

남해안 양식산 농어, *Lateoabrax japonicus* 치어에서 분리한 병원성 *Staphylococcus epidermidis*에 관한 연구

차용백 · 양한춘* · 최상덕 · 조재권*

국립수산진흥원 남해수산연구소

*여수수산대학교 양식학과

양식 농어 치어에 발생하는 포도상구균종의 원인균에 대한 생화학적 성상, 생물학적 성상, 약제 감수성 및 병원성을 검토하였다. 병어의 간, 신장, 비장 및 뇌로부터 원인균을 분리하였으며, 생물학적 생화학적 성상을 조사한 결과 본 균을 *Staphylococcus epidermidis*로 동정하였다. *S. epidermidis*에 감염된 농어 치어의 외부 소견은 안구 충혈 및 백탁이 주증상이었고, 해부학적 소견은 뇌출혈, 간출혈, 신장 및 비장의 팽대가 특징적였다. 분리균주는 BHIA, HIA 및 *Staphylococcus* No. 110에서 잘 발육하였으며, 식염 농도 0~9% (최적 염분; 1~3%), 10~45°C (최적 온도; 35~40°C) 및 pH 4~10 (최적 pH; 8)에서 발육하였다. DNase, coagulase에는 모든 균주가 음성였으며, 용혈성은 양성을 나타내었고, urease 양성, novobiocin 저항성에는 음성을 나타내었다. 모든 균주는 탄수화물 분해시 가스를 생성하지 않았고 혐기적 조건하에서 포도당과 maltose를 분해했다. 호기적 조건하에서 모든 균주는 포도당, galactose, sucrose, maltose 및 dextrin을 분해하였다. 1.7×10^{10} viable cells/ml를 근육 주사한 실험구에서는 모든 접종어에 강한 병원성을 나타내었으나, 1.7×10^4 viable cells/ml를 접종한 실험구에서는 약한 병원성이 나타났다. 분리균은 bacitracin, erythromycin, norfloxacin 등에 감수성을 나타냈으나, colistin, gentamicin, nalidixic acid 등에는 내성을 나타냈다. 병어의 병리조직학적 관찰 결과 뇌의 소상 울혈, 간 실질세포의 퇴행성 병변 및 신장 조직에서 노세관 상피세포의 분리와 괴사가 나타났다.

Key words : Sea bass, *Lateoabrax japonicus*, Pathogenic *Staphylococcus epidermidis*, Histopathology

농어는 농어목(Perciformes), 농어과(Percichthyidae)에 속하는 어류로서 우리 나라 연안에는 농어, *Lateoabrax japonicus*와 넓치농어, *L. latus*의 2종이 보고되어 있다(Chyung, 1977). 이 중 농어는 체 표면에 산재하는 점의 유무에 따라 점농어와 민농어의 두가지 형태로 나누어지고 있다(Yokogawa and Seki, 1995; Yokogawa and Tajima, 1996). 점농어는 민농어에 비해 성장이 빠르며, 겨울철 저수온기에도 성장이 가능하여 우리나라 서, 남해안의 주요 양식 대상 어종으로 각광을 받고 있다.

지금까지 농어 양식용 종묘는 대부분 자연산 치어 채포에 의존하고 있으나, 최근 연안 환경오염과 과도한 어획에 의한 연근해 어족 자원의 감소로 종묘의 안정적인 확보가 어려운 실정이다. 이러한 점을 감안할 때 인공 종묘 생산에 의한 종묘의 안정적인 공급은 농어 양식에 있어 무엇보다도 선결되어야 할 과제이다. 따라서 1990년대에 국립수산진흥원 종묘배양장 및 민간배양장에서 농어의 종묘 생산이 활발히 이루어지고 있다. 그런데 육상에서 대량으로 종묘 생산이 이루어짐에 따라, 고밀도 사육

2 남해안 양식산 농어, *Lateobrax japonicus* 치어에서 분리한 병원성 *Staphylococcus epidermidis*에 관한 연구

등에 의하여 여러가지 병원성 질병(기생충, 세균 및 바이러스 등)에 감염되기 쉽다(전, 1985).

최근 남해안 일부 종묘배양장에서 생산하여, 가두리 입식을 앞두고 가온 사육 중인 점농어 종묘에서 체색흑화, 안구의 충혈 및 백탁, 뇌의 출혈, 간의 출혈, 신장과 비장의 비대 그리고 묽은 점액성 복수의 저류를 주 특징으로 하는 질병에 의하여 다수가 폐사하였다. 병어의 병소 및 내부 장기로부터 그람 양성, 포도상구균이 다수 검출되었고, 분리된 균주에 의하여 재감염 시험에서도 자연 감염어와 같은 증상이 나타났으며, 인위감염어의 신장, 간, 비장 및 뇌에서 점종균이 재 분리되는 등 본 질병은 일종의 포도상구균에 의한 감염으로 추정되었다.

