

틸라피아의 에드워드병에 대한 백신과 Adjuvant의 효과

이주석, 박수일
부산수산대학교 어병학과

본 연구는 tilapia의 *Edwardsiella tarda*균체 항원(FKC)에 대한 항원성을 증가시키고, 백신의 투여 효과를 지속시키기 위해 백신을 3종류의 adjuvant 즉 FCA, FIA 및 PAS에 혼합하여 사용했을 때와 adjuvant만을 사용했을 때 그리고 *E. tarda*의 FKC를 투여 했을 때의 효과를 비교 조사하고자 하였다. Microtiter법에 의해 응집 항체가 지속성을 측정하였고, 공격 시험에 대한 방어 효과는 *E. tarda* T1123균주의 농도별에 따른 상대 생존율(RPS)로서 판정하였다. 3종류의 adjuvant에 혼합시킨 백신 실험구는 FKC 단독 투여 실험구에 비하여 8주째 높은 응집 항체를 지속시켰다. 가장 높은 응집 항체는 2주째 FCA+FKC, PAS+FKC 및 FKC 실험구에서 나타났다. 상대 생존율이 60이상으로 나타난 실험구는 면역 처리 후 3주째 2.5×10^7 CFU/ml와 2.5×10^8 CFU/ml 농도로서 공격 시험한 FCA+FKC, PAS+FKC 및 FKC 실험구와 8주째 2.5×10^7 CFU/ml 농도로서 공격 시험한 FCA+FKC 및 PAS+FKC 실험구 이었다. Adjuvant만으로 면역 처리한 Tilapia의 *E. tarda*에 대한 저항성은 대조구보다 다소 높은 것으로 나타났다. Tilapia의 에드워드병에 대한 백신의 adjuvant로서 FCA와 PAS는 백신 효과를 장기간 지속시켜 방어력을 증강시킨 것으로 나타났다.

Key Words : Tilapia, *Edwardsiella tarda*, Formalized bacterin, Adjuvant

우리 나라에서도 양식 어류의 세균 감염증을 예방하기 위한 백신의 연구 개발 및 실용화에 관심이 집중되고 있다. 외국의 경우 그 나라의 중요한 어류의 질병에 대한 백신 개발 연구 및 실용화가 활발히 진행되어 어류 양식업에 큰 도움을 주고 있는 것이 사실이다. 여러 가지 세균성 질병 중에서 비브리오병, ERM(entric red mouth) 및 절창병에 대한 백신 개발은 다각적으로 이루어지고 있으며 이 중에는 상층으로 시판되는 것도 있다. 그외의 질병에 대해서는 대부분이 연구 중에 있으며 특히 에드워드병에 대한 백신 연구(Song and Kou, 1981; Salati *et al.*, 1983, 1984, 1985, 1986, 1987; Saeed and Plumb,

1986; Kawahara *et al.*, 1990)가 지속적으로 진행되고 있지만 틸라피아의 에드워드병에 대한 백신 연구는 Oh와 Chun(1988)의 보고가 있을 뿐이다.

백신과 더불어 연구되고 있는 adjuvant는 생체내에서 항원물질의 지속적인 방출 그리고 macrophage 활성화와 plasma cell수를 증가시켜(Borek, 1977; Walker & Foster, 1981) 백신의 투여 효과를 높이기 때문에 adjuvant의 사용에 대한 연구가 다각도로 진행되고 있다. Adams등(1988)은 무지개송어와 대서양연어에 있어서 절창병, 비브리오병 그리고 ERM에 대하여 4가지 adjuvant를 사용하고 그 효능에 대하여 연구하였으며, Horne등(1984)은 무지개송어의

비브리오행에 대한 potassium alum adjuvant의 사용 효과에 대하여 보고하였다. 그리고 Kitao등(1987)은 연어과 어류에 면역 자극제로서 FK-565를 백신과 함께 투여했을 때 나타나는 면역현상에 대하여 보고하는 등의 많은 연구 보고가 있다. 또 시판되고 있는 일부 상품 백신에는 adjuvant가 포함되어 있는 것도 있다. 그러나 틸라피아의 백신에 대한 adjuvant의 효과에 관한 연구 보고는 아직 없는 실정이다.

