



Tiamulin 항생제가 *Streptococcus parauberis* KSP28에 감염된 넙치(*Paralichthys olivaceus*)에 나타내는 치료효과와 부작용

주민수 · 김보성* · 김도형** · 이지훈*** · 서정수*** · 권문경**** · 박찬일†
경상대학교(학생) · *국립수산과학원(연구소) · **부경대학교(교수) · ***국립수산과학원(연구소) ·
****국립수산과학원(연구관) · †경상대학교(교수)

Therapeutic Effects and Side Effects of Tiamulin Antibiotics on *Streptococcus parauberis* KSP28 infected Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*)

Min-Soo JOO · Boseong KIM* · Do-Hyung KIM** · Ji-Hoon LEE*** · Jung-Soo SEO*** ·
Mun-Gyeong KWON**** · Chan-Il PARK†

Gyeongsang National University(student) · *National Institute of Fisheries Science(researcher) · **Pukyong National
University(professor) · ***National Institute of Fisheries Science (researcher) · ****National Institute of Fisheries
Science(senior researcher) · †Gyeongsang National University(professor)

Abstract

The diseases caused by *Streptococcus* sp. are frequently outbreak in olive flounder aquaculture farms in South Korea, and antibiotics are often abused to control the disease. This results in resistant strains that cannot be treated with existing fisheries antibiotics. In order to apply to other antibiotics, research on use, dosage and safety are essential. Tiamulin is an antibiotic that has good activity against mycoplasma and Gram-positive bacteria. It is mainly used in swine, cattle and poultry. *Streptococcus parauberis* KSP28 infected flounder had the best therapeutic effect at 15 mg/kg when injected intramuscularly, and 15 mg/kg and 30 mg/kg had the same effect when administered orally. However, intramuscular injection showed inflammation and necrosis of the muscles, and glomerulonephritis, renal tubular atrophy, Bowman's capsule expansion, and reticuloendothelial system activity at the high dose group. Therefore, it is not appropriate to apply tiamulin injection to olive flounder because of the serious side effects. In addition, further studies should identify side effects of oral tiamulin administration.

Key words : Tiamulin, Olive flounder, *Streptococcus parauberis*, Therapeutic effects, Side effects

I. 서론

넙치, *Paralichthys olivaceus*는 2018년 기준 우리나라 전체 해산어 양식 생산량 80,127톤 중 37,238톤으로 46.2%의 생산 비율을 차지하고 있는 대표적인 양식 어종이다(Korean statistical

information service, KOSIS). 하지만 수산생물질병으로 인해 매년 폐사가 발생하여 경제적 피해를 입고 있는 실정이다.

2011년, 전국 총 70개소의 넙치 양식장에서 폐사 원인을 조사한 결과 병원체 감염에 의한 넙치 폐사량의 13.57%가 연쇄구균에 의한 것으로 밝혀

† Corresponding author : 055-772-9153, Vinus96@hanmail.net

* 이 논문은 2019년 국립수산과학원 수산생물 방역프로그램 개발운영 지원에 의해 수행되었음.

졌다(Kim et al., 2012). 또한 2015년부터 2017년까지 전남과 제주의 넙치 양식장을 대상으로 폐사 원인을 분석한 결과, 연쇄구균에 의한 폐사 발생 비율이 2015년 9.76%, 2016년 7%, 2017년 2%로 확인되었으며(Shim et al., 2019) 이전 연구에 의하면 2016년 3월부터 2017년 10월까지 제주 지역 넙치 양식장으로부터 연쇄구균병이 발생한 넙치 161마리 중 *S. parauberis*에 감염된 넙치가 160마리로 나타나 *S. parauberis* 균주에 의한 연쇄구균병이 많이 발생하고 있는 것으로 확인되었다(Lee et al., 2018). 이러한 질병들을 치료하기 위해 수산 양식 현장에서는 다양한 항생제들을 사용하고 있다(Kim et al., 2014).

그러나 수산용 의약품의 오·남용으로 인하여 양식 생물의 안전성과 수산식품의 공중위생학적 안전성에 부정적인 영향을 미치며(Katz and Brady, 2000), 내성균이 출현하게 되는 문제가 발생하고 있다(Smith et al., 1994). 내성균주의 출현으로 인해 발생하는 문제들을 해결하기 위해서는 기존의 수산용 의약품을 대체할 수 있는 새로운 의약품의 적용이 필요하며 어병 세균에도 좋은 효과를 나타낼 가능성이 있는 동물용 의약품에 대한 연구가 필요하다.

Tiamulin은 pleuromutilin 계열에 속하는 반합성 항생제이다. Tiamulin은 세균 50S ribosomal subunit의 23rRNA에 강한 친화성을 나타내며 번역이 시작될 때 peptidyl transferase center에 관여하여 펩타이드 결합을 방해하고 세포벽 합성을 억제함으로써 정균활성을 나타낸다(Poulsen et al., 2001). Tiamulin은 mycoplasma나 연쇄구균, 포도상구균과 같은 그람양성균에 대한 항균력이 좋으며 그람음성균에는 비교적 약한 활성을 나타낸다

(Werner et al., 1978, Messier et al., 1990). 따라서 우리나라의 축산 농가에서 주로 돼지의 돈적리, 돼지와 가금류의 이질, 폐렴, mycoplasma 감염에 대한 치료제로써 사용되고 있다.

연쇄구균으로 인해 경제적 피해를 받고 있는 넙치 양식 산업에 tiamulin의 적용 가능성을 확인하기 위해서는 연구를 통해 적절한 투여 농도와 방법, 그리고 넙치에 대한 안전성 등을 확인하고 수산용의약품으로의 안전사용기준을 마련하여야 한다. 따라서 이번 연구에서는 연쇄구균에 감염된 넙치에 대한 tiamulin의 치료 효과와 부작용을 조사하였다.

II. 연구 방법

1. 연쇄구균

2005년, 전라남도 완도 소재의 연쇄구균에 의한 질병이 발생한 양식장의 감염된 넙치에서 분리된 *S. parauberis* KSP28 균주를 부경대학교로부터 분양받아 사용하였다. 균주는 1% NaCl이 첨가된 Brain Heart Infusion Agar (BHIA; Difco., USA)를 사용하여 27°C에서 24시간 배양하였고, 실험에 사용될 때까지 -80°C에 보존하였다. 실험에 사용할 때에는 -80°C에 보관되어 있던 균주를 27°C에서 BHIA에 24시간 배양하고 순수한 colony를 BHI broth에 계대하여 24시간 배양한 후 사용하였다. 또한, 균주를 동정하기 위하여 연쇄구균의 23S rRNA 염기서열에 특이적인 primer를 이용한 polymerase chain reaction (PCR)을 통해 해당 균종을 확인하였다(<Table 1>). PCR 조건은 94°C에서 2분간 initial denaturation 하고, 후에 92°C에서 1분, 55°C에서 1분, 72°C에서 90초를 1회

<Table 1> Specific primer for *S. parauberis* detection

| Primer | Sequences (5'→3') | Target gene | Product size (bp) | Ref. |
|---------|----------------------|-------------|-------------------|--------------|
| Spa2152 | TTTCGTCTGAGGCAATGTTG | 23s rRNA | 718 | Mata et al., |
| Spa2870 | GCTTCATATATCGCTATACT | | | 2004 |

로 하여 총 25회 반응시켰으며, 마지막으로 72°C에서 5분간 final extension 하였다. 동정된 연쇄구균은 인위감염에 사용되었으며, 실험 중에 분리되는 균주들 또한 동정하여 연쇄구균임을 확인하였다.

