

碩 士 學 位 論 文

넙치 병어로부터 분리한 연쇄구균의
약제 내성에 관한 연구



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

濟州大學校 産業大學院

海洋生産學科

康 赫 均

넙치 병어로부터 분리한 연쇄구균의 약제 내성에 관한 연구

指導教授 盧 暹

이 論文을 理學 碩士學位 論文으로 提出함

2002년 월 일



濟州大學校 産業大學院

JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

海洋 生産學科

康 赫 均

康赫均의 理學 碩士學位 論文을 認准함

2002년 월 일

審査委員長	<u>최 광 식</u>	인
委 員	<u>이 영 돈</u>	인
委 員	<u>노 섭</u>	인

碩 士 學 位 論 文

넙치 병어로부터 분리한 연쇄구균의
약제 내성에 관한 연구



指導教授 盧 暹

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

濟州大學校 産業大學院

海洋生産學科

康 赫 均

2002年

Study on The Drug Resistance of
Streptococcus sp. Isolated from Infected
Paralichthys olivaceus

Hyuk-kyun Kang
(Supervised by Professor Sum Rho)



DEPARTMENT OF MARINE PRODUCTION
GRADUATE SCHOOL
OF INDUSTRY CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

2002. 6

목 차

목 차.....	i
영문요약(Summary).....	ii
I. 서론.....	1
II. 재료 및 방법.....	3
1. 실험 균주의 분리 및 동정.....	3
2. 실험 항균제 및 항균 용액의 조제.....	3
3. 약제 내성 실험.....	3
4. 분리 균주에 대한 최소 발육 억제농도 측정 시험.....	4
III. 결과.....	8
1. 실험 균주의 분리 및 동정.....	8
2. 분리 균주의 약제 내성.....	8
3. 분리 균주의 내성 유형.....	8
4. 분리 균주에 대한 최소 발육 억제 농도.....	8
IV. 고찰.....	23
V. 요약.....	25
VI. 참고 문헌.....	26
감사의글.....	29

Summary

The experiment was made to understand frequency of multiple drug resistance in bacteria by separating streptococciosis-causing germs, which have often occurred and damaged to fish farms on Jeju. The streptococci had been extracted from the internal organs of the *Paralichthys olivaceus* in four fish farms on Jeju from September 2001 to March, 2002. A total of 75 strains were used in this study. Test strains were inoculated on Brain Heart Infusion Agar (BHIA) contained 1% NaCl and incubated at 30°C for 24 hours. Then isolated colonies were indentified by API 20 strip kit. Minimal inhibitory concentration (MIC) was measured by agar diffusion method using ampicillin (ABPC), amoxicillin (AMPC), erythromycin (EM), oxytetracycline (OTC), doxycycline (DOXY), flumequine (FM), nalidixic acid (NA), norfloxacin (NF), ciprofloxacin (CFX), florfenicol (FF) on the market. Resistance of fish was developed 100% against NA, and occurred against FM (97%), OTC (74%), EM (46%), CFX (41%), NF (29%), DOXY (24%), FF (19%), ABPC (11%), AMPC (8%) in the order.

All of the strains appeared multiple drug resistance over three kinds in 19 patterns and among them, NA-FM-OTC-NF-DOXY (11 strains), NA-FM-OTC-EM-NF (8 strains), NA-FM-CFX-(7 strains) were in high frequency. It is considered that the use of various antibacterial agents in fish farms results in the multiple drug resistance. To prevent the spread of the multiple drug resistance, the antibiotics should be used according to dosage as well as cured with enough period. Most of all, the sanitation of tanks and equipments must be taken special care as long as fine environment of tanks mainly affect health of fish and bacterial disease so that the usage of the antibacterial agents could be minimized.

1. 서론

양식 현장에서 생산성 향상을 위한 고밀도 사육과, 과도한 사료 투여 등으로 수질악화 및 스트레스 요인의 증가와 함께 세균성 질병의 발생률도 증가하고 있기 때문에 항생제의 사용은 점차 증가하고 있는 추세에 있다. 따라서 항생제 사용으로 인한 세균의 내성증가, 다제내성의 문제, 그리고 약물의 유실로 인한 환경오염과 국민의 건강 문제가 제기 되고있다. 그러나 이러한 문제점에 대하여 지역주민과의 마찰과 양식현장 종사자들의 문제의식 부족 등에 의하여 아직도 우리나라는 선진국에 비하여 구체적으로 접근하지 못하고 있다. 그러므로 이에 대한 대책 방안의 강구가 시급히 이루어져야 한다고 생각된다. 특히, 넙치의 경우, 하절기에는 에드워드병, 연쇄구균증과 같은 세균성 질병으로 인한 피해가 지역에 따라서는 연간 폐사량의 80% 이상을 점유하는 예도 알려져 있다(이, 2000). 연쇄구균증은 해수 양식 어류와 담수산 양식 어류에서 대량 폐사를 유발하는 중요질병이다(Hoshina *et al.*, 1958; Plumb *et al.*, 1974; Kusuda *et al.*, 1976; Hashimoto, 1982; Lida *et al.*, 1986; Baya *et al.*, 1990). 이 질병은 고수온기에 많이 발생하며, 우리나라와 일본의 주요 해수 양식 어류인 넙치를 포함한 방어, 조피볼락 등에 대량 폐사를 일으켜 막대한 경제적 손실을 발생시켰다(전, 1989; Kusuda and Salati, 1993). 우리나라의 해수 양식 어류에서 발생하는 연쇄구균증은 수온이 18 °C 이상으로 상승하는 시기인 6월부터 시작하여 18 °C 이하로 하강하는 시기인 11월 초까지 주로 발생하는 경향을 보였다. 제주 지역의 경우, 넙치 양식장을 대상으로 한 2001년 9월부터 이듬해 3월까지 조사한 병어에서 안구 백탁, 안구 돌출, 입 주위의 출혈, 아가미 뚜껑 안쪽 출혈 등의 증상과 함께 많은 폐사 어체가 발생하였으며 이에 따른 폐사 원인 조사 결과 gram 양성구균이 대량으로 검출되었다. 연쇄구균증은 1957년 일본 Shizuoka현의 무지개 송어, *Oncorhynchus mykiss* 양식장에서 최초로 보고되었다(Hoshina *et al.*, 1958). 연쇄구균증에 의한 질병은 담수어류 뿐만 아니라 해산어류, 그리고 갑각류에서도 다수 보고되고 있다(Hoshina *et al.*, 1958; Kusuda and Komatsu., 1978; Kitao *et al.*, 1981; Tung *et al.*, 1985; Kusuda *et al.*, 1976; Minami *et al.*, 1979; Kaige *et al.*, 1984; Nieto *et al.*, 1995; Domenech *et al.*, 1996; Nagatsugawa, 1983; Rasheed and

Plumb, 1984; Chung and Kow, 1985; Pappalardo and Boemare, 1982). 특히 일본에서는 양식 어류인 방어(*Seriola quinqueradiata*), 참돔(*Pagrus major*), 넙치(*Paralichthys olivaceus*)에 *Streptococcus* sp.가 감염되어 심각한 경제적 손실을 가져왔다(Kusuda *et al.*, 1976, Kitao *et al.*, 1979; Kusuda and Salati, 1993). 연쇄구균증의 원인균은 gram양성 구균으로 연쇄상을 하고 있으며, 비운동성 통성 혐기성 세균으로 catalase, oxidase 및 indole에서 음성 반응을 보이고, 포도당을 발효적으로 분해하지만 가스는 생성하지 않는다. 이 균은 일반적으로 Tryptic Soy Agar (TSA), Brain Heart Infusion Agar (BHIA)에서 분리되며, 증식 온도는 10-45 °C, 염분 농도는 0-7%, pH는 3.5-10의 조건에서 발육이 가능하다(이, 1991; Ohnishi *et al.*, 1986; Sako *et al.*, 1993). 그러나, 연쇄구균증의 원인균이 *Streptococcus faecalis* 및 *S. faecium*의 중간적인 성상을 보여(Kusuda *et al.*, 1976) 그 위치가 정립되지 못한 채, 각종 어류에서 분리되는 균주를 *Streptococcus* sp.로 명명하였다. 한편 이 질병의 감염에 의한 피해가 큰 원인 중에는 화학 요법제에 의한 치료 효과가 일정하지 않다는 점을 들 수 있다. 이와 관련된 요인으로서의 원인균이 한 종에 한정된 것이 아니고 여러 가지일 가능성과 분리 균주에 따른 약제 감수성의 차이 등을 생각해 볼 수 있다.

