

넙치에서 분리된 *Edwardsiella tarda*의 약제내성 전달성 R plasmid

김 은 희

여수대학교 어병학과

양식넙치에서 분리된 *Edwardsiella tarda*가 갖는 약제내성을 전달하는 R plasmid의 특성을 알아보기 위하여, 16종의 화학요법제에 대한 *E. tarda*의 감수성 정도를 비교하였으며, 내성형태 및 내성전달을 확인하고 transferable R plasmid를 분리하였다. *E. tarda*는 ampicillin, amoxicillin, erythromycin, flumequine, doxycycline(DOXY), nalidixic acid, novobiocin, oxolinic acid, oxytetracycline(OTC), thiamphenicol(TP) 그리고 sulfonamide의 11약제에 대하여 다양한 조합으로 복합내성을 보였으며, DOXY, OTC, TP 내성이 *Escherichia coli*로 전달되었다. 복합내성의 두 균주에서 transconjugant가 형성되었으며 이들로부터 분리된 transferable R plasmid는 서로 상이한 DNA 구조였다. 이는 넙치에서 분리되는 *E. tarda*에는 적어도 두 종류 이상의 transferable R plasmid가 분포한다는 것을 의미한다.

Key words : *Edwardsiella tarda*, Drug resistance, Multiple resistance, Transferable R plasmid

세균은 외부로부터 약제내성 유전자를 얻음으로써 쉽게 내성균이 되는데 특히 transferable R plasmid는 세균간의 접합 등의 방법으로 동종, 혹은 이종간에 유전자를 수평 전달함으로써 세균집단 내에서 약제내성 유전자의 확산에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Silver and Bostian, 1993). 더하기, plasmid 내의 Integron구조와 더불어 transposon의 삽입은 DNA상에서 유전자의 재배열을 일으키고, 하나의 R plasmid 상에 복수의 내성유전자를 모이도록 함으로써, 복합내성 R plasmid가 형성되는 것으로 추정하고 있다(Stokes and Hall, 1989). 어류병원세균에 있어서도 이미 복합내성 균주가 높은 빈도로 출현하고 있으며 이들 내성균으로부터 복합약제내성 인자를 갖는 transferable R plasmid가 검출되고 있다(최와 김, 1994; 최 등, 1996; Aoki, 1992; Kusuda *et al.*, 1990; Kim and Aoki, 1993).

어류질병을 치료하기 위하여 각종 화학요법제가 널리 사용되고 있으나 약제에 대하여 내성을 나타내는 균주가 증가하고, 새로 도입된 약제에 대한 내성균주의 출현시기가 빨라짐으로써 뚜렷한 치료 효과를 보지 못하고 있는 실정이다. 그러므로 사육수의 소독(Itoh *et al.*, 1997), 신속 진단(Aoki *et al.*, 1997), 면역증강사료의 개발(박 등, 1997; 황

등, 1999) 등에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으나, 아직 대부분의 세균성 질병치료는 화학요법제에 의존하고 있다. 일본의 경우 오래 전부터 주요 어류질병세균의 약제내성 경향을 주기적으로 파악하여 효과적인 약제를 사전에 제시해 주거나 내성균주가 출현하고 있는 약제를 사전에 파악해 둌으로써 대 어민 지도 자료로 활용하고 있다(Kim and Aoki, 1993; Kusuda *et al.*, 1990). 뿐만 아니라 어병세균의 약제내성 전달성 plasmid 및 내성유전자에 관한 연구도 어류병원 균주 별로 다양하게 이루어져 있다(Aoki, 1992; Depaola *et al.*, 1988; Sorum *et al.*, 1992; Toranzo *et al.*, 1991). 1980년대에 Aoki *et al.*(1987)은 뱀장어에서 분리된 *E. tarda*로부터 약제내성전달과 관계있는 transferable R plasmid를 분리하여 chloramphenicol, tetracycline(TC), sulfonamide(SA) 내성 인자가 code 되어 있음을 보고하면서, 균주의 분리 지역 분리년도가 다르다 할 지라도 동일 DNA구조로 되어있는 R plasmid가 분포하고 있음을 보고하였다. 우리나라에서는 이렇게 체계적인 조사 연구가 거의 이루어지고 있지 않지만, *E. tarda*의 약제 감수성에 관하여는 몇몇 보고가 있다. 최와 김(1994)이 뱀장어로부터 분리된 *E. tarda*의 약제내성에 관하여 보고하였는데, ampicillin(ABPC),

