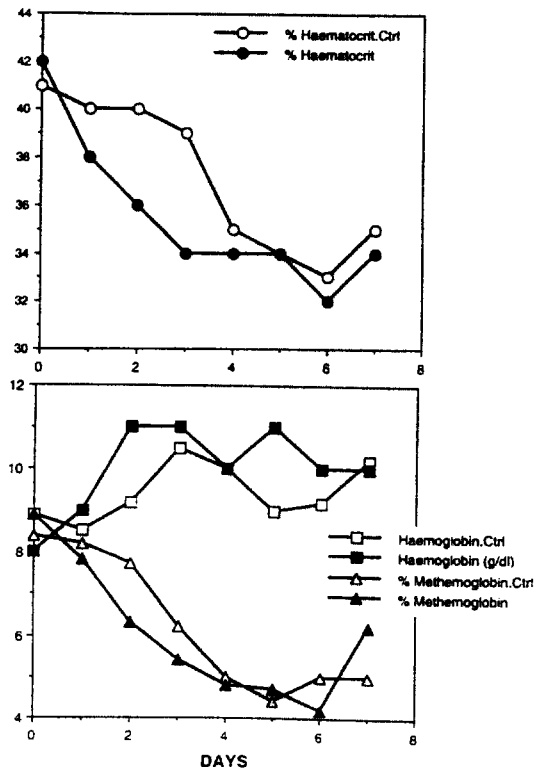


Fig. 2. The changes of Ht, Hb and Met-Hb values in eels acclimated to NaCl(0.85%) for 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7days after handling stress. Values represent averages from ten fish per group. \*Ctrl.; control

조군에 비해서 회복율이 약간 촉진되었으나 실험 기간 동안 큰차이는 없었다.

3. NaCl 처리가 총단백 및 알부민에 미치는 영향

염처리시 총단백 및 알부민에 미치는 영향을 조사한 성적은 Fig. 3과 같다. 스트레스 후 대조군의 경우에는 2일째까지는 총단백의 미소한 감소를 보이다가 3일째부터 서서히 회복되는 경향을 보였다.

한편, 알부민치는 실험 기간중 약간의 변동은 있었으나, 대조군에 비해서 큰 차이가 없었다.

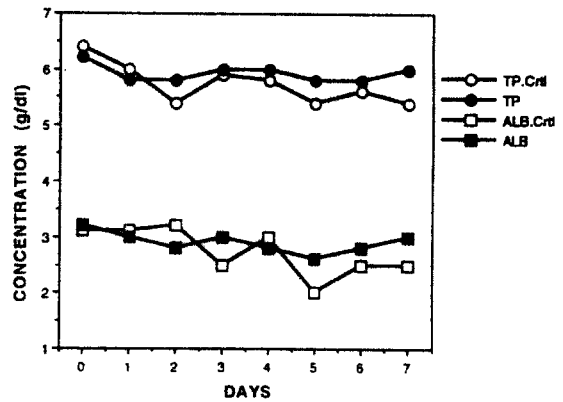


Fig. 3. The changes of TP and ALB values in eels acclimated to NaCl(0.85%) for 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7days after handling stress. Values represent averages from ten fish per group. \*TP; total protein, ALB; albumin, Ctrl; control.

4. Glucose 및 LDH치에 미치는 영향

염처리시 glucose 및 LDH에 미치는 영향을 조사한 성적은 Fig. 4와 같다. 즉 스트레스 후에 현저히 증가되었던 glucose 및 LDH등은 염처리 2일까지는 대조군에 비해서 회복율이 빠르게 진행되었으나, 3일 이후에는 다시 증가되었으며 이때 대조군과는 큰 차이를 보이지 않았다.