따라서 본 연구는 제주도 넙치 양식장에서 매년 발생하여 막대한 피해를 주고 있으며 항생제를 사용하여도 잘 치료되지 않는 연쇄구균을 분리하여 분리한 균주에 대한 약제내성과 더불어 다제내성 등을 조사함으로써 이 내성 균주에 대한 내성발현을 억제하여 넙치의 안정적인 양식 생산을 도모하기 위한 기초 자료로 사용하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 균주의 분리 및 동정

2001년 9월부터 2002년 3월까지 제주도내 넙치 육상 수조식 양식장에서(Fig. 1) 안구돌출, 체색흑화 및 아가미 뚜껑 출혈과 복부팽만을 나타내는 병어를(Fig. 2) 수집하여 간장, 신장, 복수를 1% NaCl 첨가된 Brian-Heart Infusion Agar (Difco, Lab.) 접종하여 30 °C에서 24시간 배양한 후 집락을 분리하였으며, 집락을 형성하는 균에 대해서는 API 20 strip kit를 사용하여 최종 간이 동정하였다. 균주 보관은 사면배지를 사용하여 냉장상태로 보존하면서 필요시 실험에 사용하였다.

2. 실험 항균제 및 항균 용액의 조제

실험에 사용한 항균제로는 제주도 넙치 양식장에서 세균성 질병 치료에 흔히 사용하고 있는 Sigma제품인 ampicillin (ABPC), amoxicillin (AMPC), erythromycin (EM), oxytetracycline(OTC), doxycycline(DOXY), flumequine (FM), nalidixic acid (NA), norfloxacin (NF), ciprofloxacin (CFX)의 9종류와 한 동제품인 florfenicol (FF)의 1종류로 총 10종의 약제를 사용하였다. 이때 각각의 약제를 적당한 용매로 용해시킨 후 멸균 증류수로 희석하여 사용하였다(Table 1).

3. 약제 내성 시험

BHIA배지에서 분리한 균주를 약제가 첨가된 Muller-HintonⅡ agar (Difco, lab. MHAⅡ)의 평판배지에 접종하여 30 °C, 24시간 배양한 다음 발육하지 않으면 감수성, 발육하면 내성으로 판정하였으며, 동시에 내성균의 분포 및 다제내성 빈도를 파악하였다.

4. 분리균주에 대한 최소 발육 억제농도(MIC) 측정 시험

실험한 약제에 대한 최소 발육 억제 농도(minimum inhibitory concentration: MIC)의 측정은 한천배지 회석법에 따라 실시하였다. 분리균을 BHIA (Difco, Lab.)배지에서 24시간 배양한 후 대수 증식기의 균주를 약제가 첨가된 MHAⅡ (Difco, Lab.)에 접종하여 30 °C에서 24시간 동안 배양하였다. 약제선택은 Table 1과 같이 10종류를 택하여 각각의 약제농도는 농도 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서부터 1/2씩 단계 회석하여 총 13단계 농도의 약제가 함유한 MHAⅡ 배지를 만들었다. 각각의 약제 배지에 접종된 균주의 성장이 완전히 저지되는 약제 농도를 약제의 MIC로 정하였다.



