

경남 남부지역 양식어류 질병에서 항생제 감수성에 관한 연구

허정호 · 정명호 · 조명희 · 김국헌 · 이국천 · 김재훈* · 정태성^{1**}

경상남도축산진흥연구소 남부지소

*국립수의과학검역원

**경상대학교 수의과대학 어패류질병연구소

The Study on Fish Diseases with Reference to Bacterial Susceptibility to Antibiotics in the Southern Area of Kyeognam

Jeong-Ho Heo, Myung-Ho Jung, Myung-Heui Cho, Gug-Heon Kim,
Kuk-Cheon Lee, Jae-Hoon Kim* and Tae-Sung Jung^{1**}

Gyeongnam Livestock Promotion Institute South-branch

*National Veterinary Research and Quarantine Service

**College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Lab. of Fish & Shellfish Diseases

Abstract : The examination with 96 bacteria isolates for antibiotics susceptibility was resulted in exploring many antibiotics resistance isolates from the diseased fishes. *Vibrio* sp. isolates were demonstrated over 90% resistances for Penicillin (P), Amoxicillin (Amc), Erythromycin (E), Colistin (CL), Streptomycin (S), Novobiocin (NV) and Neomycin(N), these isolates were, however, appeared over 80% susceptibilities for Norfloxacin (Nor), CIP and UB. In *Edwardsiella tarda* case, 90 to 100% high resistance was observed for P, Doxycycline (Do), Tetracyclin (Te), Oxytetracycline (T), E, CL, Sulfamethoxazoletrimetoprim (SXT), S, Oxolinic acid (OA), NV, Neomycin(N), on the contrary, 90 to 100% high susceptibilities was found for Amc, Nor, Ciprofloxacin (Cip), Orbifloxacin (ORB), Enrofloxacin (ENR), Flumequine (UB) and NA. CL, Pefloxacin (PEF), S, Flumequine (UB), OA, NA, NV, N was exhibited 90 to 100% resistances for *Streptococcus* sp., on the other hand, 100% susceptible to AMC and 80% susceptible to Do, Te, ENR and UB was recognised. Lastly, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* was showed 100% susceptible to Amc and 86% susceptible to NOR, CIP, ENR and UB. As a consequence, fish bacterial pathogens isolated from Kyeongnam area, especially Tongyeong-si, Geoje-si, and Goseong-gun, were showed highly resistant to a variety of antibiotics available in the field.

Key words : antibiotics, *Virbrio* spp., *Edwardsiella tarda*, *Streptococcus* sp., *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*

서 론

해산어류에 있어서 세균성 질병으로 인한 피해원인중 가장 주된 것으로 유결절증, 비브리오병, 연쇄구균증, 활주세균증, 에드워드병 등을 들수 있다. 이러한 세균성 질병에 의한 피해는 매우 심각하며 치료를 위하여 여러 가지 약제가 투여되고 있는 실정이나, 세균의 약제내성화가 매우 빨라 약제의 사용에 있어서 충분한 주의를 요한다^{10,11}.

비브리오병은 비브리오(*Vibrio* spp.) 세균에 의한 감염증으로, 최근에는 비브리오속의 많은 종들에 의한 질병 피해를 말한다. 1984년 Bergy's Manual of Systematic Bacteriology Vol. I 에 수록된 비브리오속 세균은 20종이었고 최근에 17종이 더 보고되어 총 37종이 알려져 있다³.

연쇄구균(*Streptococcus* sp.)은 1873년 Lister에 의해 처음으로 분리 보고되었고 양식어에서 연쇄상구균에 의한 패혈증은 1957년 4월 일본 Shizuoka현의 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*)에서 처음 발견되었다. 일본에서 연쇄 구균증

은 1974년 이후 양식 방어, 넙치, 참돔에 심각한 경제적 손실을 가져왔다. 우리나라는 양식초기인 1980년대 초에는 해산 양식어의 피해는 별로 크지 않았지만, 그 이후에 양식의 급속한 발전과 더불어 피해가 급증하고 있다³.

