

양식 넙치에서 연쇄구균 혼합백신 접종 후 항체가 변화 조사

한현자^{*†} · 이덕찬^{**} · 김수진^{*} · 김태호^{*} · 정선명^{*} · 김재휘^{***}
최윤재^{****} · 조경용^{*****} · 조미영^{*}

*국립수산과학원 병리연구과, **국립수산과학원 남동해수산연구소, ***(주)창조바이오텍,
****완도수산질병관리원, *****신일수산질병관리원

Development of antibodies after combination *Streptococcus iniae* and *Streptococcus parauberis* of commercial vaccine injection in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) in farm

Hyun-Ja Han^{*†}, Deok Chan Lee^{**}, Soo-Jin Kim^{*}, Tae-Ho Kim^{*}, Sun-Myoung Jeong^{*},
Jae-Hwi Kim^{***}, Yoon-Jea Choi^{****}, Kyeong-Yong Cho^{*****} and Mi-Young Cho^{*}

^{*}Pathology Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Republic of Korea

^{**}Southeast Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science,
Tongyeong 53085, Republic of Korea (397-68 Sangyangiljuro, Sanyang-eup, Tongyeong-ci)

^{***}Changjo Biotech Inc, San 5-8, Hannam-ri Namwon-eup, Seogwipo-city, Jeju 63614, Republic of Korea

^{****}Wando aquatic life medicine, 11-8, Geapo-ro, 145 beon-gil, Wando-eup,
Wando-gun, Jeollanam-do, 59115, Republic of Korea

^{*****}Shinil aquatic life medicine, 1055-1, Gayoongro, Wando-eup, Wando-gun,
Jeollanam-do, 59109, Republic of Korea

Streptococcosis, caused by *Streptococcus iniae* and *Streptococcus parauberis* is an important bacterial disease that affects in olive flounder in Korea. In Korea, multivalent bacterial vaccines are used to prevent streptococcal diseases in aquaculture. In this study, commercial vaccines containing formalin-inactivated bacterial cells of *S. iniae* and *S. parauberis* were administered at six fish farms and one unvaccinated fish farm were designated for investigation (Wando; 4 sites and Jeju; 3 sites). Blood was collected from vaccinated and unvaccinated olive flounders, and titers of antibodies against *S. iniae* and *S. parauberis* in serum were analyzed using ELISA. After a one shot vaccination in the farms at Jeju (farm A) and Wando (farm D), the proportion of individuals with specific antibodies against *S. parauberis* OD values of 0.4 or higher was 60% and 53.5%, respectively. But after booster vaccination, the proportion of individuals with serum OD values of 0.4 or higher was higher substantially increased to 96.6% (farm A) and 100% (farm D). The levels of *S. parauberis* specific antibodies of olive flounder were increased after vaccination in three fish farms (farm D, E, and F), but not *S. iniae* specific antibodies.

Key words: olive flounder, vaccine, *Streptococcus iniae*, *Streptococcus parauberis*, antibody production

[†]Corresponding author: Hyun-Ja Han
Tel: +82-51-720-2480, Fax: +82-51-720-2498
E-mail: hjhan77@korea.kr

서 론

넙치는 우리나라에서 가장 많이 양식되고 있는 어종으로 1990년도부터 육상수조를 이용한 양식이 국내에서 보편화되었으며, 2010년대 이르러 양식어류 생산량의 약 56%에 달하는 생산고를 기록하였다. 최근 2022년에는 국내의 넙치 양식 생산량은 45,827톤, 2023년의 양식생산량 39,931톤으로 생산금액 646,430백만원으로 전년 대비 약 12.9% 생산금액이 조금 감소하는 경향을 나타내고 있다(Korean Statistical Information Service, KOSIS 2023). 넙치의 생산량을 기준으로 하는 주요 생산지역으로는 제주(52.5%), 전남(42.5%), 경남(5%) 및 기타로 나타났으며, 주요 생산지역은 전남과 제주지역이며 전체생산량의 95%를 점유하고 있다(KOSIS, 2023).

국내의 양식산업의 발전과 함께 넙치는 양식과정에서 다양한 질병으로 인한 폐사가 발생하고 있으며, 특히 넙치의 주요 질병으로는 치어기에 주로 발생하는 스킨카충 감염 및 중간육성어에 주로 발생하는 점액포자충에 의한 여염증, 연쇄구균병 등에 의한 폐사가 높은 것으로 확인되고 있다(NIFS, 2020). 수산생물의 질병의 경우 한번 발생하면 치료가 어려워 질병을 사전에 예방할 수 있는 수산용 백신의 사용이 필수적이며, 실제로 넙치에 대한 백신 개발과 상용화를 위하여 많은 연구가 지속적으로 진행되고 있다(Han *et al.*, 2021).

