

2014–2015년 남서해안 종묘장에서 생산된 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 치어의 *Kudoa septempunctata* 감염실태 조사

김위식* · 공경희 · 정성주* · 정명화 · 전찬혁** · 김정호** · 오명주*†

전남대학교 수산생명의학과, *전남대학교 수산질병관리원,
**강릉원주대학교 해양자원육성학과

A survey of *Kudoa septempunctata* in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) hatcheries in the southwestern coast of Korea between 2014 and 2015

Wi-Sik Kim*, Kyoung-Hui Kong, Sung-Ju Jung*, Myung-Hwa Jung,
Chan-Hyeok Jeon**, Jeong-Ho Kim** and Myung-Joo Oh*†

Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 59626, Korea
*Control Center for Aquatic Animal Diseases, Chonnam National University, Yeosu 59626, Korea
**Department of Marine Bioscience, Gangneung-Wonju National University, Gangneung, 210-702, Korea

A survey was conducted to investigate the infection of *Kudoa septempunctata* in 660 olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) (132 pooling samples) cultured in 11 hatcheries in 6 different regions of Korea between 2014 and 2015. Polymerase chain reaction (PCR) results were negative for *K. septempunctata* for all samples. Based on the kudoa diagnostic manual, *K. septempunctata* was not detected in olive flounder hatcheries.

Key words: *Kudoa septempunctata*, *Paralichthys olivaceus*, Infection, Survey

점액포자충문 (Phylum Myxozoa)에 속하는 점액포자충은 현재 2,300종 이상이 보고되어 있으며 대부분 어류를 숙주로 한다 (Kaur, 2014). 이중 쿠도아속 (Genus *Kudoa*)의 점액포자충은 4개 또는 그 이상의 극낭을 가지는 것을 특징으로 하며, 전 세계적으로 90여 종 이상이 보고되어 있다. 일반적으로 쿠도아충에 의한 감염은 숙주인 어류에는 큰 해는 없으나 근육에 기생하여 다수의 흰색 입자상 시스트 (cyst)를 형성하거나 사후 근육을 용해시켜

상품 가치를 떨어뜨리는 것으로 알려져 있다 (Lom and Dyková, 1995; Moran *et al.*, 1999; Chun, 2006; Egusa *et al.*, 2006).

최근 일본에서는 활어 섭취 후 원인 불명의 식중독 증상이 발생하고 있는데, 그 원인 중의 하나로 양식 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)에 기생하는 *Kudoa septempunctata*가 보고되어 있다 (Matsukane *et al.*, 2010; Kawai *et al.*, 2012). *K. septempunctata*는 포자 1개 당 7 (5-7)개의 극낭을 가지며 숙주의 염증반응을 일으키거나 근육 내에 시스트를 형성하지 않아 육안으로 확인되지 않는 특성을 가진다 (Matsukane *et al.*, 2010). 또한, *K. septempunctata*는

†Corresponding author: Myung-Joo Oh
Tel: +82-61-659-7173, Fax: +82-61-659-7173
E-mail: ohmj@jnu.ac.kr

실험동물에 설사와 구토의 식중독 증상을 유발하며, 사람의 장관에서 분리한 세포 (caco-2 cell)에 손상을 입힌다 (Kawai *et al.*, 2012; Ohnishi *et al.*, 2013). 이러한 이유로 일본 정부에서는 *K. septempunctata*에 의한 피해를 최소화하기 위해 자국의 넙치뿐만 아니라 수입되는 넙치로부터 *K. septempunctata* 검사를 강화하고 있다. 최근 국내에서 생산되어 일본으로 수출되는 넙치에서 *K. septempunctata*의 감염이 보고되면서 (Masukane *et al.*, 2010), 양식 넙치의 대일 수출 물량 감소와 내수 소비 감소가 우려되고 있어 대책마련이 시급한 실정이다.

본 연구에서는 넙치에 감염되는 *K. septempunctata*에 대한 대책 수립을 위한 기초 자료를 제공할 목적으로 2014-2015년 11곳의 넙치 종묘를 대상으로 국립수산물과학원의 쿠도아 진단 매뉴얼 (NFRDI, 2014)에 준하여 *K. septempunctata*의 감염 유무를 조사하였다.

