

## 양식넙치에서 분리한 *Yersinia* sp.의 일부 특성과 병원성에 관한 연구

이근광<sup>†</sup> · 김영길\* · 이재창

금성환경전문대학 환경보호과, \*군산대학교 수족병리학과

양식넙치에 분리한 *Yersinia* sp.의 일부 특성과 병원성을 조사하였다. 넙치의 입 주변 및 체표에 궤양을 유발한 원인균의 생화학적 생물물리학적 특성을 조사한 결과 이들 균은 *Yersinia* sp. (KF-1)로 동정되었다. 이들 분리균주의 발육 최적 pH는 9.0이었고, 최적 NaCl농도는 1% 이었다.

*Yersinia* sp. (KF-1)의 전체세포를 SDS-PAGE로 분석한 결과 세포를 구성하고 있는 단백질의 분자량은 14.0-100.6kd로써 총 28개의 peptide 밴드로 구성되어 있으며, 32.8kd의 분자량을 갖는 밴드가 주밴드로 생각된다.

병원성 시험에서 KF-1을  $1.0 \times 10^6$ cfu/fish 감염시킨 시험구에서 감염 60시간후에 10마리중 9마리가 폐사되었으며,  $1.0 \times 10^6$ cfu/fish를 감염시킨 시험구에서는 감염 60시간후에 5마리가 폐사되어 LD<sub>50</sub>은  $1.0 \times 10^6$ cfu/fish로 추정되었다.

항생제 감수성 시험에서 KF-1은 chloramphenicol, gentamycin, kanamycin, neomycin, streptomycin, pefloxacin에 감수성을 나타냈고, erythromycin에는 중등도였으며, ampicillin, cephalothin, sulfamethoxazole/trimethoprim, tetracycline, vancomycin에는 저항성을 나타냈다.

---

Key words : Cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, Pathogenic *Yersinia* sp.

넙치의 질병에 관해서 Masumura *et al.* (1989), Bang *et al.* (1992), Kim and Lee(1994, 1995), Lee(1993), Kimura *et al.* (1988), Oseko *et al.* (1988a, b) 등의 보고가 있다. 특히, 양식어에 감염되어 발병하고 있는 *Y. ruckeri*는 Rucker(1966)가 미국산 연어에서 구적병(redmouth disease)의 원인균으로 발표한 이후 세계 여러 나라에서 이 균의 감염증이 보고되고 있다. 최근에는 유럽 여러 나라에서 무지개송

어로부터 *Y. ruckeri*를 분리 보고하였으며 (Giorgetti *et al.*, 1983; Lesel *et al.*, 1983; Fuhrmann *et al.*, 1983), 또한 차넬메기(Lewis, 1981), 뱀장어(Fuhrmann *et al.*, 1984), 연어(Austin and Austin, 1987)에서 분리·보고하였으며, Sullivan(1981)은 crayfish에서 분리된 균이 *Yersinia*로 의심된다고 보고한 바 있다. 또한 Savvidis(1990)는 Greece의 무지개송어 양식장에서 나타난 폐사체로부터 분리하였고,

<sup>†</sup>Corresponding author

McCormic and McLoughlin(1993)은 북아일랜드의 무지개송어에서, Sousa *et al.* (1994)은 Portugal 북쪽에 있는 무지개송어 양식장에서 *Y. ruckeri*를 분리하여 보고하는 등 양식 어류에서의 *Yersinia*균 감염증에 관한 연구가 이루어지고 있다.

본 연구는 서해안에 위치한 전북 고창군일원에서 사육중인 넙치의 입주변에 궤양이 유발되고 체측에 충혈이 형성되어 폐사되어가는 병어로부터 원인균을 분리하여 병원성을 조사하고, 이 균에 의한 질병의 예방 및 치료 대책을 수립하고자 실험한 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시어

전라북도 고창 일원의 넙치 양식장에서 사육중에 입주변에 궤양이 형성되어 폐사 되어가는 병어(150g) 7마리로부터 원인균을 분리하였다. 병원성 실험에는 넙치의 체중이 10~15g 되는 것을 사용하였다.