국내에서는 넙치에 대한 2023년 기준으로 상용화되어 판매되는 백신은 총 8종류로 대부분이 세균성질병 예방 혼합백신($n = 6$), 그 외 바이러스성 출혈성 패혈증(Viral hemorrhagic septicemia; VHS) 및 스킨카충(*Miamiensis avidus*)와 활주세균(*Tenacibaculum maritimum*) 감염 예방 혼합백신이 판매되었다(KAHPA, 2024). 특히 국내에서 가장 많이 사용되고 있는 수산용 백신은 넙치를 대상으로 하는 세균혼합백신으로 다양한 제품이 개발되어 판매되고 있다. 넙치 세균성 질병 예방 혼합백신은 3~5가지의 병원체 포르말린 불활화하여 혼합한 백신으로 넙치에서 가장 많이 발생하는 세균성 질병인 연쇄구균병 2종인 *Streptococcus iniae*, *Strepto-*

coccus parauberis 항원이 포함되어 있으며, 최근 *E. picicida*로 재분류된 *Edwardsiella tarda* (Armwood, 2022), *Listonella anguillarum*, *Lactococcus garvieae*와 같은 병원체의 항원 1~3종 같이 방어할 수 있는 혼합백신이 개발되어 판매되고 있다(KAHPA, 2024).

수산용 백신 사용을 통한 어류 질병을 예방하기 위하여 해양수산부에서는 “수산생물질병관리 수산동물예방백신 공급사업”을 수행하고 있으며, 양식어업인의 부담을 최소화(국고 30%, 지방비 30%, 자부담 40%)하여 백신사용을 지원하고 있다(해양수산 국고보조사업 2023). 상용화된 수산용 백신의 경우 제조업체에서 생산되는 로트 별로 백신의 효능 및 안전성에 대한 국가검정을 통과해서 그 효능을 확인하고 판매되고 있다(국가 출하승인 수산용 의약품 검정기준, 2023). 하지만 넙치는 변온동물로 온도와 같은 사육환경에 따른 항체형성능이 달라진다는 보고가 있다(Kim *et al.*, 2011). 그러나 현재까지 다양한 양식환경에서 백신의 현장 효능에 대한 연구는 없는 실정으로, 실제로 넙치는 산지에 따라 사육방법이나 양성기간이 조금 다르며, 일반적인 출하 크기인 어체중 1kg까지 생산을 위해 12-15개월 정도 양식되는 것으로 알려져 있는데(NIFS, 2006) 특히 넙치의 주요 산지인 제주 서부지역에서는 지하해수(수온: 16~17°C 전후)를 이용하여 연중 사육이 가능하다. 제주에서 있어서도 지하해수가 나오지 않는 양식장에 경우 자연해수를 이용하고 있으며, 자연해수와 혼합하여 사용하는 양식장 등 다양한 사육수를 사용하는 양식장이 존재한다. 완도소재의 넙치 양식장의 경우 계절별로 수온의 차이(7~28°C 전후)가 큰 것으로 확인되고 있어(Lee *et al.*, 2019), 백신접종 시기에 따른 상용화 백신의 현장 효능 연구도 필요한 실정이다.

본 연구에서는 현재 양식 넙치가 가장 많이 생산되는 제주 및 완도지역의 양식 넙치를 대상으로 현재 시판되는 *Streptococcus iniae* 및 *Streptococcus parauberis* 항원을 포함하는 세균 혼합백신 접종 전·후 항체가 조사 수행으로 통하여 상용화 백신 접종에 따른 특이항체 형성에 대한 기초자료를 확보하고자 한다.

재료 및 방법

백신접종 양식장 선정 및 조사

연쇄구균(*S. iniae*, *S. parauberis*) 포르말린 불활화 항원을 포함하는 상용화된 세균 혼합 백신(A 제품: 3종 혼합백신, B 제품: 4종 혼합백신)을 접종하였거나, 백신을 접종하지 않은 제주 및 완도 소재의 넙치 양식장 총 7개소를 대상으로 조사 및 어류 혈청 시료 채취를 수행하였다. 연쇄구균을 포함하는 세균혼합 백신접종과 효능조사는 2018년 3월부터 12월까지 조사와 시료 채취를 수행되었으며, 백신접종 및 채혈 진행일정은 Fig. 1 및 Table 1에 나타내었다. 제주지역 소재 farm C는 양식장 전체에 백신을 접종하지 않았으며, 1개의 대표수조를 선정하여 대조구로 설정하였다. 완도지역

farm E, F 백신을 접종한 넙치 수조 및 백신을 접종하지 않은 넙치 사육수조를 대조구로 설정하였다. farm A, D는 1회 접종한 후 각각 5개월 및 3개월째 동일한 백신을 2차 접종하여 백신의 접종 횟수에 대해 평가하였다.