에드워드병은 장내세균과에 속하는 *Edwardsiella tarda*의 감염에 의한 질병으로 외관적으로는 복수의 저류에 의한 복부팽만과 항문에서의 탈장이다. 해부소견으로는 유백색의 복수와 간장, 비장 및 신장에서 농창이 형성되며 심한 악취가 난다. 비장과 신장은 퇴색되고 비대되어 있으며 백색의 소결질이 형성되기도 한다^{2,7}.

유결절증(pseudotuberculosis)은 1963년 미국 동부의 체사피크만에서 발생한 White perch의 대량 폐사의 원인으로서 최초로 기록 보고되었다. 병어는 외관적으로 거의 이상을 나타내지 않으나 갑자기 활력을 잃고 가두리내 가라앉아 있으며 신장이나 비장에 소백점이 다수 형성되어 관찰되는데 심장, 간장, 장간막, 복막, 부레 등에서 작은 백점이 관찰된다.

일본에서는 1985년부터 병어로부터 분리한 병원성세균에서 항생제 저항성이 나타나기 시작하여 점차적으로 만연되어 항생제를 통한 세균성 질병의 치료에 어려움을 겪고 있으며, 유럽에서도 항생제 저항성 세균의 만연으로 항생제에

¹Corresponding author.
E-mail : jungts@nongae.gsnu.ac.kr

의한 세균성 질병의 방제에 어려움을 겪고 있다¹⁶.

본 연구는 기초조사로 1999년 11월부터 2001년 10월까지 경남 남부(통영, 거제, 고성)지역에서 양식되고 있는 양식어류의 세균성 질병에 대한 조사를 바탕으로 20여가지 항생제에 대한 약제감수성 시험을 실시하여 세균성 질병에 대한 치료대책과 더불어 항생제 저항성에 대하여 연구를 했다.

재료 및 방법

공시재료

1999년 11월부터 2001년 10월 사이의 경남 남부지방(통영, 거제, 고성)의 28개 양어장에서 사육하고 있는 넙치(광어), 우럭, 점농어, 돛류 및 홍민어등에 대해 질병이 의심되거나 질병이 발생하여 폐사를 보이는 양어장의 어종을 5-10마리를 채취하여 총 91건을 실시하였다.

병원성세균 분리 및 동정

NaCl 1.5%를 첨가한 Tryptic soy agar (Merck 5458)에 면양으로부터 무균적으로 채취한 탈 섬유 혈액 5-7% 혼합한 혈액한천배지를 세균분리배지로 사용하고 TCBS-agar (Merck 10263), SS-agar (Merck 7667)에 NaCl 1.5%를 첨가한 배지와 Sea-water cytophage agar를 선택배지로 사용하였다. 병어의 외부 환부와 내부 장기 중 비장, 간장 그리고 신장으로부터 병원성 세균 샘플을 채취하여 전술한 배지에 배양함으로써 분리를 수행하였다. 배양온도는 25°C와 35°C에서 18-48시간 배양한후에 집락 형태, Gram 염색성, 용혈성, 균형태를 확인한 후 병원성세균으로 추정되는 집락을 분리하여 API 20E kit (bioMerieux sa. ref. 20100, 25 strips) 및 보조시약 API 20E reagent kit (bioMerieux sa. 20120), O/F Test, Motile 시험을 실시하여 동정하였고, *Vibrio* sp., 동정을 위해서는 O/129 (DD15, Oxoid 245945)와 O/129 (DD14, Oxoid240957)을 동시에 사용하였다.

항균제 감수성 시험

Penicillin(P), Amoxicillin(Amc), Doxycycline(Do), Tetra-

cyclin(Te), Oxytetracycline(T), Ampicilin(Am), Erythromycin(E), Colistin(CL), Norfloxacin(Nor), Ciprofloxacin(Cip), Pefloxacin(PEF), Orbifloxacin(ORB), Enrofloxacin(ENR), Sulfamethoxazoletrimetoprim(SXT), Streptomycin(S), Flumequine(UB), Oxolinic acid(OA), Nalidixic acid(NA), Novobiocin(NV), Neomycin(N)등 20종의 항균제 감수성 시험은 Steers E 등⁸, MacLowry JD 등⁵, Zimmerman ML 등⁹, Ishiyama S 등⁴의 방법에 따라 Sensi disk (BBL, oxoide)를 이용한 디스크 확산법으로 *Vibrio* spp, *Streptococcus* spp, *Edward siella* 및 *Pasteurella piscicida*에 대한 약제감수성 검사를 실시하였다. 분리한 세균은 NaCl 1.5%가 첨가된 tryptose broth (Difco)에 접종하여 증균시킨 후 표준 탁도액의 농도와 일치시킨후 blood agar plate 에 도말하여 25°C 및 35°C에서 18-48시간 배양한 후, 감수성 여부를 판정하였다. 감수성의 정도에 따라서 resistant, low, medium 그리고 high로 나눈 후 통계 처리하였다.