### 2. 원인균의 분리 및 동정

원인균은 병어에서 형성된 복수와 장기에서 균체를 분리하였으며, 분리균 배지는 NA배지와 BHIA배지(Difco)를 사용하였고, 균의 동정은 MacFaddin(1980)과 Crowan(1974)의 방법에 준하였다.

### 3. 분리 균의 배양 및 성장 조사

분리된 균주는 BHI broth 배지(Difco) 5ml에 1백금을 접종한 후, 28℃에서 18시간 진탕 배양한 다음, 다시 BHI broth 배지 100ml에 1/100로 접종하여 배양한 후, 균체수를 확인하

였으며, 또한 pH 및 염분 농도별 발육 상태를 조사하기 위해서는 pH는 BHI broth 배지를 사용하였으며, 염분 농도별 발육 상태는 1% peptone수에 각 농도별 NaCl을 첨가한 후, 28℃에서 24시간 배양한 후 조사하였고, 각 배지상에서 colony의 형태도 28℃에서 24시간 배양한 후 조사하였다. 모든 실험의 배지의 pH는 9.0으로 조정하였다.

### 4. SDS-PAGE 단백질 분석

SDS-PAGE 전기영동은 O'Farrel(1975) 및 Laemmli(1970)의 방법을 절충하여 실시하였으며, 10% polyacrylamide gel을 사용하였다.

### 5. 병원성 시험

병원성 조사를 하기 위해서 건강한 넙치(약 10~15g)를 실험실(실온 21~25℃)의 수조(1×0.45×0.40m)에 1주일간 적응시킨 후 개체당 1.0×10<sup>7</sup>, 1.0×10<sup>6</sup> cfu를 근육주사 하였고, 대조군은 0.65% 멸균 생리 식염수를 동일한 방법으로 주사하여 감염일로부터 발병시까지 계속 관찰하였다.

### 6. 약제 감수성 시험

항생제 감수성 시험은 Kim and Lee(1993)의 방법을 사용하였고, 감수성 판정 기준은 Lorian(1980)에 준하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 병어의 증상

병어는 외관상 채색이 흑화 되었고, 입 주변 및 체표면 일부에 충혈이 형성되었으며, 어체의

측면을 따라 충혈이 나타나기도 하였다(Fig. 4, B). 특히 입 주변에 많은 궤양이 형성된 것이 특징이며(Fig. 4, C), 해부학적으로는 아가미는 퇴색되어 있고, 간장은 옅은 갈색으로 내부 장기에는 크게 이상은 나타나지 않았다.

Fuhrmann et al. (1983), Dalsgard et al. (1984), Bragg et al. (1986), Savvidis(1990)는 무지개 송어에서 *Y. ruckeri*에 감염된 병어는 입과 아가미 덮개, 지느러미기저 주변이 붉게 되고, 일반적으로 체색이 검어진다고 한 바 있다. 또한 Rucker(1966)는 위장에는 위액이 차있고, 장기에는 황색액체가 있으며, 비장은 어두운색이거나 확장되어 있다고 보고한 바 있다. 일반적으로 *Yersinia sp.*에 감염된 Yersiniosis라 하여 체표가 충혈되고, 지느러미 기저부와 측선과 머리부분을 붉게 나타나며, 내부적으로는 간장에 충혈과 내장에 지방, 비만형의 특성이 나타나기도 하고, 장과 항문의 말초부분에는 염증을 일으키거나 액체가 장에 축적되기도 하고, 때때로 이들의 감염은 내부장기에 관계없이 궤양으로 나타나기도 한다. 전형적인 감염어는 체색이 검게 되는 특징이 나타난다(Inglis et al., 1993). 본 연구의 넙치의 경우에도 이와 유사한 증상들이 나타났다.

