

## 국내 양식 넙치에서 발생하는 연쇄구균병에 관하여

이남실<sup>1</sup> · 민은영<sup>1</sup> · 김광일<sup>2</sup> · 최혜승<sup>1</sup> · 정승희<sup>3</sup> · 조미영<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>국립수산과학원 병리연구과

<sup>2</sup>부경대학교 수산생명의학과

<sup>3</sup>국립수산과학원 양식관리과

### About Streptococcosis of Cultured Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus* in South Korea

Nam-Sil Lee<sup>1</sup>, Eunyoung Min<sup>1</sup>, Kwang Il Kim<sup>2</sup>, Hye Sung Choi<sup>1</sup>, Sung-hee Jung<sup>3</sup>, Miyoung Cho<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Pathology Division, National Institute of Fisheries Sciences, Busan 46083, Korea

<sup>2</sup>Department of Aquatic life medicine, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

<sup>3</sup>Aquaculture Management Division, National Institute of Fisheries Sciences, Busan 46083, Korea

#### Corresponding Author

Miyoung Cho

Pathology Division, National Institute of Fisheries Sciences, Busan 46083, Korea

E-mail : mycho69@korea.kr

Received : March 27, 2020

Revised : May 19, 2020

Accepted : June 08, 2020

본 내용은 최근 국내 양식 넙치에서 발생하는 연쇄구균병에 관하여 정리한 내용으로, 주요 균종은 *Streptococcus iniae*, *S. parauberis* 그리고 *Lactococcus garvieae*이다. 최근 발생경향은 지금까지 보고된 내용과 2002년에서 2017년 사이에 국립수산과학원 균주은행의 기탁균주에 대한 정보를 기초자료로 검토하였다. *S. iniae*와 *L. garvieae*는 계속 검출빈도가 줄어들었고, 균주은행 기탁균주의 경우에도 두 균주 각각 2012년과 2002년 이후로 기탁 건수가 없었다. 최근 양식 넙치에서 우점적으로 분리되는 연쇄구균병의 원인세균은 *S. parauberis*이다. 또한 육안적 증상과 병리조직학적 변화를 함께 비교·검토하였는데, *S. iniae* 감염에서는 안구백탁, 출혈, 장염 그리고 복수저류가, *S. parauberis* 감염에서는 체색흑화, 심외막염이 주요증상이다. *L. garvieae* 감염은 연쇄구균병에서 나타나는 증상이 공통적으로 나타나지만, 독성은 다른 두 종의 증상과 비교하여 약한 것으로 판단되었다. 병리조직학적 증상은 급성인지 만성인지에 따라 내부 장기 별로 변성진행에 차이를 나타내지만 육안적으로 관찰되는 주요증상이 조직학적 소견에 반영된다.

This review is about current Streptococcosis of cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus* in South Korea. The main bacterial species are *Streptococcus iniae*, *S. parauberis* and *Lactococcus garvieae*. The occurrence trend has been arranged with published data and seed bank (NIFS) data that was examined with deposited strains and the number from 2002 to 2017. *S. iniae* and *L. garvieae* were collected until 2012 and 2002, respectively, but not collected any more after that year. In recent years, the dominant strain of Streptococcosis of cultured olive flounder is *S. parauberis*. The phenotypic and genetic characteristics of standard strains and isolated strains were examined with published paper. Notably, we describe about distinguishing gross signs and histological signs of 3 types of Streptococcosis in this report. White turbidity of eye, hemorrhage, enteritis and ascites are main signs of *S. iniae* infection. Darkness of body surface, hemorrhage in somatic muscle and pericarditis are predominant in occasion *S. parauberis* infection. In occasion of *L. garvieae* infection, common signs of Streptococcosis are revealed, but these are weak tendency compared with the previous two cases.

**Keywords:** Streptococcosis, *S. parauberis*, *S. iniae*, *L. garvieae*, Olive flounder

## 서론

수생동물의 세균성 질병 가운데 지리적 차이 없이 광범위하게 발생하는 패혈성 질환(septicaemic disease)의 한 가지로 연쇄구균병(*Streptococcosis*)이 있다. 연쇄구균은 육상동물에서도 그 감염증이 잘 알려져 있으며 원인세균에 관한 다양하고 많은 보고가 이루어져 있다(CFSPH, 2005). 전 세계적으로 다양한 어류에서 감염사례가 알려진 대표적인 연쇄구균으로 *Streptococcus parauberis*, *S. iniae*, *S. agalactiae*, *Lactococcus garvieae* 그리고 *S. dysgalactiae* 등을 들 수 있다(Mishra et al., 2018). 연쇄구균병은 다양한 요인, 예를 들면 숙주의 연령, 면역상태, 병원체의 종이나 세균주의 type, 그리고 다양한 환경조건 등에 따라 발병이 좌우되는 질병으로 (Ghittino et al., 1999; Ravelo et al., 2001; Vendrell et al., 2006) 경우에 따라 진단과 치료에 어려움을 겪기도 한다. 틸라피아의 *S. agalactiae* 감염증상에 관한 연구에서도 염분농도와 같은 환경적 조건이 질병의 증상에 차이를 가져올 수 있다는 것을 알 수 있었고(Chang and Plumb, 1996), 같은 *S. iniae*라도 분리되는 지역에 따라 점액성이나 용혈성에 차이를 나타내는 것을 확인하였다(Lau et al., 2006). 어체가 보균상태이지만 감염세균의 병원성이 약하여 병적 증상을 나타내지 않는 무증상 어체인 경우는 정확한 동정에 어려움을 주기도 한다(Bromage et al., 1999).

