

넙치에서 수산화 과산화수소의 항스쿠티카 효과

이지훈 · 박정진 · 최준호 · 신동훈* · 박관하[†]

전라북도 군산시 산-68 미룡동 군산대학교 수산생명의학과

*충청남도 서산시 음암면 석동로 21 신동수산질병관리원

Anti-scuticociliate effects of aquatic hydrogen peroxide preparation in olive flounder *Paralichthys olivaceus*

Ji-Hoon Lee, Jung-Jin Park, Jun-Ho Choi, Dong-Hun Shin* and Kwan Ha Park[†]

Department of Aquatic Life Medicine, College of Ocean Science and Technology, Kunsan National University, San-68 Miryong-dong, Gunsan City, Jeonbuk, Korea

*Shindong Control Center For Aquatic Animal Diseases, 21, Seokdong-ro, Eumam-myeon, Seosan City, Chungnam, Korea

We evaluated the anti-parasitic efficacy of hydrogen peroxide against a scuticociliate *Miamiensis avidus* in olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *In vitro* tests showed that hydrogen peroxide above 50 mg/l is effective for killing *M. avidus*. *In vivo* effects were assessed in olive flounder after immersion infection with 2.8×10^3 *M. avidus*/ml for 2 days, and in naturally infected fish obtained from Jeju area farms. Bathing treatment with 100 and 200 mg/l hydrogen peroxide showed markedly higher survival rates of olive flounder than control groups ($p < 0.05$). The number of live *M. avidus* in fish tissues were reduced for 3 days in naturally-infected fish after a single bath. In conclusion, hydrogen peroxide can be a good therapeutant particularly in the early stage of *M. avidus* infection.

Key words: Hydrogen peroxide (H_2O_2), Anti-scuticociliate effect, *In vitro* and *in vivo* efficacy, Olive flounder

스쿠티카충은 채찍섬모충목 (Scuticociliatida)에 속하는 원생동물로써 최근 해산어류의 양식산업에서 큰 피해를 입히는 것으로 알려져 있다 (Jin *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 1994). 기생성 원충류인 스쿠티카충은 대부분의 섬모충과 다르게 신장, 혈관 및 뇌조직까지 침투하여 폐사를 일으킨다 (Bae *et al.*, 2009; Dykova and Figueras, 1994; Iglesias *et al.*, 2002; Kang *et al.*, 2014; Munday *et al.*, 1997). 우리

나라에서 넙치의 스쿠티카증 (Scuticociliatosis)을 일으키는 원인충은 *Uronema marinum* (Jee *et al.*, 2001), *Philasterides dicentrarchi* (Kim *et al.*, 2004a), *Pseudocohnilemdus persalinus* (Kim *et al.*, 2004b)가 보고되었고, 이중 *P. dicentrarchi*는 *M. avidus*와 동일종으로 보고하였다 (Jung *et al.*, 2007).

과산화수소는 인체에 대한 안전성에 관한 우려가 있기도 하지만 (Jeong *et al.*, 2013) 원충류와 같은 기생충을 살상할 목적으로 수중에 투입하면 신속히 물과 산소로 분해되기 때문에 환경친화적 수산용의약품으로 인식되고 있다 (Kierner, 1997; Park,

[†]Corresponding author: Kwan Ha Park
Tel: +82-63-469-1885, Fax: +82-63-469-7444
E-mail: khpark@kunsan.ac.kr

2011). 또한 실온에서 증기상태의 물질이 발생하지 않기 때문에 양식장에서 투여할 때에 사용자에게 대한 위해성도 낮다 (Kierner, 1997). 외국에서는 과산화수소를 1930년대부터 담수어류 외부기생충의 구제에 사용하기 시작하여 보통 낮은 농도 (25 mg/l)로는 장시간, 높은 농도 (200 mg/l)로는 단시간의 약욕으로 유효하다 (Montgomery-Brock *et al.*, 2004). 국내에서도 넙치의 스쿠티카충 치료목적으로 과산화수소의 효능을 평가하였으며 *in vitro*에서 150분간 처리 시 스쿠티카충이 사멸되었다 (Jin *et al.*, 2007). 이와 같이 과산화수소는 인체 및 환경 안전성의 관점에서 수산용의약품으로의 장점이 큰 유효성분으로 이미 상용화가 되어 어류에 적용하고 있다. 하지만 우리나라 넙치 육상수조식 양식장에서 약효를 직접 평가한 보고는 없다.

본 연구에서는 스쿠티카충에 대한 수산용 과산화수소의 실험실내 유효성뿐만 아니라 현장에서의 효능을 넙치에서 평가하였다.

