

최근 (1999~2002년) 넙치 양식장에서 발생한 바이러스성 질병의 현황



오명주 교수
 여수대학교 수산생명의학과
 TEL) 061-659-3173
 E-mail) ohmj@yosu.ac.kr

한국 양식 산업의 주요한 대상 어종인 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)의 양식 생산량은 2000년 14,127ton, 2001년 16,420ton으로 해산어류양식의 60% 이상을 차지하고 있다. 타 어종과 마찬가지로 넙치도 그 생산 손실분에 있어 질병으로 인한 폐사가 상당한 부분을 차지하고 있으며 특히 바이러스성 질병으로 인한 폐사율은 연간 약 15% 이상에 이를 것으로 추정된다. 바이러스성 질병은 주로 종묘생산 단계 및 중간양성 단계에 있어 심각한 피해를 주고 있으며 이로 인한 생산량 감소 및 상품성의 저하는 심각한 문제로 대두되고 있는 실정이다.

수계의 바이러스는 일반적으로 세균보다 적은 수로 수중에 분포하지만 세균에 비하여 환경에서 오래 생존할 수 있고, 저농도의 염소처리와 같은 소독처리에 의해서도 제거되지 않을 가능성이 높으며, 적은 수로도 감염의 가능성이 높아 수계 바이러스에 의한 오염을 파악하기 위한 연구의 필요성이 제시되고 있다. 또한 그 치료대책은 전무한 실정이어서 특히 치어기때 한번 발병되면 대량폐사로 이어지는 경우가 대부분이다. 아울러 바이러스성 질병을 겪은 생잔어는 대개 바이러스

보유어로 남아 계속적으로 문제시 될 수 있는 보균체로서 작용할 수 있음을 보고하고 있어 바이러스 질병에 의한 피해는 지속적으로 증가할 수 있음을 예시하여 주고 있다.

넙치의 종묘생산 단계와 양성 단계에서 발생하는 바이러스성 질병으로는 nodavirus에 의한 nervous necrosis virus (NNV), herpesvirus에 의한 flounder herpesvirus (FHV) 등이 종묘생산 단계에 빈번히 발생한다고 알려져 있으며, 양성 단계에서는 hirame rhabdovirus (HRV) 감염증, iridovirus에 의한 lymphocystis disease virus (LCDV), 종묘생산 단계와 양성 단계에 걸쳐서 나타나는 marine birnavirus (MABV) 감염증 등이 있다. 우리나라에서도 marine birnavirus 감염증을 비롯하여 viral nervous necrosis, hirame rhabdovirus 감염증, flounder herpesvirus (FHV), lymphocystis 등의 바이러스성 질병이 보고되었으며 실제 양식현장에서 이들 바이러스성 질병에 의한 폐사가 빈번하며 확산 일로를 걷고 있어 앞으로의 대책 수립이 시급한 실정이다.

한편 바이러스성 질병의 특성상 치료대책 부족과 현실적인 양식현장의 여건을 고려할 때 발병

이후의 대책수립은 어렵다 할 수 있어, 이들 바이러스성 질병에 대한 예방학적 차원의 접근방법은 대단히 중요하다고 볼 수 있다.

현재 우리나라 넙치 양식 현장에서 발생하는 바이러스성 질병의 발병 예와 바이러스 특성에 대한 많은 보고가 나오고 있으나 이들 질병에 대한 발병 시기 및 발병 분포를 고려한 역학적인 연구는 아직 부족한 실정이며, 이로 인한 방역학적 접근 또한 당장은 어려운 것이 현실이다. 본 글을 통하여 최근 수년간 우리나라 전지역의 넙치 종묘 생산장과 양성장에서 발생하고 있는 바이러스성 질병의 종류와 특성을 조사한 본 연구실의 결과를 정리·소개함으로써, 이들 바이러스성 질병 발생의 지역 및 시기적인 특이성을 바탕으로 한 적극적이면서도 전면적인 국내 양식어 질병에 대한 역학조사의 필요성을 제안하고자 한다.