세균동정으로 병원체를 밝혀내는 것은 진단에서 매우 중요한 작업으로, 일부 생화학적 특징에 대한 데이터베이스(RAPID Strep strip, VITEK systems, API 20E STREP, Rapid Strep 32, ATB Expression system)와 함께 분자생물학적 방법이 기초가 되고 있다. 분리된 세균에 대한 증을 특이적으로 동정할 수 있는 유전자의 선택적인 부위를 찾아내는 것이 연쇄구균을 비롯한 다른 다양한 병원세균을 신속하게 확인하기 위한 중요한 연구분야이기도 하다. 또한 *S. iniae*의 유전적 특징과 독성에 관한 연구(Fuller et al., 2001), *L. garvieae*의 유전자와 혈청학적 차이를 분석한 연구(Barnes and Ellis, 2004) 및 방어에서 분리된 *L. garvieae*와 다른 어종이나 육상동물에서 분리된 *L. garvieae*의 독성과 병원성 그리고 유전적 특징을 비교하는 등(Kawanishi et al., 2006), 유전적 연구와 함께 병원체의 특성을 파악하는 연구들이 있다. 이와 함께 질병치료와 관련하여 넙치양식에서 오랫동안 사용해 오던 항생제에 의해 발생한 항생제 내성이 *S. iniae* 보다 *S. parauberis*에서 더 많이 발생한다는 보고(Park et al., 2009), 균이 분리된 지역적 차이에 따른 *L. garvieae*의 감수성이나 내성의 다양성에 관한 보고(Diler et al., 2002; Ravelo et al., 2001; Vendrell et al., 2006)와 같이 진단과 치료를 위한 다양한 연구가 진행되어져 왔음을 알 수 있다.

양식어류의 세균성 질병진단법에는 감염어로부터 배양·분리된 세균에 대한 분자생물학적 분석법(PCR법)이 일반적인 신속진단법으로 사용되고 있으며, 감염어의 조직에 대한 병리조직학적, 분자조직학적 분석법으로 조직 내 병원체를 확인함으로써 확정진단에 사용하기도 한다. 그러나 세균분리와 동정 이전에 외부증상이나

해부학적 증상 등 육안적 증상으로 질병의 원인을 예상하는 경우도 흔히 있다. 세균성 질병은 원인세균이 다른 경우라도 유사한 증상을 나타내는 경우가 많아 세균을 분리, 동정하기 전까지 원인세균을 확정하는 것이 어렵지만, 원인세균에 따라서는 특징적인 외부증상이나 내부증상을 나타내는 경우도 많기 때문에 육안적 소견을 통하여 질병원인을 추정할 수 있다. 우리나라의 주요 양식 어종인 넙치의 세균성 질병 가운데 문제가 되고 있는 연쇄구균병의 원인세균은 *S. parauberis*, *S. iniae*, *L. garvieae* 이상의 3종으로 축소된다. 본 review는 이들 3종의 연쇄구균에 의해 우리나라 양식 넙치에서 발병하는 연쇄구균병의 발생동향과 이들 균에 대한 세균학적 특징, 유전학적 특징에 대한 지금까지 연구보고의 요약과 양식 넙치에서 나타나는 주요 3종 연쇄구균병의 육안적 증상 및 현미경적 증상에 대한 특징에 대해 정리하고자 한다.

## 본론

### 1. 연쇄구균병의 원인세균 분리 비율 및 동향

넙치의 양식생산 규모가 점점 증가하면서 다양한 원인의 감염성 질병도 증가하고 있다(Jung et al., 2012). 세균성 질병 가운데 *Vibrio* sp. 다음으로 매년 많이 검출되고 있는 원인세균이 연쇄구균과(*Streptococcaceae*) 세균이다. 우리나라 양식 넙치에서 연쇄구균병으로 진단되어 검출되는 균종은 *S. iniae*, *S. parauberis* 그리고 *L. garvieae*의 3종이다.

Jeong 등(2006)에 따르면 2003년에서 2005년 사이의 제주지역 양식 넙치에서의 연쇄구균병 발생동향에 관한 연구에서 198개의 분리균주 가운데 *S. iniae*가 91균주(46%), *S. parauberis*가 107균주(54%)로 나타났으며, *L. garvieae*는 검출되지 않았다. *S. iniae*는 고수온기와 소고기인 9~10월에 검출율이 높고 *S. parauberis*는 해수 온도 14~17°C 사이인 3~5월에 상대적으로 높은 검출 비율을 보이는 것으로 나타났다(Jeong et al., 2006). Shin 등(2006)의 2001년 우리나라 제주와 남해의 양식 넙치에서 발생한 연쇄구균병에 대한 조사에서는 분리균주 12개 중 11개 균주가 *S. iniae*였으며 나머지 1개는 *L. garvieae*로 동정되었고, Baeck 등(2006)의 2005년도 조사에 따르면 제주도 양식 넙치 22마리에서 발생한 연쇄구균병을 조사한 결과, 3건은 *L. garvieae* 그리고 나머지 18건은 *S. parauberis*가 원인으로 확인되었다. 따라서 우리나라 양식 넙치에서 검출된 연쇄구균은 *L. garvieae*에 비해 *S. iniae*와 *S. parauberis* 이 높은 비율로 검출되는 것을 알 수 있다. 2002년 이후 넙치 병어로부터 분리되어 본 연구기관(균주은행)에 기탁된 균주의 동정 결과에서도 *L. garvieae*는 매년 1~2개 균주가 기탁되어 오다가 2005년 이후로 기탁 건수가 없었으며, 2012년부터는 *S. iniae*도 기탁 건수가 발생되지 않아, 최근 우리나라 양식 넙치에서 발생하는 연쇄구균병은 대부분 *S. parauberis*가 원인이었음을 알 수 있다 (Fig. 1).