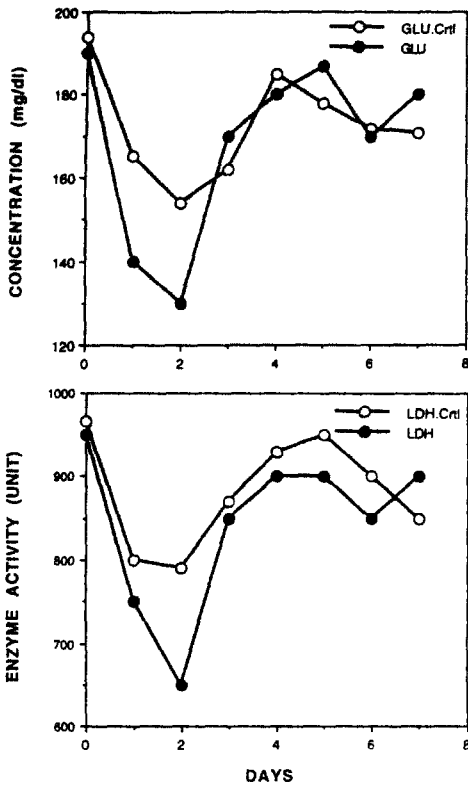


Fig. 4. The changes of GLU and LDH levels in eels acclimated to NaCl(0.85%) for 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7days after handling stress. Values represent averages from ten fish per group. \*GLU; glucose, LDH; lactic dehydrogenase, Ctrl; control.

5. NaCl 처리가 GOT 및 GPT의 변화에 미치는 영향

염처리시 GOT 및 GPT에 미치는 영향을 조사한 성적은 Fig. 5와 같다. 즉 스트레스후에 증가되었던 GOT치는 대조군에 비해서 염처리 2일째까지는 회복을 촉진시켰으나 3일째부터는 큰 차이를 보이지 않았고 6일째에는 다시 증가 되었다. 한편, 스트레스시 증가되었던 GPT치는 염처리 3일째까지 대조군에 비해 빠른 회복을 보였으나 4일째에 증가 되었다.

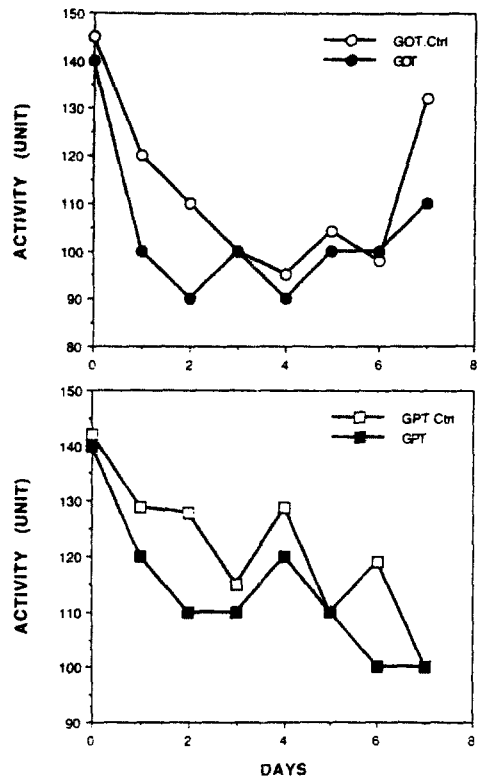


Fig. 5. The changes of GOT and GPT levels in eels acclimated to NaCl (0.85%) for 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7days after handling stress. Values represent averages from ten fish per group. \*GOT; glutamic oxaloacetic transaminase, GPT; glutamic pyruvic transaminase, Ctrl; control.

6. NaCl처리가 Ca++ 및 Mg++ 의 농도에 미치는 영향

염처리시 Ca<sup>++</sup> 및 Mg<sup>++</sup>치에 미치는 영향을 조사한 성적은 Fig. 5와 같다. 스트레스후에 현저하게 증가를 보였던 Ca<sup>++</sup>치는 대조군에서는 실험기간동안 완만하게 감소된 반면에 염처리군에서는 2일까지는 회복을 촉진시켰으며, 3일 이후에는 대조군보다 낮은 상태로 유지되었다. 한편 스트레스시에 저하되었던 Mg<sup>++</sup>치는 대조군의 경우에는 완만한 회복을 보인 반면에 염처리군에서는 2일까지는 빠른

회복율을 보였으나 3일째부터 약간 감소되어 대조군과 큰 변화를 보이지 않았다.