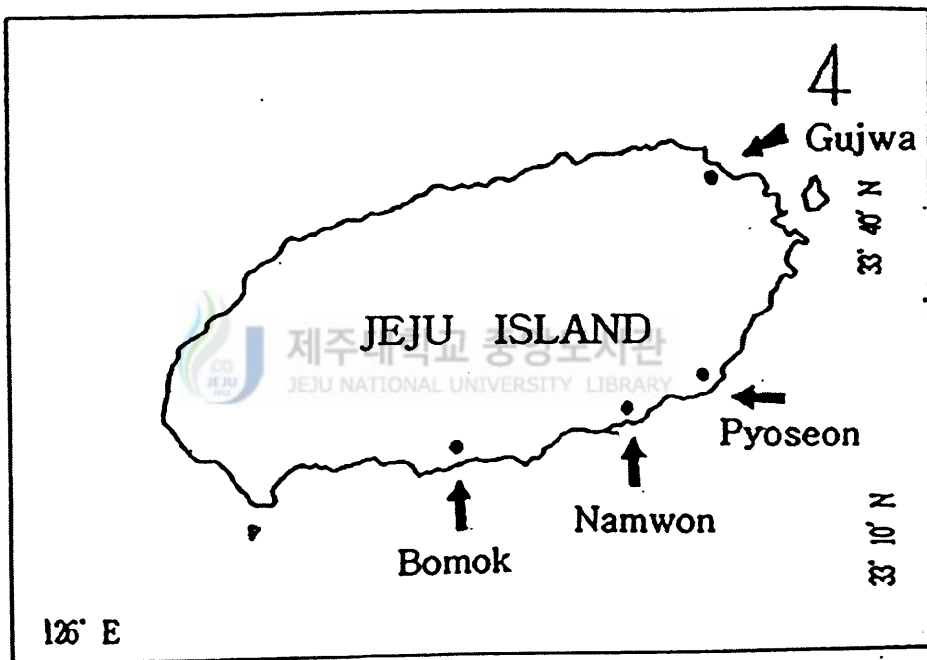


Fig. 1. Map showing the sampling sites

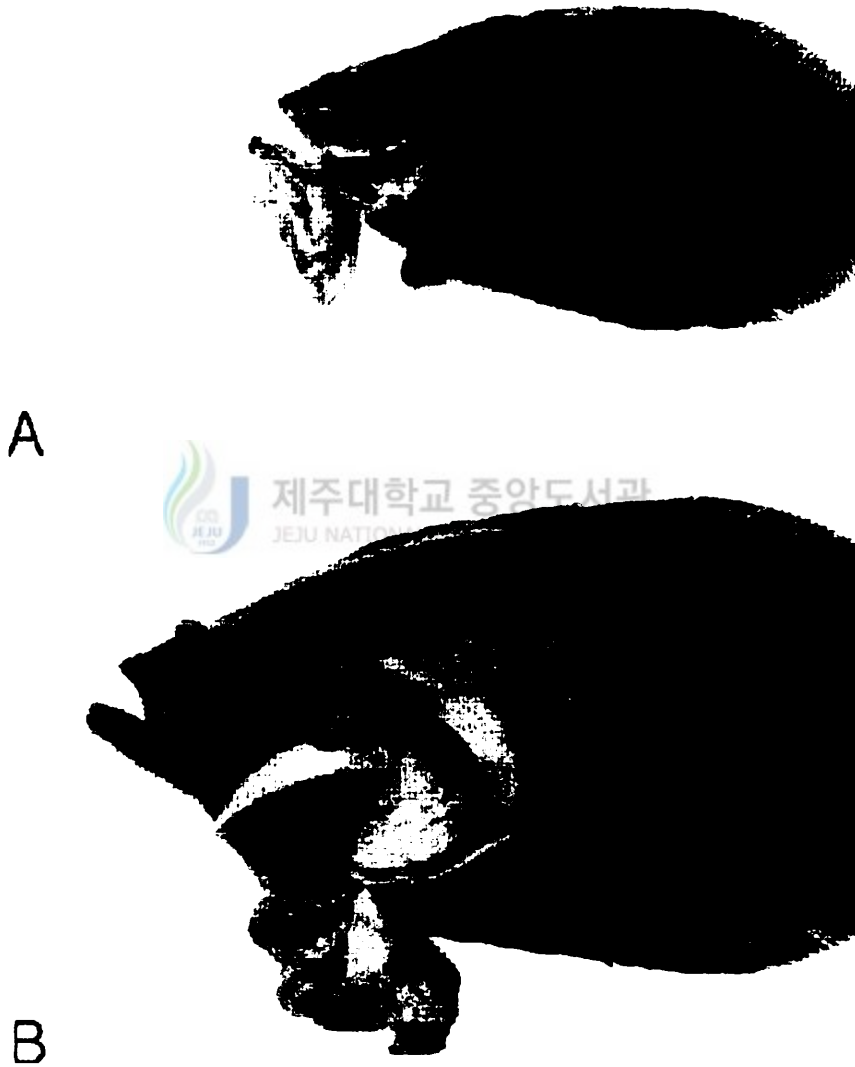


Fig. 2. External (A) and internal (B) symptom of infected with Streptococciosis in *P. olivaceus*

Table 1. List of antibacterial solution tested in this study

Antibacterial agent	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Sorbent	Diluted solution
Ampicillin (ABPC)	10	D-1	*D-1
Amoxicillin (AMPC)	10	1N NaOH, D.W	D-1
Oxytetracycline-Hcl (OTC)	30	D.W	*D.W
Doxycycline-Hcl (DOXY)	30	D-3	*D-3
Erythromycin (EM)	10	Methanol, D-2	*D-2
Ciprofloacin (CFX)	5	Glacial acetic acid, D.W	D.W
Norfloxacin (NF)	10	Glacial acetic acid, D.W	D.W
Nalidixic acid (NA)	30	1N NaOH, D-1	D.W
Flumequine (FM)	10	1N NaOH, D-1	D.W
Florfenicol (FF)	30	Acetonitrile, D-1	D.W

*D-1 : Potassium dihydrogen phosphate(KH_2PO_4) 7.0 g+Disodium hydrogen phosphate(Na_2HPO_4) 6.0 g/ D.W 1000 ml, adjust to pH 6.0 ± 0.1 .

*D-2 : Potassium dihydrogen phosphate(KH_2PO_4) 13.3 g+Potassium hydrogen (KOH) 6.2 g/ D.W 1000 ml, adjust to pH 8.0 ± 0.1 .

*D-3 : Potassium dihydrogen phosphate(KH_2PO_4) 13.6 g/ D.W 1000 ml, adjust to pH 4.5 ± 0.1 .

*D.W : Distilled water.

Ⅲ. 결 과

1. 실험 균주의 분리 및 동정

본 실험에 사용된 균주는 총 75균주로 API 20 strip kit로 동정한 결과 75균주 중 *S. parauberis* 22균주, *S. iniae* 53균주로 동정되었다(Table 2).

2. 분리 균주의 약제 내성

넙치의 병어로부터 분리한 75균주에 10종류의 항균제에 대한 내성 검사를 실시한 성적은 Table 3에 나타내었다.

실험한 항균제에 대한 내성률은 NA에서 모든 균주가 100% 내성을 보였으며, 다음으로는 FM (97%), OTC (74%), EM (46%), CFX (41%), NF (29%), DOXY (24%), FF (19%), ABPC (11%) 및 AMPC (8%)순으로 내성을 보였다.

3. 분리 균주의 내성유형

분리균의 내성 유형은 Table 4와 같다. 즉 내성유형은 19유형으로서 모든 분리균주가 3제 이상에서 7제까지 다제 내성 유형을 보였으며, 그중 NA-FM-OTC-NF-DOXY (11균주), NA-FM-OTC-EM-NF (8균주), NA-FM-CFX (7균주) 및 NA-FM-OTC-EM (6균주) 유형 등이 고빈도 출현을 보였다.

4. 분리 균주에 대한 최소 발육 억제농도

각각의 화학요법제에 대한 분리균주의 MIC값의 분포를 보면 ampicillin에서는 0.39-50 $\mu\text{g/ml}$ 였으며, 이중 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 에서 33균주가 가장 많이 관찰 되었다(Fig. 3). amoxicillin에서는 0.78-50 $\mu\text{g/ml}$ 였으며, 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 에서 35균주(Fig. 4), erythromycin에서는 3.13-100 $\mu\text{g/ml}$ 이었고, 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 에서 19균주(Fig. 5), oxytetracyclin에서는 3.13-100 $\mu\text{g/ml}$ 였으며, 25 $\mu\text{g/ml}$ 에서 24균주(Fig. 6),

doxycyclines에서는 0.78-100 $\mu\text{g/ml}$ 였고, 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 에서 22균주(Fig. 7), florfenicol에서는 0.78-100 $\mu\text{g/ml}$ 였으며, 3.13 $\mu\text{g/ml}$ 에서 18균주(Fig. 8), flumequine에서는 6.25-100 $\mu\text{g/ml}$ 이었으며, 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 71균주(Fig. 9), norfloxacin에서는 0.78-100 $\mu\text{g/ml}$, 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 에서 22균주(Fig. 11), ciprofloxacin에서는 0.78-100 $\mu\text{g/ml}$ 이었으며, 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 에서 16균주가 관찰되었다(Fig. 12). nalidixic acid는 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 75균주 모두가 관찰되어 전혀 약효를 발휘하지 못했다(Fig. 10). 이들 각각의 효력을 비교하기 위하여 75개 균주의 50%에 해당하는 38균주 이상에서 결정된 MIC₅₀ 값에 따라 분류한 결과를 Table 5에 나타내었다.

Table 2. Number of *Streptococcus* sp. isolated from infected *P. olivaceus* in four area of Jeju Island from 2001 to 2002

Area	No. of isolated	Organ of isolation	Streptococcus species	
			<i>S. parauberis</i>	<i>S. iniae</i>
Namwon	45	Liver, Kidney	10	35
Pyoseon	10	Liver, Kidney	4	6
Bomok	10	Ascitic fluid, Kidney	3	7
Gujwa	10	Liver, Kidney	5	5

Table 3. Drug resistance of *Streptococcus* sp. isolated from infected *P. olivaceus*

Antibiotics	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Resistant strains	
		Number	percentage(%)
ABPC	10	7	11
AMPC	10	6	8
EM	10	35	46
OTC	30	56	74
DOXY	30	18	24
FF	30	14	19
FM	10	73	97
NA	30	75	100
NF	10	22	29
CFX	5	31	41

Abbreviation : ABPC, ampicillin ; AMPC, amoxicillin ; EM, erythromycin ; OTC, oxytetracycline ; DOXY, doxycycline ; FF, florfenicol ; FM, flumequine ; NA, nalidixic acid ; NF, norfloxacin; CFX, ciprofloxacin

