

향어(*Cyprinus carpio nudus*)의 더모시스티디움 유사 감염 사례

이남실 · 최영준 · 노치원 · 김아란 · 송준영[†]

국립수산과학원 병리연구과

A case report about Dermocystidium-like organisms infection in Leather carp (*Cyprinus carpio nudus*)

Nam-Sil Lee, Yeongjoon Choi, Chiwon Noh, Ahran Kim and Jun-Young Song[†]

Pathology Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Republic of Korea

In March 2022, Leather carp (*Cyprinus carpio nudus*) raised in a pond continued to die with skin ulcers, and the diseased fish were taken to our Laboratory for diagnosis. Severe skin lesions such as petechial hemorrhage, abrasions and perforation were the main gross signs of the diseased fish. Histopathological examination revealed a cyst of Dermocystidium-like organisms in the subcutaneous layer. In addition, secondary or cross infection by different kinds of protistan parasites and bacterial organisms was suspected.

Key words: Dermocystidium, Leather carp, Skin lesion, Protistan parasite

원생생물(protist)인 더모시스티디움(Dermocystidium)은 더모시스티디움 감염증(Dermocystidiosis)의 원인체로 어류에서는 연어과 어류의 아가미에 감염된 *Dermocystidium branchialis* Léger 1914가 처음 알려지기 시작하여 지금까지 다양한 어종에서 감염사례가 보고되고 있다(Lucky and Groch, 1988; Liu *et al.* 2021). 피부, 지느러미 혹은 아가미에 불거진 다양한 크기의 결절을 주요 특징으로 하거나(Fujimoto *et al.*, 2017; Wootten and McVicar, 1982; Zang and Wang, 2005), 세균이나 다른 외부 기생충에 의한 2차감염 혹은 교차감염으로 전신감염 증상을 나타내기도 한다(Dykova and Lom, 1992; Hedrick *et al.*, 1989; Kovacs-Gayer *et al.*, 1986; Landsber and Paperna, 1992). 피부 변성과 결절 형

성으로 잉어과 어류에 감염되는 종은 *D. koi*로 알려져 있으나(Hoshina and Sahara, 1950; Dykova and Lom, 1992; Sellyei *et al.*, 2022), *Dermocystidium* sp.로 보고된 내용도 다수 찾아볼 수 있으며(Novotny and Smolova, 2006; Lazăr *et al.* 2014), 비단잉어의 안와(orbit) 주변 조직에 감염을 일으킨 *Dermocystidium* sp.에 대한 보고도 있다(Sirri *et al.* 2020).

진균류로 분류되던 더모시스티디움은 생활사의 특징에서 진핵생물 가운데 후편모생물(opisthokonts)이라는 생물학적 위치에 있으며, Ichthyosporea로 분류되었다(Cavalier-Smith, 1998). 또한, Dermocystida 목(order)에 속하는 Dermocystidium과 rosette agent 그리고 Ichthyophonida 목에 속하는 Ichthyophonus와 Psorospermium, 이들 4종을 모두 함께 DRIP clade로 칭하기도 한다(Ragan *et al.* 1996). 유전학적 분류가 이루어 지면서 Dermocystidium의 분류학적 위치는 후생동물(Metazoa)과 진

[†]Corresponding author: Jun-Young Song
Tel: +82-51-720-2481, Fax: +82-51-720-2498
E-mail: jysong2012@korea.kr

균류(Fungi)의 중간적인 위치에 있는 Mesomycetozoa로 제안되었고, 지금은 Ichthyosporea 강(class)과 구분하여 Mesomycetozoa 강으로 분류되고 있다(Herr *et al.* 1999; Mendoza *et al.*, 2002).

국내에서는 더모스티디움 감염증에 대한 관련 내용을 찾아보기는 극히 힘들다. 어류의 진균성 질병을 설명하는 내용에 일부 언급된 부분이 있지만(Heo, 1992), 이후 분류에 관한 변경사항이나 감염에 대한 학술적 보고는 없다. 본 사례 보고는 표피 궤양과 천공이 발생하여 폐사 직전에 있던 향어에 대한 질병 검사를 통하여 Dermocystidium-like organisms의 감염이 확인되어 그 결과를 정리하여 알리고자 하였다.