결과 및 고찰

총 91건에서 분리된 비브리오균, 에드워드균, 파스튜렐라균 및 연쇄상구균에 대하여 Penicillin(P)의 19종의 항균제에 대한 감수성시험을 수행하여 얻은 결과는 다음과 같다. 비브리오균 62균주에 대한 감수성시험 결과는 (Fig 1)과 같이 P, Am, E, CL, S, NV, N등이 90%이상의 내성을 보였고, Te, T, SXT, OA등은 50%이상의 내성을 형성한 반면 Nor, CIP, UB등은 80%이상의 감수성을 Amc, PEF, ENR등은, 60%이상의 감수성을 보였는데, '95년-'96년 최 등^{13,14}이 통영, 거제 지역에서 '96년 최 등¹²이 전남지역에서 분리한 비브리오균에 대하여 80%-100%의 감수성을 보였던 Oxolinic acid(OA), Oxytetracycline(T), Tetracyclin(Te)등은 본시험에서는 50-60%로 감수성이 낮아져 기존 많이 사용하던 대부분의 약제들이 내성을 형성한 반면 새로이 개발된 약제들이 높은 감수성을 보였다.

분리한 16균주의 에드워드균에 대한 감수성시험 결과는 (Fig 2)와 같이 P, Do, Te, T, E, CL, SXT, S, OA, NV,

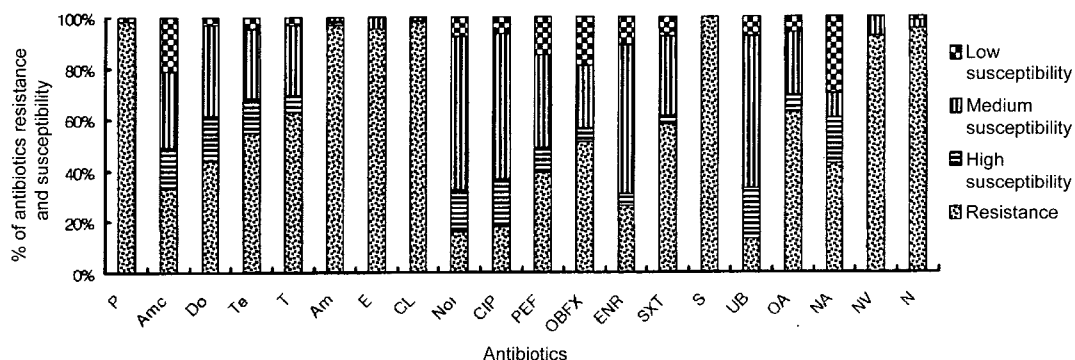


Fig 1. Resistance and susceptibility of total 20 antibiotics for 62 *Vibrio* sp. Most of isolates were exhibited high resistance for antibiotics tested except Nor, CIP and UB.

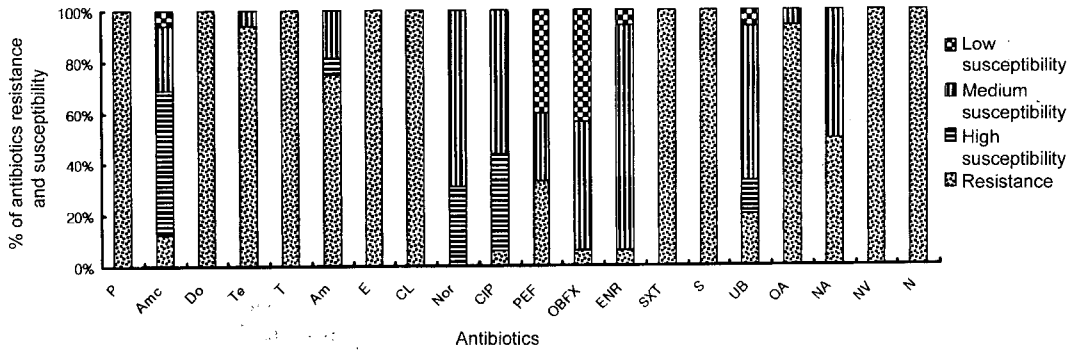


Fig 2. Resistance and susceptibility of total 20 antibiotics for 16 *Edwardsiella* sp. Most of isolates were exhibited high resistance for antibiotics tested except Amc, Nor, CIP, OBFX and ENR.