nalidixic acid(NA), oxolinic acid(OA), oxytetracycline(OTC), penicillin(PM) 그리고 SA 내성이 *Escherichia coli*로 전달된다고 하였다. 넘치로부터 분리된 *E. tarda*의 약제내성에 관한 연구는 심 등(1995)이 1994년에 분리한 균주를 대상으로 약제감수성 경향을 조사한 바 있는데 이들은 대부분의 균주가 OA, AR, OTC, florfenicol, NA 및 SA에 내성을 갖는다고 보고하였다. 한편 김 등(1998)은 1995년에 분리된 균주의 약제감수성 경향을 조사, 보고하였지만 내성 전달에 관한 연구는 이루어져 있지 않고, 다만 김 등(1998)이 넘치에서 분리된 *E. tarda*에서 transferable R plasmid를 분리하여 이들이 ABPC, OTC, streptomycin에 대한 내성 인자를 갖는다고 보고하였다.

그러므로 본 연구는 넘치 병어에서 분리되는 *E. tarda*의 약제내성중 transfeable R plasmid에 의하여 전달되는 약제내성 및 R plasmid의 특성을 알아보기 위하여 다제내성균주를 분리하여 내성전달을 확인하고 transferable R plasmid를 분리하여 DNA 구조를 비교하였다.

재료 및 방법

*Edwardsiella tarda*에 대한 토끼 항혈청 제작

본 연구실에서 분리하여 동정된 *E. tarda* YSFEd43 및 YSFEd25의 FK (Formalin-killed cells)를 10 mg/ml의 농도로 제작한 것을 항원으로 하여 각각 Freund's complete adjuvant와 1:1로 혼합하여 3 kg 뉴질랜드산 흰색 토끼에 마리 당 2 ml씩 피하 주사하였다. 4주후 동량의 항원을 Freund's incomplete adjuvant와 1:1로 혼합하여 동일한 방법으로 재면역 시켰으며, 1주일 후에 항원만으로 최종 면역시켰다. 최종면역 1주일 후에 전채혈을 실시하여 혈청을 분리한 후 U형 96 well plate를 이용하여 응집항체가를 결정하였고, 항혈청은 0.45 µm millipore filter로 여과한 후 분주하여 -75°C에 보관하였다.

*E. tarda*의 분리 및 동정

육안으로 에드워드 증상을 보이는 넘치 병어의 간, 신장, 복수를 Tryptic Soy Agar medium에 접종하여 30°C에서 48시간 배양한 후 나타나는 집락을 분리하였으며, 선택배지인 SS medium에서 검은색 집락을 형성하는 균에 대하여 어병세균의 간이동정절차(Thoesen, 1994)에 따라 동정한 후

Table 1. List of chemotherapeutic agents used in this study

| Division | Chemotherapeutic agent | Trademark |
|------------------|---------------------------------|----------------|
| Penicillines | ampicillin (ABPC) ^{*)} | Sigma |
| | amoxicillin (AMPC) | Sigma |
| Macrolides | erythromycin (EM) | Sigma |
| Tetracyclines | oxytetracycline (OTC) | Sigma |
| | doxycycline (DOXY) | Sigma |
| Chloramphenicols | thiamphenicol (TP) | Sigma |
| | florfenicol (FFN) | Handong Pharm. |
| Quinolones | flumequine (AR) | Sigma |
| | nalidixic acid (NA) | Sigma |
| | oxolinic acid (OA) | Sigma |
| | norfloxacin (NFLX) | Sigma |
| | ciprofloxacin (CPFX) | Igle Chemical. |
| Sulfonamide | sulfadimethoxine (SA) | Bayer |
| Aminoglycosides | gentamicin (GM) | Kangjin Pharm. |
| | novobiocin (NB) | Sigma |
| Nitrofurans | nifurustylenic acid (NF) | Ueno Pharm. |

^{*)}(): Abbreviation of the agent.

anti *E. tarda* rabbit serum과의 응집반응으로 최종 확인하였다.