2022년 3월에 경상남도 지역의 야외 저수지에서 사육 중이던 향어에서 체표 병변이 나타나면서 폐사하는 개체의 수가 증가하여 질병 검사를 위해 이송되었다. 검사에 사용된 향어는 3마리(평균체장; 25.83 ± 2.26 cm)로 복부와 체부에 점상 출혈과 피부조직의 박리가 있었고, 증상이 심한 개체는 피부 궤양과 복강 내부가 보일 정도의 천공도 확인되었다(Fig. 1).

외부 기생충 감염 확인을 위해 아가미 새엽 일부, 피부 점액과 궤양 부위를 소량 슬라이드글라스

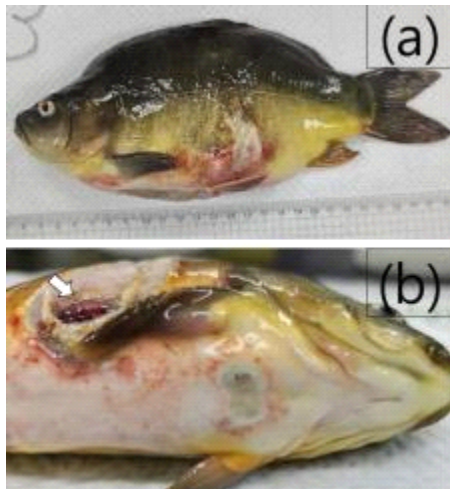


Fig. 1. External symptoms of diseased leather carp. a: Skin ulceration and petechial hemorrhage, b: Petechial hemorrhage and abrasion of belly (bottom of body) and perforation of trunk muscle (arrow).

에 올려 현미경 관찰을 통한 생검(biopsy)을 실시하였고, 무균적으로 적출한 비장과 신장 조직의 단면을 평판배지(Brain Heart Infusion Agar; BHIA)에 도말하고 배양된 세균집락을 순수분리하여 이들의 16S rRNA 유전자 일부(27F/1492R primer set 사용)에 대한 PCR (Polymerase chain reaction)을 실시하였다(Frank *et al.* 2008). 조혈조직(비장&신장)에서 핵산을 추출(Patho Gene-spin DNA/RNA extraction kit, iNtRON)하여 잉어과 어류에 피부 발적과 궤양의 증상을 일으키는 바이러스 2종(Spring Viraemia of Carp virus & Koi Herpesvirus)에 대한 PCR 검사도 동시에 실시하였다(WOAH, 2023).

병리조직학적 검사를 위하여 해부와 동시에 아가미, 간, 비장, 신장, 심장, 소화관 및 근육을 포함한 피부조직의 일부를 적출하여 10% 중성완충포름알린 고정액에 고정하였으며, 48시간 이내에 세절하여 재고정, 수세, 탈수, 투명화, 파라핀 침투 과정을 거쳐 조직 절편을 제작하여 H&E (Hematoxylin and Eosin) 염색, PAS (Periodic Acid Stain) 그리고 Giemsa (May Grünward Giemsa) 염색을 실시하였다.

본 사례의 특징은 외부소견에서 복부 측면과 가슴지느러미 아래쪽의 피부에 점상 출혈과 찰과상 정도로 관찰되는 가벼운 상처에서부터 심한 부위는 복강 내부가 보일 정도의 천공이 생긴 병변 부위까지 다양한 형태의 피부 변성부가 확인되었다(Fig. 1). 아가미의 현미경 관찰에서는 흡충과 트리코디나충 등의 외부기생충 그리고 세균피가 관찰되어 일부 기생충과 세균이 환경수에 공존하는 것을 알 수 있었다. 복강 내 신장, 비장은 육안적으로 다소 비대해지고 창백한 색을 나타내었으며, 여기에서 소수의 세균이 배양되었고 순수분리한 세균에 대하여 16S rRNA 동정 결과, *Aeromonas veronii*와 *A. allosaccharophila*로 확인되었다. 같은 조직에서 추출한 genomic RNA/DNA를 이용한 2종의 바이러스 감염검사에서는 모두 음성으로 확인되었다.