혈청 시료 채취

넙치에 백신 접종 1, 2, 3, 6개월후 실험구 당 각각 30마리씩 미부정맥에서 1 ml의 혈액을 채취하여 실험에 사용하였다. 항체가 비교를 위하여 백신 미접종 양식장 및 수조의 사육 넙치에서도 혈액을 채취하였다(Fig. 1). 채취한 혈액은 상온에서 1시간 보관 후 4°C에서 overnight 하여 보관 후 8,000 rpm에서 10분간(4°C) 원심분리하여 혈청만 분리하였다. 혈청샘플은 분석 전 까지 -20°C에 보관하였다.

Table 1. Information of olive flounder cultured farm and inoculated vaccines for investigation in this study

Farm			Vaccination	
Farm	Location	Aquaculture water	Type (company product)	Antigens (formalin killed cells)
A	Pyoseon, Seogwipo-si, Jeju	underground seawater	trivalent vaccine (A)	<i>Streptococcus iniae</i> , <i>Streptococcus parauberis</i> (serotype1), <i>Streptococcus parauberis</i> (serotype2)
B	Namwon, Seogwipo-si, Jeju	underground seawater	trivalent vaccine (A)	<i>Streptococcus iniae</i> , <i>Streptococcus parauberis</i> (serotype1), <i>Streptococcus parauberis</i> (serotype2)
C	Gujwa, Jeju-si, Jeju	underground seawater	-	Unvaccinated group
D	Gogeumdo, Wando	natural seawater	trivalent vaccine (A)	<i>Streptococcus iniae</i> , <i>Streptococcus parauberis</i> (serotype1), <i>Streptococcus parauberis</i> (serotype2)
E	Sinji, Wando	natural seawater	trivalent vaccine (A)	<i>Streptococcus iniae</i> , <i>Streptococcus parauberis</i> (serotype1), <i>Streptococcus parauberis</i> (serotype2)
E	Sinji, Wando	natural seawater	-	Unvaccinated group
F	Sinji, Wando	natural seawater	tetravalent vaccine (B)	<i>Streptococcus iniae</i> , <i>Streptococcus parauberis</i> (Type1), <i>Vibrio haveryi</i> , <i>Edwardsiella tarda</i>
F	Sinji, Wando	natural seawater	-	Unvaccinated group
G	Gogeumdo, Wando	natural seawater	trivalent vaccine (A)	<i>Streptococcus iniae</i> , <i>Streptococcus parauberis</i> (serotype1), <i>Streptococcus parauberis</i> (serotype2)

