

글루칸 투여에 의한 한국산 메기(*Silurus asotus*)의 *Edwardsiella ictaluri*와 *Aeromonas hydrophila* 감염증에 대한 저항성의 증가

박성우 · 김영길

군산대학교 해양산업대학 수족병리학과

β -glucan의 투여가 세균감염증에 대한 저항성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 복강주사 또는 침지에 의해 한국산 메기(*Silurus asotus*)에 투여하였다. 투여 농도는 어체중 100 g 당 200, 500, 1000 μ g을 1회 또는 3일 간격으로 2회 복강주사하거나, 100 μ g/ml의 β -glucan 부유액에 30분 또는 1시간 침지시켰다. β -glucan 투여 3일후에 *Edwardsiella ictaluri*와 *Aeromonas hydrophila*의 생균액(2×10^6 CFU/0.1 ml)을 복강주사한 다음 10일간 사육하면서 생존율을 조사하였다. 복강주사와 침지에 의한 투여결과 복강투여만이 생존율을 높일 수 있었으며, 투여 농도에 있어 어체중 100 g 당 200~1000 μ g의 범위에 있어서는 농도간에 차이가 없었다. 또한 투여회수는 1회 투여보다는 3일간격으로 2회 투여가 효과적이었으며, *E. ictaluri*보다는 *A. hydrophila*에 대한 저항성이 높은 것으로 나타나, 한국산 메기에 β -glucan을 복강투여함으로써 세균감염증의 초기단계에 있어 생존율을 높일 수 있었다.

Key words : Korean catfish(*Silurus asotus*), β -Glucan, Survival rate, Bacterial disease

어류양식업의 급격한 성장에도 불구하고 어류사육중에 빈발하는 질병은 어류양식업의 발전을 저해하는 장애요인으로 대두되고 있다. 질병의 치료에는 항생물질을 비롯하여 몇몇 화학요법제가 사용되고 있으나, 이들 약제의 오용과 남용은 약제내성균의 출현으로 질병의 치료를 어렵게할 뿐만 아니라 양식어민에 대한 경제적 부담도 가중시키고 있다. 따라서 일찍부터 질병의 치료보다는 예방에 중점을 둔 Vaccine의 개발에 노력하여 왔지만(Fryer et al., 1976; Gould et al., 1978; Johnsen and Amend, 1983; Salati and Kusuda, 1985), 그 효용성이 특정어종, 특정질병에서만 인정되며 또한 처리시기등에 따라 그 효과가 기대하기 힘든 경우도 있어 어류용 백신의 발전에 문제점으로 제기되고

있다(Ellis, 1988).

포유류를 비롯한 다른 동물의 경우 *Schizophyllum commune*, *Sclerotium glucanicum*, *Lentinus edodes* 등의 곰팡이의 세포벽의 다당체 성분인 β -1,3-glucan을 투여한 결과 항암효과뿐만 아니라 비특이적 면역계를 자극하는 면역자극제로서 그 효능이 입증되어져 있다(Di Luzio, 1985; Seljelid et al., 1987). 한편 어류에 있어서도 잉어, 무지개송어, chinook salmon, 차넬메기, 대서양연어등에 β -glucan을 투여함으로써 포유류의 경우와 마찬가지로 비특이적 면역계를 활성화시킨다고 보고되어지고 있다(Yano et al., 1989, 1991; Robertsen, 1990; Engstad et al., 1992; Chen and Ainsworth, 1992; Nikl et al., 1993; Jorgensen et al., 1993a, 1993b).

최근 잉어나 뱀장어의 양식 대체 어종으로서 각광을 받기 시작하고 있는 한국산 메기의 폐사원인으로서 *Aeromonas hydrophila*(김 과 이, 1993)와 *Edwardsiella ictaluri*(박 과 김, 1994)가 보고되었는데, 이들 질병에 의한 피해 경감을 위하여서는 β-glucan의 투여에 의한 비특이적 생체방어기능을 증강시키는 것이 효과적이라 판단하고, β-glucan의 투여에 의한 *E. ictaluri*와 *A. hydrophila* 인위감염증에 대한 생존율을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 어류

평균체중 5.1 g(2.7~7.5 g)의 공시어는 한국산 메기를 실험실의 1톤 수조에서 순환여과식으로 사육하면서 필요에 따라 90×30×45 cm의 유리수조에 수용하여 실험에 사용하였다. 사료는 시판의 잉어용 배합사료 펠릿을 투여하였으며, 사육수는 매일 사이폰으로 바닥의 찌꺼기를 제거한 후, 부족분을 새로운 물로 보충하여 주었다. 사육시의 수온은 22~27℃였다.