병리조직학적 검사를 통하여 체표와 근육조직의 표본에서 조직의 전반적인 괴사와 함께 피하의 지방조직과 근조직을 따라 구형의 포자 형태(직경 $2.5 \sim 3 \mu\text{m}$)가 균집을 이루는 부위를 확인하였으며(Fig. 2), 이들의 형태학적 특징은 더모스티디움

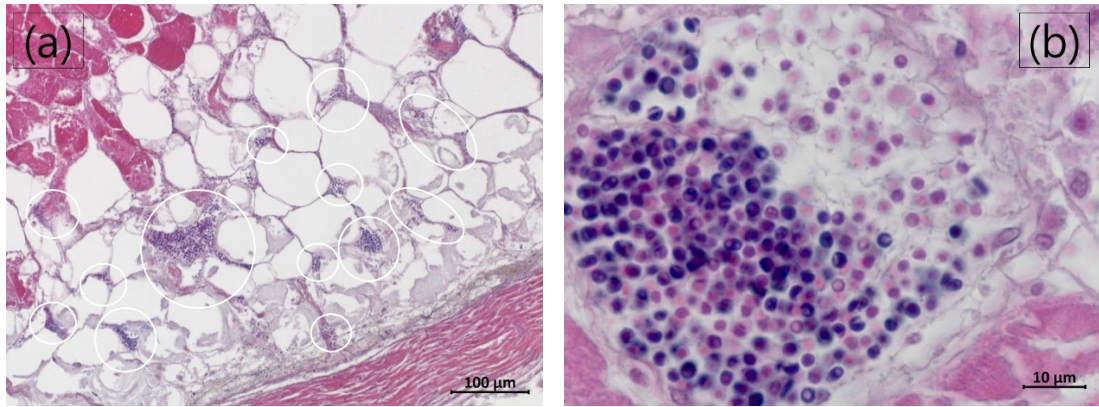


Fig. 2. Histopathological observation in diseased carp (H&E). a: Necrosis of muscular layer and Dermocystidium-like organisms cysts (circles) in subcutaneous tissue, b: Dermocystidium-like organisms cyst.

과 일치하는 것으로 확인되었다(Hoshina and Sahara, 1950; Dykova and Lom, 1992; Lazăr *et al.* 2014; Sellyei *et al.*, 2022). 일부 논문에서는 더모시스티디움 감염에 의한 증상으로 종기 모양의 돌출부나 상피가 벗겨진 부분을 시스트(cyst)로 설명하거나(Lazăr *et al.* 2014), 근육의 절단면에 기생체의 시스트가 명확하게 관찰되는 경우도 있다(Sellyei *et al.* 2022). 그러나 이번 사례는 이러한 단계를 경과하여 피부 병변이 진행된 형태로 보였다. Dermocystidium-like organisms의 감염으로 인해 피부 조직에 부종(swelling) 혹은 종기(tumefaction)가 형성된 부분 그리고 결절(cyst)이 형성된 부위에 마찰이 생기거나 결절 내 포자가 방출되면서 근육부가 노출되고 이 부위에 환경수에 혼재한 다양한 원생생물이나 세균에 의한 2차 감염이 급속히 진행되면서 천공이 생길 정도로 조직이 소실되었을 것으로 보인다. 실제로 조직 슬라이드표본의 PAS 염색에서 진피층의 변성된 섬유세포 사이로 짙은 PAS 양성반응을 나타내는 방추형이나 구형의 세포들이 다수 관찰되었고(Fig. 3a), 근육조직 내의 Dermocystidium-like organisms 군집 주변에 많은 수의 세균이 관찰되었다(Fig. 3b). 또한, 복부 궤양 주변의 상피 표면층에는 편모충(flagellate)으로 보이는 충체가 부착되어 있었고(Fig. 3c), 신장의 세뇨관 내강에서도 점액포자충과 다양한 형태의 원생생물체가 관찰되었다(Fig. 3d). 아가미의 생검에서 관찰된 많은 수의 흡충과 트리코디나충도 조직표본

