

2012년 제주의 양식 넙치 및 자연산 어류의 *Kudoa septempunctata* 감염 조사

송준영[†] · 최준호 · 최혜승 · 정승희 · 박명애*

국립수산과학원 병리연구과 · 수산생물방역과*

Monitoring of *Kudoa septempunctata* in Cultured Olive Flounder and Wild Fish in Jeju Island during 2012

Jun-Young Song[†], Jun-Ho Choi, Hye-Sung Choi, Sung Hee Jung and Myoung Ae Park*

Pathology Division, National Fisheries Research & Development Institute(NFRDI), Busan 619-705, Korea

*Aquatic Life Disease Control Division, NFRDI, Busan, Korea

The study surveyed infection rate of *Kudoa septempunctata* parasitized in the trunk muscle of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, cultured in Jeju Island and wild fish species caught in the coastal area around Jeju Island during 2012. Among 143 olive flounder that were randomly sampled from 26 different culture farms, *K. septempunctata* was detected in 7 fish samples (4.9%) from 4 different culture farms, showing no typical Kudoa infestation. However, *K. septempunctata* was not detected in olive flounder fry sampled from hatcheries and 8 species of wild fish. In addition, we compared 3 different sampling sites on trunk muscle of 7 Kudoa positive fish that included head part, tail part and entire muscle. Among 7 fish, *K. septempunctata* was detected in 3 fish that were sampled from head part; while 4 fish from tail part of trunk muscle. However, all 7 fish were positive when sampled from entire muscle. Thus, we suggest that it will be more efficient to use entire muscle sample than sampling partial muscle parts for detection of *K. septempunctata*.

Key words : *Kudoa septempunctata*, Parasite, *Paralichthys olivaceus*, Trunk muscle

어류에서 분리 된 쿠도아속 점액포자충은 전 세계적으로 수많은 종류가 보고 되어왔으며 (Kent *et al.*, 2001, Lom and Dyková 2006, Moran *et al.*, 1999, Yokoyama 2003), 대부분의 종이 체근육, 뇌, 심장막, 소화관, 신장, 난소 등의 기관에 육안으로 보이는 시스트를 형성하는 조직 기생성이다 (Blaylock *et al.*, 2004, Burger *et al.*, 2007, Egusa and Shiomi 1983,

Maeno *et al.*, 1993, Nakajima and Egusa 1978, Sitjà-Bobadilla 2009). 쿠도아충에 의한 감염은 숙주의 생리, 행동, 생존 등에 영향을 미치지 않지만 (Moran *et al.*, 1999), 근섬유에 기생하는 *Kudoa thrysites*, *Kudoa musculoliquefaciens*, *Kudoa paniformis*, *Kudoa clupeidae*, *Kudoa miniauriculata* 등은 어류가 죽은 후에 기생충의 단백질 분해효소에 의해 근육을 용해시켜 ‘젤리화’를 일으킴으로써 상품 가치를 떨어뜨려 경제적으로 피해를 일으킨다 (Kudo *et al.*, 1987, Moran *et al.*, 1999, Yokoyama *et al.*, 2004). 이들

*Corresponding author: Jun-Young Song

Tel: 051-720-2482, Fax: 051-720-2498,
E-mail: jysong2012@korea.kr

쿠도아충 가운데 넙치에서는 4개의 극낭을 가진 *K. thrysites*가 근육 용해를 일으키는 것으로 최초로 보고되었으며 (Yokoyama *et al.*, 2004), 농어에 기생하는 것으로 보고된 *Kudoa lateolabracis*가 최근에 넙치의 근육에서 발견되었고 (Grabner *et al.*, 2012), 최근 한국의 양식 넙치의 근육에서 신종 쿠도아충인 *Kudoa septempunctata*의 기생이 보고되었다 (Matsukane *et al.*, 2010). *K. septempunctata*는 포자 1개 당 7개(6-7개)의 극낭을 가지며 숙주의 염증반응을 일으키거나 근육 내 시스템을 형성하지 않아 육안으로 감염이 확인되지 않는 특성을 가진다 (Matsukane *et al.*, 2010).

