

Levamisole이 양식뱀장어의 면역조절작용 및 항균효과에 미치는 영향

최민순¹ · 박관하 · 조정곤*
군산대학교 해양과학대학 수족병리학과,
*전북대학교 수의과대학 수의학과

In vivo, Immunomodulatory and Antibacterial Reaction of Levamisole in Cultured Eel, *Anguilla japonica*

Min-soon Choi¹, Kwan-ha Park and Jeong-gon Cho*

Dept. of Fish Pathology, Kunsan National University, Kunsan, Chonbuk 573-400, Korea
*College of Vet. Medicine, Chonbuk National University, Chonju, Chonbuk 561-756, Korea

ABSTRACT : This experiment was carried out in order to evaluate the immunomodulatory activity of levamisole (LMS) in *E. tarda* challenged eels with different treatment regimens: 7-day LMS treatment before the challenge, 7-day LMS treatment started simultaneously with the challenge, 14-day treatment before and after the challenge. The antibacterial effect was activated in all treated groups, with the best being obtained in the simultaneously treated group. LMS stimulated the defense mechanisms of the eel as demonstrated by increase in the level of total protein, albumin, trypsin inhibitor capacity, lysozyme activity, antibody titer, antibacterial activity and survival rate. These results suggest that antibacterial effects of LMS was achieved by not only non-specific immune response but also specific one in eel.

Key words : Levamisole, Eel, Antibacterial activity, *E. tarda*, Immune response

서 론

뱀장어에 있어서 에드워드증은 어체의 크기 및 일령에 관계없이 연중 발병된다. 본증의 원인체인 *E. tarda*는 기회감염균으로서 선별 시 혼입으로 인한 균의 확산이 용이하여 근절이 매우 어렵다^{16,21}. 본증의 통상적인 치료법은 짧은 시간에 효과를 거둘 수 있는 항균제 및 화학요법제에 의존하고 있다. 그렇지만 과도한 약제의 사용으로 인한 다제내성균이 증가되어 예방 및 치료에 심각한 문제로 지적되고 있다^{2,22,23}. 이러한 문제점을 해결하기 위한 일환으로 균체항원의 변조를 통한 백신개발법이 시도되고 있으나, 균체의 특이 항체가 낮으며 또한 지속기간이 짧기 때문에 실효를 거두지 못하고 있다^{16,17,25}.

한편, 인체 및 동물에서 비특이적인 면역증강제로 인정되고 있는 생물활성물질들을 이용해 일부 양식어종을 대상으로 질병의 예방 및 치료를 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다^{13,18,20,24}. 면역조절제 중의 하나인 levamisole (LMS)은 오래 전부터 가축용 구충제로 사용되어온 약품으로서 부작용이 거의 없고, 수용성으로 체내에 쉽게 흡수되므로 어류에 투여가 용이하다는 장점 때문에 일부의 어종을 대상으로 실험한 바 매우 긍정적인 평가를 받고 있다^{4,5,8,12,19}.

LMS에 의한 면역활성은 세포매개성 면역반응의 유도에 의한 것으로 알려져 있다. 한편 면역 활성 효과는 LMS의 처리시기, 방법 및 투여량 그리고 항원의 종류 및 항원량 등에 따라서 다양한 영향을 받는다^{8,12,19,20}. 이에 본 연구에서는 뱀장어에서 LMS의 면역조절능을 검토하고, 아울러 뱀장어에서 문제시되고 있는 에드워드증을 예방하기 위한 일환으로, LMS를 약육법으로 처리하여 처리시기에 따른 항균효과 및 면역조절작용에 미치는 영향을 조사하였던 바, 그 결과를 보고

*본 논문은 1996년도 한국학술진흥재단의 공보과제(지방대육성과제)에 의해서 수행되었습니다.

¹Corresponding author.

하고자 한다.

재료 및 방법

Levamisole처리 및 감염

뱀장어를 10미씩 수조에 사육하면서, 에드워드증을 보이는 뱀장어 신장으로부터 분리한 *Edwardsiella tarda*를 tryptic soy broth (TSB, Gibco)에서 25°C로 18시간 증균배양한 균액을 phosphate buffered saline (PBS)으로 3회 원심세정하여 2×10^6 CFU로 조정 후 어체의 복강내로 접종하였다. 한편 LMS (20 ug/ml, Sigma)는 Table 1과 같은 방법으로 처리하였다.