## 2. 원인균의 분리 및 동정

병어의 병소로부터 우점종으로 분리된 균들을 다시 재감염 실험을 실시한 결과 동일한 증상이 유발되어 이를 원인균으로 간주하고 이의 생물학적 특성을 조사하여 Bergy's Manual of Systematic Bacteriology(Krieg and Holt, 1984)의 기재와 비교 검토한 결과 *Y. ruckeri* 및 *Edwardsiella ictaluri*의 특성과 매우 유사하나 *Y. ruckeri* 또는 *E. ictaluri*로 확정 동정 하기에

는 Bergy's manual에 기재된 *Y. ruckeri* 0-F 시험과 citrate utilization과 sucrose 분해에서 차이를 보였고, *E. ictaluri*로 동정하기에는 Bergy's manual의 기재에서 MR 음성과 당분해능에서는 mannitol과 sucrose 음성으로 기재되어 있고, 또한 Hawke(1979)가 보고한 문헌에는 *E. ictaluri*의 특성중 KCN growth와 sucrose 음성으로 기재되어 있어 확정 동정하기에 어려움이 있어 이외의 생화학적 생물학적 특성을 고려 *Yersinia sp.*를 원인균으로 동정하였다. 그러나 본 연구에서 분리된 KF-1 균주의 동정을 위해서 좀더 연구할 필요가 있을 것으로 생각되어진다. 또한 이들 분리균을 본 연구에서는 KF-1으로 이름하여 사용하였다. 그러나 지금까지 어류에서 이들균의 분리 보고는 많으나 대부분 담수어에서 분리 보고된 것에 비해 해산어에서 분리된 것은 처음으로 분리되어진 *Yersinia sp.*의 특성중 NaCl 농도에서 발육정도를 조사한 결과로 볼 때 충분히 해수에서도 생존이 가능한 것으로 판단된다.

## 3. 생화학적 성상

*Yersinia sp.*의 생화학적 성상은 Table 1과 같다. Gram 음성으로 운동성이 25℃에서 있고, 37℃에서는 없으며, TSI 배지상에서 H<sub>2</sub>S는 생산하지 않았다. 또한 탄소원으로 citrate를 사용하지 않았고, VP는 음성, MR시험에서 양성 반응을 나타내었으며, catalase 양성 반응과 oxidase 음성 반응을 나타냈다. 또한 아미노산 utility시험에서는 lysine과 ornithine은 양성 phenylalanine과 arginine은 음성반응을 나타냈다. 이와 같은 아미노산 시험반응은 Savvidis(1990)가 보고한 *Y. ruckeri*의 lysine, ornithine, agrinine 양성 결과와는 약간 상이한 결과였다.

당분해 시험에서는 fructose, glucose, mannitol, mannose, maltose, ribose, sucrose와 trehalose을 분해 하였으나, galactose는 diverse했고, adonitol, arabinose, dulcitol, esculin, inositol, lactose, raffinose, rhamnase, xylose에서는 반응이 없는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 McCormic and McCoughlin(1993)이 무지개송어에서 분리한 *Yersinia* sp.와 Sousa *et al.* (1994)이 양식장과 무지개송어에서 분리한 *Yerainia* sp.와 Greece에서 Savvidis(1990)가 무지개송어에서 분리한 *Yersinia* sp.균주와 거의 유사한 특성을 나타냈다. 또한 본 연구에서 분리한 *Yersinia* sp.는 Bergey's Manual에 기재된 *E. ictaluri*의 특성과 Hawke(1979)가 조사한 *E. ictaluri*와는 앞서 원인균의 분리 동정에서 언급한 바와 같이 약간의 다른 특성을 나타내었다.