최근 일본에서는 2003년부터 회를 섭취 한 이후 2-20시간 이내에 구토와 설사를 일으키는 것을 주 중상으로 하며 증상이 나타난 후 24시간 이내에 자연 치유되는 것을 특징으로 하는 원인불명의 식중독이 해마다 100건 이상 발생하여, 2010년에는 158건이 발생되었다. 158건의 식중독 중 130건이 넙치 회를 섭취한 환자에서 발생되어, 넙치 회를 중심으로 역학 조사와 metagenomic DNA 시컨싱을 한 결과, 넙치 회에서 *K. septempunctata*의 DNA가 검출이 되었다. 또한, 실험동물을 이용한 식중독 유발 실험 결과, *K. septempunctata*에 의해 설사와 구토의 식중독 증상이 유발되어, 이 쿠도아충을 새로운 식중독의 원인체로 보고하였으며, 식중독 발생 시 잔품 조사결과 대부분 이 넙치 1g 속에 10^6 이상의 포자가 확인되어, 이 수치를 식중독을 일으키는 양성 기준으로 하였다 (Kawai *et al.*, 2012). 최근의 한 연구에 의해 *Kudoa*에 감염 된 어류가 알러지성 위장관증후군을 보이는 환자에게 알러지 원인이 될 수 있다고 보고된 적이 있으나 (Martínez de Velasco *et al.*, 2008), Kawai 등(2012)에 의해 보고된 *K. septempunctata*에 의한 식중독의 보고는 인체에 병원성을 나타내는 쿠도아에 관한 최초의 보고이다. 이러한 이유로 일본 정부에서는 자국의

넙치는 물론 수입되는 넙치로부터 *K. septempunctata* 기생 여부 검사를 강화하고 있다.

넙치는 식품 산업적으로 중요한 수산물이기 때문에, 넙치에 감염하는 *K. septempunctata*에 의한 식중독의 발생은 공중보건학적으로 매우 중요하여, 일본에서는 *K. septempunctata*를 진단할 수 있는 방법에 대한 여러 가지 연구가 수행되어 왔다. 넙치에 감염하는 *K. thrysites*, *K. lateolabracis*, *K. septempunctata*의 18S rDNA를 공통으로 검출하는 primer의 개발, 28S rDNA를 종 특이적으로 검출할 수 있는 primer가 보고되어져 있으며 (Grabner *et al.*, 2012), 쿠도아 유전자의 real-time PCR을 사용한 정량방법 (Harada *et al.*, 2012a), 식중독 환자의 분변에서 *K. septempunctata* 유전자 검출법 (Harada *et al.*, 2012b) 등이 보고되어졌다.

본 연구에서는, 우리나라에서 활넙치 대일 수출이 활발한 제주 지역을 중심으로, 양식 넙치와 자연산 어류의 *K. septempunctata*의 감염 현황을 파악하기 위하여 18S rDNA와 28S rDNA를 검출하는 PCR법과 현미경 검사를 통해 *K. septempunctata* 감염률을 조사하였으며, 넙치 근육의 채취 부위에 따른 검출률을 비교하였다.

재료 및 방법

어류 샘플 채집

양식 넙치에서 *K. septempunctata* 감염 현황 조사 위해, 2012년 1년 동안 제주 지역의 총 26개소의 넙치 양식장으로부터 성어 143마리(출하사이즈, 500g 이상)와 종묘장 5개소로부터 치어 67마리의 샘플을 채집하였다. 또한, 제주 지역에서 주로 어획되는 8종의 자연산 어류(넙치, 쥐치, 벵에돔, 능성어, 돌돔, 참돔, 부시리, 방어)를 제주 서귀포시의 수산물 위판장에서 구입하여 조사에 사용하였다 (Table. 1).

Table 1. Fish samples employed in the study

	Fish species	Sampling number	size
Cultured fish	olive flounder (넙치 성어)	143	>500g
	olive flounder (fry) (넙치 치어)	67	<30g
Wild fish	olive flounder (넙치 성어)	3	41.5cm
	file fish (쥐치)	8	22.5cm
	largescale blackfish (벵에돔)	22	30.1cm
	seven-banded grouper (능성어)	2	27.0cm
	rock-bream (돌돔)	1	30.5cm
	red-sea bream (참돔)	11	33.5cm
	king amberjack (부시리)	8	62.5cm
	yellow tail (방어)	6	41.5cm

쿠도아 검사

모든 실험어의 *K. septempunctata* 감염 조사를 위한 현미경 검사는 일본의 수산청(일본수산청, 2012)에서 발표한 자료를 참고하여 실험을 수행하였으며, PCR 방법은 일본 수산청의 방법과 Grabner 등(2012)의 방법을 참고하여 실험을 수행하였다.

