

## Aeromonas hydrophila에 대한 비단잉어의 면역반응과 수산약제의 영향

지보영, 박수일

부산수산대학교 어병학과

본 연구는 비단잉어의 *Aeromonas hydrophila*에 대한 면역 반응 기구를 알기 위하여 균체항원 FKC와 HKC를 복강내에 주사하여 수온 차이별로 항체의 형성 과정과 방어력의 변화 정도를 조사하였다. 그리고 Hydrocortisone, Oxytetracycline, Chloramphenicol 및 Ascorbic acid를 함유한 어체에 추가로 복강 주사하여 이들 약물이 비단잉어의 면역 형성능에 미치는 영향을 조사 하고자 하였다. 수온 조건별로 살펴보면 24°C 실험구에서 FKC는 4주제, HKC는 3주제 가장 높은 응집 항체를 나타내었고 면역 처리후 4주 및 8주제 공격 실험에서 상대 생존율은 FKC가 75~100%인 반면에 HKC는 50~60%로 나타나 24°C FKC 투여구가 비단잉어의 면역 반응에 효과가 있는 것으로 나타났다. FKC를 투여한 후 상기 약물을 추가로 복강주사한 결과 3주제의 응집 항체가 4~32로서 대조구의 128보다 낮았으며 또한, 4주 및 8주제 공격 실험 결과에서도 상대 생존율이 25~50%로 나타나 대조구의 75%보다 낮았으므로 비단잉어의 면역 반응에서 이들 약물은 투여 방법에 따라 면역 형성능의 저하 작용이 있는 것으로 나타났다

**Key Words :** *Aeromonas hydrophila*, color carp, aquatic drug, immunosuppressive-factor, immune response, FKC, HKC

해마다 월동기를 지나 수온이 급변하는 봄이 되면 온수성 어류들이 비늘이 일어거나, 복부팽만 증세를 보이는 병어를 발견할 수 있다. 이러한 병어는 *Aeromonas hydrophila*의 감염에 의해 일어나는 경우가 많다. *A. hydrophila*는 수중이나 정상어의 장내에 항상 존재(Boulangier *et al.*, 1977; Neilson, 1978; Trust and Sparrow, 1974) 하지만, 때로는 handling, 밀식, 수질악화, 수온의 급변 등과 같은 stress 조건하에서는 어류의 병원성을 나타내는(Bullock, 1961; Plumb *et al.*, 1976; Shotts *et al.*, 1972) 조건성 병원체이다.

*Aeromonas* 감염증에 걸린 어류의 치료대책으로서 항생제나 화학 요법제의 사용이 있으나 약제 내성균의 출현 및 공중 위생상의 차원에서 많은 문제점이 거론되고 있는 실정이다. 이러한 어려움을 근원적으로 막고 예방하기 위한 적극적인 대책으로서 어체의 면역학적 방어력 증강에 많은 연구와 관심이 집중되고 있다. Post(1966)

및 Post와 Khalifa(1976)는 무지개송어에 HKC와 아췌반트를 투여한 후 식작용과 응집 항체를 상호 관련시켜 방어 능력의 변화를 연구 하였다. Thune등(1982)은 차널메기에 fragmented bacterin을 주사하여 체액성 면역 반응을 연구 하였고, Plumb(1984)는 틸라피아에 있어서 FKC의 투여 효과에 관하여 보고 하였다. 그리고 Lamers와 Van Muiswinkel(1986)은 잉어의 면역반응 연구에서 HKC와 FKC의 응집 항체를 비교하였고, Baba등(1988)은 LPS의 면역 효과에 관하여 보고 하였고, Lamers등(1985)은 FKC의 응집 항체와 면역 기억에 관하여 보고 하였다. 그러나 백신투여에 대한 어류의 면역 반응이 다양하기 때문에 백신 투여 효과를 정확하게 알아내는 데 어려움이 많은 실정이다. 그리고 *in vitro* 실험 결과와는 달리 효과가 그다지 나타나지 않을 때가 많고 또 같은 백신이라 할지라도 투여방법에 따라서 면역 효과에 큰 차이가 나는 경우가 많으므로 어류의