재료 및 방법

시험어 및 시험약품

전남 고흥 소재의 육상수조식 양식장에서 체중 50-100 g의 건강한 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)를 입수하여 차광된 실험실내에서 여과순환수조에 수용하여 시험하였다. 어류의 순치는 수온을 $22 \pm 3^\circ\text{C}$, 염분 농도는 30 psu, DO는 5.0-6.0 mg/l의 조건에서 3주간 유지하였다. 순치기간 중 배합사료를 체중의 2% 정도의 급이율에 적응되도록 오전 9시와 오후 6시로 하루에 두 번 분할하여 공급하였다. 수산용 과산화수소 (35% 수용액을 100%로 간주하여 사용)는 참신약품에서 구입하여 사용하였다.

시험 스쿠티카충

시험에 사용한 스쿠티카충은 2016년 2월 제주도의 육상 concrete 수조 (수온 17.4°C)에서 사육하던 넙치의 뇌조직에서 Jung *et al.* (2005)이 보고한 방법으로 분리 및 동정된 *M. avidus*를 사용하였다. 즉, 분리된 스쿠티카충을 대량배양 한 후 클로닝한 증체를 형태학적 관찰과 small subunit rRNA 분석을 통하여 *M. avidus* (GenBank accession AY550080)로

동정하였다. 분리된 층에 10% fetal bovine serum (Sigma, St. Louis, MO, USA)과 penicillin-streptomycin (100 units/ml-100 µg/ml, Sigma)이 첨가된 Eagle's minimum essential medium (MEM, Corning, Marassas, VA, USA)에서 배양된 EPC (epithelioma papulosum cyprini) cell line을 먹이원으로 공급하였다. EPC cell line이 배양된 25 cm² Corning polystyrene culture flask (Corning, NY, USA)에 MEM을 10 ml씩 넣어 *M. avidus*를 접종하고 20°C 에서 14일마다 계대배양하면서 유지하였다.

In vitro 살충효과

*M. avidus*에 대한 수산용 과산화수소 효능 평가의 일환으로 농도별 살상효과를 알아보기 위해 3.13-200 mg/l의 범위로 MEM 배지를 이용해 2배 계열희석 하였다. 대조군은 MEM 배지를 첨가하였다. 각 시험용액을 24 well culture plate에 0.9 ml씩 분주하고 충체 배양액 0.1 ml를 각 well에 첨가하여 최종농도가 2.1×10^4 cells/ml로 조성했다. 이 배양액을 20°C incubator에서 15-60분 동안 반응시킨 후 역상현미경 (Olympus CK31, Tokyo, Japan)하에서 200마리씩 무작위로 측정하여 평가하였다. 각 시험군 및 대조군은 3회 반복수행 하였다. 판정의 기준은 Novotny *et al.* (1996)의 방법을 준용하여 (Score 2 : 섬모운동정지 및 세포용해, 1 : 운동성 다소 둔화 및 형태 불규칙, 0 : 운동성 및 형태 정상) 충체의 운동성 및 형태학적 검정에 의하여 실시하였다.

In vivo 살충효과

인위감염

인위감염 유도를 위해 먼저, 어류주화세포 EPC cell에서 배양한 *M. avidus*를 넙치에게 침지감염 하였다. 즉, 175 cm² Corning polystyrene culture flask에 EPC cell을 먹이원으로 하여 스쿠티카충을 대량 증식시킨 후 이를 40 l 해수에 첨가하였다. 이때 수조에 첨가하는 스쿠티카충은 1.1×10^8 마리이며 침지감염된 최종 농도는 2.8×10^3 cells/ml로 이틀간 감염을 지속하였다. 감염탱크 내 수온은 $22 \pm 3^\circ\text{C}$ 를 유지하고 충분한 산소공급을 위해 폭기를 실시

하였다.

방어효과

침지감염이 종료된 즉시 본래의 수조에 넙치를 이동시키고 50-200 mg/l로 한 시간 동안 약욕을 실시하였다. 대조군 및 시험군 모두 군당 30마리의 넙치를 할당하고 반복구 없이 시험하였다. 대조군 (0 mg/l)과 시험군 모두 약욕이 종료된 후 100% 환수를 실시하였다. 환수 후 넙치를 사육수 22±3 °C, 염도 30 psu로 순환여과 수조에 유지하면서 치사가 대체적으로 종료되는 2 주일간의 누적 치사 개체수를 계수하여 과산화수소의 투여량과 관련성이 있는지를 평가하였다.

