

소양호, 남양호, 안동호 및 춘천호에 서식하는 잉어과 어류의 간흡충 *Clonorchis sinensis* 감염 조사

전상우¹ · 허준욱² · 송준영³ · 지보영⁴ · 이정호³ · 권준영¹ · 권세련^{1,5*}

¹선문대학교 수산생명의학과

²생물모니터링센터

³국립수산물과학원 내수면양식연구센터

⁴국립수산물과학원 수산방역과

⁵유전체 기반 바이오IT 융합연구소

Infestation Status of *Clonorchis sinensis* Metacercariae in Cyprinid Fish from four Artificial Lakes in South Korea

Sang Woo Jeon¹, Jun Wook Hur², Jun Young Song³, Bo Young Jee⁴, Jeong Ho Lee³, Joon Yeong Kwon¹, Se Ryun Kwon^{1,5*}

¹Department of Aquatic Life Medical Sciences, Sunmoon University, Asan 31460, Korea

²Bio-Monitoring Center, Sejong 30121, Korea

³Inland Aquaculture Research Center, National Institute of Fisheries Sciences, Changwon 51688, Korea

⁴Aquatic Disease Control Division, National Institute of Fisheries Sciences, Busan 46083, Korea

⁵Genome-based BiolT Convergence Institute, Asan 31460, Korea

Corresponding Author

Se Ryun Kwon

Department of Aquatic Life Medical
Sciences, Sunmoon University, Asan
31460, Korea

E-mail : srkwon@sunmoon.ac.kr

Received : November 05, 2018

Revised : December 12, 2018

Accepted : December 13, 2018

간흡충(*Clonorchis sinensis*)은 우리나라에서 인체 감염율이 가장 높은 기생충이며, 이는 담수어류를 중간숙주로 삼는다. 따라서 강 유역에 서식하는 담수어류를 대상으로 간흡충의 메타세르카리아(*Clonorchis sinensis* metacercariae, CsMc)가 감염되어 있는지를 조사한 연구가 많이 수행되었으나 호수에 서식하는 물고기를 대상으로 한 연구는 거의 없다. 본 연구에서는 주요 인공호수인 소양호, 남양호, 안동호, 춘천호에서 2016년부터 2017년까지 잉어과어류를 채집하여 CsMc의 감염 여부를 조사하였다. 이생흡충류의 메타세르카리아는 남양호에서 채집한 치리 및 붕어와, 소양호에서 채집한 피라미와 고리에서 관찰되었다. 간흡충에 특이적인 프라이머를 사용하여 PCR을 수행한 결과, 남양호의 치리에서 관찰된 것이 CsMc 이었음을 확인할 수 있었다. 본 연구는 주요 인공호수에 서식하는 잉어과어류에서 CsMc의 감염 실태에 대한 정보를 제공하고 있으며, 남양호의 치리에서 CsMc 감염을 처음으로 보고하고 있다는 것에 의의가 있다.

Clonorchis sinensis is a main parasite that infects humans by making freshwater fish as an intermediate host in South Korea. There are so many reports about the infestation status of *Clonorchis sinensis* metacercariae (CsMc) in freshwater fish living in the river, but there are a few studies of fish in the lake. In this study, we examined CsMc in Cyprinid fish sampled from Soyang Lake, Namyang Lake, Andong Lake and Chunchun Lake from 2016 to 2017. Metacercaria of trematodes were found from *Hemiculter eigenmanni* and *Carassius auratus* in Namyang Lake, and *Zacco platypus* and *Opsarichthys uncirostris* in Soyang Lake. As a result of PCR using *Clonorchis sinensis* specific primer sets, it was confirmed that the metacercariae from *Hemiculter eigenmanni* in Namyang Lake was CsMc. This study provides information on CsMc infestation status of Cyprinid fish in four lakes and it is the first report of CsMc infestation in Namyang Lake.