2. β-glucan의 투여

β-glucan(Sigma, G6513)을 멸균생리식염수에 용해시켜 어체중 100 g당 200 μg, 500 μg, 1,000 μg의 농도로 복강내에 주사하였는데, β-glucan을 2회 접종할 경우에는 1회 접종 3일후에 같은 농도의 β-glucan을 재차 복강내에 접종하였다. 또 침지에 의한 투여는 필터여과환 수도수에 100 μg/ml의 농도로 용해시킨 β-glucan액에 30분 또는 1시간 통기하면서 침지시켰다. 이 때 대조구로는 멸균생리식염수를 같은 방법으로 복강주사 또는 침지시켰다.

3. 인위감염어의 생산율

1차 글루칸 투여 3일 후와 2차 투여 3일 후(1차 접종 6일후)에 *E. ictaluri*(B-1)와 *A. hydrophila*을

복강내에 접종하였다. *E. ictaluri*(B-1)와 *A. hydrophila*(김과 이, 1993)을 Trypticase soy agar(TSA)에 25℃에서 24시간 배양한 후, 멸균생리식염수로 3회 원심세척한 다음 멸균생리식염수에 2×10⁷ CFU/ml의 농도로 부유시킨 균액 0.1 ml씩을 복강 주사한 다음 10일간 사육하면서 사망율을 산출하였다. 단 *A. hydrophila*에 대한 생산율은 어체중 100 g 당 200 μg의 β-glucan을 투여한 어류를 대상으로 실시하였다. 또 각 시험구간의 생산율의 차는 Fisher의 정확확률검정법에 의해 비교하였다.

결과 및 고찰

β-glucan의 1회 접종한 다음 *E. ictaluri*(B-1)의 생균을 접종한 후의 생산율을 Fig. 1에 나타내었다. 대조군의 경우에는 생균접종후 5일후에 전량 폐사하였지만, β-glucan 접종군에서는 5일째에도 글루칸의 투여농도간에는 생존율에 차이가 없이 50%의 생산율을 보여, 대조군에 비해 높은 생산율이 높

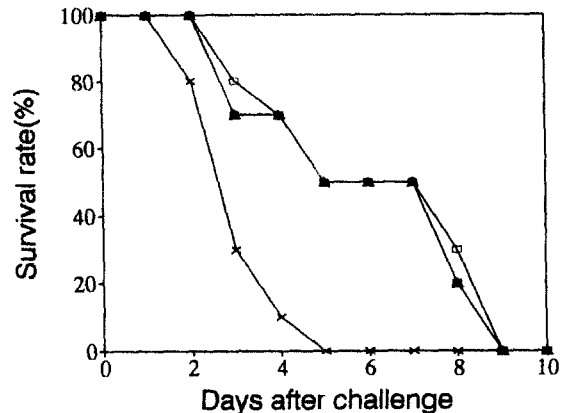


Fig. 1. Effect of β-glucan administration on survival of Korean catfish challenged with *E. ictaluri*(2×10⁶ cfu/fish). β-glucan(200~1,000 μg/100 g body weight) was intraperitoneally injected 3 days prior to the challenge(n=20 per group). ■ : 200 μg, ▲ : 500 μg, □ : 1,000 μg, × : control.

았다($p < 0.05$). 그러나 β -glucan 접종군도 생균접종 9일후에는 전량 폐사하여 β -glucan 투여는 인위감염 직후의 초기에 어느 정도의 생존율을 높일 수 있었지만, 그 정도는 매우 약했다.

한편 1차 접종 3일후에 동량의 β -glucan을 재차 접종한 다음 3일후에 생균을 인위적으로 접종했을 때의 생존율을 Fig. 2에 나타냈다. 대조군은 생균감염 2일후에 35%만이 살아남았지만, β -glucan 접종군은 생균감염 6일후에도 접종농도에 관계없이 90%의 생존율을 보였으며, 10일후에도 70~80%의 높은 생존율을 보여 대조군의 10%의 생존율에 비해 높은 생존율을 나타내었다($p < 0.05$). 이러한 생존율은 β -glucan의 1회 접종시와 비교하면 현저히 높은 생존율로서 β -glucan의 2회 복강접종이 1회보다는 세균감염에 대한 생존율을 높일 수 있는 것으로 나타났다.

