F-2

RT-PCR에 의한 낚시터 어류의 잉어봄바이러스(SVCV) 진단

조미영 · 김명석 · 도정완 · 박명애
국립수산과학원 병리연구팀

서론

잉어봄바이러스병(Spring viremia of carp)은 *Rhabdovirus carpio*(또는 SVCV)의 감염으로 인한 잉어류의 급성전염성질병으로서 영국, 프랑스, 독일, 러시아, 북아메리카 등의 광범위한 지역에서 보고되고 있다(Fijan et al., 1971 ; Neukirch & Kunz, 2001 ; Goodwin, 2002).

특히, SVC는 겨울철 수온이 낮은 유럽국가에서 심각한 피해를 야기시키고 있는데, 우리나라에서도 최근 수산물의 수입이 증가하면서 2002년도에 낚시터 방류용으로 수입된 어류에서 SVCV가 수차례 검출되는 사례가 발생하였다.

본 연구는 국내 유입 우려가 있는 외래 악성전염병에 대한 방역대책을 수립하기 위한 기초자료를 마련하고자 국내 낚시터 방류 어류를 대상으로 RT-PCR을 실시하여 SVCV에 대한 감염 실태를 조사하였다.

재료 및 방법

2002년 5월부터 2003년 4월까지 총 3회에 걸쳐 전국의 낚시터 65개소를 대상으로 SVCV에 대한 감염 실태조사를 실시하였다. 조사 대상 어종은 붕어, 잉어, 이스라엘 잉어로 간, 비장, 신장 및 뇌를 적출하여 드라이아이스에 보관 후 실험실로 수송, 실험 때까지 -70℃ 이하에서 보관하였다. 시료의 조직에서 Trizol을 사용하여 RNA를 분리하고, RT-PCR을 위한 primer는 SVCV의 full sequence로부터 디자인하여 사용하였다. PCR amplification은 predenaturation(94℃, 30sec.) 1cycle, anealing(55℃, 30sec.), elongation(72℃, 30sec.), denaturation(94℃, 30sec) 등의 30cycles을 실시하였으며, nested PCR은 동일한 primer set과 amplification condition 하에서 실시하였다. 증폭된 PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 492bp에서 나타난 band를 SVCV로 판정하였다. 또한 검사시료의 조직을 마쇄하여 EPC 및 FHM cell line에 접종하여 20℃에서 배양하면서 2주동안 CPE를 관찰하고, 건강한 잉어의 복강에 주사한 후 병원성의 발현 유무를 조사하였다.

결과 및 요약

2002년부터 2003년까지 2개년에 걸쳐 낚시터 방류용 어류를 대상으로 RT-PCR을 실시하여 SVCV의 감염여부를 조사한 결과 SVCV와 동일한 band가 나타난 시료는 없었다. 그러나 PCR 산물을 이용한 nested PCR 결과, 2002년 5월에 채집한 잉어의 경우 100%(28/28), 붕어는 31.5%(12/38)가 검출되었으며, 2003년 2월에는 잉어 33%(6/18), 붕어 2%(1/52), 4월에는 잉어 43%(6/14), 붕어 6.1%(3/49), 기타 66.6%(2/3)에서 SVCV와 동일한 band가 검출되었다. Nested PCR에서 SVCV와 동일한 band를 나타낸 시료의 전기영동 산물의 sequencing 결과 SVCV임이 확인되었으나, 이들 시료의 세포배양 및 인위감염에서는 병원성이 확인되지 않았다.

참고문헌

Fijan, N., Z. Petrinec, D. Sulimanovic and L. O. Zwillenberg : Isolation of viral causative agent from the acute form of infectious dropsy of carp. Vet. Arh., 41: 125-138, 1971.

Goodwin, A. E. : First report of spring viremia of carp virus(SVCV) in North America. J. Aquat. Anim. Health, 14(3): 161-164, 2002.

Neukirch, M. and U. Kunz : Isolation and preliminary characterization of several viruses from koi(*Cyprinus carpio)* suffering gill necrosis and mortality. Bull. Eur. Assoc. Fish. Pathol., 21(4): 125-135, 2001.