

넙치에서 lincomycin 근육투여에 따른 휴약기간 도출 및 병원성 그람음성 세균에 대한 약효 평가

정은하 · 김근택 · 신동훈 · 배준성 · 이강욱 · 이채원 · 양찬영
김아름 · 이지훈* · 박수진* · 박관하[†]

전라북도 군산시 대학로 558 군산대학교 해양과학대학 수산생명의학과
*부산광역시 기장군 기장읍 기장해안로 216 국립수산물품질관리원

Withdrawal time study of lincomycin administered intramuscularly to olive flounder *Paralichthys olivaceus*, and *in vitro* efficacy evaluation against Gram-negative bacterial pathogens

Eun Ha Jeong, Keun-Taek Kim, Dong Hun Shin, Jun Sung Bae, Kang Uk Lee,
Chae Won Lee, Chan Yeong Yang, Areum Kim, Ji-Hoon Lee*,
Su-Jin Bak* and Kwan Ha Park[†]

*Department of Aquatic Life Medicine, College of Ocean Science and Technology,
Kunsan National University, Gunsan City, Jeonbuk, Republic of Korea*

**Aquatic Disease Control Division, National Fisheries Products Quality Management Service,
216 Gijanghaean-ro, Gijang-eup, Gijang-gun, Busan 46083, Korea*

This study was performed to delineate pharmacokinetic residue characteristics of lincomycin (LM) in olive flounder at low water temperature (13°C), and to examine whether LM is effective against main Gram-negative pathogens. It was observed that the times for residue declined below the maximal residue limit (0.1 mg/kg) in the muscle was, respectively, 32, 33 and 55 days following 10, 20 and 40 mg/kg intramuscular LM injections. The *in vitro* MIC value of LM against *Edwardsiella piscida* was higher than 256 µg/mL and against *Vibrio harveyi* 32 µg/mL when examined with several clinical isolates. These results suggest that the withdrawal time of LM should be more than 30 days in consideration of the 10 mg/kg employed as the regular clinical dose. It was also found that LM administered to treat streptococosis in olive flounder is not likely to be effective against some pathogenic Gram-negative bacteria.

Key words: Lincomycin, HPLC-MS/MS, Residue study, Olive flounder

[†]Corresponding author: Kwan Ha Park
Tel: +82-63-469-1885, Fax: +82-63-463-9493
E-mail: khpark@kunsan.ac.kr

서 론

넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 국내 양식 산업의 대표어종으로 2021년 우리나라 어류 생산량(41,800톤), 생산금액(6,620억 원) 모두 1위를 차지하는 산업적으로 매우 중요한 어종이다(KOSIS, 2021).

2015년 전남과 제주에서 실시한 폐사 모니터링에 따르면, 넙치 양식장에서 발생한 세균성 질병의 원인으로는 연쇄구균병(*Streptococcosis*, 9.76%), 비브리오행증(*Vibriosis*, 1.35%), 황주세균증(*Flavobacteriosis*, 1.22%) 및 에드워드병(*Edwardsiellosis*, 0.55%)이 있으며 이 중 연쇄구균병이 가장 큰 피해를 주고 있는 것으로 보고되었다(Shim *et al.*, 2019).

Lincomycin (LM, Fig. 1)은 lincosamide 계열 항생제로서 방선균속 세균인 *Streptomyces lincolnensis*로부터 분리되어 penicillin계열 항생제에 대하여 과민반응이나 내성이 발생할 경우 사용된다(박, 2010). LM의 작용기전은 세균의 50s ribosome에 부착하여 transpeptidation과정을 억제함으로써 단백질 합성을 방해하여 정균작용을 일으키는 것으로 알려져 있다(Josten and Allen, 1964; Chang *et al.*, 1966) 또한, Macrolide계 항생제와 antibacterial spectrum, 작용 mechanism이 유사하여 두 계열 모두 *Mycoplasma*나 원충 *Plasmodium*을 살상하는 특징이 있다.

LM은 그람양성균인 *S. parvauberis*와 *S. iniae*에 대해 우수한 항균 활성이 보고되었으며(Kim *et al.*, 2019), penicillin계열의 amoxicillin과 ampicillin에 내성(MIC 64 µg/mL 이상)을 가진 *S. parvauberis*에 대하여 최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)를 평가한 결과 β-lactam 내성 균주에

매우 높은 감수성(MIC 0.25-4 µg/mL)을 보였다(Lee *et al.*, 2022).

현재 우리나라에서 LM은 넙치의 연쇄상구균증 치료를 위하여 10 mg/kg의 용량으로 5일 반복 경구 투여, 또는 근육내 단회 주사로 사용할 수 있도록 허가되어있다(NIQS, 2022). 본 연구에서는 LM을 주사제로써 수산용의약품으로 승인하기 위하여 휴약기간 도출을 목적으로 수행하였던 시험 결과의 주요 내용을 포함하고 있다.