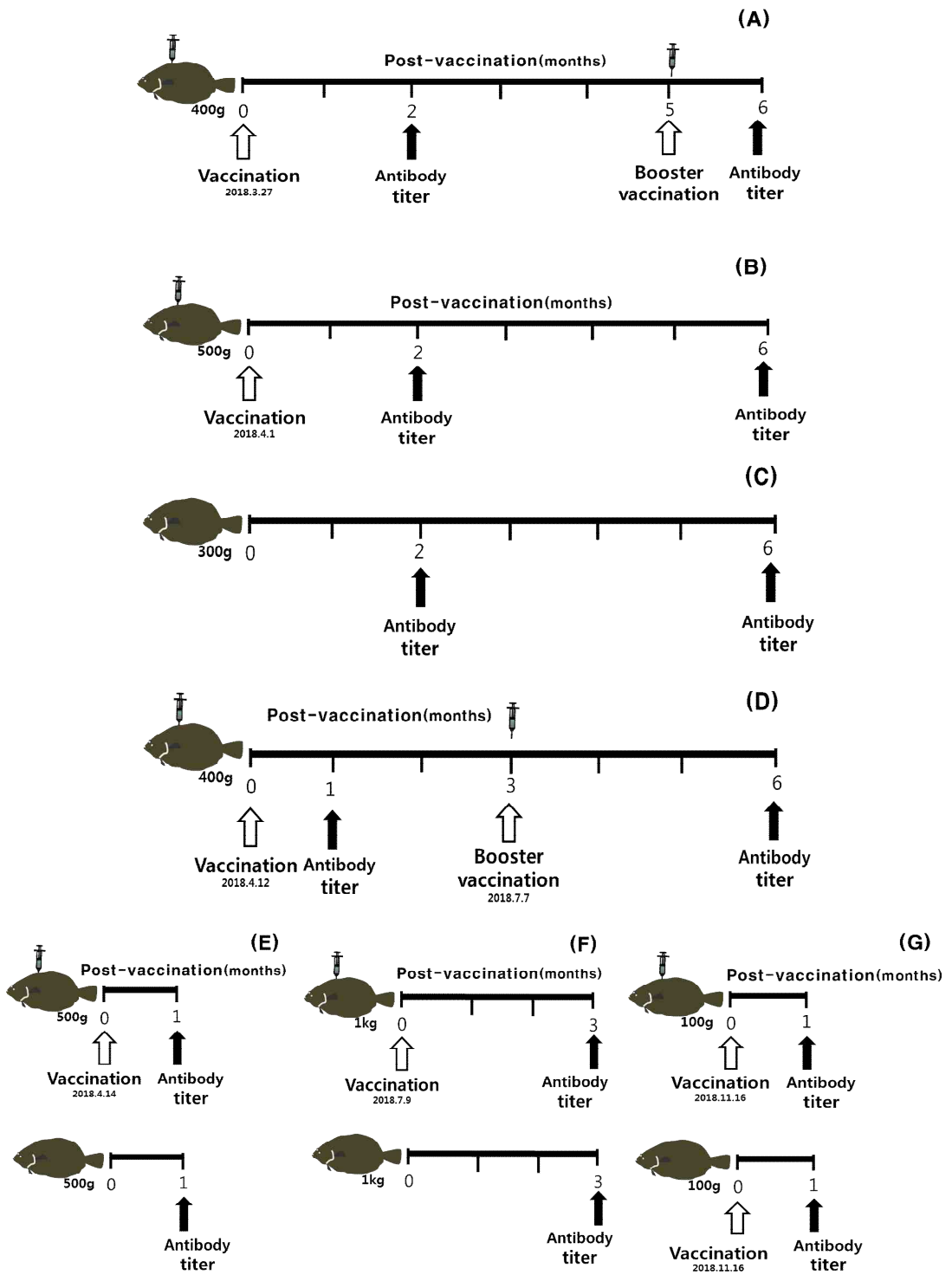


Fig. 1. Vaccination and breeding schedule of each olive flounder farm in Jeju (A)(B)(C) and Wando (D)(E)(F)(G) in Korea.

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 방법을 이용한 항체가 조사

넙치의 혈청내 연쇄구균 2종에 대한 특이 항체를 측정하기 위해서 ELISA 방법을 이용하여 조사를 수행하였다. *S. iniae* FP2031, *S. parauberis* KCTC 13802BP (serotype Ib) 균주를 brain heart infusion broth (BHIB)에 6시간 배양하여 사용하였으며(10^9 cfu/ml), coating buffer (0.05M carbonate-bicarbonate buffer, Sigma Aldrich)에 10배 희석하여 사용하였다. 항원 현탁액을 96-well microtiter plate (Corning, NY, USA)에 배양한 연쇄구균 2종의 배양액을 100 µl씩 각 well에 분주한 후 25°C에서 overnight하여 항원을 coating하였다. Tween20이 0.05% 포함된 PBS (T-PBS)로 3번 세척하였고 5% skim milk를 380 µl씩 넣어 20°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 1차 항체로는 넙치 혈청을 T-PBS으로 희석(10배)하여 1시간 반응시킨 후, 시료 당 2개의 well에 100 µl씩 분주하였고, 2차 항체로는 PBS에 희석된 항 넙치 immunoglobulin M (Ig M) monoclonal antibody (Aquatic Diagnostic)를 100 µl씩 분주하였으며, 3차 항체로는 T-PBS 으로 2000배 희석한 anti-Mouse IgG (H&L) AP Conjugate (Promega) 100 µl를 분주하였다. 각각의 항체 반응은 25°C에서 90분 동안 반응하였다. T-PBS로 5번 수세하였고 ELISA 발색액 (alkaline phosphatase yellow; pNPP, Sigma-Aldrich)을 각 well에 200 µl씩 넣어 발색하였다. 각 well에 3N NaOH를 50 µl씩 넣어 발색 반응을 중지한 후 ELISA plate reader (TECAN sales, Grödig, Austria)로 405 nm에서 OD값을 측정하였다. 항체가 음성인 넙치를 확인하기 위한 ELISA 방법에 의거해서 측정된 ELISA OD값이 0.25 미만일 경우 항체가 형성되지 않은 것으로 판정하였으며(국립수산물품질관리원, 2023), 백신접종으로 인한 특이면역 형성, 자연감염 발생한 경우는 OD값이 0.4 이상일 경우로 추정하였다(Kim *et al.*, 2022).