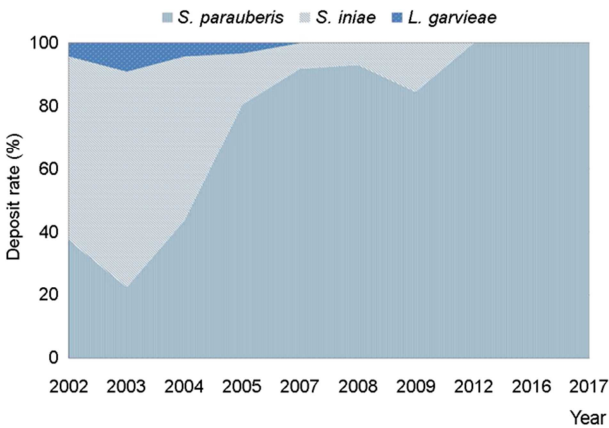


Fig. 1. Change of percentage about deposit strains isolated from cultured olive flounder in Streptococcosis from 2002 to 2017.

3 Kinds of Streptococcaceae in cultured flounder		
Gram-positive coccus, non-motile		
<i>Streptococcus iniae</i>	<i>Streptococcus parauberis</i>	<i>Lactococcus garvieae</i>
β-heamolysis	α- & γ-heamolysis	α- & γ-heamolysis
VP test negative (-)	VP test positive (+)	VP test positive (+,-)
PAL test negative (+)	PAL test positive (+,-)	PAL test positive (-)
		High NaCl (6.5%) Resistance (+) pH (9.6) Culturable in bile (40%) contain medium
(Baeck et al., 2006; Lee et al., 2001, 2007; Nho et al., 2009; Shin et al., 2006; Woo et al., 2006)		

Fig. 2. Characteristics comparison of 3 Streptococcaceae.

## 2. *S. iniae*, *S. parauberis* 그리고 *L. garvieae* 유전학적 분석

세균의 종(species) 분석을 위해 유전 분석 마커(molecular marker)는 매우 중요하게 활용된다. 일반적으로 16S rRNA, 23S rRNA, rpoB, gyrB, dnaK 등 다양한 유전부위가 목적부위로 사용되고 있다(Liu et al., 2012). 연쇄구균병의 진단에서도 16S rRNA 부위의 유전자 분석을 통해 진단에 활용하는 것이 효과적이며 정확한 방법으로 통용되고 있고(Zlotkin et al., 1998a, 1998b; Nho et al., 2009; Lämmle, 1998), Streptococcus 6종에 해당되는 51균주의 16S rDNA 염기서열 분석에 의한 계통수가 Mishra et al. (2018)에도 나타나 있다. 이외에도 heat-shock protein과 관련된 groESL genes과 tRNA gene intergenic spacer regions (ITSs) 부위(Teng et al., 2002; Tung, 2007)를 바탕으로 한 분석법 등, 다양한 후보유전자들에 대한 연구가 이루어졌음을 알 수 있다(Mishra et al., 2018). 넙치에서 분리

되는 3종의 연쇄구균 *S. iniae*와 *S. parauberis* 그리고 *L. garvieae*의 경우 multiplex PCR법을 통한 분석으로 신속하게 구분이 가능하며, 이 방법이 널리 활용되고 있다(Baek et al., 2006; Mata et al., 2004).

## 3. *S. iniae*, *S. parauberis* 그리고 *L. garvieae* 생화학적 특징

표준균주와 분리균주를 대상으로 생화학적 특성을 조사했을 때, 같은 종이라도 분리균주에 따라 다수의 검사항목에서 일관성 없는 결과가 나타나는 경우가 많다. *S. iniae*와 *S. parauberis* 사이에 비교적 명확하게 구분되는 항목을 보면 VP (acetoin production from pyruvate), HIP (hipurate hydrolysis), MDG (β-Methyl-D-Glucoside)에서 *S. iniae*는 음성(-)으로 *S. parauberis*는 양성(+)으로 반응하며, PYRA (pyrrolidonyl arylamidase), AMD (acidification from starch), LAC (L-Lactic acid) 항목에서 *S. iniae*는 양성(+)으로, *S. parauberis*는 음성(-)으로 반응하는 것을 확인하였다(Lee et al., 2007). 그러나 Nho 등(2009)의 조사에서는 두 종의 균 사이에 100% 차이를 나타내는 생화학적 특징은 VP 항목뿐인 것으로 나타났다. 반면, *L. garvieae*는 VP에서 *S. parauberis*와 같은 양성(+) 반응을 나타낸다(Baek et al., 2006). *L. garvieae*가 *S. iniae* 혹은 *S. parauberis*와 구별되는 생화학적 특징은 PAL (Alkaline phosphatase) 항목에서 음성(-)을 나타낸다는 것이다(Lee et al., 2007; Baek et al., 2006; Shin et al., 2006). 그러나 Nho 등(2009)의 결과에서는 *S. parauberis* 분리균주 86개에 대한 PAL결과가 1개 균주(1.2%)에서만 양성(+)을 나타내어 생화학적 특징에 차이를 보이기도 하였다.

