

## 내수 양식어와 인체에서 분리한 *Aeromonas hydrophila* 의 병원성에 관한 연구

이명원\*, 김호훈\*, 이연태, 맹은호

국립보건원 역학조사과\*  
단국대학교 자연대학 위생물학과

## The Pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* Isolated from Freshwater fish and Human

Myung Won Lee\*, Ho Hun Kim\*, Yun Tai Lee, Eun Ho Maeng

*Department of microbiology National Institute of Health\**  
*Department of microbiology Dankuk University*

### Abstract

*Aeromonas hydrophila* which because various diseases in human also infects fresh water fish, severely damaging the fishing industries.

To prevent disease in humans and reduce damaging on the fishing industries, We have examined several characteristics of *Aeromonas hydrophila* and obtained the following results.

All of the strains gave a positive voges-proskauer, methyl-red, salicin and esculin reaction. Seventeen(94.4%) *A. hydrophila* strains presented the phenotype SP-PAB- in autoagglutination test, but only strain AH 997 showed SP<sup>+</sup>PAB<sup>+</sup>. in autoagglutination test, but only strain AH 997 SP<sup>+</sup>PAB<sup>+</sup> All of the strains took up the Congo red to various degrees.

Three of 18 strains showed positive reaction in crystal violet binding test. Hemolytic activity ranged from titers of 0 to 1/256.

Seven of the 17(38.8%) *A. hydrophila* strains were positive in sucking mouse assay. Cytotoxin activity on vero and RK cells was displayed various titers.(1/2-1/1024)

## I. 서 론

*Aeromonas hydrophila*는 극성 편모를 가진 통성혐기성 그람음성 간균이며, 균의 분포는 자연환경인 담수, 하수, 토양 및 식품 등에 분포한다.

이 세균은 담수어, 파충류, 양서류 등의 병원균으로 오랫동안 인식되어 왔으나<sup>7,8,13,23,27</sup> 1973년 Lopez 등이 만성장염 환자의 변에서 분리한 이래로 최근에는 인체에 감염되어 병원성에 대한 보고가 증가하고 있다. 인체 감염의 경우 급성 위장염, 폐염, 창상 감염, 패혈증, 복막염, 농양 외에 심내막염, 이염 등 생체내에서 다양한 병원성 징후를 나타낸다.<sup>2)</sup>

과거 이 세균은 2차 감염원으로 여겨져 왔으나 최근의 보고에 의하면 1차 감염원으로 보고되고 있다.<sup>3)</sup>

*A. hydrophila*는 독력과 관련이 있는 용혈소, 세포독소, 장독소와 protease 등과 같은 세포외 독소와 효소들을 생산하며<sup>4,7,25,26,27,30)</sup> 이들 독소는 rabbit ileal loop test<sup>21,29)</sup> suckling mouse assay 또는 계대 세포주를 이용 확인된다.<sup>7,11,17,21,22,24,25)</sup> Kozaki(1989) 등은 장독소와 세포독소에 관련이 있는 분자량이 48,000~50,000인 용혈소를 분리하였고<sup>19)</sup> 이 용혈소를 56°C에서 5분간 처리한 후에는 생물학적 활성을 잃는다고 하였다.<sup>4,29)</sup> Chakraborty(1986) 등은 용혈소와 장독소는 각각 다른 유전자좌위(Gene locus)에서 기인한다고 했으나<sup>9)</sup> Asao 등은 이들이 같은 유전자좌위에 있다고 추측하고 있다.

또한 단백질층, O 항원, fimbriae와 비특이

적인 부착 구조는 병원성과 관련이 있다고 생각되어진다.<sup>13,23,26,30)</sup> 그러나 정확한 독력의 기작과 역할은 아직도 밝혀져 있지 못하다.

*A. hydrophila*의 분리 및 세포독소에 대한 연구는 캐나다<sup>7,17,20,23,27)</sup>와 일본<sup>4,19,22)</sup> 등지에서 활발히 진행되고 있으나 국내에서는 아직도 이들 균주에 대한 생화학적 특성과 세포외 독소에 대한 연구가 미약한 실정이다. 우리나라에서도 담수어의 양식이 확대되고 있으며 생선회를 즐겨먹는 습관으로 인하여 *A. hydrophila*에 대한 접촉의 기회가 늘어나고 있다. 또한 이 균에 감염된 환자가 증가하고 있는 추세이다.

따라서 본 실험에서는 우리나라의 담수 양식어와 환자에서 분리한 *A. hydrophila*의 생물, 화학적 특성, 세포외독소 및 병원성의 상호관련 여부를 조사하였기에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 사용균주

본 실험에 사용된 *A. hydrophila* 균주는 1990년 5월 10일부터 30일까지 경기도 가투리 양식장에서 서식하는 향어와 송어 및 인체에서 분리한 17주와 표준 균주로 국립보건원에서 분양받은 *A. hydrophila* ATCC 7966을 병용해서 사용하였다.

### 2. 생물, 화학적 시험

분리한 균주를 MacConkey agar 평판 배지상에서 재 분리시킨후 Cowan과 Steel<sup>10)</sup>방

법에 따라 생화학적 성상을 확인하였다.