본 연구실에서 1999년에서 2002년에 걸쳐, 우리나라 전연안의 종묘생산장 및 양성장에서 채집한 넙치 자치어 및 성어에 대한 바이러스성 질병 진단의 결과, 바이러스성 신경괴사증, 상피증생증, 해양바나바이러스 감염증, 히라메렙도바이러스 감염증, 림포시스티스증의 5종의 바이러스성 질병이 확인되었다. 이들 내용을 간단히 정리하면 다음과 같다.

1. 바이러스성 신경괴사증

병어는 수표면을 힘없이 떠다니면서 먹이를 잘 먹지 않고, 회전 및 선회운동을 하면서 죽었다. 이와 같은 이상 행동이 관찰된 후 1~2주일 만에 대량폐사로 연결되었다. 각 종묘장마다 거의 모든 개체가 폐사하는 등 누적폐사율은 90%이상으로 높게 나타났다. 외관상 척추만곡과 체색흑화

와 같은 증상을 나타내기도 하며 해부 결과 뇌출혈이 관찰되었다. 폐사한 개체의 조직을 보면 뇌의 대뇌, 소뇌, 연수 및 뇌실 주변부에서 커다랗고 둥근 형태의 빈 공간(공포)이 많았다. 이러한 공포는 눈의 망막과 척수에서도 관찰되었다. 뇌에는 염증성 세포로 보이는 세포가 모여들어 있었다. 중추신경조직이나 망막조직의 신경세포가 괴사 및 붕괴돼 큰 공포가 형성된 조직을 초박질편하여 전자현미경 관찰 결과, 감염 세포의 세포질 및 세포막에 구형의 작은 바이러스 입자가 고밀도로 존재하는 것이 확인되었다. 감염어체의 뇌, 안구, 신장과 비장을 통해 제작된 바이러스 샘플에서 RNA를 추출한 다음, NNV 검출을 위한 primer set을 사용하여 RT-PCR을 행하였다. 여기서 얻어진 PCR 산물을 1.5% agarose gel에서 확인한 결과, 약 400bp에서 특이 밴드를 확인할 수 있었다.

넙치의 NNV는 일령 40일 전후의 착저 전후기 종묘에서 나타났는데, 대체적으로 병어는 수표면을 떠다니며 먹이를 잘 먹지 않고, 회전 및 선회운동을 하면서 1~2주일 만에 대량 폐사하였다. 1999년 1월에 서해안 지역에서, 2000년 2월, 4월, 11월에 각각 남해안 지역 및 제주지역에서 발병하여 2000년 넙치 종묘생산량에 큰 생산량의 감소를 가져왔고, 2001년 2월에는 서해안지역과 남동해안지역의 종묘장에서 발병하였고, 2002년 3월에 남해안에서 발병함으로써 같은 시기에 같은 지역, 같은 장소에서 주기적으로 반복되었다.

2. 상피증생증

바이러스성 상피증생증의 주요 감염시기는 부화 후 10일에서 30일 사이였다. 감염에 의한

폐사가 일어나는 어체 크기는 7~10mm의 부화 자어였지만, 45일이 경과된 어체에서도 종종 발병하였다. 감염어의 외부 증상은 지느러미 및 체표가 불투명하게 변하고, 특히 지느러미 끝부분이 말려들어 가는 듯 하였다. 발병되는 일령을 보면 부화 후 10일령에서 25일령의 자어에 주로 일어났다. 감염 후 진행이 빠른 것은 1주일, 늦은 것은 3주일 이내에 전멸 (100%)하였다. 현미경으로 환부를 관찰하면 정상세포보다 몇 배 이상 비대한 공 모양의 상피세포가 덩어리를 이루고 있는 것이 다수 관찰되었고, 상피세포의 이상 증식을 특징적으로 나타내었다. 기타 기관에서의 뚜렷한 해부학적 및 조직학적 변화는 관찰되지 않았다. 감염어의 표피세포 핵과 세포질을 전자현미경으로 관찰하면 바이러스 입자가 확인되었다. 바이러스 입자의 형태는 감염세포 핵내에서는 외피 (envelope)를 지니지 않은 구형으로 관찰되었다. 성숙된 바이러스 입자의 크기는 190~230nm 범위로 나타났다.