항생제를 임상적으로 사용하는 경우에 잔류허용기준에 도달하는 시간의 평가에 있어서는 약제의 소실이 최대한 늦어지는 조건에서의 평가 결과가 필요하다. 그러나 이미 Lee *et al.* (2022)의 시험에서는 빠른 배설이 나타나는 것으로 추정되는 적수온인 21°C에서 잔류 경향이 평가되었다. 따라서 본 연구에서는 최악의 배설 시나리오를 가정하여 휴약기간이 최대가 될 것으로 예상되는 13°C의 조건에서 LM을 투여하였을 때, 넙치에서의 잔류성을 평가한 뒤 휴약기간을 도출하였다. 또한, 현재 LM의 임상적 허용은 넙치 연쇄구균증에 국한되어 허가되어 있으나 그 외의 넙치에서 발생하는 그람 음성 세균 질병을 유발시키는 *Edwardsiella piscida* 및 *Vibrio harveyi*에도 효과가 있는지 확인하고자 하였다.

본 연구 결과는 국내에서 넙치의 연쇄구균증 치료제로 사용 시 임상용량 및 고용량의 사용에 따른 잔류상황을 이해하는 데에 도움이 될 수 있을 것이며, LM이 연쇄구균 이외의 병원성 세균에 감수성이 있는지도 살펴볼 수 있을 것이다.

재료 및 방법

시약 및 재료

시험관 내 유효성 평가(*in vitro*), 실험실적 잔류 시험 및 HPLC-MS/MS 분석에 사용된 LM 표준품은 lincomycin hydrochloride (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)를 사용하였다. 세균 배양배지(brain-heart infusion, BHI)는 Becton-Dickinson사(USA)에서, 전처리 및 분석 용매로 사용된 물, 아세토니트릴(acetonitrile, ACN) 및 메탄올(methanol, MeOH)는 Burdick & Jackson사(Muskegon, MI, USA)에서, primary secondary amine (PSA) 및 C₁₈은

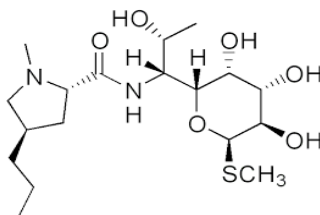


Fig. 1. Chemical structure of lincomycin. C₁₈H₃₄N₂O₆S (molecular weight 406.53 g/mol)

Thermo Fisher Scientific사(Cleveland, OH, USA)에서 구매하여 사용하였다. 기타 시약들은 Sigma-Aldrich사에서 구매하여 사용하였다.

LM의 시험관 내(*in vitro*) 유효성 평가

시험에 사용된 균주는 *E. piscida* 9개 균주 및 *V. harveyi* 4개 균주로 총 13개 균주를 제주해양수산연구원, 국립수산물과학원, 표준균주(ATCC) 및 자체분리 등을 통하여 수집하였다(Table 3).

LM에 대한 각 균주의 시험관 내 감수성을 broth-microdilution법을 사용하여 MIC를 측정, 평가하였다. 즉, 시험용 균은 BHI 배지에서 28°C로 24-48시간 배양한 후 사용하였으며 LM은 256-0.125 µg/mL 범위로 2배 단계 희석하였다. BHI 배지로 희석된 LM을 96-well plate에 100 µL 씩 분주한 후 시험용

세균을 100 µL(최종농도 5.0×10^5 CFU/mL)씩 첨가하여 28°C에서 24-48시간 동안 배양하였다. 대조군(0 µg/mL)에는 LM 대신 phosphate-buffered saline (PBS)를 첨가하였으며, 음성대조군에는 LM과 균 희석액 모두 넣지 않고 BHI 배지와 PBS만을 넣어 배양하였다. 이상의 실험은 3반복으로 수행되었다. 효과적인 육안 판단을 위하여 0.2 mg/mL의 *p*-iodonitrotetrazolium violet (*p*-INT)을 30 µL를 가하여 2시간 동안 반응시킨 후 INT formazan의 생성에 의한 적색이 나타나지 않는 최소농도를 MIC로 설정하였다.

HPLC-MS/MS를 이용한 잔류 분석

1) 시료 추출 및 HPLC-MS/MS 분석

1.1) HPLC-MS/MS를 이용한 lincomycin 분석

Table 1. HPLC-MS/MS analytical conditions

Parameter		Conditions	
HPLC		QSight™ LX-50	
Mass spectrometry		QSight 420 MassSpec	
Column		2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm C ₁₈ (Brownlee SPP C ₁₈)	
Column temperature		40°C	
Mobile phase	Time (min)	0.1% formic acid in water (%)	2 mM ammonium formate, 0.1% formic acid in ACN (%)
Gradient	0	90	10
	1	90	10
	6	60	40
	10	5	95
	15	5	95
	15.1	90	10
	20	90	10
Run time		20 min	
Flow rate		0.3 mL/min	
Injection volume		5 μL	
Ionization mode		positive (+) ion electrospray	
Gas temperature		320°C (N ₂)	
Gas flow		7 L/min	
Gas flow		30 psi	
Collision voltage		7 eV	
Scan type	Multiple reaction monitoring (MRM mode)		
	Precursor ion (m/z)	Fragment ions (m/z)	Collision energy (eV)
Lincomycin	407	126	30
		172	2
		359	18

