

Staphylococcus epidermidis 로 인위감염시킨 양식넙치의 혈액지수 변동

심두생 · 정승희* · 박형숙** · 전세규***

국립수산진흥원 남해수산연구소, *국립수산진흥원 병리과

경성대학교 생물학과, *한국어병연구소

1990년 8월에 양식넙치의 병어에서 분리한 *Staphylococcus epidermidis*를 건강한 넙치에 인위감염 시킨 후, 혈액성상과 혈청화학성분의 변화를 24시간 간격으로 4일간 추적하였다.

적혈구수, 헤모글로빈량, 헤마토크릿치, 평균적혈구헤모글로빈농도 및 평균적혈구헤모글로빈량은 군 접종 24시간에서 48시간 내에 유의적으로 감소하였다.

총단백, 알부민, 글로부린 및 총콜레스테롤치는 군 접종 24시간에서 48시간만에 유의적으로 증가하였으나 혈당, 빌리루빈 및 혈청 트란스아미나제는 군 접종 24시간에서 48시간내에 유의적으로 감소하였다.

군 접종 48시간 후에 적혈구는 장경이 짧게 되어 등근 모양으로 되었다. 군 접종 72시간 후에는 용혈된 적혈구와 호중구가 많이 출현하였다.

군 접종 48시간 후부터 프라이스-존즈 곡선은 좌방으로 이행되었다. 따라서 인위적 감염에 의한 양식넙치의 포도상구균증은 용혈성 빈혈을 나타내었다.

Key Words : *Parxlichthys olivaceus*, *Staphylococcus epidermidis*, Blood Paramefer.

1990년 8~9월 고수온기에 경남, 북 일대 육상수조식 양식장에서 사육하고 있는 넙치에 포도상구균증으로 추정되는 질병이 발생하여 Sim(1992)이 그 원인균을 *Staphylococcus epidermidis*로 동정함과 함께 성상, 병원성, 병리조직 및 약제에 의한 치료에 관하여 보고한 바 있다.

어떠한 병원체가 어체에 미치는 영향을 혈액학적 측면에서 진단하는 것은 자연감염어를 사용하는 것이 가장 바람직하다. 그러나 자연감염어는 감염시기를 정확히 알 수 없기에 실험재료로 제공되기에는 다소 불안정한 면이 있으므로 질병의 혈액지수 변화를 파악하기 위하여는 병원체를 인위적으로 감염시킨 후, 시간적 경과에 따른 변화를 추적할 필요가 있다.

그래서 본 연구는 양식넙치의 병어로부터 분리한 *Staphylococcus epidermidis*를 접종한 양식넙치에 대하여 혈액성상 및 혈청화학 지수의 변화를 검토한 것이다.

재료 및 방법

1. 생균의 인위감염

양식넙치의 병어에서 분리한 *Staphylococcus epidermidis* FSJ-3 균주를 brain heart infusion broth(BHIB, Difco)에 35°C, 24시간 배양한 후 3,000rpm으로 30분간 원심하여 집균하였다. 그 집균한 것을 멸균 phosphate-buffered saline(PBS)에 현탁시켜 4일간 예비사육한 체중 200~350g의 건강한 넙치에 체중 10g당 10⁷ viable cells/ml가 되게 근육에 접종하였다.

2. 혈액성상지수, 혈청화학지수 및 적혈구 크기변화 측정

생균으로 인위감염시킨 넙치는 군접종 24, 48, 72 및 96시간후 각각 7마리씩 채혈하는데 사용되었다. 채혈은

시관하는 23개이지의 일회용 주사기로 미동맥부를 찔러 채혈하였다. 채혈한 혈액의 일부는 혈액성상을 조사하기 위하여 항응고제인 heparin-Na(Sigma, 100,000 units, 2.5mg/ml)을 처리한 complete blood cell count(CBC)병(녹십자사제)에 넣었으며 나머지는 혈청화학 성분 분석을 위한 혈청분리에 사용하기 위하여 항응고제를 처리하지 않은 CBC병에 넣었다. 혈청은 채혈한 혈액을 실온에 약 30분간 방치한 후 원심분리기에 넣어 3,000rpm으로 5분간 원심한 상청액이며, 분리한 혈청은 동결 보존시키고 채혈 후 5일 이내에 각종 분석에 사용하였다.