재료 및 방법

2014년 1월부터 2015년 5월까지 충청남도, 전라북도 및 전라남도에 위치한 6개 지역 (충청남도: 태안, 보령, 전라북도: 고창, 전라남도: 무안, 영광, 완도) 총 11개소의 넙치 종묘장으로부터 각각 60 마리씩 무작위로 넙치 치어를 채집하여 냉장상태로 신속히 운반한 후 *K. septempunctata* 검사를 실시하였다 (Fig. 1, Table 1). *K. septempunctata* 검사는 쿠도아 진단 매뉴얼 (NFRDI, 2014)에 준해 넙치 치어로부터 등 근육을 채취한 후 5마리씩 pooling 하여 1개의 샘플을 제작한 후, DNA를 추출하여 polymerase chain reaction (PCR)을 실시하였다. *K. septempunctata* 양성 시료는 제주 수협으로부터 *K. septempunctata*에 감염된 넙치 근육을 분양받아 사용하였다. PCR은 18S rDNA를 검출하는 primer set (Ksept 18S-436과 Ksept 18S-768) 또는 28S rDNA를 검출하는 primer set (KSf와 KSr)를 사용하여 95°C 30초, 60°C (28S rDNA 타겟 PCR: 55°C) 30초, 72°C 30초를 40 (35) cycle 반복하는 조건으로 실시하였다 (NFRDI, 2014).

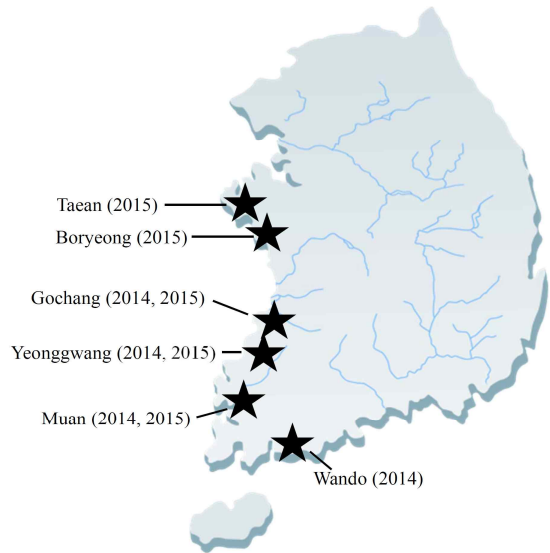


Fig. 1. Sampling locations and years.

결과 및 고찰

본 연구에서는 충청남도, 전라북도 및 전라남도에 위치한 총 11개소의 넙치 종묘장에서 생산된 치어를 대상으로 *K. septempunctata* 검사를 실시하였다 (Table 1). 총 660마리 (132 pooling 시료)에 대해 PCR을 실시한 결과, 모든 넙치 종묘에서 *K. septempunctata*는 검출되지 않았다 (Table 1). 양성 시료로 사용된 *K. septempunctata*에 감염된 넙치 근육에서는 PCR 양성 반응이 확인되었다 (data not shown). 이상의 결과로 쿠도아 진단 매뉴얼 방법에 의해 조사된 종묘장의 넙치에서는 *K. septempunctata*가 검출되지 않는 것으로 확인되었다. 최근 국내에서는 넙치 양식장을 대상으로 *K. septempunctata*의 감염 현황을 조사하고 있다 (Song *et al.*, 2013; 2014). Song *et al.* (2013)의 연구에 따르면 2012년 제주 지역의 총 26개소의 넙치 양식장으로부터 성어 143마리와 종묘장 5개소로부터 치어 67마리를 채집하여 검사한 결과, 성어에서만 6개소 7마리 (검출율: 4.9%)에서 *K. septempunctata*가 검출되었다고 보고하였다. 또한 Song *et al.* (2014)의 연구에서는 2013년 제주, 전남, 경남, 경북 및 강원 지역의 총 89개소의 넙치 양식장으로부터 성어 1,107마리를 조사한 결과, 제주지역 양식장 5개소

Table 1. Olive flounder samples examined in this study and the results of PCR analysis

Place	Farm	Sampling date	Fish		Detection rate of <i>K. septempunctata</i> (%)
			Pooling sample No. (Toal fish No.)	Weight (g)	
Chungcheongnam-do					
Taeon	A	Apr, 2015	12 (60)	2	0/12(0) ^{28S}
Boryeong	A	May, 2015	12 (60)	9.6	0/12(0) ^{28S}
Jeollabuk-do					
Gochang	A	Apr, 2014	12 (60)	6	0/12(0) ^{18S}
Gochang	B	Jan, 2015	12 (60)	1	0/12(0) ^{28S}
Jeollanam-do					
Muan	A	Jan, 2014	12 (60)	18	0/12(0) ^{18S,28S}
Muan	B	May, 2015	12 (60)	2	0/12(0) ^{28S}
Muan	C	May, 2015	12 (60)	9	0/12(0) ^{28S}
Yeonggwang	A	Mar, 2014	12 (60)	2	0/12(0) ^{18S,28S}
Yeonggwang	B	Sep, 2014	12 (60)	1	0/12(0) ^{18S}
Yeonggwang	C	Feb, 2015	12 (60)	1	0/12(0) ^{28S}
Wando	A	Jun, 2014	12 (60)	44.7	0/12(0) ^{18S}
Total	11		132 (660)		0/132 (0)

^{18S}PCR with Ksept 18S-436 and Ksept 18S-768 primers^{28S}PCR with KSf and KSr primers

에서만 *K. septempunctata*가 검출되었고 (10/1107 마리, 0.9%), 제주, 전남, 경남, 경북, 강원, 충남, 인천에 위치한 넙치 종묘생산장 39개소 (총 326 pooling 시료)로부터는 *K. septempunctata*가 검출되지 않았다고 보고하였다. 이상의 *K. septempunctata*의 감염 현황 연구 결과를 종합해 보면, 국내에서 *K. septempunctata*는 현재까지 성어에서만 검출되며 (검출율 4.9% 이하), 치어에서는 검출되지 않는 것으로 확인되었다.