LM 분석에 사용된 기기는 액체크로마토그래피(QSight™ LX-50, perkinelmer, Waltham, MA, USA)를 사용하였으며 질량분석기(QSight 420 MassSpec, Perkin-Eelmer, Waltham, MA, USA)를 검출기로 사용하였다. 분석은 Brownlee SPP C₁₈(2.1 mm × 150 mm, 3.5 µm C₁₈)컬럼을 사용하였으며, 온도는 40°C를 유지하였다. 0.1% formic acid in water를 이동상 A, 2 mM ammonium formate, 0.1% formic acid in ACN을 이동상 B로 사용하였고 유속은 0.3 mL/min, 주입량은 5 µL로 하여 gradient를 설정하였다(Table 1).

1.2) 시료의 추출

식품의약품안전처에서 고시한 「식품의 기준 및 규격」에 따라 LM 전처리를 수행하였다. 균질화된 넙치 근육 2 g 을 0.1 M Na₂EDTA in 50 mM ammonium acetate 1 mL를 첨가하여 산처리 후, 2 mM ammonium formate 9 mL를 첨가하여 5분간 진탕하였다. 10,000 × g, 4°C에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 250 mg PSA, 250 mg C₁₈이 담겨진 50 mL 원심분리 관에 취하여 1분간 진탕하였다. 10,000 × g, 4°C에서 10분간 원심분리 한 뒤 상층액 중 5 mL를 1 mL까지 질소 농축한 후 0.2 µm 막 여과지(membrane filter)로 여과하여 시험용액으로 하여 HPLC-MS/MS로 분석하였다(Fig. 2).

분석법 검증

LM 표준품을 메탄올에 녹여 조제한 stock solution을 넙치 음성 검체에 최종농도 10, 25, 50, 100, 250 및 500 µg/kg이 되도록 첨가한 후 앞서 기술한 전처리를 통하여 얻은 시료로 조직표준 곡선을 작성하였다. 또한, 음성 검체에 LM을 10 및 50 µg/kg 수준이 되도록 첨가하여 회수율을 3회 반복 측정하였으며 연구에서 수행한 분석법은 수산물품질관리원 고시(제2021-21호) “수산물 동물용의약품 등 잔류성 시험지침”의 기준에 적합하였다.

넙치에서 LM의 잔류성 평가

1) 시험어

서산 소재의 양식장에서 평균 50 g 내외의 LM 투여 이력이 없는 넙치를 입수하여 500 L 순환여과

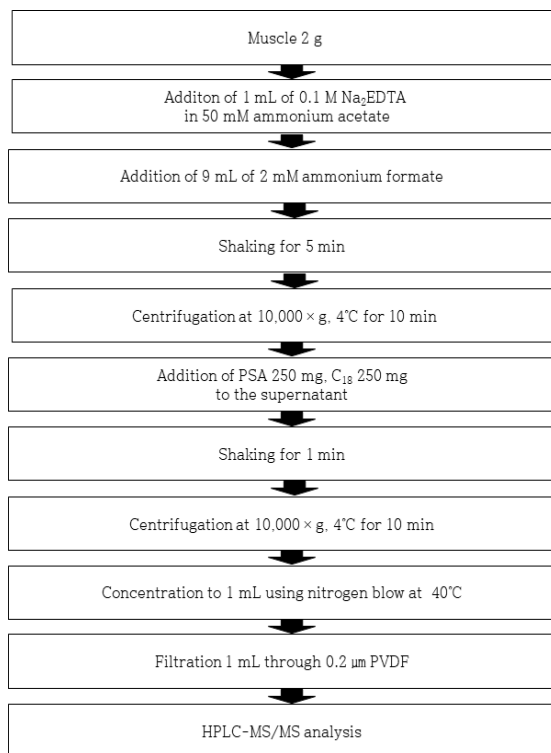


Fig. 2. Extraction process of lincomycin from olive flounder muscle.

수조에서 순치 후 사용하였다. 시험 중 pH는 7.0-8.0을 유지하였으며 용존산소(dissolved-oxygen)는 5.0 mg/L 이상을 유지하였다.