용혈성에 대한 특징을 관찰한 결과에서는 α-용혈성 86개 분리균주와 β-용혈성 65개 분리균주를 비교했을 때 α-용혈성은 모두 *S. parauberis*로 β-용혈성은 모두 *S. iniae*로 동정되었다(Nho et al., 2009). 그러나 Jeong 등(2006)의 198개의 분리균주에 대한 조사에서는 107개의 *S. parauberis* 균주가 α-혹은 γ-용혈성으로 양분되었으며, Woo 등(2006)에서는 *S. parauberis* 표준균주(KCTC3651)와 분리균주 5균주가 모두 γ-용혈성으로 나타났다. Woo 등(2006)에 따르면 *L. garvieae*의 경우 *S. parauberis*나 *S. iniae*에 비해 높은 NaCl 농도(6.5%)와 높은 pH (pH 9.6)에 강한 특징을 지니며, bile (40%) 첨가배지에서 *S. iniae*의 경우 성장이 억제되는 반면 *S. parauberis*는 일부(60%)만이 성장하였고 *L. garvieae*는 90% 이상이 성장하는 것으로 확인하였다(Fig. 2).

Lee 등(2007)은 배양세균의 colony 형태의 특징에 관한 내용도 언급하였는데, *S. iniae*의 colony는 크기가 불규칙적인 것에 반해 *S. parauberis*의 colony는 작고 규칙적인 특징이 있다고 하였다. 병원성은 분리균주로 감염실험 했을 때 균주 또는 환경적인 차이와 숙주의 면역성에 따라서 급성감염 혹은 만성감염으로 진행되는 경우와 무증상 보균어 상태로 진행되는 경우로 나뉘어 감염실험에 어려움을 초래하기도 한다. 앞에서도 서술한 것과 같이 최근에는 균주의 유전학적 정보를 분류에 적극 활용하는 추세이며 생

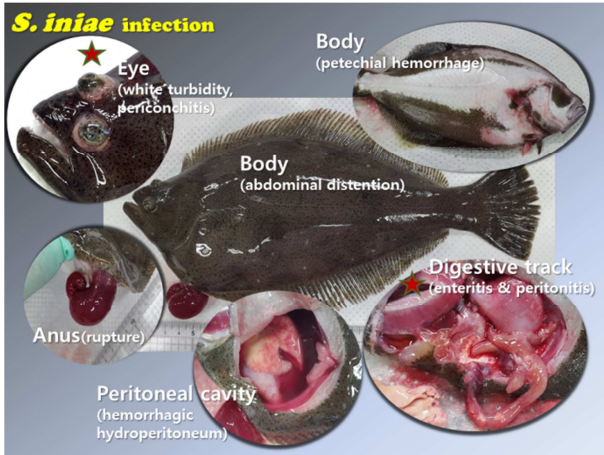


Fig. 3. Gross signs of artificially infected flounder with *Streptococcus iniae* (FP5228).

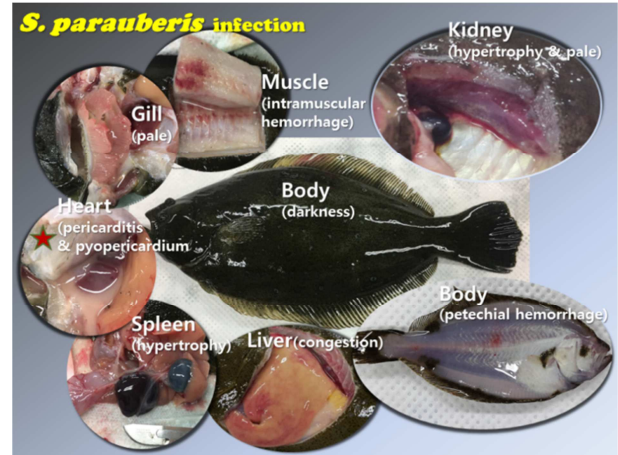


Fig. 4. Gross signs of naturally infected flounder with *Streptococcus parauberis*.

화학적 특징으로 나타나는 균주의 표현형은 유전형이 같은 균주라도 다르게 표현되는 경우가 많아 분류에 혼돈을 가져올 우려가 있으므로 유전적인 분류기준을 적극 활용하는 것이 바람직할 것으로 보이며, 균주의 독성과 관련해서는 표현형이 관여할 것으로 보인다.

#### 4. *S. iniae*, *S. parauberis* 그리고 *L. garvieae*에 감염된 넙치의 육안적 소견

넙치가 연쇄구균병에 감염되었을 때 공통적인 특징은 몸 전체(근육, 지느러미)의 부분적 출혈(hemorrhage)과 근육부의 점상(petechial-) 및 반상출혈(ecchymosis)이 나타난다. 부검시에 관찰할 수 있는 공통적인 증상은 아가미뚜껑 안쪽면과 복강 내벽의 점상 혹은 반상출혈, 간의 울혈(congestion), 비장과 신장의 비대(hypertrophy), 창백한 아가미(pale gill), 소화관 전체의 발적이 관찰되며 심한 경우 복수저류(ascites)와 이로 인한 탈장(rupture)이 동반되고, 안구주위의 염증 또는 출혈과 함께 양쪽 혹은 한쪽 안구의 백탁(white turbidity)과 돌출(exophthalmos) 등이 나타날 수도 있다. 다른 어종에서의 연쇄구균병은 뇌막염(meningitis)을 주요증상으로 기술하는 경우도 많지만(Roberts, 2001) 넙치에는 뇌막염을 주요증상으로 설명한 보고는 드물다.