본 연구는 틸라피아에 있어서 FKC의 면역성을 증가시키고, 백신의 투여 효과를 지속시키기 위해 3가지의 adjuvant를 *E. tarda*백신과 혼합 투여 했을 때와 adjuvant를 단독으로 사용했을 때 그리고 *E. tarda*의 FKC를 투여 했을 때의 효과를 비교 조사하였다. 그 효과는 응집 항체의 지속성과 *E. tarda* T 1123균주의 농도별 공격 시험에 대한 상대 생존율로써 판정하였다.

재료 및 방법

실험어인 틸라피아(10~40g)는 부산수산대학교 양어장으로 부터 분양받아 어병예방학 실험실에서 여과 장치와 aeration을 한 50ℓ들이 plastic 사육수조에 30마리씩 수용하여 2주일간 순치한 후 실험에 사용하였다. 실험 기간중의 수온은 23~25°C이었고, 사료는 시판용 배합사료를 1일 3회 주었다.

1988년 경남 창녕군 소재 양만장의 뱀장어 신장에서 분리한 *Edwardsiella tarda*균주로서 동결 보존된 것을 BHI(Difco) 한천 고층배지에서 계대배양하여 어체 통과시킨 후에 사용하였다. 백신 제작시에는 Fig. 1과 같이 한 후 BHI 액체배지에 접종하여 30°C, 48시간 동안 shaking incubator에서 배양한 후 최종 농도가 0.5% 되도록 formalin을 첨가하여 24시간 동안 실온에서 방치하여 불활성화시켰다. 최종적으로 formalin killed cell(FKC)은 4°C, 10,000×g에서 30분간 원심분리하여 얻은 균체를 0.85% 멸균생리식염수로 3회 세척한 후 0.01% NaN₃가 포함된 멸균생리식염수로 균체 습중량 40mg/ml의 농도가 되

도록 현탁하여 4°C에 보존하였으며, 백신 투여시에는 20mg/ml의 농도가 되도록 균체 백신을 희석하여 사용하였다.

Edwardsiella tarda

30°C, 48h in BHIB

Add 0.5 percent formalin

Centrifuge 10,000×g, 30min

Precipitate

Wash with
physiological saline

Suspend in
physiological saline

Formalin killed cells

Fig. 1. Schematic drawing for preparation of FKC

실험에 사용한 adjuvant는 Freund's complete adjuvant(FCA, Sigma), Freund's incomplete adjuvant(FIA, Sigma) 및 potassium aluminium sulfate(PAS)이다. FCA와 FIA를 *E. tarda*의 FKC와 혼합할 때에는 멸균생리식염수와 1:1로 조정한다. 다음 FKC의 항원량을 조정하였다. 그리고 potassium aluminium sulfate(PAS)는 멸균생리식염수로 2.5%가 되도록 용해하여 멸균 여과지에 여과한 후 FKC와 혼합하였다.

실험어의 면역시험에서는 다음과 같은 실험구를 설정하여 FKC나 adjuvant를 모두 일정하게 어체당 0.1ml씩 복강내 주사법으로 투여하였다. 즉, FCA +

FKC, FIA+FKC 및 PAS+FKC 실험구는 상기한 바와 같이 FCA, FIA 및 PAS를 각각 FKC와 혼합하여 투여한 실험구이며, FKC 실험구는 adjuvant를 혼합하지 않고 균체항원만을 20mg/ml으로 조정하여 투여한 실험구이다. 그리고 FCA와 FIA 실험구에서는 각 adjuvant를 멸균생리식염수로 1:1 혼합하여 투여하였으며 PAS 실험구에서는 2.5% potassium aluminium sulfate를 투여하였다. 대조구는 멸균생리식염수만을 투여하였다.