2. Tiamulin 항생제

(주)성원에서 제조한 성원 티아물린 10% 주사액(본제 1 mL 중 티아물린 100 mg, 프로필렌글리콜 0.2 mL, 벤질알콜 0.01 mL 함유)을 근육주사용으로 사용하였으며 (주)우진B&G에서 제조한 데나가드 39(본제 1 kg 중 티아물린 39 g 함유)를 경구 투여용으로 사용하였다.

3. Tiamulin의 치료효과와 부작용 확인

가. 실험어

실험어는 경상남도 거제 소재의 한 양식장에서부터 구입한 넙치로 *S. parauberis*에 감염된 이력이 없는 것을 사용하였다. Tiamulin 근육주사 치료효과 실험에 사용된 넙치는 평균 체장 16.3 ± 1.6 cm, 평균 체중 60.2 g ± 9.6 g이었으며 tiamulin 경구 투여 치료효과 실험과 부작용 확인에 사용된 강도다리는 평균 체장 19.6 ± 1.9 cm, 평균 체중 97.3 ± 10.8 g 이었다. 실험에 사용하기 전 일주일간 250 L의 유수식 수조에 순치하였다. 실험에 사용된 해수는 여과조를 거쳐 이물질을 제거하여 사용하였고 유수량은 약 2 L/min이었으며 지속적인 유수를 통하여 수질을 유지하였다.

나. Tiamulin 근육주사의 치료효과 조사

연쇄구균에 감염된 넙치에 대하여 tiamulin을 농도별로 근육주사 하였을 때 나타나는 치료효과를 확인하기 위해 먼저 *S. parauberis* KSP28 균주를 3×10⁶ CFU/fish의 농도가 되도록 phosphate buffered saline (PBS)에 현탁시키고 넙치의 등지느러미 기부 100 µL씩 피하주사 하여 인위감

염 시켰다. 인위감염을 실시하고 24시간 후에 tiamulin을 5, 10, 15 mg/kg의 농도가 되도록 PBS에 현탁하여 넙치의 등근육에 100 µL씩 근육주사 하였다. 실험 수온은 가온기를 통해 26°C를 유지하였다. 음성대조구는 연쇄구균과 tiamulin 대신 PBS 만을 주사하였고 양성대조구는 연쇄구균을 인위감염시킨 후에 tiamulin 대신 PBS만을 근육주사 하였다. 대조구에 사용된 넙치는 각 10미였으며 실험구에는 각 20미의 넙치를 사용하였다. 총 14일 간 나타나는 폐사율을 관찰하였고 15일 째에는 생존한 개체를 전량 benzocaine으로 용법과 용량에 맞게 마취시키고 해부하여 신장과 비장을 통해 감염 여부를 확인하고 감염률을 조사하였다.

다. Tiamulin 경구 투여의 치료효과 조사

연쇄구균에 감염된 넙치에 대하여 tiamulin을 농도별로 경구 투여 하였을 때 나타나는 치료효과를 확인하기 위해 먼저 *S. parauberis* KSP28 균주를 3×10⁶ CFU/fish의 농도로 피하주사하여 인위감염시켰다. 인위감염 실시한지 24시간 후 부터 1일 1회씩 5일간 tiamulin을 15, 30 mg/kg의 농도로 100 µL씩 zonde를 사용하여 넙치의 위장에 직접 경구 투여 하였다. 실험 수온은 가온기를 통해 26°C를 유지하였다. 대조구는 연쇄구균을 인위감염시킨 후에 tiamulin 대신 PBS만을 경구 투여하였다. 실험에 사용된 넙치는 각 12미였다. 총 14일 간 나타나는 폐사율을 관찰하였고 15일 째에는 생존한 개체의 감염률을 조사하였다.

라. Tiamulin의 부작용 조사

Tiamulin을 근육주사 하였을 경우 넙치의 근육과 신장, 간에 미치는 부작용을 확인하기 위해 병리조직학적 분석과 혈액학적 검사를 실시하였다. 대조구와 15 mg/kg, 30 mg/kg, 60 mg/kg의 농도로 근육주사한 실험구를 포함한 총 세 가지 구간으로 나누어 실험을 진행하였다. 주사한 후 1, 2, 4, 7, 14, 21일째에 각각의 수조에서 3마리씩 무작위로 선택하여 마취시킨 후 미부정맥으로부터

터 혈액을 채취하고 해부를 통해 간, 신장, 근육(항생제 주사부위)을 적출하였다. 채취한 혈액으로부터 7000 rpm에서 10분간 원심분리를 통해 혈청을 분리하였고 혈청 분석기(FUJI DRI-CHEM 4000i, Japan)로 alanine aminotransferase (ALT)와 aspartate aminotransferase (AST) 수치를 분석하였다. 도출된 결과들 사이의 유의차는 one-way analysis of variance (ANOVA) test로 확인하였고 사후검정은 Tukey test를 통해 실시하였다 ($p < 0.05$). 적출한 조직은 10% 중성 포르말린으로 전 고정하고 해당 시료를 세절하여 동일한 고정액에 후 고정하였다. 이후 70%에서 100% 에탄올로 순차적인 탈수, xylene으로 투명화, paraplant로 치환 과정을 통하여 각 장기를 4 μ m 두께로 절편 제작하여 H&E 염색을 실시하였다. 그 후에 염색된 장기 절편들을 광학현미경상에서 400배율로 관찰하였다. 관찰하여 나타나는 병적 증상은 정도에 따라 정상, 경도, 중등도, 심도로 구분하였다.

III. 연구 결과

1. Tiamulin의 치료효과

가. 근육주사 농도별 치료효과

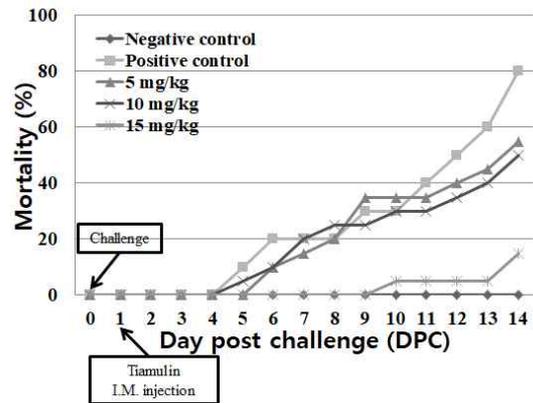
(1) 누적 폐사율

음성대조구에서는 14일간 폐사가 발생하지 않았고 양성대조구의 최종 누적 폐사율은 80%로 확인되었다. 5 mg/kg 실험구는 55%, 10 mg/kg 실험구는 50%의 최종 누적 폐사율을 나타내었으며

15 mg/kg 실험구의 최종 누적 폐사율은 15%로 가장 낮게 나타났다(Fig. 1).