Keywords: Soyang Lake(소양호), Namyang Lake(남양호), Andong Lake(안동호) and Chunchun Lake(춘천호), *Clonorchis sinensis*(간흡충), Metacercariae(메타세르카리아)

간흡충(*Clonorchis sinensis*)은 우리나라의 기생충 중에서 인체 감염율이 가장 높은 기생충이다. 2012년도의 국내 간흡충 조사 결과 감염도는 1.9%로서 932,540 가구에서 감염되어 있을 것으로 추정하고 있다(Sohn et al., 2017, 2018). 간흡충 감염율은 강 유역에서 상대적으로 높은 편이어서 강 유역을 중심으로 되어 있는 조사 결과가 많다(Seo et al., 1981; Rim, 1986; Hong and Hong, 2005; Cho et al., 2008; Kim et al., 2009; Kim et al., 2010; Jeong et al., 2016). 특히 1981년도에는 7개의 주요 강에서 조사한 결과 낙동강에서 40.2%, 영산강에서 30.8%, 섬진강에서 17.3%, 탐진강에서 15.9%, 한강에서 15.7%, 금강에서 12.0% 및 만경강에서 8.0%의 최대 감염율을 보였다(Sohn et al., 2017, 2018). 최근의 Jeong et al. (2016)에 의한 조사 결과 낙동강은 11.7%, 섬진강은 9.9%, 금강은 6.5%, 영산강은 3.1% 및 한강은 1.0%로 낮아진 감염율을 확인할 수 있었다.

간흡충은 최종 숙주가 포유류나 성충이 되기 위해 담수어류를 제2차 중간숙주로 삼는다. 어류에서는 피낭에 싸여져 있는 metacercariae의 형태로 존재하고 있다가 중숙주인 인간이 어류를 조리하지 않은 채 날 것으로 섭취하게 되면 피낭을 깨고 나와 담관에서 성충으로 자라게 된다. 여러 연구자에 의해 간흡충의 감염인자로서 여러 담수어종을 조사한 바 있는데 그 결과 7개 과의 49종 이상의 담수어에서 간흡충의 metacercariae가 검출된 바 있다(Sohn et al., 2018). 그 중 잉어과어류에서 가장 높은 감염율을 보였다(Kim et al., 2008). 한편 우리나라의 지역을 구획별로 나누어 간흡충의 감염을 조사한 여러 연구가 실시된 바 있다(Kim et al., 2008; Cho et al., 2011). 이러한 연구들도 간흡충의 감염율이 기존에 높게 나타났던 강 유역을 기본으로 한 것이 추가 된다. 그러나 댐에 의해 조성된 인공호수에 서식하는 어류를 대상으로 간흡충 감염을 조사한 연구는 거의 없다. 인공호수에도 다수의 어종이 서식하고 있으며 시민들이 낚시를 하거나 호수의 물이 농업용수 및 식수원으로 사용되고 있다는 점에서 중요도가 높다. 따라서 본 연구에서는 우리나라에서 주요 호수인 소양호, 남양호, 안동호 및 춘천호를 대상으로 그곳에 서식하고 있는 잉어과어류를 채집하여 간흡충의 metacercariae 감염 여부를 조사하여 보았다.

2016년에서 2017년에 걸쳐 소양호, 남양호, 안동호, 및 춘천호에서 어류를 채집한 후, 각 채집 시점에서 잉어과어류만 15마리씩 선별하여 간흡충 검사에 사용하였다. 어류의 채집은 Table 1에 표시한 조사정점을 기준으로 사방 200 m의 범위에서 투망, 족대 및 삼각망을 사용하여 실시하였다. 간흡충의 감염 확인 실험 시 선별된 15마리의 잉어과어류를 같은 어종 별로 나눈 후 3마리 내외로 pooling 하여 Mun et al. (2018)과 Kim et al. (2018)에 보고된 방법으로 근육을 소화시킨 후 침전물을 현미경으로 관찰하고, 간흡충에 대한 specific primer sets를 사용하여 간흡충인지를 확인하였다. High pure PCR template preparation kit (Roche, Germany)를 이용하여 제조사의 protocol에 따라 침전물로부터 핵산을 추출한 후 PCR 검사를 실시하였다. PCR 검사 시에는 Cho et al. (2013)에

Table 1. Subjected sites and sampling date for fish collection

Name of lake	Sampling spot	Sampling date
Soyang Lake	38°02'22", 127°57'49"	May 4, 2016
		June 24, 2016
		Sep 8, 2016
		Oct 6, 2016
Namyang Lake	38°02'01", 128°02'48"	May 12, 2017
		July 26, 2017
		May 10, 2016
		July 5, 2016
Andong Lake	36°41'33", 128°51'06"	Sep 9, 2016
		Oct 8, 2016
		May 12, 2017
		July 26, 2017
Chunchun Lake	36°37'52", 128°50'01"	May 12, 2017
		July 26, 2017
		May 12, 2017
		July 26, 2017