넙치 양식장에서 자연 발생한 임상 예와 실험시설에서 실시한 인위감염에서 재현된 발병 증례의 관찰 결과에 따르면(Choi et al., 2009; Lee et al., 2001; Lee et al., 2007), *S. iniae*, *S. parauberis*와 *L. garvieae*의 세균감염으로 인한 양식 넙치의 연쇄구균병에서 나타나는 육안적 소견은 공통적인 부분이 많지만 *S. iniae* 감염증의 경우 특징적으로 많이 나타나는 증상은 안구주위(안와; orbit)의 염증으로 인해 안구돌출 및 안구백탁이 나타나는 것이며, 간혹 안

구주위로 출혈증상도 동반한다. 또 다른 증상으로 소화관의 염증(enteritis)과 복강 내 출혈성 복수(ascitic fluid)의 저류와 같은 소견이 빈번하게 관찰되는 것을 들 수 있다. Fig. 3은 2005년도에 분리되어 국립수산물시험원 균주은행에 보관중이던 *S. iniae* 균주(FP5228)로 인위감염을 실시하여 발현된 증상을 기초로 만든 자료이다. 물론 이런 증상이 다른 두 종의 감염증상에서 전혀 관찰되지 않는 것은 아니라, 관찰되는 빈도로 보았을 때 *S. iniae* 감염에서 높은 것으로 보인다.

*S. parauberis*에 감염된 넙치에서 나타나는 특징적인 증상은 체색흑화, 심외막염 그리고 복강 내 장기와 이들 사이에서 나타나는 장막염(serositis)을 들 수 있다. 특히 중증의 감염으로 심외막염이 심한 개체는 심강 내에 유백색의 화농성 액체가 고여있는 증상을 종종 관찰할 수 있다. Fig. 4는 2018년도 넙치 양식시설에서 자연감염 되어 발병된 넙치의 증상을 참고로 만든 자료이다. Lee 등(2007)의 보고에서도 연쇄구균병의 넙치에서 *S. iniae*가 분리된 병어는 주로 안구돌출과 복부팽만이, *S. parauberis*가 분리된 병어는 체색흑화가 주 증상으로 관찰되는 것으로 보고하고 있다.

넙치에서의 *L. garvieae* 감염 발생 예는 우리나라에서 처음 보고되었으나 *S. parauberis* 그리고 *S. iniae*에 비하면 분리되는 비율이 매우 낮으며 폐사율도 낮은 것으로 확인된다(Baeck et al., 2006; Woo et al., 2006). 2001년에는 연쇄구균병의 넙치에서 분리되는 세균이 *S. iniae* 보다 *L. garvieae*가 우점으로 보고되었지만, 이후에는 점점 *L. garvieae*가 분리되는 빈도가 낮아진 것을 알 수 있으며(Lee et al., 2001; Baeck et al., 2006), 최근에는 *L. garvieae*의 넙치에서 보고된 감염 증례는 찾기 힘들고 감염증상에 대한 설명도 없는 실정이다. 이들 감염 넙치의 육안적 소견을 설명하기 위하여 2005년도에 분리되어 균주은행에 보존 중이던 *L. garvieae* 균주(FP5245)를 사용하여 감염증상의 재현을 위한 인위감염을 수 차



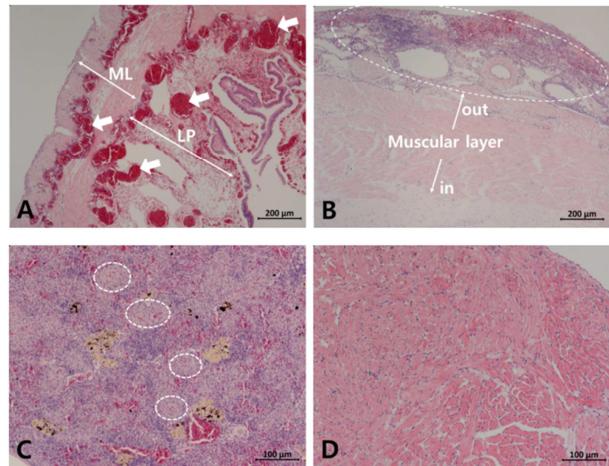
**Fig. 5.** Gross signs of artificially infected flounder with *Lactococcus garvieae* (FP5245).

레 시도하였다. 성어에서는 질병의 증상을 발현시키기 힘들었으나 50 g 전후의 어린 넙치에서 질병 증상이 재현되었다. 외부적으로는 가벼운 점상출혈이나 전반적인 발적을 나타내었으며 안구백탁을 나타내는 개체도 관찰되었다. 높은 농도의 균( $10^{7-8}$  cells/마리)을 주사하여 급성으로 독성을 나타내는 경우는 비장, 신장의 비대는 물론 심장, 간 그리고 소화관과 함께 울혈이나 조직 내 출혈로 인해 발적(rubescence)이 관찰되었다. 경우에 따라서는 아가미와 비대해진 비장, 신장이 창백한 색을 나타내었으며, 감염이 만성적으로 진행되면 안구백탁 혹은 심외막염을 나타내는 개체가 관찰되고 간이 창백해 보이기도 하였다(Fig. 5).

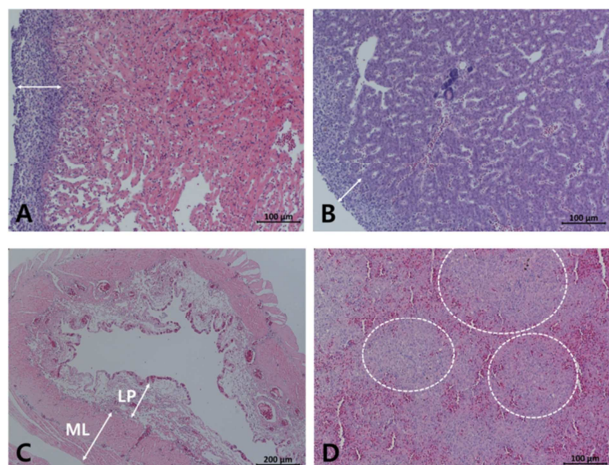
**5. *S. iniae*, *S. parauberis* 그리고 *L. garvieae*에 감염된 넙치의 병리조직학적 특징**

일반적인 연쇄구균병의 병리조직학적 소견은 감염 증상이 급성으로 나타나는 경우와 만성적으로 진행되는 경우에 차이가 나타날 수 있다. 급성은 비장과 신장 같은 조혈조직에 급성으로 영향을 미쳐 조혈세포 및 혈구세포의 괴사, 변성이 급격히 진행되며, 심장의 심근염이 뚜렷하게 관찰된다. 그러나 만성적으로 진행되면 비교적 조혈조직에 직접적으로 미치는 영향은 약해지고 어체의 내부장기와 체표에 장막염이나 충·출혈이 진행되거나 안구백탁 혹은 출혈로 관찰되는 예가 많다.