(2) 생존 개체의 감염률

실험 종료 후 생존한 개체들의 감염률을 측정 한 결과, 음성대조구 0%, 양성대조구 50%, 5 mg/kg 실험구 44%, 10 mg/kg 실험구 10%, 15 mg/kg 실험구 11.7%로 확인되었다(<Table 2>).



[Fig. 1] Determination of cumulative mortality from each concentration of tiamulin I.M. injection against olive flounder infected with *S. parauberis* KSP28.

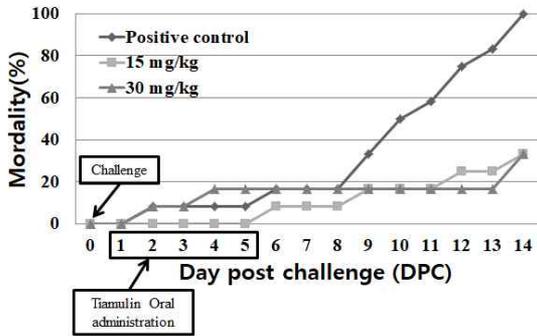
나. 경구 투여 농도별 치료효과

(1) 누적 폐사율

양성대조구의 최종 누적 폐사율은 100%로 확인되었다. 15 mg/kg 실험구와 30 mg/kg 실험구 모두 33%의 최종 누적 폐사율을 나타내었다(Fig. 2).

<Table 2> The cumulative mortality, infection rate and relative survival rate of therapeutic studies in *S. parauberis* KSP28 infected olive flounder by tiamulin I.M. injection.

| Group | Con (-) | Con (+) | 5 mg/kg | 10 mg/kg | 15 mg/kg |
|--|-------------|--------------|---------------|---------------|----------------|
| Cumulative mortality (%) | 0 (0/10) | 80 (8/10) | 55 (11/20) | 50 (10/20) | 15 (3/20) |
| Relative survival rate (%) | 100 | - | 31.2 | 37.5 | 81.25 |
| Infection rate (%) in survival fish | 0 (0/10) | - | 44 (4/9) | 10 (1/10) | 11.7 (2/17) |



[Fig. 2] Determination of cumulative mortality from each concentration of tiamulin oral administration against olive flounder infected with *S. parauberis* KSP28.

(2) 생존 개체의 감염률

실험 종료 후 생존한 개체들의 감염률을 측정 한 결과, 15 mg/kg 실험구 50%, 30 mg/kg 실험구 50%로 확인되었다(<Table 3>).

<Table 3> The cumulative mortality, infection rate and relative survival rate of therapeutic studies in *S. parauberis* KSP28 infected olive flounder by tiamulin oral administration.

| Group | Con (+) | 15 mg/kg | 30 mg/kg |
|----------------------------|-------------|-----------|-----------|
| Cumulative mortality (%) | 100 (12/12) | 33 (4/12) | 33 (4/12) |
| Relative survival rate (%) | 0 | 67 | 67 |
| Infection rate (%) | - | 50 | 50 |
| in survival fish | - | (4/8) | (4/8) |

3. Tiamulin의 부작용

가. Tiamulin 근육주사로 인한 폐사

항생제를 등 근육에 농도별로 주사한 직후 주사 부위 피부가 검게 변색되는 것을 확인할 수 있었으며, 근육 조직 내에 출혈이 발생하였다

([Fig. 3]). 또한 주사 후 2시간 내에 30 mg/kg 실험구에서 32%, 60 mg/kg 실험구에서 68%의 폐사가 발생하였다. 대조구와 15 mg/kg 실험구에서는 폐사가 나타나지 않았다(<Table 4>).



[Fig 3] Skin appearance and muscle hemorrhage of olive flounder immediately after intramuscular injection of tiamulin.

<Table 4> The cumulative mortality rate of side effect studies in *S. parauberis* KSP28 infected olive flounder by tiamulin I.M. injection

| Group | Con | 15 mg/kg | 30 mg/kg | 60 mg/kg |
|--------------------------|----------|----------|-----------|------------|
| Cumulative mortality (%) | 0 (0/25) | 0 (0/25) | 32 (8/25) | 68 (17/25) |

나. 혈청 내 AST/ALT 수치 측정

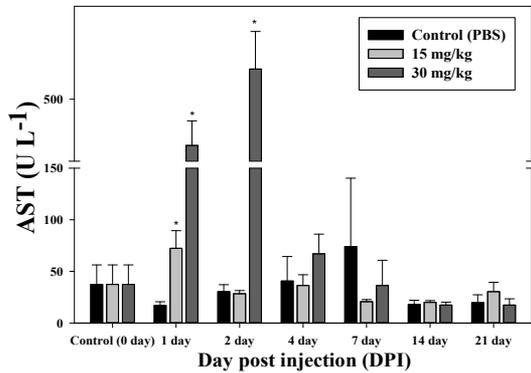
(1) AST 수치

항생제를 등 근육에 농도별로 주사한 지 1일째에 대조구는 평균 17 U/L로 나타났고 15 mg/kg 실험구는 평균 72.3 U/L, 30 mg/kg 실험구는 평균 351 U/L로 확인되었다. 이는 대조구에 비해 모두 유의적으로 높은 값으로 확인되었다. 주사한 지 2일째에 대조구는 평균 30 U/L, 15 mg/kg 실험구는 평균 28.3 U/L로 유의적인 차이가 나타나지 않았지만 30 mg/kg 실험구는 평균 597.6 U/L로 상당히 높은 수치를 나타내었다. 주사한

지 4일째부터 21일째까지는 대조구와 실험구에 서 유의적인 차이를 확인할 수 없었다(Fig. 4).

(2) ALT 수치

항생제를 등 근육에 농도별로 주사한 지 1일째에 대조구는 평균 6.6 U/L로 나타났고 15 mg/kg 실험구는 평균 13.6 U/L, 30 mg/kg 실험구는 평균 87.6 U/L로 나타났으며 대조구와 15 mg/kg 실험구 사이에는 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 대조구와 30 mg/kg 실험구 사이에는 유의적인 차이가 확인되었다. 주사한 지 2일째부터 21일째까지 대조구와 실험구 간에 유의적인 차이는 확인할 수 없었다(Fig. 5).

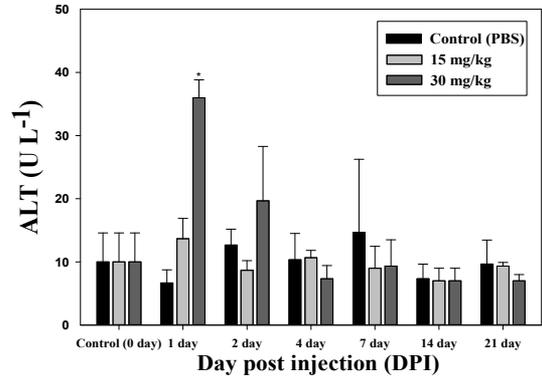


[Fig. 4] AST values in the plasma of the olive flounders that were injected I.M. with tiamulin at each concentration.