혈액성상 및 혈청화학 성분의 측정은 Fishes, as laboratory animals(1981)에 기재된 방법에 따라 실시하였다.

적혈구의 계수는 Hayem색액(Ishisu)으로 희석시킨 혈액을 Thoma 혈구계산반과 red cell pipet을 사용하여 측정하였으며, hemoglobin(Hb)은 cyanmethemoglobin법을, hematocrit(Ht)치는 모세관법에 의한 microhematocrit법을 이용하여 측정하였다. mean corpuscular volume(MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration(MCHC) 및 mean corpuscular hemoglobin(MCH)는 통상적으로 계산하는 방법으로 구하였다.

혈청화학 성분의 측정은 시관하는 아산제약(주)의 임상용 kit를 사용하여 total protein(T-P)은 biuret법으로, albumin(ALB)은 bromocresol green(BCG)법으로, serum glucose(GLU) 및 total cholesterol(T-CHO)은 효소법으로, 혈청트랜스아미나제인 glutamate oxaloacetate transaminase(GOT), glutamate pyruvate transaminase(GPT)는 Reitman-Frankel법으로, bilirubin(BIL)의 측정은 Michaelsson변법에 의한 alkaliazo bilirubin blue(AAB)법으로 측정하였다.

혈액지수의 통계분석은 T-test를 이용하여 대조구와 실험구 사이의 유의성을 검정하였다. 모든 지수의 비교는 $P=0.05$ 수준에서 실시하였다.

혈구의 크기 측정 및 형태학적 검사를 위한 혈액도말 표본은 Wright-Giemsa염색을 실시하였다.

결 과

1. 혈액성상지수의 경시적 변화

포도상구균종의 원인균을 접종한 넙치에 있어서 혈액성상지수의 경시적 변화는 표 1에서 보는바와 같다. 군 접종전의 적혈구수는 $256 \pm 18 \times 10^4/\text{mm}^3$ (이하 단위 생략)인 데 비하여 접종 24시간 후에는 273 ± 31 로 약간 상승하였으나 유의한 수준의 차를 나타내지 않았다. 이후 시간이 경과할 수록 점차 저하되어 96시간 후에는 99 ± 21 로 유의한 수준의 차($P < 0.05$)가 인정되었다. 헤모글로빈량의 경우도 군 접종전에는 $4.6 \pm 0.7\text{g/dl}$ 이었으나 시간이 경과함에 따라 점차 저하되어 96시간 후에는 $1.6 \pm 0.5\text{g/dl}$ 로 유의한 수준의 차($P < 0.05$)가 인정되었다. 헤마토크릿치는 군 접종전에는 $21.5 \pm 3.7\%$ 인데 비하여 접종 24시간 후에는 $19.2 \pm 3.3\%$ 로 유의한 수준의 차를 나타내지 않았다. 이후 시간이 경과함에 따라 점차 저하되어 96시간 후에는 $6.5 \pm 0.9\%$ 로 유의한 수준의 차($P < 0.05$)가 인정되었다. 평균 적혈구헤모글로빈농도는 접종전에는 $20.9 \pm 1.7\%$ 를 나타내었으나 24시간 후에는 $15.1 \pm 1.6\%$ 로 되었다가 48시간 후 부터는 약간 상승하여 72시간 후에는 $17.5 \pm 2.6\%$ 를 나타내었다가 96시간 후에는 $14.6 \pm 4.3\%$ 로 다시 저하하여 유의한 수준의 차($P < 0.05$)가 인정되었다. 평균적혈구용적의 경우, 유의성 검정을 실시한 결과 군 접종 24~96시간 후의 측정치는 대조구와 비교하여 유의한 수준의 차가 인정되지 않았다. 평균치만을 비교하여 보았을때, 평균적혈구용적은 접종 전에 $84 \pm 11\mu^3$ 를 나타내었으나 24시간 후에는 $70 \pm 19\mu^3$ 로 저하하였다가 48시간 후에는 다시 $78 \pm 10\mu^3$ 로 상승하였고 그 후로도 시간이 경과함에 따라 점차 증가하였다. 평균적혈구헤모글로빈량은 평균적혈구헤모글로빈농도와 같은 경향을 나타내었다.

