

초겨울 비단잉어에서 발생한 *Aeromonas hydrophila*에 의한 대량 폐사

박성빈 · 노성원 · 장호빈 · 차인석 · 리쉬케이쉬 달비 · 김영림 · 하미애 · 정태성¹

경상대학교 수의과대학 수생동물질병학연구소

(게재승인: 2008년 12월 18일)

Mass Mortality of Adult Koi Carp (*Cyprinus carpio*) in the Early Winter by *Aeromonas hydrophila* Infection

Seong-Bin Park, Seong-Won Nho, Ho-Bin Jang, In-Seok Cha, Rishikesh. S. Dalvi, Young-Rim Kim, Mi-Ae Ha and Tae-Sung Jung¹

Laboratory of Aquatic Animal Diseases, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract : Mass mortality was occurred in adult koi carp (*Cyprinus carpio*) at a private pond near Samchunpo city in the early November, 2007. Its water temperature was 11°C and turbidity was very high. The fishes diseased were shown widely distributed hemorrhages, deep ulcerations on the whole body surface and severe erosions in the all fins. In necropsy, excess ascitic fluid was observed and spleen and kidney affected were enlarged. In microscopic observation, it was examined widely distributed severe dermal ulceration, multifocal gill lamella hyperplasia, severe fibrinous pericarditis, multifocal nephritis and hepatitis. The bacteria suspected were isolated using tryptone soya agar and identified as motile *Aeromonas hydrophila* as results of biochemical tests using API 20E and 20NE. According to previous reports, *A. hydrophila* infection were mainly occurred in fingerling at high temperature. However, this case exhibited that *A. hydrophila* infection can develop on adult koi carp even in the winter season.

Key words : *Aeromonas hydrophila*, adult koi carp, mass mortality, winter.

서 론

운동성을 지닌 에어로모나스 감염(Motile aeromonad infection)은 어류뿐만 아니라 파충류, 양서류에 이르기까지 널리 수생 생물계에 걸쳐 발병하는 것으로 알려져 있다(2,26,27). 이 균은 그람 음성의 편성 혐기성 균으로서 한 개의 극성 편모를 가지고 있어 운동성을 지닌다(8). 보편적으로 운동성 에어로모나스 균은 *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*로 분류되며, 그 중 *A. hydrophila*는 병원성이 높은 균으로 빈번하게 보고된다(15,17). *A. hydrophila* 감염은 hemorrhagic septicemia, infectious dropsy, red pest 등으로 불리며 가장 빈번하게 담수어에서 유발되는 세균성 질병이다(27).

*A. hydrophila*는 일반적으로 자연수계에서 분리가 가능하며 또한 건강한 민물고기의 정상세균총인 것으로 알려져 있다(22,28). 하지만 수질저하, 밀집사육, 산란, 수송 스트레스, 부주의한 작업 및 고수온기 등의 스트레스가 증가할 때 기회감염을 일으킨다고 알려져 있다(22,26,28). 발병 시 주요증

상은 피부에는 미란 및 궤양을 보이며 내부 장기에서는 복수가 차고 비장, 간과 신장의 종대를 보인다(2,8,26). 특히, 운동성 에어로모나스 감염은 주로 22°C 이상의 수온 상승 시에 치어나 자어에서 발병하여 80% 이상의 치사율을 보이는 것으로 보고되고 있다(1).

본 증례는 저수온기인 11월에 충분한 사육공간을 확보한 개인 연못에서 motile *A. hydrophila*가 단독으로 발병하여 성어에서 대량폐사를 유발한 드문 경우이기에 이를 보고하고자 한다.

