

보리새우류(대하)의 전염성 Lymphoid organ 괴사 바이러스 감염에 대한 병리학적 연구

박 재 학 · 이 영 순

서울대학교 수의과대학
(1996년 10월 20일 접수)

Pathological study of a infectious lymphoid organ necrosis virus infection in penaeid shrimp (*Penaeus orientalis*)

Jae-hak Park, Yong-soon Lee

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

(Received Oct 20, 1996)

Abstract : Since 1993, sudden and massive death has occurred among penaeid shrimp, *Penaeus orientalis* cultured in Korea. We investigated the pathological characterizations on the spontaneously and experimentally infected penaeid shrimp. The major gross findings of the spontaneous cases were 2-6mm sized-white spots on the inside of the carapace and reddish discolorization. Histopathologically, massive necrosis of lymphoid organ, degeneration and necrosis of epithelia of epidermis and foregut were observed in both spontaneous and experimental cases. Amphophilic to basophilic intranuclear inclusion bodies were readily observed epithelia of epidermis, foregut and gills. Electron microscopy revealed enveloped, non-occluded ellipsoid to rod shaped virus particles, within the nucleus, in the lymphoid organs and interstitial cells of hepatopancreas of both spontaneously and experimentally infected shrimps. The size of the virion was 375×167 nm, and the nucleocapsid was 290×75 nm. The causative agent causing massive death in penaeid shrimps in Korea resembles baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) occurred in Taiwan in virus morphology and gross and histological changes of the shrimps.

국내양식보리새우류인 대하(*Penaeus orientalis*)의 대량 폐사가 1993년부터 발생해오고 있다. 그러나 현재까지 본질병의 정확한 진단법과 원인체 등이 확인되지 않고 있어서 피해상황 등이 정확히 밝혀져 있지 않다. 본 연구는 대량폐사를 보이며 급성으로 경과하는 양식대하의

새로운 질병에 대하여 폐사된 새우의 병리학적인 특징 및 원인체를 밝혀내고자 수행하였다.

공시재료는 1996년 8월과 9월에 충청남도 태안군 소재의 대하양식장 2개소(이하 태안A와 태안B로 구분)와 경기도 강화의 1개소 양식장, 합 3개 양식장으로부터 채

Address reprint requests Dr. Jae Hak PARK, Laboratory of Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon, 441-744, Korea.

포하였다. 3개소 양식장에서 발생한 양식대하의 대량폐사의 특징은 새우가 죽기 시작하여 3-4일만에 호지내의 거의 모든 새우가 폐사하는 급성경과를 보였다. 병에 이환된 새우는 호지의 주변부에서 정지된 상태로 있었으며 수면 가까이로 유평하는 개체도 관찰되었다. 호지 주변부의 살아 있는 새우를 손으로 포획하여 광학 및 전자현미경 재료로 공시하였다. 이환되었거나 폐사한 개체로부터 관찰된 새우의 육안적 소견은 두흉부 갑피에 2-6mm 크기의 백색반점 출현 및 체색의 적변이 특징이었다 (Fig 1). 그 이외의 간체장을 포함하는 내부장기의 특징적인 육안소견은 관찰 할 수 없었다.

새우를 조직학적으로 관찰하기 위하여 간체장에 근접한 두흉부의 근육을 절개하여 Davidson 고정액에 1주일간 처리하였다. 고정후 두흉부를 액각의 기시부로부터 갑각의 후단까지 4등분으로 횡절한 후 파라핀포매하여 H-E염색을 실시하였다.

이환된 새우의 조직학적 특징은 lymphoid organ, 표피의 상피세포, 아가미 상피세포, 전장의 상피세포에서 특징적으로 관찰되었다. Lymphoid organ에서는 기질세포의 괴사가 고도로 진행되었으며 tubule을 구성하는 상피세포에서도 괴사가 진행되어 tubules의 구조가 파괴되었다 (Fig 2). 표피의 상피는 변성괴사되어 있었으며, 핵내에는 구형의 양염성 내지는 호염성의 핵내 봉입체가 다수 관찰되었다. 핵내봉입체가 형성된 핵은 주변부에 공동을 형성하였고 핵질은 주변부로 밀려있었다. 핵내봉입체를 보이는 세포의 세포질에는 호염성의 미세한 과립이 세포질내에 산재하고 있었으며, 변성된 세포는 세포질이 과립화되어 있었다. 갑피에는 cellular debris가 부착한 부분도 관찰되었다. 핵내 봉입체는 아가미의 상피세포 및 전장의 상피세포에서도 다수 관찰되었다 (Fig 3). 변성 및 괴사된 조직에는 특이 할 만한 혈구세포의 침윤은 관찰되지 않았다. 간체장의 상피세포의 변화는 관찰되지 않았다. 간체장의 간질조직을 구성하는 세포의 핵내 양염성의 봉입체가 관찰되었다.

한편, 실험적으로 본 질병을 유발시키고자 감염실험을 수행하였다. 태안B로부터 채포한 감염된 새우 5마리(총체장:액각의 전단부에서 미절후단부의 길이:11.5cm)를 태안A로부터 그물로 채포한 정상새우 37(총체장 7.5cm) 마리중 27마리와 동거시켰다. 나머지 10마리는 대조군으로 관찰하기위하여 다른 수조에서 사육하였다. 사육수로는 태안A에서 채포한 새우를 양식하던 사육수를 이용하

였고, 87×52×30cm 크기의 아크릴로 만든 수조에 5cm두께로 모래를 바닥에 깔고 산소공급기를 장착하였다. 사료는 신선사료를 사용하였고 실험은 실온에서 수행하였으며 온도는 25-28도였다. 감염된 새우는 동거후 36시간부터 65시간에 걸쳐 폐사 또는 폐사직전의 상태에서 병리조직학적 및 전현 재료로 공시하였다. 한편 동거시키지 않은 정상새우 10마리는 실험이 종료될 때까지 폐사한 개체가 없었다. 동거감염된 새우는 S자형의 유평, 횡전, 섭이불량, 활력소실을 보였으며, 손으로 건드려도 움직이지 않았다. 병리조직학적 소견은 자연발생폐와 동일하였다.