어류에서 분리한 포도상구균에 대하여는 일본의 楠田·杉山(1981)가 방어와 참돔에서 분리한 *S. epidermidis*의 세균학적 성상에 관한 연구, 杉山 楠田(1981¹⁾)가 각종 어류에서 분리한 *S. epidermidis* 균주에 대한 혈청학적 특성에 관한 연구, 그리고 杉山·楠田(1981²⁾)의 어류에서 분리된 *S. epidermidis*에 대한 어류 및 인간의 혈청학적 비교연구 등이 있다. 국내에서는 심 등(1994)의 넙치의 포도상구균증에 관한 연구가 있을 뿐, 국내외적으로 농어의 포도상구균증에 관한 연구는 전무한 실정이다.

본 연구는 최근 남해안 일부 종묘배양장에서 농어 치어의 대량 폐사를 가져왔던 포도상구균증의 원인균의 생물학적 생화학적 성상, 병원성 및 약제 감수성 등의 특성을 구명함으로써 안정적 종묘 생산 및 양성에 기초자료가 되고자 하는데 목적이 있다.

재료 및 방법

세균의 분리

본 실험에 사용한 농어 치어는 전남 여천군 관내 종묘배양장에서 1996년 2월에 채집한 것이다. 채집당시 실험어의 체장은 10cm 전후이었고, 병어는 체색흑화, 안구의 충혈 및 백탁, 뇌의 출혈, 간의

출혈, 신장과 비장의 비대 그리고 묽은 점액성 복수의 저류를 주 특징으로 하는 질병에 의하여 다수가 폐사하였다.

세균의 분리는 실험어를 무균적으로 해부한 후 신장, 간, 비장, 안구, 혈액 및 뇌 부위를 세균 분리용 시료로 사용했다. 이 시료는 2% 식염첨가 NA(nutrient agar, Difco), TSA(trypsin soy agar, Difco) 및 BHIA(brain heart infusion agar, Difco)배지에 도말 하여 35°C에서 24시간 배양하여 분리하였다.

발병의 재현 시험

재현성 시험은 분리된 균주를 선택하여 실시하였다. BHIA에 35°C에서 24시간 배양한 균을 0.85% 식염수에 현탁시켜, 건강한 농어(평균 체중 15±5g)에 체중 100g당 10⁶ viable cells/ml를 등지러미 및 근육에 접종하여 FRP수조(300 L)에 수용하고, 수온 24°C±1.0°C에서 7일간 사육하면서 폐사 유무 및 외관 증상을 매일 확인하였다. 대조구는 0.85% 멸균 식염수를 0.1 ml씩을 등지러미 및 근육에 주사하였다. 발현어와 폐사어는 해부하여, 병변을 관찰함과 함께 신장, 간, 비장 및 뇌에서 점종균의 재 분리를 시도하였다.

생화학적 성상 시험

Indole시험 외 16가지 성상을, Cowan and Steel's Manual for the identification of medical bacteria (Cowan, 1974), Biochemical tests for identification of medical bacteria(MaC Faddin, 1990), Manual of methods for general bacteriology(Gerhardt *et al.*, 1981), Bergey's Manual of systematic bacteriology(Sneath *et al.*, 1986)에 기재된 방법에 따라 실시하였다.

생물학적 성상 시험

재현성이 확인된 농어 치어로부터 균주를 재분리하여 각종 생물학적 성상을 조사하였다. 균주는

2% 식염첨가 BHIA 사면 배지와 BHI broth에서 35°C, 24시간 동안 배양한 후 Gram 염색(Hucker의 방법 및 Ryu의 방법)하여 형태와 크기를 관찰하고, 운동성 및 색소 생산에 대하여 조사하였다.

배지의 종류에 따른 발육 시험은 2% 식염첨가 BHIA 평판 배지에서 35°C, 24시간 동안 배양한 균을 각종 배지에 도말 하고, 37°C에 3일간 배양하여 발육 여부와 정도를 관찰하였다.

발육에 미치는 식염농도, 온도 및 pH의 영향 실험은 1% peptone수를 기초배지로 하였고, 각 균주를 접종한 후 37°C에서, 24시간 배양하여, 630 nm에서 흡광도를 측정하여 발육 정도를 조사하였다. 식염 농도는 0~9%의 10단계로 조정하여, 균주에 따른 발육성의 차이를 관찰하였다. 온도별 발육 시험은 2% 식염 첨가한 기초배지에 균액을 0.1 ml씩 접종한 후, 온도를 10~50°C 범위에서 9단계로 조정한 후 발육성의 차이를 관찰하였다. pH 영향에 관한 시험은 2% 식염을 첨가한 기초배지의 pH를 4~10으로 조정하여 균액 0.1 ml를 접종한 후 균발육성을 관찰하였다.

병원성 시험

병원성 시험은 재현성이 확인된 균주중 한 균주를 BHIA 배지에서 35°C, 24시간 배양한 후, 주사균액을 건강한 농어 치어(평균 체중 20±5 g 1병원성 균주당 5마리)에 체중 100 g당 균접종량 10⁴~10¹⁰ viable cells를 등지느러미 밑 근육에 접종하여, 7일 이내의 시간별 폐사어를 조사하였다. 시험어는 FRP수조에 수용하여 사육하였으며, 이때의 수온은 24°C±1.0°C 이었다.