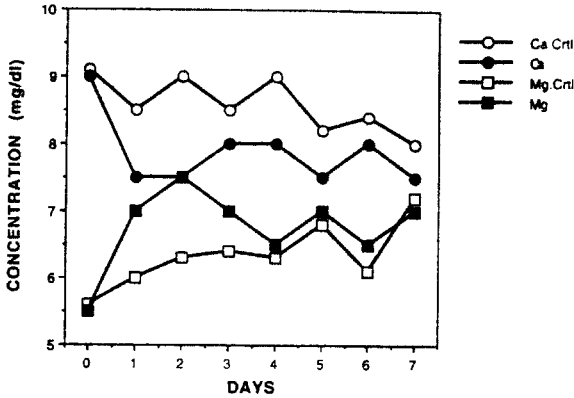


Fig. 6. The changes of  $Mg^{++}$  and  $Ca^{++}$  levels in eels acclimated to  $NaCl(0.85\%)$  for 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7 days after handling stress. Values represent averages from ten fish per group. Mg; magnesium, Ca; calcium, Ctrl; control.

### 고찰

양식 뱀장어에 다발되는 아가미 울혈증은 아가미 중심정맥동(Central venous sinuses, CVS)의 심한 울혈을 특징으로 대량폐사를 유발시킨다(Egusa *et al.*, 1989; Ikeda, 1992). 현행 실시되고 있는 본종의 치료법은 식염수욕, Mg투여 및 고수온처리법등이 이용되고 있으나, 이들의 치료효과등에 대한 체계적인 연구는 아직까지 미흡한 실정이다. 이에 본 연구에서는 handling 스트레스를 통해 인위적으로 아가미울혈증을 유발시킨 후에 염처리가 울혈증의 치료효과에 미치는 영향을 조사하였다.

Inouye *et al.* (1994)와 Tanaka and Egusa(1992) 등은 울혈증 감염어의 아가미의 1차세편의 혈관내 피상피에서 직경 80nm의 육각형 바이러스 입자를 전자현미경으로 확인하였고, 병어 아가미 마쇄액을 이용한 감염실험에서 동일한 증상이 발현됨을 확인함으로써 본종의 발병원인이 바이러스에 기인된다고 하였다. 그러나, 최근에 김등(1994)과 최(1994)

는 뱀장어의 아가미 울혈증은 스트레스(handling 및 수온차)에 의해 기인된다고 하였으며, 그 발현 기전은 스트레스시 내분비계 및 신경계의 자극으로 에너지 대사계의 활성화에 따른 혈액내의  $CO_2$  및 양이온등이 증가되어 동정맥계의 혈류 유입의 증가로 입새 및 출새동맥 과 CVS가 현저하게 확장되며, 이때 혈액성분의 현저한 변화가 수반된다고 하였다(Ishimatsu *et al.*, 1988; Olson, 1984; Foscarini, 1989).

본 실험에서 스트레스 직후에 대조군에 비해서 염처리 초기(1~3일)까지는 고빈도로 발병된 울혈증에 비례하여 현저하게 증감이 되었던 혈액성분의 회복률이 빠르게 촉진 되었다. 이러한 결과는 아가미 울혈증이 자연발병된 뱀장어의 혈액성분중 K, Ca, TP 및 glucose는 상승되었으나,  $Mg^{++}$  및  $Cl^-$ 농도가 현저하게 감소되는 것을 관찰하였으며, 이때 염(0.6~0.8%)처리는 혈장의  $Cl^-$ 농도를 상승시킴으로써 아가미 울혈증의 대한 효과적인 치료법일 수 있다는 가능성을 제시한 Egusa 등(1989)의 보고와 일치된다. 즉 담수에 순치된 뱀장어에 있어서 이온의 교환은  $Na^+$ 를 섭취하는 대신에  $H^+$  및  $NH_4^+$ 이온을 방출하며,  $Cl^-$ 을 섭취하는 대신에  $CO_2$ 를 방출함으로써 적절한 이온 평형을 유지하고 있다(Girard and Patan, 1980). 그러나, handling 및 과밀등의 심한 stress는 어체내의 내분비계통의 변화를 유발시킴으로써 이온의 불균형을 초래할 수 있는데, 본 실험에서 관찰된 바와 같이 울혈증에 대한 NaCl의 처리는 스트레스로 인해 발생한 이온의 불균형을 정상적으로 복원시킴으로써 궁극적으로는 많은 변화를 보였던 GOT, GPT, LDH, glucose, Ca 및 Mg등의 수치를 정상으로 환원시켰을 것으로 추정되며, 울혈증 치료의 방법으로 염처리는 다소간 효과가 있는 것으로 인정된다.