(2) 근육주사 후 조직 안전성 검사

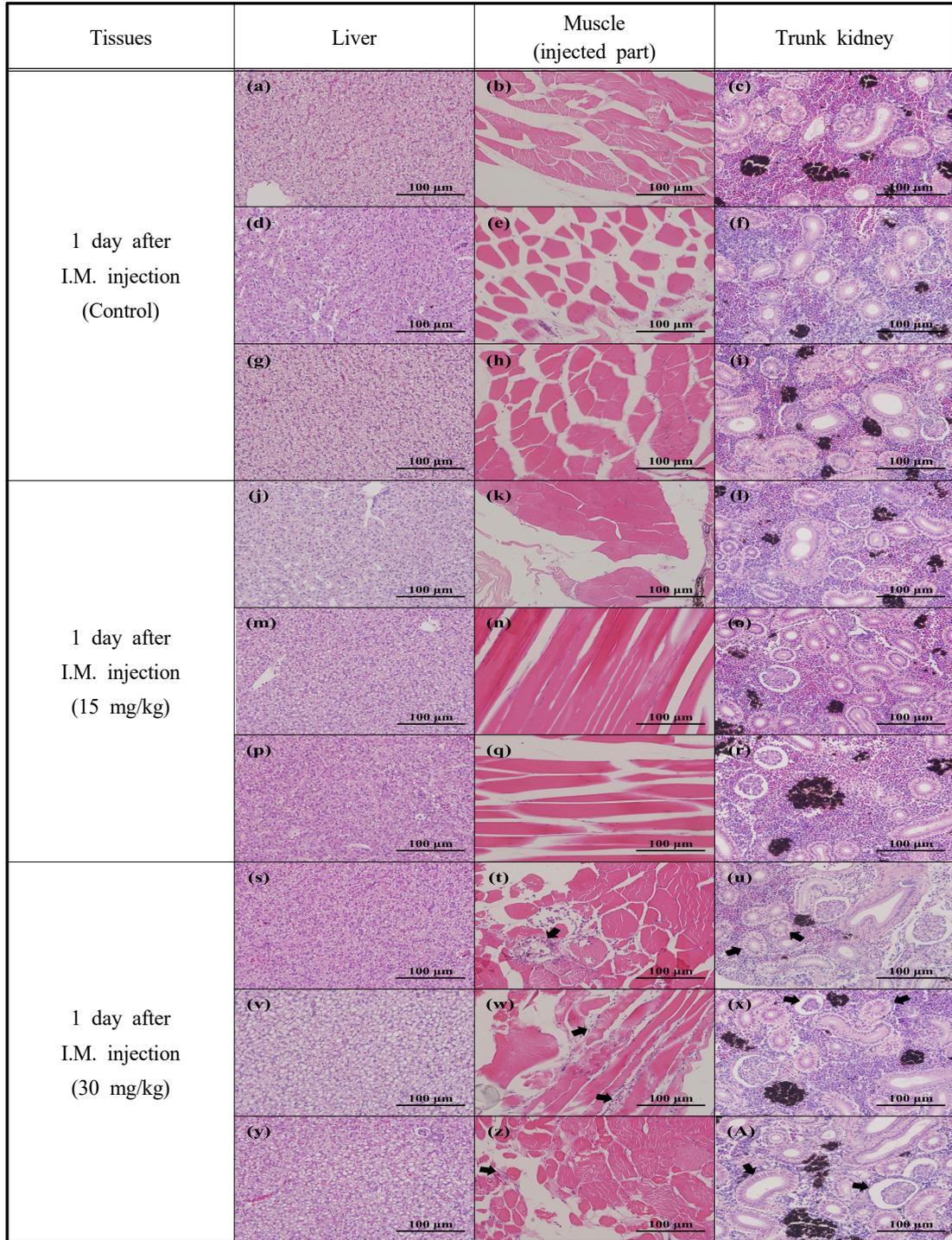
간조직을 관찰한 결과, 대조군을 포함한 모든 개체에서 지방간과 간위축이 관찰되었으며 4일차의 30 mg/kg 실험구에서는 심도의 간염과 간괴사가 발생한 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 8-y). 또한 7일차에 심도의 간염과 중등도의 간괴사가 발생한 것을 확인할 수 있었다(Fig. 9-v). 근육조직을 관찰한 결과 대조구에서는 전체 샘플에서 괴사나 염증이 관찰되지 않았고 15 mg/kg 실험구의 경우 2일차에 경도의 염증이 확인되었고(Fig.

7-n) 4일차에는 중등도의 염증과 괴사가 확인되었다(Fig. 8-k, n, q)]. 하지만 이후 괴사나 염증이



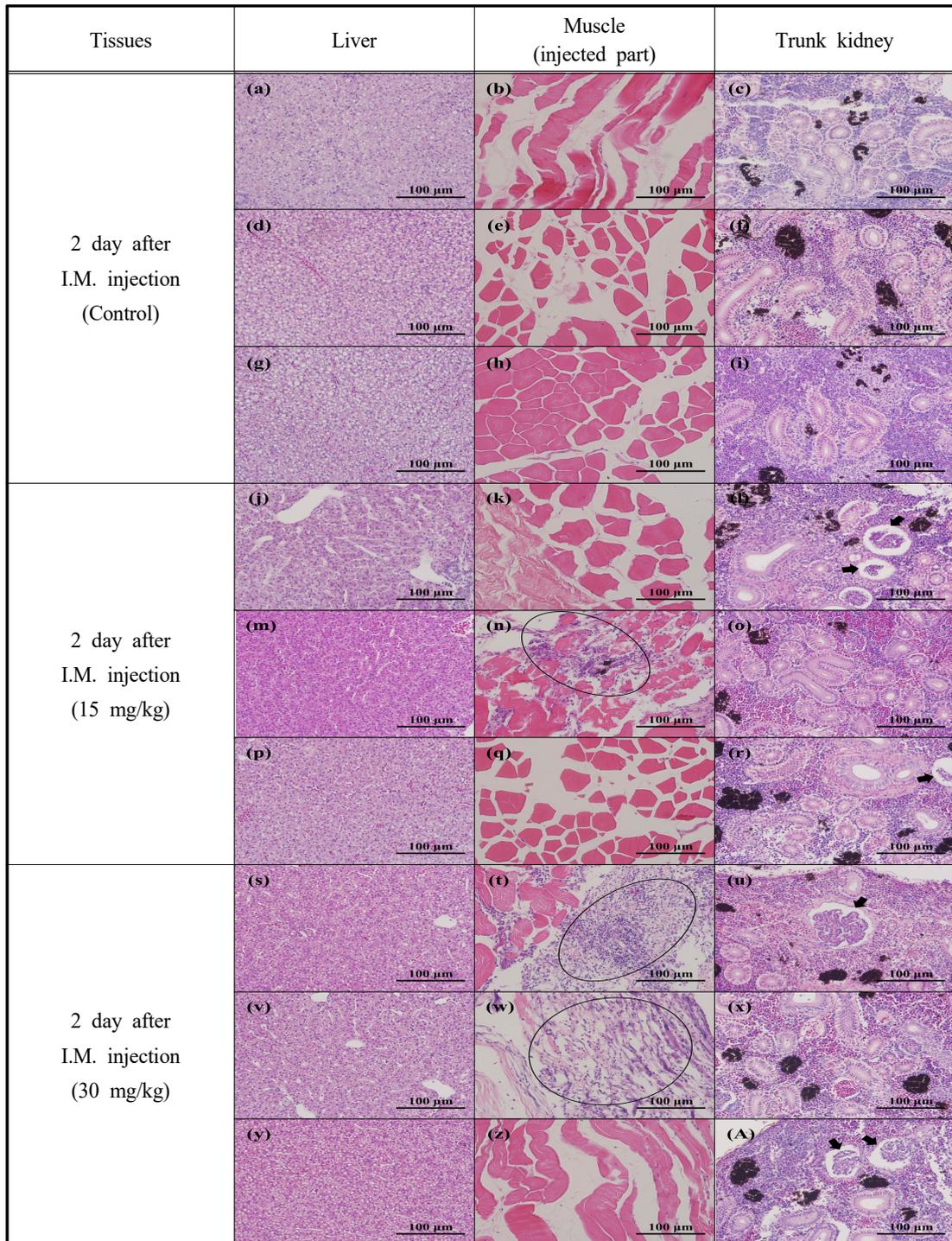
[Fig. 5] ALT values in the plasma of the olive flounders that were injected I.M. with tiamulin at each concentration.