백신 투여 효과에는 여러 가지 요인이 영향을 미치고 있다는 것을 알 수 있다. 그 요인 중에는 수송과 운반에 따른 stress(Ellsaesser and Clem, 1986), 저수온(Horne et al., 1982) 및 항생제인 oxytetracycline의 주사(Rijkers et al., 1980) 등이 알려져 있다. 따라서 본 논문에서는 비단잉어의 *A. hydrophila*에 대한 면역 반응 기구를 알기 위하여 FKc와 HKc를 복강내에 주사하여 수온 조건별로 항체의 형성 과정과 방어력의 변화 정도를 검토하고 면역억제 효과가 예상되는 Hydrocortisone, Oxytetracycline, Chloramphenicol 및 Ascorbic acid를 면역 어체의 복강에 주사하여 이들 약물이 비단잉어의 면역 형성에 미치는 영향을 조사 하였다.

## 재료 및 방법

실험어인 비단잉어(50~100g)는 본 대학 양어장 및 국립 진해 내수면 연구소로부터 분양받아 어병예방학 실험실에서 반순환 여과 장치를 한 50ℓ들이 plastic 사육 수조에 각각 10마리씩 수용하여 5일간 순치한 후 실험에 사용하였다. 실험 기간 중의 사육 관리 수온은 22~24℃로 유지 하였으며, 실험 조건에 따라 일정 온도 조건하에 순치 시키면서 이상 유무를 확인 하였다. 그리고 먹이로서는 시판용 배합 사료를 1일 3회 공급하였다.

실험균주는 1991년 부산 소재 수족관에서 복수증상을 나타내는 금붕어의 복수로 부터 분리한 *Aeromonas hydrophila* PDA-1 균주로서 동결 보존시킨 것을 TSA 고층 배지에 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

항원제작에는 TSA 배지에서 25℃, 24시간 동안 예비 배양한 후 TSB 배지에서 25℃, 48시간 진탕배양 시킨 균액을 사용하였다. 이 균 배양액에 formalin이 0.5%가 되도록 첨가하여 24시간 동안 실온에서 방치하여 formalin killed cell(FKc)를 준비하였고, 100℃, 30분 가열시키는 방법으로 heat killed cell(HKc)를 준비하였다. FKc와 HKc는 10,000×g에서 30분간 원심 분리하여 얻은 균체를 멸균생리식염수로 3회 세척한 후 10mg/ml의 농도가 되도록 멸균 생리식염수로 현탁하여 실험 항원 원액으로 사용하고 항원의 보존시에는 NaNO<sub>2</sub>를 0.05%

첨가하여 4℃에 두었다.

면역 반응에 관한 환경 요인으로서의 수온 차이를 준 실험구를 설정 하였으며, 16℃, 24℃ 및 32℃의 세조건에 대하여 각각 FKc와 HKc 항원을 투여하여 비교하였다. 항원 투여는 항원 원액을 어체당 0.1ml씩 복강내 주사하는 방법을 사용하였다.

각종 약물의 면역억제 효과에 관한 실험은 비단잉어에 FKc 항원을 투여한지 24시간 후에 각종 약물을 실험어의 복강내에 주사하여 면역 반응 변화 정도를 시험 하였다. 실험에 사용한 각종 약물의 종류 및 투여 방법은 Table 4에 나타낸 바와 같이 hydrocortisone(Sigma), oxytetracycline(Difco), chloramphenicol(Difco) 및 ascorbic acid의 4 종류로써 어체중 당 각각 40mg, 60mg, 60mg 및 30mg의 농도가 되도록 복강에 0.1ml씩 주사 하였다. 이 실험의 대조구로서는 PBS 0.1ml 및 FKc 항원을 각각 복강내 0.1ml씩 주사하여 비교하였다.