양식장에서 스쿠티카충 저감 효과

시험 양식장

제주 지역의 육상수조식 넙치양식장에서 발병한 스쿠티카충에 대한 임상학적 과산화수소의 현장 치료효능을 평가하고자 2곳의 발병 양식장에서 시험하였다. 서귀포시의 A양식장은 11 m × 11 m 육상콘크리트 수조에 체중 200-300 g의 넙치를 약 4,000-4,400마리씩 사육하고 있었으며 임상시험 직전 스쿠티카충이 발생 (2개수조)하여 수조당 매일 0.33-0.64% 전후의 치사가 발생하였다. 제주시의 B양식장은 11 m × 11 m 육상콘크리트 수조에 체중 200-300 g의 넙치를 약 4,000-4,400마리씩 사육하고 있었으며 시험직전 수조당 매일 0.22-0.54% 전후의 치사가 발생하였다. 시험 양식장 모두 2개의 스쿠티카충 발병 수조를 무작위로 각각 대조군 및 시험군으로 배정하였다. 두 양식장 모두 시험 시작 수온은 13±2°C, 일주일 후 종료시 수온은 14±2°C로 비교적 안정적으로 유지 되었다.

약욕 및 관찰

약욕 직전 스쿠티카충이 발병된 각 수조에서 무작위로 10마리의 넙치를 희생하여 환부, 아가미 및 뇌조직을 적출하여 현미경으로 검경하여 (×200) 스쿠티카충의 존재를 확인하였다. 약욕을 위해 A 양식장 사육수조에서 물 높이를 0.17 m로 조절 (약 21톤)한 후 최종농도가 200 mg/l가 되도록 4 l의

과산화수소를 메스실린더로 정량하여 해수로 희석한 후 사육수 내로 균질하게 투여 하였다. B양식장 사육수조에서는 물 높이를 0.25 m로 조절 (약 30톤)한 후 최종농도가 100 mg/l가 되도록 3 l의 과산화수소를 위와 같이 정량 및 투여하였다. 약욕 시간은 모두 1 시간 동안 실시하였다. 투여 후 일주일간 매일 치사 미수와 섭이 행동의 이상 여부를 등을 관찰하였다.

스쿠티카충 잔류밀도

약욕 후 익일부터 두 양식장에서 스쿠티카충의 조직 내 잔류밀도측정을 위해 무작위로 군별로 10마리의 넙치를 희생하여 시험에 사용하였다. 아가미와 뇌 각각의 조직 일부를 penicillin-streptomycin (100 units/ml-100 µg/ml)이 첨가된 여과멸균해수 500 µl에 균질화하여 20°C incubator에서 14 시간 동안 배양한 후 스쿠티카충을 방출시켜 현미경하에서 일회용 혈구계수기 (IN CYTO, GA, USA)를 이용해 계수하였다.

통계처리

In vitro 시험 결과는 평균 ± 표준편차 (mean±S.D.)로 표현하였다. *In vivo* 시험군간 평균의 통계학적 유의성 검정을 위해 Wilcoxon rank-sum 검정을 post-hoc test로 사용하였다. P 값이 0.05이하일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

결 과

In vitro 살충효과

수산용 과산화수소를 시험관 내에서 3.13-200 mg/l로 15분부터 60분까지 3회 반복 노출 결과 50 mg/l로 60분간 약욕하면 100% 스쿠티카충을 살상하였다 (Fig. 1). 또한 시간대별 50% 살상농도를 계산한 결과 각각: 15 min-EC₅₀=26.8 mg/l, 30 min-EC₅₀=25.3 mg/l, 60 min-EC₅₀=18.5 mg/l로 나타났다.

In vivo 살충효과

침지감염 (2.8×10³ cells/ml)을 이틀간 유도한 넙치를 대상으로 수산용 과산화수소를 50-200 mg/l로 한 시간 동안 약욕 후 치사가 대체적으로 종료

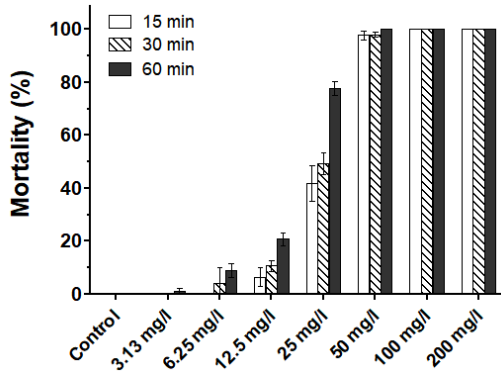


Fig. 1. *In vitro* anti-*M. avidus* effects of hydrogen peroxide. *M. avidus* (2.1×10^4 cells/ml) was exposed to different concentrations of hydrogen peroxide. Data are expressed as mean $\pm$ S.D. from triplicate plates. Statistical analysis was not tested.