2) 시험군 구성 및 시험물질 투여

실험용량은 방어 연쇄구균증에 대하여 사용되고 있는 10 mg/kg b.w.의 용량을 기준으로 1, 2 및 4배로 설정하였다. 즉 10, 20 및 40 mg/kg 투여군으로 구별하여, 500 L 순환여과식 수조에 각각 시험어를 75, 75 및 60 마리씩 수용하였다. 시험물질 투여는 LM 표준품을 PBS으로 희석하여 등 근육에 단회 주사투여 하였으며 13 ± 3°C를 유지하였다.

3) 시료 채취

시험물질 투여가 종료된 날을 0일로 설정하여 10 및 20 mg/kg 투여군은 각각 3, 7, 14, 20 및 30일마다, 40 mg/kg 투여군은 3, 7, 14 및 20일마다 15마리씩 근육을 채취하여 분석에 사용하였다(Fig. 3).

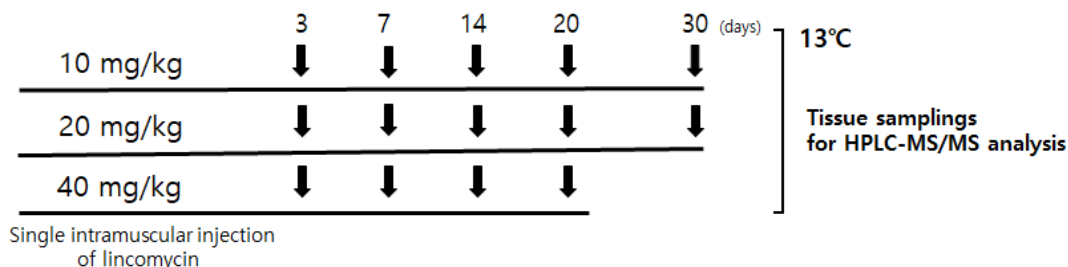


Fig. 3. Schematic representation of lincomycin residue experiments in olive flounder following intramuscular injection at 13°C.

4) 휴약기간 도출 및 데이터 표현

어류에서 LM의 최대잔류허용농도인 0.1 mg/kg을 기준으로 withdrawal-time calculation program (WT1.4, EMEA, 2002)을 사용하여 13°C에서 농도별 휴약기간을 도출하였다. 모든 데이터는 평균 $\pm$ 표준편차로 표현하였으며, 정량한계(limit of quantification, LOQ) 미만의 값은 <LOQ로 표기하되 평균을 계산 할 때는 0으로 설정하였다.

결과 및 고찰

분석법의 검증

넙치 근육에서 LM의 retention time은 2.1분으로 측정되었으며 크로마토그램은 다음과 같다(Fig. 4A-C). LOQ는 signal-to-noise ratio가 10 이상의 값으로 설정하였으며 10 μ g/kg이 측정되었다. 조직표준 곡선을 작성하여 직선성을 평가한 결과 $R^2=0.9979$ 로 우수한 결과를 나타내었다(Fig. 4D). 10 및 50 μ g/kg의 농도로 회수율을 평가한 결과 각각 $79.21 \pm 1.97\%$ 및 $83.45 \pm 2.21\%$ 로 측정되었으며 coefficient of variation (C.V.)값은 각각 2.49% 및 2.65%로 측정되었다(Table 2).

Table 2. Recovery of lincomycin from olive flounder muscle

Tissue	Fortified level (μ g/kg)	Recovery (%) (Mean $\pm$ S.D., n=3)	C.V. (%)
Muscle	10	79.21 ± 1.97	2.49
	50	83.45 ± 2.21	2.65

* C.V.; coefficient of variation.

넙치 근육 내 LM 잔류

의약품의 잔류는 약물의 섭취용량, 위 공복 시간 및 약물의 흡수, 생체내 대사 및 배설 속도와 같은 여러 요인에 영향을 미친다. 어류의 경우 변온동물로서 수온 1°C가 증가할 때 대사 및 배설이 10% 증가한다고 알려져 있다(Ellis *et al.*, 1978). 특히 무지개송어의 경우, 모든 매개변수는 온도에 의존적이다(Björklund and Bylund, 1990).

넙치에서도 quinolone계 항생제인 oxolinic acid, nalidixic acid 및 piromidic acid를 경구투여하였을 때, 저수온($13 \pm 1.5^\circ\text{C}$)에 비해 고수온($23 \pm 1.5^\circ\text{C}$)의 영역에서 예상소실시간의 감소가 나타났다고 보고되었다(Jung *et al.*, 2010). 국내에서 임상적으로 사용되는 guideline(NIQS, 2021)에 따르면 넙치는 $13 \pm 3^\circ\text{C}$ 를, 국제적으로 적용하는 guideline (VICH GL57, 2019)에서는 소실에 불리한 조건(worst case senario)에서의 평가를 각각 활용하고 있다. 따라서 본 연구에서는 소실에 필요한 기간이 충분히 길 것으로 추정되는 13°C에서 시험을 수행하였다.