에서 관찰할 수 있었다. 조직표본에서 관찰된 이러한 형태학적 특징은 Dermocystidium-like organisms의 감염과 함께 다른 원생생물의 감염이 복합적으로 진행되었을 가능성을 설명해 준다. 조직슬라이드 염색표본에서 간을 비롯한 소화관, 비장, 신장 조직의 맥관계나 간질조직에서 많은 수의 구형 이상세포도 관찰되었는데 이는 원생생물의 감염과 이들로 인한 백혈구계 세포의 증가와 변성으로 나타나는 병리조직학적 특징으로 보인다.

18S SSU rDNA의 염기서열 분석을 바탕으로 한 계통발생학적 분류에 따르면(Mendoza *et al.*, 2002; Arkush *et al.*, 2003), Dermocystidium. sp.는 잉어과 어류에 감염성을 가지는 *Sphaerothecum destruens* (rosette agent)와 같은 Dermocystida에 속하며, *S. destruens*는 Dermocystidium-like species로 불리기도 했다(Andreou *et al.*, 2011; Hedrick *et al.*, 1989). 전자현미경을 이용한 미세구조 관찰에서도 이들의 구조는 매우 유사하지만 *Dermocystidium* sp. 중에서만 확인되는 뚜렷한 공포가 형태학적 특징이라 설명하였다(McVicar and Wootten, 1980). 본 조사에서 전자현미경을 활용한 조직 관찰은 시행하지 않았지만, H&E 염색에서 호산성 염색 물질이 조직 내에 꽃이 핀 것처럼 보이는 rosette agent 감염의 특징적인 형태(Andreou *et al.*, 2011)는 관찰되지 않았고, 피하지방층에서 구형의 포자가 집락을 형성한 부위가 뚜렷하게 관찰되었다. 또한, H&E와 Giemsa 염색표본의 고배율 관찰에서 포자 내부에