상피증생증을 나타내는 herpesvirus의 발병은 2000년 8월과 12월에 넓은 범위의 남해안지역에서 검출되었고 2001년 3월에 동일한 범위의 남해안 지역과 추가로 서해안 일부 남부지역의 종묘장에서 분리 확인하였다. 1999년과 2002년에는 의뢰되거나 확인된 샘플은 없었다.

3. 버나바이러스감염증 (바이러스성 복수증)

종묘 생산장에서 발병한 병어의 외부증상은 두부발적, 안구돌출과 복부팽만, 체색흑화가 특징적이며, 병어는 수면을 힘없이 유영하다가 저층에 가라앉아 죽어서 쌓였다. 복부 절개에 따른 관찰에서 간의 발적, 장관내 액상물질 팽만 및 장관내벽의 출혈이 보였다. 단독감염인 경우 병어로부터

세균이 분리되지 않지만, 일반적인 종묘생산 현장의 감염어를 조사해 보면 비브리오속 세균이 혼합 감염되어 있는 상태로 확인되는 경우도 있었다. 바이러스 검사용 시료를 CHSE-214 cell에서 배양하면 배양한지 2일 전후로 세포의 구형화 및 용해를 특징으로 하는 버나바이러스 특유의 CPE가 관찰되었다. 원인 바이러스는 RNA 버나바이러스과에 속하였으며 그 크기는 전자현미경상에서 50~55nm의 구형으로 관찰되었고, 정 20면체이고 envelope을 가지고 있지 않았다. 감염 어체의 신장과 비장을 통해 제작된 바이러스 샘플의 200 μ l에서 RNA를 추출한 다음 primer set (MP1, MP2, MP3, MP4)를 사용하여 nested PCR을 행하였다. 여기서 얻어진 PCR 산물을 1.5% agarose gel에서 확인한 결과, 170bp에서 그 특이 밴드가 확인되었다.

1999년부터 2002년까지의 MABV 분리 결과를 보면 감염된 치어의 외부증상은 두부발적, 안구돌출과 복부팽만, 체색흑화가 특징적이었으며, 병어는 수면을 힘없이 유영하다 죽는 개체가 대부분이었다. 우리나라 전체 해역의 병어 샘플에서 연중에 걸쳐 발병하고 있었으며, 특징적인 것으로는 수정란에서도 검출되었고 치어와 성어에 있어서 모두 검출되었다. 성어에 있어서는 외부적인 증상이 나타나지 않은 개체도 있었다.

4. 넙치랍도바이러스감염증

병어는 체색흑화, 안구돌출, 복수, 체측근 및 지느러미 기부와 끝부분에 심한 출혈과 울혈이 생기는 것이 특징이었으며, 때로는 생식선에 출혈이 생기는 경우도 있었다. 발병시의 수온은 2~14°C 정도로 수온이 15°C 전후로 상승하면 자연 종식되는 경향을 보였다. 미리 준비한 FFN 세

포에 10배 희석열의 바이러스 검사용 시료를 접종하고 CPE의 발현을 관찰했으며, 바이러스는 7일간 배양하여 세포변성이 충분히 진행되었음을 확인한 후 2,100 ×g으로 4°C에서 20분간 원심분리하여 세포 잔유물 등을 제거하고 상층액을 밀리포어 필터 HA (0.45 μl)로 여과한 후 -80°C에서 실험 사용 때까지 보존하였다. FFN에서 HRV 특이적 세포변성효과를 확인 할 수 있었다. 감염세포를 TEM으로 관찰한 결과 탄환형 바이러스 입자를 확인할 수 있었다. 바이러스 입자의 크기는 직경이 약 70nm이었고 길이는 100~150nm로 측정되어졌다. 입자의 표면은 spike를 가진 envelop로 덮여져 있었으며 내부는 나선형구조를 가진 nucleocapsid가 관찰되어졌다.