(1) 현미경 검사

현미경 검사를 위해 넙치의 두부쪽 등근육, 미부쪽 등근육, 등근육 전체샘플을 사용하였다 (Fig 1). 실험어의 두부쪽 등근육과 미부쪽 등근육 부위를 해부용 칼로 절개하여 육안으로 관찰 후, 각 부위를 면봉을 이용하여 근육을 채취한 후 슬라이드 글라스에 동전 크기로 문질러 도말 한 후 건조하였다. 등근육 전체 샘플 채취는, 등근육 전체 부위를 해부용 칼로 긁어 모은 후 TE buffer(Promega, USA)에 5배 희석 후 완전히 마쇄하여 10ul를 슬라이드글라스 위에 떨어뜨린 후 건조하였다. 치어의 경우, 등근육 전체를 칼로 절개한 후 면봉으로 근육을 채취하여 도말하였다. 건조 후, 99.5% 에탄올(Merck, Germany)을 슬라이드 글라스에 1ml 정도 가하여 1분간 고정하였다. 에탄올을 제거하고 슬라이드 글라스 위에 남은 에탄올이 건조

된 후, Loeffler's methylene blue solution을 1ml 가하여 1분간 염색한 후, 중류수를 이용하여 세척하였다. 광학 현미경 하에서 200~1000배 배율로 관찰하여 6-7개의 극낭을 가지는 *K. septempunctata* 포지를 확인하였다.

(2) PCR 검사

실험어(양식 넙치 성어, 자연산 어류)의 두부쪽 등근육과 미부쪽 등근육 채취를 위해 각 부위를 해부용 칼로 절개하여 (약 0.3g) 샘플링 하였으며, 등근육 전체 샘플 채취를 위해, 등근육 전체를 해부용 칼로 긁어 모았다 (Fig. 1). 각 샘플을 튜브에 넣어 무게를 잰 후 TE버퍼에 5배 희석하여 근육 조직을 완전히 마쇄하였다. 치어의 경우, 등근육 전체를 긁어 모아 1-5마리를 pool하여 성어와 같은 방법으로 근육을 마쇄하였다. 피펫으로 근육의 30mg에 해당하는 마쇄 액 150μl를 떨어 DNA 추출에 사용하였다. DNA는 시판되는 Accuprep® DNA extraction kit (Bioneer, Korea)를 사용하여 매뉴얼에 따라 추출하였다. PCR에 사용한 primer는 일본의 수산청에서 제시하는 primer를 사용하였으며 (Table. 2), 18S rDNA를 검출하는 primer set과 28S rDNA를 검출하는 primer set에 대하여, 추출한 3μl template를 AccuPower® PCR

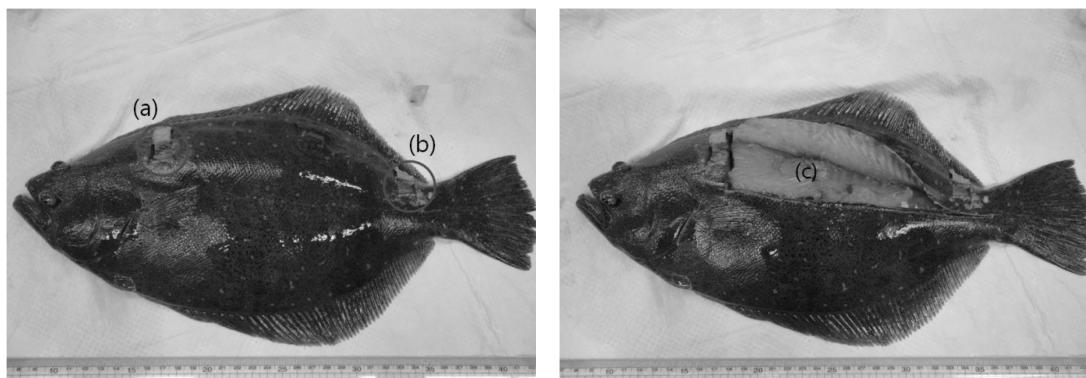


Figure. 1. Sampling sites in trunk muscle of olive flounder; (a) head part, (b) tail part, (c) entire muscle