면역의 형성 정도는 응집 항체가로 판정 하였으며, 각각의 백신 및 실험 약물을 투여 후 일정 기간별로 미부 정맥에서 채혈하여 혈청을 분리한 후 microtiter법으로 응집 항체가를 측정 하였다. 응집 항체가와 항병능력과 관계를 알기위하여 *Aeromonas hydrophila* PDA-1로써 공격 실험을 행하였다. 이 균주는 TSB 배지에 25℃, 24시간 배양한 다음  $1.9 \times 10^7$  CFU/ml 되도록 생리식염수로 농도를 조절하여 공격 실험 균액으로 사용하였다. 이 공격 실험 균액은 각 실험구의 어체당 0.1ml씩 복강내에 주사하였으며 주사는 백신 또는 실험 약물 투여 4주 및 8주째의 실험어를 대상으로 하였고, 공격 실험의 결과는 상대 생존율(RPS)로 나타내었다.

## 결 과

수온 차이별로 FKc와 HKc를 투여한 비단잉어의 응집 항체가를 Table 1에 나타내었다. 각 실험구를 살펴보면, 16℃, 24℃ 및 32℃에서 FKc 투여구는 면역처리 4주째에 64, 512 및 128로 각각 가장 높은 응집 항체가를 나타낸 반면에, HKc 투여구는 각각 면역처리 2주, 3주, 4주째에 16, 64 및 32로 나타나서 FKc 투여구가 HKc

투여구에 비하여 항체가 높은 것으로 나타났다. 그리고, 수온과의 관계를 보면 24°C에 면역 시킨 실험구의 항체가 가장 높은 것을 알 수 있다.

면역 처리 후 4주째에  $1.9 \times 10^6$  CFU/ml의 농도로 공격실험 한 비단잉어의 누적 폐사율과 상대 생존율은 Table 2에 나타내었다. 즉, FKC 투여구는 16°C, 24°C 및 32°C에서 상대 생존율이 각각 40, 100 및 40%이었으며 HKC 투여구는 20, 60 및 20%로 나타났다. 그리고 비단잉어의 상대 생존율은 FKC 투여구가 HKC 투여구보다 모든 실험구에서 높은 것으로 나타났으며, 수온 조건에서 보면 24°C인 경우가 가장 높은 것을 알 수 있다.

면역 처리 후 8주째에  $1.9 \times 10^6$  CFU/ml의 농도로 공격실험 한 비단잉어의 누적 폐사율과 상대 생존율은 Table 3에 나타내었다. 즉, FKC 투여구는 16°C, 24°C 및 32°C에서 FKC 투여구는 각각 0, 75 및 25%의 상대 생존율을 나타내었으며 HKC 투여구는 0, 50, 50%로 나타나서 이 때의 비단잉어 생존율은 24°C를 제외하고 FKC 투여구와 HKC 투여구는 차이가 별로 없었고, 수온 조건에서 보면 24°C인 경우가 가장 높은 것을 알 수 있다.

FKC 투여 후 각종 약물을 주사한 비단잉어 실험구의

응집 항체를 Table 4에 나타내었다. 각 실험구를 살펴 보면, ascorbic acid, oxytetracycline, chloramphenicol 및 hydrocortisone 등의 처리구는 FKC 투여 3 주째에 조사 기간 중 가장 높은 응집 항체가인 32, 16, 16 및 4로 나타난 반면에 면역 후 PBS만 투여한 대조구는 128로 나타났다. 따라서 상기 약물이 투여된 비단잉어의 항체는 대조구보다 저하 되었으며, 억제 효과는 ascorbic acid가 가장 낮고 hydrocortisone이 가장 높은 것을 알 수 있다.

약물 투여 후 4주 및 8주째에  $1.9 \times 10^6$  CFU/ml의 농도로 공격 실험 하였을 때 누적 폐사율과 상대 생존율을 Table 5와 6에 나타내었다. 각 실험구를 살펴보면, ascorbic acid, oxytetracycline, chloramphenicol 및 Hydrocortisone 등의 처리구는 50, 25, 25, 25%의 상대 생존율을 나타낸 반면에 PBS 처리구인 대조구는 75%로 나타났다. 이로써 약물이 투여된 비단잉어의 생존율은 대조구보다 저하 되었으며, ascorbic acid가 가장 높고 hydrocortisone이 가장 낮은 것을 알 수 있었다.