선행연구에 따르면 넙치에 LM을 어체중 kg당 10 mg으로 단회 근육주사 하였을 때, *S. parauberis* 감염에 대한 누적 사망률을 유의미하게 감소시킴으로서 LM의 유효성이 연구되었다(Lee *et al.*, 2022). 이 시험에서는 국내 guideline에서 제시하는 두 개의 용량 즉, 임상용량인 10 mg/kg의 고용량인 20 mg/kg의 경우는 휴약기간이 기본적으로 증가하였으며 더 고용량인 40 mg/kg에서는 증량비율에 따르는 휴약기간의 연장이 나타나는지 검토하기 위해 추가하였다.

본 연구에서 13°C에서 LM을 10 및 20 mg/kg으로 투여 후 3, 7, 14, 20 및 30일 마다 잔류량을 측정

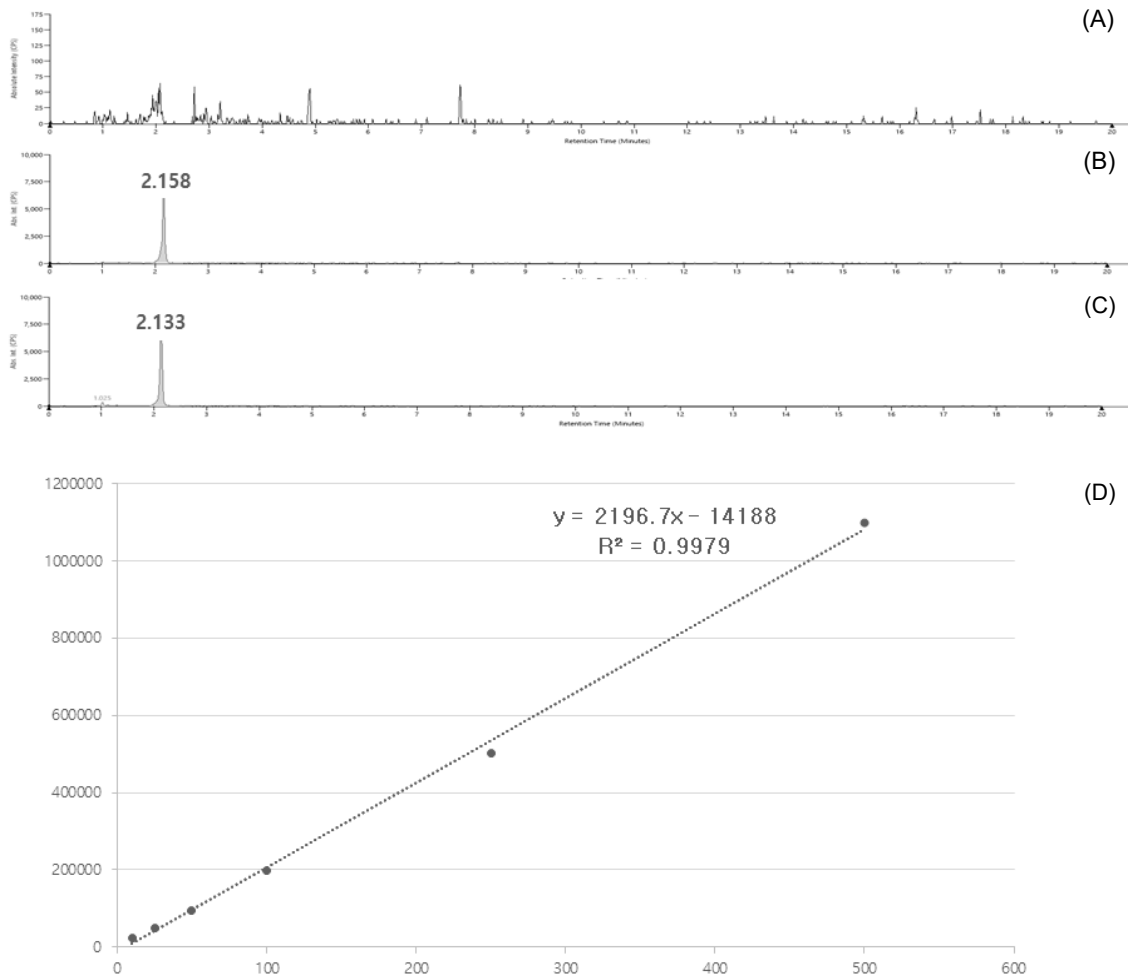


Fig. 4. Chromatograms of lincomycin of (A) blank, (B) 10 µg/kg spiked, (C) and 10 µg/L standard solution (D) standard curve from lincomycin spiked muscle samples.

한 결과 10 mg/kg 투여 시 최고농도 $2,217 \pm 974$ µg/kg으로 상승하였으며 30일 이후 전 개체에서 maximum residue limit (MRL)인 0.1 mg/kg 이하로 감소하였다. 또한 20 mg/kg 투여 후에는 최고 $2,916 \pm 1,011$ µg/kg까지 검출되었으며 30일 이후 역시 전 개체에서 MRL 이하로 잔류하였다.