되는 2 주일간의 누적 치사율을 계수하였다. 그 결과, 투여 용량과 비례하여 누적폐사율은 감소하는 경향을 나타내었다 ($p < 0.05$, Fig. 2). 100 mg/l로 약육한 시험군은 약육 후 7일까지 치사개체가 발생하지 않았으며, 특히 200 mg/l로 약육한 시험군에서 대조군에 비해 최종 누적폐사율이 현저하게 감소하였다 (76.7% vs. 36.7%).

현장시험

스쿠티카충이 발병한 제주 지역의 양식장에서 수산용 과산화수소의 투여에 의해 일 주일간 누적

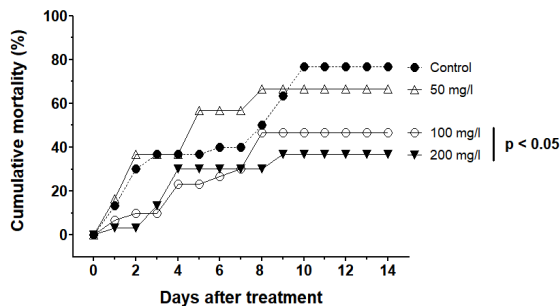


Fig. 2. *In vivo* effect of hydrogen peroxide on the mortality of olive flounder artificially infected with *M. avidus* (2.8×10^3 cells/ml). Bathing was performed for 2 days at $22 \pm 3^\circ\text{C}$. Thirty flounder from each of the one tank were analyzed. Statistical analysis was performed with Wilcoxon rank-sum tests ($p < 0.05$).

치사율은 A양식장에서 4.87%에서 2.47%로, B양식장에서는 2.86%에서 1.81%로 각각 감소시켰다 ($p < 0.05$, Fig. 3). 약육 하루 전에는 사료를 급이하지 않았으며, 익일부터 체중의 0.5-0.8%로 시작하여 급이 하였을 때, 두 시험 양식장 모두에서 대조군과 시험군 사이에 섭이행동 및 기타 행동학적 차이는 발견되지 않아 수산용 과산화수소의 약육으로 인한 어류의 특이증상은 나타나지 않았다. 아가미와 뇌조직에서 충밀도 monitoring 결과 2개소 양식장 모두 대조군보다 시험군의 스쿠티카충의 검출률이 낮았지만, 아가미의 경우 약육 다음날부터 충이 검출되었다 (Fig. 4).

고 찰

본 연구에서는 비특이적 소독제인 수산용 과산화수소가 넙치에서 발생하는 스쿠티카충에 대한 구제효과가 있는지 *in vitro* 살충효과, 인위적 스쿠티카 감염넙치 및 스쿠티카충이 자연적으로 발생

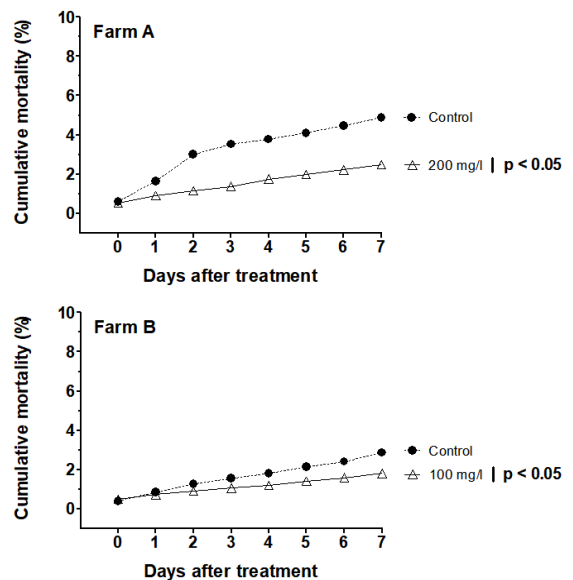


Fig. 3. Effects of hydrogen peroxide on olive flounders naturally infected with *M. avidus*. Farm A ($n =$ about 4,400), hydrogen peroxide-treated (200 mg/l); Farm B ($n =$ about 4,000), hydrogen peroxide-treated (100 mg/l). Cumulative mortalities of the experimental groups were significantly different from those of control group ($P < 0.05$).