### 3. 양혈구에 대한 용혈 시험

양혈구(Sheep blood)에 대한 *A. hydrophila*의 용혈작용을 알아보기 위하여 5% 양혈액 한천 배지에 접종하여 용혈결과를 분석하였다.

### 4. 자가응집 시험

분리된 균주를 Brain heart infusion agar (BHIA)에 접종하여 37°C에서 24 시간 배양하였다. 배양된 균을 0.45 $\mu$ m membrane filter (Whatman)로 여과한 6 ml의 Brain heart infusion broth(BHIB)에 접종하여 37°C에서 24 시간 배양하여 시험관 밑에 침전되는 것을 관찰하였다. 관찰한 BHIB를 천천히 섞어 부유시키고 3 ml씩 분취하였다.

한 시험관은 실온에 1 시간동안 방치하였고 나머지 시험관은 1 시간동안 물중탕하여 10 분동안 식힌후 가열하지 않은 것과 비교하여 관찰하였다.

### 5. Congo red 흡수 시험

각 균주를 Tryptic soy agar(TSA)상에서 분리된 한개의 집락을 취하여 50  $\mu$ g/ml의 Congo red가 함유되어 있는 TSA 배지에 접종하였다, 이를 37°C에서 72 시간 배양하여 나타난 집락의 색깔을 관찰하였다.

### 6. Crystal violet 결합 시험

각 균주를 Tryptic soy agar(TSA)배지에 접종하여 37°C에서 24 시간 배양시켜 Crystal violet(0.5 mg/ml) 용액 5 ml를 넣고 2 분동안

반응시킨후 용액을 제거시킨 다음 Crystal violet 흡수를 관찰하였다.

### 7. 용혈소의 측정방법

균 배양액을 15,000 rpm으로 4°C에서 15 분간 원심분리하여 얻은 상층액을 Crude hemolysin으로 사용하였다. 토끼 혈액은 20 ml를 무균적으로 채취하였으며 30 ml의 Alserver에 넣어 4°C에 보관하여 2 주내에 사용하였다. 혈구 부유액은 Alserver 용액에 보관된 혈액을 Phosphate buffer saline(0.01 M, pH 7.6)으로 3회 세척한 후 1%로 제조하여 사용하였다.

용혈현상은 96 well plate에 100  $\mu$ l의 Crude hemolysin을 넣어 PBS로 2배 계단 희석한 다음 1% 토끼 혈액 부유액을 동량 가하고 37°C에서 4 시간 반응시켰다. 육안으로 보아 각 well 중 100%의 용혈이 나타나는 최고의 희석 배수를 용혈소의 역가로 정하였다.

### 8. 장독소 측정

Gianella<sup>11)</sup>의 방법을 수정하여 Suckling mouse assay 법으로 하였다. Brain heart infusion broth에 접종하여 37°C에서 110 rpm으로 18 시간 진탕 배양하였다. 균 배양액을 4°C에서 10,000 rpm으로 30 분간 원심시키고, 그 상층액을 0.45  $\mu$ m membrane filter로 여과한 다음 Crude toxin으로 사용하였다. 상층액 1 ml에 2% Evane blue 용액 25  $\mu$ l씩 섞어 만든 Crude toxin의 투여는 polyethylene tube를 통하여 100  $\mu$ l씩 Suckling mouse에 경구 투여하였다. 각 균주에 대해

서 3마리의 Sucking mouse 를 사용하였다.

### 9. 세포독성 시험 및 역가 시험

#### 1) 세포배양

국립보건원 호흡기 병독과로부터 분양받은 Vero, Rabbit Kidney(RK) 세포를 Earle's minimal essential medium(EMEM)용액에 5% fetal bovine serum 을 첨가시켜 5% CO<sub>2</sub> 를 통기하면서 37°C에서 48 시간 배양하였다.

#### 2) 세포독성 검사 및 역가

배양된 단층 세포를 Trypsin 으로 처리한 후 maintenace medium(1% Fetal bovine serum)으로 부유시킨 세포(8×10<sup>4</sup> cell/ml)를 96 well microtitration plate 에 0.1 ml 씩 넣었다. 96 well plate 에 10 배로 희석한 Crude toxin 을 2 배 계단 희석하여 25μl 씩 떨어뜨린 다음 5% CO<sub>2</sub>를 통기하면서 37°C에서 18 시간 배양하였다. 각 well 중 50% 이상의 비정상세포가 나타나는 최고의 희석 배수를 역가로 결정하였다.

## III. 결 과

### 1. 생물, 화학적 성상

분리한 *A. hydrophila* 의 생물, 화학적 성상은 표 1 과 같다. 표 1 에 나타난 바와 같이 Methyl red, Voges-Proskauer, Salicin, Esculin 시험에서 전부 양성반응을 나타내었다. Ornithine decarboxylase, Urease 시험에서는 모두 음성반응을 나타내었다. 또한 모든 균주에서 운동성을 관찰하였다.

### 2. 용혈양상과 세포 표면 특성

사용 균주의 양혈구에 대한 반응, 자가응집시험, Congo red 흡수시험과 Crystal violet 결합시험의 결과는 표 2 와 같다.

양혈구에 대한 반응은 표준균주만이 α-용혈을 나타냈고, 분리된 균주 모두는 β-용혈 반응을 나타내었다.