본 연구에서는 *K. septempunctata*를 검출하기 위해 PCR 방법을 적용하였다. 28S rDNA를 타겟으로 한 PCR법은 약 240개의 포자/검사 시료 1 g 이상을 검출 할 수 있으므로 (Grabner *et al.*, 2012), 본 연구에 사용된 검사시료에 *K. septempunctata*가 미량 (포자: 240개 이하/1 g)으로 존재할 경우에는 쿠도아충을 검출하는데 한계가 있다. 넙치 종묘 단계에서의 *K. septempunctata* 감염 유무는 예방 대책을 수립하는데 중요한 자료로 사용될 수 있다. 따라서 향후 넙치 종묘생산장을 대상으로 한 *K. septempunctata*의 감염현황 조사에는 PCR법 보다 검출감도가 높은 loop-mediated isothermal amplification

method (LAMP법) 등을 활용하여 실시되어야 할 것이다 (Jeon *et al.*, 2014).

요 약

2014년 1월부터 2015년 5월까지 충청남도, 전라북도 및 전라남도에 위치한 6개지지역 (충청남도: 태안, 보령, 전라북도: 고창, 전라남도: 무안, 영광, 완도) 총 11개소의 넙치 종묘장으로부터 채집한 넙치 치어 총 660마리 (132 pooling 시료)를 대상으로 *Kudoa septempunctata*의 감염현황을 조사하였다. 쿠도아 검사를 실시한 결과, 모든 넙치 종묘에서 PCR 음성 결과가 확인되었다. 이상의 결과로 쿠도아 진단 매뉴얼 방법에 의해 조사된 종묘장의 넙치에서는 *K. septempunctata*가 검출되지 않는 것으로 나타났다.

References

Chun, S.K. Fish parasitology. Korea Fisheries Publishing Co., Korea, pp 123-178, 2006.

- Egusa, S., Wakabayashi, H. and Muroga, K. Infectious and parasitic diseases of fish and shellfish. Life Science Publishing Co., Korea, 2006.
- Grabner, D., Yokoyama, H., Shirakashi, S. and Kinami, R.: Diagnostic PCR assays to detect and differentiate *Kudoa septempunctata*, *K. thyrsites* and *K. lateolabracis* (Myxozoa, Multivalvulida) in muscle tissue of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture, 338: 36-40, 2012.
- Jeon, C.H., Wi, S., Song, J.Y., Choi, H.S. and Kim, J.H. Development of loop-mediated isothermal amplification method for detection of *Kudoa septempunctata* (Myxozoa: Multivalvulida) in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Parasitol. Res., 113: 1759-1767, 2014.
- Kaur, H.: Myxozoan infestation in freshwater fishes in wetlands and aquaculture in punjab (India). Adv. Anim. Vet. Sci., 2: 488-502, 2014.
- Kawai, T., Sekizuka, T., Yahata, Y., Kuroda, M., Kumeda, Y., Iijima, Y., Kamata, Y., Sugita-Konishi, Y. and 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.
- Lom, J. and Dyková, I.: Myxosporea (Phylum Myxozoa). Fish diseases and disorders, Vol 1. Protozoan and metazoan infections. In: Woo PTK (ed). CAB International, USA, pp 97-148, 1995.
- Matsukane, Y., Sato, H., Tanaka, S., Kamata, Y. and 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. and 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.
- NFRDI (National Fisheries Research and Development Institute). *Kudoa* diagnostic manual, 2014.
- Ohnishi, T., Kikuchi, Y., Furusawa, H., Kamata, Y. and Sugita-Konishi, Y.: *Kudoa septempunctata* invasion increases the permeability of human intestinal epithelial monolayer. Foodborne Pathog. Dis., 10: 137-142, 2013.
- Song, J.Y., Choi, J.H., Choi, H.S., Jung, S.H. and Park, M.A. Monitoring of *Kudoa septempunctata* in cultured olive flounder and wild fish in Jeju island during 2012. J. Fish Pathol., 26: 129-137, 2013.
- Song, J.Y., Kim, M.J., Choi, H.S. and Jung, S.H. Monitoring *Kudoa septempunctata* in cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus* in different regions of Korea in 2013. Kor. J. Fish. Aquat. Sci., 47: 611-621, 2014.

Manuscript Received : Jul 22, 2015

Revised : Aug 19, 2015

Accepted : Aug 19, 2015