

H-1

양식 넙치, *Paralichthys olivaceus*에 대량폐사를 유발하는 VHSV (viral hemorrhagic septicemia virus)의 감염 특성

김수미, 흥미주, *이재일, 박수일
부경대학교 어병학과 · *포항지방해양수산청

서론

Viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV)는 담수에서 양식하는 연어과 어류 뿐만 아니라 해수 양식 무지개송어와 터봇 및 다양한 야생 해수 어류에서도 질병을 야기하는 담·해수 어류 공통의 병원성 바이러스이다. 우리 나라의 경우, 현재까지는 VHSV에 대한 보고가 전무하지만 가까운 일본의 경우, 1999년 일본 연안 해수 어종에 대한 바이러스역학 조사를 통하여 야생 넙치에서 VHSV가 검출된 바 있다 (Takano et al., 2000). 이어 VHSV가 양식 넙치에도 질병을 일으킨다는 보고(Tadashi et al., 2001)도 있으므로 VHSV에 의한 질병이 우리나라에서도 발생할 가능성이 매우 높을 것으로 생각된다. 또한 VHS는 'OIE notifiable disease'로 규정되어 있어서 (OIE, 2001) 수산물 유통시 검역대상이 되는 질병이므로 국내에서도 그에 대한 철저한 관리가 절실하다.

최근 우리나라 경북 포항 일원의 넙치 양식장에서 VHSV의 감염으로 추정되는 대량폐사 현상이 발생하여 그 원인 병원체를 조사하고 분리 병원체의 병리조직학적 성상, 세포 배양성상, 유전자 분석 및 병원성 조사를 실시하였다. 본 연구에서는 우리나라 양식 넙치에서 분리 동정된 VHSV의 성상과 감염 특성을 밝혔다.

재료 및 방법

- ① 시험어 : 경북 포항일원 넙치 양식장 총 4개소에서 2001년 12월~2002년 3월에 걸쳐 시험어를 채집하였다. 검사시료 넙치의 크기는 평균전장 10cm, 평균전중 12g이었으며, 이때 사육수온은 10~15°C 범위였다.
- ② 병리조직학적 조사 : 병어의 각 내부장기를 광학 및 전자현미경으로 관찰하였다.
- ③ 바이러스의 배양 성상조사 : EPC, FHM, CHSE-214, RTG-2 cell lines에 병어 조직마쇄액의 여과액을 접종하고 15°C에서 7일간 배양·관찰하였다. 감수성 조사에서 선정된 EPC cell line에 바이러스를 접종하고 10, 15, 20, 25°C에서 7일간 배양하면서 바

이러스의 온도별 감수성조사를 실시하였다.

- ④ 바이러스의 유전자 분석 및 진단 : 감염어 및 정상어의 내부장기를 대상으로 VHSV G protein gene에서 design한 primer set로 RT-PCR하여 바이러스의 감염 여부를 확인하고 유전자 증폭산물을 cloning하여 바이러스의 유전자를 분석하였다.
- ⑤ 바이러스의 병원성 시험 : 건강한 넙치(전장 8cm)에 EPC에서 배양한 바이러스액 0.1 mL ($10^{6.3} \text{ TCID50 mL}^{-1}$)을 10마리씩 복강주사하고 $12 \pm 1^\circ\text{C}$ 와 $17 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 30일간 사육하면서 누적폐사율을 조사하였다.

결과 및 요약

병어는 체색흑화, 복수, 탈장 및 간 출혈 등의 병변을 나타내었으며 심장, 비장 및 신장 조직에서는 rhabdovirus 형태의 바이러스입자가 관찰되었다. 병리조직학적 관찰 결과, 심장근육조직과 비장 조직의 광범위한 괴사가 특징적이었고 이러한 결과는 Tadashi *et al.* (2001)이 보고한 VHSV에 감염된 양식 넙치의 병리학적 소견과 일치하였다. 세포 감수성 시험에서는 EPC와 FHM에서 높은 감수성을 나타내었다. 온도별 바이러스 증식 시험에서는 20°C 에서 증식속도가 가장 빨랐으나 바이러스 역가는 15°C 에서 가장 높았다. 그러나, 25°C 이상에서는 바이러스의 증식이 확인되지 않았다. VHSV 특이 primer로 RT-PCR을 실시한 결과, 대부분의 장기에서 바이러스 양성반응이 나타났고 그 유전자 배열을 분석한 결과, GenBank 등재번호 AB060725 (Nishizawa, 2001) gene 및 U28747 (Benmansour, 1995) gene과 98% 이상의 높은 상동성을 보였다. 바이러스의 인위감염 시험 결과, 15°C 이하의 사육수온에서는 복강 주사 후 7일째에 90% 이상 누적폐사하였고 폐사한 어류는 자연감염어와 같은 복수저류에 의한 복부팽만과 간 출혈 등의 증상을 보였다. 이에 비해 15°C 이상의 수온에서는 감염 후 14일째까지 10% 이하의 누적폐사율을 보였다.

이상의 결과에서, 저수온기 양식넙치에 대량폐사를 유발하는 병원체가 VHSV임을 알 수 있었고 이 바이러스는 cell lines, 감염 온도 및 병리학적 증상에서 특징적인 감염 성상이 있다는 것을 밝혔다.

참고문헌

- Office International des Epizooties (2001). International Aquatic animal health code and diagnostic manual for aquatic animal disease. OIE, Paris.
- Tadashi I, T. Nishizawa, T. Kobayashi, T. Nagano, T. Miyazaki (2001). An outbreak of VHSV (viral haemoragic septicemia) infection in farmed Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in Japan. Dis Aquat Org., 47: 87-99.
- Takano R, T. Nishizawa, M. Arimoto and K. Muroga (2000). Isolation of viral haemoragic septicemia (VHSV) from wild Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol., 20: 186-193.