약제 감수성 시험

2% 식염첨가 BHIA 배지에서 35°C, 24시간 배양한 균(1백금이 용량)을 멸균 생리식염수 3 ml에 현탁시켜, 균액 0.1 ml씩을 BHIA 평판 배지에 conradi 봉으로 끌고루 도말하여 상법에 따라 chlorampheni-

col의 29종의 약제디스크(BBL)를 얹어서 35°C에서 24시간 배양한 후 발육 저지원의 직경을 측정하였다.

병리조직학적 관찰

자연 발병어를 해부하여 각 장기를 Bouin액에 고정 한 후, 상법에 따라 4 μm 절편을 만들어 hematoxylin-eosin으로 염색하여 관찰하였다.

결 과

세균의 분리

병어(농어 치어)의 간과 신장 등 각 기관으로부터 원인균으로 추정되는 주연이 원활하며 중앙부가 불룩한 백색의 집락균을 얻었다(Table 1).

발병의 재현

Table 1의 3균주를 사용하여 재현성 실험을 실시한 결과는 Table 2와 같다. 분리 균주 모두 60~80%의 폐사율을 나타내었으며, 폐사한 농어치어의 치사 시간은 균 접종 후 98~130시간이었다. 폐사어는 안구 충혈 백탁, 뇌출혈, 간 울혈, 신장과 비장의 비대를 보였고, 뭍은 점액성의 복수 저류도 보여 자연 감염어와 같은 증상을 나타내었다(Plate 1-①, ②). 또한 폐사어의 뇌, 비장, 신장 및 간 등에서 접종균과 동일한 특징의 세균이 재분리되었다. 따라서 농어치어에서 분리된 포도상구균을 원인균으로 추정하였다.

생화학적 성상

분리 균주의 생화학적 성상은 Table 3에서 표시한 바와 같이 catalase에 양성, cytochrom oxidase에 음성이었으며 포도당을 발효적으로 분해하였으나 indole은 생산하지 않았다. 어느 균주도 황화수소와 가스를 생산하지 않았으며, Kligler's iron agar (KIA)에 산을 생산하였다. Arginine가수분해는 양성, gel-

4 남해안 양식산 농어, *Lateolabrax japonicus* 치어에서 분리한 병원성 *Staphylococcus epidermidis*에 관한 연구

Table 1. Sources of the present isolated strains from diseased fingerling of sea bass, *Lateolabrax japonicus*

Strain	Date	Location	Body length(cm)	Total weight(g)	Organ
LS-1	2/24/96	Yochongun	7.2	10.5	Spleen
LK-2	2/25/96	〃	7.0	10.1	Kidney
LB-3	〃	〃	7.7	11.4	Brain
LL-4	〃	〃	〃	〃	Liver

Table 2. Pathogenicity of the isolated strains to cultured fingerling of sea bass, *Lateolabrax japonicus* (10^9 viable cells/100g B.W. with intraperitoneal or intramuscular injection)

Strain	Fish numbers (died/tested)	Mortality (%)	Average time to death(hrs)
LS-1	7/10	70	130
LK-2	6/10	60	125
LB-3	8/10	80	98
Control	0/10	0	0

Table 3. Biochemical characteristics of the present isolates

Characteristics	Present isolates			Characteristics	Present isolates		
	LS-1	LK-2	LB-3		LS-1	LK-2	LB-3
Catalase	+	+	+	Phosphatase	+	+	+
Cytochrom oxidase	-	-	-	Coagulase(rabbit)	-	-	-
OF test	F	F	F	Hydrolysis of :			
Indol	-	-	-	Arginine	+	+	+
H ₂ S production	-	-	-	Gelatin	-	-	-
KIA :	A/A	A/A	A/A	Starch	-	-	-
Gas production	-	-	-	Casein	+ ^w	+ ^w	+ ^w
MIR test	-	-	-	Urease	+	+	+
VP reaction	+	+	+ ^w	β-Galactosidase	-	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	Novobiocin resist	-	-	-
DNase	-	-	-	Hemolysis(sheep)	+	+	+

F : Fermentation, W : Week reaction, A : Acid production

atin과 starch는 음성, casein분해는 약한 양성을 보였다. Hemolysis(sheep)용혈성, 질산염 환원성, 요소분해성 시험에서는 양성을 나타냈으며, Vogus-Proskauer(VP)에 LK-2주는 양성, 나머지 2균주는 약한 양성을 보였다. Methyl red(MR), deoxyribonuclease(DNase), coagulase(rabbit) 반응, β-galactosidase, Novobiocin resist 시험은 음성이었다.

공시균주의 각종 탄수화물 분해능은 Table 4에 표시한 바와 같다. 혐기적 조건에서 포도당, lactose 및 maltose는 분해하여 산을 생성하였으나, mannitol은 분해하지 못하였다. 호기적 조건에서는 glucose, mannose, galactose, maltose, trehalose, sucrose, dextrin, turanose, fructose, melezitose, fructin은 강하게, mannitol은 약하게 분해하여 산을

생성하였다. 그러나, arabinose 등 9종의 탄수화물로부터는 산이 생성되지 않았다.