Table 2. Primer information and PCR reaction condition used in the study

Target gene	Primer name	Sequence (5' to 3')	Target size
18S rDNA	Ksept18S-436	agaaataccggaggatggaccgtaaaatg	333bp
	Ksept18S-768	gttccatgtataacattcaagcgttcg	
28S rDNA	KSf	gtgtgtgtacgacttgtatag	357bp
	KSr	aagccaaaactgctggccattt	

premix (Bioneer)와 혼합하여 20μl의 반응액에서 PCR을 수행하였다. PCR 산물은 ethidium bromide가 첨가된 1.5% agarose gel에 전기영동 한 후 MultiImage® II (Alphainnotech, USA)로 PCR 산물의 증폭을 확인하였다. PCR 양성 반응을 나타내는 샘플은 Gel DNA extraction kit (Millipore, USA)를 사용하여 정제한 후, t-blunt vector (Solgent, Korea)에 클로닝하고 Competent cell DH5α (Biofact, Korea)에 transformation 후 Accuprep® plamid mini extraction kit (Bioneer)를 사용하여 plasmid를 분리한 후 Solgent사에 시くん성을 의뢰하였다.

결과

양식 넙치에서의 *K. septempunctata* 감염 현황
제주 지역에서 양식되는 넙치 육성어를 대상으로
현미경 검정법과 PCR을 통해 *K. septempunctata* 감염

현황을 조사하였다. 26개소 양식장으로부터 채집한 143마리 넙치 중 4개소의 7마리(4.9%) 넙치에서 *K. septempunctata* 유전자가 검출되었으며 (Fig. 2) 그 중 3마리에서 포자(Fig. 3)가 확인되었다. 검출 된 모든 넙치의 근육을 육안으로 관찰한 결과 쿠도아 불검출 어와 똑같은 형태를 하고 있어 육안으로는 *K. septempunctata* 감염의 구분이 불가능하였다. PCR은 양성이나 현미경으로 포자가 검출이 되지 않는 샘플의 경우, 28S rDNA 357bp의 PCR product 시くん성을 통해 분석하여, *K. septempunctata* 28S rDNA(AB693040)와 100% 일치함을 확인하였다(data not shown). 또한, 넙치 종묘장 5개소로부터 채집한 치어 67마리(39 samples)에서는 *K. septempunctata*의 유전자 및 포자가 검출되지 않았다.

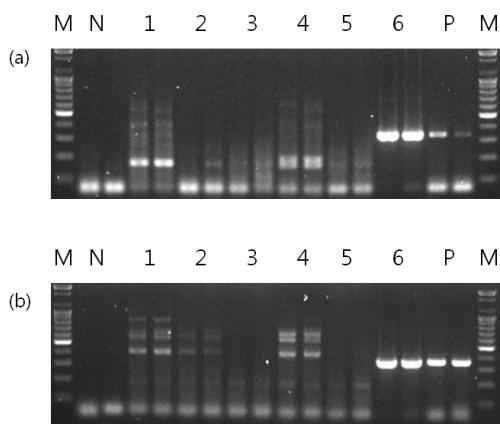


Figure 2. 18S rDNA (a) and 28S rDNA (b) PCR results of *Kudoa septempunctata* positive and negative samples. PCR was performed as duplicate and lane 1 to 5 show *K. septempunctata* negative results and lane 6 shows positive result. M, 100bp marker; N, negative control; P, positive control.

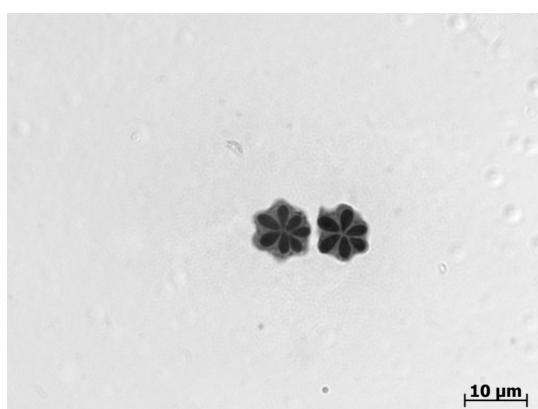


Figure 3. Microscopic observation (1000x) of *Kudoa septempunctata* spore with 6 to 7 valves, stained with Loeffler's methylene blue solution.