제시된 대로 간흡충의 retrotransposon을 target으로 하는 2쌍의 primer를 사용하였다. RT5-1 (5'-ACTTCATCGAGTCATTGGTCGT-3')과 RH3 (5'-CGTACTGTAACGCGTTTGTGCA-3')를 사용하게 되면 929 bp 크기의 PCR 산물이 증폭되고 Int5-2 (5'-GGACATGCTAACTTCCC TCTCA-3')과 Int3-1 (5'-CCCAGGATGTCAGATCCTT-3')을 사용하면 1,349 bp 크기의 PCR 산물을 얻을 수 있게 된다. 두 쌍의 primer에 대한 PCR 조건은 Kim et al. (2018)에 제시된 바와 같다. PCR 양성 시료는 Wizard® SV Gel and PCR Clean-UP System (Promega)을 사용하여 정제한 후 염기서열 분석을 실시하여 간흡충인지를 확인하였다.

소양호에서는 2016년에 4회 및 2017년도에 2회에 걸쳐 잉어과어류를 채집하였고, 그 중 79마리의 피라미(*Zacco platypus*), 8마리의 고리(*Opsarichthys uncirostris amurensis*), 5마리의 물개(*Squalidus japonicus coreanus*), 3마리의 참종고기(*Sarcocheilichthys variegatus wakiyae*), 2마리의 붕어(*Carassius auratus*) 및 1마리의 누치(*Hemibarbus labeo*)를 대상으로 간흡충 검사를 진행하였다. 남양호에서는 2016년에 4회에 걸쳐 채집을 수행하였으며, 40마리의 붕어(*C. auratus*), 11마리의 치리(*Hemiculter eigenmanni*), 6마리의 강준치(*Erythroculter erythropterus*), 2마리의 잉어(*Cyprinus carpio*) 및 1마리의 참붕어(*Pseudorasbora parva*)를 실험하였다. 안

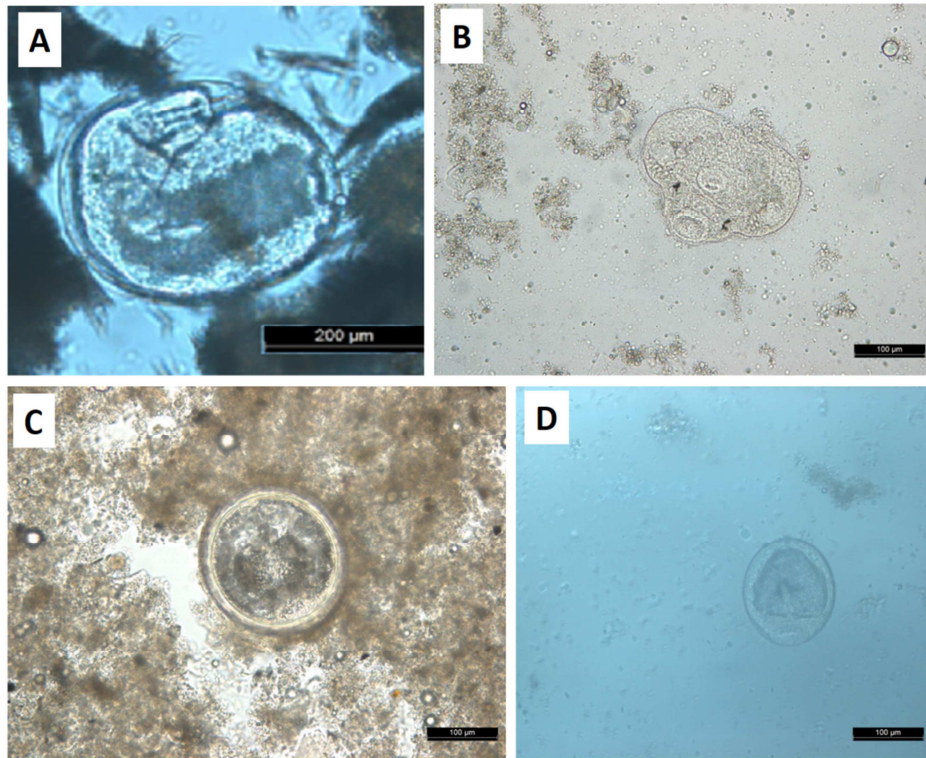


Fig. 1. Different kinds of metacercaria from *Hemiculter eigenmanni* (A) and *Carassius auratus* (B-D) in Namyang Lake.