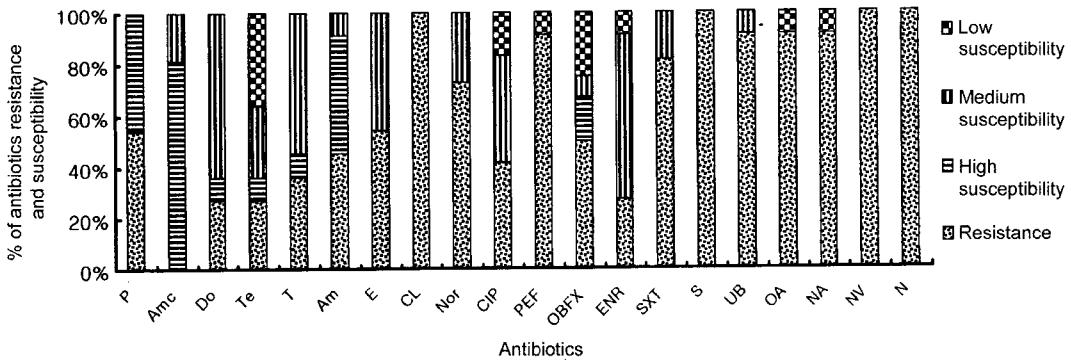


Fig 3. Resistance and susceptibility of total 20 antibiotics for 11 *Streptococcus* sp. Most of isolates were exhibited high resistance for antibiotics tested except Amc, Do, Te and PEF.

N등은 90-100%의 내성을 형성하였고 Amc, Nor, CIP, OBFX, ENR등은 90-100%의 감수성을 보였는데 '95-'96년 최등¹²⁻¹⁴등이 실시하여 57%이상의 감수성이 있던 Am, Do, T, OA등 본시험에서 75%이상의 내성을 형성한 반면 감수성이 67%였던 NA는 94%로 감수성이 높아졌다.

연쇄상구균에 대한 감수성시험에서는 Fig 3과 같이 CL, PEF, S, UB, OA, NA, NV, N등은 90-100%의 내성을 SXT는 80%이상, P, E, OBFX는 50%이상의 내성을 형성하였다. 반면 Amc는 100%의 감수성을 Do, Te, ENR등은 70%이상의 감수성을 T은 64%의 감수성을 보였다. 실시 지역에 따라 다소 차이는 있으나 '95-'96년 최 등¹²⁻¹⁴이 실시하여 80%이상의 감수성을 보였던 Am, E 등은 45-55%로 감수성이 낮아졌다. 유결절증을 일으키는 파스튜렐라균 7균주에 대한 감수성시험에서는 Amc이 100%의 감수성을 보였고, Nor, CIP, ENR, UB등이 86%의 감수성을, NA는 71%, OA는 57%의 감수성을 보였다.

이상의 결과에서 UB, Nor, CIP등은 비브리오, 에드워드, 파스튜렐라등에서는 80%이상의 감수성을 보인 반면, 연쇄구균에서는 91%, 73%, 45%의 내성을 형성하였으며, Do, Te, T등은 연쇄구균에서는 73%-64%이상의 감수성을 보였으나 비브리오에서는 44%-60%의 내성을, 에드워드와 파스튜렐라