그러나 β -glucan액에 침지후의 생존율은 Fig. 3에

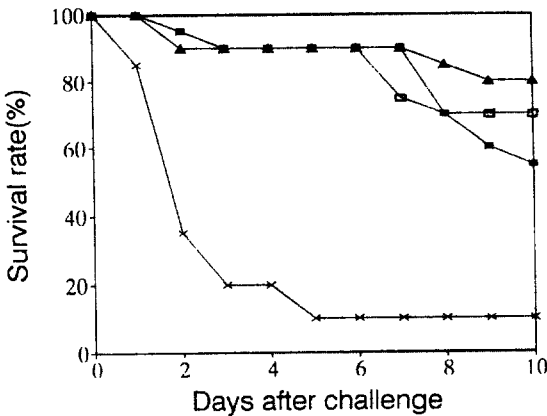


Fig. 2. Effect of β -glucan administration on survival of Korean catfish challenged with *E. ictaluri* (2×10^6 cfu/fish). β -glucan (200~1,000 μ g/100 g body weight) was intraperitoneally injected once and twice with an interval of 3 days prior to the bacterial challenge ($n=20$ per group). Legends are the same as in Fig. 1.

나타낸 것처럼 침지시간과는 관계없이 β -glucan 침지군과 대조군 모두 생균접종 5일째에 35%의 낮은 생존율을 보였으며, 10일째에는 모두 폐사하여 인위감염에 대한 방어능의 증가는 찾아볼 수 없었다.

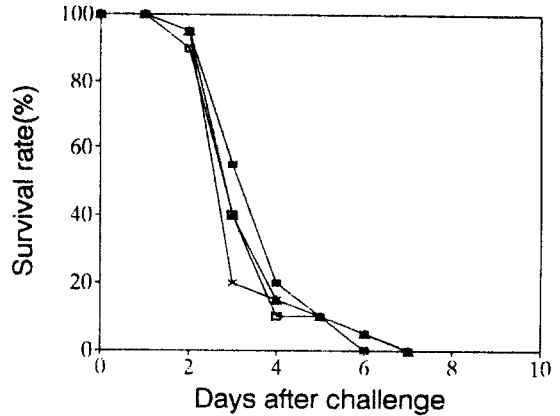


Fig. 3. Effect of β -glucan bath on survival of Korean catfish challenged with *E. ictaluri* (2×10^6 cfu/fish). The bath was made in the 100 μ g/ml of β -glucan (■, ▲) or in physiological saline (□, ×) for 30 min (■, □) and 1hr (▲, ×) 3 days prior to the bacterial challenge ($n=20$ per group).

β -glucan의 투여가 *A. hydrophila*의 인위감염에 대한 생존율은 Fig. 4에 나타낸 것처럼 2회 투여 구에서는 모두 생존하여 1회 투여구와 대조구에 비해 높은 생존율 나타내어($p < 0.05$), 2회 투여가 1회 투여보다 생존율을 높였으며, *E. ictaluri*의 인위감염어의 생존율에 비해서도 생존율이 현저히 높았다.

Yano *et al.* (1989)은 잉어에 다당체를 2회 복강 주사한 다음 5일후에 *Edwardsiella tarda*의 인위감염에 대한 생존율을 조사한 결과 대조구는 인위감염 3일후에 전량폐사한 반면 다당체투여구는 5일후에도 50~80%의 생존율을 보였는데, 이는 다당체의 투여가 세균의 감염초기단계에서의 비특이적 방어능을 증가시켰기 때문이라고 보고하였다. Robertsen *et al.* (1990)은 대서양 연어에 50~200 μ g의 β -glucan을

투여했을 때, *Aeromonas salmonicida*에 대한 저항성이 높아졌다고 하였다. 또 Yano *et al.* (1991)은 2~10 mg/kg의 다당체를 복강주사한 잉어의 *E. tarda*와 *A. hydrophila*의 인위감염후의 생존율이 생균접종 5일후에도 각각 55~80%와 60~80%의 높은 생존율을 보였다고 하였다. Chen and Ainsworth (1992)도 차널메기에 50 µg과 70 µg의 글루칸을 2회 복강 접종한 4일후에 LD₈₀과 LD₅₀의 *E. ictaluri*로 인위감염시킨 다음 12일간 사육한 결과, LD₈₀의 경우는 12일후에도 사망율이 46.7%와 26.7%였으며, LD₅₀의 경우는 단지 6.7%만이 사망하여 생존율이 글루칸의 투여 농도에 비례하여 증가하며 이는 식세포의 탐식지수의 증가에 기인한다고 고찰하고 있다.