#### 4. 생물학적 성장

분리된 *Yersinia* sp. (KF-1)의 발육 가능 염분 농도는 0~4%이고, 최적 염분 농도는 1%이었다(Fig. 1). 그러나 Park and Kim(1994)이 양

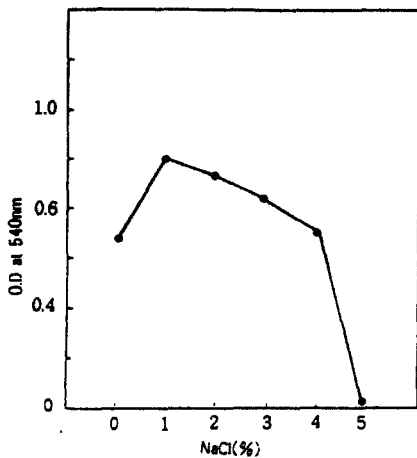


Fig. 1. Effect of NaCl concentration on the growth of *Yersinia* sp. (KF-1). The cell growth was determined in 1% peptone water after 24hr culture at 28°C and pH 9.0.

식매기(*Silurus asotus*)에서 분리한 *E. ictaluri*는 염분 3%이상에서 발육 불가능하다고 보고한 바 있다. 또한 *Yersinia* sp.의 발육가능 pH는 6.0~10.0이었고, 최적 pH는 9.0이었다(Fig. 2).

또한 NA배지, BHI배지와 TSA배지에서는 잘 성장하였으며, 각 평판 배지상에서의 colony의 형태는 smooth하고, 원형으로 약간 융기된

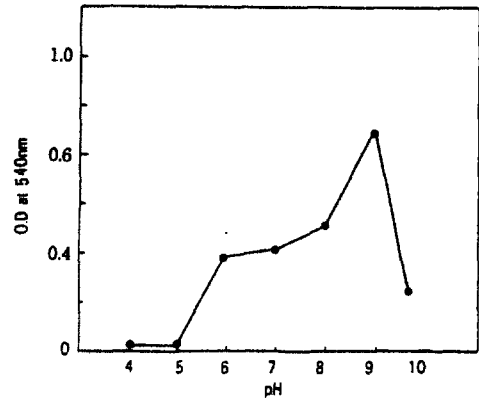


Fig. 2. Effect of pH on the growth of *Yersinia* sp. (KF-1). The cell growth was determined in BHI broth after 24hr culture at 28°C.

형태였으며, BHI평판 배지 상에서는 28°C에서 24시간 배양시 colony의 색깔은 투명하고 약간 작은 편이었다(직경 1mm). 이러한 특성들은 Grandis *et al.* (1988)이 분리 보고한 *Y. ruckeri*의 특성과도 유사하다.

#### 5. SDS-PAGE 단백질 분석

*Yersinia* sp. (KF-1)의 세포를 SDS-PAGE로 분석한 결과 Fig. 3과 Table 3에 나타난 바와 같이 세포를 구성하고 있는 전체 단백질은 대개 분자량이 14.0~100.6kd사이에 존재하고 있으며, 전체 28개의 peptide band로 구성되어 있다.

Table 1. Biochemical and biophysical characteristics of *Yersinia* sp. (KF-1)  
isolated from olive flounder *Paralichthys olivaceus*

characteristics	KF-1	Bergey's manual (Krieg and Holt, 1984)		<i>E. ictaluri</i> (Hawke(1979))
		<i>Y. ruckeri</i>	<i>E. ictaluri</i>	
Gram stain	-	-	-	-
Motility (25℃)	+	d	+	+
(37℃)	-	-	-	-
Indol production	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S production(Kligler)	-	-	-	-
Oxidation-fermentation test	F	0/F		F
Methyl red, 37℃	+	+	-	+
Voges-Proskauer test, 37℃	-	-	-	-
Catalase	+	+		+
Oxidase	-	-	-	-
Citrate utilization(Simmon's)	-	+	-	-
Arginine dehydrolase	-	-	-	-
Lysine decarboxylase	+	+	+	+
Phenylalanine deaminase	-	-	-	
KCN growth	-	-	-	+
Malonate utilization	-		-	-
Acid production from				
Adonitol	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-
Cellobiose	-	-	-	-
Esculin	-	-	-	-
Fructose	+	+		+
Galactose	+	+		+
Glucose	+	+		+
Inositol	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-
Maltose	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+
Manitol	+	+	-	
Raffinose	-	-	-	-
Ribose	+	+		+
Rhamnose	-	-	-	-
Sucrose	+	-	-	-
Sorbitol	-	-		-
Trehalose	+	+	-	
Xylose	-	-	-	-