2. 혈청화학지수의 경시적 변화

본 병의 원인균을 접종한 넙치에 있어서 혈청화학 지수의 경시적 변화는 표 2에서 보는 바와 같다. 군 접종전의 총단백은 $4.89 \pm 0.75\text{g/dl}$ 을 나타내었으나 시간이 경과함에 따라 점차 증가하여 48시간 후에는 14.14 ± 1.29

Table 3. Elapsed changes in erythrocyte size of artificially infected with cultured flounder, *Paralichthys olivaceus* inoculated with *S. epidermidis*.

| | Hours after inoculation | | | | |
|---------------------------------|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Erythrocyte | | | | | |
| Major diameter(μm) | 8.86 \pm 1.38* | 8.15 \pm 1.09 | 7.56 \pm 0.83 | 7.82 \pm 0.72 | 7.90 \pm 0.98 |
| Minor diameter(μm) | 4.91 \pm 0.58 | 4.84 \pm 0.66 | 5.23 \pm 0.93 | 5.68 \pm 0.58 | 5.86 \pm 0.79 |
| Ratio of major to minor | 1.80 | 1.68 | 1.42 | 1.38 | 1.35 |
| Nucleus of erythrocyte | | | | | |
| Major diameter(μm) | 3.59 \pm 0.51 | 3.69 \pm 0.54 | 3.11 \pm 0.48 | 3.16 \pm 0.45 | 3.50 \pm 0.72 |
| Minor diameter(μm) | 2.77 \pm 0.83 | 2.57 \pm 0.63 | 2.89 \pm 0.48 | 3.02 \pm 0.50 | 3.39 \pm 0.76 |
| Ratio of major to minor | 1.29 | 1.44 | 1.08 | 1.05 | 1.06 |

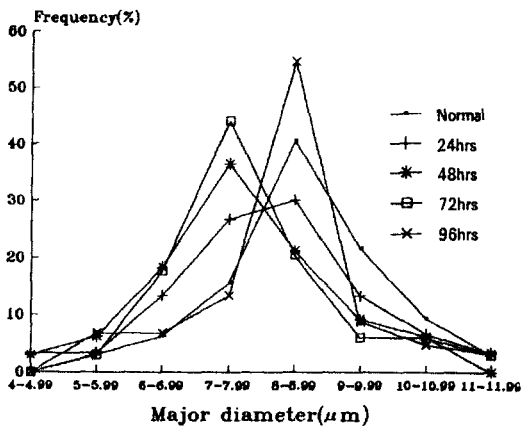


Fig. 1. Price-Jones curves of major diameter of erythrocytes on the cultured flounder *Paralichthys olivaceus* inoculated with *Staphylococcus epidermidis*.

로부린과 알부민도 총단백과 같은 경향을 나타내었다. 혈당은 균 접종전에 55 \pm 7mg/dl을 나타내었으나 시간이 경과함에 따라 점차 저하하였으며 96시간 후에는 14 \pm 10 mg/dl을 나타내었다. 총콜레스테롤은 접종 전에는 257 \pm 33mg/dl을 나타내었으나 시간이 경과함에 따라 점차 증가하여 72시간 후에는 654 \pm 60mg/dl을 나타내었다가 96 시간 후에는 345 \pm 32mg/dl로 저하하였다. 빌리루빈의 경우 균 접종 전에는 6.57 \pm 1.42mg/dl을 나타내었으나 48시간까지는 점차 저하하여 0.83 \pm 0.52mg/dl을 나타내었다. 그 후 점차 증가하여 96시간 후에는 5.00 \pm 1.62mg/dl을 나타내었다. GOT의 경우는 균 접종 전에는 53 \pm 6karmen unit를 나타내었으나 24시간 후에는 75 \pm 12karmen unit까지 증가하였고 그 후 시간이 경과함에 따라 저하하여 96시간 후에는 15 \pm 5karmen unit까지 저하하였다. GPT의 경우는 균 접종 전에 24 \pm 3karmen unit까지 저하하였다. GPT의 경우는 균 접종 전에 24 \pm 3karmen unit를 나타내었으나 시간이 경과함에 따라 점차 저하하

g/dl로 최고치를 나타내었다. 그리고 72시간 후에는 10.71 \pm 1.21g/dl로 저하하였다가 그 후 다시 증가하였다. 글

여 96시간 후에는 11 ± 5 karmen unit를 나타내었다. 유의성 검정을 실시한 결과 균 접종 24시간 후의 총콜레스테롤과 균접종 96시간 후의 빌리루빈은 대조구와 비교하여 유의한 수준의 차를 나타내지 않았으나 그 외의 혈청화학지수의 변화는 유의한 수준의 차($P < 0.05$)가 인정되었다.