관찰되지 않았다. 30 mg/kg 실험구의 경우 2일차(Fig. 7-t, w), 4일차(Fig. 8-t, w, z), 7일차(Fig. 9-t, w, z) 까지 중등도의 염증과 괴사가 발생한 것을 확인할 수 있었고, 14일차부터는 경도의 염증만이 관찰되었다(Fig. 10-w). 신장조직을 관찰한 결과 대조구를 포함한 대부분의 개체들에서 경도의 조혈활성과 사구체신염이 확인되었다. 1일차의 30 mg/kg 실험구의 경우 중등도의 세뇨관 위축과 경도의 보먼주머니 확장이 관찰되었고(Fig. 6-u, A), 2일차에 경도 및 중등도의 보먼주머니 확장이 확인되었다(Fig. 7-l, r, u, A). 4일차에는 30 mg/kg 실험구에서 중등도의 세뇨관 위축과 세망내피계 활성이 관찰되었다(Fig. 8-u, A). 7일차에는 15 mg/kg 실험구와 30 mg/kg 실험구에서 중등도의 사구체신염과 세뇨관위축, 경도의 보먼주머니 확장이 확인되었다(Fig. 9-l, o, r, u, x, A). 이후 21일차까지 실험구에서 경도의 보먼주머니 확장과 세뇨관위축, 세망내피계 활성이 관찰되었다(Fig. 10-l, r, u, A), [Fig. 11-l, r, u, A).

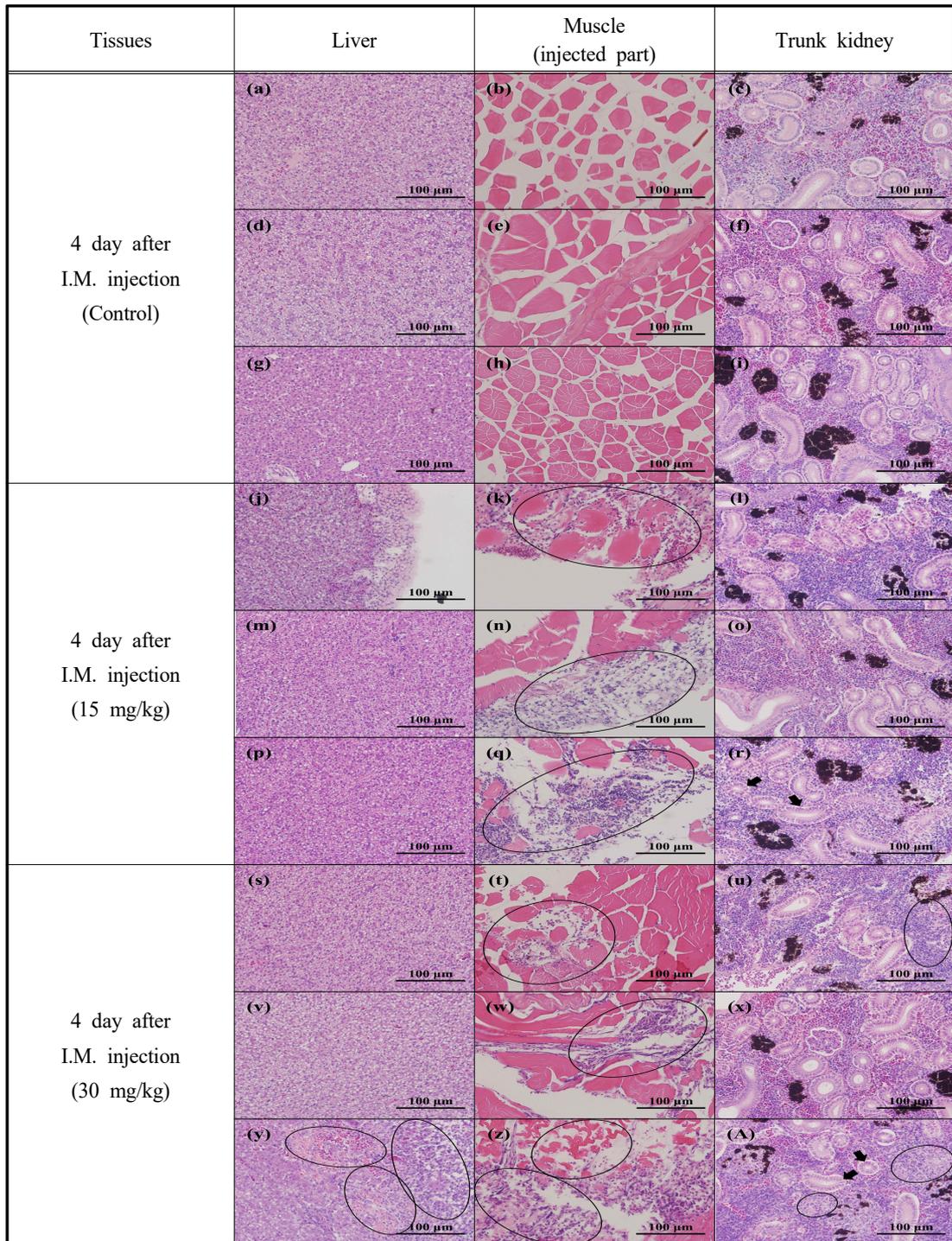


[Fig. 6] Pathological results of liver, trunk kidney and muscle (injected part) after tiamulin injection by each concentration.