자가 응집 시험결과는 정치 배양에서는 모든 실험 균주가 음성반응을 보였다. 그러나 1 시간 동안 물중탕하여 10 분간 실온 방치한 실험에서는 AH 997 균주만이 양성반응을 나타내었다.

Congo red 흡수 시험결과는 분리균주와 표준균주 모두 Congo red 색소로 착색되어 양성반응을 나타내었다. 그중에서 9 균주는 진한 오렌지색을 나타내어 강한 양성반응을, 나머지 균주는 옅은 오렌지색으로 약한 양성반응을 나타내었다.

Crystal violet 결합 시험 결과는 분리균주 AH 108, 138 과 표준균주의 집락이 Crystal violet 와 결합되어 흑자색집락으로 양성 반응을 나타내었다.

### 3. 용혈소 측정

pH가 7.5 이고 온도가 33°C이며 130 rpm 으로 진탕 배양하였을 때 용혈소의 역가가 최대로 나타났다(표 3, 4, 5).

이와 같은 조건에서 용혈소의 역가를 측정한 결과 AH 137 균주가 0 Unit 로 가장 낮았고 108, 519, 660, 955, 997 균주들은 256 Unit 로 가장 높았다(표 6).

### 4. 장독소 생성균주의 분리율

Suckling mouse assay 에 의한 장독소 생

Table 1. The Biochemical Reactions of *A. hydrophila* isolated

Strains		108	119	121	124	126	138	141	317	321	470	519	660	955	981	997	999	ATCC 7966
Test or substrate		K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A
K I A		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indole		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Methyl red		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-proskauer		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrate(Simmon's)		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urease		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KCN		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Motility		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lysine decarboxylase		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginine dihydrolase		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ornithine decarboxylase		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phenylalanine deaminase		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose		+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gas		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dulcitol		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicin		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Adonitol		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inositol		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arabinose		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonate		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esculin		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

\* Key  
 + positive reaction within 1 or 2 days  
 (+) positive reaction after 3 or more days  
 - no reaction in 7 days.

Table 2. The biological characteristics of *A. hydrophila*.

Strain	Sources	Hemolytic pattern	Autoagglutination phenotype	ACR*	CVB*
AH108	rainbow trout	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	++	+
AH119	mirror carp	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	++	-
AH121	mirror carp	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	++	-
AH124	mirror carp	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	++	-
AH126	mirror carp	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	+	-
AH138	mirror carp	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	+	+
AH141	mirror carp	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	+	-
AH317	pus	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	++	-
AH321	blood	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	+	-
AH470	blood	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	++	-
AH519	blood	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	+	-
AH660	bile	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	+	-
AH955	sputum	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	++	-
AH981	wound	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	++	-
AH997	peritoneal fluid	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>+</sup>	+	-
AH998	pus	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	++	+
AH999	pus	$\beta$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	++	-
ATCC7966	food	$\alpha$	SP <sup>-</sup> PAB <sup>-</sup>	++	+

\* : adsoption of congo red

# : crystal violet binding

SP : self-pelleting

PAB : aprecipitation after boiling

성은 표 6 과 같다. 표준 균주가 0.097(G/B ratio)로 최대값을 나타내었으며, 분리균주 AH 108, 119, 321 등 7 균주가 G/B ratio 0.070 이상으로 양성 반응을 보여 38.8%의 양성률을 나타내었다.

##### 5. 세포주에 대한 세포 독성

RK 와 Vero 세포주 모두 *A. hydrophila* 의 외독소에 대하여 세포병변효과를 나타내었으며 그 결과는 표 7과 같다.

Table 3. Effect of temperature on hemolysin production by *Aeromonas hydrophila* 108.

Temperature(°C)	O.D.	Hemolysin(Unit/ml)	hemolysin(Unit/O.D.)
25	12.10	256	21.16
27	15.05	64	4.25
30	11.55	256	22.16
33	10.40	256	24.62
37	11.55	256	22.16
40	5.70	128	22.46

Culture maintain at initial pH 7.0, 150rpm for 18hr in BHI medium.

Table 4. Effect of shaking speed on hemolysin production by *Aeromonas hydrophila* 108.

Speed(rpm)	O.D.	Hemolysin(Unit/ml)	Hemolysin(Unit/O.D.)
0	4.00	32	8.00
100	10.50	128	12.19
130	9.50	256	26.95
150	12.00	256	21.30
180	13.05	256	19.62
210	14.20	128	9.01

Culture maintained at initial pH 7.0, 33°C for 18hr in BHI midium.

Table 5. Effect initial pH on hemolysin production by *Aeromonas hydeophila* 108.

pH	O.D.	Hemolysin(Unit/ml)	Hemolysin(Unit/O.D.)
7.0	11.50	256	22.26
7.5	11.20	256	22.86
8.0	12.35	256	20.73
8.5	12.15	256	21.07
9.0	12.20	128	10.49

Culture maintained at 33°C, 130rpm for 18hr in BHI medium

Table 6. Hemolytic and enterotoxin activities of *A. hydrophila*

Strain	Hemolytic activity ( Unit )	Suckling mouse assay ( G/B ratio )
AH108	256	0.092
AH119	64	0.090
AH121	32	0.058
AH124	64	0.069
AH126	32	0.069
AH138	64	0.055
AH141	32	0.069
AH317	0	0.054
AH321	128	0.080
AH470	32	0.053
AH519	256	0.071
AH660	256	0.070
AH955	256	0.044
AH981	16	0.043
AH997	256	0.082
AH998	16	0.049
AH999	128	0.047
ATCC7966	128	0.097

G : Gut B : Body

Sucking mouse assay positive reading case : over 0.070

AH 321, 660 균주가 RK 세포에 1 : 1024 로 가장 높은 역가를 나타내었으며 Vero 세포 에는 AH 660 균주가 1 : 512 로 나타났다. 또한 전반적으로 Vero 세포보다는 RK 세포가 더 높은 역가를 나타내었다.