자연산 어류의 쿠도아 감염 현황

제주 근해에서 어획되어 제주시 서귀포지역 위판장에서 판매되는 자연산 넙치 3마리, 쥐치 8마리, 벵에돔 22마리, 능성어 2마리, 돌돔 1마리, 참돔 11마리, 부시리 8마리, 방어 6마리에서 쿠도아 감염을 조사한 결과, 쿠도아 유전자와 포자가 모두 검출되지 않았다.

근육 부위별 쿠도아 검출 비교

кудоа가 검출 된 어류의 근육 부위별 쿠도아 검출 비율을 조사한 결과, 두부 근육에서는 7마리 중 3마리(42.8%), 미병부 근육은 7마리 중 4마리(57%), 등근육 전체를 사용한 샘플은 모든 샘플(100%)에서 쿠도아 유전자가 검출되었다 (Table 3). 또한, 7마리 중 3마리에서 현미경으로 극낭 6-7개의 포자가 검출되었다. 검출 된 대부분의 샘플에서 18S rDNA와 28S rDNA의 검출 결과가 일치하였으나, 한 마리에서(Table 3, fish7) 두부, 미부, 전체근육 모두에서 18S rDNA 검출 되지 않았으나, 28S rDNA는 미부와 전체근육에서 검출이 되어 *K. septempunctata*의 감염임을 추정하였으며, 28S rDNA 증폭산물의 시컨싱을 통해 *K. septempunctata*임을 확인하였다.

고찰

*K. septempunctata*는 한국에서 일본으로 수출한 넙치의 근육에서 최초로 보고되었으며 (Matsukane et al., 2010), 우리 나라에서는 제주 지역이 활넙치 수출에 가장 높은 비율을 차지하므로, 본 연구에서는 2012년동안 제주 지역에서 양식되는 넙치 육성어와 치어, 그리고 자연산 넙치를 포함한 자연산 어류 8종에서 *K. septempunctata*의 감염 현황을 조사하였다. 그 결과, 26개소 조사 양식장으로부터 채집한 143마리 중 4개소 7마리(4.9%)의 넙치 육성어에서 *K. septempunctata*의 유전자가 검출 되었다. 검출 된 양식장의 경우 같은 수조 안에서 샘플링 한 3~5마리 중 1~2마리에서 검출 양성을 나타낸 반면, 나머지 어류는 *K. septempunctata*의 유전자 또는 포자가 전혀 검출되지 않는 것으로 보아 개체에 따른 감염의 차이가 큰 것으로 생각된다. 유전자가 검출 된 7마리 넙치 중 3마리에서 쿠도아 포자가 검출되었으며, 현미경 하에서 쿠도아 포자 검출 최저 한계가 10^4 spores/g 이라는 보고에 따라 (Iijima et al., 2012), 포자가 검출되지

Table 3. Comparison of sampling sites in trunk muscle of fish for detection of *Kudoa septempunctata*

Fish	Farm	head part		tail part		entire muscle		Kudoa spore
		18S rDNA	28S rDNA	18S rDNA	28S rDNA	18S rDNA	28S rDNA	
1	A	P	P	P	P	P	P	P
2	A	P	P	P	P	P	P	P
3	B	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	P	P	n.d.
4	B	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	P	P	P
5	C	n.d.	n.d.	P	P	P	P	n.d.
6	C	P	P	P	P	P	P	n.d.
7	D	n.d.	n.d.	n.d.	P	n.d.	P	n.d.
Detection rates (%)		3/7 (42.9%)	3/7 (42.9%)	4/7 (57.1%)	5/7 (71.4%)	6/7 (85.7%)	7/7 (100%)	3/7 (42.9%)

P, positive; n.d., not detected

않은 4마리 어류에 기생하는 쿠도아 포자 수가 10^4 spores/g보다 적은 것으로 생각된다.

넙치를 포함한 8종의 자연산 어류에서는 쿠도아가 검출되지 않았다. 쿠도아와 같은 점액포자충에 속하며 송어에서 Whirling disease를 일으키는 *Myxobolus cerebralis*의 중간숙주로 *Oligochaeta Tubifex tubifex*가 보고 되어 있으며 (Gilbert and Granath Jr 2001, Zendt and Bergersen 2000), 청어에서 분리 된 *Ceratomyxa auerbachii*의 무척추 중간 숙주로 다모류 *Chone infundibuliformis*가 밝혀져 있다 (Køie et al., 2008). 그러므로, *K. septempunctata*의 감염 또한 환경에 존재하는 무척추 동물이 중간 숙주로 작용하고 있을 가능성을 생각할 수 있어 자연산 넙치의 쿠도아 감염의 가능성성이 큰 것으로 생각되나, 본 연구에서 자연산 넙치에서 쿠도아가 검출되지 않았다. 자연산 넙치가 어획되는 적절한 시기에 많은 수의 샘플을 채집하지 못하여 본 연구의 조사에 3마리만 사용하였으므로, 차후 자연산 넙치의 *K. septempunctata*감염에 대해서 더 많은 조사가 필요할 것으로 생각된다.