40 mg/kg으로 투여 후 3, 7, 14 및 20일의 잔류량은 각각 $5,808 \pm 2,609$, $3,192 \pm 2,243$, $1,689 \pm 778$ 및 818 ± 438 µg/kg으로 잔류하였다. 이 연구에서는 20일 이후 잔류는 수행하지 못하였으며, 따라서 20일까지만의 잔류 data를 활용하여 휴약기간을 도출하였다.

휴약기간은 어류에서 LM의 MRL인 0.1 mg/kg을 기준으로 계산하였을 때 각각 32, 33 및 55일의 휴약기간이 도출되었다(Fig. 5). 이는 LM이 수산용 의약품으로 사용될 경우 온도와 관계없이 적용이 가능할 것으로 사료된다.

시험관 내(*in vitro*) 유효성 평가

LM은 *Staphylococcus aureus*, *Diplococcus pneumoniae* 등과 같은 그람양성균에게 활성을 나타내는 반면 그람음성균에게는 최대 100 µg/mL 농도에서도 감수성이 없는 것으로 보고되었다(Chang, 1979).

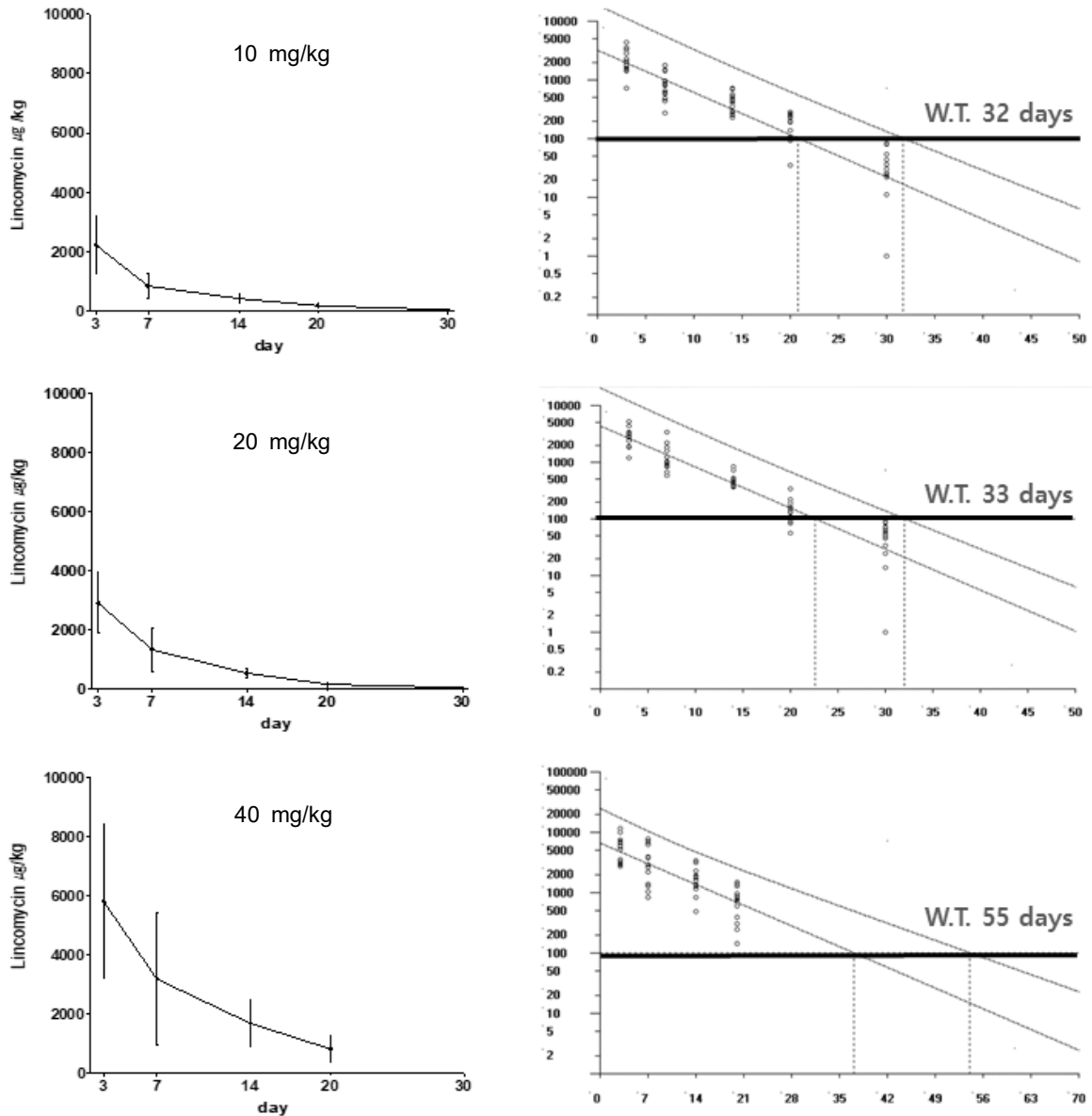


Fig. 5. Residue analysis and withdrawal time calculation in olive flounder muscle followings intramuscularly administered lincomycin at 13°C.