F : fermentation, d: diverse

또한 분자량 32.8kd을 갖는 밴드는 염색강도가 강하게 나타나 주 밴드로 생각된다. 이와 유사한 연구로는 Han et al. (1995)이 뱀장어에서

를 감염시킨 그룹에서는 감염 24시간마다 접종 부위 및 지느러미 기저부위에 충혈이 형성되고, 체표면에 충혈이 형성되면서 원래 병어의 증상과 유사한 증상을 보이면서 수조에 힘없이 유영하다가 36시간만에 폐사되기 시작하였으며, 6마리가 폐사하였다. 감염 60시간 후에 3마리가 더 폐사하여 폐사율 90%를 나타내었다. 반면  $1 \times 10^6$  cfu/fish로 감염시킨 그룹에서는 감염 60시간 동안 5마리가 폐사되어 LD<sub>50</sub>은  $1 \times 10^6$  cfu/fish로 추정된다. McCormic and McLoughlin (1993)은 무지개송어에 *Y. ruckeri*  $2 \times 10^4$ ,  $2 \times 10^5$ ,  $5 \times 10^6$  cells/fish의 농도로 감염시킨 결과  $2 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^5$  cells/fish로 감염시킨 그룹에서 감염 2주일후 폐사율 100% 이었으나,  $2 \times 10^4$  cells/fish로 감염시킨 그룹에서는 폐사되지 않은 데 비해 *Y. ruckeri*의 분리율은 70%라고 보고하였다. 이러한 결과로 볼때 *Yersinia* sp.의 병원성은 감염된 균체수와 어체의 크기 및 수온 (15~18℃)에 영향을 받는 것으로 생각된다. 또한 Anderson and Ross(1972)는 무지개송어 (185g)에 serova I 균주를 접종했을 경우 LD<sub>50</sub>은  $8.5 \times 10^3$  cells/fish라고 보고하였으며, O'Leary(1977)는 LD<sub>50</sub>은  $4.0 \times 10^4$  cells/fish라고 보고하였고 serova II 균주에서는 LD<sub>50</sub>이  $5.95 \times 10^4$  cells/fish라고 보고하였다. 또한 serova I을  $2.75 \times 10^6$  cells/ml에 침지하였을 경우 7일후에 2%의 폐사율이 나타났다고 보고한 바 있으며, 또한 Cipriano at al. (1986)은  $1 \times 10^6$  cfu/ml에 대서양 연어(36g)를 60분 침지한 결과 14일후 100% 폐사하였다고 보고한 바 있다.

Fig. 3 A: Electrophoretic analysis of 10% SDS-PAGE of total cell proteins of the *Yersinia* sp. (KF-1).

B: Densitogram of electrophoresed total cell proteins of the *Yersinia* sp. (KF-1).

분리한 부정형 *Aeromonas salmonicida* EL-1 균주의 단백질을 SDS-PAGE로 분석한 결과 이들 구성하고 있는 단백질 분자량은 약 11.8~102kd에 존재하고 전체 28개의 peptide band로 구성되어 있다고 보고한 바 있는데, 이들과 분자량 범위는 약간 상이하나 전체 peptide band 숫자와 분자량에 있어서 같거나 분자량에서 유사한 것들이 나타나 이들을 구성하고 있는 구성 단백질은 유사한 것으로 생각되어 진다.

## 6. 병원성

*Yersinia* sp. (KF-1)을 넙치에 인공 감염시켜 병원성 정도와 폐사량을 조사한 결과는 Table 3에 나타나 있다. 건강한 넙치에 개체당  $1.0 \times 10^7$  cfu,  $1.0 \times 10^8$  cfu를 각각 근육주사 하여 병증의 진행 과정을 관찰한 결과  $1.0 \times 10^7$  cfu/fish

## 7. 약제 감수성

약제 감수성 시험결과는 Table 4와 같다. C, GM, K, N, S, PF약제에서 감수성을 나타내었고, E에는 중등도 였으며, AM, CF, SxT, TE, V에서는 저항성을 나타내었다.