3. 적혈구와 혈액 형태 및 크기의 경시적 변화

균 접종 전 적혈구의 형태는 대부분 장타원형이었으며 (Plate. 1), 균 접종 24시간 후에는 타원형의 적혈구도 많았으나 점차 등골어지는 혈구가 보이기 시작하였으며 세포질이 파괴되어 핵이 용출되려는 혈구도 보였다 (Plate. 3), 48시간 후에는 백혈구성 세포인 임파구와 호산구가 나타났으며 정상혈구와 같은 장타원형의 혈구는 보이지 않았고 유약 적혈구가 나타났다. (Plate. 4, 5), 접종 72시간 후에는 호중구의 출현이 많았으며 붕괴직전의 팽윤화된 적혈구가 많았고 일부는 파괴되어 핵이 용출된 것도 보였다 (Plate. 6, 7).

적혈구와 핵 크기의 경시적 변화는 표 3과 그림 1~그림 4에서 보는 바와 같다. 균 접종 전 적혈구의 장경은 $8.86 \pm 1.38 \mu\text{m}$ 이었는데 비해 균 접종 후에는 짧아지는 경향을 보였다. 특히 48시간 후에는 $7.56 \pm 0.83 \mu\text{m}$ 로 가장 짧아졌다. 그림 1에서 보는 바와 같이 그래프의 정점이 좌방이행되어 있어 장경이 짧아지는 경향임을 알 수 있다. 또한 접종 전 적혈구의 단경은 $4.91 \pm 0.58 \mu\text{m}$ 인데 비하여 96시간 후에는 $5.86 \pm 0.79 \mu\text{m}$ 로 긴 것이 많았고 또, Fig. 2와 같이 정점이 우방이행되어 단경이 길어짐을 알 수 있었다. 균 접종 전에 있어 장경과 단경의 비는 1.80이었는데 비해 접종후에는 시간이 경과할수록 그 비가 작아지는 경향을 보였다(표 3). 한편, 균 접종전 핵의 장경은 $3.59 \pm 0.51 \mu\text{m}$ 인데 비하여 24시간 후에는 약간 길어졌다가 48, 72시간후에는 다시 짧아지는 경향을 보였고 96시간 후에는 다시 $3.50 \pm 0.72 \mu\text{m}$ 로 길어졌다. 그림 3에서 보는 바와 같이 24, 48 시간 후에는 비교적 핵의 장경이 일정함을 보였으나 72, 96시간 후에는 핵장경의 길고 짧음이 심하였다. 균 접종 전 핵의 단경은 $2.77 \pm 0.83 \mu\text{m}$ 인데 비하여 24시간 후에는 조금 짧아졌다가 시

간이 경과할수록 길어져서 96시간 후에는 $3.39 \pm 0.76 \mu\text{m}$ 로 가장 길게 되었다. 그림 4에서와 같이 그래프의 정점이 우방이행되어 시간이 경과함에 따라 핵의 단경이 길어짐을 알 수 있었다. 또 균 접종 전에 있어서 핵 단경과 장경의 비는 1.29이었는데 비해 24시간 후에는 1.44를 나타내었으나 시간이 경과할수록 점차 그 비는 작아졌다.

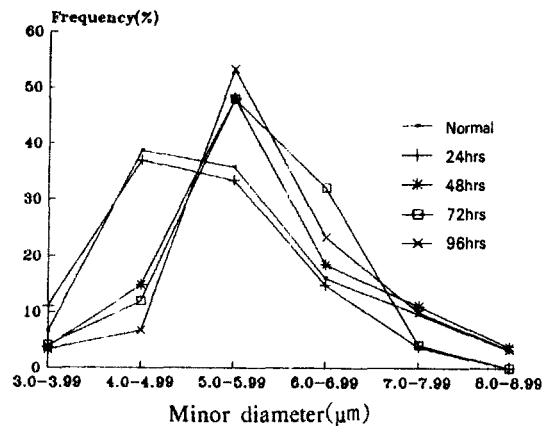


Fig. 2. Frequency distribution of minor diameter of erythrocytes on the cultured flounder *Paralichthys olivaceus* inoculated with *Staphylococcus epidermidis*.