분리균에 대한 각종 화학요법제의 MICs조사

Kim and Aoki(1993)의 방법에 따라 실시하였다. 분리균을 Nutrient broth(NB)에서 24시간 전배양 하고 Muller-Hinton broth(MHB)를 이용하여 대수 증식기에 이르도록 재 배양 한 후, 균 부유액(10⁸CFU/ml)을 각각의 약제배지에 접종하여 25°C에서 48시간 동안 배양하였다. 수산용 약제로 시판되고 있는 화학요법제 및 화학요법제의 원료 중 16종을 선택하였으며(Table 1), 농도 100 µg/ml에서부터 1/2씩 단계 희석하여 총 12단계 농도의 약제를 함유하는 MH agar 배지를 만들었다. 각각의 약제배지에 접종된 공시균의 성장이 완전히 저지되는 약제농도를 그 균에 대한 약제의 MIC로 결정하였다.

내성균주와 내성형태 결정

각 균주에 대한 약제의 MIC값을 근거로 하여 각 MIC에 따른 균주수의 분포를 작성하였으며, 분포도 상에서 MIC 값이 높은 쪽을 내성 group으로 하여 각 균주의 내성 형태를 결정하였다.

내성인자의 전달

내성인자 공여균인 *E. tarda*와, 수용균인 *Escherichia coli* HB101(SM^r)를 1:2의 비율로 혼합하여 30°C에서 18시간 동안 간헐적으로 흔들며 주면서 배양하였다. 혼합 균액 100 µl를 공여균이 내성을 나타내는 약제와 수용균이 내성을 갖는 약제를 함께 함유하고 있는 선택배지에 접종하여 37°C에서 약 20시간 배양한 후 나타나는 집락을 *E. tarda*의 내성인자를 전달받은 *E. coli*로서 transconjugant로 보고 같은 배지에서 재순수 분리하였다. 이들 transconjugants를 각종 약제를 함유하고 있는 배지에서 배양함으로써 *E. coli*로 전달된 *E. tarda*의 내성인자들을 확인하였다.

Transferable R-plasmid 분리 및 비교

각각의 transconjugant를 NB에서 24시간 배양한 후, Kado and Liu(1981)의 alkali lysis 방법으로 plasmid DNA를 분리하여, 0.7% agarose gel에서 상법에 따라 전기영동을 실시하였다. 또한 분리된

transferable R plasmid를 제한효소 *Bam*HI 및 *Eco*RI으로 1시간 처리한 후 전기영동을 실시하여 효소에 의한 절단 pattern을 전기영동한 gel상에서 비교하여 plasmid 상호간의 상동성을 조사하였다.

결과 및 고찰

공시균의 분리 및 동정

분리된 균주는 모두 균일하게 일반적인 *Edwardsiella tarda*의 생물 화학적 특성을 나타내었으며(Table 3), anti-*E. tarda* YSFEd43, Ed25의 rabbit serum에 대하여 2¹⁰-2¹¹의 응집항체를 보임으로써 동일 혈청형의 균주인 것으로 나타났다. 분리된 균주의 내용은 Table 2와 같다.

약제 감수성 경향

각각의 화학요법제에 대한 *E. tarda*의 MICs 분포에 근거하여 보면(Table 4) 치료약제로써 효력이

Table 2. Number of *Edwardsiella tarda* isolated from flounders

| Area | Number of Isolate | Part of isolation | Fish weight |
|----------|-------------------|-----------------------|-------------|
| Kohung | 4 | liver | 500g ± |
| Yosu | 6 | liver, kidney | 500g ± |
| Wan-do | 5 | ascitic fluid, kidney | 400g ± |
| Komun-do | 3 | ascitic fluid, kidney | 180g ± |
| Jeju-do | 6 | liver, kidney | 400g ± |

Table 3. Characterization of isolates

| Item | Character |
|---------------------------------------|-----------|
| Cell morphology | Short rod |
| Gram staining | Negative |
| 3% KOH treatment | Viscous |
| Production of cytochrome oxidase | Negative |
| Degradation of lactose | Negative |
| Production of phenylalanine deaminase | Negative |
| Use of citrate | Negative |
| Motility | Negative |
| Production of indole | Positive |
| Production of H ₂ S | Positive |
| Color of colonies on SS medium | Black |