Table 2. Estimated molecular weights of polypeptides separated by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of total cell protein of the isolate(KF-1)

Band code	Mol. Wt. (Kdalton)	Band code	Mol. Wt. (Kdalton)
A	14.4	O	31.0
B	14.8	P (major band)	32.8
C	15.2	Q	35.8
D	15.5	R	39.4
E	16.8	S	42.2
F	17.5	T	43.6
G	18.2	U	46.0
H	19.6	V	50.0
I	20.2	W	53.6
J	24.0	X	54.0
K	25.2	Y	58.0
L	26.8	Z	80.0
M	28.0	A'	96.4
N	29.6	B'	100.6

Table 3. Pathogenicity of flounder injected with KF-1 strain

Challenge dose (cfu/fish)	Body weight (Mean g)	No. of fish tested	No. of fish died					
			Hours after injection					
			24	36	48	60	72	168
saline	10~15	10	0	0	0	0	0	0
$1.0 \times 10^7$	10~15	10	0	6	2	1	0	0
$1.0 \times 10^6$	10~15	10	0	1	1	3	0	0

The mortality was calculated one week after intramuscular injection.

Sousa *et al.* (1994)이 양식장과 무지개송어 (*Oncorhynchus mikiss*, *Salmo trutta*)에서 분리한 *Y. ruckeri*는 AM과 S에 저항성을 나타내었으며, TE, oxytetracycline, C, oxolinic acid(2 $\mu$ g), nitrofurantoin(300 $\mu$ g), SxT, enrofloxacin(5 $\mu$ g)에 감수성을 나타내었다. 또한 Savvidis(1990)가 분

리한 *Y. ruckeri*는 flumequine, oxolinic acid, oxytetracycline과 amoxicillin에 감수성을 나타내었으며, penicillin, ampicillin과 streptomycin에 저항성을 나타내었다. 이러한 결과는 각각의 양식장에서 사용한 약제의 종류와 정도 또는 각종 어류에서 분리된 균주에 따라 달라질 수 있다.

Fig. 4 External symptoms of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* induced by infection with *Yersinia* sp. (A, B, C, D).  
Haemorrhagic ulcer was marked by arrows.



Table 4. Antimicrobial resistance of KF-1 strain

Antibiotics (Concentration)	Resistance types
Amicillin(AM 10 $\mu$ g)	R(0)
Cephalothin(CF 30 $\mu$ g)	R(9)
Chloramphenicol(C 30 $\mu$ g)	S(30)
Erythromycin(E 15 $\mu$ g)	I(14)
Gentamycin(GM 10 $\mu$ g)	S(27)
Kanamycin(K 30 $\mu$ g)	S(27)
Neomyvin(N 30 $\mu$ g)	S(25)
Streptomycin(S 10 $\mu$ g)	S(22)
Sulfamethoxazole/ Trimethoprim(SxT 23.75/1.245 $\mu$ g)	R*
Tetracycline(TE 30 $\mu$ g)	R(8)
Vancomycin(V 30 $\mu$ g)	R(0)
Pefloxacin(PF, 100 $\mu$ g)	R(35)

R : Resistant                      I : Intermediate                      S : Sensitive

Arabic numbers are inhibition zone diameter(mm).