Table 4. Multiple drug resistance patterns of *Streptococcus* sp. isolated from infected *P. olivaceus*

Resistance patterns	Incidence of resistance patterns	
	Number of individual strains(%)	Group(%)*
NA-FM-OTC	4(5)	
NA-FM-EM	4(5)	15(20)
NA-FM-CFX	7(9)	
NA-FM-OTC-EM	6(8)	
NA-FM-OTC-CFX	5(7)	14(19)
NA-FM-CFX-NF	2(3)	
NA-FM-CFX-FF	1(1)	
NA-FM-OTC-EM-NF	8(11)	
NA-FM-OTC-CFX-FF	5(7)	
NA-FM-OTC-NF-DOXY	11(14)	
NA-OTC-EM-FF-ABPC	2(3)	36(48)
NA-FM-EM-ABPC-AMPC	2(3)	
NA-FM-OTC-FF-EM	5(7)	
NA-FM-OTC-DOXY-AMPC	2(3)	
NA-FM-EM-DOXY-CFX	1(1)	
NA-FM-OTC-EM-FF-CFX	4(5)	
NA-FM-OTC-CFX-DOXY-ABPC	3(4)	9(12)
NA-FM-EM-CFX-FF-AMPC	2(3)	
NA-FM-OTC-EM-CFX-NF-DOXY	1(1)	1(1)
Total 19 patterns	75(100)	75(100)

* : Summed up resistant strains as group based on the number of drugs.

Table 5. Potency of *in vitro* antibacterial activity (MIC₅₀) of antibacterial agents against 75 isolates of *Streptococcus* sp.

Drugs	MIC ₅₀ (μg/ml)
Ampicillin	6.25
Amoxicillin	6.25
Erythromycin	12.5
Oxytetracycline-HCl	25
Doxycycline-HCl	6.25
Flumequine	100
Nalidixic acid	100
Norfloxacin	12.5
Ciprofloacin	12.5



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

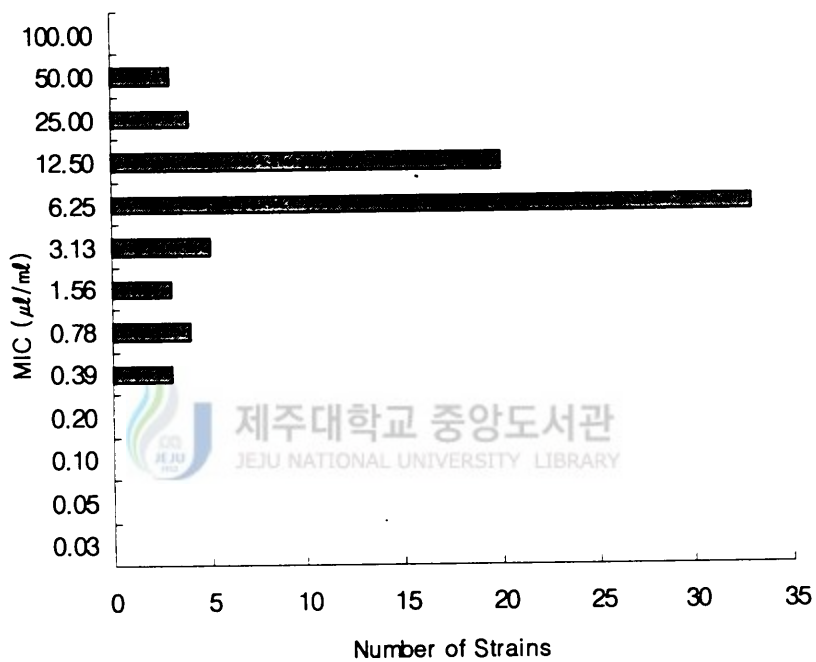


Fig. 3. MIC value distribution of ampicillin against 75 strains of *Streptococcus* sp.

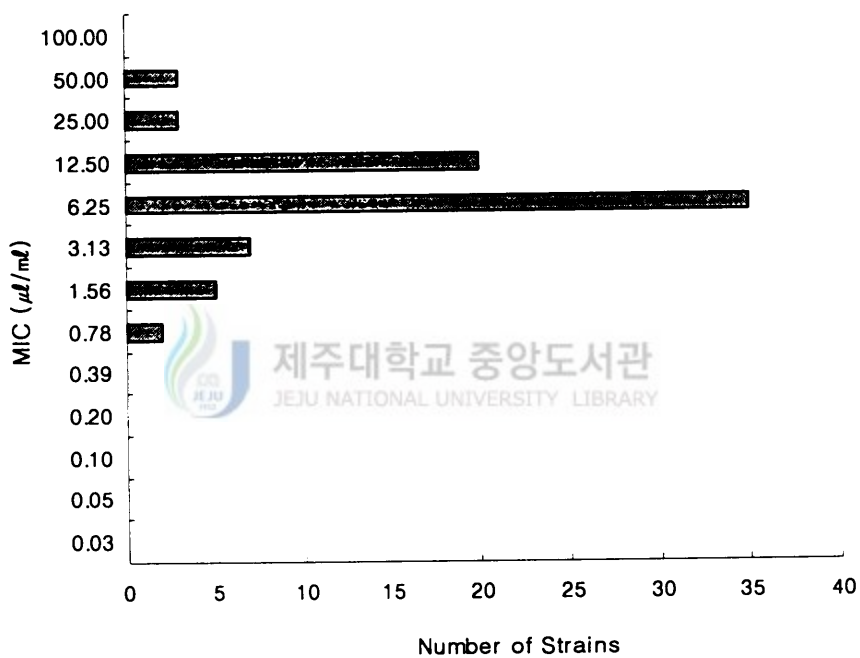


Fig. 4. MIC value distribution of amoxicillin against 75 strains of *Streptococcus* sp.

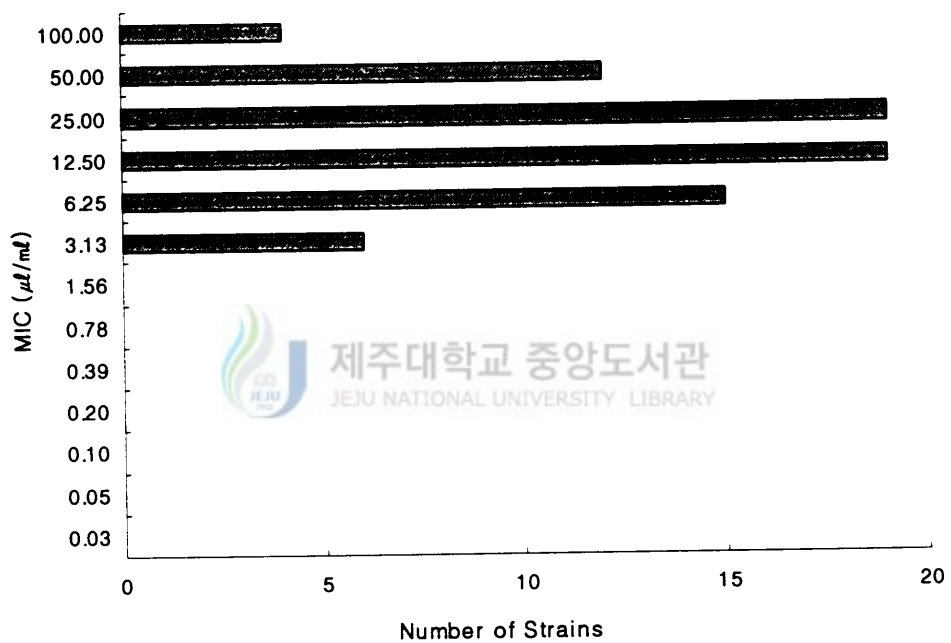


Fig. 5. MIC value distribution of erythromycin against 75 strains of *Streptococcus* sp.