통계분석

백신접종 횟수, 동일 양식장 내 백신 접종구와 미접종구 등의 ELISA 분석 결과 비교를 위해 Microsoft office excel 2019의 통계 프로그램 student t-test 방법 이용하였으며, 모든 통계적 검정의 유의적인

수준은 $P < 0.05$ 의 수준에서 유의성을 평가하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 제주와 완도지역의 넙치 양식장 7개소를 조사대상 양식장으로 지정하였다(Table 1). 백신접종과 항체가 조사는 모두 2018년에 이루어졌으며, 조사한 모든 양식장은 수산질병관리사의 지도 하에 세균혼합백신 접종을 수행하였으며, 접종 후 연쇄구균 2종(*S. iniae*, *S. parauberis*)에 대한 항체가 조사를 수행하고 유의성을 평가하였다(Table 2).

제주소재 farm A의 경우 3월에 1차 백신 접종 후 2개월 후 채혈, 5개월 후 2차접종을 수행하고 이후 1개월 후 항체를 조사하였다. farm A의 2차 접종 이후 넙치의 혈청 *S. iniae*에 대한 항체가는 통계학적으로 유의적으로 1차접종의 항체가 보다 높게 나타났다($P < 0.05$). ELISA 분석 결과 값이 0.4 이상 OD 수치를 나타내는 개체의 비율도 *S. iniae*에 대한 특이항체의 경우 1차 접종 후 30%에서 2차 70%로 높아졌으며, *S. parauberis*에 대한 특이항체의 경우 1차 접종 후 60%에서 2차 96.6%로 높아지는 것으로 확인되었다.

제주소재 farm B의 경우 3월에 1차 백신 접종 후 2, 6개월 후 채혈하여 항체가를 조사하였다. ELISA 분석 결과 값이 0.4 이상 OD 수치를 나타내는 개체의 수치도 *S. iniae*에 대한 특이항체의 경우 2개월 후 50%에서 6개월후 14%로 나타났으며($P < 0.05$), *S. parauberis*에 대한 특이항체의 경우 1차 70%에서 37.5%로 나타났으나, 통계학적인 유의성은 없었다($P = 0.3051$). 백신을 접종하지 않은 제주 소재 양식장 farm C에서 4, 10월 혈청 샘플의 항체가 조사 결과를 취합하여 제주지역 백신 접종 양식장 farm A, C와 비교하여 통계분석 결과, *S. parauberis* 항체가는 유의적으로 모든 백신접종구에서 유의적으로 증가하였으나($P < 0.05$), *S. iniae*의 특이 항체가는 통계학적으로 유의적인 차이는 없으므로 확인되었다. 제주지역 백신 미접종 대조 양식장으로 조사한 farm C의 경우 *S. iniae*에 대한 항체가 확인되었는데 이는 자연감염으로 인한 혈청내 *S. iniae*에 대한 항체가 증가일 가능성이 있는 것으로

Table 2. Specific antibody titers in serum from olive flounder after vaccination with multivalent bacterial vaccines in Jeju and Wando fish farms