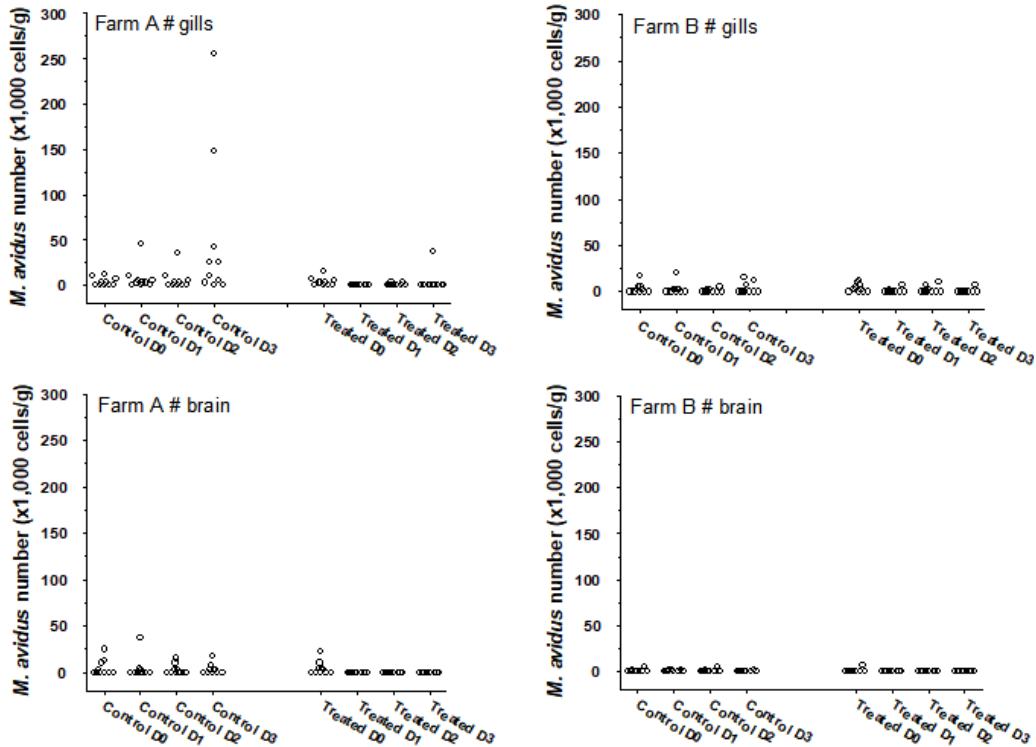


Fig. 4. Effects of hydrogen peroxide on live parasite numbers. Olive flounders from naturally infected with *M. avidus* in Jeju area farms were used (n=10). Farm A, hydrogen peroxide-treated (200 mg/l); Farm B, hydrogen peroxide-treated (100 mg/l). D0, day 0; D1, day 1; D2, day 2; D3, day 3. Statistical analysis was not performed.

한 제주 지역의 양식장에서 각각 약효를 평가하여 임상적으로 치료효과가 있는 농도를 결정하였다. 특히 수산업 분야에서 중요한 구충제로 사용되는 과산화수소를 우리나라 육상 수조식 양식장에서 스쿠티카충에 감염된 넙치를 대상으로 임상효과를 증명한 결과로서 의미가 중요하다고 생각된다.

일반적으로 수산업 분야에서 치사를 유발하지 않고 사용되는 과산화수소의 농도는 50-500 mg/l 범위로 모든 어류의 난에 기생하는 진균성 편모균류인 *Saprolegnia* spp는 500 mg/l로 15분간 부화시키지 못하게 반복 약독시 구제가 가능하며 (Rach *et al.*, 2005), 연어과 어류에서 세균성 아가미병을 유발하는 *Flavobacterium branchiophilum*은 50-100 mg/l로 격일로 3회 반복시 효과적으로 구제할 수 있다 (Schmidt *et al.*, 2006). 과산화수소는 진균 및 세균성 질병뿐만 아니라 외부 기생충에 대해서도 효능이 알려져 있어 (Rach *et al.*, 2000) 수산생물에

질병을 유발하는 특정 병원체를 살상하는 목적으로 사용되는 약제가 아니라 원충류 및 세균을 포함한 다양한 종류의 생물을 살상하는 소독제로 분류한다 (Park, 2013).