현재까지 어류에서 보고되는 쿠도아충에 대한 생활사가 밝혀진 종은 없으며, *K. septempunctata* 또한

환경에 존재하는 중간 숙주, 넙치에 감염되는 시기, 감염 경로, 감수성 어종 등이 밝혀지지 않았다. 본 연구의 결과, 넙치 종묘장 5개소로부터 치어 67마리를 조사하였으나, 쿠도아 포자 및 유전자가 검출되지 않았다. 그러나, Iijima 등 (2012)에 의한 보고에서 넙치 치어 300마리 중 1마리에서 real-time PCR 결과 쿠도아 유전자가 검출되어, 넙치의 치어 시기부터 감염이 시작되는 것을 제안하였다. 본 연구에서는 일반 PCR방법에 의해 조사를 하였으므로, 검출 민감도에 의한 결과의 차이가 있을 수 있다. 또한, 현재까지 치어 시기에서 포자가 확인 된 경우는 없으므로, 감염 초기에는 포자 형성 이전 단계로 존재 할 가능성 을 생각할 수 있어, *K. septempunctata*의 생활사나 감염 후 숙주 내에서의 동태에 관한 연구가 필요하다.

선행 연구에서 쿠도아를 진단하는 방법이 여러 가지 제시되어 있으며, 본 연구에서는 일본의 수산청과 Grabner 등 (2012)에 의한 방법으로 현미경 검경과 유전자 검사법을 이용하여 조사를 하였다. 18S rDNA primer의 경우 *K. septempunctata* 뿐 아니라 넙치에 기생하는 다른 쿠도아충에 교차 반응하여 검출 할 수 있는 primer이며, 28S rDNA를 검출하는 primer의 경우 *K.*

*septempunctata*에 특이적으로 고안된 primer이다. 본 연구에서 조사결과, 28S rDNA primer에서는 검출이 되나 18S rDNA에서는 검출이 되지 않는 샘플이 존재하여 28S rDNA primer의 효율이 더 높은 것으로 생각되었다.

근육에 기생하는 쿠도아 감염을 정확히 진단하기 위해서는, 근육의 어느 부위를 채취하여 실험에 사용 하느냐에 따라 검출 결과가 달라질 수 있으므로, 샘플링 부위를 결정하는 것이 중요하다. 본 연구에서는, 넙치의 두부쪽에서 채취한 등근육, 미부쪽에서 채취한 등근육, 그리고 등근육 전체를 긁어 모은 샘플을 사용하여 쿠도아 검출률을 비교하였다(Table 3). 그 결과, 두부 근육에서는 7마리 중 3마리(42.8%), 미병부 근육은 7마리 중 4마리(57%), 등근육 전체를 사용한 샘플은 모든 샘플(100%)에서 쿠도아 유전자가 검출되어, 어느 한 부위의 근육을 샘플링 하는 것보다 (Fig. 1(a), (b)) 등근육 전체(Fig. 1(c))를 긁어 채취하는 것이 쿠도아 검출에 더 효율적임을 확인하였다. 7마리 중 3마리는 모든 부위에서 유전자 검출 양성이었으며 그 중 2마리에서는 포자가 확인되었으나 한 마리에서는 포자가 확인되지 않았다. Kawai 등 (2012)이 real-time PCR을 사용하여 넙치의 근육 부위 별 쿠도아 유전자의 Ct값을 조사한 결과, 넙치의 근육에 쿠도아의 포자 수 5.6×10^4 spores/g에서 8.4×10^5 spores/g가 존재할 경우에는 조사 부위별로 Ct값이 다르게 나타났으나, 포자 수 1.1×10^6 에서 1.2×10^7 /g가 존재할 경우에는 근육 부위에 상관없이 Ct값이 차이가 없음을 밝혀, 근육 1g에 10^6 이상의 포자가 존재할 경우 쿠도아가 근육 전체에 고르게 분포하는 것을 제안하였다. 본 연구에서 쿠도아가 검출 된 넙치의 근육에서 포자를 계수하지 않았지만, 부위별로 PCR 검출 결과가 다른 개체의 경우 넙치 근육 1g 당 쿠도아가 10^6 이하로 존재하는 것으로 생각할 수 있다. 그러므로, 쿠도아 감염의 효율적 진단을 위해서는, 어느 한 부위를 샘플링 하는 것 보다 근육 전체 부위를 고르게 채취하여 분석하는 것이, 적은 수의 포자가 존재하는 샘플에