그러나, 본 실험에서 stress에 의해 고빈도로 발생한 울혈증 및 혈액학적 변화는 염처리 초기(0-3)에는 대조군에 비해 회복이 빠르게 촉진되었으나, 4일 이후에는 염처리와 무관하게 다시 울혈증이

악화되어진 결과를 보였다. 최근 stress에 의해서 일단발병된 울혈증의 진행정도는 사육환경에 따라서 많은 영향을 받게 되는데, 특히 사육수중에 필연적으로 발견되는 아질산이 아가미 및 간세포를 손상시키고, Hb를 Met-Hb로 전환시켜 산소의 결합 및 운반을 억제하며 또한 혈액의 전해질을 변화시킴으로써 대량폐사를 유발시킬 것으로 추정된 점 (Kubota *et al.*, 1982; Wedemeyer and Yasutake, 1978; Margiocco *et al.*, 1983; 김 등, 1994; 최, 1994) 등으로 미루어 볼때, 염처리 초기(0~3일)에는 사육수중의 Cl<sup>-</sup>이온이 빠르게 흡수되다가, 염처리 후기인 4일 이후에는 사육수중에 아질산이 증가되기 때문에 Cl<sup>-</sup>이온이 경쟁적 흡수억제능력을 상실함으로써 (Meade and perone, 1980), 울혈증이 다시 악화되는 것으로 사료되어진다. 그러나, Inouye 등 (1994)이 제시한 바이러스 직접적인 감염에 의한 울혈증의 발병, 또는 잠복기에 있는 바이러스가 스트레스에 의해서 울혈증의 발현에 관여하였을 가능성을 배제 할 수 없다.

본 실험의 결과로 미루어 NaCl의 처리가 내분비계의 변화로 야기된 울혈증을 초기에는 경감시킬수 있으나, 후기단계의 2차적 요인으로 사료되는 바이러스 및 환경요인등에 의해서 재 발현되는 울혈증에 대해서는 별로 유효하지 않을 것으로 사료된다. 따라서 앞으로 각 단계에서의 생리적 요인, 바이러스 및 환경적 요인등의 관여에 대한 추사가 필요하리라 사료된다.

### 참 고 문 헌

- Egusa, S., Tanaka, M., Ogami, H. and Oka, H. : Histopathological observations on an intense congestion of the gills in cultured Japanese eel, *Anguilla japonica*. Fish Pathol., 24(1) : 51-56, 1989.
- Evelyn, K. A. and Malloy, H. T. : Microdetermination of oxyhaemoglobin and sulfahemoglobin of in a single sample of blood. J. Biol Chem., 126 : 655-662, 1938.
- Girard, J. P and Patan, P. : Ion exchange through respiratory and chloride cells in freshwater and saltwater adapted teleosts, Am. J. Physiol., 238, R260-268, 1980.
- Foscarini, R. : Induction and development of bacterial gill disease in the eel (*Anguilla japonica*) experimentally infected with *Flexibacter columnaris* : Pathological changes in the gill vascular structure and in cardiac performance. Aquaculture, 78 : 1-20, 1989.
- Ikeda, Y. : 혈액학적 방법에 의한 어류의 건강진단, 한국어병학회 추계학술대회, 10 : 17 (Abstract), 1992.
- Inouye, K., Miwa, S., Aoshima, H., Oka, H. and Sormachi, M. : A histopathological study on the etiology of intense congestion of the gills of Japanese eel, *Anguilla japonica*. Fish Pathol., 29 (1) : 33-41, 1994.
- Ishimatsu, A., Iwama, G. K. and Heisler, N. : *In vivo* analysis of partitioning of cardiac output between systemic and central sinus circuits in rainbow trout : A new approach using chronic cannulation of the branchial vein. J. Exp. Biol., 137 : 75-88, 1988.
- Kubota, S., Amano, H., Miyazaki, T., Kamiya, N. and Ichioka, M. : Study on experimentally occurred methemoglobinemia in Japanese eel-1, Bull. the Facul. Fish., Mie University, 9 : 135-153, 1982.
- Margiocco, C., Arillo, A., Mensi, P. and Schenone, G. : Nitrite bioaccumulation in *Salmo gairdneri* and haematological consequences. Aquat. Toxicol., 3 : 261-270, 1983.
- Meade, T. L. and Perrone, S. J. : Effect of chloride ion concentration and pH on the transport