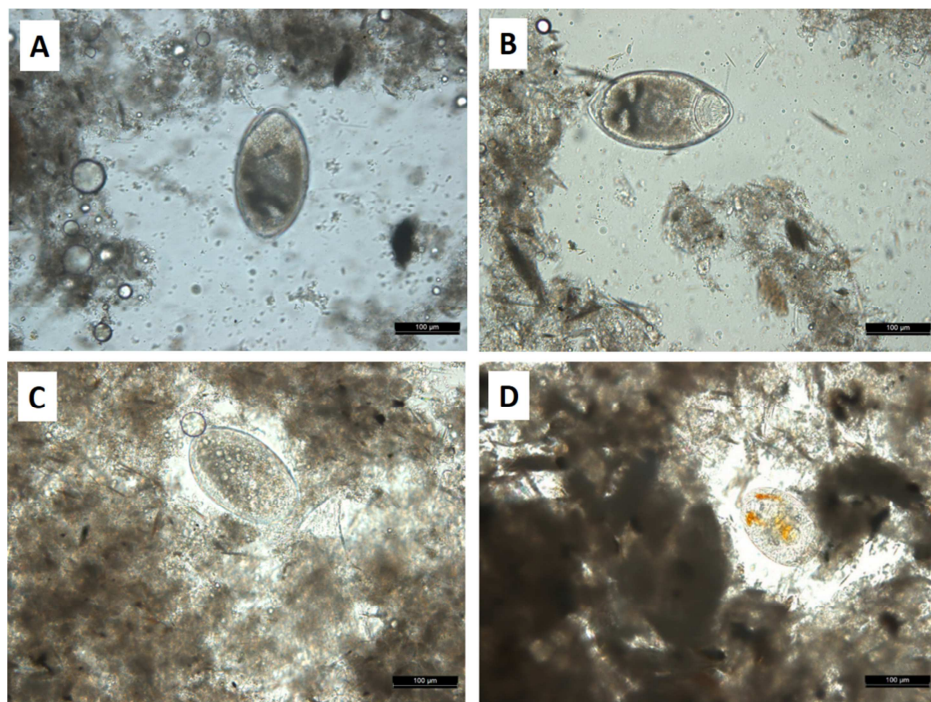


Fig. 2. Different kinds of metacercaria from *Zacco platypus* (A-C) and *Opsarichthys uncirostris* (D) in Soyang Lake.

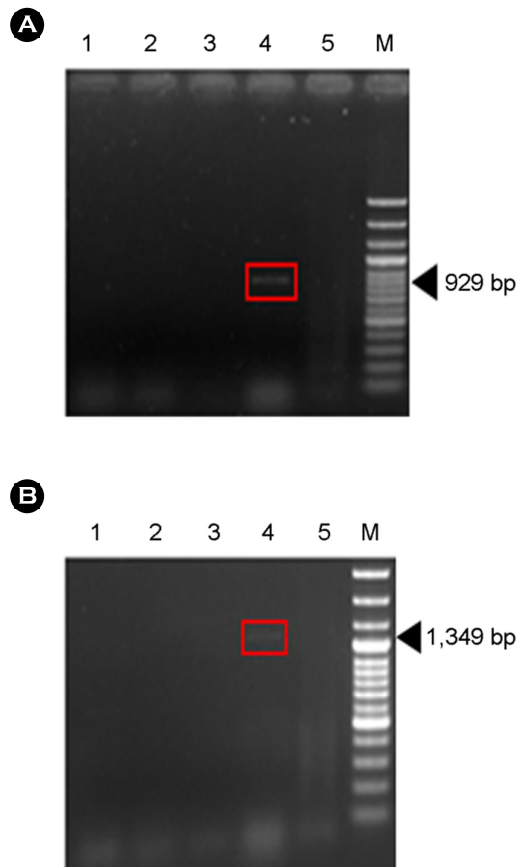


Fig. 3. Agarose gel electrophoresis of PCR products using primer sets targeting a long-terminal repeat of retrotransposon I of *Clonorchis sinensis*. (A) RT5-1 and RH3 primer set; (B) Int3-2 and Int3-1 primer set. Number refers to the number of samples analyzed in the PCR assay using fish collected from Namyang Lake in May 2016.