증 례

비단잉어의 집단 폐사가 발생한 곳은 경남 사천시 와룡산 자락의 개인주택에 조성한 연못이었다. 연못의 면적은 10×15×1 m정도였고 점토질 흙으로 인해 탁도가 높았다(Fig 1A). 연못에 공급되는 물은 지하수였으며 방문 당시 수온은 11°C였다. 관리인으로부터 청취한 병력은, 28일 전에 경기도 소재 전문 배양장에서 350 g정도의 비단잉어 500마리를 구입한 뒤, 10여 마리씩 물과 액화 산소를 넣은 비닐팩에 나누어 담아 육로로 수송하였다고 하였다. 도착한 뒤에는 원형

¹Corresponding author.
E-mail : jungts@gnu.ac.kr

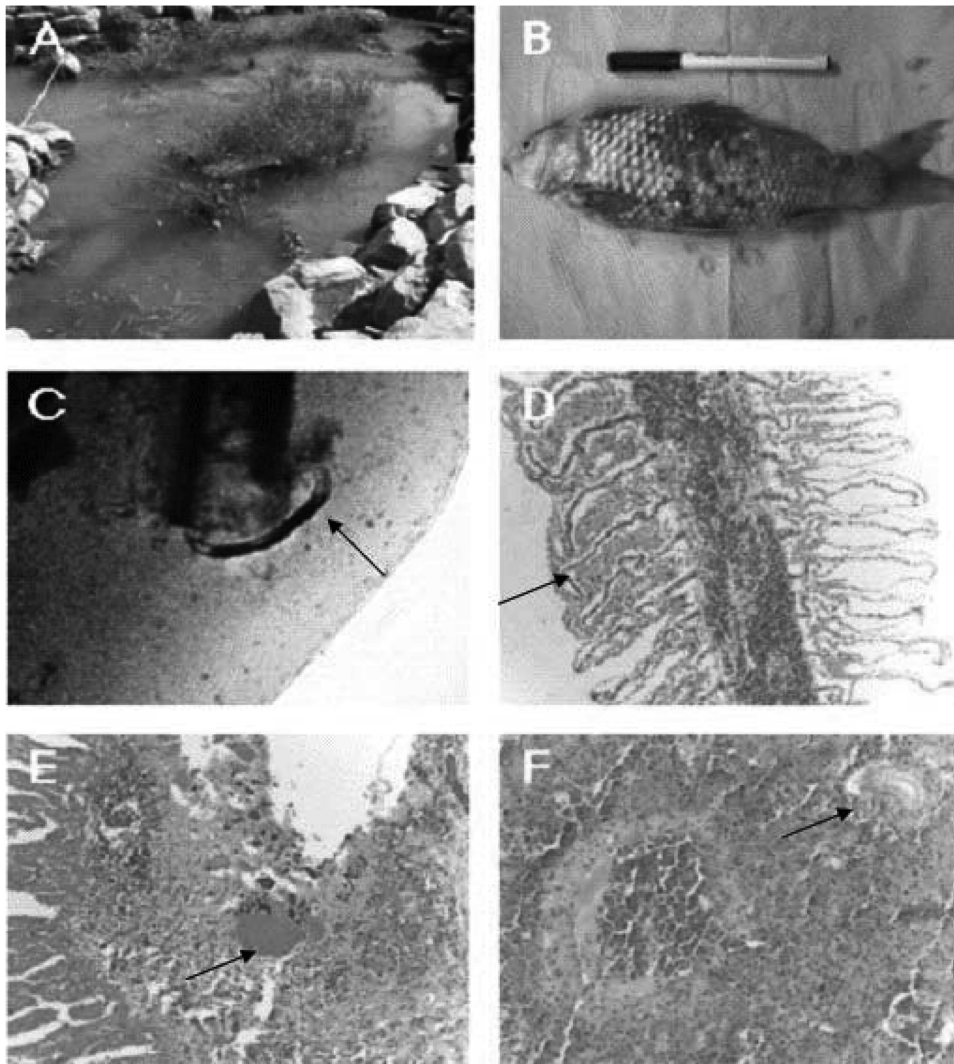


Fig 1. Koi carp, gross and microscopic lesions by *A. hydrophila* infection. A; koi carp growing pond in high turbidity. B; the bristled appearance (dropsy) of affected koi carp. C; a gill fluke on the top of the gill lamellae (direct wet mount observation, $\times 100$). D; hyperplasia at the gill epithelium and fusion of adjacent lamellae (H&E, $\times 40$). E; bacterial colonies between the compact and spongy myocardial layers in the heart (H&E, $\times 200$). F; vacuolar degeneration and necrosis around the proximal tubule (H&E, $\times 400$).