#### IV. 고 찰

*A. hydrophila* 의 인체 감염의 보고가 근래 에 늘고 있는 것은 백혈병 등의 암종같은



Table 7. Hemolytic activity of *A. hydrophila*

Unit	No(%)	Strain
0	1 (5.88)	AH317
16	2 (11.76)	AH981, AH998
32	3 (17.65)	AH121, AH141, AH470
64	3 (17.65)	AH119, AH124, AH138
128	3 (17.65)	AH321, AH999, ATCC7966
256	5 (29.41)	AH108, AH519, AH660, AH955, AH997

기존 질환의 증가와도 관련이 있지만 기회 감염 및 병원감염의 인식이 높아짐에 따라 이 균에 대한 관심이 증대된 데에도 연유가 있는 듯하다. 국내에서는 몇몇 종합병원에서 동정되고 있으며 환자와 자연환경에서의 분리 및 항생제 감수성에 대한 보고가 있을 뿐이다.<sup>9)</sup>

*A. hydrophila* 는 기회감염균으로 인체에 감염되어 다양한 질환을 일으키고 또한 최근에는 담수양어에게 감염되어 폐사되는 경우가 있어 점차 관심도가 증가하고 있다. 현재 우리나라에서는 백혈병 및 기회감염질환을 일으켜서 이 균에 대하여 더욱 관심을 가지게 되었다.

그리고 근래에 한국에서 양어 사업이 번창하여 다양한 어종을 인공사육하여 담수어 양어민의 소득을 높이고 있다. 따라서 이런 점을 고려할 때 *A. hydrophila* 의 생물, 생화학적 제반성상과 병을 일으키는 인자의 규명은 사람과 어병예방에 중요한 일로 생각되어 다양한 재료로부터 *A. hydrophila* 를 분

리동정하였다.

자가응집반응, Congo red 흡수시험과 Crystal violet 결합시험은 *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica* 등의 병원성 여부를 판정하는 시험으로 알려져 있으나<sup>6)</sup>, *A. hydrophila* 에서는 몇몇 연구자들에 의하면 쥐<sup>14)</sup>와 어류<sup>8),20),30)</sup>에 대해 병원성인 균주에서도 자가응집반응,<sup>15),28)</sup> Congo red 흡수시험<sup>6)</sup>과 Crystal violet 결합시험<sup>8)</sup>에서는 음성반응을 나타내 병원성 여부를 판단하기 어렵다고 하였다. 본 실험에서도 같은 결과로써 병원성을 판단하기에는 많은 문제점이 있다고 생각되어진다. 적혈구를 이용한 용혈소 측정은 Janda<sup>14)</sup> 등은 0에서 152 Unit, Olivier 등은 16에서 128 Unit, Wadstrom<sup>29)</sup> 등은 2에서 256 Unit로 나타났다. 본 실험에서도 0에서 256 Unit로 Wadstrom 등과 유사한 반응을 보였다.

Suckling mouse assay 법으로 장독소 생성 균주의 분리율은 Janosy<sup>16)</sup> 등의 경우 *A. hydrophila* 중 79.3%가, Kirov 등은 환자에서 분리된 *Aeromonas* 의 42%이었다. 본 실험에

Table 8. Cytotoxicity titers of *A. hydrophila* in vero and RK cells

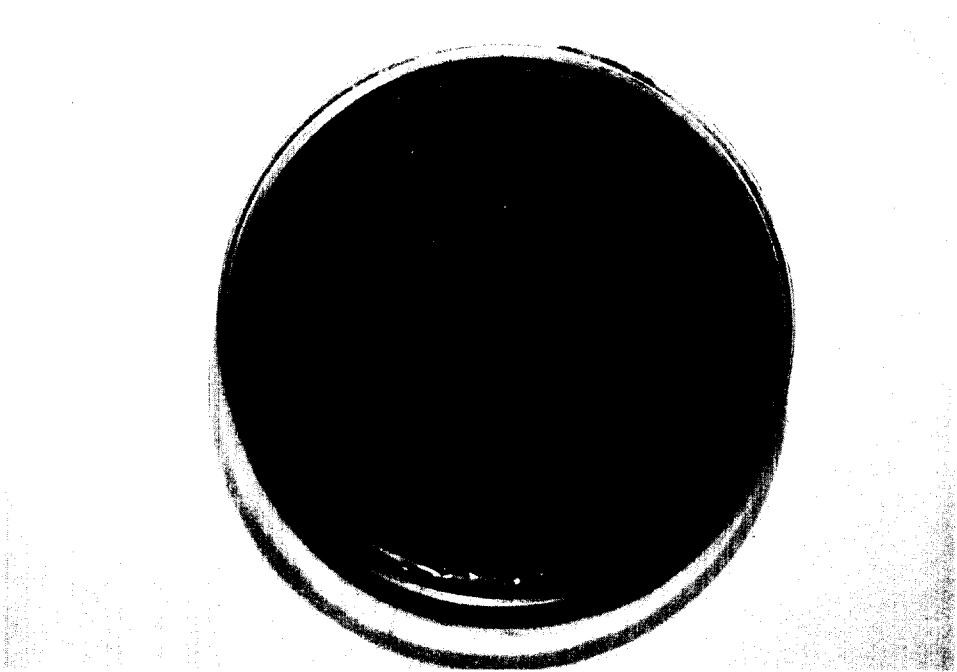
Isolate Strain	Cell line	
	Vero	RK
AH108	128	512
AH119	64	512
AH121	4	8
AH124	32	64
AH126	16	32
AH138	8	32
AH141	8	16
AH317	2	4
AH321	64	1024
AH470	2	2
AH519	4	16
AH660	256	1024
AH955	2	4
AH981	4	4
AH997	2	4
AH998	4	8
AH999	2	2
ATCC7966	8	8