임상시험에서 사용될 수산용 과산화수소의 유효농도를 설정하기 위해 인공배양한 스쿠티카충의 *in vitro* 살상 농도를 산출하였다 (Fig. 1). 그 결과 50 mg/l로 60분간 약독하면 완벽히 스쿠티카충을 살상하였다. 국내에서도 넙치의 스쿠티카충 치료를 위해 *in vitro*에서 50 mg/l의 농도의 과산화수소로 100분간 처리시 스쿠티카충이 완벽히 살상되었다고 보고해 (Choi *et al.*, 1997) 본 연구와 다소 상이한 결과를 나타내었다. 이는 화합물에 노출된 층계 수가 선행연구와 유사한 점을 고려하여, 약독수온이 본 연구에서는 22℃인 반면에 Choi *et al.* (1997)은 17℃에서 시험한 결과로 수온에 따른 약효 시간이 반영된 것으로 사료된다. 반수영향농도

는 시간대별로 비슷하게 나타나 과산화수소는 단 시간에 스쿠티카충에 대해 직접적으로 살충효과를 발휘하는 것으로 나타났다.

수산용 과산화수소의 스쿠티카충 인위감염에 대한 약효를 알아보기 위해 *in vitro* 살상 농도를 준용하여 50, 100, 200 mg/l로 1시간 동안 약욕하고 이 시점부터 2주일 동안 넙치의 치사율을 계수하였을 때, 용량이 높을수록 방어효과도 증가하였다 ($p < 0.05$, Fig. 2). *In vitro*에서 효과가 우수했던 50 mg/l에서는 최종 치사율이 대조군대비 10% 수준만이 감소하여 충분치 못한 용량으로 판단되며 ($p > 0.05$) 대조군과 동일하게 스쿠티카충으로 인정되는 체표괴사 (Song *et al.*, 2009)가 대부분 발생하였고 환부를 도말하여 관찰 했을 때 충체가 발견되었다(data not shown). 과산화수소의 약욕 농도는 일반적으로 50-100 mg/l로써 (Choe and Yeo, 2007) 본 연구의 최저 농도인 50 mg/l의 약효수준은 아마 스쿠티카충의 예방적 차원에서 적용이 가능할 것으로 사료된다. 타 연구와 비교는 불가하지만, Jee and Jo (2002)는 넙치 치어에서 스쿠티카충의 구제를 위해 과산화수소를 100 mg/l로 1시간 동안 약욕하여 치료효과가 있다고 보고하였으며, 이 결과를 본연구의 *in vivo* 약효수준과 함께 고려 시 100 mg/l 수준의 방어효과는 있어야만 현장치료에서 유용할 것으로 판단된다.

현재 우리나라에서 넙치는 제주와 완도 지역의 육상 수조식 양식장에서 대부분 생산되며, 제주지역은 연중 16-18°C 지하해수를 양식장 사육수로 사용하기 때문에 봄, 겨울철에 사육수온은 타 지역보다 다소 높게 나타난다. 따라서 스쿠티카충이 불가피하게 일찍 발병하여 2017년 3월 초순부터 수조당 0.22-0.64% 전후의 치사가 발생하는 양식장 2개소에서 각각 100, 200 mg/l로 약욕 후 일주일간 넙치의 치사율을 계수하였다. 시험 양식장 모두 대조군에 비해 1.05-2.4%로 일주일간 누적 치사율을 감소시켰다 ($p < 0.05$, Fig. 3). 하지만 시험 종료까지 치사개체는 지속적으로 발생하여, 스쿠티카충은 숙주 체내 침투능력이 다른 점모충과는 달리 뛰어나 약욕 후 일부 감염된 넙치에서 빠른속도로 전파되어 내부 기관에 침투하여 결국 완치가 어려운 것으로 생각된다 (Iglesias *et al.*, 2002, 2003). 이와

유사한 결과는 본 연구에서도 관찰되었으며, Fig. 4와 같이 약욕 후에도 아가미 조직에서 스쿠티카충이 존재하여 수중내 수평감염이 지속적으로 진행되고 있음을 나타낸다. 따라서 본 연구에서는 단회 약욕 처리를 했지만, 수산용 과산화수소는 체내 잔류가 되지 않는 비특이적 소독제임을 감안하면 저농도에서 반복 약욕처리가 좀 더 우수한 치료효과를 나타낼 것으로 사료된다 (Jin *et al.*, 2007). 사육수에 약욕처리를 할 경우 약욕 1 시간째부터 과산화수소의 분해가 시작되어 하루가 지나면 처리농도의 절반수준에 도달하는 것으로 알려져 있어 (Lee *et al.*, 2017) 우리나라 수산용 의약품 해설집 (Kang, 2016)의 과산화수소 처리농수 기준인 20 배 이상 희석 배출시 환경에 미치는 영향은 무해하다고 판단된다.