Tiamulin 항생제가 *Streptococcus parauberis* KSP28에 감염된 넙치(*Paralichthys olivaceus*)에 나타내는 치료효과와 부작용

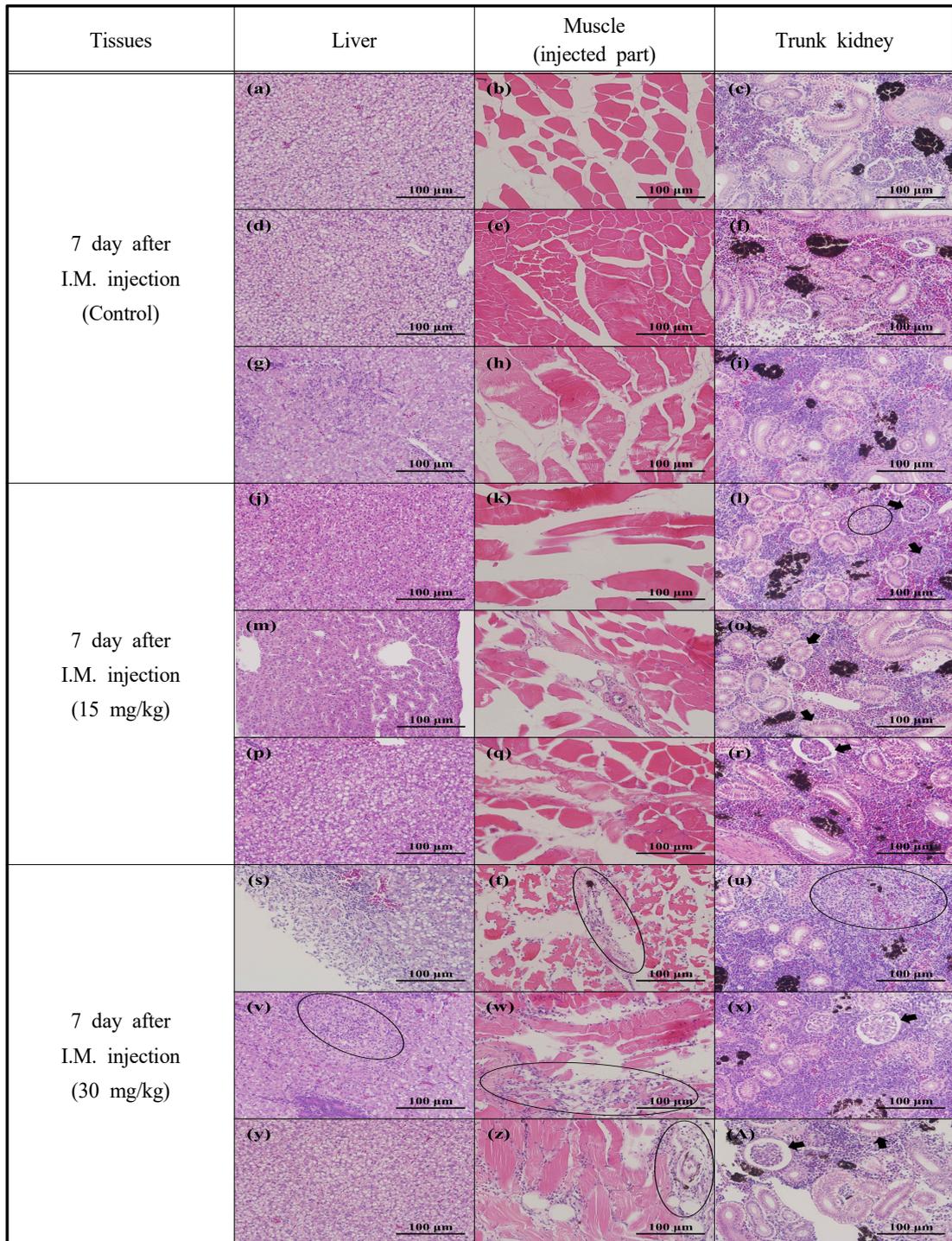


[Fig. 7] Pathological results of liver, trunk kidney and muscle (injected part) after tiamulin injection by each concentration.

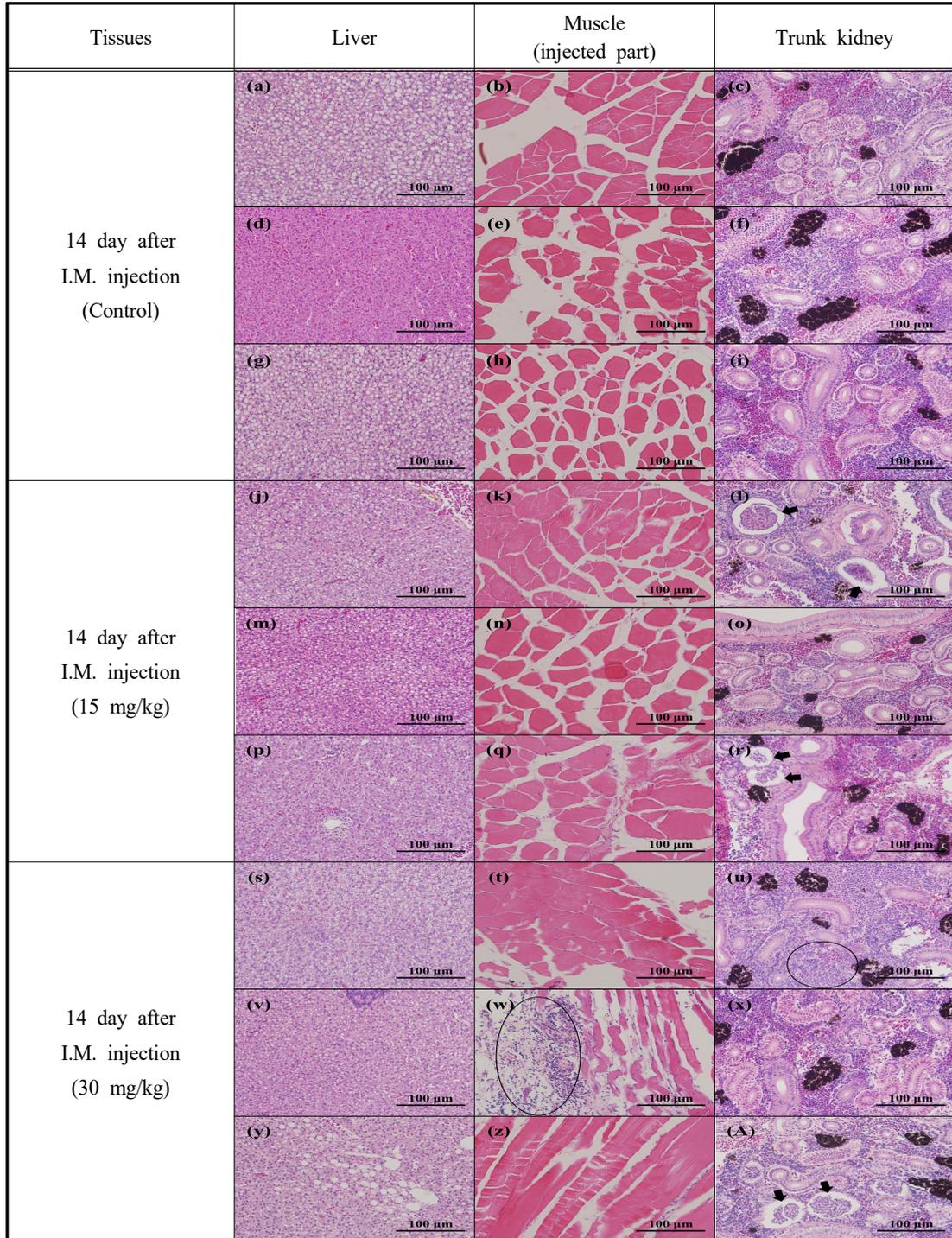


[Fig. 8] Pathological results of liver, trunk kidney and muscle (injected part) after tiamulin injection by each concentration.