플라스틱 수조에서 지하수를 공급하며 20일정도 안정화시킨 후 연못으로 옮겼다. 그 후 물고기의 유영상태 이상 및 폐사의 발생으로 공급자에게 문의한 결과, 황토를 도포하면 호전될 것이라 하였으나 탁도만 증가하였을 뿐 폐사는 지속적으로 발생하고 있었다. 본 실험실원이 방문하였을 때 이미 대부분의 잉어에서 피부병변이 발생한 뒤였고 약 100여 마리의 폐사가 있었다.

현장을 파악한 뒤, 부검 및 진단을 위하여 빈사어 10마리를 비닐팩에 넣은 후 얼음상자를 이용하여 실험실로 운반하였다. 일반적인 부검술식에 준하여 외관검사를 실시하고 복강을 개방하여 각종 실질장기를 육안적으로 관찰하였다. 아가미의 기생충 감염을 확인하기 위하여 생조직을 적출하여 직접 검경을 실시하였다. 그 후 피부를 포함한 근육조직, 간, 비장, 신장, 심장, 장관과 뇌 등을 적출하여 10% 중성포르말

린 수용액에 고정시킨 뒤 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다. 4 μm 로 박절 후 H&E 염색법과 Gram 염색법을 실시하여 조직학적 검사를 실시하였다.

원인체의 분리는 앞쪽 신장, 비장과 간에 멸균된 백금이를 삽입하여 Tryptone Soya Agar (TSA; Oxoid, Basingstone, Hampshire, England) 및 혈액배지에 도말하여 25°C에서 3일 동안 배양하였다. 그 후 단독 콜로니를 채취하여 gram 염색, 운동성 검사, catalase 검사, oxidase 검사, 산화발효검사(O-F test)를 수행하였다. 또한 API 20E와 20NE(bioMérieux, France)를 이용하여 원인균을 동정하였다.

육안적으로 이환된 잉어는 비늘주머니의 수종화로 인하여 전신의 비늘이 일어나 술방울과 같은 외형을 보였다. 점상 출혈반점이 전신의 표피에서 관찰되었고, 일부 부위에선 비늘과 표피가 탈락하여 근육층까지 노출되는 심한 괴사가 관

찰되었다(Fig 1B). 아가미에선 점액질이 증가하여 흙과 이물 질들이 부착되어 있었고, 부분적으로 창백한 부위에선 부식이 관찰되었다. 또한 내측엽의 경우 출혈이 발생하여 적색조의 혈괴 덩어리를 관찰할 수 있었다. 모든 지느러미에선 점상 출혈반점을 확인할 수 있었으며 말단부위에선 지느러미 일부가 탈락되어 있음을 관찰할 수 있었다. 절개된 복강 내부에는 혈액성 복수가 들어있었다. 간과 비장은 현저히 종대되어 있는 반면, 소화기계는 대체적으로 정상소견을 나타내었다. 심장의 관찰을 위하여 심외막을 절개하였을 때, 유허색조의 심낭수가 들어 있었고 심실의 주변에는 크림양의 물질이 부착되어 있었다.

아가미의 직접 검경에서 활발히 움직이는 5마리 정도의 아가미 흡충(gill fluke)을 10마리의 잉어 중 3마리에서 발견할 수 있었으며 외관적 관찰을 통하여 단생흡충류(monogenetic trematode)에 속하는 *Dactylogyrus* spp.임을 확인할 수 있었다(Fig 1C).