서는 표 3 과 같이 38.8%로 Kirov 등의 결과와 유사하였으나, Jonossy 등과는 차이가 있었다. 이는 균 배양조건 및 Suckling mouse assay 에 대한 판정기준의 차이에 의한 것으로 생각된다.

또한 세포 독성 검사에 이용되는 계대세

포주 Y-1, Vero, HeLa, Hep2, CHO, RK 세포 등이었다. Johnson<sup>17)</sup> 등은 세포독소에 대한 반응이 Vero 세포가 1:64 일 때 CHO 세포는 1:1024 로 나타나 CHO 세포가 독소에 민감하다고 하였고, 김기상<sup>18)</sup> 등은 CHO, Hep 2 세포가 1:1024 일 때 RK 세포는 1:2048

**A.**



**B.**

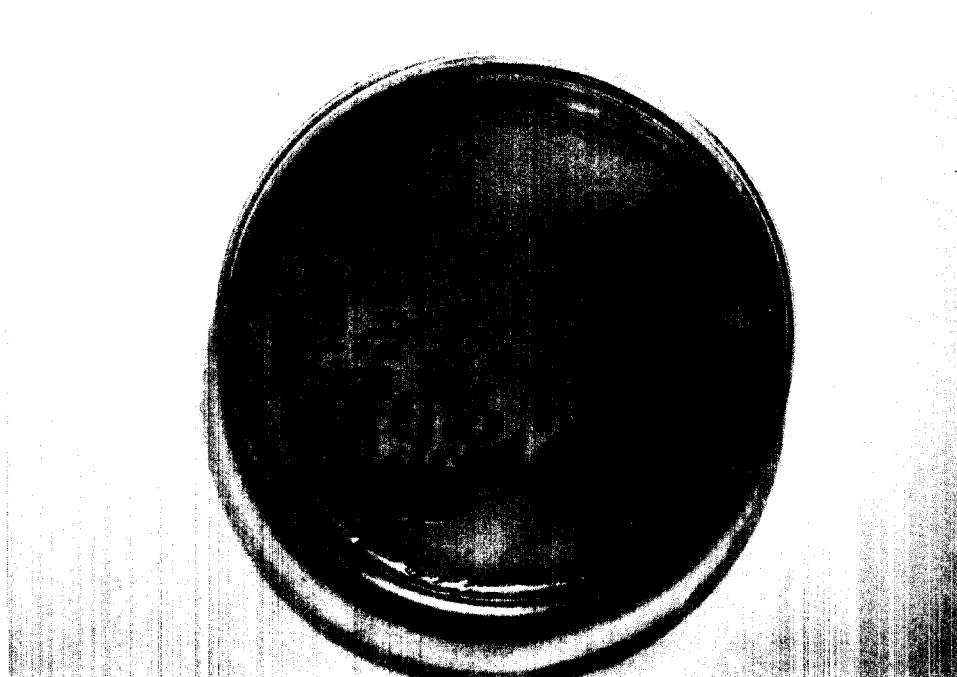


Fig 1. Binding of crystal violet to colonies of *A. hydrophila*  
A) Positive (White colonies)  
B) Negative (dark colonies)