생물학적 성상

BHI 한천평판배지에 접종하여 35°C, 24시간 배양후 집락의 형태는 주연이 원활하였고 집락의 크기는 직경 1~4 mm내외로 중심부가 약간 융기된 백색이었다. 현미경하에서 균의 형태를 살펴보면, 분리균은 Gram양성의 비운동성으로 직경 0.6~1.5 µm인 단구, 쌍구 및 포도상구균의 형태로 배열된 구균이었다.(Plate 1-③).

각종 배지에서의 발육은 Table 5에 표시한 것처럼 공시균주는 BHIA, HIA, TSA, NA *Staphylococcus* No. 110(日水)에서는 잘 발육하였으나, bromthymol blue teepol agar, MacConkey agar, Simmon's citrate에는 발육하지 않았다. 또한 0~3% 식염첨가 NA에서는 잘 발육하였으나, 10% 식염첨가 NA에

서는 약하게 발육하였으며, 15% NA에서는 발육하지 못하였다. 10%와 40% bile heart infusion agar에서는 약하게 발육하였다.

pH, 염분농도, 온도가 시험균주의 발육에 미치는 영향은 Fig. 1, Fig. 2 및 Fig. 3에 각각 표시하였다. 온도 구간별 발육에 있어서 15~45°C에 발육하였으며, 최적 발육 온도는 35~40°C이었다. 식염 농도에서는 0~9%에 발육하였고, 최적 발육 식염 농도는 1~3%이었다. 또한 pH조건에 있어서도 4~10에서 발육하였으며, 최적 발육 pH는 8.0 전후이었다.

병원성

병원성 실험은 Table 6에 표시한 바와 같이 1.7×10¹⁰ viable cells/ml를 근육 주사한 실험구에서는 4일만에 모든 개체가 폐사하였고, 1.7×10⁸ viable cells/ml를 접종한 실험구에서는 5.5일만에 80%가,

Table 4. Carbohydrate utilization of the present isolates

Characteristics	Present isolates			Characteristics	Present isolates		
	LS-1	LK-2	LB-3		LS-1	LK-2	LB-3
Acid from (anaerobically) :				Acid from (aerobically) :			
Glucose	+	+	+	Trehalose	+	+	+
Lactose	+	+	+ ^W	Melibiose	-	-	-
Maltose	+	+	+	Sucrose	+	+	+
Mannitol	-	-	-	Dextrin	+	+	+
Acid from (aerobically) :				Salicin	-	-	-
Glucose	+	+	+	Esculin	-	-	-
Arabinose	-	-	-	Mannitol	+ ^W	+ ^W	+ ^W
Rhamnose	-	-	-	Turanose	+	+	+
Xylose	-	-	-	Fructose	+	+	+
Mannose	+	+	+	Melezitose	+	+	+
Galactose	+	+	+	Xylitol	-	-	-
Lactose	-	-	-	Fucose	-	-	-
Maltose	+	+	+	Fructin	+	+	+
				Cellobiose	-	-	-

W : Week reaction

6 남해안 양식산 농어, *Lateolabrax japonicus* 치어에서 분리한 병원성 *Staphylococcus epidermidis*에 관한 연구

Table 5. Growth of the present isolates from diseased fingerling of sea bass, *Lateolabrax japonicus* on various cultural conditions

Characteristics	Present isolates			Characteristics	Present isolates		
	LS-1	LK-2	LB-3		LS-1	LK-2	LB-1
Gram stain	+	+	+	MacConkey agar	-	-	-
Motility	-	-	-	Simmon's citrate	-	-	-
Growth on :				0% NaCl NA	+	+	+
BHI agar	+	+	+	2% NaCl	+	+	+
HI agar	+	+	+	3% NaCl	+	+	+
TS agar	+	+	+	10% NaCl	+ ^W	+ [*]	+
Nutrient agar	+	+	+	15% NaCl	-	-	-
<i>Staphylococcus</i>	+	+	+	10% Bile HIA	+ ^W	+	+ ^W
110				40% Bile	+ ^W	+	+
BTB teepol agar	-	-	-				

W : Week reaction

Table 6. Pathogenicity of the present isolates from diseased fingerling of sea bass, *Lateolabrax japonicus* ($1.7 \times 10^4 \sim 1.7 \times 10^{10}$ viable cells/100g B.W. with intramuscular injection)

Group	Inoculum (viable cells/ 20±10 g B.W)	Number of death after challenge							NO. of fish died/tested	Neab ti death (day)	Mortality (%)
		1	2	3	4	5	6	7			
1	1.7×10^{10}	1	1	2		1			5 / 5	4	100
2	1.7×10^8				2		1	1	4 / 5	5.5	80
3	1.7×10^6					1		1	4 / 5	6	40
4	1.7×10^4								0 / 5	-	0
5	Non-infect								0 / 5	-	0

1.7×10^6 viable cells/ml를 접종한 실험구에서는 6일만에 40%가 폐사하였으며, 1.7×10^4 viable cells/ml를 접종한 실험구에서는 한 마리의 폐사도 없었으나 간, 신장 및 비장에서 접종균과 같은 균이 검출되었다.