*S. iniae*에 감염된 넙치의 병리조직학적 특징은 소화관 조직 내의 출혈 또는 혈관 내의 충혈이 관찰되는 것이며, 특히 후장과 직장에서 이러한 소견이 뚜렷하게 관찰된다(Fig. 6B). 소화관의 두꺼운 근육층(muscular layer) 바깥쪽에 있는 점막하층(submucosa)에서 염증반응 및 조직변성이 관찰된다(Fig. 6A). 다른 연쇄구균병과 유사하게 비장, 신장의 조혈조직 변성과 비장의 협조직(ellipsoid)



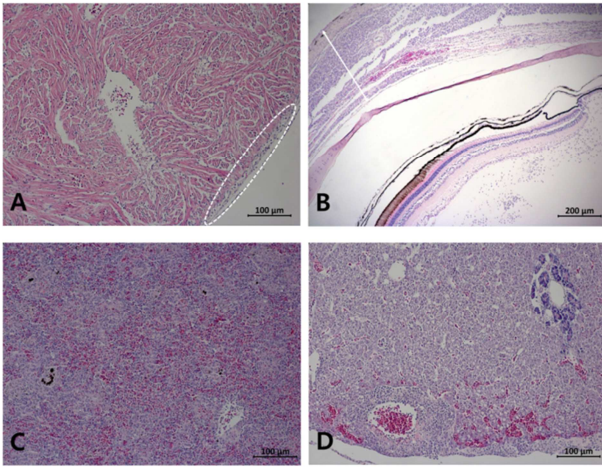
**Fig. 6.** Histopathological features of olive flounder experimentally infected with *S. iniae*. (A) Rectum (LP; lamina propria, M; muscular layer, arrows; congestion), (B) Stomach (circle; inflammation in serosa), (C) Spleen (circles; ellipsoids), (D) Heart (Light myocarditis).



**Fig. 7.** Histopathological features of olive flounder naturally infected with *S. parauberis*. (A) Heart (distance; inflammatory cells layer), (B) Liver (distance; inflammatory cells layer), (C) Intestine (LP; lamina propria, ML; muscular layer), (D) Spleen (circles; increase of white cells).

비대가 관찰되지만 *S. parauberis*에서 나타나는 형태와 비교하면 그 반응이 약하고(Fig. 6C), 심장의 근세포 변성과 염증반응도 다른 두 종의 연쇄구균병과 비교했을 때 약하게 나타난다(Fig. 6D).

*S. parauberis*에 감염된 넙치의 병리조직학적 특징은 심근염을 비롯한 심외막염이 뚜렷하며(Fig. 7A), 복강 내 간, 비장, 소화관에서도 장막염이 관찰되는 것을 특징으로 들 수 있다(Fig. 7B). 이 외에도 연쇄구균병에서 공통적으로 나타나는 장울혈과 조직 내 출



**Fig. 8.** Histopathological features of olive flounder experimentally infected with *L. garvieae*. (A) Heart (circle; inflammatory cells), (B) Eye (distance; inflammatory cells layer in sclera), (C) Spleen (Light increase of white cells), (D) Liver (Congestion & inflammation around vein).

혈이 관찰되며(Fig. 7C), 비장과 신장의 조혈조직 변성이 관찰된다. 비장의 혈조직 비대와 그 주위로 대식세포를 비롯한 백혈구계 세포(white cells)의 증가로 밝은색으로 관찰되는 부분이 증가하며(Fig. 7D), 각 장기들(organs)의 바깥 장막층에 염증반응으로 두꺼운 세포층이 형성된 병리조직상이 관찰된다. *S. parauberis*의 실험 감염을 통한 넙치의 병리조직학적 소견을 언급한 보고에서도 심외막염(pericarditis)과 심근염(myocarditis)에 대하여 설명하고 있다(Choi et al., 2009).

*L. garvieae*에 감염된 넙치의 병리조직학적 정보는 지금까지 보고된 내용이 없어 감염실험을 통하여 조직표본을 제작하여 관찰하였으며, 비교적 높은 농도로 주사하였을 때( $10^7$ /마리) 감염증상이 재현되었다. 그 결과, 심장, 비장, 신장 및 간의 조직변성이 관찰되고, 특히 심장에서는 *S. parauberis* 보다는 약하지만 심막염 및 심근염이 관찰된다(Fig. 8A). 안구백탁이 있었던 개체는 안구공막(sclera)에 두꺼운 염증반응을 나타내는 세포층이 관찰되며(Fig. 8B), 비장은 조혈조직 전반에 세포괴사를 동반한 조직변성이 약하게 나타나거나 뚜렷한 변성이 없는 것으로 관찰된다(Fig. 8C). 소화관 상피의 탈락과 함께 중심 결합조직과 점막고유층에서 염증성세포의 침윤이 관찰된다. 육안적으로 간의 발적이 관찰되는 개체는 간의 가장자리로 조직 내 출혈이나 혈관 내 울혈이 관찰되며 그 주위로 염증반응도 함께 나타난다(Fig. 8D).