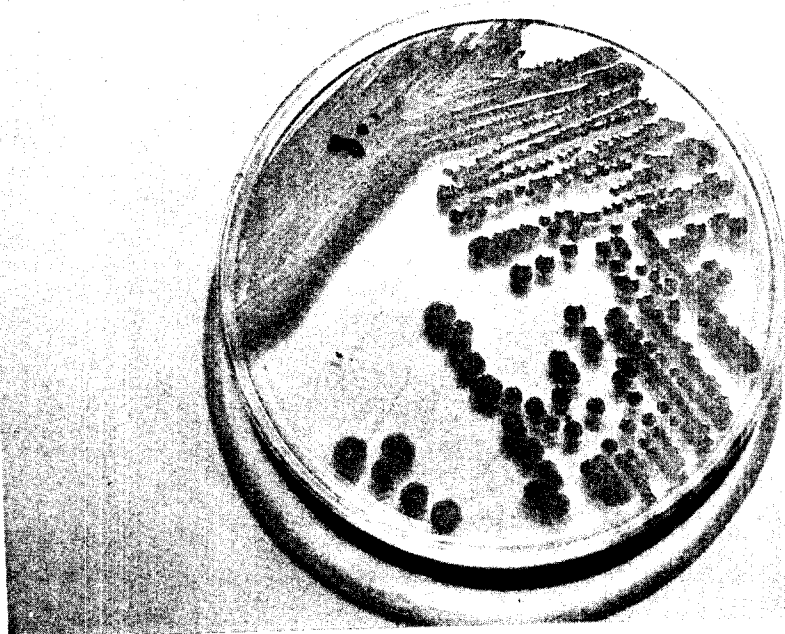
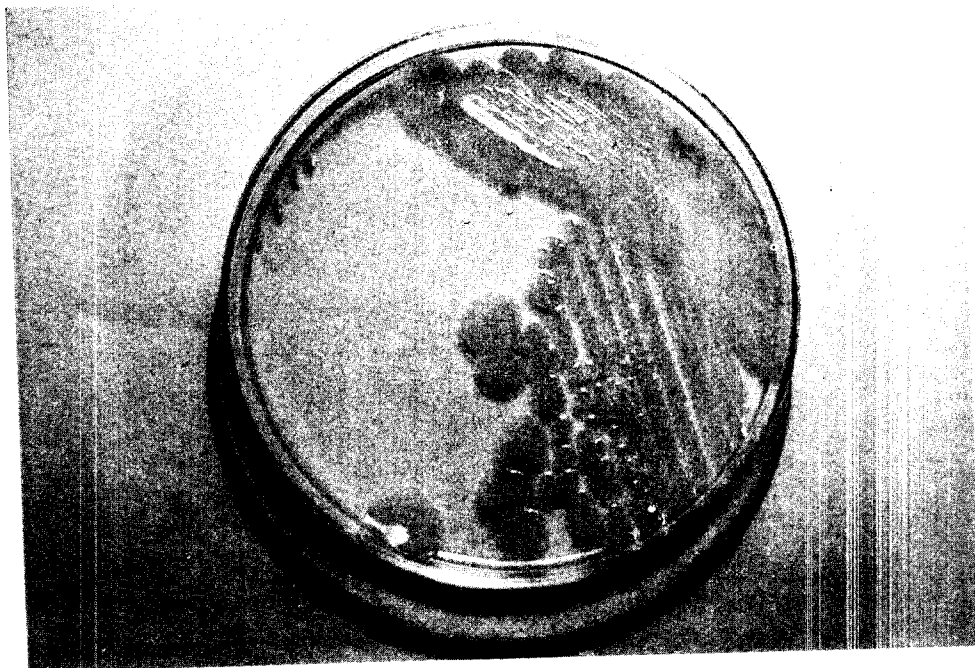
**A.****B.**

Fig 2. Adsorption of congo red to colonies of *A. hydrophila*  
A) Strong positive (dark orange)  
B) Negative (light orange)

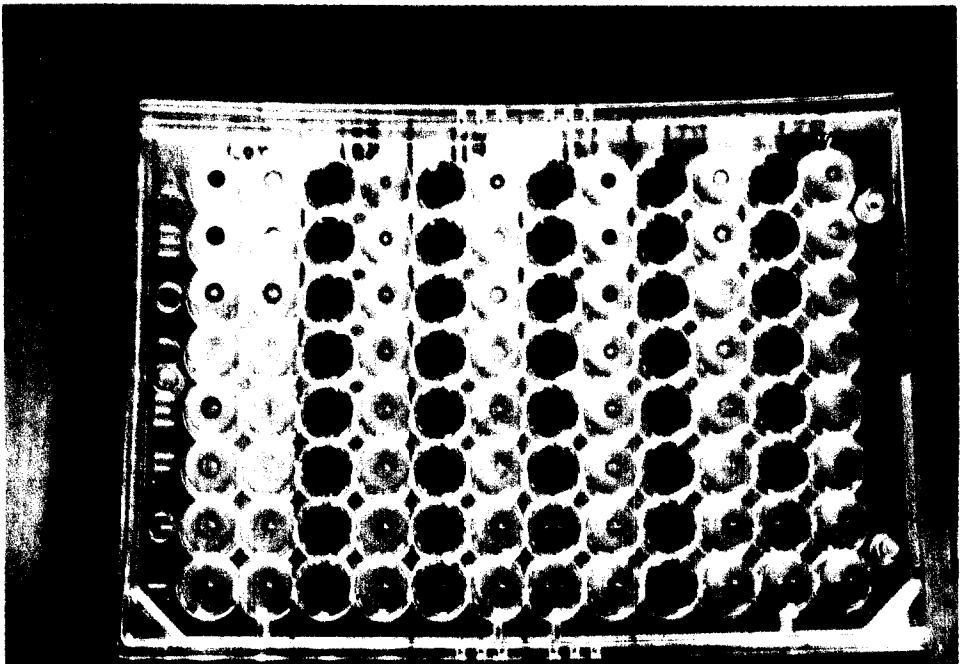
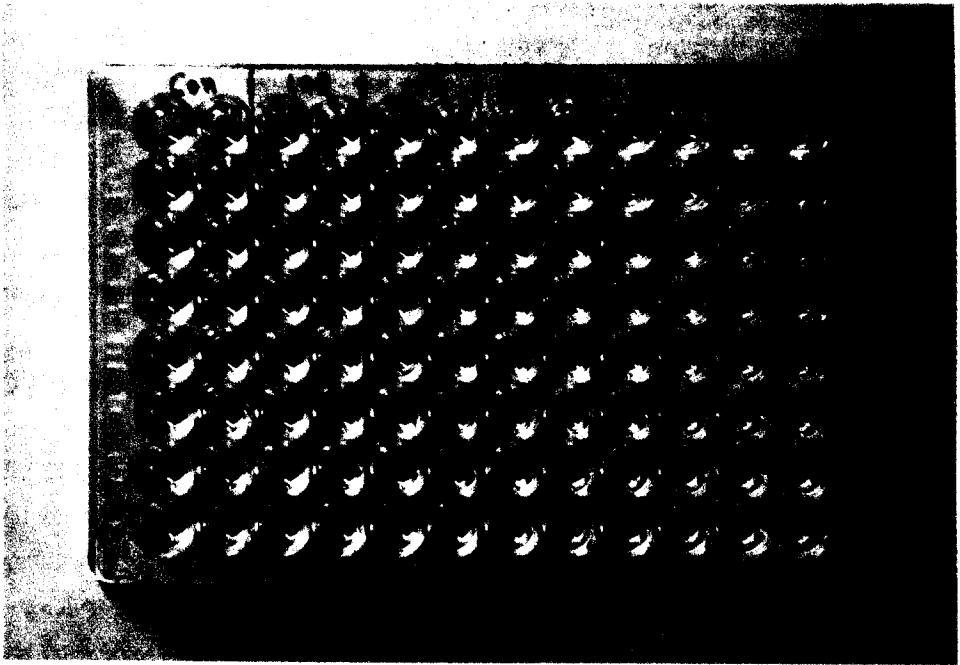