약제감수성

각종 항생제(BBL)에 대한 포도상구균, *S. epidermidis*의 발육 저지대를 조사한 결과는 Table 7에 표시한 바와 같다. 농어 치어에서 분리한 포도상

구균은 bacitracin, erythromycin, norfloxacin 등 16종의 약제에는 감수성을 나타내었지만, colistin, gentamicin, nalidixic acid 등 8종에는 내성을 나타냈다.

병리조직학적 관찰

자연 감염된 농어의 신장 조직은 뇨세관 상피세포의 박리 및 괴사 증상과 조혈조직의 용해괴사가 관찰되었다(Plate 1-④). 뇌 조직에 소상 울혈을 볼 수 있었다(Plate 1-⑤). 그리고 간 조직은 유동이 확장되고 혈구로 충만되었으며, 간 실질세포의 퇴

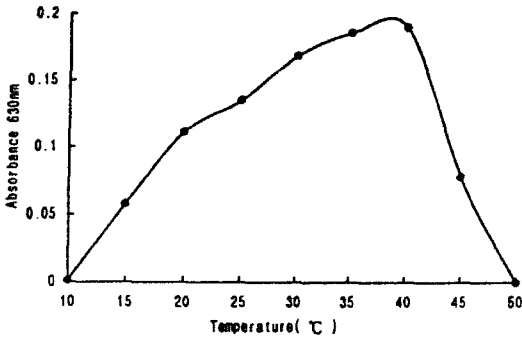


Fig. 1. Effects of temperature on the growth of the *Staphylococcus epidermidis* (LK-2) isolated from diseased fingerling of sea bass, *Lateolabrax japonicus*. The strain was cultured for 24hrs at 37°C in the 1% peptone water pH7.0.

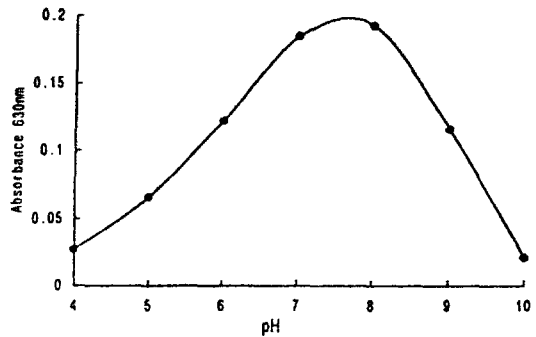


Fig. 3. Effects of pH on the growth of the *Staphylococcus epidermidis* (LK-2) isolated from diseased fingerling of sea bass, *Lateolabrax japonicus*. The strain was cultured for 24hrs at 37°C in the 1% peptone water pH7.0.

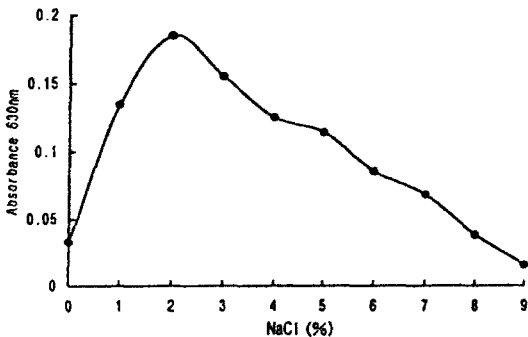


Fig. 2. Effects of NaCl on the growth of the *Staphylococcus epidermidis* (LK-2) isolated from diseased fingerling of sea bass, *Lateolabrax japonicus*. The strain was cultured for 24hrs at 37°C in the 1% peptone water pH7.0.

행화도 관찰되었다(Plate 1-⑥).

고찰

공시균주의 분류학적 위치는 현재 포도상구균의 분류법으로 인정하고 있는 Bergey's manual of systematic bacteriology Vol. 2(Sneath *et al.*, 1986), Cowan and Steel's manual 제 2판(Cowan, 1974)의 보고에 기초로 하여 검토하였다.

Bergey's manual 제 8판은 Staphylococci속을 “단구균, 쌍구균 및 불규칙한 균락을 형성한 구균이고, gram 양성 및 비운동성이다. 또한, catalase에 양성 및 포도당을 발효적으로 분해한다. VP에 양성이고 대개의 구균은 15% NaCl 및 40% Bile에 발육한다.”고 정의하였다. 그리고 Cowan and Steel's manual 제 2판(Cowan, 1974)은 “gram 양성, 2연 혹은 포도상으로 배열된 구균이며, 비운동성 및 무아포성이다. 또한 호기성 또는 통성혐기성이며, catalase 양성, cytochrome oxidase 음성 및 당을 발효적으로 분해한다.”고 정의하고 있다. 본 연구에서는 자연 감염된 농어 치어로부터 분리한 균이 명확하게 이 정의를 만족하고 있으므로 Staphylococci속에서 분류하는 것이 적당하다고 생각한다.

또한, Bergey's manual은 기재된 Staphylococci속 가운데 coagulase 시험, DNase 분해 시험 및 mannitol의 발효적 분해성에 있어서 모두 양성인 균주는 *S. aureus*, 음성인 균주는 *S. epidermidis* 또는 *S. saprophyticus*로서 분류하고, 혐기적 조건에서의 발육성 및 포도당의 발효적 분해성이 약하며, novobiocin에 대한 저항성이 있는 *S. saprophyticus*는 *S. epidermidis*와 다시 구별한다.