면역처리 후 1, 2, 3, 4 및 8주째 각 실험구 별로 실험어 5마리를 무작위로 채포하여 꼬리정맥으로부터 채혈한 후 2시간 동안 실온에 방치한 후 4℃ 냉장고에서 2시간 동안 혈병을 수축시킨 다음 2,500rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였고, 그 혈청에 대한 응집 항체가는 U자형 96 well plate를 사용하여 microtiter법에 의해 측정하였다. well plate에 혈청을 떨어뜨린 후 멸균생리식염수를 사용하여 2배씩 희석하고나서, 습중량 5mg/ml의 농도로 조절된 FKC 균액을 떨어뜨려 혼합한 후 well plate를 실온에서 1시간 동안 반응시킨 다음 4℃ 냉장고에 넣어 하룻밤을 정치한 후 해부현미경으로 응집여부를 관찰

하였다.

공격 실험에서는 *E. tarda* T1123 균주를 사용하였으며, 이 균주는 BHIB 배지에 30℃, 24시간 배양한 다음 2.5×10^7 CFU/fish와 2.5×10^8 CFU/fish가 되도록 생리식염수에 균수를 조정하여 공격 균액으로 하였다. 이 공격 균액을 백신 또는 adjuvant 투여후 3주와 8주째의 시험어 및 대조구의 시험어 복강내에 각각 0.1ml씩 주사하여 상대 생존율(relative percentage survival, RPS)을 구하였다.

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

결 과

Adjuvant와 혼합한 백신과 adjuvant 및 FKC만을 면역 처리한 tilapia의 응집 항체가를 Table 1에 나타내었다. FCA+FKC와 PAS+FKC 및 FKC 실험구가 2주째 가장 높은 응집 항체가를 나타낸 반면에 FIA+FKC 실험구는 2주째 부터 8주째까지 일정한 응집항체가를 나타내었으며 adjuvant만을 투여한

Table 1. Agglutination titer of tilapia antiserum immunized with several immunogens

Immunogen	Agglutinin titer(1 :)				
	Week after immunization				
	1	2	3	4	8
FCA+FKC	16	512	512	512	256
FIA+FKC	16	128	128	128	128
PAS+FKC	32	512	512	512	256
FKC* ¹	32	512	256	256	64
FCA* ²	2	16	16	8	8
FIA* ³	2	4	4	4	4
PAS* ⁴	2	8	16	8	4
Control	2	2	2	2	2

*¹ Formalin killed cell.

*² Freund's complete adjuvant.

*³ Freund's incomplete adjuvant.

*⁴ Potassium aluminium sulfate.

FCA, FIA 및 PAS 실험구는 다른 실험구에 비하여 훨씬 낮은 응집 항체가를 나타내었다.

면역 처리 후 3주째에 2.5×10^7 CFU/ml의 농도로 공격 시험 하였을 때 틸라피아의 생존율과 상대 생존율을 Table 2에 나타내었다. 각 실험구의 상대 생존율을 보면 FCA+FKC, PAS+FKC 및 FKC로 면역 처리한 틸라피아는 각각 100, 75 및 75로 나타난 반면, FIA+FKC 실험구는 상대 생존율이 25로 낮게 나타났으며 adjuvant만을 투여한 실험구에서는 25~50이었다.

면역 처리 후 3주째에 2.5×10^8 CFU/fish의 농도로 공격 시험 하였을 때 틸라피아의 생존율과 상대 생존율을 Table 3에 나타내었다. 각 실험구의 상대

생존율을 보면 FCA+FKC 및 FKC 실험구에서는 60이었으며 PAS+FKC 실험구는 80으로 가장 높았으나, FIA+FKC 실험구에는 40으로 다른 adjuvant 혼합 실험구에 비하여 낮은 생존율을 볼 수 있었다. adjuvant만을 투여한 모든 실험구는 40으로서 대조구와는 차이를 볼 수 있었다.

면역 처리 후 8주째에 2.5×10^7 CFU/fish의 농도로 공격 시험 하였을 때 틸라피아의 생존율과 상대 생존율을 Table 4에 나타내었다. 상대 생존율이 60 이상을 나타낸 실험구는 FCA+FKC, PAS+FKC의 두 실험구이며, FIA+FKC 및 FKC 실험구는 상대 생존율이 각각 45.0 및 49.9로 나타났고 adjuvant만을 투여한 실험구는 8.4~15.4이었다.

Table 2. Survival rate of tilapia challenged with 2.5×10^7 CFU/fish of *Edwardsiella tarda* T1123, 3 weeks after immunization.