Table 1. Agglutination titer of antiserum of color carp immunized with *Aeromonas hydrophila* PDA-1 bacterin under the different temperature conditions.

Immunogen	Temperature condition (°C)	Agglutinin titer(1 : )						
		Week after immunization						
		1	2	3	4	5	6	8
FKC <sup>1</sup>	32	2	16	64	128	64	32	4
	24	16	32	128	512	256	128	32
	16	0	2	32	64	32	16	0
HKC <sup>2</sup>	32	2	32	16	8	4	2	0
	24	2	16	64	32	16	8	2
	16	0	2	8	16	8	2	0

<sup>1</sup> Formalin killed cell

<sup>2</sup> Heat killed cell

Table 2. Cumulative mortality of color carp challenged intraperitoneally with  $1.9 \times 10^6$  CFU/ml of *Aeromonas hydrophila* PDA-1, 4 weeks after immunization with *Aeromonas hydrophila* PDA-1 bacterin under the different temperature conditions.

Immunogen	Temperature condition(°C)	No. of tested fish	surviving at day										Cumulative mortality(%)	RPS <sup>3</sup>
			1	2	3	4	5	6	7	10	15			
FKC <sup>1</sup>	32	5	5	5	4	2	2	2	2	2	2	2	60	40
	24	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0	100
	16	5	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	60	40
HKC <sup>2</sup>	32	5	4	2	1	1	1	1	1	1	1	1	80	20
	24	5	5	4	3	3	3	3	3	3	3	3	40	60
	16	5	5	3	1	1	1	1	1	1	1	1	80	20
Non-imm.	24	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0

<sup>1,2</sup> Refer to Table 1

<sup>3</sup> Relative percentage survival(RPS)

$$RPS = 1 - \frac{\% \text{ Mortality in vaccinates}}{\% \text{ Mortality in controls}} \times 100$$

Table 3. Cumulative mortality of color carp challenged intraperitoneally with  $1.9 \times 10^6$  CFU/ml of *Aeromonas hydrophila* PDA-1, 8 weeks after immunization with *Aeromonas hydrophila* PDA-1 bacterin under the different temperature conditions.

Immunogen	Temperature condition(°C)	No. of tested fish	surviving at day										Cumulative mortality(%)	RPS <sup>3</sup>
			1	2	3	4	5	6	7	10	15			
FKC <sup>1</sup>	32	4	4	3	3	1	1	1	1	1	1	1	75	25
	24	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	25	75
	16	4	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0
HKC <sup>2</sup>	32	4	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	50	50
	24	4	4	3	2	2	2	2	2	2	2	2	50	50
	16	4	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	75	0
Non-imm.	24	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0

<sup>1,2</sup> Refer to Table 1

<sup>3</sup> Refer to Table 2

고찰

Avtalion(1981)은 어류는 정상적인 생리적 수온 이하에서 면역 반응이 억제된다고 하였고, Rijkers등(1980)은

잉어의 경우 18°C 또는 그 이하에서 면역 반응이 억제되고 면역 기억이 부족하다고 하였다. 수온 차이별로 비단 잉어의 *A. hydrophila*에 대한 면역 반응을 살펴본 결과 16°C 실험구의 응집 항체가 및 상대 생존율이 낮게 나타

Table 4. Agglutination titer of antiserum of color carp antiserum injected with aquatic drugs after *Aeromonas hydrophila* FKC injection intraperitoneally

Aquatic drugs	dose/body weight		Agglutinin titer(1 : )						
			Week after immunization						
	(mg)	(kg)	1	2	3	4	5	6	8
Oxytetracycline	60		0	8	16	4	2	2	0
Chloramphenicol	60		0	8	16	4	2	0	0
Hydrocortisone	40		0	2	4	2	2	2	0
Ascorbic acid	30		4	16	32	16	4	4	0
Control			8	64	128	64	32	32	4
PBS <sup>4</sup>			0	0	0	0	0	0	0