Fig 3. Hemolytic activities of *A. hydrophila*

로 RK 세포가 가장 민감하다고 하였다. 본 실험에서는 Vero 와 RK 세포가 사용되었으며 Vero 세포보다는 RK 세포가 세포독소에 더 민감하였다.

*A. hydrophila* 가 생산하는 독소는 Wadstrom 등은 세포독소와 용혈소를 56°C 에서 10 분간 가열하면 독소 활성이 소실된다고 하였고 Donta<sup>13)</sup> 등은 세포독소를 53°C에서 10 분간 가열하였을 경우 독소의 상당 부분이 소실된다고 하였다.

*A. hydrophila* 는 세포독소, 용혈소, 장독소 및 Protease 와 같은 세포 외독소와 효소 등을 생산하는 것으로 알려져 있다. Carmen, Chakarabarty<sup>8,9)</sup> 등은 세포독소의 생산은 장독소의 생산과 관련이 없다고 하였으나 Johnson<sup>9,17)</sup> 등은 세포독소를 생산하는 균주들이 Suckling mouse assay 에서 양성반응을 보여 상호관련성을 시사하였다. 본 실험에서는 장독소를 생산하는 균주와 세포독소 및 용혈소를 생산하는 균주와 관련이 없어 Carmen 등과 같은 결론을 얻었다. 그러나 지금까지의 *A. hydrophila* 의 병원성과 세포 외독소에 대한 정확한 기작과 역할 규명은 미비한 실정이므로 앞으로 더 많은 연구가 수행되어야 하겠다.

## 참 고 문 헌

1. 김기상, 이복권, 손건영, 이영희, 유천권, 이명원, 정태화 : 장내질환 원인균의 장독소 생성에 관한 연구 *Aeromonas hydrophila* 의 세포외독소에 관하여, 국립보건원보, 24 : 365~374, 1987.
2. 박성섭, 홍성일, 석종성, 박명희, 김상인 : *Aeromonas hydrophila* 감염증, 임상병리와 정도관리, 6 : 77~83, 1984.
3. Annapurna, E. and Sanyal, S.C. : Enterotoxicity of *Aeromonas hydrophila*, J. Med. Microbiol. 10 : 318~323, 1977.
4. Asao, T., Kinoshita, Y., Kozaki, S., Uemura, T. and Sakaguchi, G. : Purification and some properties of *Aeromonas hydrophila* hemolysin, Infect. Immun. 46 : 122~127, 1984.
5. Barry, S. and George, W.L. : Congo red uptake by motile *Aeromonas* species, J. Clin. Microbiol. 25 : 876~878, 1987.
6. Bhaduri, S., Conway, L.K. and Lachica, R. V. : Assay of crystal violet binding for rapid identification of virulence plasmid-bearing clones of *Yersinia enterocolitica*, J. Clin. Microbiol. 25 : 1039~1042, 1987.
7. Boulanger, Y., Lallier, R. and Cousineau, G. : isolation of enterotoxigenic *Aeromonas* from fish, Can. J. Microbiol. 23 : 1161~1164, 1977.
8. Carmen, P., Octavio, R., uan, A. and German, N. : Pathogenicity factors and virulence for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) of motile *Aeromonas* spp. isolated from a river, J. Clin. Microbiol., 28 : 350~355, 1990.
9. Chakarabarty, T., Huhle, B., Bergbauer, H. and Goebel, W. : Cloning, expression and mapping of the *Aeromonas hydrophila* aerolysin gene determinant in *Escherichia coli* K-12, J. Bacteriol. 167 : 368~374, 1986.
10. Cowan, T. and Steel, S. : Manual for the identification of medical bacterial, Second