Tiamulin 항생제가 *Streptococcus parauberis* KSP28에 감염된 넙치(*Paralichthys olivaceus*)에 나타내는 치료효과와 부작용

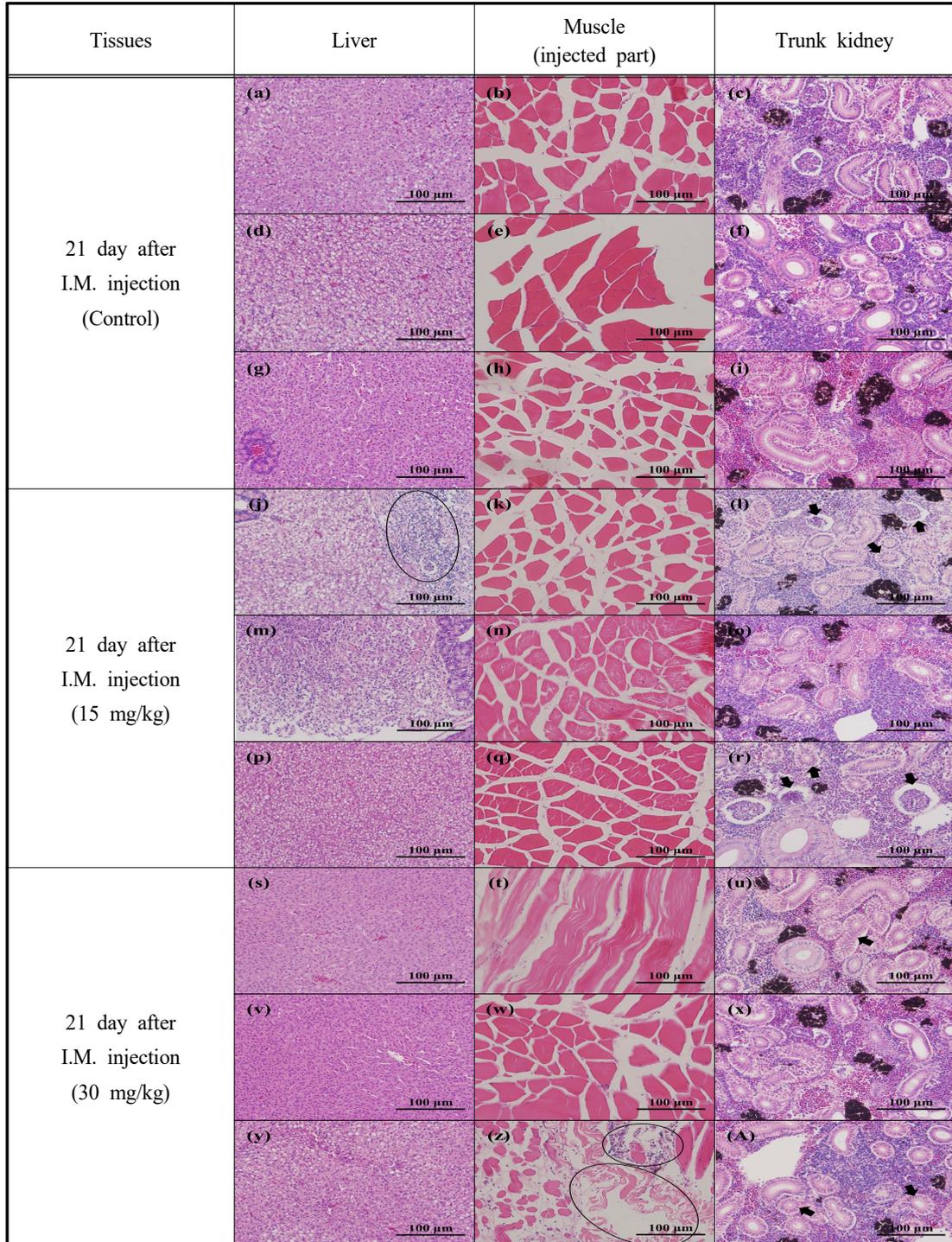


[Fig. 9] Pathological results of liver, trunk kidney and muscle (injected part) after tiamulin injection by each concentration.



[Fig. 10] Pathological results of liver, trunk kidney and muscle (injected part) after tiamulin injection by each concentration.

Tiamulin 항생제가 *Streptococcus parauberis* KSP28에 감염된 넙치(*Paralichthys olivaceus*)에 나타내는 치료효과와 부작용



[Fig. 11] Pathological results of liver, trunk kidney and muscle (injected part) after tiamulin injection by each concentration.

IV. 고찰

연쇄구균에 감염된 녀치에 대한 tiamulin의 근육주사 농도별 치료효과를 확인한 결과, 15 mg/kg의 농도에서 폐사율 15%, 감염률 11.7%로 나타나 치료효과가 있는 것으로 확인되었다(Fig. 1)]. 그리고 경구 투여 농도별 치료효과를 확인한 결과, 15 mg/kg과 30 mg/kg 모두 폐사율 33%, 감염률 50%로 확인되어 근육주사 보다 치료 효과는 미비한 것으로 확인되었다(Fig. 2)]. 그리고 부작용 확인 실험에서 tiamulin 주사 후 2시간 내에 30 mg/kg 실험구에서 32%, 60 mg/kg 실험구에서 68%의 폐사가 발생하였기 때문에(<Table 4>) 더 높은 농도로 주사하는 것은 오히려 녀치에게 치명적일 수 있다고 생각된다. 돼지에 사용하는 tiamulin 주사제인 Denagard 10% injection (Premier Shukuroglou, Athens, Greece)를 과다투여 하게 되면 타액 분비, 구토, 방향감각 상실, 간장 경련 등을 일으킬 수 있다고 경고하고 있으며 이전 연구에서 개에게 tiamulin을 과다투여 하였을 경우 간 중량 증가, 지방 축적, QT interval 연장, double peaked T-waves의 증가 등의 증상이 발생했다고 알려져 있다(European Medicines Agency, 1999). QT interval의 연장은 신근장애, 저칼슘혈증, 심실 빈맥성 부정맥 등의 증상에 대한 지표이며(Nachimuthu et al., 2012), double peaked T-waves의 증가는 심한 저칼륨혈증, 동성서맥, heart block을 야기할 수 있다(Lionte et al., 2012). 따라서 30 mg/kg, 60 mg/kg의 tiamulin 농도는 녀치의 심장에 부작용을 일으켜 빠른 시간 내에 폐사에 이르게 했을 가능성이 있다고 보여진다.