<sup>4</sup> Non-immunization

Table 5. Cumulative mortality of color carp challenged intraperitoneally with  $1.9 \times 10^6$  CFU/ml of *Aeromonas hydrophila* PDA-1, 4 weeks after immunization with FKC followed the aquatic drug injections

Aquatic drug	No. of tested fish	Surviving at day										Cumulative mortality(%)	RPS <sup>3</sup>
		1	2	3	4	5	6	7	10	15			
Oxytetracycline	5	4	3	2	2	2	2	2	2	2	60	25	
Chloramphenicol	5	4	4	3	2	2	2	2	2	2	60	25	
Hydrocortisone	5	4	3	3	2	2	2	2	2	2	60	25	
Ascorbic acid	5	4	3	3	3	3	3	3	3	3	40	50	
Control	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	20	75	
PBS <sup>4</sup>	5	4	2	1	1	1	1	1	1	1	80	0	

<sup>3</sup> Refer to Table 2

<sup>4</sup> Refer to Table 4

나 이들 보고와 일치하는 결과를 얻었기 때문에 저수온에서 비단잉어의 면역 반응은 억제된다고 생각되며, 32°C 실험구 또한 응집 항체가 및 생존율이 저하 되는 것으로 보아 고수온에서도 비단잉어의 면역 반응이 억제될 수 있는 것으로 사료된다. Ruangapan 등(1986)은 FKC를 복강 주사한 나일 틸라피아에서는 백신 처리 후 1주째 공격 실험을 통해 어느 정도의 방어력을 관찰하였고 2주~5주 사이에 FKC 처리구에서 폐사 개체가 없었다고 하여 FKC는 틸라피아에서 유용할 수 있다는 것을 밝혔다. 한편, Lamers와 Van Muiswinkel(1986)은 잉어에 있어서 HKC가 FKC보다 8개월 이상 더 높은 응집 항체가를 생성한다고 하였다. 본 실험의 경우 비단잉어에 FKC와 HKC를 투여한 결과 FKC 투여구의 응집 항체가 및 생존율이 HKC 투여구보다 높게 나타나 Lamers와 Van Musiwinkel(1986)의 보고와는 다른 결과가 나왔다. 이러한 현상은 혈청형이 다양한 *A. hydrophila*의 균주의 이종성도 하나의 원인이 된다고 생각할 수 있겠으나, 그 보다도 균주에 따라서 방어 항원의 특성이 온도 처리 조건에 따라 크게 달라진다는 점이 매우 흥미있는 차이점이라 생각한다. 그리고 본 실험에서 24°C 실험구의

8주째 응집 항체가와 공격 실험을 통해 생존율을 살펴본 결과 항체가가 낮아도 방어력은 있는 것으로 보아 항체가와 방어력은 일치하지 않는다는 Ruangapar 등(1986)의 보고와 같은 결과를 나타내어 어류의 생체 방어 기작은 더욱 더 연구되어야 할 것으로 사료된다.

Ellis(1981)는 stress에 의해 면역 반응이 억제되는 것은 corticosteroid라는 호르몬에 의해서 감지될 수 있다고 하였고, 이러한 호르몬은 어떤 어종의 생활사 중 일정 시기, 예를 들면 대서양 연어의 smolting 시기라든가, 암컷 연어류의 성 성숙기 등에는 증가 된다고 하였다. 본 실험에 있어서 hydrocortisone 실험구의 응집 항체가 및 생존율은 PBS 대조구보다 현저하게 저하되었다. Pickering와 Pottinger(1985)에 의하면 corticosteroid의 증가는 면역 억제를 나타낸다고 하였고, Ellassew와 Clen(1986)는 수술, 운반, 마취 등에 의한 stress가 항체 형성을 현저히 억제 시킨다고 하였다. 그리고 저수온, 고수온 및 고염분, 저염분 농도는 혈액 cortisol을 증가 (Ishioaka, 1980 a, b) 시키고, 어류에 직접 corticosteroid를 투여하면 항체 생성 세포수를 감소시켜 혈액중 항체가가 낮아진다고 하였다(Anderson *et al.*, 1982). 본