\* : Some resistant bacteria were grown in clear zone of streptomycin

### 참 고 문 헌

- Anderson, D. P. and Henton, M. M. : Comparative study of Hagerman redmouth disease bacterial bacterins. *Progr. Fish Culturist*, 34: 226-228, 1986.
- Austin, B. and Austin, D. A. : Bacterial fish pathogens, disease in farmed and wild fish. pp. 20-35, Ellis Horwood, Chichester, 1987.
- Bang, J. D., Chun, S. K., Park, S. I. and Choi, Y. J. : Studies on the biochemical and serological characteristics of *Edwardsiella tarda* isolated from cultured flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Pathol.*, 5(1): 29-35, 1992.
- Bragg, R. R. and Henton, M. M. : Isolation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout in South Africa. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 6: 5-6, 1986.
- Busch, R., A. and Lingg, A. J. : Establishment of an asymptomatic carrier state infection of enteric redmouth disease in rainbow trout (*Salvelinus gairdneri*). *J. Fish Res. Bd. Can.*, 32: 2429-2432, 1975.
- Cipriano, R. C., Schill, W. B., Pyle, S. W. and Horner R. : An epizootic in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) caused by a sorbitol-positive serovar II strain of *Yersinia ruckeri*. *J. Wildlife Dis.*, 22: 488-492, 1986.
- Crowan, S. T. : Manual for the identification

- of medical bacteria. Cambridge. Univ. Press., pp. 15-40, 1974.
- Dalsgard, I., From, J. and Horlyck, V.: First observation of *Yersinia ruckeri* in Denmark. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 4:10, 1984.
- Fuhrmann, H., Bohm, K. H. and Schlotfeldt, H. J. : An outbreak of enteric redmouth disease in west Germany. J. Fish Dis., 6: 309-311, 1983.
- Giorgetti, G., Ceschia, G. and Bovo, G.: First isolation of *Yersinia ruckeri* in farmed rainbow trout in Italy. In: Fish and shellfish pathology, pp. 161-166, ed. A. E. Ellis, Academic Press, London, 1985.
- Grandis, S. A., Krell, P. J., Flett, D. E. and Stevenson, R. M. : Deoxyribonucleic acid relatedness of serovars of *Yersinia ruckeri*, the enteric redmouth bacterium. Int. J. System. Bacteriol., 38 : 49-55, 1988.
- Han, K. S., Choi, I. Y., Bae, J. J., Shin, S. I., Kim, Y. T., Lee, K. K. and Kim, Y. G. : Studies on partial characterization and pathogenicity of atypical *Aeromonas salmonicida* EL-1 isolated from diseased cultured Eel. Kor. J. Vet. Serv., 18(1): 22-32, 1995.
- Hawke, J. P. : A bacterium associated with disease of pond cultured channel catfish, *Ictalurus punctatus*. J. Fish Res. Bd. Can., 36: 1508-1512, 1979.
- Inglis, V., Roberts, R. J. and Bromage, N. R.: Bacterial diseases of fish. Blackwell Scientific Publications, pp. 80-81, 1993.
- Kim, Y. G and Lee, K. K. : Studies on disease of catfish in Korea. II. pathology on vibriosis. J. Fish Pathol., 6(1): 1-10, 1993.
- Kim, Y. G. and Lee, K. K. : Isolation, characterization and pathogenicity of a *Streptococcus* strain in the flounder(*Paralichthys olivaceus*) cultured in Korea. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 14(1): 8-11, 1994.
- Kim, Y. G. and Lee, K. K. : Characteristics and pathogenicity of a gliding bacterium isolated from flounder(*Paralichthys olivaceus*) fry in Korea. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 15(4): 125-128, 1995.
- Kimura, T., Yoshimizu, M. and Gori, S. : A new rhabdovirus isolated in Japan from cultured hirame and ayu. Dis. Aquat. Org., 1: 209-217, 1988.
- Krieg, N. R and Holt, J. G. : Bergy's Manual of Systematic Pacteriology (Vol. 1). The Williams & Wilkins Company, 1984.
- Lee, C. H.: The development ceroidosis in cultured flounder, *P. olivaceus*. J. Fish Pathol., 6(2): 143-161, 1993.
- Lorian, V. : Antibiotics in laboratory medicine. Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1980.
- Laemmli, U. K. : Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680-685, 1970.
- Lesel, R., Lesel, M., Gavini, F. and Vuillaume, A. : Outbrack of enteric redmouth disease in rainbow trout, *S. gairdneri* Richardson, in France. J. Fish Dis., 6: 385-387, 1983.
- Mccormic, J. I and McLoughlin, M. F. : The characterisation and pathogenicity of the first isolate of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss* Walbum) in Northern irland. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 13(4): 138-140, 1993.
- MacFaddin, J. F.: Biochemical tests for identification of medical bacteria. Williams