Cowan and Steel's manual(Cowan, 1974)은 *St-*

Table 7. Drug sensitivities of the *Staphylococcus epidermidis*(LK-2) isolated from diseased fingerling of sea bass, *Lateolabrax japonicus*

Antibiotics	Concentration (μg)	Sensitivity	Antibiotics	Concentration (μg)	Sensitivity
Amikacin	30	-	Kanamycin	30	+
Ampicillin	10	+	Moxalactam	30	+
Bacitracin	10 units	+++	Neomycin	30	+
Cefuroxime	30	-	Nalidixic Acid	30	-
Cephapirin	30	+	Novobiocin	5	+++
Colistin	10	-	Netilmicin	30	+++
Cefoxitin	30	+	Norfloxacin	10	+++
Chloramphenicol	30	+	Oxacillin	1	-
Cefoperazone	75	-	Penicillin	10 units	-
Clindamycin	2	-	Streptomycin	50	+
Ceftazidime	30	+	Sulfamethoxazole	23.75	+
Cephalothin	30	+	Trimethoprim	1.25	+
Erythromycin	15	+++	Tetracycline	30	-
Gentamicin	10	-	Tobramycin	10	+++
Imipenem	10	-	Vancomycin	30	+

Sensitivities Disc ; BBL

Diameter of the inhibition zone ; -, Resistant ; +, <5~15 mm ; ++, 15~20 mm ; +++, >20 mm

aphylococci속을 coagulase시험 및 mannitol의 발효적 분해성에 의해서 두 가지 성상이 양성인 균주를 *S. aureus*, 음성인 균주를 *S. epidermidis*로 분류하였다.

본 연구에서 전술한 Bergey's manual(Schleifer et al., 1986)과 Cowan and Steel's manual(Cowan, 1974) 및 楠田·杉山(1981), 심 등(1994)이 보고한 것과 비교 검토한 결과는 Table 8과 같다.

분리균주의 성상은 Bergey's manual의 *S. epidermidis*에 관한 기재와 비교하여 coagulase, urease, DNase, β -galactosidase, Novobiocin resistance, 포도당의 발효적 분해, 질산염의 환원, phosphatase, arginine의 가수분해, 그리고 혐기적인 lactose 분해성에 있어서 일치되는 성상을 나타내었다. 또한 전 균주가 혐기적으로 충분히 발육하고, 포도당을

발효적으로 강하게 분해하며, galactose와 melezitose를 강하게 분해하므로 *S. saprophyticus*와 *S. haemolyticus*와는 차이가 있는 것으로 추정하였다. Cowan and Steel's manual(Cowan, 1974)의 *S. epidermidis*의 기재와 coagulase, urease, 포도당의 발효적 분해성 및 호기적인 sucrose의 분해성, arginine의 가수분해성에 잘 일치한다. 楠田·杉山(1981) 및 심 등(1994)이 보고한 *S. epidermidis*를 비교하여 보면 coagulase, urease, 포도당의 발효적 분해성 및 호기적인 maltose, galactose의 분해성에서 잘 일치하였다.

이상의 결과에서 본 병에 자연 감염된 농어로부터 분리한 균주를 *S. epidermidis*로 동정하는 것이 타당하다고 생각된다.

분리균의 시판배지(Difco)에서의 발육을 검토해

Table 8. Comparison with main characteristics among the present isolates and *Staphylococcus* strains previously reported

Characteristics	Present isolates (LK-2)	Bergey's manual 8th ed. (1974)				Cowan & Steel's (1974)		Kusuda (1981)	Sim <i>et al.</i> (1994)
		<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>
Anaerobic growth	+	+	+	(+)	(+)	+	w	+	+
Growth on 10% NaCl agar	w	+	w	+	+			+	6/8*
15% NaCl agar	-	w	-	d	d			+	-
Growth at 45°C	+	+	+	+	d			+	+
Coagulase	-	+	-	-	-	+	-	-	-
DNase	-	+	- ^w	ds	- ^w			-	-
VP test	+					+	d	+	7/8
Nitrate reduction	+	+	+ ^w	d	-	+	d	4/6	5/8
Hydrolysis of :									
Gelatin	-	+			d	+	d	4/6	-
Arginine	+	+	+		d	+	+	3/6	7/8
Urease	+	+ ^w	+	-	+	+	d	4/6	+
Phosphatase	+	+	+	-	-	+	d	3/6	6/8
Hemolysis	+	+	- ^w	+	(d)			+	7/8
β-galactosidase	-	-	-	-	+			4/6	-
Novobiocin resistance	-	-	-	-	+				-
Acid from (anaerobically)									
Glucose	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+
Lactose	+	+	+					4/6	5/8
Mannitol	-	+	-		-	+	-	1/6	-
(Aerobically)									
Lactose	-	+	d	d	d	+	d	4/6	5/8
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+ ^w	+	-	d	d	+	d	1/6	1/8
Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	5/6	+
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	2/8
Mannose	+	+	(+)	-	-			3/6	3/8
Galactose	+	+	d	d	-			+	+
Melezitose	+	-	d	-	-			+	
Arabinose	-	-	-	-	-			-	-

w : Weak reaction, d : 11~89% strains positive, ds : Test different, () : Delayed reaction, * : No. of strains positive/No. of strains tested.