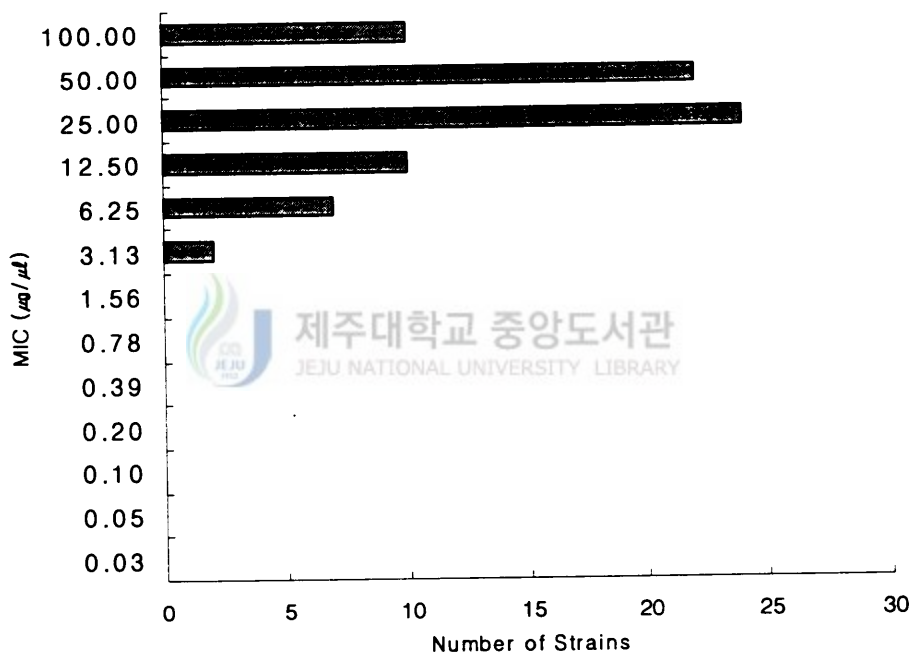


Fig. 6. MIC value distribution of oxytetracycline against 75 strains of *Streptococcus* sp.

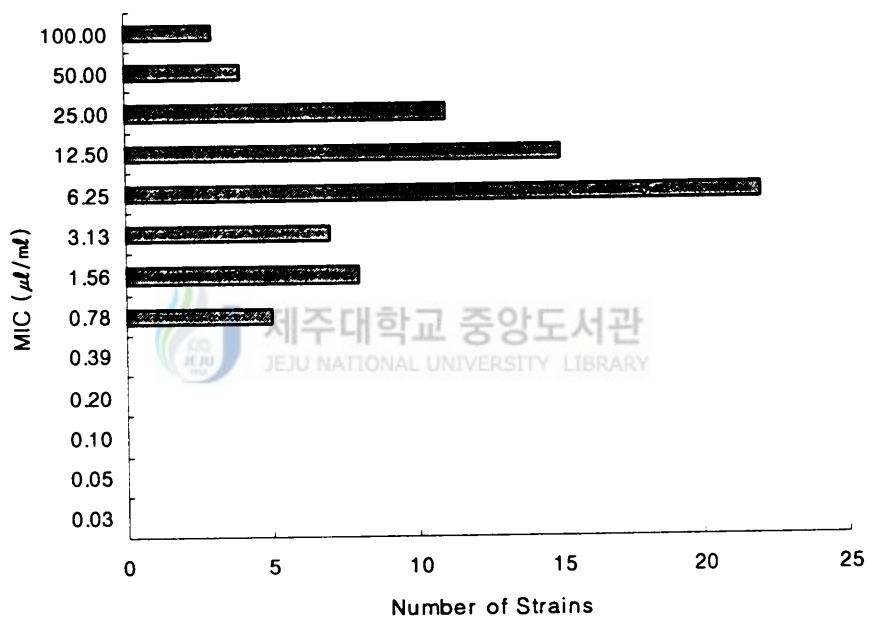


Fig. 7. MIC value distribution of doxycycline against 75 strains of *Streptococcus* sp.

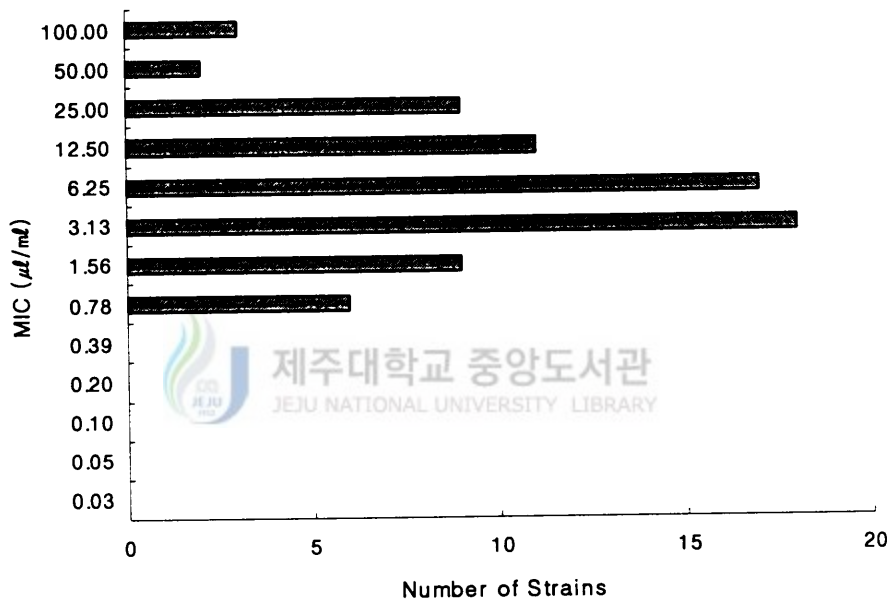


Fig. 8. MIC value distribution of florfenicol against 75 strains of *Streptococcus* sp.

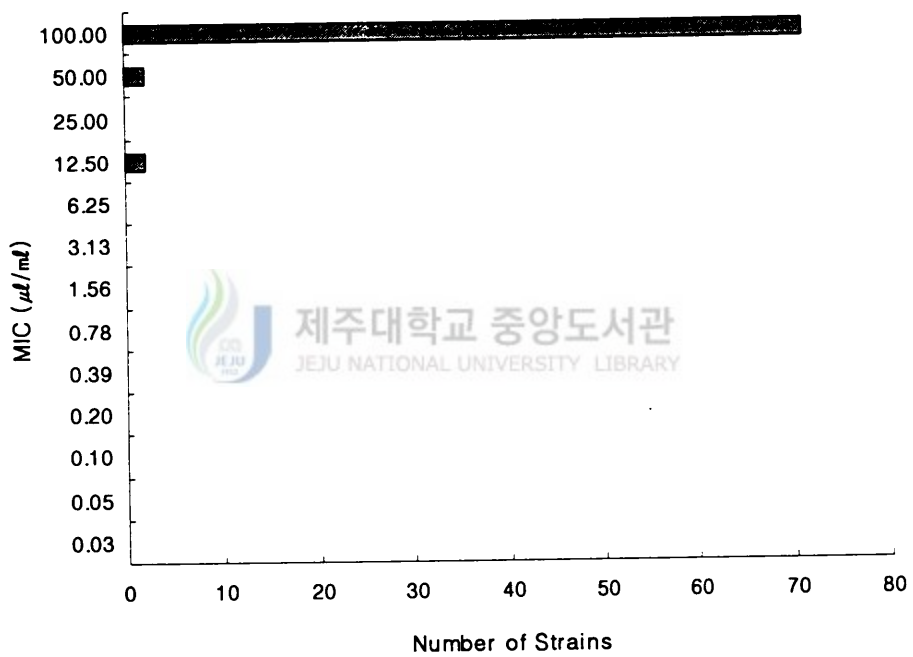


Fig. 9. MIC value distribution of flumequine against 75 strains of *Streptococcus* sp.