본 연구에서 구제효과를 *in vitro*, *in vivo* 및 현장 실험을 통해 확인하였다. 스쿠티카충으로 인한 치사율 저감효과는 분명히 유효했지만 완치는 불가능하였다. 현재 과산화수소는 수산용으로 허가된 의약품이고 본 연구에서 도출된 유효농도와 적절한 투여횟수를 모색한다면, 현재의 연구결과를 항스쿠티카 의약품으로 사용시 실용적으로 활용할 수 있을 것이다.

요 약

본 연구에서는 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)에게 감염 및 높은 폐사율을 일으켜 해산어류양식에서 심각한 문제가 되고 있는 스쿠티카충 (*Miamiensis avidus*) 구제를 위한 과산화수소의 유효성을 평가하였다. *In vitro* 시험 결과, 과산화수소 50 mg/l로 1시간 동안 노출시키면 완벽하게 스쿠티카충 (*M. avidus*)을 효과적으로 살상하였다. *In vivo* 시험은 2×10^3 *M. avidus*/ml로 이틀간 침지감염을 유도한 넙치와 제주지역에서 자연적으로 스쿠티카충에 감염된 넙치를 대상으로 과산화수소의 효능을 평가하였다. 제주지역 양식장 및 실험실적 시험군에서 과산화수소 100-200 mg/l로 1시간 동안 약욕시 대조군에 비해 현저히 누적폐사가 감소하였다 ($p < 0.05$). 이때 넙치 조직에서 충밀도 측정 결과 약욕 후 3일 동안 대조군에 비해 감소가 나타났다. 따라

서 수산용 과산화수소는 스쿠티카충의 초기 구제 효과가 유효한 것으로 확인하였다.

사 사

본 연구비는 (주)참신약품 연구비지원으로 수행되었습니다.

References

- Bae MJ, Im EY, Kim HY and Jung SJ.: The effect of temperature to scuticociliatida *Miamiensis avidus* proliferation, and to mortality of infected olive flounder *Paralichthys olivaceus*. J. Fish Pathol. 22: 97-105, 2009.
- Choe MK and Yeo IK.: Effects of the different hydrogen peroxide treatment level on physiological and biochemical responses of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). J. Fish Pathol. 20: 269-279, 2007.
- Choi SD, Kim JM, Kim SY, Jo YC, Choi KK and Yang HC.: Study on distribution and extermination of scuticociliatids parasitizing to Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* in southern Korea. J. Fish Pathol. 10: 21-29, 1997.
- Dykova I and Figueras A.: Histopathological changes in turbot *Scophthalmus maximus* due to a histophagous ciliate. Dis. Aquat. Org. 18: 5-9, 1994.
- Iglesias R, Paramá A, Álvarez MF, Leiro J and Sanmartín ML.: Antiprotozoals effective *in vitro* against the scuticociliate fish pathogen *Philasterides dicentrarchi*. Dis. Aquat. Org. 49: 191-197, 2002.
- Iglesias R, Paramá A, Alvarez MF, Leiro J, Aja C and Sanmartín ML. *In vitro* growth requirements for the fish pathogen *Philasterides dicentrarchi* (Ciliophora, Scuticociliatida). Vet. Parasitol. 111: 19-30, 2003.
- Jee BY and Jo MR.: Trials for the control of scuticociliatosis in the cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) by bath treatment. J. Fish Pathol. 15: 93-97, 2002.
- Jee BY, Kim YC and Park MS.: Morphology and biology of parasite responsible for scuticociliatosis of cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Dis. Aquat. Org. 47: 49-55, 2001.
- Jeong DH, Shin JS, Shin KS, Kim JH, Kim YS and Rhew DH.: A Study on the Determination of Formaldehyde Effluent Limitation in the Industrial Wastewater. J. Env. Impact Assess. 22: 203-217, 2013.
- Jin CN, Kang HS, Lee CH, Lee YD, Lee JH and Heo MS.: Biological Characteristics of Scuticociliate, *Philasterides dicentrarchi* Isolated from Cultured Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*. J. Aquacul. 20: 106-113, 2007.
- Jung SJ, Kitamura SI, Song JY, Joung IY and Oh MJ.: Complete small subunit rRNA gene sequence of the scuticociliate *Miamiensis avidus* pathogenic to olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Dis. Aquat. Org. 64: 159-162, 2005.
- Jung SJ, Kitamura SI, Song JY and Oh MJ.: *Miamiensis avidus* (Ciliophora: Scuticociliatida) causes systemic infection of olive flounder *Paralichthys olivaceus* and is a senior synonym of *Philasterides dicentrarchi*. Dis. Aquat. Org. 73: 227-234, 2007.
- Kang JS: Guide Book for Aquacultural drug use, pp. 103, National Institute of Fisheries Science, Busan, 2016.
- Kang SY, Lee SY, Choi JH and Jung SJ.: *In vitro* Anti-bacterial and Anti-scuticociliate Activities of Extract and Bromophenols of the Marine Red Alga *Polysiphonia morrowii* with Structure-activity Relationships. Kor. J. Fish. Aquat. Sci. 47: 45-51, 2014.
- Kierner MCB, Black KD.: The effects of hydrogen peroxide on gill tissues of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Aquacul. 153: 181-189, 1997.
- Kim SM, Cho JB, Kim SK, Nam YK and Kim KH.: Occurrence of Scuticociliatosis in olive flounder *Paralichthys olivaceus* by *Philasterides dicentrarchi* (Ciliophora: Scuticociliatida). Dis. Aquat. Org. 62: 233-238, 2004a.
- Kim SM, Cho JB, Lee EH, Kwon SR, Kim SK, Nam YK and Kim KH.: *Pseudocohnilemdus persalinus* (Ciliophora: Scuticociliatida) is an additional species causing Scuticociliatosis in olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Dis. Aquat. Org. 62: 239-244, 2004b.
- Lee JH, Kim JW, Shin YK, Park KI and Park KH.: Biochemical changes and drug residues in ascidian *Halocynthia roretzi* after formalin-hydrogen peroxide treatment regimen designed against soft tunic syndrome. Fisheries and Aquatic Sci. 20: 1-12, 2017.
- Lee NS, Park JH, Han KS and Huh MD.: Histopathological changes in fingerlings of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, with severe scuticociliatosis. J. Fish Pathol. 7: 151-160, 1994.
- Montgomery-Brock D, Weidenbach RP, Weidenbach EP, Knickerbocker CJ, McNaulty G and Koch JA.: 2013.