*Channa argus*의 궤양조직 및 복수로부터 분리한 *E. piscida* 50 균주 중 7 균주가 LM 농도 128 μg/mL에서, 나머지 43 균주가 LM 농도 256 μg/mL에서 모두 성장하여 전체 균주가 내성을 나타내었다고 보고되었다(Lee, 1988). 또한, *Epinephelus awoara*에서 분리한 *V. harveyi*균에 대한 disc 시험 결과 LM

2 μg/disc에서 저지대를 형성하지 않아 완전 내성을 나타내었다고 보고되었다(Qin *et al.*, 2006).

본 연구에서도 그람음성균인 *E. piscida* 및 *V. harveyi*의 LM에 대한 감수성을 평가한 결과 두 균주 모두 감수성이 없는 것으로 나타났다(Table 3). *E. piscida* 9 균주 모두 최고농도인 256 μg/mL에서

Table 3. Minimum inhibitory concentrations of lincomycin on *E. piscida* and *V. harveyi*

Code	Code	Isolated fish	Isolated region	Isolated year	MIC ($\mu\text{g/mL}$)
<i>E. piscida</i>	477	Olive flounder	Jeju island	2011	>256
	498	Olive flounder	Jeju island	2011	>256
	529	Olive flounder	Jeju island	2012	>256
	531	Olive flounder	Jeju island	2012	>256
	533	Olive flounder	Jeju island	2012	>256
	543	Olive flounder	Jeju island	2013	>256
	548	Olive flounder	Jeju island	2013	>256
	550	Olive flounder	Jeju island	2013	>256
	FP-5060	Olive flounder	Jeju island	2005	>256
<i>V. harveyi</i>	ATCC 14126	Talorchestia	USA	1981	32
	MC9029SU	Obscure pufferfish	Boryeong-si	2017	128
	GenBank AY750577	Olive flounder	Japan	2007	128
	HJ20	Olive flounder	Boryeong-si	2020	256

균이 생존하였으며, *V. harveyi*의 4 균주는 각각 32, 128, 128 및 256 $\mu\text{g/mL}$ 의 MIC 값을 나타내어 두 균주 모두에서 내성을 보였다.

이상의 연구 결과를 종합하면, LM이 연쇄구균 이외에 *E. piscida* 및 *V. harveyi*에서는 감수성을 나타내지 않았다. 선행 연구에 따르면, LM을 5-10 mg/kg으로 단회 주사투여시 *S. parauberis*에 의한 연쇄구균증 치료에 효과적인 것으로 나타났다(Lee *et al.*, 2022). 따라서 LM은 넙치에서 연쇄구균증 치료를 목적으로 사용하는 것이 적절하다.

본 연구는 13°C에서 10 mg/L의 용량으로 근육 내 단회 주사투여 하였을 때 32일의 휴약기간이 도출되었다. LM을 넙치에서 연쇄구균 증에 대하여 10 mg/L의 용량을 5일간 1일 1회로 경구투여시 휴약기간은 25일로 주사투여시가 더 긴 휴약기간을 필요로 하였다(NIQS, 2022).

또한 선행연구에서 LM을 21°C에서 10 mg/L를 단회 주사투여 하였을 때, 20일의 휴약기간이 도출되었으며(Lee *et al.*, 2022), 본 연구에서 LM을 13°C에서 동일한 용량 및 용법으로 투여하였을 때, 더 긴 휴약기간이 도출되었다.

단회 주사투여 시 임상용량의 2배 용량인 20 mg/kg을 투여하는 경우까지도 휴약기간의 큰 증가가 나타나지 않아 10 mg/kg의 휴약기간이 유효하다고 판단된다. 즉 현장에서의 경제성을 고려하면 10 mg/kg의 농도로 단회 주사투여 하였을 때, 휴약기

간을 30일 이상으로 설정하면 합리적인 것으로 사료된다. 단, 투여 용량이 40 mg/kg으로 크게 증가될 시 도출되는 휴약기간은 55일로 현저한 휴약기간의 연장이 요구되어 40 mg/kg으로 사용 시 10 및 20 mg/kg보다 더 긴 55일 이상의 휴약기간을 두어야 할 것이다.

본 연구를 통해 넙치에서 큰 피해를 발생시키는 연쇄구균증을 치료하기 위하여 LM을 근육 내 주사법을 투여하는 경우를 가정하여 필요한 휴약기간을 실험실 내에서 도출하였다. 연구 결과는 LM을 주사제로써 수산용의약품으로 승인하는 데에 필요한 자료로 사용된 바가 있다.