- edition revised by S., T., Cowan, Cambridge university press : 77~122, 1974.
11. Donta, S.T. and haddow, A.D. : Cytotoxic activity of *Aeromonas hydrophila*, Infect. Immun. 21 : 989~993, 1978.
  12. Gianella. R. A., Sucking mouse model for detection of heatstable *Escherichia coli* enterotoxin : Characteristics of the model, Infect, Immun., 14 : 95~99, 1976.
  13. James, S.G.D. and Trevor, J.T. : Surfaces protein composition of *Aeromonas hydrophila* strains virulence of fish : Identification of a surface array ptoein, J. Bacteriol., 170 : 4999~506, 1987.
  14. Janda, J.M., Clark, R.B. and Brenden, R. : Virulence of *Aeromonas* species as assessed through mouse lethality studies, Current Microbiol. 12 : 163~168, 1985.
  15. Janda, J.M., Oshiro, L.S., Abbott, S.L. and Duffey, P.S. : Virulence markers of mesophilic *Aeromonads* : Association of the autoagglutination phenomenon with mouse pathogenicity and the presence of a peripheral cell-associated layer, Infect. Immun. 55 : 3070~3077, 1987.
  16. Janossy, G. and Tarjan, V. : Enterotoxigenicity of *Aeromonas* stains in suckling mice. Acta microbiol. Acad. sci. hung. 27 : 63~69, 1980.
  17. Johnson, W.M. and Lior, H. : Cytotoxicity and suckling mouse reactivity of *Aeromonas hydrophila* isolated from human sources, Can. J. Microbiol. 27 : 1019~1027, 1981.
  18. Kindschuh, M., Pickering, L. K., Cle<sup>+</sup>ary, T.G. and Palacios, G.R. : Clinical and biochemical significance of tixin production by *Aeromonas hydrophila*, J. Clin. Microbiol. 25 : 916~921, 1987.
  19. Kozaki, S., Asao, T., Kamata, Y. and Sakaguchi, G. : Characterization of *Aeromonas sobria* hemolysin by use of monoclonal antibodies against *Aeromonas hydrophila* hemolysins, J Clin. Microbiol., 26 : 1501~1503, 1989.
  20. Lallier, R., Bernard, F. and Lalonde, G. : Difference in the extracellular products of two strains *Aeromonas hydrophila* virulent and weakly virulent for fish, Can. J. microbiol. 30 : 900~904, 1984.
  21. Ljungh, A., Popoff, M. and Wadstrom, T. : *Aeromonas hydrophila* in acute diarrheal disease : Detection of enterotoxin and biotyping of strains, J. Clin. Microbiol. 6 : 96~100, 1977.
  22. Ljungh, A., Wretlind, B. and Mollby, R. : Separation and characterization of enterotoxin and two haemolysins from *Aeromonas hydrophila*, Acta path. microbiol. scand. Sect. B. 89 : 387~397, 1981.
  23. Mittal, K.R., Lalonde, G., Leblanc, G.O. and Lallier, R. : *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout : relation between virulence and surface characteristic, Can. J. Microbiol. 26 : 1501~1503. 1980.
  24. Morgan, D.R., Johnson, P.C., Dupont, H. L., Satterwhite, T.K. and Wood, L.V. : Lack of correlation between known virulence properties of *Aeromonas hydrophila* and enteropathogenicity for humans, In-

- fect. Immun. 50 : 62~65. 1985.
- ~~Nicholas~~ Nicholas, C., Marc, J.G., Claire, L., Bradley, S.R. and James, L.B. : Cryptotoxic enterotoxin produced by *Aeromonas hydrophila* : Relationship of toxigenic isolates to diarrheal disease, Infect. Immun., 23 : 829~837, 1979.
26. Notermans, S., Havelaar, A., Jansen, W., Kozaki, S. and Guine, P. : Production of "Asao Toxin" by *Aeromonas* strains isolated from feces and drinking water., J. Clin. Microbiol., 23 : 1140~1142, 1986.
27. Olivier, G., Lallier, R. and Lariviere, S. : A toxigenic profile of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* isolated from fish., Can. J. Microbiol., 27 : 330~333, 1981.
28. Paula, S.T., Duffey, P.S., Abbott, S.L., Korkka, R.P., Oshiro, L.S., Janda, J.M., Shimada, T. and Sakazaki, R. : Surface properties of autoagglutinating mesophilic *Aeromonas*, Infect. Immun. 56 : 2658~2665, 1988.
29. Wadstrom, T., Ljungh, A. and Wretling, B. : Enterotoxin, haemolysin and cytotoxic protein in *Aeromonas hydrophila* from human infections, Acta path. microbiol. scand. Sect. B. 84 : 112~114, 1976.
30. Ysabel, S., Alicia, E. T., Juan, L.B., Teresa, P.N. and Tomas, G.V. : Virulence properties and enterotoxin production of *Aeromonas* stains isolated from fish, Infect. Immun., 56 : 3285~3293, 1988.