동호에서는 2017년에 중류와 하류의 2구역으로 나누어 2회씩 채집을 수행하였다. 상류에서는 26마리의 붕어(*C. auratus*), 8마리의 잉어(*C. carpio*), 5마리의 고리(*O. uncirostris amurensis*), 3마리의 배스(*Micropterus salmoides*), 1마리의 누치(*H. labeo*)를 실험하였다. 중류에서는 붕어(*C. auratus*) 15마리, 잉어(*C. carpio*) 12마리, 누치(*H. labeo*) 10마리, 배스(*M. salmoides*) 4마리를 실험하였다. 춘천호에서는 2017년에 간흡충 검사를 2회 실시하였는데, 누치(*H. labeo*) 23마리, 붕어(*C. auratus*) 7마리, 잉어(*C. carpio*) 4마리, 배스(*M. salmoides*) 1마리를 대상으로 하였다.

이생흡충류의 metacercariae는 남양호에서 채집된 치리 및 붕어와 소양호에서 채집된 피라미와 고리에서 검출되었다. Fig. 1과 Fig. 2에서는 각 호수에서 분리된 흡충의 metacercaria 사진을 제시하고 있다. 사진에서 보이는 바와 같이 다양한 형태의 metacercaria가 존재하며, 이들의 형태는 현미경 관찰에 의해서는 *Clonorchis*

sinensis metacercariae (CsMc)와 다른 trematode의 것과 구별하기 매우 힘들다. Sohn (2009)은 우리나라의 다양한 어류에서 분리한 metacercaria의 형태적 특징을 비교한 바 있다. 그도 밝혔듯이 CsMc와 다른 것들과 형태적으로 구분하기는 매우 까다로워서, 타 이간흡충(*Opisthorchis viverrini*)과는 동그란 형태의 cyst, 유사한 크기의 구흡반과 복흡반, 갈색 색소과립, O 자 형태의 배설낭 등의 특징이 동일하나 CsMc의 크기가 작다는 것으로 구별해야 한다. 또한 동양담낭흡충(*Metorchis orientalis*)과는 cyst 벽의 두께가 얇다는 점으로 구분해야 하며, 메타고니무스(*Metagonimus* sp.)와는 복흡반과 배설낭의 형태가 약간 다르다는 점으로 구분해야 한다 (Sohn, 2009). 이와 같이 형태적으로 동정하는 것이 전문적인 소견을 필요로 하고 시간이 오래 소요되기 때문에 Cho et al. (2013)은 사람의 분변에서 핵산을 추출하여 PCR 하는 것으로 간흡충을 검출할 수 있는 조건에 대해 검토한 바 있다. 이 방법은 인체에 감염되는 요코가와흡충(*Metagonimus yokogawai*)과 폐흡충(*Paragonimus waterman*) 및 간흡충을 구별할 수 있는 특이적인 것이었다. 본 연구에서는 이 방법을 사용하여 남양호에서 채집한 치리(*H. eigenmanni*)에서 간흡충을 특이적으로 검출할 수 있었다 (Fig. 3). 실험에 사용된 모든 어종은 배스(*M. salmoides*)를 제외하고는 기존에 CsMc가 검출되었다고 보고된 바 있는 것이었으나 (Sohn, 2009), 검사 결과 치리(*H. eigenmanni*)에서만 간흡충이 검출되었다. 피라미의 경우에는 CsMc 감염율이 48%로서 높은 편이라고 보고되어 있지만(Kim et al., 2008), 본 연구에서는 검출되지 않았다. 이것은 검사에 사용된 어류의 개체수가 기존의 연구에 비해 적었기 때문일 가능성이 있다. 이러한 한계점에도 불구하고 본 연구의 결과는 남양호에서 서식하는 치리(*H. eigenmanni*)에서 간흡충의 감염을 밝힌 최초의 보고이며, 어류의 근육 소화액을 사용하여 PCR 하는 것으로 간흡충 감염 여부를 확인할 수 있음을 증명하고 있다.