병리조직학적으로는, 피부층과 근육층의 심한 괴사, 세균 집락 및 염증세포의 침윤이 관찰되었다. 아가미는 새박판(gill lamella)이 짧아지고 과증생이 진행되어 융합을 이루고, 새엽(gill filament)의 끝단에서는 곤봉화(clubbing)를 이루고 있었다(Fig 1D). 심장의 심외막과 심내막에 염증세포의 침윤이 관찰되었고, 세균의 집락이 심실근 내측 치밀층과 성긴층(loose layer)사이에서 다수 발견되었다(Fig 1F). 간의 변성과 괴사가 관찰되었고, 신장의 경우 간질세포의 다발성 괴사와 근위극세뇨관 상피 세포의 변성을 관찰할 수 있었다. 변성된

세뇨관의 강내에는 다수의 혈구 성분과 단백양 물질이 관찰되었다(Fig 1E).

분리된 균은 그람 음성, 운동성이 있는 균으로서 혈액배지에서 β 용혈성을 나타내었다. 생화학적으로는 catalase 양성, oxidase 양성이었고 API 20E 및 API 20NE의 간이 생화학적 키트를 이용하여 *A. hydrophila*로 확인할 수 있었다(Table 1).

고 찰

A. hydrophila 감염증은 병리학적으로 스트레스의 정도, 세균의 균력 그리고 물고기의 생리학적 상태에 따라 크게 급성형, 만성형 및 잠재형으로 나눌 수 있다(2,5,20,23,27). 급성형의 경우 갑자기 발병하여 대량폐사를 유발하며 종종 무증상임에도 패혈증에 의한 급사를 유발하기도 한다. 그러나 주된 증상은 외부적으로 피부의 발적, 근육까지 노출되는 심한 괴사, 비늘의 수중화에 따른 솔방울 형태의 체형, 안구 돌출, 그리고 아가미의 빈혈 혹은 괴사 및 출혈이다. 이때에는 복수가 차고 간, 비장이 종대 되는 등의 내부소견도 함께 관찰된다. 또한 본 증례에서는 관찰되지 않았지만 허부 장관에서 종창되거나 출혈이 발생하며 심한 경우 탈장이 발생하기도 한다.

만성형은 표피와 진피층의 미란 혹은 근육층까지 노출되는 심한 괴사를 보이는 피부병변이 주된 특징이다. 이 때 내부 장기의 경우 괴사부위는 관찰되지 않고, 특징적으로 간과 비장에서 헤모시테린과 리포푸신이 침착하는 소견을 보인다.

Table 1. Biochemical features of *A. hydrophila* isolated from adult koi carps

Characteristics	results	Characteristics	results
Gram staining	-	NO ₂ production	+
Catalase	+	Reduction to N ₂ gas	-
Oxidase	+	Fermentation of:	
Oxidative-fermentative test	fermentative	Glucose	+
β -hemolysis	+	Mannitol	+
β -galactosidase	+	Inositol	-
Arginine dihydrolase	+	Sorbitol	-
Lysine decarboxylase	-	Rhamnose	-
Ornithine decarboxylase	-	Saccharose	+
Citrate utilization	-	Melibiose	-
H ₂ S production	-	Amygdalin	+
Urease	-	Arabinose	-
Tryptophane deaminase	-	Assimilation of:	
Indole production	+	Mannose	+
Voges Proskauer test	+	N-acetyl-glucosamine	+
Gelatinase	+	Maltose	+
Growth at:		Potassium gluconate	+
25°C	+	Capric acid	+
37°C	+	Adipic acid	-
Growth on MacConkey agar	+	Malic acid	+
Motility	+	Phenylacetic acid	-

잠재형의 경우 특징적인 피부 병변 등의 외부적 증상이 없이 내부증상을 주로 보이며 폐사를 유발하는 것으로 알려져 있다.