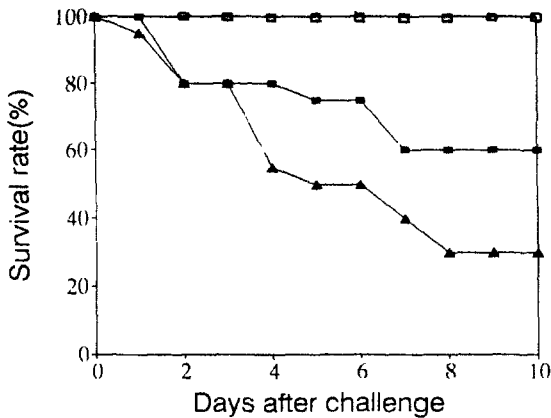


Fig. 4. Survival rate of Korean catfish experimentally injected with *A. hydrophila* (2×10^6 cfu/fish) 3 days after intraperitoneal injection of β -glucan (200 µg/100 g body weight) once (■) or twice (□) at an interval of 3 days. Control group (▲) was injected with physiological saline. (n=20 per group).

해산어인 방어에 2~10 mg/kg의 글루칸을 투여한 후 *Streptococcus sp.*와 *Pasteurella piscicida*의 인위 감염에 대한 생존율을 조사한 Matsuyama *et al.* (

1992)는 *Streptococcus sp.*에 대한 방어력은 증강되었지만, *P. piscicida*에 대한 효과는 없어, 글루칸의 투여가 세균감염증의 초기의 방어력을 증강시키기는 하지만, *P. piscicida*와 같이 식세포에 탐식되어 식세포내에서도 생존가능한 특성의 세균에 대한 방어력의 증가는 기대할 수 없다고 하였다.

한편 Nikl *et al.* (1993)은 β -glucan액에 침지한 Chinook salmon은 *A. salmonicida*에 대한 방어능의 증가는 없고 단지 주사에 의해서만 효과를 기대할 수 있다고한 반면, Jeney and Anderson (1993)은 무지개송어를 β -glucan액 단독 및 글루칸과 *Yersinia ruckeri*사균 혼합액에 침지시켰을 때, 식세포의 수와 탐식능이 대조구에 비해 2배정도 증가하는 것으로 보고하고 있어, 침지에 의한 투여효과에 대해서는 상이한 결과를 나타내고 있다.

이처럼 글루칸의 투여는 투여농도와 경로, 횟수, 병원균의 종류와 농도등에 따라 저항성에 차이가 있을 수 있지만, 담수어 해산어를 불문하고 비특이적 면역기능을 증강시켜 세균감염의 초기 단계에 어체의 질병에 대한 저항성을 높인다는 점에서는 견해를 같이 하고 있다.

본 실험에서 복강주사와 침지에 의해 β -glucan을 투여결과 복강주사만이 생존율을 높일 수 있었으며, 투여 농도에 있어 어체중 100 g 당 200~1000 µg의 범위에 있어서는 농도간에 차이가 없었다. 또한 투여회수는 1회 투여보다는 3일간격으로 2회 투여하는 것이 생존율을 더욱 높일 수 있으며, 메기의 세균성 질병의 원인균중에서 *E. ictaluri*보다는 *A. hydrophila*에 대한 저항성이 높은 것으로 나타나, β -glucan을 복강투여함으로써 세균감염증의 초기단계에 있어 한국산 메기의 질병에 대한 저항성을 높일 수 있음을 알 수 있다. 또 어체의 크기, 수온, 사육조건등의 요인도 생존율에 영향을 미칠 수 있을 것임으로 β -glucan투여와 이들 요인과의 관계에 대한 조사가 요구되며, 보다 대량의 투여를 위한 경우 투여의 방법에 관해서도 검토할 필요가 있다고 생각된다.

감사의 말씀

이 연구는 1995년도 한국과학재단의 핵심전문연구과제(과제번호 : 951-0606-01)의 지원연구비로 수행되었습니다.