에서는 71%-100%의 내성을 형성하였고, NA도 비브리오, 에드워드 및 파스튜렐라에서는 71%의 감수성을 보인 반면 연쇄구균에서는 91%의 내성을 형성하였으며, P, Am, E은 연쇄구균에서는 45%-55%의 감수성을 형성하였으나 비브리오, 에드워드, 파스튜렐라등에서는 80% 이상의 높은 내성을 보여 균의 종류에 따라 감수성도 큰 차이를 보였다. Amc는 비브리오균에서는 68%의 감수성을 보였으나 에드워드균, 연쇄구균 및 파스튜렐라균에서는 100%의 감수성을 보여 최근 개발된 항균약제에 높은 감수성을 보여 주었다. 특히 CL; S, NV, N등은 감수성 실시한 모든 균에서 86%이상의 높은 내성을 형성하고 있었다. 이와 같이 균의 종류나 감수성을 실시한 약제에 따라 감수성이 크게 차이가 있으므로 반드시 원 인균 분리와 감수성시험의 결과를 토대로 하여 치료를 실시하는 것이 질병을 조기에 근절하고, 2차 감염을 예방함으로써 양어장의 경제적 손실을 최소화하는데 큰 도움이 되리라고 생각된다.

결론

1999년 11월부터 2001년 10월 사이의 경남 남부지역 (통영, 거제, 고성)의 28개 양식장에서 사육되고 있는 넙치, 우

력, 점농어, 돔류 및 홍민어 등 91건에 대한 질병 중 세균성 질병에 대한 약제 감수성시험을 실시한 결과

1. 비브리오팀균은 P, Am, E, S, NV, N등이 90% 이상의 내성을 보였고, Nor, CIP, UB등은 80%이상의 감수성을 보였다.
2. 에드워드균은 P, Do, Te, T, E, CL, SXT, S, OA, NV, N 등은 90-100%의 내성을 형성하였고, Amc, Nor, CIP, ORB, ENR, UB, NA등은 90-100%의 감수성을 보였다.
3. 연쇄상구균은 CL, PEF, S, UB, OA, NA, NV, N등은 90-100%의 내성을 형성하였고 Amc는 100%의 감수성을 Do, Te, ENR등은 70% 이상의 감수성을 보였다.
4. 파스튜렐라균은 Amc이 100%의 감수성을, Nor, Cip, ENR, UB등이 86%의 감수성이 인정되었다.
5. 약제 감수성 시험결과 어류 병원성 세균은 현장에서 쉽게 구할 수 있는 약물에 대하여 비교적 높은 저항성을 보였다.

참 고 문 헌

1. Aoki T, Kitao T. Detection of transferable R plasmids in strains of the fish-pathogenic bacterium, *Pasteurella piscicida*. J of Fish Diseases 1985; 8: 345-350.
2. Bang JD, Chun SK, Park SI. Studies on the biochemical and serological characteristics of *E. tarda* isolated from cultured flounders, *P. olivaceus*. J Fish Pathol 1992; 5: 29-35.
3. Inglis V, Roberts RJ, Romage N. Bacterial Diseases of Fish, Blackwell Science. 1993.
4. Ishiyama S, Ueda Y, Kuwabara S. On the standardization of the method for determination of minimum inhibitory concentration. Chemotherapy 1982; 16: 98-99.
5. MacLowry JD, Jaqua MJ, Selepak ST. Detailed methodology and implementation of a semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. Appl Microbiol 1970; 20: 46-53.
6. MacMillan JR. Aquaculture and antibiotic resistance: A negligible public health risk? World Aquaculture 2001; 32: 49-50.
7. Nakatsugawa T. *Edwardsiella tarda* isolated from cultured young flounder. Fish Pathol 1983; 18: 99-101.
8. Steers E, Foltz EL, Graves BS. An inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. Antibiotics and Chemotherapy 1959; 9: 307-312.
9. Zimmerman ML, Hirsh DC. Demonstration of an R plasmid in d strain of *Pasteurella haemolytica* isolated from feedlot cattle. Am J Vet Res 1980; 41: 161-169.
10. 국립수산물진흥원. 어병예방 및 치료대책. 2000.
11. 이영순, 허강준, 박재학. 어류질병학, 신광종합출판사. 1996.
12. 최상득, 공용근. 전남지역 양식생물 질병에 관한 연구. 남해수산연구소 사업보고서. 1996: 126-135.
13. 최혜승, 문태석. 양식생물의 질병에 관한 연구, 남해수산연구소 사업보고서. 1995: 220-233.
14. 최혜승, 문태석. 경남지역 양식생물의 질병에 관한 연구, 남해수산연구소 사업보고서. 1996: 168-183.