A. hydrophila 감염증은 담수어뿐만 아니라 파충류, 양서류, 조류에서도 보고된 바 있으며 사람에도 감염이 보고되는 잠재적 인수공통전염병의 원인체이다(3,24,25). 사람에서는 대부분 위장관 증상이나 국소적으로 상처 부위에 염증을 유발하나, 심한 경우에는 관절염, 각막궤양, 뇌막염 등의 증상이 동반되기도 한다. *A. hydrophila*의 감염은 주로 오염된 물이나 음식에 의해서 전파됨으로 관련 종사자들에게 주의가 요구된다. 그리고 오염된 음식은 70°C에서 조리하였을 경우 본균주가 파괴됨이 보고되었다(7).

한편, 본 증례에선 아가미에서 아가미 흡충인 *Dactylogyrus*가 감염되어 있었다. 본 기생충은 주로 고수온기의 나쁜 수질에서 스트레스가 증가할 때 심한 감염을 유발하여 아가미에 손상을 준다. 그러나 아가미 흡충은 건강한 개체에서도 종종 발견되고 가벼운 감염의 경우, 처치를 요하지 않는 것으로 보고되었다(10,14). 본 증례에서 발견된 아가미 흡충은 5마리정도가 3마리의 잉어에서 발견되어 대량폐사와는 관련이 적은 것으로 사료되었다.

*A. hydrophila*는 TSA를 이용하여 병어의 조직에서 분리할 수 있다. 선택배지로서 R-S agar를 이용하면 *A. hydrophila*를 포함한 운동성이 있는 에어로모나스 모두에서 노란색의 세균집락이 자라는 것을 확인할 수 있다(18). 운동성이 있는 *A. hydrophila*는 항원적 다양성으로 인하여 혈청을 이용한 응집반응, ELISA 및 FITC 등의 기법을 적용하여 진단하는 것은 오직 항체 생산에 이용된 세균에 대해서만 특이적으로 반응하는 것으로 보고되었다(4,11,13,19). 게다가 간단하게 PCR 기법을 이용한 진단기법 역시 일반화되지 않아서 이들의 개발이 필요한 실정이다(2). 따라서 에어로모나스 감염증에서 *A. hydrophila*를 진단하기 위해서는 생화학적 검사가 요구된다(12,16). 본 증례에서는 API 20E와 20NE 간이 생화학적 진단 키트를 이용하였다. 어류 유래의 세균을 본 키트에 적용함에 있어 주의사항은 여러 연구에서 지적한 바 있듯이, 설명서에서 요구하는 37°C에서 배양법을 따르지 않고 25°C에서 배양하는 것이다(21). 본 연구에서도 25°C에서 약 48시간동안 배양한 결과 3번에 걸친 시도에서 모두 같은 결과를 보여준 반면 37°C에서는 일정한 반응결과를 보여주지 않았다.

*A. hydrophila*의 예방에는 스트레스 인자들을 제거 혹은 줄여주는 것이 가장 중요하다. 뿐만 아니라 본 증례와 같이 수온이 저수온기로 하강하는 11월에도 발병이 가능하므로 여름뿐만 아니라 전 계절에 걸쳐 사양관리에 힘쓰는 것이 가장 중요할 것으로 사료된다. 특히, 새로운 어류를 도입 시 외부 유입으로 인한 질병이 발생할 가능성이 많으므로, 도입 후 3주간의 격리와 관찰이 필요하며, 이러한 검역과정이 끝난 다음 기존의 무리와 같이 사양하는 것이 중요하다(9). 만약 *A. hydrophila* 감염이 발생한 경우 치료를 위하여 chloramphenicol, oxytetracycline, streptomycin과 penicillin을

병용하여 치료하는 것을 권장하고 있으나(2,6,25), 처치 후에도 예후는 불량하여 치어나 자어의 경우 100%의 사망률이 보고되었다(1). 본 증례와 같이 *A. hydrophila*는 치어나 자어가 아닌 성어에서도 발병하여 대량으로 피해를 유발할 수 있기에 도입 초기에 철저한 검역이 필요하며 겨울철에도 사양에 있어서도 많은 주의가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

초겨울 저수온기에 비단잉어 성어에서 대량폐사가 발생하였다. 전문 양어장에서 분양을 받아서 안정화시킨 후 연못으로 옮겼으나 사양 중 질병이 발생하여 자의적으로 황토를 넣어 치료를 시도하였다. 그러나 탁도만 상승시켜 수질 악화를 유발하였고 폐사는 지속되었다.