Samples (farm-tank group)	Vaccination times (Vaccination month)	Post- vaccination (Sampling month)	Sampling fish No. (body weight, g)	<i>Streptococcus iniae</i>				<i>Streptococcus parauberis</i>			
				ELISA (OD492 nm)	OD value (%)			ELISA (OD492 nm)	OD value (%)		
					0.25 >	0.4 ≤	1.0 ≤		0.25 >	0.4 ≤	1.0 ≤
A- vac ^a	1 (Mar)	2 (Jun)	30 (615)	0.290±0.290	53.3	30	3.3	0.559±0.412	36.3	60	20
A-2vac ^b	2 (Mar, Aug)	6 (Oct)	30 (1187)	0.521±0.289	16.7	70	6.7	1.26±0.402	0	96.6	83.3
B-vac1	1 (Apr)	2 (Jun)	30 (726)	0.47±0.32	30	50	0	0.511±0.365	20	70	13.3
B-vac2	1 (Apr)	6 (Oct)	30 (1375)	0.275±0.173	26.7	14	0	0.477±0.235	13.3	35.7	0
C-con1 ^c	-	- (Jun)	30 (549)	0.75±0.56	16.7	70	30	0.179±0.11	66.7	3.3	0
C-con2	-	- (Oct)	30 (1081)	0.244±0.23	63.3	17	0	0.348±0.3	33.3	27.6	6.7
D-vac	1 (Apr)	1 (May)	31 (521)	0.813±0.34	0	55.4	36.65	0.48±0.34	39.2	53.3	15.7
D-2vac	2 (Apr, Jul)	7 (Aug)	30 (716)	1.32±0.524	0	96.6	60.0	1.051±0.338	0	100	56.6
E-vac	1 (Apr)	1 (May)	30 (782)	1.213±0.443	0	100	60.0	0.715±0.284	0	86.7	20
E-con	-	- (May)	30 (797)	0.863±0.625	33.3	66.7	40.0	0.296±0.158	26.7	33	0
F-vac	1 (Jul)	3 (Sep)	30 (1149)	0.843±0.276	0	100	50.0	1.105±0.137	0	100	76.7
F-con	-	- (Sep)	30 (1114)	0.911±0.375	0	90	50.0	0.688±0.309	6.6	86.7	20.0
G-vac	1 (Nov)	1 (Dec)	31 (243)	0.267±0.209	63.3	9.6	0	0.233±0.185	73.4	23.4	0

^avac: one-shot vaccination, ^b2vac: booster vaccination, ^ccon: control

판단된다.

완도소재 farm D의 경우 4월에 1차 백신 접종 후 1개월 후 채혈, 3개월 후 2차 접종을 수행하고 이후 3개월 후 항체를 조사하였다. farm D의 2차 접종 이후 넙치의 혈청 *S. iniae* 및 *S. parauberis*에 대한 항체가 통계학적으로 유의적으로 1차접종의 항체가 보다 높게 나타났다. ELISA분석 결과 값이 0.4이상 OD 수치를 나타내는 개체의 비율도 *S. iniae*에 대한 특이항체의 경우 1차 55.4%에서 2차 96.6%로 높아졌으며($P<0.05$), *S. parauberis*에 대한 특이항체의 경우 1차 53.3%에서 2차 100%로 높아지는 것을 알 수 있었다($P<0.05$).

완도 소재의 farm E, F의 경우 세균 혼합백신을 4월과 6월에 각각 접종한 이후 1개월과 3개월 후 혈액을 채취하여 항체를 조사하였다. 완도 farm E의 백신구와 비접종구는 *S. iniae*의 특이 항체가에서는 통계학적으로 유의성 있는 차이가 없었으나($P=0.088$), *S. parauberis*에 대한 특이 항체가에서는 백신구에 통계학적으로 유의적으로 높은 수치를 나타내었다($P<0.05$). 완도 farm F 백신구와 비접종구는 *S. iniae*의 항체가의 경우 특이 항체가에서는 유의성 있는 차이가 없었으나($P=0.77$), *S. para-*

*uberis*에 대한 특이 항체가에서는 백신구에 통계학적으로 유의적으로 높은 수치를 나타내었다($P<0.05$).

조 등(2006) 보고에 따르면 넙치의 *S. iniae*의 포르말린 사균백신을 1회 접종한 후 2주 뒤 boosting 접종하면 1회접종에 비해 항체가가 유의적으로 증가하였으며, *S. iniae* 생균을 인위감염을 통한 생존율을 비교하였을 때 백신을 접종하지 않은 대조구에 비하여 1회접종 66.7(70%), 2회접종 87.5(77%)의 상대생존율의 증가가 확인되었다. 일반적으로 넙치의 *S. iniae* 사균백신을 접종 후 8~9주까지 지속적으로 높은 항체가가 유지되며, 12주 이후에는 비교적 항체가가 낮아지는 것으로 확인되었다(Cho *et al.*, 2006, Jeong *et al.*, 2016). 본 연구의 양식장의 사육 넙치에 연쇄구균 세균혼합백신을 접종하면 1회 백신접종 후 2차접종이 없을 경우 6개월 후 항체가가 감소하는 것으로 확인되었다. 그러나 1차 접종 이후 3, 5개월 후 2차 접종(boosting접종)하면 항체가가 높아지는 것으로 나타났으며, 방어능도 같이 높아질 것으로 판단되지만, 접종 후 인위 감염실험을 통한 생존율 비교 등 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