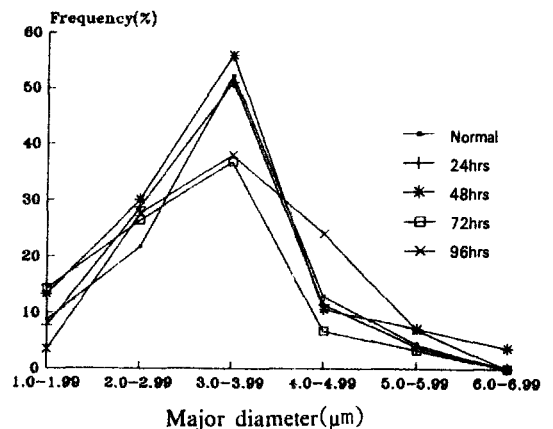


Fig. 3 Frequency distribution of major diameter of nuclei on the cultured flounder *Paralichthys olivaceus* inoculated with *Staphylococcus epidermidis*.

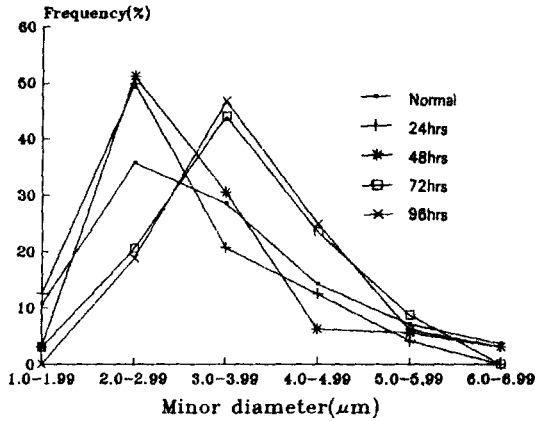


Fig. 4 Frequency distribution of minor diameter of nuclei on the cultured flounder *Paralichthys olivaceus* inoculated with *Staphylococcus epidermidis*.

고찰

병원성 세균을 어류에 인위감염 시키는 실험의 경우 방어의 노카르디아증에서 성숙적혈구의 수와 헤모글로빈량이 시간이 경과함에 따라 약간 저하하였으며(Ikeda et al., 1976), amago salmon의 절창병에서도 적혈구수, 헤모글로빈량 및 헤마토크릿치가 저하하였고(Morikawa et al., 1981), 잉어과 어류의 에로모나스병에서도 적혈구수, 헤모글로빈량 및 헤마토크릿치가 저하하였다(Takahashi, 1984). 또한 양식 이스라엘 잉어의 연쇄구균증과 에드워드병에서도 적혈구수, 헤모글로빈량 및 헤마토크릿치가 저하하였다(Chun and Oh, 1989)고 하였다. 이 같은 보고들과 비교하여 볼 때 본 연구의 인위감염 실험의 결과도 상기의 여러 보고들과 잘 일치하였으며, 세균성 질병에 감염될 경우 적혈구수, 헤모글로빈량 및 헤마토크릿치의 저하하는 빈혈증상이 나타나는 것이 아닌가 추정되었다. 또 본 연구에서 24시간 후에 적혈구수가 일시적으로 증가한 것은 유약적혈구의 수가 증가한 결과로 생각되며 평균적혈구헤모글로빈농도의 저하, 평균적혈구용적의 저하 및 평균적혈구헤모글로빈량의 저하로 저색소성 소혈구성 빈혈이 나타났다. 그러나 48시

간 이후에는 평균적혈구용적은 오히려 증가하여 저색소성 대혈구성 빈혈이 나타났다. 이같은 결과는 자연감염어가 저색소성 대혈구성 빈혈을 나타내는 것과 일치하였다.