균검출실험

검출실험은 *E. tarda* 감염 1주일째에 어체를 희생시킨 다음, 무균적으로 신장을 적출하여 유발에 넣은 후, 마쇄하고 멸균된 생리 식염수로 10배 계열 희석하여 각 희석액 0.2 ml를 Salmonella-Shigella agar (SS agar, Gibco)에 접종 후 30°C에서 48시간 배양하여 나타난 집락수를 산정 하였다.

혈액성분 분석

어체의 미부를 절단하여 헤파린(500 IU, Sigma)처리된 tube에 채혈한 후 상법에 따라 전혈을 이용하여 haematocrit (Ht)는 microhaematocrit법으로 측정하였다. 한편 원심분리(3,000 rpm, 10분)로 얻어진 혈장으로 총단백은 Biuret법, 알부민은 BCG법 그리고 alkaline phosphatase (Kind-King)는 시판kit (Asan Pharm.)를 이용하여 비색법으로 각각 측정하였다.

항응집소가 측정

군체항원은 Salitai *et al*의 방법(1990)에 준하여 제조하였다. 즉, 25°C에서 18시간 증균배양한 균액을 원

심집균(6,000 rpm, 30분)하여 0.4% formalin처리 후, PBS에 1% 균액으로 희석하여 사용하였다. 한편, 원심 분리한 혈장(25 μ l)을 microtitration plate의 각 well에 PBS로 2배 계열희석한 후, 동량의 균액을 첨가하여 37°C에서 3시간 반응시킨 다음, 4°C에서 18시간 반응시켜 응집소가를 측정하였다.

Trypsin inhibitor capacity (TIC)

Trypsin inhibitor capacity의 측정은 Ellis⁷의 방법을 다소 보완하여 실시하였다. 즉 혈장을 trypsin (100 ug/ml)용액과 동량 혼합하여 5분간 반응시킨 후, 혼합용액 100 μ l를 0.1%-N-benzoyl arginine-P-nitroanilide (Sigma)에 첨가하여 반응시켜 405 nm에서 흡광도를 측정해 blank와의 차이를 TIC로 하였다. 한편 이때 TIC 활성도는 1분에 0.001의 흡광도 변화를 1 unit로 정의하였다.

NBT reduction 측정

NBT reduction 측정은 Rook¹⁴의 방법에 준하였다. 즉 채혈한 전혈과 0.1% NBT (Sigma Immunochemicals)용액을 동량(0.1 ml) 혼합하여 30°C에서 1시간 반응시킨다. 그 후 상층액을 제거하고 70% 알콜로 3회 세정하여 침전물을 건조시킨 다음, 2 M KOH 120 μ l와 DMSO 140 μ l를 첨가하여 반응시킨 후, 620 nm에서 흡광도를 측정하여 탐식세포의 활성능을 측정하였다.

Lysozyme 측정

Grinde⁹의 방법에 준하였다. 즉 각 장기의 무게를 달아서 4배의 0.04 M sodium phosphate buffer (pH 6.2)를 가한 다음 homogenizer로 균질화시켰다. 그 후 10,000 g에서 10분간 원심분리 후, 상층액을 회수하여 lysozyme 활성치를 측정하였다. 즉, *Micrococcus lysodeikticus*를 0.05 M sodium phosphate buffer (pH 6.2)에

Table 1. Evaluation of bacterial numbers from eels challenged with *E. tarda* bathed with levamisole on different treatment regimens

Group	LMS treatment (20 μ g/ml) Regimen	Bacterial No.# (CFU)	Survival rate (%)
I	Same time challenge (for 7days)	$3.5 \times 10^3 \pm 3.2 \times 10^2$ *	70
II	Before and later (for 14days)	$8.7 \times 10^3 \pm 4.6 \times 10^2$ *	60
III	Before the challenge (for 7days)	$6.4 \times 10^4 \pm 5.6 \times 10^3$	50
IV	No treatment	$1.5 \times 10^5 \pm 6.5 \times 10^3$	40

+, Eels were challenged on day (0) intraperitoneally with 2×10^6 CFU of *E. tarda*.

Number of eels in each group were 20 fishes. Levamisole (20 μ g/ml) was applied with bath treatment in time relation to challenge. CFU: colony forming unit.

#: Bacteria were recovered from kidney.