Table 6. Cumulative mortality of color carp challenged intraperitoneally with  $1.9 \times 10^6$  CFU/ml of *Aeromonas hydrophila* PDA-1, 8 weeks after immunization with FKC followed the aquatic drug injections

Aquatic drug	No. of tested fish	Surviving at day										Cumulative mortality(%)	RPS <sup>3</sup>
		1	2	3	4	5	6	7	10	15			
Oxytetracycline	4	4	3	2	1	1	1	1	1	1	1	75	25
Chloramphenicol	4	4	4	3	2	1	1	1	1	1	1	75	25
Hydrocortisone	4	4	3	3	2	1	1	1	1	1	1	75	25
Ascorbic acid	4	4	3	3	2	2	2	2	2	2	2	50	50
Control	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	25	75
PBS <sup>4</sup>	4	4	2	1	1	0	0	0	0	0	0	100	0

<sup>3</sup> Refer to Table 2

<sup>4</sup> Refer to Table 4

실험에서도 hydrocortisone을 비단잉어에 직접 주사한 결과 이들 보고와 일치하였기에 stress 조건 하의 비단잉어는 항체 생성과 방어력에 큰 영향을 받을 수 있는 것으로 사료된다.

Rijkers등(1980)은 잉어에 토끼 적혈구로 면역 처리하기 전에 oxytetracycline을 실험 전기간 동안 경구 투여하거나 면역처리 15일 전부터 3일에 한번씩 주사 투여하였을 때 체액성 면역 반응이 억제 된다고 하였으며, Van Muiswinkel 등(1985)은 무지개송어에서 *Yersinia ruckeri* O 항원으로 면역처리 14일 전에 oxytetracycline을 경구투여하면 체액성 면역 반응이 저하된다고 하였다. Kreuzmamm(1977)은 뱀장어에서 oxytetracycline과 chloramphenicol이 세포성 면역 반응을 억제 시킨다고 하였다. 본 실험에서도 oxytetracycline과 chloramphenicol을 주사한 결과 응집 항체가 및 상대 생존율이 대조구보다 낮아서 어종은 서로 다르지만 이들의 보고와 일치하므로 비단잉어의 *A. hydrophila*에 대한 백신을 투여할 때 oxytetracycline 또는 chloramphenicol과 같은 항생제를 투여하는 것은 면역 반응을 저하시킬 수 있는 것으로 사료된다.

Ellis(1981)에 의하면 어류의 면역 반응에 영향을 미치는 본질적인 측면인 어류의 건강상태는 사료를 영양적 요구에 부합되도록 균형있게 사료를 공급해야 한다고 하였고 사료와 관련하여 특히, 비타민과 어류의 면역 반응의 관계에 대하여 많은 연구가 행해져 왔다고 하였다. 본 실험에 있어서 ascorbic acid 주사 실험구의 응집 항체가 및 생존율을 살펴본 결과, PBS 대조구보다 응집 항체가가 다소 낮아지지만 생존율에는 차이가 별로 없었다. Durve와 Lovell(1982)은 *E. tarda*와 *E. ictaluri*에 대해 채널메기 치어가 저수온에서 저항성을 가지기 위해서는 정상적인 일일 요구량보다 많은 비타민 C의 경구 투여를 필요로 한다고 하였다. Li와 Lovell(1985)은 *E. ictaluri* 항원에 대한 채널메기의 항체 반응은 비타민 C가 정상적인 요구량보다 적을 때 감소하고 많을 때는 증가한다고 하였으며 비타민 C가 부족한 경우, 혈액 식세포의 식작용이 감소한다고 하였다. 본 실험에서는 이들 보고와는 달리 오히려 면역반응이 저하되는 것으로