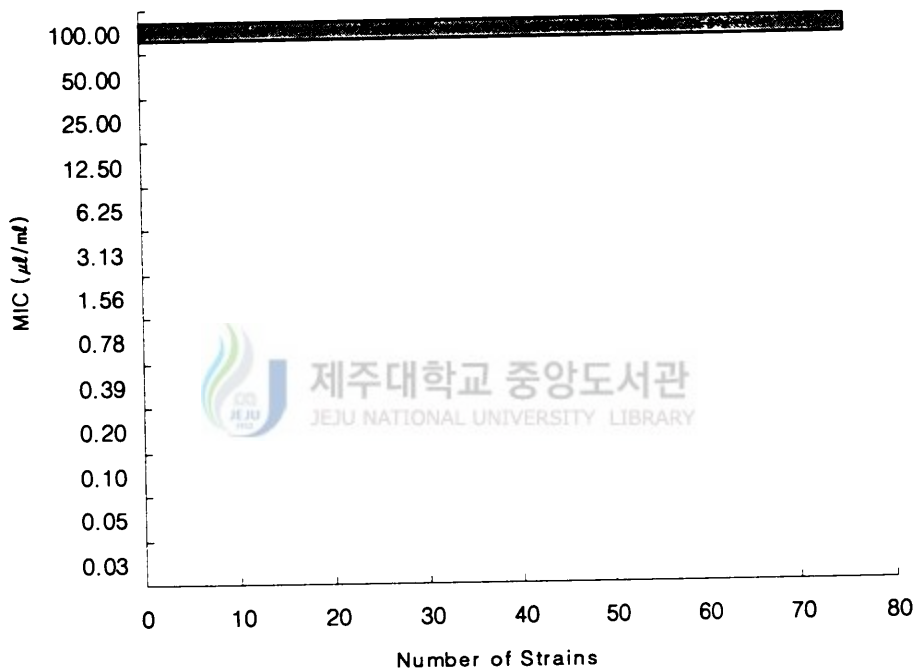


Fig. 10. MIC value distribution of nalidixic acid against 75 strains of *Streptococcus* sp.

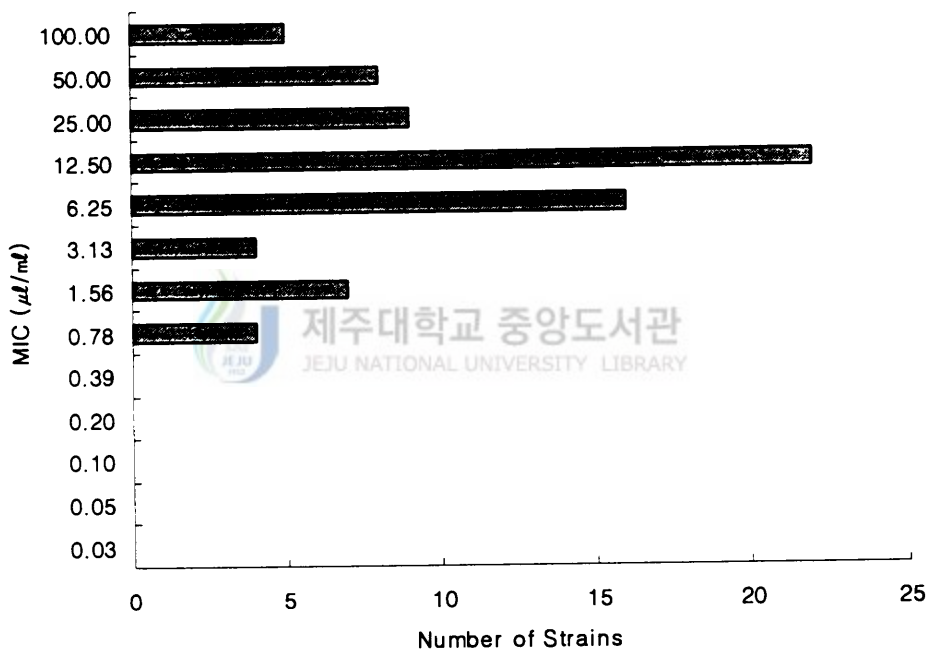


Fig. 11. MIC value distribution of norfloxacin against 75 strains of *Streptococcus* sp.

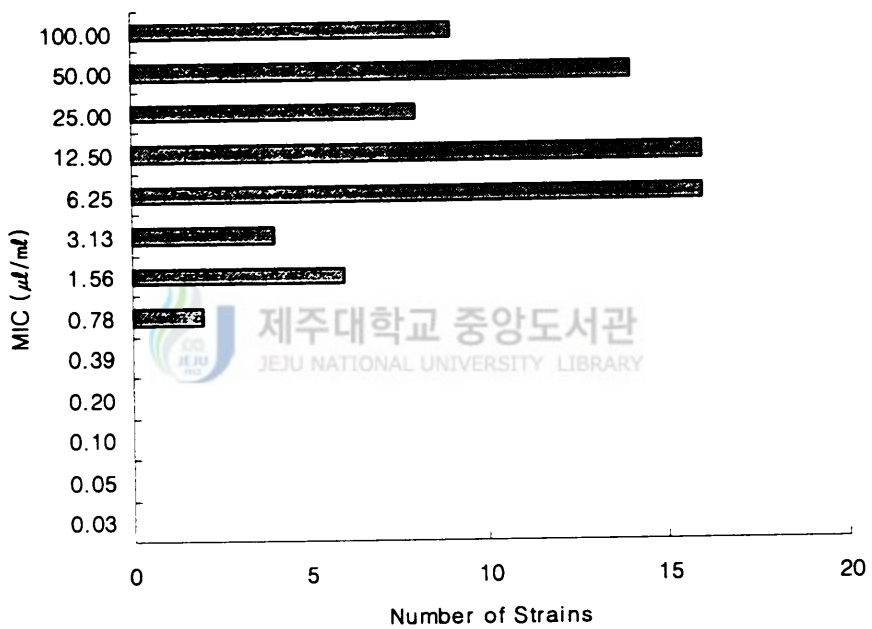


Fig. 12. MIC value distribution of ciprofloxacin against 75 strains of *Streptococcus* sp.

Ⅳ. 고 찰

연쇄구균에 의한 감염증은 한국을 비롯하여 일본, 호주, 미국, 서아프리카, 스페인 등 전 세계적으로 나타나고 있다(Plumb *et al.*, 1974; Booker *et al.*, 1979; Kim and Lee, 1997). 특히, 이 질병은 고수온기에 많이 발생하며, 우리나라와 일본에서 주요 해수 양식 어류인 넙치를 포함한 방어와 조피볼락 등에 대량 폐사를 가져와 막대한 경제적 손실을 발생시키는 것으로 알려져 있다(전, 1989).