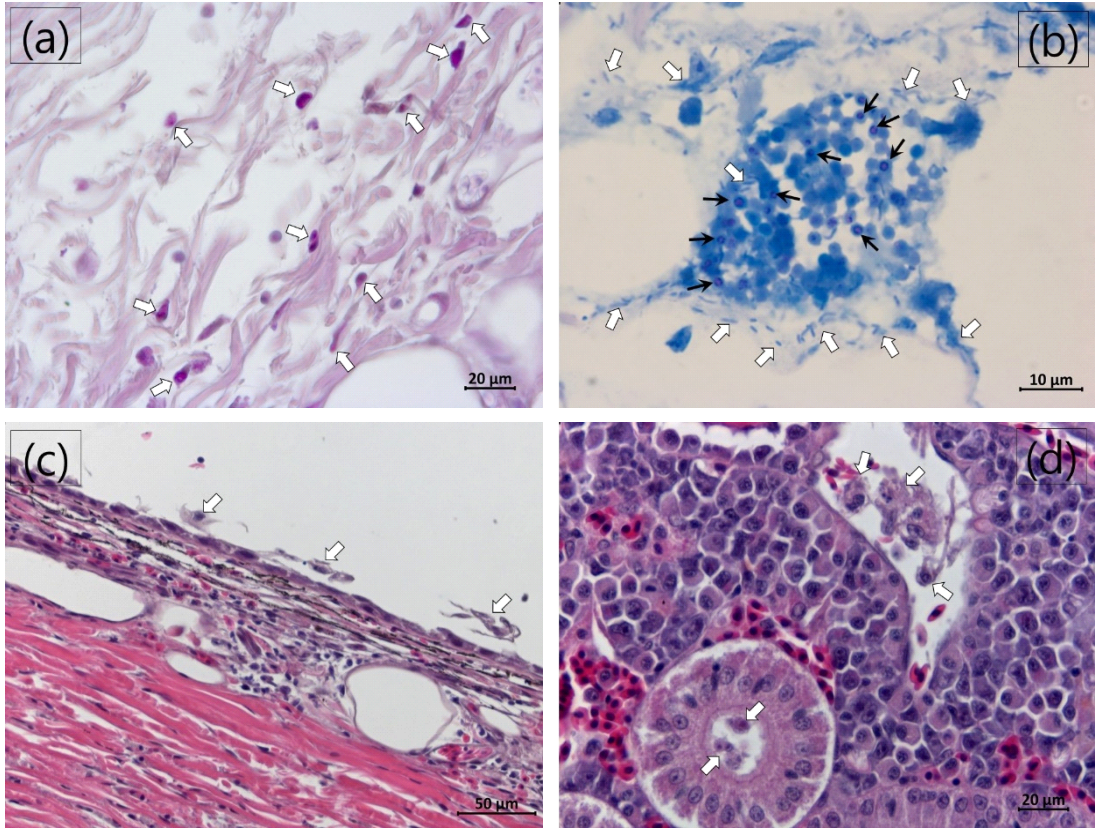


Fig. 3. Various kinds of infected organisms. a: PAS positive microorganisms (arrows) in necrotic dermis layer (PAS), b: Dermocystidium spores (black arrows) in cyst and bacterial cells (white arrows) around the cyst (Giemsa), c: Flagellates (arrows) at surface of skin (H&E), d: Myxospores (arrows) in renal tubule and sinus of kidney tissue (H&E).

벽면으로 치우친 공포 모양이 있는 전형적인 형태를 관찰할 수 있었다. 이후 시료의 보충과 지속적인 연구로 유전학적 분석을 포함한 상세한 연구결과와 내용을 함께 보고할 수 있기를 기대한다.

감사의 글

본 논문은 국립수산물과학원 ‘수산생물 질병 특성 연구(R2023051)’에 의해 수행되었습니다.

References

- Arkush, K.D., Mendoza, L., Adkison, M.A. and Hedrick, R.P.: Observation on the life stages of *Sphaerothecum destruens* n. g., n. sp., a Mesomycetozoean fish pathogen formally referred to as the rosette agent. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 50: 430-438, 2003.
- Andreou, D., Gozlan, R.E., Stone, D., Martin, P., Bateman, K. and Feist, S.W.: *Sphaerothecum destruens* pathology in cyprinids. *Dis. Aquat. Org.*, 95: 145-151, 2011.
- Cavalier-Smith, T.: Neomonada and the origin of animals and fungi. In: Coomba GH, Vickerman K, Sleigh MA, Warren A(ed.). *Evolutionary relationships among protozoa*, Kluwer, London, pp. 375-407, 1998.
- Dyková, I. and Lom, J.: New evidence of fungal nature of *Dermocystidium koi* Hoshina and Sahara, 1950. *J. Appl. Ichthyol.*, 8: 180-185, 1992.
- Frank, J.A., Reich, C.R., Sharma, S., Weisbaum, J.S., Wilxon, B.A. and Olsen, G.J.: Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of