## 결론

연쇄구균병의 특징은 체표 및 지느러미의 전반에서 점상출혈(petechial hemorrhage)이나 발적(redness)이 나타나며 *S. parauberis*

와 *L. garvieae*에 감염된 넙치는 체색흑화(darkness)를 나타내는 개체가 많았다. 중증 감염어를 부검했을 때 많은 경우 소화관의 발적(redness)과 충혈(congestion), 복수저류 등의 증상이 관찰되었다. 특징적으로 *S. iniae*와 *L. garvieae* 감염은 백탁(white turbidity)이 나타나는 개체가 비교적 많으며, *S. iniae* 감염의 경우 복강 내 장기 및 복벽의 발적이 심하였다. *S. parauberis* 감염에 의한 연쇄구균병은 심외막염이 특징적인 증상이라 할 수 있다. 감염실험을 통한 병리조직학적 관찰에서 *L. garvieae*의 인위감염으로 심장의 심근 사이로 세균증식이 관찰되는 경우도 있었지만 높은 농도(약  $10^8$  cell/마리)의 균을 주사하였을 때만 나타나는 소견이었으며, 대부분 약한 심외막염이 관찰되었다. 3종의 연쇄구균에 의한 공통적인 증상으로 신장과 비장이 커지며 검붉은 색으로 나타났다가 증상이 심해지면 창백해지며 아가미도 창백해진다. 반대로 간과 소화관은 창백하면서 혈관을 따라 울혈이 나타나다가 증상이 심해지면 조직 내로 출혈이 생기면서 발적이 심해지고, 중증이 지속되면 복수가 복강 내에 고여 소화관을 압박하여 탈장이 나타나기도 한다. 복수저류와 탈장은 *S. iniae* 감염에서 다수 관찰된다. 세균의 독성에 따라 증상의 정도에는 차이가 있을 것으로 보이지만 우리나라 양식 넙치에서 나타나는 연쇄구균병의 증상으로 판단했을 때 넙치에서 분리된 *S. iniae* 그리고 *S. parauberis*와 비교하여 *L. garvieae*의 독성은 약한 것으로 생각된다.

3종의 연쇄상구균으로 인한 넙치의 연쇄구균병은 그 증상이 유사한 듯하지만 각각의 특징이 있으며, 독성에도 차이가 나타났다. 유전정보를 이용하여 신속진단에 널리 활용하고 있으며 용혈성이나 생화학적 성상 등은 같은 균종이라 하더라도 항상 동일하게 나타나는 것이 아니므로 이러한 차이는 균주의 특성으로 이해하는 것이 바람직할 것으로 보인다. 양식 넙치에서 나타나는 연쇄구균병의 원인세균은 환경과 숙주의 조건에 따라 그 특성이 변하고(Chang and Plumb, 1996; Ghittino et al., 1999; Ravelo et al., 2001; Vendrell et al., 2006) 시간이 지남에 따라 우점으로 분리되는 균종도 달라지는 것을 알 수 있다. 이러한 이유로 병어에서 분리되는 균주의 특성과 균종에 대한 연구와 함께 질병에 대한 진단법 개발이 계속 이어지고 있으며, 이러한 변화와 발전에 맞는 지속적인 모니터링과 세균 특성에 관한 다양하고 새로운 연구를 통하여 연쇄구균병은 물론 다른 세균성 질병에 대한 새로운 대처방안의 모색이 계속 진행되어지기를 기대한다.

## 사사

본 review는 국립수산과학원 「수산질병특성연구 (R2020057)」에 의해 수행되었습니다.

## 참고문헌

Baeck GW, Kim JH, Dennis KG, Park SC. 2006. Isolation and characterization of *Streptococcus* sp. from diseased flounder