본 연구에서 혈청화학성분이 변화한 결과는 인위적인 감염실험에 있어 방어의 노카르디아증의 경우 총단백, 알부민, 글로부린이 시간이 경과함에 따라 증가하였다는 Ikeda등(1976)의 보고와, 방어의 연쇄구균증의 경우 총단백, 알부민, 글로부린은 증가하였고 혈당치, GOT 및 GPT도 감소하였다는 Ikeda와 Minami(1982)의 보고와 잘 일치하였다. 또한 인위감염시킨 잉어의 에드워드 병에서도 혈당치는 감소하였다는 Chun과 Oh(1989)의 보고와, 무지개 송어와 대서양 연어에 *Renibacterium salmoninarum*을 인위감염 시켰을 경우 시간의 경과에 따라 총단백은 감소하였고, 총콜레스테롤은 증가하였다가 감소하였으며, 빌리루빈은 감소하였다가 증가하였다는 Bruno(1986)의 보고와 본 연구의 결과를 비교하여 보면 총단백에서만 상반된 결과를 보였을 뿐 다른 결과들은 일치하였다. 또한 본 연구결과는 전격성 간염에 의하여 혈청트란스아미나제가 급격히 저하하고 신장에 이상이 있을 시 초기에 콜레스테롤의 함성이 향진되며, 안구의 이상, 용혈성 빈혈시 콜레스테롤이 저하한다는 Yi와 Kim(1988)의 보고와도 잘 일치하였다. 본 연구결과중 총단백량의 증가는 혈구의 붕괴나 조직의 괴사부위로부터 단백질의 흡수에 의해 혈청중의 단백질량이 증가한 것으로 추정되었으며 혈청트란스아미나제가 급격히 저하한 것은 간세포의 광범위한 위축 및 괴사에 의한 것으로 추정되었다. 또 혈당의 감소는 에너지원으로 간에 저장되어 있는 글리코겐이 혈당으로 전환되어 소모되었기 때문으로 추정되었으며 48시간후 빌리루빈의 증가는 간의 병변이 지속됨에 따라 나타나는 현상으로 추정되었다.

적혈구 크기의 분포에서 용혈성 빈혈은 Price-Jones 곡선이 좌방으로 이행된다고 한 Lee와 Chong(1975)의 기재와 그림 1에서 보는 바와 같이 본 연구결과에서도 정점이 좌방으로 이행되었기에 본 병의 빈혈은 용혈성 빈혈이 아닌가 하고 생각하였다. 또 본병의 인위감염 초

Table 1. Changes in hematological conditions of artificially infected with cultured flounder, *Paralichthys olivaceus* inoculated with *S. epidermidis*.

| | Hours after inoculation | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Fish numbers | 10 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Body composition | | | | | |
| Total length(cm) | 31.2± 4.5* | 26.5± 5.6 | 29.3± 6.8 | 26.5± 5.5 | 28.8± 4.4 |
| Body weight(g) | 320± 102 | 315± 58 | 300± 57 | 230± 58 | 245± 85 |
| Hematological condition | | | | | |
| RBC($\times 10^4/\text{mm}^3$) | 256± 18 | 273± 31 ^{ns} | 177± 18 | 160± 16 | 99± 21 |
| Hb(g/dl) | 4.6± 0.7 | 2.9± 0.5 | 2.3± 0.4 | 2.3± 0.6 | 1.6± 0.5 |
| Ht(%) | 21.5± 3.7 | 19.2± 3.3 ^{ns} | 13.8± 2.1 | 10.7± 2.9 | 6.5± 0.9 |
| MCHC(%) | 20.9± 1.7 | 15.1± 1.6 | 16.7± 1.0 | 17.5± 2.6 | 14.6± 4.3 |
| MCV(μ^3) | 84± 11 | 70± 19 ^{ns} | 78± 10 ^{ns} | 87± 15 ^{ns} | 86± 9 ^{ns} |
| MCH(pg) | 17.7± 2.3 | 10.6± 1.5 | 12.9± 3.9 | 16.4± 3.4 ^{ns} | 14.2± 3.6 ^{ns} |

Mean values of elapsed changes of hematological conditions in the fish that differ significantly(T-test, $p < 0.05$) from control. ns : not significant($p > 0.05$). *MEAN± S.D..