Table 4. MIC distributions of 16 chemotherapeutic agents against 24 isolates of *Edwardsiella tarda*

| MIC ($\mu\text{g/ml}$) | ABPC ^a | AMPC | EM | OTC | DOXY | TP | FFN | AR | NA | OA | NFLX | CPFX | SA | GM | NB | NF |
|-----------------------------|-------------------|------|----|-----|------|----|-----|----|----|----|------|------|-----|----|-----|----|
| ≤ 0.05 | | | | | | | | | | | 3 | 13 | | | | |
| 0.10 | | | | | | | | | | 1 | 10 | | | | | |
| 0.20 | 1 | | | 9 | | | | | | 12 | | | | | | |
| 0.39 | 2 | 1 | | 12 | | | | 3 | | | | 11 | | | | 9 |
| 0.78 | 1 | 17 | | | | | | 11 | | | 11 | | | | | 13 |
| 1.56 | 17 | 4 | 2 | | 5 | | 24 | 1 | 3 | 2 | | | | 24 | | 2 |
| 3.13 | 1 | | | | 14 | | | | 12 | | | | | | | |
| 6.25 | | | 1 | | | 22 | | | | | | | | | | |
| 12.5 | | | | | | | | 9 | | 9 | | | | | | |
| 25.0 | | | 6 | | 5 | | | | | | | | | | | 3 |
| 50.0 | | | 15 | | | | | | | | | | | | | 7 |
| 100 | 2 | 2 | | 3 | | 2 | | | 9 | | | | 24 | | 14 | |
| R-% ^b | 8 | 8 | 88 | 13 | 21 | 8 | 0 | 38 | 38 | 38 | 0 | 0 | 100 | 0 | 100 | 0 |

^aAbbreviations of chemotherapeutic agents refer to Table 1.

^bAppearance ratio of resistant strain(%)

Table 5. Resistance patterns of *Edwardsiella tarda* and the formation of transconjugant of isolates corresponding to each pattern

| Resistance pattern | No. of isolate | Formation of Transconjugant |
|--------------------------------|----------------|-----------------------------|
| Nb Sa ^a | 1 | - |
| Nb Sa Doxy | 2 | - |
| Nb Sa Em | 10 | - |
| Nb Sa Em Ar Na Oa | 8 | - |
| Nb Sa Em Doxy Otc Ar Na Oa | 1 | - |
| Nb Sa Em Doxy Otc Abpc Ampc Tp | 2 | + |

^aResistance corresponding to chemotherapeutic agents listed in Table 1.

있는 약제는 ciprofloxacin, florfenicol, gentamicin, nifurustylenic acid, norfloxacin이었으며, 전혀 효과가 없을 것으로 예측되는 약제는 sulfonamide(SA), erythromycine(EM), novobiocin(NB)이었고, 내성균이 출현하고있는 약제는 flumequine(AR), oxolinic acid(OA), doxyxycine(DOXY), nalidixic acid(NA), ampicillin(ABPC), amoxicillin(AMPC), oxytetracycline(OTC)과 thiamphenicol(TP)이었으며, AR, OA, DOXY, NA는 내성균이 증가 추세에 있어서 곧 그 효력을 상실할 것으로 보였다. 그러나 이러한 결과를 곧바로 현장에 적용할 수는 없으나, 매년 많은 공시

균주에 대한 계속적인 자료가 축적된다면, 현재 사용되고 있는 많은 약제들 중에서 가장 치료효과가 큰 약제 및 효과가 없음에도 지속적으로 사용되고 있는 약제를 파악할 수 있을 뿐 아니라, 앞으로의 어병세균의 약제에 대한 감수성 경향을 예측할 수 있게된다. 이와 같은 결과는 약제를 선택하는데 있어서 어떤지도에 이용될 수 있을 뿐 아니라 보다 실질적인 내성균 대책이 수립될 수 있을 것으로 기대된다.

내성 pattern과 전달성 내성

조사된 항균제에 대하여 내성을 나타내는 균주

Table 6. Resistance marker of transconjugants

| | ABPC ^a (10) | OTC(30) | CP(25) | DOXY(30) | KM(30) | TE(30) | GM(10) | TP(30) |
|----------------------|------------------------|---------|--------|----------|--------|--------|--------|--------|
| ECO(Ed)-1 | - | + | - | - | + | - | - | + |
| ECO(Ed)-2 | - | + | + | + | - | + | - | + |
| <i>E. coli</i> HB101 | - | - | - | - | - | - | - | - |

^aABPC(10) is a disk containing 10 µg of ampicillin and the others are the same as explanation of ABPC.