Immunogen	No. of tested fish	Survival rate(%)	RPS
FCA+FKC	5	100	100
FIA+FKC	5	40	25
PAS+FKC	5	80	75
FKC* ¹	5	80	75
FCA* ²	5	60	50
FIA* ³	5	40	25
PAS* ⁴	5	60	50
Control	5	20	

*¹ Refer to Table 1.

Table 3. Survival rate of tilapia challenged with 2.5×10^8 CFU/fish of *Edwardsiella tarda* T1123, 3 weeks after immunization

Immunogen	No. of tested fish	Survival rate(%)	RPS
FCA+FKC	5	60	60
FIA+FKC	5	40	40
PAS+FKC	5	80	80
FKC* ¹	5	60	60
FCA* ²	5	40	40
FIA* ³	5	40	40
PAS* ⁴	5	40	40
Control	5	0	

*¹ Refer to Table 1.

면역 처리 후 8주째에 2.5×10^8 CFU/fish의 농도로 공격 시험 하였을 때 틸라피아의 생존율과 상대 생존율을 Table 5에 나타내었다. 각 실험구의 상대 생존율은 adjuvant 혼합 실험구 및 FKC 실험구는 23.5~33.3이었고, adjuvant만을 투여한 실험구는 7.1~20.0으로 낮게 나타났다.

고 찰

본 실험에 있어서 응집 항체가를 조사한 결과, FCA+FKC와 PAS+FKC 실험구의 응집 항체가는 2주째 최고치를 나타내었고 8주째 까지 지속적으로 유지된 반면, FKC 실험구의 응집 항체가는 2주째

최고치를 나타낸 후 3주째 부터 감소하기 시작하였다. 그리고 FCA+FKC와 PAS+FKC 실험구의 공격 실험 결과에서 두 실험구는 FKC 실험구보다 상대 생존율이 높고 모두 60이상을 나타내었다. Krantz등(1964)은 brook trout에 백신만을 주사했을 때 보다 adjuvant와 혼합하여 주사하였을 때 현저히 더 높은 혈청 응집 항체가를 생성한다고 하였다. Paterson and Fryer(1974)는 은연어에 formalin 처리한 균체 백신과 FCA를 함께 사용함으로써 방어력을 나타낸다고 하였고, Evelyn(1971)은 sockeye salmon에 formalin 사균 백신 단독 주사보다는 FCA와 혼합하여 사용하였을 때 응집 항체가와 방어력이 증가한다고 하였으며, Saeed와 Plumb(1986)은 차넬메기

Table 4. Survival rate of tilapia challenged with 2.5×10^7 CFU/fish of *Edwardsiella tarda* T1123, 8 weeks after immunization

Immunogen	No. of tested fish	Survival rate(%)	RPS
FCA+FKC	12	91.7	90.9
FIA+FKC	14	50.0	45.0
PAS+FKC	16	81.3	79.4
FKC* ¹	11	54.5	49.9
FCA* ²	13	23.1	15.4
FIA* ³	12	16.7	8.4
PAS* ⁴	14	21.4	13.5
Control	11	9.1	

*¹ Refer to Table 1.

Table 5. Survival rate of tilapia challenged with 2.5×10^8 CFU/fish of *Edwardsiella tarda* T1123, 8 weeks after immunization

Immunogen	No. of tested fish	Survival rate(%)	RPS
FCA+FKC	12	33.3	33.3
FIA+FKC	17	23.5	23.5
PAS+FKC	15	33.3	33.3
FKC* ¹	12	33.3	33.3
FCA* ²	14	7.1	7.1
FIA* ³	15	20.0	20.0
PAS* ⁴	14	14.3	14.3
Control	12	0	

*¹ Refer to Table 1.