- of nitrite accross the gill epithelia of coho salmon(*Oncorhynchus kitutch*). Prog. Fish-culturist., 42 : 71-72, 1980.
- Olson, K. R. : Distribution of flow and plasmma skimming in isolated perfused gills of three teleosts. J. Exp. Biol., 109 : 97-108, 1984.
- Tanaka. M. and Egusa, S. : An attempt to pursue the etiology of an intense congestion of the gills in eel. Fish Pathol., 27(1) : 49-50, 1992.
- Wedemeyer, G. A., and Yasutake, W. T. : Prevention and treatment of nitrite toxicity in juvenile steelhead trout(*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Board Can., 35 : 822-827, 1978.
- 김영길, 최민순, 박성우, 이근광 : 아가미울혈증에 관한 연구, 한국어병학회지, 7(2) : 161-171, 1994.
- 양한춘, 전세규 : 참장어(뱀장어) *Anguilla japonica* 양어장에서 아질산 중독에 의한 Methemoglobin증과 병리조직학적 변성. 한국 어병학회지 4(1) : 1-13, 1991.
- 최민순 : 뱀장어 아가미 울혈증에 관한 연구. II. 아질산 중독에 따른 뱀장어의 혈액 성상의 변성, 군산대수산과학연구지, 10 : 29-38, 1994.
- 江草 周三 : 魚病論考-水産業 魚病. えら腎炎. pp. 18-20, 恒星社 厚生閣, 東京, 1990.

## Study on congestion of the gills in cultured eels *Anguilla japonica*

### III. Effect of NaCl treatment on congestion of the gills

#### in cultured eels, *Anguilla japonica*

**Min-Soon Choi, Kwan Ha Park, Sang-Hoon Choi, Young-Gill Kim,  
Jong-Myeon Kim\*, Jeong-Gon Cho\* and Seon-il Jang\*\***

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

*\*Department of Veterinary Medicine, Chunbuk National University, Chunju*

*560-756, Korea*

*\*\*Aquaculture Division, West Sea Fisheries Research Institute, National*

*Fisheries Research & Development Agency, Chunbuk, Korea*

This experiment was carried out in order to elucidate the effect of NaCl(0.85%) acclimation on congestion symptoms in central venous sinuses(CVS) of gill filaments and on the alteration of blood constituents in cultured eels for 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7days after handling stress. After giving a handling stress on eels, the frequency of gill congestion was about 90%. It gradually decreased to 40% on the 3rd day, then increased to 60% on the 7th day in NaCl(0.85%) acclimation. The values of haematocrit(Ht), methemoglobin(Met-Hb), glucose (GLU), calcium( $Ca^{++}$ ), lactic dehydrogenase(LDH), glutamic pyruvic transaminase (GPT) and glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) were lower than those of the control, whereas magnesium( $Mg^{++}$ ) and haemoglobin(Hb) were higher than the control. However total protein(Tp) and albumin (ALB) levels similar to the control. When the fish after giving a handling stress were cultured in NaCl-free water as a control, the frequency of gill congestion and the value of blood components showed a similar pattern to that obtained from the NaCl acclimated experiments. However, in the early period(1-3day) after handling stress, NaCl acclimating slightly helped the natural tendency of recovery. These results suggest that the frequency of gill congestion is not always reduced over the whole period of NaCl acclimation. However, the acclimation to NaCl solution may be a somewhat useful therapy for the gill congestion in stressed eels.

---

Key Words : Stress, Congestion, CVS, NaCl