의 내성 marker는 Table 5와 같다. 모든 균주들은 둘 이상의 약제에 대하여 복합내성을 나타내었다. 가장 빈번한 형태는 NB SA EM내성(Nb Sa Em)과 NB SA EM AR NA OA(Nb Sa Em Ar Na Oa)의 동시내성 형태였다. 내성이 전달되어 transconjugant를 형성한 균주는 Nb Sa Em Doxy Otc Abpc Ampc Tp의 내성 marker를 갖는 두 균주였으며 이들을 각각 ECO(Ed)-1, ECO(Ed)-2로 하였다. 이들 Transconjugant의 내성 Marker를 disk 확산법으로 확인한 결과(Table 6) chloramphenicol(CP), tetracycline(TC), DOXY, OTC, kanamycine(KM), TP 내성인자가 전달되는 것으로 나타났다. 내성 group이 형성되었던 AR, OA, DOXY, NA, ABPC, AMPC, OTC와 TP에 대하

여 볼 때 DOXY, TP, OTC의 내성은 전달성이었고, AR, OA, NA, AMPC, ABPC의 내성은 전달성이 아닌 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 최와 김(1994)이 양만장에서 분리한 *E. tarda*에서 ABPC, GM, OA등의 내성이 전이성이라는 결과와는 차이를 보였다.

***E. tarda*의 transferable R plasmid**

ECO(Ed)-1, ECO(Ed)-2 두 균주로부터 transferable R plasmid가 확인되었다(Fig 1). 이들 transferable R plasmid DNA는 제한효소 *Bam*HI 과 *Eco*RI에 의하여 상이한 절단 pattern을 보임으로써 이들이 서로 다른 DNA구조로 되어 있음을 알 수 있었다(Fig.3). 그러므로 넓치에 질병을 유발하는 *E. tarda*에는 적어도 DNA 구조가 다른 두 종류 이상의 약제내성 전달성 R plasmid가 분포하

Fig. 1. Agarose gel electrophoretic profiles of transferable R plasmids of *Edwardsiella tarda* and transconjugants. Lanes: Ed1 and Ed2, DNA of *E. tarda* (donor strains); T1 and T1, DNA of *Escherichia coli* HB101 carrying R plasmid of *E. tarda*, ECO(Ed1) and ECO(Ed2); Ec. DNA of *E. coli* HB101.

Fig. 2. Digestion profiles of transferable R plasmid DNA isolated from transconjugants. Lanes: M, Standard size marker; T1B and T2B, plasmid DNA of ECO(Ed1) and ECO(Ed2); digested by *Bam*HI; T1E and T2E, those by *Eco*RI.

고 있는 것으로 나타났다. 이는 뱀장어에서 분리되는 *E. tarda*에는 DNA의 구조가 같은 transferable R plasmid가 분포하고 있다는 Aoki 등(1987)의 결과 뿐 아니라 대부분의 어류병원성세균에서 같은 종류의 세균에는 같은 DNA 구조를 갖는 R plasmid가 분포한다(Aoki, 1992)는 보고와 다르게 나타났다. 그러므로 이번에 분리된 R plasmid가 일본의 *E. tarda*에서 분리된 R plasmid와 같은 종류인지 아닌지, 나아가 본 plasmid와 같은 DNA 구조를 갖는 plasmid가 어류병원 세균 내에 어느 정도 분포하고 있는지에 관한 추가 연구가 진행 중에 있다.