- (*Paralichthys olivaceus*) in Jeju Island. J Vet Sci 7: 53-58.
- Barnes AC, Ellis AE. 2004. Role of capsule in serotypic differences and complement fixation by *Lactococcus garvieae*. Fish Shellfish Immunol 16: 207-214.
- Bromage ES, Thomas A, Owens L. 1999. *Streptococcus iniae*, a bacterial infection in barramundi *Lates calcarifer*. Dis Aquat Org 36: 177-181.
- CFSPH. The Center for Food Security and Public Health. 2005. Streptococcosis. <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/streptococcosis.pdf>
- Chang PH, Plumb JA. 1996. Histopathology of experimental *Streptococcus* sp. Infection in Tilapia, *Preochromis niloticus* (L.), and channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). J Fish Dis 19: 235-241.
- Choi HJ, Cho M, Lee JI, Kwon MK, Choi DL, Kim JW, Han MC, Lee DC. 2009. The pathogenicity of *Streptococcus parauberis* isolated from cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus*. J Fish Pathol 22: 263-273.
- Diler Ö Altun S, Adiloglu A, Kubilay A, Istikt B. 2002. First occurrence of Streptococcosis affecting farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. Bull Eur Ass Fish Pathol 22: 21-26.
- Fuller JD, Bast DJ, Nizet V, Low DE, Azavedo JC. 2001. *Streptococcus iniae* virulence is associated with a distinct genetic profile. Infect Immun 69: 1994-2000.
- Ghittino C, Accornero P, Prearo M, Rogato F, Zlotkin A, Eldar A. 1999. Coldwater streptococcoses in salmonids, with particular reference to *Vagococcus salmoninarum* infection Proceedings of Workshop in Fish Streptococcoses, IZS-State Veterinary Institute, Turin, Italy.
- Jeong Y-U, Kang C-Y, Kim M-J, Heo M-S, Oh D-C, Kang B-J. 2006. Characterization of Streptococcosis occurrence and molecular identification of the pathogens of cultured flounder in Jeju Island. Kor J Microbiol 42: 199-204.
- Jung SH, Choi H-S, Do JW, Kim MS, Kwon M-G, Seo JS, Hwang JY, Kim S-R, Cho Y, Kim JD, Park MA, Jee B-Y, Cho MY, Kim JW. 2012. Monitoring of bacteria and parasites in cultured olive flounder, black rockfish, red sea bream and shrimp during summer period in Korea from 2007 to 2011. J Fish Pathol 25: 231-241.
- Kawanishi M, Yoshida T, Yagashiro S, Kijima M, Yagyu K, Nakai T, Murakami M, Morita H, Suzuki S. 2006. Differences between *Lactococcus garvieae* isolated from the genus *Seriola* in Japan and those isolated from other animals (trout, terrestrial animals from Europe) with regard to pathogenicity, phage susceptibility and genetic characterization. J App Microbiol 101: 496-504.
- Lämmle CH, Abdulmawjood A, Danic G, Vaillant S, Weig R. 1998. Differentiation of *Streptococcus uberis* and *Streptococcus parauberis* by restriction fragment length polymorphism analysis of the 16S ribosomal RNA gene and further studies on serological properties. Med Sci Res 26: 177-179.
- Lau SK, Woo PC, Luk WK, Fung AM, Hui WT, Fong AH, Chow CW, Wong SS, Yuen KY. 2006. Clinical isolates of *Streptococcus iniae* from Asia are more mucoid and beta-hemolytic than those from North America. Diagn Microbiol Infect Dis 54: 177-181.
- Lee C-H, Kim P-Y, Ko C-S, Oh D-C, Kang B-J. 2007. Biological characteristics of *Streptococcus iniae* and *Streptococcus parauberis* isolated from cultured flounder, *Paralichthys olivaceus*, in Jeju. J Fish Pathol 20: 33-40.
- Lee DC, Lee JI, Park CI, Park SI. 2001. The study on the causal agent of streptococcosis (*Lactococcus garvieae*), isolated from cultured marine fish. J Fish Pathol 14: 71-80.
- Liu W, Li L, Khan MA, Zhu F. 2012. Popular molecular markers in Bacteria. Mol Gen Mikrobiol Virusol 27: 14-17.
- Mata AI, Gibello A, Casamayor Am Blanco MM, Cominquez L, Fernandez-Garayzabal JF. 2004. Multiplex PCR assay for detection of bacterial pathogens associated with warm-water streptococcosis in fish. Appl Environ Microb 70: 3183-3187.
- Mishra A, Nam G-H, Gim J-A, Lee H-E, Jo A, Kim H. 2018. Current challenges of *Streptococcus* infection and effective molecular, cellular and environmental control methods in aquaculture. Molecules and Cells 41: 495-505.
- Nho S-W, Shin G-W, Park S-B, Jang H-B, Cha I-S, Ha M-A, Kim Y-R, Park Y-K, Dalvi RS, Kang B-J, Joh S-J, Jung T-S. 2009. Phenotypic characteristics of *Streptococcus iniae* and *Streptococcus parauberis* isolated from olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) FEMS Microbiol Lett 293: 20-27.
- Park YK, Nho SW, Shin GW, Park SB, Jang HB, Cha IS, Ha MA, Kim YR, Dalvi RS, Kang BJ, Jung T-S. 2009. Antibiotic susceptibility and resistance of *Streptococcus iniae* and *Streptococcus parauberis* isolated from olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Vet Microbiol 136: 76-81.
- Ravelo C, Magarinos B, Romalde JL, Toranzo AE. 2001. Conventional versus miniaturized systems for the phenotypic characterization of *Lactococcus garvieae* strains. Bull Eur Ass Fish Pathol 21: 136-144
- Roberts RJ. 2001. The bacteriology of teleosts. Fish Pathology, W.B. Saunders Publishing, London, 297-331.

- Shin GW, Palaksha KJ, Yang HH, Shin YS, Kim YR, Lee EY, Kim HY, Kim YJ, Oh MJ, Yoshida T, Jung TS. 2006. Discrimination of streptococcosis agents in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Bull Eur Ass Fish Pathol 26: 68-79.
- Teng LJ, Hsueh PR, Tsai JC, Chen PW, Hsu JC, Lai HC, Lee CN, Ho SW. 2002. groESL sequence determination, phylogenetic analysis and species differentiation for viridans group streptococci. J Clin Microbiol 40: 3172-3178.
- Tung SK, Teng LJ, Vanechoutte M, Chen HM, Chang TC. 2007. Identification of species of Abiotrophia, Enterococcus Granulicatella and *Streptococcus* by sequence analysis of the ribosomal 16S-23S intergenic spacer trigon. J Med Microbiol 56: 504-513.
- Vendrell, D, Balcázar JL, Ruiz-Zarzuela I, De Blas I, Gironés O, Múzquiz JL. 2006. *Lactococcus garvieae* in fish; a review. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 29: 177-198.
- Woo SH, Kim HJ, Lee JS, Kim JW, Park SI. 2006. Pathogenicity and classification of streptococci isolated from cultured marine fishes. J Fish Pathol 19: 17-33.
- Zlotkin A, Eldar A, Ghittino C, Bcovier H. 1998a. Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR. Journal of Clinical Microbiology 36: 983-985.
- Zlotkin A, Hershki H, Eldar A. 1998b. Possible transmission of *Streptococcus iniae* from wild fish to cultured marine fish. Appl. Environ. Microbiol 64: 4065-4067.