균체백신 및 LPS만을 주사하는 것보다 각각에 FCA를 처리한 백신을 주사하는 것이 응집 항체가와 방어력에서 높게 나타난다고 보고하였다. 또 Agius등(1983)은 무지개송어에 adjuvant로서 potassium aluminium sulphate를 백신에 혼합하여 주사법으로 처리하였을 때 항원에 대한 면역 반응을 증강시킨다고 하였다. 본 실험에서도 이들 보고와 일치하는 결과를 얻었기 때문에 연어과 어류, 차넬메기 및 틸라피아에 있어서 FCA와 PAS를 백신과 함께 사용할 경우 이들 adjuvant에 대한 백신 효과를 기대할 수 있을 것이라고 생각된다. 이러한 결과는 유제 adjuvant에 백신을 혼합 처리하여 어체내에 주사하면 높은 순환 항체력이 유지되는 것이 증명되었고(Krantz *et al.*, 1963 : Paterson and Fryer, 1974 : Udey and Fryer, 1978 : Cipriano and Pyle, 1985), adjuvant의 주요한 특성 중에서 면역원의 신속한 박리 및 분해로부터 보호하는 면역원 저장 효과에 의해 항체 반응을 지속시키는 것과 항원인식 및 협력세포 수를 증가시키는 효능에 의해 항체 생산을 강화시킨다(Catty and Raykundalia, 1988)는 장점 때문이라고 생각된다.

FIA+FKC의 응집 항체가는 2주째 부터 8주째 까지 비교적 높은 일정한 수치를 나타낸 반면에, 공격 실험 결과는 상대 생존율이 60이하로 나타났다. 이것을 FCA+FKC와 비교해 보았을 때 FIA+FKC의 FIA는 틸라피아의 항체 반응을 지속시키는 효과는 있지만 방어력을 증강시키는 adjuvant로서 효과는 낮은 것으로 보인다. 그 이유는 FKC 단독 투여가 FIA+FKC 실험구 보다 상대 생존율이 높다는 점들을 들 수 있으며 또한 FCA에 함유되어 있는 결핵균이 면역계 세포의 강한 자극제로서 작용한다(Catty and Raykundalia, 1988)는 점을 들 수 있다. 따라서, 본 실험의 결과로 미루어 볼 때 FIA는 틸라피아가 항원의 방어 epitope를 인식하는데 장애 요인으로 작용했을 가능성을 시사한다고 본다. 그러나 Cipriano와 Pyle(1985)은 brook trout에 ECF1과 Freund's incomplete adjuvant를 혼합한 백신을 주사하여 절

창병을 방어하였지만, ECF1만을 면역시켰을 때에는 방어하지 못하였다고 보고하였다. 이것은 어종에 따른 차이인지 항원 물질에 대한 adjuvant의 선택성을 띄는지는 연구되어야 할 문제라고 생각된다.

FCA, FIA 및 PAS만을 투여하였을 때 FKC보다는 방어력이 낮았지만 대조구에 비하여 다소 높은 방어력을 나타내었다. adjuvant만을 단독으로 투여하였을 때 어체가 나타내는 방어력의 증강 정도는 어종이나 adjuvant의 종류에 따라서 다른데, 즉 Paterson와 Fryer(1974)은 은연어에서, Saeed와 Plumb(1986)은 차넬메기에서, FCA만을 주사하였을 때는 전혀 방어력을 나타내지 못하였다고 보고하였으나 Kitao와 Yoshida(1986)는 adjuvant로서 FK-565를 무지개송어에 단독 투여하였을 때에는 방어력의 증강 현상이 나타난다고 보고하였다. 본 실험 결과에서 나타난 틸라피아의 방어력은 Kitao와 Yoshida(1986)의 결과와 같이 adjuvant가 틸라피아의 방어기구 중에서 비특이적 면역기구를 자극하여 생체 방어력을 높이는 역할을 어느 정도한 것으로 생각된다.

공격 균액의 차이에 따른 방어력의 한계를 조사한 결과, 2.5×10^7 CFU/fish의 농도로 3주째와 2.5×10^8 CFU/fish의 농도로 3주째 FCA+FKC, PAS+FKC 및 FKC로 면역처리한 실험구, 그리고 2.5×10^7 CFU/fish의 농도로 8주째 FCA+FKC와 PAS+FKC로 면역 처리한 실험구의 틸라피아는 방어력을 가진 반면에, 2.5×10^8 CFU/fish의 농도로 8주째 면역 처리한 어느 실험구의 틸라피아에서도 방어력을 나타내지 못하였다. 또한 adjuvant만을 처리한 틸라피아는 어느 농도에서도 방어력을 나타내지 못하였다. *E. tarda*균주의 틸라피아에 대한 2일간의 반수치 사농도($48 \cdot LD_{50}$)인 $10^{6.4}$ cells/fish(Oh and Chun, 1988)보다 다소 높은 2.5×10^7 CFU/fish의 농도에서 FCA+FKC와 PAS+FKC 실험구는 8주째 까지도 높은 상대 생존율을 나타내어 이 농도에서는 adjuvant 처리한 백신이 장기간 지속 효과가 있을 것으로 보이며, 2.5×10^8 CFU/fish의 농도에서는 3주째 까지만 상대 생존율이 60이상을 나타내어 이 농도에