- Testing the efficacy of a long-term/low-dose hydrogen peroxide treatment on commonly observed ectoparasites of commercially raised freshwater fish in Hawaii. CTSA (Center for Tropical and Subtropical Aquaculture) Regional Notes. 15: 4-6, 2004.
- Munday BL, O'Donoghue PJ, Watts M, Rough K and Hawkesford.: Fetal encephalitis due to the scuticociliate *Uronema nigricans* in sea-caged, southern bluefin tuna *Thunnus maccoyii*. Dis. Aquat. Org. 30: 17-25, 1997.
- Novotny MJ, Cawthorn RJ and Despres B.: *In vitro* effects of chemotherapeutants on the lobster parasite *Anophryoides haemophila*. Dis. Aquat. Org. 24: 233-237, 1996.
- Park KH: Attenuation Effects of *N*-acetylcysteine (NAC) against Fish Parasiticide-induced Toxicity in Carp *Cyprinus carpio*. Kor. J. Fish Aquat. Sci. 44: 484-489, 2011.
- Park KH: Principles and Uses of Aquacultural Drugs, pp. 80-81, Bioscience, Seoul, 2013.
- Rach JJ, Gaikowski MP and Ramsay RT.: Efficacy of hydrogen peroxide to control parasitic infestations on hatchery reared fish. J. of Aquat. Ani. Healt. 12: 267-273, 2000.
- Rach JJ, Redman S, Bast D and Gaikowski MP.: Efficacy of hydrogen peroxide versus formalin treatments to control mortality associated with saprolegniasis on lake trout eggs. North American J. Aquac. 67: 148-154, 2005.
- Schmidt LJ, Gaikowski MP and Gingerich WH.: Environmental assessment for the use of hydrogen peroxide in aquaculture for treating external fungal and bacterial diseases of cultured fish and fish eggs. USGS Report pp. 12, 2006.
- Song JY, Kitamura SI, Oh MJ, Kang HS, Lee JH, Tanaka SJ and Jung SJ.: Pathogenicity of *Miamiensis avidus* (syn. *Philasterides dicentrarchi*), *Pseudocohnilembus persalinus*, *Pseudocohnilembus hargisi* and *Uronema marinum* (Ciliophora, Scuticociliatida). Dis. Aquat. Org. 83: 133-143, 2009.

Manuscript Received : Oct 27, 2017

Revised : Nov 14, 2017

Accepted : Nov 14, 2017