본병의 원인체를 찾고자 감염된 새우의 간체장을 4°C에서 2.5% glutaraldehyde에 4-5시간 및 osmium tetroxide 100분 고정한 후 Epon에 포매하였다. 한편 Lymphoid organ을 전현으로 관찰하고자 HE염색된 조직절편을 Epon에 포매하여 초박절편하여 관찰하였다. 간체장조직에서는 간질세포의 핵내에서 바이러스의 입자가 관찰되었다. 바이러스는 방추형 또는 rod형태로 관찰 되었으며 virion의 크기는 375×167nm, nucleocapsid의 크기는 290×75nm로 나타났다 (Fig 4). Lymphoid organ에서도 많은 세포의 핵내에서 바이러스입자가 확인되었다.

보리새우류에서 rod 형태를 취하는 바이러스에 의한 질병은 Baculovirus penaei¹, Monodon baculovirus disease², Baculoviral mid-gut gland necrosis³, Yellow head virus infection⁴ 등이 알려져 있는데 Yellow head virus를 제외하고는 모두 간체장을 표적기관으로하는 질병이다. Yellow head virus는 lymphoid organ에서 고도의 괴사를 보이며 치사율도 높지만, 바이러스는 세포질내에 존재하며 핵산은 RNA임이 밝혀졌다.

한편 1993년부터 갑피내면에 흰색반점의 형성을 특징으로 하며 보리새우류의 대량폐사를 일으키는 새로운 질병이 대만, 일본, 타이에서 발생하였다. 일본에서는 보리새우(Penaeus japonica)에 발생하여 새우 양식에 큰 피해를 주었다. 전자현미경으로 Non-occluded bacilliform virus를 lymphoid organ에서 확인하여 rod-shaped nuclear virus of P. japonica (RV-PJ)라는 가칭의 바이러스명으로 불렀다^{5,6}. 타이에서는 원통형 또는 타원형의 바이러스를 전자현미경으로 확인하였으며 병변의 특징을 따라서 systemic ectodermal and mesodermal baculovirus (SEMBV)⁷라고 하였다. 이 바이러스는 P. monodon, P. orientalis, P. merguensis, P. indicus, P. vannamei, P. japonica 등에도 감

염하는 것으로 알려져있다⁸. 대만에서도 SEMBV에 의한 감염과 유사한 질병을 보고하였는데 갑피의 백색반점을 특징으로하여 baculovirus associated-white spot syndrome (WSBV)라고 불렀다⁹. 바이러스는 방추형 또는 간상으로 크기는 70-150×250-380nm였으며 double-stranded DNA 바이러스로 핵산의 크기는 150kbp라고 확인하였다. 본

연구에서 관찰한 국내 양식 대하에 있어서 급성폐사의 임상증상과 조직병리학적인 소견 및 바이러스의 형태와 크기는 대만에서 보고된 WSBV와 가장 일치하였다. 본 질병의 방역대책을 수립하기 위하여 유전자 해석을 통한 바이러스의 동정과 신속진단법의 개발이 요망된다.

Legends for figures

Fig 1. White spots are seen on the inside of the caraface of the diseased *Penaeus orientalis*.

Fig 2. Massive necrosis of stromal matrix cells and tubular cells is seen. HE stain × 400

Fig 3. Amphophilic to basophilic intranuclear inclusions bodies are seen epithelia of stomach. HE stain × 400

Fig 4. An electron micrograph of interstitial cells in hepatopancreas. Enveloped virus particles are seen within a nucleus. × 60,000





참 고 문 헌

1. Couch JA. An enzootic nuclear polyhedrosis enhancement. *J Invertebr Pathol*, 24:311-331, 1974.
2. Lightner DV, Redman RM, Bell TA. Observations on the geographic distribution, pathogenesis and morphology of the baculovirus from *Penaeus monodon* Fabricius. *Aquaculture*, 32:209-233, 1983.
3. Sano TT, Nishimura K, Oguma K, *et al.* Baculovirus infection of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus* in Japan. *Fish Pathol*, 15:185-191, 1981.
4. Boonyaratpalin SK, Supamattaya J, Kasornchandra S, *et al.* Non-occluded baculo-like virus, the causative agent of yellow head disease in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Fish Pathol*, 28: 103-109, 1993.
5. Inouye K, Miwa S, Oseko N, *et al.* Mass mortality of cultured kuruma shrimp *Penaeus japonicus* in Japan in 1993: electron microscopic evidence of the causative virus. *Fish Pathol*, 29: 149-158, 1994.
6. Momoyama K, Hiraoka M, Inouye K, *et al.* Diagnostic techniques of the rod-shaped nuclear virus infection in kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*. *Fish Pathol*, 30: 263-269. 1995.
7. Wonfteerasupaya C, Vickers JE, Sriurairatana S, *et al.* A non-occluded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. *Dis Aquat Org*, 21: 69-77.
8. Asian Shrimp Culture Council. Mass mortality caused by systemic bacilliform virus in cultured penaeid shrimp, *Penaeus monodon*, in Thailand. *Asian Shrimp News*, 21:2-4, 1995.
9. Wang CH, Lo CF, Leu JH, *et al.* Purification and genomic analysis of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) of *Penaeus monodon*. *Dis Aquat Org*, 23: 239-242, 1995.