*; P<0.05

0.2 mg/ml 농도로 조정 한 다음, 장기 균질액 100 μ l를 혼합하여 분광광도계(Shimatsu, Japan)를 이용하여 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 lysozyme 활성도는 1분에 0.001의 흡광도 변화치를 1 unit로 하였다.

결과 및 고찰

균검출실험

뱀장어에 LMS 처리 시 신장으로부터의 균 검출은 대조군($1.5 \times 10^5 \sim 6.5 \times 10^3$)에 비해 LMS 처리군($3.5 \times 10^3 \sim 3.2 \times 10^2 \sim 6.4 \times 10^4 \pm 5.6 \times 10^3$)에서 감소되었으며, 결과적으로 생존율은 대조군(40%)에 비해서 LMS 처리군(50~70%)에서 높게 나타났다(Table 1). 이러한 결과는 잉어 및 무지개송어에서 LMS를 침적 및 복강처리 시, *A. hydrophilla*, *Y. ruckeri* 및 *Vibrio sp* 등에 대해서 항균효과를 증강시켰다는 보고^{1,4,12} 등과 일치하고 있다. 한편, LMS를 세균감작 전, 전·후 전기간 및 동시에 처리하여 항균효과를 검사한 결과, 동시 처리군에서 가장 높은 성적을 나타내, 뱀장어에 LMS 처리는 처리기간 보다 처리시기에 따라 면역활성능의 차이가 유도됨을 알 수 있었다.

혈액성분분석

Ht치는 대조군(36.8 \pm 2.6%)에 비해서 LMS 처리군(36.6 \pm 2.5~37.2 \pm 2.3%)과 큰 차이를 보이지 않았으나, 총단백은 대조군(6.1 \pm 0.5 mg/dl)에 비해서 LMS 처리군(6.8 \pm 0.8~8.0 \pm 0.8 mg/dl)에서 증가되었으며, 알부민의 경우에도 대조군(2.9 \pm 0.4 mg/dl)에 비해서 LMS 처리군(3.4 \pm 0.5~4.3 \pm 0.4 mg/dl)에서 증가되었고, 특히 동시 처리군에서 높게 나타났다(Table 2). 이러한 결과는 LMS를 사료첨가 시 Ht 및 림프구의 수에는 변화가 없었으나, 혈장단백 및 면역글로불린을 증강시켰다는 보고¹⁰와 일치한다. 한편, ALP는 대조군(20.3 \pm 2.4 unit/ml)과 전처리 및 전후연속처리군(21.4 \pm 4.3

및 20.8 \pm 2.5 unit/ml)은 큰 차이가 없는 반면, 동시처리군(28.7 \pm 3.1 unit/ml)에서 높게 나타난 성적은, 정상적인 포유류에 있어 LMS 처리 시 ALP의 활성이 변화가 없거나 억제작용을 나타낸다는 보고³와는 차이를 보였는데, 본 실험만으로는 명확하게 알 수가 없으나 아마도 항원의 종류 및 처리방법의 차이에 의한 것으로 사료된다. 한편, 항 케양인자인 TIC는 대조군(31.5 \pm 3.6 unit/ml)에 비해 LMS 처리군(32.7 \pm 3.7~38.8 \pm 2.9 unit/ml)에서 TIC 활성이 증가된 점으로 미루어, *E. tarda*, *Aeromonas sp* 및 *pseudomonas sp* 등^{3,7}에 감염 시 균체 외독소인 피부케양독소를 불활화시켜 어체의 방어력을 증강시킬 것으로 사료된다. 향후 뱀장어에서도 항 케양인자의 특성에 대한 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

NBT reduction 및 항응집소 측정

LMS 처리 시 NBT 환원능은 대조군(0.12 \pm 0.04)에 비해 처리시기와 무관하게 모든 처리군(0.16 \pm 0.03~0.19 \pm 0.05)에서 증가되었다(Table 3). 이러한 결과는, *Y. ruckeri* O-antigen과 DNP-Ficol을 무지개송어에 접종 시 NBT 환원세포수 및 탐식지수 및 부착지수등은 대조군에 비해 처리시기(전, 동시 및 후처리)와는 무관하게 모든 처리군에서 활성이 증가되었다는 보고¹와 LMS를 전처리 시 탐식세포의 부착능, 주화성 및 보체활성치 등을 현저하게 증강시킨다는 보고 등^{12,19}과 일치되었다. 한편, 혈중 항체가는 대조군(4.6 \pm 2.1)에 비해 동시처리군(6.4 \pm 1.5)에서는 증가되었으나, 전처리 및 전후연속처리군(5.2 \pm 2.0~5.7 \pm 1.3)에서는 비교적 미약한 증가를 보였다. 이러한 결과는 *Y. ruckeri* O-antigen과 DNP-Ficol을 무지개송어에 접종 시 plaque forming cell (PFC)를 측정하였던 바 대조군에 비해 전처리군에서는 현저한 감소를 보인 반면, 동시 및 후처리군에서는 현저히 증가된 결과¹와 부분적으로 일치하였다. 그렇지만, *In vitro*에서 무지개송어 비장세포