사 사

이 논문은 2018년도 국립수산물과학원의 수산생물방역프로그램 개발·운영(R2018065)의 지원으로 수행된 연구이며 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Cho SH, Lee KY, Lee BC, Cho PY, Cheun HI, Hong ST, Sohn WM, Kim TS. 2008. Prevalence of clonorchiasis in southern endemic areas of Korea in 2006. Korean J Parasitol 46: 133-137.
- Cho SH, Sohn WM, Na BK, Kim TS, Kong Y, Eom K, Seok W, Lee T. 2011. Prevalence of *Clonorchis sinensis* metacercariae in freshwater fish from three latitudinal regions of the Korean Peninsula. Korean J Parasitol 49: 385-398.

- Hong ST, Hong SJ. 2005. *Clonorchis sinensis* and clonorchiasis in Korea. Food-Borne Helminthiasis in Asia. Asian Parasitology 1: 35-56.
- Jeong YI, Shin HE, Lee SE, Cheun HI, Ju JW, Kim JY, Park MY, Cho SH. 2016. Prevalence of *Clonorchis sinensis* infection among residents along 5 major rivers in the Republic of Korea. Korean J Parasitol 54: 215-219.
- Kim EM, Kim JL, Choi SY, Kim JW, Kim S, Choi MH, Bae YM, Lee SH, Hong ST. 2008. Infection status of freshwater fish with metacercariae of *Clonorchis sinensis* in Korea. Korean J Parasitol 46: 247-251.
- Kim HK, Cheun HI, Chung BS, Lee KY, Kim TS, Lee SE, Lee WJ, Cho SH. 2010. Prevalence of *Clonorchis sinensis* infections along the five major rivers in Republic of Korea, 2007. Osong Public Health Res Perspect 1: 43-49.
- Kim SY, Hur JW, Cha SJ, Park MA, Choi HS, Kwon JY, Kwon SR. 2018. Community analysis and pathogen monitoring in wild Cyprinid fish and Crustaceans in the Geum river estuary. Korean J Fish Aquat Sci 51: 47-53.
- Kim TS, Cho SH, Huh S, Kong Y, Sohn WM, Hwang SS, Chai JY, Lee SH, Park YK, Oh DK, Lee JK. 2004. A nationwide survey on the prevalence of intestinal parasitic infections in the Republic of Korea, 2004. Korean J Parasitol 47: 37-47.
- Mun SH, Hur JW, Cha SJ, Hwang SD, Son MH, Kwon JY, Kwon SR. 2018. Monitoring pathogen infection of freshwater Cyprinid fish and crustacean in Soyang Lake in 2016. Korean J Fish Aquat Sci 51: 47-53.
- Rim HJ. 1986. The current pathobiology and chemotherapy of clonorchiasis. Korean J Parasitol 24: 1-141.
- Seo BS, Lee SH, Cho SY, Chai JY, Hong ST, Han IS, Sohn JS, Cho BH, Ahn SR, Lee SK, Chung SC, Kang KS, Shim HS, Hwang IS. 1981. An epidemiologic study on clonorchiasis and metagonimiasis in riverside areas in Korea. Korean J Parasitol 19: 137-150.
- Sohn WM. 2009. Fish-borne zoonotic trematode metacercariae in the Republic of Korea. Korean J Parasitol 47: 103-113.
- Sohn WM, Na BK, Cho SH, Park MY, Kim CH, Hwang MA, No KW, Yoon KB, Lim HC. 2017. Prevalence of *Clonorchis sinensis* Metacercariae in Fish from Water Systems of Seomjin-gang (River). Korean J Parasitol 55: 305-312.
- Sohn WM, Na BK, Cho SH, Ju JW, Son DC. 2018. Prevalence and Intensity of *Clonorchis sinensis* Metacercariae in Freshwater Fish from Wicheon Stream in Gunwi-gun, Gyeongsangbuk-do, Korea. Korean J Parasitol 56: 41-48.