- and Wilkins, Baltimore/London, 1980.
- Masumura, K., Yasunobu, H., Okada, N. and Muroga, N. : Isolation of a *Vibrio* sp., the causative bacterium of intestinal necrosis of Japanese flounder larvae. *Fish Pathol.*, 24(3): 135-141, 1989.
- O'Farrel, P. H.: High resolution two-dimensional electrophoresis proteins. *J. Biol. Chem.*, 250: 4007-4021, 1975.
- O'Leary, P. J.: Enteric redmouth bacterium of salmonids: a biochemical and serological comparison of selected isolates. M. Sc. thesis, Oregon State University, Covallis, 1977.
- O'Leary, P. J., Rohovec, J. and Fryer, J. L. : A further characterization of *Yersinia ruckeri* (enteric redmouth bacterium). *Fish Pathol.*, 14: 71-78, 1978.
- Oseko, N., Yoshimizu, M. and Kimura, T. : Effect of water temperature on artificial infection of *Rhabdovirus olivaceus* to hirame. *Fish Pathol.*, 23(2): 125-132, 1988a.
- Oseko, N., Yoshimizu, M. Gori, S. and Kimura, T. : Histopathological study on diseased hirame infected with *Rhabdovirus olivaceus*. *Fish Pathol.*, 23(2): 117-123, 1988b.
- Park, S. W. and Kim, Y. K. : Studies on disease of catfish, *Silurus asotus*, in Korea. III. *Edwardsiella ictaluri* infection. *J. Fish Pathol.*, 7(2): 105-112, 1994.
- Rucker, R. R.: Redmouth disease of rainbow trout(*Salvelinus gairdneri*). *Bull. Off. Int. Epiz.*, 65: 825-830, 1966.
- Savvidis, G. K.: First isolation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, in Greece. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 10(5): 131-132, 1990.
- Sousa, J. A., Nunez, S., Eiras, J. C. and Toranzo, A. E. : *Yersinia ruckeri* in Portugal: characterization of the first isolates from fish and environment. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 14(4): 113-116, 1994.

## Studies on characteristics and pathogenicity of *Yersinia* sp. isolated from cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*

Keun-Kwang Lee, Young-Gill Kim\* and Jae-Chang Lee

Department of Environment Preservation, Kumsung Environment College,  
Naju 520-930, Korea

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

Characteristics and pathogenicity of *Yersinia* sp. strain isolated from diseased cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus* were studied. The causative organisms were identified as *Yersinia* sp. by biochemical and biophysical characteristics. The strain was named KF-1, and it showed the optimal growth rate at pH 9.0 and 1% NaCl.

Total cell protein peptide bands of the *Yersinia* sp. KF-1 were between 14.4-100.6 Kd in molecular weight by the electrophoretic analysis, and a total of 28 bands appeared. The band found at 32.8 Kd in molecular weight was the major one of electrophoretic phase.

In the pathogenicity test of the isolate to the flounder injecting with  $1.0 \times 10^7$  cfu/fish 9 died out of 10 within 60 hrs, and in the group with  $1.0 \times 10^6$  cfu/fish 5 died within 60 hrs. Thus the LD<sub>50</sub> was presumed to be  $1.0 \times 10^6$  cfu/fish.

In the drug sensitivity test KF-1 strain was sensitive to chloramphenicol, gentamycin, kanamycin, streptomycin and pefloxacin, and intermediate to erythromycin, and resistant to ampicillin, cephalothin, sulfamethoxazole/trimethoprim, tetracycline and vancomycin.

---

Key words: Cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, Pathogenic *Yersinia* sp.