그리고 연쇄구균증은 해수 양식 어류는 물론 여러 가지 담수산 양식 어류에서 대량 폐사를 유발하는 질병으로 중요하게 다루어지고 있다(Plumb *et al.*, 1974; Lida *et al.*, 1986; Baya *et al.*, 1990). 이 질병에 의한 피해가 알려진 바와 같이 그 원인균과 관련된 다양한 연구가 진행되어 오면서, 이 질병의 원인균이 형태학적으로는 공통적인 연쇄구균이지만 분류학적으로는 다양한 종이 관여하고 있음이 밝혀지고 있다.

질병의 원인균으로서 처음으로 알려진 *Streptococcus* sp.는 방어, *S. quinqueradiata* (Minami *et al.*, 1979), 넙치, *P. olivaceus* (Nagatsugawa, 1983; Sako, 1993 ; Kim and Lee, 1997), turbot, *Scophthalmus maximus* (Toranzo *et al.*, 1995), 뱀장어, *Anguilla japonica* (Kusuda *et al.*, 1978) 등의 어류에서 발생하는 것으로 보고되어 왔다.

제주도내 4개 양식장에서 연쇄구균증에 감염된 양식넙치로부터 분리동정한 75 균주 중 *S. parauberis* 22균주, *S. iniae* 53균주를 대상으로 ABPC, AMPC, EM, OTC, DOXY, FF, FM, NA, NF 및 CFX의 항균제에 대한 내성률은 NA에서 모든균주가 100% 내성을 보였으며, FM, OTC, EM순으로 나타났다. 이와 같은 결과는 항생제 사용 빈도에 비례하여 내성현상이 증가되었다는 보고 등(Aoki and Kitao, 1981)으로 미루어 제주도내 일부 넙치 양식장에서는 NA, AR 및 OTC 등의 약제를 고빈도로 사용하였기 때문에 이들 약제에 대해서 높은 내성률을 보인 것으로 추정된다. 대부분의 균주에서 4제 이상의 약제에 대해 전체의 80%이상 다제내성을 보였으며 NA-FM-CFX, NA-FM-OTC-EM, NA-FM-OTC-CFX, NA-FM-OTC-EM-NF, NA-FM-OTC-CFX-FF, NA-FM-OTC-NF-DOXY, NA-FM-OTC-FF-EM, 유형 등이 고빈도 출현을 보였으며, NA-FM-OTC

-EM-CFX-NF-DOXY 유형의 7개 약제에 대해서 내성을 보이는 균이 출현하여 다제 내성의 심각성을 보여 주었다. 10개의 약제 중 가장 항균력이 강한 물질은 amoxillin으로서 75균주 중 96%에 해당하는 72균주가 MIC 값이 25 $\mu\text{g/ml}$ 이하에서 나타났으며, NA에서는 75균주가 MIC 값이 100 $\mu\text{g/ml}$ 이상으로 100% 내성을 나타내었다. FM에서는 MIC값이 25 $\mu\text{g/ml}$ 이상이 73균주, OTC에서는 56균주로 내성률 74~97%의 고빈도 내성을 보였고 EM에서는 35균주, CFX에서는 31균주로 내성률이 46~41%, DOXY에서는 18균주, FF에서는 14균주, ABPC에서는 7균주로 내성률 11~24%를 보여 탁월한 감수성을 보였다.

이 (2000)는 부산, 경남지역의 양식장에서 연쇄구균에 대한 퀴놀론 계열의 항생제가 80%가 감수성을 보였다고 보고했는데 제주지역에서는 페니실린계열이 90%의 감수성을 보였다. NA에서는 양 지역 모두 100% 내성을 보였다.

이러한 약제내성균의 출현 및 증가요인으로는 항생제의 과다한 사용, 빠른 교체, 및 사료내의 첨가 등의 경로를 통한 각종 항균제에 대한 지속적인 노출이 주요한 원인이라는 지적(Grave and Riggs, 1990)으로 미루어 볼 때 무분별한 수산 약제의 사용규제 방안이 검토되어야 할 것으로 사료된다. 또한 다제내성인자 전달 등을 갖는 균주의 급속한 확산현상이 세균성 질병의 치료를 어렵게 만드는 주요한 요인이라고 보고되었다(Aoki and Kitao, 1981). 그러므로 이러한 다제내성균의 확산을 방지하기 위해서는 치료약제 선택시 신중을 기하여야 할 것이며 충분한 기간을 두고 치료하는 것은 물론 적절한 용량을 사용하도록 해야만 할 것이다.

그러나 무엇보다도 사육조 및 기구 등의 위생 환경면에도 많은 관심을 기울여서 가능한 한 약제의 사용을 최소화하도록 하여야 할 것이다. 사육조의 좋은 환경이 어체의 건강과 세균성 질병의 예방에 주요한 작용을 한다는 점(Aoki and Kitao, 1981)을 고려해 볼 때 약제의 무분별한 오용 및 남용은 반드시 개선되어야 할 과제라고 사료된다.

V. 요약

제주도내 넙치 양어장에 빈발하여 피해를 입히는 연쇄구균증의 원인균을 분리하여 화학 요법제의 최소 발육 억제농도를 측정하여 내성균의 분포 및 다제내성의 빈도를 파악하였다.

1. 2001년 9월부터 2002년 3월까지 제주도내 4개 넙치 양어장에서 사육중인 넙치의 장기조직(간장, 신장) 및 복수에서 연쇄구균을 분리하였다.
2. 분리균은 1% NaCl이 첨가된 BHIA배지에 접종하여 30℃에서 24시간 배양한 후 나타나는 집락을 분리하였으며, 집락을 형성하는 균에 대해서는 API 20 strip kit를 사용하여 최종 간이 동정하였으며 총 75균주를 시험에 사용하였다.
3. 시중에 시판중인 ABPC, AMPC, EM, OTC, DOXY, FF, FM, NA, NF, CFX 약제를 사용하여 한천배지 희석법으로 MIC값을 측정하였다.
4. 실험에 사용된 항생제에 대한 내성률은 NA에서는 모든 균주가 100% 내성을 보였으며 다음으로는 FM (97%), OTC (74%), EM (46%), CFX (41%), NF (29%), DOXY (24%), FF (19%), ABPC (11%) 및 AMPC (8%) 순으로 내성을 보였다.
5. 모든 균주가 3제 이상의 다제 내성을 보였으며 내성 유형은 총 19유형으로서 그중 NA-FM-OTC-NF-DOXY (11균주), NA-FM-OTC-EM-NF (8균주) 및 NA-FM-CFX (7균주)유형 등이 고빈도로 출현을 하였다.