나타나 주사에 의한 ascorbic acid의 투여는 효과를 기대할 수 없고 경구 투여함이 바람직한 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합해 보면 비단잉어의 *A. hydrophila*에 대한 면역반응에 있어서 FKc가 HKc보다 유용하며 백신 처리시 정상적인 사육 수온에서 처리하는 것이 저수온이나 고수온에서 보다 더욱 효과가 좋을 것으로 생각된다. 또한, 백신 처리시 oxytetracycline과 chloramphenicol과 같은 항생제를 함께 투여하는 것은 비단잉어의 면역 반응을 저하시킬 수 있으며, ascorbic acid도 주사에 의한 투여는 면역 반응을 저하시킬 수 있을 것으로 생각된다. 그러므로 이러한 수산 약제를 투여할 때는 투여경로, 투여량 및 투여시기 등을 고려하여 사용하는 것이 필요하며 이러한 현상에 대해서는 비단잉어 이외의 양식 대상 어종에 대해서도 폭넓게 조사할 필요가 있을 것으로 생각한다.

## 참 고 문 헌

- Anderson, D. P., Roberson, B. S. and Dixon, O. W. : Immunosuppression induced by a corticosteroid or an alkylating agent in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) administered a *Yersinia ruckeri* bacterin. *Dev. Comp. Immunology*, Supplement. 2 : 197~204, 1982.
- Avtalion, R. R. : Environmental control of the immune response in fish. *Crit. Rev. Environ. Control*. 11 : 163~188, 1981.
- Baba, T., Imamura, J., Izawa, K. and Ikeda, K. : Immune protection in carp (*Cyprinus carpio* L.) after immunization with *Aeromonas hydrophila* crude lipopolysaccharide. *J. Fish Dis.* 11 : 237~244, 1988.
- Boulanger, Y., Lallier, R. and Cousineau, G. : Isolation of enterotoxigenic *Aeromonas* from fish. *Can. J. Microbiol.* 23 : 1161~1164, 1977.
- Bullock, G. L. : The identification and separation of *Aeromonas liquefaciens* from *Pseudomonas fluorescens*

- and related organisms occurring in diseased fish. *Appl. Microbiol.* 9 : 587~590, 1961.
- Durve, V. S. and Lovell, R. T. : Vitamin C and disease resistance in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Can. J. Fish. Aqua. Sci.* 39 : 948~951, 1982.
- Ellis, A. E. : Stress and the modulation of defence mechanisms in fish. In *Stress and Fish*, ed. by A. D. Pickering, pp. 147~169 Academic Press, London, 1981.
- Ellsaesser, C. F. and Clem, L. W. : Haematological and immunological changes in channel catfish stressed by handling and transport. *J. Fish Biol.* 28 : 511~521, 1986.
- Horne, M. T., Tatner, M. F., McDerment, S., Agius, C. and Ward, P. : Vaccination of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) at low temperatures and the long persistence of protection. *J. Fish Dis.* 5 : 343~345, 1982.
- Ishioka, H. : Stress reactions in the marine fish - I. Stress reactions induced by temperature changes. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 46 : 523~531, 1980a.
- Ishioka, H. : Stress reactions induced by environmental salinity changes in red sea bream. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 46 : 1323~1331, 1980b.
- Kreutzmann, H. L. : The effects of chloramphenicol and oxytetracycline on haematopoiesis in the European eel (*Anguilla anguilla*). *Aquaculture.* 10 : 323~334, 1977.
- Li, Y. and Lovell, R. T. : Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune responses in channel catfish. *J. Nutrition.* 115 : 123~131, 1985.
- Lamers, C. H. J. and Van Muiswinkel, W. B. : Natural and acquired agglutinins to *Aeromonas hydrophila* in carp (*Cyprinus carpio*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43 : 619~624, 1986.
- Lamers, C. H. J., De Haas, M. J. H. and Van Muiswinkel, W. B. : Humoral response and memory formation in carp (*Cyprinus carpio*) after injection of *Aeromonas hydrophila* bacterin. *Dev. Comp. Immunol.* 9 : 65~76, 1985.
- Neilson, A. H. : The occurrence of Aeromonad inactivated sludge : isolation of *Aeromonas sobria* and its possible confusion with *Escherichia coli*. *J. Appl. Bacteriol.* 44 : 259~264, 1978.
- Pickering, A. D. and Pottinger, T. G. : Cortisol can increase the susceptibility of brown trout (*Salmo trutta* L.) to disease without reducing the white blood cell count. *J. Fish Biol.* 27 : 611~619, 1985.
- Plumb, J. A., Grizzle, J. M. and De Figueiredo, J. : Necrosis and bacterial infection in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) following hypoxia. *J. Wildl. Dis.* 12 : 247~253, 1976.
- Plumb, J. A. : Immunization of warm water fish against five important pathogens. In *Symposium on Fish Vaccination*, ed. by P. de Kinkelin, pp. 199~222. Office international des Epizooties, Paris, 1984.
- Post, G. : Response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to antigens of *Aeromonas hydrophila*. *J. Fish. Res. Board Can.* 23 : 1487~1494, 1966.
- Post, G. and Khalifa, K. A. : Immune response of advanced rainbow trout fry to *Aeromonas liquefaciens*. *Prog. Fish-Cult.* 38 : 66~68, 1976.
- Rijkers, G. T., Frederix - Walters, E. M. H. and Van Muiswinkel, W. B. : The immune system of cyprinid fish. Kinetics and temperature dependence of antibody producing cells in carp (*Cyprinus carpio*). *Immunology.* 41 : 91~97, 1980.
- Rijkers, G. T., Teunissen, A. G., Van Oosterom, R. and Van Muiswinkel, W. B. : The immune system of cyprinid fish. The immunosuppressive effect of the antibiotic oxytetracycline in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture.* 19 : 177~189, 1980.
- Ruangapan, L., Kitao, T. and Yoshida, T. : Protective efficacy of *Aeromonas hydrophila* vaccines in