- bacterial 16S rRNA genes. Appl. Environ. Microbiol., 74: 2461-2470, 2008.
- Fujimoto, R.Y., Couto, M.V.S., Sousa, N.C., Diniz, D.G., Diniz, J.A.P., Madi, R.R., Martins, M.K. and Eiras, J.C.: dermocystidium sp. infection in farmed hybrid fish *Colossoma macropomum*×*Piaractus brachypomus* in Brazil. J. Fish Dis., 41: 1-4, 2017.
- Hedrick, R.P., Friedman, C.S., Modin, J.: Systemic infection in Atlantic salmon *Salmo salar* with a *Dermocystidium*-like species. Dis. Aquat. Org. 7: 171-177, 1989.
- Heo, G.J: Fungal disease in fish. J. Kor. Vet. Med. Assoc. 28: 531-539, 1992. (Korean)
- Herr, R.A., Ajello, L., Taylor, J.W., Arseculeratne, S.N. and Mendoza, L.: Phylogenetic analysis of *Rhinosporidium seeberi* 18S small-subunit ribosomal DNA groups this pathogen among members of the protostistan Mesomycetozoa clade. J. Clin. Microbiol., 37: 2750-2754, 1999.
- Hoshina, T. and Sahara, Y.: A new species of the genus *Dermocystidium*, *D. koi* sp. nov., parasitic in *Cyprinus carpio* L. Jap. Soci. Fisher Sci., 15: 825-829, 1950.
- Kovács-Gayer, É., Csaba, G., Rátz, F., Békési, L. and Szakolczai, J.: Granulomatosis of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Bull. Europ. Associ. Fish Pathol., 6: 72-73, 1986.
- Landsberg, J.H. and Paperna, I.: Systemic granuloma in goldfish caused by a *Dermocystidium*-like aetiological agent. Dis. Aquat. Org., 13: 75-78, 1992.
- Lazăr, M., Miron, M., Gostin, I., Rîmbu, C., Lazăr, R. and Guguianu, E.: Investigations in associated protozoa-bacterial infections of cyprinids from a fish farm situated on the Jijia river in N-E of Romania. Veterinary Medicine: Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 66: 688-696. 2014.
- Liu, Y., Li, W.X., Li, D. and Nie, P.: Identification of *Dermocystidium anguillae* Spangenberg, 1975 from the American eel *Anguilla rostrata* (Lesueur, 1817) and Chinese perch *Siniperca chuatsi* (Basilewsky, 1855). Aquaculture, 531: 735793, 2021.
- Lucky, Z. and Groch, L.: *Dermocystidium branchiale* Leger, 1914(Haplosporea) found on the gills of a Common trout (*Salmo trutta*) from the River Svratka (Catchment area of the Danube). Acta. Vet. Brno. 57: 53-60, 1988.
- McVicar, A.H. and Wootten, R.: Disease in farmed juvenile Atlantic salmon caused by *Dermocystidium* sp. In: Fish Diseases, (Ed. W. Ahne) Springer, Berlin 165-173, 1980.
- Mendoza, L., Taylor, J.W. and Ajello, L.L The class Mesomycetozoa: A Heterogeneous group of microorganisms at the Animal-Fungal Boundary. Annu. Rev. Microbiol., 56: 315-344, 2002.
- Novotny, L. and Smolova, J.: *Dermocystidium* sp. in the skin of the common carp (*Cyprinus carpio*) in the Czech Republic-a case report. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 26: 125-127, 2006.
- Ragan, M.A., Louise Goggins, C., Cawthorn, R.J., Cerenius, L., Jamieson, A.V.C., Plourde, S.M., Rand, T.G., Söderhall, K. and Gutell, R.R.: A novel clade of protistan parasites near the animal fungal divergence. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 11907-11912, 1996.
- Sellyei Boglárka, Kálmán Molnár, Gábor Cech, Ádám Varga and Csaba Székely.: Extreme pathological symptom generated by *Dermocystidium koi* infection of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in Hungary. J. Fish Dis. 45: 825-835. 2022.
- Sirri, R, Gustinelli, A., Rubini S, Quaglio F. and Fioravanti M.L.: *Dermocystidium* sp. (Mesomycetozoa: Dermocystidiaceae) primary ocular infection in a koi carp (*Cyprinus carpio* var. koi). J. Fish Dis., 43: 515-517. 2020.
- WOAH (founded as OIE): Manual of diagnostic test for Aquatic animal 2022 online version. <https://woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/aquatic-manual-online-access/>, 2023.
- Wootten, R. and McVicar, A.H.: *Dermocystidium* from cultured eels, *anguilla anguilla* L. Scotland. J. Fish Dis., 5:215-222, 1982.
- Zhang, Q. and Wang, Z.: *Dermocystidium* sp. infection in cultured juvenile southern catfish *Silurus meridionalis* in China. Dis. Aquat. Org., 65: 245-250, 2005.

Manuscript Received : May 17, 2023

Revised : May 26, 2023

Accepted : Jun 01, 2023