Ⅵ. 참고 문헌

- Aoki, T. and T. Kitao. 1981. Drug resistance and transferable R plasmids in *Edwardsiella tarda* from fish culture pond. Fish Pathol., 15, 277-281.
- Baya, A. M., B. Lupiana, F.M. Hetrick, B. S. Roberson, R. Luckacovic and C. Poukish. 1990. Association of *Streptococcus* sp. with fish mortalities in Chesapeake Bay and its tributaries. J Fish dis., 13, 251-253.
- Booker, J., G. D. Imes Jr., C. M. Cameron, T. W. Naude and H. J. Schoonbee. 1979. Trout mortalities as a result of *Streptococcus* infection. Onderstepoort Journal of Veterinary Research., 46, 71-78.
- Chung, H. Y. and G. H. Kow. 1985. Characteristics of non-hemolytic Streptococci isolated Captive Bullfrog (*Rana Catesbeiana*). In COA Fisheries Series NO. 4, Fish Disease Research (Ⅱ), 9-21.
- Domenech, A., J. F. Fernandez-Garayzabal, C. Pascual, J. A. Garcia, M. T. Cutuli, M. D. Collins and L. Dominguez. 1996. Streptococcosis in cultured turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), associated with *Streptococcus parauberis*. J. Fish Dis., 19, 33-38.
- Graves, J. F. and H. G. Riggs. 1990. Anaerobic transfer of antibiotic resistance from *Pseudomonas aeruginosa*. Appl. Environ. Microbiol., 40, 1-6.
- Hashimoto .H. 1982. Classification and pathogenicity of the genus *Streptococcus*. Fish 17 (1), 1-10.
- Hoshina, T., T. Sano and Y. Morimoto. 1958. A *Streptococcus* pathogenic to fish. Journal of Tokyo University of Fisheries, 16, 201-6.
- Kaige, N., T. Miyazaki and S. Kusuda. 1984. The pathogen and the histopathology of vertebral deformity in cultured yellowtail. Fish Pathol., 19(3), 173-179.
- Kim, Y. G and K. K. Lee. 1997. Studies on the biochemical characteristics and pathogenicity of *Streptococcus* sp. isolated from cultured flounder,

- Paralichthys olivaceus*. Fish Sci. Res., 13, 77-85.
- Kitao, T., T. Aoki and K. Iwata. 1979. Epidemiological study on streptococcosis of cultured yellowtail(*Seriola quinqueradiata*)-I. Distribution of *Streptococcus* sp. in seawater and muds around yellowtail farms. Bulletin of the Japanese Soc. Sci. Fish., 45, 67-72.
- Kitao, T., T. Aoki and R. Sakoh. 1981. Epizootic caused by β -hemolytic *Streptococcus* species in cultured freshwater fish. Fish Pathol., 15(3/4), 301-307.
- Kusuda, R., K. Kawai, T. Toyoshima and I. Komatsu. 1976. A new pathogenic bacterium belonging to the genus *Streptococcus* isolated from an epizootic of cultured yellowtail. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 42(12), 1345-1352.
- Kusuda, R. and I. Komatsu. 1978. A comparative study of fish pathogenic *Streptococcus* isolated from saltwater and freshwater fisheries. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 44(10), 1073-1078.
- Kusuda, R., K. Kawai, F. Salati, C. R. Banner and I. L. Fryer. 1992. *Enterococcus seriolicida* sp. nov., a fish pathogen. International Journal of Systematic Bacteriology, 41(3), 406-409.
- Kusuda, R. and F. Salati. 1993. Major bacterial diseases affecting mariculture in Japan. Annual Rev. Fish Dis., 3, 69-72.
- Lida, T., K. Furukawa, M. Sakai and H. Wakabayashi. 1986. Non-hemolytic *Streptococcus* isolated from the brain of the vertebral deformed yellowtail. Fish Pathol., 21(1), 33-38.
- Minami, T., M. Nakamura, Y. Ikeda and H. Ozaki. 1979. A beta-hemolytic *Streptococcus* isolated from cultured yellowtail. Fish Pathol., 14, 33-38.
- Nagatsugawa, T. 1983. A streptococcal disease of cultured flounder. Fish Pathol., 17(4), 281-285.
- Nieto, J. M., S. Devesa, I. Quiroga and A. E. Toranzo. 1995. Histopathology of *Enterococcus* sp. infection in farmed turbot, *Scophthalmus maximus* L. J. Fish Dis., 18, 21-30.
- Ohnishi, K., K. Kawai and J. Yasuhiko 1986. Physiological characteristics and

- pathogenicity of β -hemolytic *Streptococcus* isolated from cultured Ayu (*Plecoglossus altivelis*). Fish Pathol., 21(1), 9-13.
- Pappalardo, R. and N. Boemare. 1982. An intracellular Streptococcus, causative agent of a slowly developing disease in Mediterranean Crab, *Carcinus mediterraneus*. Aquaculture, 28, 283-292.
- Plumb, J. A., H. Schachte, J. L. Gaines, W. Peltier and B. Carrol. 1974. *Streptococcus* sp. from marine fishes along the Alabama and northwest Florida coast of the Gulf of Mexico. Trans. Am. Fish. Soc., 103, 358-361.
- Rasheed, V. and J. A. Plumb. 1984. Pathogenicity of a non-haemolytic group *Streptococcus* sp. in Gulf Killifish (*Fundulus grandis* Baird and Giard). Aquaculture, 37, 97-105.
- Sako, H. 1993. A comparative study on the properties and pathogenicity of β -hemolytic *Streptococcus* sp. isolated from marine and freshwater fishes Suisanzoshoku (Aquaculture) 41 (3), 387-395.
- Toranzo, A. E., J. M. Cutrin, S. Nunez, J. L. Romalde and J. L. Barja. 1995. Antigenic characterization of *Enterococcus* strains pathogenic for turbot Dis. Aquaculture, 21, 187-191.
- Tung, M. C., S. Chen and S. S. Tsai. 1985. General septicemia of streptococcal infection in cage-cultured Tilapia, *Tilapia mossambica*, in Southern Taiwan. COA Fisheries Series No. 4, Fish Disease Research (Ⅱ), 95-105.
- 이재일. 2000. 연쇄 구균증에 걸린 해수 양식 어류의 원인균에 대한 연구. 석사학위논문, 부경대학교. 25-31.
- 이창훈· 하동수. 1991. 양식 넙치의 연쇄구균증. 한국 어병학회지, 제 4권(2). 71-77.
- 전세규. 1989. 담수어의 연쇄구균증. 한국 어병학회지, 제 2권(1). 31-36.

감사의 글

인간에게 있어 기회를 부여잡는다는 것은 큰 행운이라고 생각합니다. 저에게 기회의 문을 열어주시고, 그 기회에 대한 열매를 맺게 해주신 노섬 교수님께 감사의 마음을 표현할 길 없습니다.

또한 저에게 많은 가르침을 주셨던 최광식 교수님, 이영돈 교수님, 허문수 교수님께 진심으로 깊은 감사를 드립니다.

바쁘신 와중에도 지도와 편달을 아끼지 않고 논문을 검토해 주신 자원 조성 연구소 이창훈 박사님, 국립 수산 과학원의 정승희 박사님께도 가슴 가득한 감사의 정을 드립니다.

이 연구를 수행하는데 있어서 많은 배려와 격려를 주신 김병찬 회장님, 장정일 소장님, 최지훈 과장님, 현창효, 신금균, 박명한, 강진영, 이명주, 강태욱, 김수미 이하 전 직원계도 이 연구의 결과를 함께 하고 싶습니다. 용기와 힘을 잃지 않도록 항상 관심을 가져주신 전수동 선배님, 이준민 선배님, 현길현 소장님, 양영진, 김승철, 백종칠, 지창민, 이동선, 강훈, 양희상, 하민수, 어류 양식 실험실의 최영웅, 박정호 후배님, 해양 수산 자원 연구소 강봉조 연구사님, 부경대학교 수산 생명과학과의 성명희 님계도 감사의 마음을 전합니다.

앞으로도 사회의 필요한 인재가 되려고 최선의 노력을 다짐하면서 계속 깊은 관심과 사랑을 부탁드립니다.

끝으로 저에게 항상 사랑과 정성을 아끼지 않으시고, 많은 희생으로 뒷바라지 해주신 부모님과 저를 아는 모든 분들께 이 작은 결실로 감사의 마음을 전합니다.