참고 문헌

- Chen, D. and Ainsworth, A. J. : Glucan administration potentiates immune defense mechanisms of channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. J. Fish Dis., 15 : 295-304, 1992.
- Di Luzio, N. R. : Update on the immunomodulating activities of glucans. Springer Seminars in Immunopathol., 8 : 387-400, 1985.
- Ellis, A. E. : Current aspect of fish vaccination. Dis. aquat. Org., 4 : 159-164, 1988.
- Engstad, R. E., Robertsen, B. and Frivold, E. : Yeast glucan induces increase in activity of lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood. Fish and Shellfish Immunol., 2 : 287-297, 1992.
- Fryer, J. L., Rohovec, J. S., Tebbit, G. L., McMichael, J. S. and Pilcher, K. S. : Vaccination for control of infectious diseases in Pacific salmon. Fish Pathol., 10 : 155-164, 1976.
- Gould, R. W., O'Leary, P. J., Garrison, R. L., Rohovec, J. S. and Fryer, J. L. : Spray vaccination : a method for the immunization of fish. Fish Pathol., 13 : 63-68, 1978.
- Jeney, G. and Anderson, D. P. : Glucan injection or bath exposure given alone or in combination with a bacterin enhance the non-specific defence mechanisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 116 : 315-329, 1993.
- Johnsen, K. A. and Amend, D. F. : Efficacy of *Vibrio anguillarum* and *Yershinia ruckeri* bacterins applied by oral and anal intubation of salmonids. J. Fish Dis., 6 : 473-476, 1983.
- Jorgensen, J. B., Sharp, G. J. E. S., Secombs, C. J. and Robertsen, B. : Effect of yeast cell wall glucan on the bacterial activity of rainbow trout macrophages. Fish and Shellfish Immunol., 3 : 267-277, 1993a.
- Jorgensen, J. B., Lunde, H. and Robertsen, B. : Peritoneal and head kidney cell response to intraperitoneally injected yeast glucan in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. J. Fish Dis., 16 : 313-325, 1993b.
- 김영길, 이근광 : 한국산 메기(*Silurus asotus*)의 질병에 관한 연구. II. 비브리오 병에 관하여. 한국어병학회지, 6 : 1-10, 1993.
- Matsuyama, H., Mangindaan, R. E. P. and Yano, T. : Protective effect of schizophyllan and scleroglucan against *Streptococcus* sp. infection in yellowtail(*Seriola quinqueradiata*). Aquaculture, 101 : 197-203, 1992.
- Nikl, L., Evelyn, T. P. T. and Albright, L. J. : Trials with an orally and immersion-administered beta-1.3-glucan as an immunoprophylactic against *Aeromonas salmonicida* in juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. Dis. aquat. Org., 17 : 191-196, 1993.
- 박성우, 김영길 : 한국산메기(*Silurus asotus*)의 질병에 관한 연구 III. *Edwardsiella ictaluri* 감염증. 한국어병학회지, 7 : 105-112, 1994.
- Robertsen, B., Rorstad, G., Engstad, R. and Raa, J. : Enhancement of non-specific disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo sara* L., by a glucan from *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. J. Fish Dis., 13 : 391-400, 1990.
- Salati, F. and Kusuda, R. : Vaccine preparation used for immunization of eel, *Anguilla japonica*

- against *Edwardsiella tarda* infection. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 51 : 1233-1237, 1985.
- Seljelid, R., Rasmussen, L.-T., Larm, O. and Hoffman, J. : The protective effect of beta-1,3-D-glucan-derivatized plastic beads against *Escherichia coli* infection in mice. Scandinavian J. Immunol., 25 : 55-60, 1987.
- Yano, T., Mangindaan, R. E. P. and Matsuyama, H. : Enhancement of the resistance of carp *Cyprinus carpio* to experimental *Edwardsiella tarda* infection, by some beta-1,3-glucans. Nippon Suisan Gakkaishi, 55 : 1815-1819, 1989.
- Yano, T., Matsuyama, H. and Mangindaan, R. E. P. : Polysaccharide-induced protection of carp *Cyprinus carpio* L., against bacterial infection. J. Fish Dis., 14 : 577-582, 1991.

Enhancement of the resistance of Korean catfish(*Silurus asotus*) to experimental *Edwardsiella ictaluri* and *Aeromonas hydrophila* infection by β -glucan administration.

Sung-Woo Park and Young-Gill Kim

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

The effect of β -glucan administration on the resistance of Korean catfish(*Silurus asotus*) to experimental *Edwardsiella ictaluri* and *Aeromonas hydrophila* infection was evaluated. Fish were either intraperitoneally received β -glucan(200~1000 μ g/100 g body weight) dissolved in physiological saline once or twice at an intervals of 3 days, or placed in β -glucan bath(100 μ g/ml) prepared with filtered tap water for 30 or 60 min. Bacterial challenge was performed by intraperitoneal injection of 0.1 ml of bacteria suspension(2×10^7 CFU/ml) 3 days after β -glucan administration.

The β -glucan injected fish showed an significantly enhanced resistance against experimental infections. The resistance was much higher in the twice-injected fish than in the once-injected fish. But glucan bath did not affect survival rate after the challenge. The protective effect in the β -glucan injected fish was higher to *A. hydrophila* than to *E. ictaluri*. These results indicate that β -glucan injection can increase the resistance of Korean catfish against experimental *E. ictaluri* and *A. hydrophila* infection and that twice injection of β -glucan at an 3 day-intervals is more effective to the resistance.

Key words : Korean catfish(*Silurus asotus*), β -Glucan, Survival rate, Bacterial disease