Table 2. Evaluation of clinical parameters from eels challenged with *E. tarda* bathed with levamisole on different treatment regimens

Group	Ht (%)	Tp (mg/dl)	Alb (mg/dl)	ALP (unit/ml)	TIC (unit/ml)
I	36.8 \pm 4.4	8.0 \pm 0.8*	4.3 \pm 0.4*	28.7 \pm 3.1*	38.8 \pm 2.9*
II	36.6 \pm 2.5	7.4 \pm 0.7*	3.6 \pm 0.6*	20.8 \pm 2.5	35.1 \pm 2.4*
III	37.2 \pm 2.3	6.8 \pm 0.8	3.4 \pm 0.5	21.4 \pm 4.3	32.7 \pm 3.7
IV	36.8 \pm 2.6	6.1 \pm 0.5	2.9 \pm 0.4	20.3 \pm 2.4	29.5 \pm 3.6

Abbreviation : Ht; haematocrit, Tp; total protein, Alb; albumin, ALP; alkaline phosphatase.

TIC; trypsin inhibitor capacity. One unit of TIC is defined as the increase in absorbance (405 nm) of 0.001/min levamisole treatment regimens were described in Table 1.

*: p<0.05

Table 3. Evaluation of defense parameters from eels challenged with *E. tarda* bathed with levamisole on different treatment regimens

Group	NBT reduction (OD)	Ab titer (log ³)
I	0.19±0.05*	6.4±1.5*
II	0.17±0.03*	5.7±1.3
III	0.16±0.06	5.2±2.0
IV	0.12±0.04	4.6±2.1

Abbreviation: NBT; nitroblue tetrazolium. Ab; antibody titer. Levamisole treatment regimens were described in Table 1.

*: p<0.05

에 LMS 처리 시 항원의 유무와는 무관하게 저농도(5 ug/spleen)에서는 PFC의 활성을 증가시켰으나, 그 이상의 농도(25~50 ug)에서는 활성이 감소되었다는 보고¹⁹로 미루어 LMS 처리 시 특이 면역반응은 LMS 농도, 항원의 종류 및 처리시기에 따라 활성차이가 있음을 알 수 있었다.

Lysozyme 측정

LMS 처리 시 혈장 lysozyme의 활성은 대조군(35.8 ± 6.4 unit/ml)에 비해 처리군(42.1±5.0~52.6±7.6 unit/ml)에서 증가되었으며, 장기별로는 대조군의 경우 간장(33.8±6.5 unit/ml) 및 신장(34.8±7.4 unit/ml)의 lysozyme 활성은 차이가 없는 반면, LMS 처리군에서는 간장(38.9±3.2~43.7±5.3 unit/ml)보다는 신장(43.2±6.9~54.3±7.6 unit/ml)의 lysozyme 활성이 증가되었으며, 특히 동시처리군(Group I)에서 활성이 가장 높게 나타났다(Table 4). 이러한 결과는 뱀장어의 탐식세포는 myeloperoxidase의 결여로 인해 hypochlorous acid (HOCl)의 생성능이 미약하기 때문에 다른 어류 등과는 다르게 살균효과가 주로 산소활성 비의존성

Table 4. Evaluation of lysozyme activity from eels challenged with *E. tarda* bathed with levamisole on different treatment regimens

Group	plasma	liver	kidney
I	52.6±7.6*	43.7±5.3*	54.3±7.6*
II	48.2±8.3*	41.9±6.2*	51.4±5.7*
III	42.1±5.0	38.9±3.2	43.2±6.9
IV	35.8±6.4	33.8±6.5	34.8±7.4

One unit of lysozyme activity is defined as the amount of enzyme causing a decrease in absorbance (530 nm) of 0.001/min. Levamisole treatment regimens were described in Table 1.