병어의 부검결과 근육까지 노출되는 심한 피부병변이 주로 관찰되었고, 아가미의 부식과 함께 개복 시 복수와 간과 비장의 종대가 관찰되었다. 병리조직학적으로는 피부, 간, 신장 및 심장에서 다양한 괴사 병변과 세균의 군집이 관찰되었다. 병변부위에서 세균을 분리, 동정한 결과 *A. hydrophila*를 확인 할 수 있었다.

본 증례는 인적이 드문 산중턱에 위치한 연못에 지하수를 공급하여 양어하였기에 상류의 오염이나 다른 기계적 전파가 의심되지 않았고, 질병의 발생은 이미 감염된 병어가 본 연못에 도입되어 발병한 것으로 사료된다. 따라서 겨울철, 성어에서도 *A. hydrophila*는 발병하여 대량 폐사를 유발할 수 있음을 보였기에 이에 대한 주의가 필요하다. 또한 도입 초기 충분한 검역기간을 통하여 예방에 주의를 기울일 필요가 있다.

참 고 문 헌

1. Camus AC, Burrow RM, Hemstreet WG, Thure RL, Hawke JP. *Aeromonas* bacterial infections-motile Aeromonas septicemia. Southern Regional Aquaculture Centre Publication 1998: No 478.
2. Cipriano RC. *Aeromonas hydrophila* and motile Aeromonas septicemias of fish. Fish Dis Leaflet 68, United States Department of the Interior fish and wildlifeservice, Division of Fishery research. Washington, DC 2001: 1-25.
3. Davis JW, Sizemore RK. Nonselectivity of Rimler-Shotts medium for *Aeromonas hydrophila* in estuarine environments. Appl Environ Microbiol 1981; 42: 544 - 545.
4. Eurell TE, Lewis DH, Grumbles LC. Comparison of selected diagnostic tests for the detection of motile *Aeromonas* septicemia in fish. Am J Vet Res 1978; 39: 1384-1386.
5. Grizzle JM, Kiryu Y. Histopathology of gill, liver, and pancreas, and serum enzyme levels of channel catfish infected with *Aeromonas hydrophila* complex. J Aquat Anim Hlth 1993; 5: 36 - 50.
6. Guz L, Kozinska E. Antibiotic susceptibility of *Aeromonas hydrophila* and *A. sobria* isolated from farmed carp (*Cyprinus carpio* L). Bull Vet Inst Pulawy 2004; 48: 391-395.
7. Huang YW, Leung CK, Harrison MA, Gates KW. Fate of

- Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila* on catfish fillets cooked in a microwave oven. J Food Sci 1993; 58: 519-521.
8. Inglis V, Roberts RJ, Bromage NR. Motile aeromonad septicemia. In: Bacterial diseases of fish, 1st ed. Massachusetts: Blackwell Science. 1993: 143-156.
 9. Johnson EL. Basics of koi health. In: Koi health and disease, 1st ed. Georgia: E.L. Johnson, Johnson Veterinary Services. 1997: 8-31.
 10. Kritsky DC, Heckmann R. Species of *Dactylogyrus* (Monogeneoidea: Dactylogyridae) and *Trichodina mutabilis* (Ciliata) infesting koi Carp, *Cyprinus carpio*, during mass mortality at a commercial rearing facility in Utah, U.S.A. Comp Parasitol 2002; 69: 217-218.
 11. Lewis DH. Immunoenzyme microscopy for differentiating among systemic bacterial pathogens of fish. Can J Fish Aquat Sci 1981; 38: 463-466.
 12. Lio-Po GD, Albriht LJ, AlaDide-Tendencia EV. *Aeromonas hydrophila* in the epizootic ulcerative syndrome (EUS) of snakehead (*Ophicephalus striatus*) and catfish (*Clarias batrachus*): quantitative estimation in natural infection and experimental induction of dermomyoscular necrotic lesion. In: Shariff M, Subasinghe RP, Arthur J R. (eds) Diseases in Asian aquaculture I, Fish Health Section, Asian Fish Soc Manila, Philippines. 1992: 461 - 474.
 13. Mishra SS. Use of dot immunoassay for rapid detection of pathogenic bacteria *Vibrio alginolyticus* and *Aeromonas hydrophila* from shrimps and fishes. Indian J Mar Sci 1998; 27: 222-226.
 14. Noga JN. Monogenean infestation. In: Fish disease: diagnosis and treatment, 1st ed. Missouri: Mosby. 1996: 88-93.
 15. Paniagua C, Rivero O, Anguita J, Naharro G. Pathogenicity factors and virulence for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) or motile *Aeromonas* spp. isolated from a river. J Clin Microbiol 1990; 28: 350-355.
 16. Plumb JA. Health maintenance of cultured fishes. In: Principal microbial diseases, 1st ed. Boca Raton, Florida: CRC Press. 1994: 254.
 17. Popoff M, Veron M. A taxonomic study of the *Aeromonas hydrophila*-*Aeromonas punctata* group. J Gen Microbiol 1976; 94: 11-22.
 18. Shotts EB, Rimler R. Medium for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. J Appl Microbiol 1973; 26: 550-553.
 19. Soltani M, Khorasgani MR. Evaluation of indirect immunofluorescent antibody technique for detection of *Vibrio anguillarum* and *Aeromonas hydrophila* infections in cultured fish and prawn. J Facul Vet Med 1999; 54: 78-84.
 20. Swann L, White MR. Diagnosis and treatment of *Aeromonas hydrophila* infection of fish. Aquaculture extension- Illinois-Indiana Sea Grant Program. 1989: 91-92.
 21. Topic PN, Coz-Rakovac R, Strunjak-Perovic I. Commercial phenotypic tests (API 20E) in diagnosis of fish bacteria: a review. Vet Med Czech 2007; 52: 49-53.
 22. Trust TJ, Bull LM, Currie BR, Buckley JT. Obligate anaerobic bacteria in the gastrointestinal microflora of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), goldfish (*Carassius auratus*), and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J Fish Res Board Can 1974; 36: 1174-1179.
 23. Ventura MT, Grizzle JM. Lesions associated with natural and experimental infections of *Aeromonas hydrophila* in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). J Fish Dis 1988; 11: 397-407.
 24. Von GA, Mensch AH. The genus *Aeromonas* in human bacteriology: report of 30 cases and review of the literature. N Engl J Med 1968; 278: 245-249.
 25. Wildgoose WH. Therapeutics. In: BSAVA Manual of ornamental fish, 2nd ed. England: BSAVA. 2001: 231-258.
 26. Woo PTK, Bruno DW. Motile aeromonads (*Aeromonas hydrophila*). In: Fish diseases and disorders, 1st ed. Wallingford: CABI Publishing. 1999: 427-453.
 27. Woo PTK, Bruno DW, Lim LHS. Infectious diseases of warm water fish in fresh water. In: Diseases and disorders of finfish in cage culture, 1st ed. Wallingford: CABI Publishing. 2002: 236-241.
 28. Yildiz H, Bekcan S, Karasu Benli AC, Akan M. Some blood parameters in the eel (*Anguilla anguilla*) spontaneously infected with *Aeromonas hydrophila*. Israel J Vet Med 2005; 60: 91-92.