서도 쿠도아 감염에 대한 진단 효율을 높일 수 있음을 제안한다.

요약

*Kudoa septempunctata*가 한국의 양식 넙치의 근육에 기생하는 것이 보고되어, 본 연구에서는 2012년 동안 제주 지역의 양식 넙치 및 자연산 어류에서 *K. septempunctata*의 감염 현황을 조사하였다. 제주지역 26개소의 넙치 양식장으로부터 143마리를 조사한 결과, 4개소 7마리(4.9%)에서 쿠도아 감염이 확인되었으며, 넙치 치어 67마리에서는 쿠도아가 검출되지 않았다. 또한, 제주 지역에서 어획 된 자연산 어류 8종에서도 쿠도아가 검출되지 않았다. 쿠도아가 검출 된 7마리 어류에 대하여 등근육 부위별 쿠도아 검출을 비교하기 위하여, 넙치의 두부쪽에서 채취한 등근육, 미부쪽에서 채취한 등근육, 그리고 등근육 전체를 긁어 모은 샘플을 사용하여 검출률을 비교한 결과, 전체를 긁어 모은 샘플을 사용할 경우 검출률이 100%로 가장 높아, 어느 한 쪽에서 근육을 채취하는 것 보다 등근육 전체 부위를 골고루 채취하는 것이 쿠도아 검출에 더 효율적임을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 국립수산과학원(수산생물질병특성연구, RP-2013-AQ-206)의 지원에 의해 운영되었습니다.

참고문헌

- Blaylock, R.B., Bullard, S.A., Whipples, C.M.: *Kudoa Hypoepicardialis* n. sp. (Myxozoa: Kudidae) and associated lesions from the heart of seven perciform fishes in the northern gulf of Mexico. J. Parasitol., 90: 584-593, 2004.

- Burger, M.A., Cribb, T.H., Adlard, R.D.: Patterns of relatedness in the Kudoidae with descriptions of *Kudoa chaetodoni* n. sp. and *K. lethrini* n. sp. (Myxosporea: Multivalvulida). *Parasitology.*, 134: 669-681, 2007.
- Egusa, S., Shiomitsu, T.: Two new species of the genus *Kudoa* (Myxosporea: Multivalvulida) from marine cultured fishes in Japan. *Fish Pathol.*, 18: 163-171, 1983
- Gilbert, M.A., Granath, Jr W.O.: Persistent infection of *Myxobolus cerebralis*, the causative agent of salmonid whirling disease, in *Tubifex tubifex*. *J. Parasitol.*, 87: 101-107, 2001.
- Grabner, D., Yokoyama, H., Shirakashi, S., Kinami, R.: Diagnostic PCR assays to detect and differentiate *Kudoa septempunctata*, *K. thysites* and *K. lateolabracis* (Myxozoa, Multivalvulida) in muscle tissue of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture.*, 338: 36-40, 2012.
- Harada, T., Kawai, T., Sato, H., Yokoyama, H., Kumeda, Y.: Development of a quantitative polymerase chain reaction assay for detection of *Kudoa septempunctata* in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Int. J. Food Microbiol.*, 156: 161-167, 2012a.
- Harada, T., Kawai, T., Jinnai, M., Ohnishi, T., Sugita-Konishi, Y., Kumeda, Y.: Detection of *Kudoa septempunctata* 18S ribosomal DNA in patient fecal samples from novel food-borne outbreaks caused by consumption of raw olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J. Clin. Microbiol.*, 50: 2964-2968, 2012b.
- Iijima, Y., Nakanishi, N., Furusawa, H., Ohnishi, T., Sugita-Konishi, Y.: Inter-Laboratory Validation and Applications of Quantitative Real-Time PCR for the Detection of *Kudoa septempunctata* in olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Jpn. J. Infect. Dis.*, 65: 436-438, 2012.
- Køie, M., Karlsbakk, E., Nylund, A.: The marine herring myxozoan *Ceratomyxa auerbachi* (Myxozoa: Ceratomyxidae) uses *Chone infundibuliformis* (Annelida: Polychaeta: Sabellidae) as invertebrate host. *Folia Parasitol.*, 55: 100-104, 2008.
- Kawai, T., Sekizuka, T., Yahata, Y., Kuroda, M., Kumeda, Y., Iijima, Y., Kamata, Y., Sugita-Konishi, Y., Ohnishi, T.: Identification of *Kudoa septempunctata* as the causative agent of novel food poisoning outbreaks in Japan by consumption of *Paralichthys olivaceus* in raw fish. *Clin. Infect. Dis.*, 54: 1046-1052, 2012.
- Kent, M.L., Andree, K.B., Bartholomew, J.L., El-Matbouli, M., Desser, S.S., Devlin, R.H., Feist, S.W., Hedrick, R.P., Hoffmann, R.W., Khattra, J., Hallett, S.L., Lester, R.J., Longshaw, M., Palenzeula, O., Siddall, M.E., Xiao, C.: Recent Advances in Our Knowledge of the Myxozoa. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 48: 395-413, 2001.
- Kudo, G., Barnett, H., Nelson, R.: Factors affecting cooked texture quality of Pacific whiting, *Merluccius productus*, fillets with particular emphasis on the effects of infection by the myxosporeans *Kudoa paniformis* and *K. thysitis*. *Fish. Bull.*, 85: 745-756, 1987.
- Lom, J., Dyková, I.: Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. *Folia Parasitol.*, 53: 1-36,