서는 adjuvant 처리한 백신이라도 장기간의 효과를 나타내지 못하는 것 같다. 이러한 결과는 낮은 세균 농도에서는 FKC가 식작용을 증가시킴(Salati *et al.*, 1987)과 동시에 어류의 방어 기구 중에서 최초의 단계인 비특이적 면역기구(Sakai, 1984 : Griffin, 1983 : Avtalion and Shahrabani, 1975)를 adjuvant 가 자극하여 특이적인 면역 기구가 생길 때까지 지속적 방어력을 가지도록 역할을 한 것 같고, 치사농도 이상이 될 때는 FKC와 adjuvant가 어류의 비특이적인 면역 기구를 자극하여 단시일까지는 어느 정도의 방어력을 가지도록 하지만 세균 농도를 감당하지 못하여 자체방어력이 소실되기 때문이라고 보여진다.

참 고 문 헌

- Adams, A., Auchinachie, N., Bundy, A., Tatner, M. F. and Horne M. T. : The potency of adjuvanted injected vaccines in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) and bath vaccines in atlantic salmon (*Salmo salar* L.) against furunculosis. *Aquaculture* 69 : 15-26, 1988.
- Agius, C., Horne, M. T. and Ward P. D. : Immunization of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, against vibriosis : comparison of an extract antigen with whole cell bacterins by oral and intraperitoneal routes. *J. Fish Dis.* 6 : 129-134, 1983.
- Avtalion, R. R. and Shahrabani R. : Studies on phagocytosis in fish. I. *In vitro* uptake and killing of living *Staphylococcus aureus* by peripheral leucocytes of carp(*Cyprinus carpio*). *Immunol.* 29 : 1181-1187, 1975.
- Borek, F. : Adjuvants. In : The Antigens, Vol. IV (ed. by M. Sela), pp. 370-420. Academic Press New York, 1977.
- Catty, D. and Raykundalia C. : Production and quality control of polyclonal antibodies. In : Antibodies, Vol. I(ed. by D. Catty), pp. 19-79. IRL Press Oxford England, 1988.
- Cipriano, R. C. and Pyle S. W. : Adjuvant-dependent immunity and agglutinin response of fishes against *Aeromonas salmonicida*, cause of furunculosis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42 : 1290-1295, 1985.
- Evelyn, T. P. T. : The agglutinin response in sockeye salmon vaccinated intraperitoneally with a heat-killed preparation of the bacterium responsible for salmonid kidney disease. *J. Wildl. Dis.* 7 : 328-335, 1971.
- Griffin, B. R. : Opsonic effect of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) antibody on phagocytosis of *Yersinia ruckeri* by trout leucocytes. *Develop. Comp. Immunol.* 7 : 253-259, 1983.
- Horne, M. T., Roberts, R. J. and Tatner M. F. : The effects of the use of potassium alum adjuvant in vaccines against vibriosis in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Dis.* 7 : 91-99, 1984.
- Kawahara, E., Salati, F., Nomura, S. and Kusuda R. : Location of *Edwardsiella tarda* antigen in tissues of eel(*Anguilla japonica*) after intramuscular injection. *Fish Pathol.* 25(4) : 213-216, 1990.
- Kitao, T. and Yoshida Y. : Effect of an immunopotentiator on *Aeromonas salmonicida* infection in rainbow trout(*Salmo gairdneri*). *Vet. Immun. Immunopath.* 12 : 287-296, 1986.
- Krantz, G. E., Reddecliffe, J. M. and Heist C. E. : Development of antibodies against *Aeromonas salmonicida* in trout. *J. Immunol.* 91 : 757-760, 1963.
- Oh, M. J. and Chun S. K. : Characteristics and Antigenicity of *Edwardsiella tarda* isolated from tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J. Fish*