본 연구에서 조사한 제주(farm C; 6월) 및 완도지

역(farm E 대조구; 5월, farm F 대조구; 9월)의 넙치 혈청의 경우 백신접종 여부와 관계없이, *S. iniae*에 대한 특이 항체가 높게 나타났으며, 혈청 항체를 조사한 넙치는 대부분 체중이 500g 이상의 중간 육성어로 *S. iniae*에 대한 자연감염 등 사전노출에 의한 항체형성 가능성이 높을 것으로 판단된다. 그러나 넙치의 연쇄구균병을 발생하여 그 원인체를 분리·배양하면 2004년 이전에는 *S. iniae*와 *S. parauberis*가 비슷한 비율로 분리되었으나, 이후 *S. parauberis*의 분리비율이 증가하여 2015년 이후에는 연쇄구균병의 발생에서는 *S. parauberis*가 분리되고 있다(Kim *et al.*, 2020). 최근의 연쇄구균병에 걸린 넙치에서 *S. iniae*가 거의 분리되지 않고 있는 것과 백신 미접종 넙치에 높은 항체가와의 연관성에 대한 연구도 필요할 것으로 판단된다. 이전 연구에서 금붕어(*Carassius auratus* L., $n=101$)의 *Aeromonas salmonicida*에 대한 자연항체를 조사한 결과, 항체가 높고 낮은 subgroups으로 나뉘어 졌으며, 각 subgroups 별로 *A. salmonicida*로 인위감염시켰을 때 높은 항체를 나타내는 subgroup에서 높은 생존율을 나타내었다(Sinyakov *et al.*, 2002). 이처럼 백신접종 여부에 상관없이 어류가 특정 병원체에 자연항체를 획득하는 경우도 있으며, 해당병원체의 감염 시 생존율과의 연관성도 있는 것으로 보고되고 있다.

완도소재의 farm G는 11월에 세균혼합백신을 접종 후 1개월 후 항체를 조사한 결과 항체 형성되지 않음 확인되었다. ELISA OD 수치가 0.4이상 나타내는 개체의 비율도 *S. iniae*에 대한 특이항체의 경우 9.6%, *S. parauberis*에 대한 특이항체의 경우 23.4%로 확인되어 백신접종에 의한 항체가 형성되지 않았음을 알 수가 있다. 이러한 현상은 백신접종 시기의 수온과 밀접한 연관성이 있을 것으로 생각된다. 2018년도 완도 2월 평균수온은 7.7°C로 연중 가장 낮은 수온을 보였으며, 3월부터 증가하기 시작하여 8월 25.8°C 연중 가장 높은 값을 나타내었다. 실제로 farm C에 백신이 접종시기인 11월의 평균수온은 15°C 전후로 이후 지속적으로 감소하기 시작하여 12월에는 11.3°C를 나타내었다. 김 등(2011)의 연구에 따르면 넙치의 수온 12~13°C에서는 면역 후 28일 항체가 관찰되기 시작하였으

며, 일부 개체에서는 면역 후 56~70일 후 가장 높은 항체를 나타내었으나, 개체에 따라 항체를 형성하지 못하는 경우도 확인되었다. 어류의 경우 포유류와 달리, 수온 등 다양한 환경조건에 따라 면역 반응이 달라지므로, 낮은 수온에서는 특이 면역 반응을 유도하기 어려운 것을 확인되었으며, 21°C에서 사육하였을 때 가장 높은 항체를 나타내었다(Band & Park, 1994; Xu *et al.*, 2011).

현재까지 넙치에 백신접종 이후 항체 생성 여부를 판단하는 기준이 불명확한 상태로, 이는 예방백신의 병원체 종류별로 또 항체형성을 판정하는 방법별로 설정할 필요성이 있다. 넙치의 항체를 조사하는 방법에는 ELISA, 응집항체가 조사 방법이 있으며, 각각에 실험방법에 따른 기준설정이 필요할 것이다. 넙치에 대한 효율적인 백신 양식 현장의 효과조사를 위해서는 기본적으로 국내에서 사육되는 넙치를 대상으로 항체양성을 조사(자연감염에 의한 양성 포함), 예방접종률 등의 효능을 평가하기 위한 기초적인 조사도 같이 필요할 것으로 판단된다. 본 연구 결과는 국내의 넙치 양식장의 일부 표본조사 결과로 전체를 대표하기는 어려울 것으로 판단되며, 향후 수산용 백신의 현장 효과에 대한 체계적인 조사가 필요할 것이다. 항체생성과 해당 질병의 발생 저감에 대한 직접적인 상관관계에 대한 연구 및 실질적인 백신의 현장효능을 평가하기 위해서 백신 접종 후 해당질병의 발생 여부, 폐사율과 증체율 조사 등 체계적인 연구를 병행하여 진행할 필요도 있겠다.