Table 2. Changes in serum chemical constituents of artificially infected with cultured flounder, *Paralichthys olivaceus* inoculated with *S. epidermidis*.

| | Hours after inoculation | | | | |
|----------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------|-------------|--------------------------|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Fish numbers | 10 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Body composition | | | | | |
| Total length(cm) | 31.2± 4.5* | 26.5± 5.6 | 29.3± 6.8 | 26.5± 5.5 | 28.8± 4.4 |
| Body weight(g) | 320± 102 | 315± 58 | 300± 57 | 230± 58 | 245± 85 |
| Serum chemical constituent | | | | | |
| T-P(g/dl) | 4.89± 0.75 | 7.71± 0.72 | 14.14± 1.29 | 10.71± 1.21 | 12.80± 0.93 |
| ALB(g/dl) | 1.21± 0.29 | 1.61± 0.34 | 2.63± 0.25 | 2.49± 0.38 | 3.51± 0.34 |
| GLO(g/dl) | 3.67± 0.63 | 5.80± 0.38 | 12.51± 0.93 | 8.24± 0.83 | 8.53± 0.95 |
| GLU(mg/dl) | 55± 7 | 34± 9 | 24± 6 | 19± 7 | 14± 10 |
| T-CHO(mg/dl) | 257± 33 | 292± 41 ^{ns} | 554± 43 | 654± 60 | 346± 32 |
| BIL(mg/dl) | 6.57± 1.42 | 2.50± 0.88 | 0.83± 0.52 | 3.33± 0.95 | 5.00± 1.62 ^{ns} |
| GOT(karmen) | 53± 6 | 75± 12 | 25± 9 | 20± 5 | 15± 5 |
| GPT(karmen) | 24± 3 | 19± 4 | 16± 5 | 19± 2 | 11± 5 |

Mean values of elapsed changes in serum chemical constituents in the fish that differ significantly(T-test, $p < 0.05$) from control. ns : not significant($p > 0.05$). *MEAN± S.D..

기증상에 발현되는 빈혈증상은 여러 혈액성상 지수와 비교하여 저색소성 소혈구성빈혈로 판단되며 증상의 진행에 따라 저색소성 대혈구성빈혈로 이행되어 가는 것으로 생각되었다.

어류에 있어서 신장 및 비장등의 조혈세포에 이상을 주는 감염증에서는 뚜렷한 빈혈증상이 일어난다는 것은 이미 밝혀 진 바 있다(日本農林水産技術會議事務局, 1980). 본 병의 자연감염여 및 인위감염어의 경우 병 증상이 진행됨에 따라 신장, 비장의 조혈기관에 균의 침습에 의해 괴사가 일어났다. 따라서 본 병의 빈혈원인의 하나는 조혈기능의 쇠퇴로 생각한다. 한편, 여러가지 세균이 용혈독을 생산한다고 알려져 있다(小山, 1964; 加藤, 1964). 전술한 바와 같이 본 병의 원인균이 용혈성을 가지고 있기 때문에 빈혈의 두번째 원인은 세균의 독소에 의한 용혈로 추정된다. 따라서 본 병에서 나타난 빈혈증상의 발현기구는 혈액중에 침입한 균이 생산하는 독소에 의해 적혈구의 용혈과 신장 및 비장조직의 괴사 등에 의한 조혈기능의 저하인 것으로 추정되었다.