- Pathol.* 1(2) : 77–85, 1988.
- Paterson, W. D. and Fryer J. L. : Immune response of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) to *Aeromonas salmonicida* cells administered intraperitoneally in Freund's complete adjuvant. *J. Fish. Res. Board Can.* 31 : 1751–1755, 1974.
- Saeed M. O. and Plumb, J. A. : Immune response of channel catfish to lipopolysaccharide and whole cell *Edwardsiella ictaluri* vaccines. *Dis. Aquat. Org.* 2 : 21–25, 1986.
- Sakai, D. K. : Opsonization by fish antibody and complement in the immune phagocytosis by peritoneal exudate cells isolated from salmonid fishes. *J. Fish Dis.* 7 : 29–38, 1984.
- Salati, F., Kawai, K. and Kusuda R. : Immunoresponse of eel against *Edwardsiella tarda* antigens. *Fish Pathol.* 18(3) : 135–141, 1983.
- Salati, F., Kawai, K. and Kusuda R. : Immune response of eel to *Edwardsiella tarda* lipopolysaccharide. *Fish Pathol.* 19(3) : 187–192, 1984.
- Salati, F. and Kusuda R. : Vaccine preparations used for immunization of eel *Anguilla japonica* against *Edwardsiella tarda* infection. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 51(8) : 1233–1237, 1985.
- Salati, F. and Kusuda R. : Immune response of eel to *Edwardsiella tarda* lipid. *Fish Pathol.* 21(3) : 201–205, 1986.
- Salati, F., Hamaguchi, M. and Kusuda R. : Immune response of red sea bream to *Edwardsiella tarda* antigens. *Fish Pathol.* 22(2) : 93–98, 1987.
- Salati, F., Ikeda, Y. and Kusuda R. : Effect of *Edwardsiella tarda* lipopolysaccharide immunization on phagocytosis in the eel. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53(2) : 201–204, 1987.
- Song, Y. L. and Kou G. H. : The immunoresponses of eel (*Anguilla japonica*) against *Edwardsiella anguillimortifera* as studied by the immersion method. *Fish Pathol.* 15(3) : 249–255, 1981.
- Udey, L. R. and Fryer J. L. : Immunization of fish with bacterins of *Aeromonas salmonicida*. *Mar. Fish. Rev.* 40 : 12–17, 1978.
- Walker, P. D. and Foster W. H. : Bacterial vaccine production. In *Essays in Applied Microbiology* (ed. by J. R. Norris & M. H. Richmond), pp. 2–31. Wiley and Sons, 1981.

The effects of adjuvants and vaccine against *edwardsiellosis* in tilapia, *Oreochromis niloticus*

Joo-Seok Lee and Soo-Il Park

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

A formalized bacterin(FKC) of *Edwardsiella tarda*, conjugated with/without Freund's complete adjuvant(FCA), Freund's incomplete adjuvant(FIA) and potassium aluminium sulfate(PAS), was administered by intraperitoneal injection to tilapia respectively. The tilapia were reared under indoor recirculating filter system. There were agglutinin titer increment in the tilapia which were administered not only FKC bacterin but also adjuvanted vaccines. But the producing time of the highest level of antibody in the immunized tilapia was different among vaccine preparation, *i. e.* FKC+FCA group and PAS+FKC group are between the 2nd and the 4th week, and FKC alone group is the 2nd week. In the challenge experiment with 2.5×10^7 CFU/ml or 2.5×10^8 CFU/ml of *E. tarda* T1123 to the tilapia immunized with vaccines, RPS above sixty was recorded both challenge dose in the tilapia which were 3 weeks after immunization with FKC+FCA, PAS+FKC and FKC alone, and the former dose 8 weeks after immunization with FCA+FKC and PAS+FKC. There were some resistance enhancement against *E. tarda* in the tilapia which were injected with adjuvant alone than that of control. As the results, the FCA or PAS adjuvanted vaccine is effective to sustain the defensible period against *edwardsiellosis*.