Tiamulin을 녀치에 근육주사 한 후 AST 수치 변화를 확인한 결과 1일째에 15 mg/kg 실험구는 평균 72.3 U/L, 30 mg/kg 실험구는 평균 351 U/L로 확인되었고 대조구에 비해 모두 유의적으로 높은 값으로 확인되었다. 주사한 지 2일째에 30 mg/kg 실험구는 평균 597.6 U/L로 상당히 높

은 수치를 나타내었다(Fig. 4). ALT 수치 또한 30 mg/kg 실험구에서 1일차에 평균 87.6 U/L로 나타나 대조구와 비교하였을 때 유의적인 차이가 확인되었다(Fig. 5). AST는 전신의 세포질과 미토콘드리아 내에 주로 분포하며 주로 간과 심장, 횡문근, 신장, 뇌, 췌장에 순으로 많이 존재하고 세포 장애 정도와 비교적 상관성이 좋기 때문에 급성 심근경색, 감염, 간 경변, 근위축 등의 이상이 생길 시에 높은 수치를 나타내어 골격의 근육, 신장, 췌장의 임상지표로도 사용한다. ALT는 간 내에 가장 많이 존재하기 때문에 AST보다 간 세포 손상에 더 특이적인 반응을 나타내는 것으로 알려져 있다(Kim, 2009; Kim 2019). 이번 연구에서 tiamulin 근육주사 후 2일째에 30 mg/kg 실험구의 AST 수치가 대조구에 비해 20배가량 높게 나타난 반면 ALT 수치는 주사 후 1일째에 6배 정도인 것으로 확인되었다. 병리조직학적 분석 결과에서 간보다는 근육과 신장에서 더 심각한 부작용이 나타났고 이 때문에 AST 수치가 큰 차이를 보이는 것으로 생각된다. 병리조직학적 분석 결과 15 mg/kg 실험구는 주사한 지 4일째까지 근육조직에 염증과 괴사가 약하게 나타났으며 30 mg/kg 실험구의 경우 7일째까지 심각한 염증과 괴사가 확인되었고 21일째까지 약한 염증이 발견되었다. 또한 주사한 직후 피부색이 검게 변하고 근육조직 내 출혈 등이 발생하는 것으로 보아(Fig. 3)) tiamulin은 근육세포에 큰 부작용을 나타내는 것으로 생각된다. 뿐만 아니라 신장에서는 15 mg/kg 실험구와 30 mg/kg 실험구에서 경도 및 중등도의 보먼주머니 확장, 중등도의 세뇨관 위축이 나타난 것으로 보아 대조구에 비해 tiamulin의 부작용이 나타난 것으로 볼 수 있다. 또한 실험구에서 경도의 세망내피계 활성이 관찰되었고 세망내피계 활성이 나타나는 조직에는 대식세포 등과 같은 포식세포들이 항진하고 있기 때문에 조직에서 약간 밝은색으로 나타나며 혈중 내에 세균 감염이나 항생제 같은 약물에 의해 활성화 될 수 있다고 알려져 있다(Snell,

2006). 종합하면, tiamulin을 넙치에 근육주사하는 것은 간, 근육, 신장, 심장에 심각한 부작용을 일으킨다고 볼 수 있다.

V. 결론

결론적으로 이번 연구에서 tiamulin의 넙치에 대한 치료효과와 부작용 검증을 실시하였으며, 연쇄구균병에 걸린 넙치에 대해 tiamulin을 15 mg/kg의 농도로 근육주사하는 것은 치료효과는 있지만 일정 수준 이상의 농도에서 속주에 대한 심각한 부작용을 일으켜 넙치를 폐사로 이르게 하기 때문에 연쇄구균에 감염된 넙치에 tiamulin을 근육주사 하는 것은 적합하지 않다고 생각된다. Tiamulin의 경구투여도 마찬가지로 15 mg/kg의 농도에서 치료효과는 나타났지만 효과가 미비했고 추가적인 연구를 통해 tiamulin 경구투여의 부작용을 확인하여야 할 것이다.

References

European agency for the evaluation of medicinal products, veterinary medicines and information technology unit; committee for veterinary medicinal products: tiamulin, summary report(1). European Medicines agency (EMA). P.3, EMEA/MRL/578/99-FINAL.

Katz SE and Brady MS(2000). Antibiotic residues in food and their significance. Food Biotechnol. 14(3), 147~171.
<http://doi.org/10.1080/08905430009549985>

Kim JW, Lee HN, Jee BY, Woo SH, Kim YJ and Lee MK(2012). Monitoring of the mortalities in the aquaculture farms of South Korea. J. Fish Pathol. 25(3), 271~277.
<http://dx.doi.org/10.7847/jfp.2012.25.3.271>

Kim JW, Cho MY, Jee BY, Park MA and Kim NY(2014). Administration and use of aquaculture drugs in Korea. J. Fish Pathol. 17(1), 67~75.
<http://dx.doi.org/10.7847/jfp.2014.27.1.067>

Kim KY(2009). Current clinical practice :

Understanding and application of liver function tests. Korean J. Med. 76(2), 163~168.

Kim SE(2019). Optimal evaluation of the results of liver function tests. Korean J. Med. 94(1), 89~95.
<https://doi.org/10.3904/kjm.2019.94.1.89>

Lee DW, Jun LJ, Kim SM and Jeong JB(2018). Analysis of erythromycin resistance gene in pathogenic bacteria isolates from cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus* in Jeju. Korean J. Fish Aquat. Sci. 51(4), 397~403.
<http://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0397>

Lionte C, Bologna C and Sorodoc L(2012). Toxic and drug-induced changes of the electrocardiogram. Advances in Electrocardiograms-Clinical Applications 15, 271~296. <http://doi.org/10.5772/22891>

Mata AI, Gibello A, Casamayor A, Blanco MM Domínguez L and Fernández-Garayzábal JF(2004). Multiplex PCR assay for detection of bacterial pathogens associated with warm-water Streptococcosis in fish. Appl. Environ. Microbiol. 70, 3183~3187.
<https://doi.org/10.1128/AEM.70.5.3183-3187.2004>

Messier S, Higgins R and Moore C(1990). Minimal inhibitory concentrations of five antimicrobials against *Treponema hyodysenteriae* and *Treponema innocens*. J. Vet. Diagn. Invest. 2(4), 330~333.
<http://doi.org/10.1177/104063879000200414>

Nachimuthu S, Assar MD and Schussler JM(2012). Drug-induced QT interval prolongation: mechanisms and clinical management. Ther. Adv. Drug Saf. 3(5), 241~253.
<http://doi.org/10.1177/2042098612454283>

Poulsen SM, Karlsson M, Johansson LB and Vester B(2001). The pleuromutilin drugs tiamulin and valnemulin bind to the RNA at the peptidyl transferase centre on the ribosome. Mol. Microbiol. 41(5), 1091~1099.
<http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02595.x>

Shim JD, Hwang SD, Jang SY, Kim TW and Jeong JM(2019). Monitoring of the mortalities in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) farms of Korea. J. Fish Pathol. 32(1), 029~035.
<http://dx.doi.org/10.7847/jfp.2019.32.1.029>

Smith P, Hiney MP and Samuelsen OB(1994). Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming: a critical evaluation of method and

- meaning. *Annu. Rev. Fish Dis.* 4, 273~313.
[http://doi.org/10.1016/0959-8030\(94\)90032-9](http://doi.org/10.1016/0959-8030(94)90032-9)
- Snell JF(2006). The reticuloendothelial system: I. Chemical methods of stimulation of the reticuloendothelial system. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 88(1), 56~77.
<http://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1960.tb20008.x>
- Werner H, Laber G, Schutze E and Krasemann C(1978). In vitro activity of tiamulin (81.723 HFU), a new pleuromulin derivative, against clinically significant anaerobes. *J. Antibiot.* 31(8), 756~760.
<http://doi.org/10.7164/antibiotics.31.756>
-
- Received : 14 October, 2019
 - Revised : 31 October, 2019
 - Accepted : 07 November, 2019