*; P<0.05.

효소계인 lysozyme 등의 영향을 받는다는 보고 등^{6,10,11}과 무지개송어에 LMS를 사료첨가 투여 시 저수온(12°C) 사육조건에서도 혈장내에 lysozyme의 활성이 3개월간 높게 유지하였다는 보고¹⁸로 미루어 향후 뱀장어의 고질적인 에드워드증의 예방에 효과적일 것으로 사료된다.

본 실험 결과, LMS가 뱀장어에 있어서 *E. tarda*의 항균작용은 특이적인 면역반응뿐만 아니라 비 특이적인 면역반응의 활성을 증가시켰으며, 특히 탐식세포의 산소활성능 및 lysozyme 등의 효소활성증가에 주로 관여함을 알 수 있었다. 이러한 결과는 지수식의 고밀도 가온 양만장에서 고질병중의 하나인 에드워드균중의 감염 초기방어뿐 아니라 보균어에 의한 질병의 확산을 예방하는데 실효를 거둘 것으로 사료된다. 한편, 본 실험결과 뱀장어에 LMS 처리에 의한 면역증강 효과는 항원과 동시처리군(7일)이 전후연속처리군(14일) 및 전처리군(7일)보다 특이적 및 비특이적인 면역활성효과가 높게 나타나, 이는 LMS 처리기간보다 항원의 노출시기에 따른 LMS의 영향이 더 중요하게 작용한 것으로 사료된다. 또한 LMS를 전처리 시 비특이적인 면역활성을 증가시켰다는 보고 등^{14,18,19}과 부분적인 차이를 보인 점은, 어종간의 체내 흡수경로 및 처리회수, 용량 및 어종 차이에 기인된 것으로 사료되며 향후 이에 대한 추사가 필요하다고 사료된다.

결론

뱀장어에서 levamisole (LMS)의 면역조절작용과 항균작용을 알아보기 위하여, 대조군과 LMS를 약육법으로 처리한 3개의 실험군(*E. tarda* 감염 전 처리군, 전 후 연속 처리군 및 동시 처리군)을 대상으로 균검출 실험, 혈액성분 분석, NBT 환원능, 항응집소가 및 lysozyme의 활성도 측정등을 통해 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 대조군에 비해 모든 실험군에서 검출되는 균수가 감소되었으며, 특히 감염전처리군(P<0.05)과 동시처리군(P<0.05)에서 유의성 있는 감소를 나타내었다.
2. 혈액성분 분석 결과 혈장 총단백과 albumin은 감염전처리군(P<0.05) 및 동시처리군(P<0.05)에서 유의성 있게 증가되었으며, alkaline phosphatase(ALP)의 활성도는 동시처리군(P<0.05)에서 유의성 있는 증가를 나타내었다. 한편, 항 케양인자인 trypsin inhibitor capacity (TIC)의 활성은 감염전처리군(P<0.05)과 동시처리군(P<0.05)에서 유의성 있게 증가되었다.
3. nitroblue tetrazolium (NBT) 환원능은 감염전처리

군($P<0.05$) 및 동시처리군($P<0.05$)에서 유의성 있는 증가를 나타냈으며, 혈중 항체가는 동시처리군($P<0.05$)에서만 유의성 있는 증가를 보였다.

4. LMS 처리 시 혈장, 간장 및 신장의 lysozyme 활성은 감작전처리군($P<0.05$)과 동시처리군($P<0.05$)에서 유의성 있게 증가되었다.

이상의 결과를 종합해보면 LMS의 약용처리는 대조군에 비해 모든 실험군에서 항균효과 및 면역활성을 증가시켰으며, 동시처리군에서 가장 효과적인 면역활성과 항균효과를 나타내었고, LMS가 면역증강에 미치는 영향을 조사하였던 바, 혈장내의 albumin 및 총단백량, lysozyme 활성, TIC, ALP 및 NBT reduction 등의 효소 및 항응집소가를 증가시켜 항균효과를 나타내며, 뱀장어에서 *E. tarda*에 대한 LMS의 항균효과는 비특이적인 면역반응 뿐 아니라 특이적인 면역반응을 활성화 시켜 항균효과를 증가시킬 수 있었다.