- 2006.
- Maeno, Y., Nagasawa, K., Sorimachi, M.: *Kudoa intestinalis* n. sp. (Myxosporea: Multivalvulida) from the intestinal musculature of the striped mullet, *Mugil cephalus*, from Japan. J. Parasitol., 79: 190-192, 1993.
- Martínez de Velasco, G., Rodero, M., Cuéllar, C., Chivato, T., Mateos, J., Laguna, R.: Skin prick test of *Kudoa* sp. antigens in patients with gastrointestinal and/or allergic symptoms related to fish ingestion. Parasitol. res., 103: 713-715, 2008.
- Matsukane, Y., Sato, H., Tanaka, S., Kamata, Y., Sugita-Konishi, Y.: *Kudoa septempunctata* n. sp. (Myxosporea: Multivalvulida) from an aquacultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) imported from Korea. Parasitol. res., 107: 865-872, 2010.
- Moran, J.D.W., Whitaker, D.J., Kent, M.L.: A review of the myxosporean genus *Kudoa* Meglitsch, 1947, and its impact on the international aquaculture industry and commercial fisheries. Aquaculture., 172: 163-196, 1999.
- Nakajima, K., Egusa, S.: *Kudoa pericardialis* n.sp. (Myxosporidea: Chloromyxidae) from cultured yellowtail. *Seriola quinqueradiata* Temminck et Schlegel. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 44: 117-120, 1978.
- Sitjà-Bobadilla, A.: Can Myxosporean parasites compromise fish and amphibian reproduction? Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 276: 2861-2870, 2009.
- Yokoyama, H.: A review: gaps in our knowledge on myxozoan parasites of fishes. Fish Pathol., 38: 125-136, 2003.
- Yokoyama, H., Whippes, C.M., Kent, M.L., Mizuno, K., Kawakami, H.: *Kudoa thyrsites* from Japanese flounder and *Kudoa lateolabracis* n. sp. from Chinese sea bass: causative myxozoans of post-mortem myliquefaction. Fish Pathol., 39: 79-86, 2004.
- Zendt, J.S., Bergersen, E.P.: Distribution and abundance of the aquatic oligochaete host *Tubifex tubifex* for the salmonid whirling disease parasite *Myxobolus cerebralis* in the upper Colorado River basin. North American Journal of Fisheries Management 20: 502-512, 2000.
- 일본 수산청 : 넙치에 기생하는 *Kudoa septempunctata* 의 검사법에 관하여, 2012.

Manuscript Received : October 04, 2013

Revised : November 13, 2013

Accepted : November 19, 2013