사 사

본 연구는 여수대학교 교내 학술연구지원비에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 김영진, 이주석, 최원철: *Edwardsiella tarda*의 R plasmid 분석. 1998년 춘계 수산학회 요약집: 209, 1998.
- 김진우: 수산용 약제 사용실태 조사: pp 77-86. 수산용 약제연구 최종보고서. 해양수산부, 1998.
- 박성우, 김영길, 최동립: β -glucan 투여에 의한 조피볼락 (*Sebastes schlegelii*)의 세균성질병에 대한 저항성 향상. 한국어병학회지, 10: 143-152, 1997.
- 심두생, 이주석, 허문수, 김진우: 양식생물질병진단 연구: 405-423, 수산진흥원사업보고서, 1995.
- 최민순, 김영길: 양만장 사육조에서 분리한 *Edwardsiella tarda*의 약제내성과 R plasmid. 한국어병학회지, 7: 37-46, 1994.
- 최민순, 최상훈, 박관하, 장선일, 윤창용, 조정곤, 송희중: 뱀장어 병어로부터 분리한 *Edwardsiella tarda*의 약제내성. 한국어병학회지, 9: 195-201, 1996.
- 황미혜, 박수일, 김이창: 나일틸라피아, *Oreochromis niloticus*의 비특이적 면역반응에 대한 생약제의 투여 효과. 한국어병학회지, 12: 24-31, 1999.
- Aoki, T.: Chemotherapy and drug resistance in fish farms in Japan. Dis. in Asian Aqua., 1: 519-529, 1992.
- Aoki, T., Ikeda, D., Katagiri, T. and Hirono, I.: Rapid detection of the fish pathogenic bacterium *Pasteurella piscicida* by polymerase chain reaction targeting nucleotide sequence of the species-specific plasmid. Fish Pathol., 32 : 143-151, 1997.
- Aoki, T., Sakaguchi, T. and Kitao, T.: Multiple drug resistant plasmid from *Edwardsiella tarda* in eel culture ponds. Nippon Suisan Gakkaishi, 53: 1821-1825, 1987.
- Depaola, A., Flynn, P. A., Mcphearson, R. M. and Levy, S. B.: Phenotypic and Genotypic characterization of tetracycline and oxytetracycline-resistant *Aeromonas hydrophila* from cultured channel catfish(*Ictalurus punctatus*) and their environments. Appl. Environ. Microbiol., 54: 1861-1863, 1988.
- Itoh, S., Yoshimizu, M. and Ezura, Y.: Disinfectant effects of low level of total residual oxidants in artificial seawater on fish pathogenic microorganisms. Nippon Suisan Gakkaishi, 63: 92-102, 1997.
- Kado, C.I., and Liu, S.T.: Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. J. Bacteriol., 145 : 1365-1373, 1981.
- Kim, E-h. and Aoki, T.: Drug resistance and broad geographical distribution of identical R plasmid of *Pasteurella piscicida* isolated from cultured yellowtail in Japan. Microbiol. Immunol., 37: 103-109, 1993.
- Kusuda, R., Sugiura, H. and Kawai, K.: Drug sensitivity of *Pasteurella piscicida* isolated from cultured yellowtail from 1986 to 1988. Nippon Suisan Gakkaishi 56 : 239-242, 1990. (In Japanese)
- Silver, L. L. and Bostian, K. A. : Discovery and development of new antibiotics, the problem of antibiotic resistance. Antimicrob. Agents and Chemother., 37: 377-383, 1993.
- Sorum, H., Roberts, M. C. and Crosa, J. H.: Identification and cloning of a tetracycline resistance gene from the fish pathogen *Vibrio salmonicida*. Antimicrob. Agents Chemother. 36: 611-615, 1992.
- Stokes, H. W. and Hall, R. M.: A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. Mol. Microbiol., 12: 1669-1683, 1989.
- Thoesen, J.C.: Bluebook, suggested procedure for the detection and identification of certain finfish and shellfish pathogens. American Fisheries Society: 1994.
- Toranzo, A. E., Santos, Y. Nunez, S., and Barja, J. L.: Biochemical and serological characteristics, drug resistance and plasmid profiles of Spain isolate of *Aeromonas salmonicida*. Fish Pathol., 26: 55-60, 1991.

Transferable R plasmid of *Edwardsiella tarda* isolated from diseased flounders, *Paralichthys olivaceus*

Eunheui Kim

Department of Fish Pathology, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea

MIC test of 16 chemotherapeutic agents was performed on 24 isolates of *Edwardsiella tarda* collected from flounders. They revealed resistance against combinations of ampicillin, amoxicillin, erythromycin, flumequine, doxycycline(DOXY), nalidixic acid, novobiocin, oxolinic acid, oxytetracycline(OTC), thiamphenicol(TP) and sulfonamide. Two strains carried transferable R plasmid encoding Otc Kanamycin Tp and Otc chloramphenicol Doxy Tetracycline Tp, respectively. The R plasmids were not similar each other on the basis of their digestion pattern of restriction endonuclease, suggesting distribution of different transferable R plasmid among *E. tarda* from flounders.

Key words: *Edwardsiella tarda*, Drug resistance, Multiple resistance, Transferable R plasmid