참 고 문 헌

- Anderson DP, Swicki AK, Dixon OW and Lizzio EF. Immunostimulation by levamisole in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in vivo. In: Virus of lower vertebrates. Springer: Berlin. 1989: 469-478.
- Aoki TT, Sakaguchi T and Kitao T. Chemotherapy against infection with multiple drug resistant strains of *E. tarda* in cultured eel. Fish Pathol. 1989; 34(3): 161-168.
- Arshad UM and Arai T. Exotoxic substances produced by *Edwardsiella tarda*. Fish Pathol 1983; 18(2): 71-75.
- Baba T, Watase Y and Yoshinaga Y. Activation of mononuclear phagocyte function of levamisole immersion in carp. Nippon Susian Gakkaishi 1993; 59(2): 301-307.
- Belle VH. Alkaline phosphatase. I. Kinetics and inhibition by levamisole of purified isoenzymes from humans. Clin Chem 1976; 22: 972-978.
- Edward SW. Biochemistry and physiology of neutrophil. Cambridge university press. New York 1994; 299-232.
- Ellis AE. Serum antiproteases in fish. Technique in fish immunology. SOS publications 1990; 95-99.
- Geets A, Liewes and Ollevier F. Efficacy of some antihelminthics against the swimbladder nematode *Anguillicola crassus* of eel *Anguilla anguilla* under salt-water conditions. Dis Aaqua Org 1992; 13: 123-128.
- Grinde B. Lysozyme from rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, as an antibacterial agent against fish pathogens. J Fish Dis 1989; 12: 95-104.
- Hine PM and Wain JM. Observations on the granulocyte peroxidase of teleosts: a phylogenetic perspective. J Fish Biolo 1988; 33: 247-254.
- Idia T and Wakabayashi. Respiratory burst of Japanese eel neutrophils. Fish pathol 1995; 30(4): 257-261.
- Kajita Y, Sakai M, Astuta S and Kobayashi M. The immunomodulatory effects of levamisole on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Fish Pathol 1990; 25(2): 93-98.
- Oliver G, Evelyn TPT and Lallier R. Immunity of A in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) induced by modified freund's complete adjuvant: Its non-specific nature and the probable role of macrophages in the phenomenon. Dev Comp Immunol 1985; 9: 419-432.
- Rook GAW, Steele J, Umar S and Dockrel, HM. A simple method for the solubilization of reduced NBT, and its use as a colorimetric assay for activation of human macrophages by gamma interferon. J Immunol Method 1985; 82: 161-167.
- Symoens J and Rosenthal M. Levamisole in the modulation of the immune response: The current experimental and clinical state. J Reticuloendothelial Society 1977; 21(3): 175-221.
- Salitai F, Kawai K and Kusuda R. Immune response of eel to *E. tarda* lipopolysaccharide. Fish Pathol 1984; 19(1): 187-192.
- Salitai F, Kusuda R. Chemical composition of lipopolysaccharide from *E. tarda*. Fish Pathol 1985; 20, 2(3): 187-191.
- Siwicki AK. Immunostimulating influence of levamisole on nonspecific immunity in carp (*Cyprinus carpio*). Dev Comp immunol 1989; 13: 87-91.
- Siwicki AD, Anderson DP and Dixon OW. In vitro immunostimulation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spleen cells with levamisole. Dev Comp Immunol 1990; 14: 231-237.
- Swicki AK, Anderson DP and Rumsey GL. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protein against frunculosis. Vet Immunol Immunopathol 1994; 41: 125-139.
- 전세규. 양식어류에 있어서 세균성질병의 검색 및 예방. 한국어병학회지 1988; 1(1): 5-30.
- 최민순, 최상훈, 박관하, 장선일, 윤창용, 조정근, 송희중. 뱀장어 병어로부터 분리한 *E. tarda*의 약제내성. 한국어병학회지 1996; 9(2): 195-201.
- 최민순, 김경호, 서영호, 최상훈, 박관하. 양만정에서 분리한 *E. tarda*균에 대한 new quinolone계 약물의 항균작용. 한국어병학회지 1996; 9(2): 185-193.
- 박경현, 하제이, 허민도, 허성희, 정현도. 나일 틸라피아에 대한 질병 예방제 및 면역보조제로서의 PS-K효과 분석. 한국어병학회지 1997; 10(1): 1-74.
- 박수일. 뱀장어의 면역반응에 대한 연구. *E. tarda*에 대한 혈청학적 연구. 한국어병학회지 1989; 2(2): 83-90.