요 약

본 연구는 lincomycin (LM)의 근육투여에 따른 저수온(13°C)에서의 잔류 특성 및 넙치에서 병원성 세균으로 발견되는 그람음성 세균에서의 시험관 내 *in vitro* 약효를 평가하기 위하여 수행하였다. LM을 10, 20 및 40 mg/kg의 용량으로 단회 투여하였을 때, 근육내 농도가 잔류허용기준인 0.1 mg/kg 이하로 감소하는 기간은 각각 32일, 33일 및 55일로 평가되었다. 또한, 현장 분리 균주 그람음성 세균인 *Edwardsiella piscida* 및 *Vibrio harveyi*에 대하여 LM의 minimal inhibitory concentration (MIC)로 평가된 *in vitro* 약효는 각각 >256 $\mu\text{g/mL}$ 및 32 $\mu\text{g/}$

mL을 나타냈다. 연구 결과, 넙치 양식장에서 사용되는 LM의 임상용량인 10 mg/kg을 고려하였을 때의 휴약기간을 30일 이상으로 설정하면 합리적인 것으로 판단된다. 또한 LM이 넙치 연쇄상구균증 치료 목적으로 투여될 때 그 동시에 감염된 그람음성 세균에는 약효가 발휘되지 않을 것으로 추정한다.

References

- 박성진: 만화항생제, pp.124-125, 8, 군자출판사, 서울, 2010
- Björklund, H., Bylund, G.: Temperature-related absorption and excretion of oxytetracycline in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture*, 84, 363-372, 1990.
- Chang, F. N., Sih, C. J., Weisblum, B.: Lincomycin, an inhibitor of aminoacyl sRNA binding to ribosomes. *the National Academy of Sciences*, 55, 431-438, 1966.
- Chang, F.N.: Lincomycin. *Antibiotics*, 5, 127-134, 1979.
- Ellis, A.E., Roberts, R.J., Tytler P.: The anatomy and physiology of teleosts. *Fish Pathology*, 13-55, 1978.
- Jung, S.H., Kim, J.W., Seo, J.S., Choi, D.L., Jee, B.Y., and Park, M.A.: Effect of temperature on pharmacokinetics of nalidixic acid, piromidic acid and oxolinic acid in olive flounder *Paralichthys olivaceus* following oral administration. *Fish Pathology*, 23, 57-67, 2010.
- Josten, J.J., Allen, P.M.: The mode of action of lincomycin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 14, 241-244, 1964.
- Kim Y.J., Chun W.K., Cho E.A. and Kim D.H.: Determination of epidemiological Cut-off Values for lincomycin and tylosin in *Streptococcus parauberis*. *Korean Federation of Fisheries Science and Technology Societies*, 233-233, 2019.
- KOSIS (Korean Statistical Information Service): <https://kosis.kr/search/search.do>, 2021.
- Lee, H.K.: Isolation and Antimicrobial Susceptibility Testing of *Edwardsiella piscida* from *Channa argus* in Korea. *Fish Pathology*, 1, 95-101, 1988.
- Lee, J.H., Seo, J.S., Kim, G.W., Kwon, M.G., Kim, D.H., Park, C.I., Kim, K.T., Park, J.B.: Effect of lincomycin, an injectable lincosamide antibiotic, against streptococcosis in cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus* and its pharmacokinetic-pharmacodynamic profile. *Aquaculture*, 548, 737667, 2022.
- NIQS (National Fisheries Products Quality Management Service), 수산물 동물용 의약품등 잔류성 시험지침, 2021, https://www.nfqs.go.kr/hpmsg/board/actionBoardDetail.do?menuId=M0000215&ORD_NO=4239.
- NIQS (National Fisheries Products Quality Management Service), 수산물 의약품 제품 요약 해설집, 32, 2022, https://www.nfqs.go.kr/apms/ebook/mice_ebook/index.html#page=33.
- Qin, Y.X., Wang, J., Su, Y.Q., Wang, D.X. and Chen, X.Z.: Studies on the pathogenic bacterium of ulcer disease in *Epinephelus awoara*. *Acta Oceanologica Sinica*, 1, 154-159, 2006.
- Shim, J.D., Hwang, S.D., Jang, S.Y., Kim, T.W. and Jeong, J.M.: Monitoring of the mortalities in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) farms of Korea. *Fish Pathology*, 32, 29-35, 2019.
- VICH Steering Committee Minutes: Studies to Evaluate the Metabolism and Residue Kinetics of Veterinary Drugs in Food-producing Species: Marker Residue Depletion Studies to Establish Product Withdrawal Periods in Aquatic Species(VICH GL 57), 4-5, 2019.

Manuscript Received : Oct 13, 2022

Revised : Nov 11, 2022

Accepted : Nov 15, 2022