10 남해안 양식산 농어, *Lateobrax japonicus* 치어에서 분리한 병원성 *Staphylococcus epidermidis*에 관한 연구

보면, *S. epidermidis*균은 병어에서 분리한 직후는 보통 한천배지에서 발육이 늦으며 계대 배양을 하면 잘 자라는 경향을 볼 수 있었다.

식염 농도차에 따른 농어 치어에서 분리한 *S. epidermidis*의 발육 관계는 楠田·杉山(1981) 및 심 등(1994)의 결과와 일치하며, 최적 발육 식염 농도에서도 거의 일치하는 경향을 보였다(Table 9). 江草(1969)는 해수나 기수역에서 분리한 균주는 식염을 첨가하지 않으면 성장하지 않으며, 발육 가능한 상한선은 균주에 따라 다르다고 보고하였고, Tabata *et al.*(1982)은 식염에 따르는 발육은 분리 시기와 그 때의 환경에 따라 다르다고 했다. 본 연구에서 분리된 균주는 1%에서 9%까지 자라는 광염성 일 뿐만 아니라, 0%에서도 발육을 보여 육지나 담수로부터 유래되어 감염된 것으로 생각된다. 또한 Conroy(1966)는 담수어인 무지개송어에서 Micrococcosis에 의한 질병의 발생에 대하여 보고한 바 있으나, 이는 확실치 않는 추론으로 Aus-

tin(1987)은 Micrococcosis가 아니라 *S. epidermidis*에 의한 질병이라고 주장하였다. 따라서 본 연구로 미루어볼 때, 양식산 농어 치어에서 분리된 *S. epidermidis*는 담수어에서도 감염될 가능성이 높을 것으로 사료된다.

수소 이온 농도별 분리 균주의 발육 관계는 楠田·杉山(1981) 및 심 등(1994)의 실험 결과와 거의 일치하지만, 최적 발육도에서는 다소 높은 pH에서 잘 자라는 균주라 생각된다(Table 10). 온도별 분리 균주의 발육 관계는 50℃의 발육성을 제외하고 모든 온도 구간에 있어서 楠田 杉山(1981) 및 심 등(1994)의 연구 결과와 잘 일치하였다(Table 11).

각종 항생제 디스크(BBL)에 대한 분리균주의 발육 저지대를 관찰한 결과(Table 7)에서 보는 바와 같이, erythromycin, norfloxacin, bacitracin, penicillin 등에 강한 감수성이 있었지만, gentamicin, ampicillin 및 colistin 등에는 내성을 나타내었다. 이와 같이 약제의 종류에 따라 감수성의 정도에 많은

Table 9. Comparison with salinity(%) among the present isolates and Staphylococci strains previously reported

Origin	Salinity(%)										
	0	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Present(LK-2)	+	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kusuda <i>et al.</i> (1981)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sim <i>et al.</i> (1994)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: most suitable growth NaCl range.

Table 10. Comparison with pH among the present isolates and Staphylococci strains previously reported

Origin	pH						
	4	5	6	7	8	9	10
Present (LK-2)	+	+	+	+	+	+	+
Kusuda <i>et al.</i> (1981)	±	±	+	+	+	+	+
Sim <i>et al.</i> (1994)	+	+	+	+	+	+	+

+: most suitable growth pH.

Table 11. Comparison with temperature(°C) among the present isolates and Staphylococci strains previously reported

Origin	pH								
	10	15	20	25	30	37	40	45	50
Present (LK-2)	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Kusuda <i>et al.</i> (1981)	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Sim <i>et al.</i> (1994)	-	+	+	+	+	+	+	+	-

차이를 보였다. 따라서 항생제를 사용할 때에는 병어의 진단 및 약효 감수성 조사를 통하여 치료하여야 할 것으로 사료된다.

심(1992)이 포도상구균에 감염된 양식 넙치의 병리조직학적 소견에서 밝힌 것과 이번 농어의 조사에서 나타난 증상이 진행된 조직에서의 울혈과 괴사 등의 병변은 서로 일치하는 것으로 판단된다. 따라서 이들 조직의 변성은 포도상구균의 영향에 의한 것이라고 여겨진다.

감사의 글

본 논문의 교정을 맡아주신 익명의 두분께 진심으로 감사 드립니다.