참 고 문 헌

- Bruno, D. W. : Changes in serum parameters of rainbow trout, *Salmo gairdneri* infected with *Renibacterium salmoninarum*. J. Fish Dis., 9, 205~211., 1986.
- Chun, S. K. and M. J. Oh : Health assessment by hematological studies and blood chemistries in cultured carps. J. Fish Pathol., 2(1), 19~30., 1989.
- Egami, N. : Fishes. as laboratory animals. SOFT SCIENCE, INC., Tokyo, 228~242., 1981.
- Ikeda, Y., H. Ozaki, K. Hayama, S. Ikeda and T. Minami : Diagnostic study on blood constituents in the yellowtail inoculated with *Nocardia kampachi*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 42(9), 1055~1064., 1976.
- Ikeda, Y. and T. Minami : Hematological and hemiochemical assessment on streptococcal infection in cultured yellowtail. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 48(10), 1383~1388., 1982.
- Lee, S. Y. and Y. S. Chong : Laboratory methods in clinical pathology(4th Ed.). Yonsei Univ. Press, Seoul, Korea, 88~89., 1984.
- Morikawa, S., S. Miki and F. Tashiro : Changes in hematological pro-perties and viable cell number of bacteria in amago salmon artificially infected with *Aeromonas salmonicida*. Fish Pathol., 16(1), 43~49., 1981.
- Sim, D. S. : Studies on the staphylococcia of the cultured flounder, *Paralichthys olivaceus* infected with *Staphylococcus epidermidis*. ph. D. Thesis of Kyung-sung Univ., Pusan, Korea, 120pp., 1992.
- Takahashi, Y. : Studies on the aeromonas disease of cyprinids. J. Shimonoseki Univ., Japan, 33(1), 37~112., 1984.
- Yi, K. N. and J. Q. Kim : Clinical chemistry(1st Ed.). EUIHAK MUNWHASA Co., Seoul, Korea, 156~161., 1988.
- 加藤 殿 : 菌體外毒素の化學構造と機能. 蛋白質・核酸・酵素, 9, 697~707., 1964.
- 小山次郎 : 溶血性レンサ球菌とブドウ球菌の毒素. 蛋白質・核酸・酵素, 9, 708~715., 1964.
- 日本農林水産技術會議事務局 : 養殖漁における疾病の豫防に關する. 研究成果 128, 東京, 8~82., 1980.

Changes in Blood Parameters of the Cultured Flounder *Paralichthys olivaceus* Artificially Infected with *Staphylococcus epidermidis*

Doo-Saing SIM, Sung-Hee JUNG*, Hyung-Sook PARK** and She-Kyu CHUN***

Aquaculture Division South Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research & Development Agency Cheon Nam 550-120, Korea.

**Pathology Division National Fisheries Research & Development Agency Kyoung Nam 626-900, Korea.*

***Department of Biology Kyungsoong University, Pusan 608-022, Korea.*

****Korea Fish Pathology Institute, Pusan 608-737, Korea.*

The cultured flounder (*Paralichthys olivaceus*) was injected with *Staphylococcus epidermidis*. various hematological and blood chemical changes were monitored over 96 hours.

Red blood cell count, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular hemoglobin concentration and mean corpuscular hemoglobin were significantly depressed after 24 to 48 hours.

Total protein, albumin, globulin and total cholesterol were significantly increased by the 24 or 48 hours. Glucose, bilirubin and transaminase were significantly depressed by 24 to 48 hours.

Erythrocytes were gotten shorter with round-shaped after 48 hours inoculated with *S. epidermidis*. Hemolytic erythrocytes and neutrophils were showed after 72 hours inoculated with *S. epidermidis*.

Price-Jones curve was transformed for left shift after 48 hours inoculated with *S. epidermidis*, therefore staphylococci appeared hemolytic anemia in the artificial infection.

Explanation of plate

1. Microphotograph from Wright-Giemsa's staining of the elliptic erythrocytes in the normal flounder. $\times 1,000$. Bar : $6\mu\text{m}$.
2. Microphotograph from Wright-Giemsa's staining of the erythrocytes in the diseased flounder. Hemolytic erythrocytes and cocci were showed. $\times 1,000$. Bar : $6\mu\text{m}$.
3. Microphotograph from Wright-Giemsa's staining of the erythrocytes, 24 hrs after inoculation with *S. epidermidis* in flounder. Erythrocytes were gotten a little shorter. Elution nucleus was showed. $\times 1,000$. Bar : $6\mu\text{m}$.
- 4, 5. Microphotograph from Wright-Giemsa's staining of the erythrocytes, 48 hrs after inoculating with *S. epidermidis*. Erythrocytes were gotten shorter with round-shaped. Lymphocyte and eosinophil were showed. $\times 1,000$. Bar : $6\mu\text{m}$.
- 6, 7. Microphotograph from Wright-Giemsa's staining of the erythrocytes, 72 hrs after inoculating with *S. epidermidis*. Nuclei and erythrocytes were swelled. Hemolytic erythrocytes and neutrophil were showed. $\times 1,000$. Bar : $6\mu\text{m}$.

Plate