사 사

본 연구는 국립수산과학원 수산시험연구사업(R2024055)의 지원에 의해서 운영되었습니다.

References

- Armwood A.R, Crriffin M.J., Richcardson B.M., Wise D.J., Ware C. and Camus A.C. Pathology and virulence of *Edwardsiella tarda*, *Edwardsiella piscicida* and *Edwardsiella anguillarum* in Channel (*Ictalurus punctatus*), Blue (*Ictalurus furcatus*) and channel blue hybrid catfish. J. Fish Dis., 45, 1683-1698,

2022. <https://doi.org/10.1111/jfd.13681>
- Bang J.D. and Park S.I. Effect of water temperature on the immune response of flounder, *Paralichthys olivaceus*. J. Fish Pathol., 7, 119-126, 1994.
- Cho M.Y., Lee J.S., Lee D.C., Choi H.J., Kim J.W. Immune response of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* against β -hemolytic *Streptococcus iniae* formalin-killed cells. J. Fish Pathol., 19, 73-82, 2006.
- Han H.J., Kim S.J., Kim T.H., Kim M.S., Cho M.Y. and Choi H.S. Current status and future directions of fish vaccine in Korea. Korean J Fish Aquat. Sci. 54, 369-376, 2021. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0369>
- Hwang JY, Kwon M.G, Seo JS, Hwang SD, Jeong JM, Lee JH, Jeong AR, Lee JH, Jeong AR and Jee BY. Current use and management of commercial fish vaccines in Korea. Fish Shellfish Immunol. 102, 20-27, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.004>
- Jeoung Y.U., Subramaminan D., Jang Y.H., Kim D.W., Park S.H., Park K.I., Lee Y.D. and Heo M. S. Protective efficiency of an inactivated vaccine against *Streptococcus iniae* in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Arch. Pol. Fish., 24, 23-32, 2016. <https://doi.org/10.1515/aopf-2016-0003>
- KAHPA (Korea Animal Health Products Association) 2023. Statistic of vaccine for aquatic animals, KAHPA, Sung-nam, Korea.
- Kim K.W., Yoo E.H., Yang H.Y. and Kang B.J. Isolation characteristics of causative agent of Streptococcosis and serotype changes of *Streptococcus parauberis* from olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Jeju. J. Fish Pathol., 33, 119-125, 2020. <https://doi.org/10.7847/jfp.2020.33.2.119>
- Kim T.H., Hwang S.D., Kim S.J., Kim M.S., Choi H.S. and Han H.J. Efficacy of a recombinant M-like protein, SimA as a subunit vaccine candidate against *Streptococcus parauberis* infection in olive flounder. Fish Shellfish Immunol. 131, 1092-1100, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.10.009>
- Kim W.S., Jang M.S., Jung S.J., Kim S.R., Park M.A., Lee J.H., Myeong J.I. and Oh M.J. Specific antibody response of olive flounder *Paralichthys olivaceus* by water temperature. J. Fish Pathol., 24, 39-45, 2011. <https://doi.org/10.7847/jfp.2011.24.1.039>
- Lee. Y.S. 2019. Productivity comparison to the management of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* aquafarms in Jeju and Wando. Master dissertation, Jeju National University. 2019.
- NIFS (National Institute of Fisheries Sciences), 2006. Standard manual of olive flounder culture. NIFS, Busan, Korea, 41-45.
- NIFS (National Institute of Fisheries Sciences), 2020. Analysis of medication and disease incidence trends in aquatic animal diseases in South Korea. NIFS, Busan Korea. 126-219.
- Sinyakov M.S., Dror M., Zhevelev H.M., Margel S. and Avtalion R.R. Natural antibodies and their significance in active immunization and protection against a defined pathogen in fish. Vaccine, 20, 3668-3674, 2002. [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(02\)00379](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(02)00379)
- Xu G., Sheng X., Xing J. and Zhan W. Effect of temperature on immune response of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) in inactivated lymphocystis disease virus (LCDV). Fish Shellfish Immunol. 30, 525-531, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.11.026>
- 국립수산물품질관리원 고시 제2023-24호 국가 출하 승인 수산물 의약품 검정기준, 2023.
- 해양수산 국고보조사업 시행지침서 II권, 수산생물질병 관리 및 생산어가 지원, 2023, pp 1,798-1,807.

Manuscript Received: May 14, 2024

Revised: May 28, 2024

Accepted: May 30, 2024