- Nile tilapia. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 12 : 345~350, 1986.
- Shotts, E. B., J. L. Gaines, L. Martin, and Prestwood, A. : *Aeromonas* induced deaths among fish and reptiles in an eutrophic inland lake. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 161 : 603~607, 1972.
- Thune, R. L., Graham, T. E., Riddle, L. M. and Amborski, R. L. : Extracellular products and endotoxin from *Aeromonas hydrophila* : effects on age-0 catfish. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 111 : 404~408, 1982.
- Trust, T. J. and Sparrow, R. A. H. : The bacterial flora in the alimentary tract of freshwater salmonid fishes. *Can. J. Microbiol.* 20 : 1219~1228, 1974.
- Van Muiswinkel, W. B., Anderson, D. P., Lamers, C. H. J., et al. : Fish immunology and fish health. *In* Fish immunology, ed. by M. J. Manning and M. F. Tatner. pp. 1~8, Academic Press, London, 1985.

---

## Effects of aquatic drugs and immune response in color carp, *Cyprinus carpio*, to *Aeromonas hydrophila*

Bo-Young Ji and Soo-II Park

Department of Fish Pathology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

This study was carried out in order to investigate the immunosuppressive factor and immune response of color carp. The protection and serum antibody production of juvenile color carp against *Aeromonas hydrophila* were investigated on the effect of temperature differences and injected several aquatic drugs, i.e. Hydrocortisone, Oxytetracycline, Chloramphenicol and Ascorbic acid. The fish were injected intraperitoneally with 1mg/fish of HKC and FKC at three different temperature conditions as 16°C, 24°C, and 32°C respectively. There were induced better protection and serum antibody production in the fish which had been kept at 24°C than in the fish which had been kept at 16°C and 32°C. The FKC immunized fish were followed 24 hrs later with intraperitoneal injection of 40mg/kg body weight of Hydrocortisone, 60mg/kg body weight of Oxytetracycline, 60mg/kg body weight of Chloramphenicol and 30mg/kg body weight of Ascorbic acid, respectively. The control fish were injected PBS only. The fish given the above aquatic drugs reduced serum antibody production level and protection rate when compared to control fish. As the results, immune response of juvenile color carp immunized FKC at 24°C was more effective than 16°C or 32°C and immune response of juvenile color carp injected several aquatic drugs which was seemed to be immunosuppressive factor.