참 고 문 헌

Austin, B. and Austin, D. A. : Bacterial fish pathogens. Ellis Horwood Limited : 95~99, 1987.
 Cowan, S. T. : Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria, 2nd ed. Cambridge University Press : 33~70, 1974.
 Conroy, D. A. : A report on problem of bacterial fish diseases in the Argentine Republic. Bulletin de l'office International des Epizooties 65 : 755~768, 1966.
 Chyung, M. K. : The Fish of Korea. Iljisa Publ., Seoul : pp. 1~727.(in Korea), 1977.
 Gerhardt, P., Murry, R. G. E., Costilow, R. H.,

Nester, E. W., Wood, W. A., Krieg, N. R. and Phillips, G. B. : Manual of methods for general bacteriology. Amer. Soc. Microbiol., Washington, D. C. : 524pp., 1981.
 MaC Faddin, J. F. : Biochemical tests for identification of medical bacteria. Williams and Wilkin, Baltimore/London : 527pp., 1980.
 Sneath, P. H. D., N. D., Mair, N. S., Sharpe, M. E. and Holt, J. G. : Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 2, Williams & Wilkins, Baltimore : 1013~1035, 1986.
 Tabata, K., S. K., Karata, S. and Sacristan, R. : Studies on the naturally occurring disease during the production of ayu(*Plecoglossus altivelis*) in sea water-II. Dynamics of *Vibrio anguillarum*. Fish Pathol. 17(3) : 205~212, 1982.
 Yokogawa, K. and Tajima, T. : Morphological and genetic characters of artificially propagated Sea Bass in Taiwan. Fish. Sci. 62(3) : 361~366, 1996.
 Yokogawa, T. and Seki, S. : Morphological and genetic characters between Japanese and Chinese Sea Bass of the Genus *Lateolabrax*. Japan. J. Ichthyol. 41 : 437~445, 1995.
 심두생 : *Staphylococcus epidermidis*에 감염된 양식 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 포도상구균증에 관한 연구. 경성대학 박사학위논문, 120pp., 1992.
 심두생, 정승희, 박형숙, 전세규 : 양식 넙치에서

12 남해안 양식산 농어, *Lateobrax japonicus* 치어에서 분리한 병원성 *Staphylococcus epidermidis*에 관한 연구

분리한 *Staphylococcus epidermidis*의 생물학적 및 생화학적 특성. 한국어병학회지, 7(1): 23~36, 1994.

전세규: 어병학. 제일문화사, 314pp., 1985.

江草周三·魚病菌 *Vibrio anguillarum* について(總說). 魚病研究, 4(1): 31~41, 1969

楠田理一·杉山沼博: 各種病魚から分離された *Staphylococcus epidermidis* の 性狀に關する研究 (分離菌の形態學的, 生物學的ならびに生化學的

性狀について). 魚病研究, 16(1): 15~24, 1981.

杉山沼博·楠田理一: 各種病魚から分離された *Staphylococcus epidermidis* の 性狀に關する研究 (分離菌株の血清學的性狀について). 魚病研究, 16(1): 25~33, 1981¹⁾.

杉山沼博·楠田理一: 各種病魚から分離された *Staphylococcus epidermidis* の 性狀に關する研究 (分離菌株と人由來菌株の血清學的性狀の比較). 魚病研究, 16(1): 35~41, 1981²⁾.

Plate. 1. ① : Fingerling of sea bass infected by *Staphylococcus* on its internal organs.(L : Liver, S : Spleen) ② : Infected brain showing flare. ③ : Morphology of the isolated *S. epidermidis* cultured in BHIA at 35°C for 24hrs(×1,000 Gram stain). ④ : Infected kidney showing isolate and necrosis of epithelial cell of renal tubules, and necrosis of intertubular tissue(×400 H-E stain). ⑤ : Infected liver showing regressive necrosis(×400 H-E stain). ⑥ : Infected brain showing congestion (×400 H-E stain).

Pathogenic *Staphylococcus epidermidis* isolated from cultured fingerling of sea bass, *Lateolabrax japonicus*, in Korea

Yong Baeg Cha, Han Choon Yang*, Sang Duk Choi and Jae Kwon Cho*

South Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research and Development Agency, Yosu 550-120, Korea

*Department of Fisheries Biology, Graduate School, Yosu National Fisheries University, Yosu 550-749, Korea

Major object of this study was to investigate the causative organism of the diseased cultured fingerling of sea bass, *L. japonicus*. The experimental results are summarized as follows; *Staphylococcus epidermidis*, isolated from the liver, kidney, spleen and brain, was considered to be the causative organism. External symptoms of this disease were congestion and hemorrhages in eyes. Anatomical symptoms were hemorrhage of brain, congestion of liver, and slight swelling of kidney and spleen. Growth of the isolates was good on BHIA, HIA and *Staphylococcus* No. 110. The growth occurred at a range(optimum) of 10~45°C(35~40°C), 0~9% (1~3%) of NaCl concentration and pH 4~10(8). DNase and coagulase production of all isolated strains were negative, but was positive in hemolysis. Urease was positive reaction, and novobiocin resistance was negative. Acid was produced anaerobically from glucose and maltose. Acid was produced aerobically from glucose, galactose, sucrose, maltose and dextrine. But gas was not produced from any carbohydrates. When the isolated strain was injected intramuscularly on fingerling of sea bass, *L. japonicus*, it had virulence at 1.7×10^{10} viable cells/ml for all fish examined but no virulence at 1.7×10^4 viable cells/ml. Bacitracin, Erythromycin and Nofloxacin were observed as bacteriostatic agents to the strain, but Colistin, Gentamicin and Nalidixic acid were not. There were remarkable congestion of the brain, regressive necrosis of the liver, and showed necrosis of the epithelial cells of renal tubules in kidney tissues.

Key words : Sea bass, *Lateolabrax japonicus*, Pathogenic *Staphylococcus epidermidis*, Histopathology