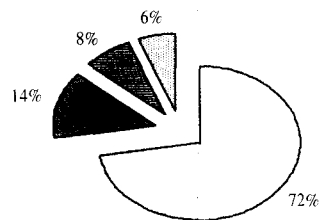
HRV는 1999년 10월부터 11월에 서해안 지역에서 2002년 4월 및 10월에 남해안 지역에서 검사 의뢰가 들어온 넙치에서 분리되어졌다.

5. 림포시스티스증

머리, 몸통, 꼬리 및 각 지느러미 표면에 림포시스티스 세포가 형성되었으며, 이 세포는 한 개씩 흩어져 있을 때도 있으나, 때로는 여러 세포가 모여서 겹쳐 있는 것처럼 보이기도 하였다. 크기가 100~500nm이며, 보통 유백색으로 관찰될 때가 많았다. 주둥이 주위로 바이러스 조직이 있는 것들은 먹이를 잘 먹지 못하였고, 기타 다른 부위에 감염된 넙치는 식욕이 떨어지거나 행동상의 활력이 약해지는 등의 현상은 거의 보이지 않았고, 또 폐사하는 경우도 드물었다. 채표나 지느러미에 형성된 물질 모양의 병소를 확인함으로써 추정 진단이 가능하였다. 감염된 부위에 현미경을 사용하면 다양한 크기로 확대된 세포를 다수 관찰 할 수 있었다. HINAE cell line에 바이러스

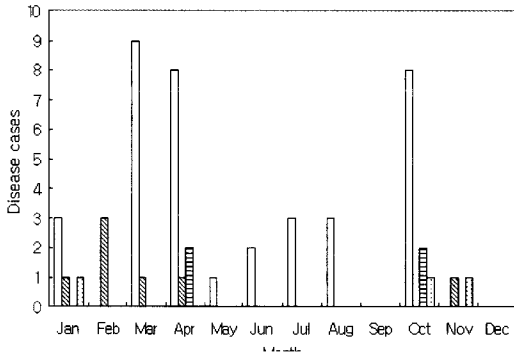
를 접종하여 CPE가 나타났다. 전자현미경 관찰에서는 거대세포의 세포질 내 다수의 바이러스입자가 관찰되었다. 바이러스입자의 직경은 160~190nm로 envelop를 가지지 않고, 중앙에 검게 염색되는 74~97nm의 코어를 가지고 있으며 세포질내에서 관찰되었다. 넙치의 림포바이러스인 LCDV는 양성장장에서 여름철 고수온기인 일부를 제외하고 연간 발생하고 있었다.

1999년부터 2002년까지의 연도별 바이러스 검출 결과를 분석해 보면 NNV는 같은 지역에서 매년 반복적으로 발생되었고, MABV는 매년 시기에 관계없이 연중 발생되고 있는 것이 확인되었다. 또한 LCDV도 시기와 연도에 관계없이 연중 발생하고 있으며, HRV와 FHV는 저수온기에 집중 발생함을 알 수 있었다. 총 바이러스 감염에 따른 발병 건수 중에서 MABV는 72%의 빈도수를 나타내어 가장 빈번하게 발병요인으로 작용하고 있음을 알 수 있었고, NNV는 14%, HRV는 8%, FHV는 6%의 발생 빈도를 나타내고 있었다 (그림 1). 4년간의 연구 결과를 월별 바이러스 감염빈도로 고찰해 보면 MABV의 경우 연중 다발하는 경향을 볼 수 있으며, NNV와



□ : MABV, ▨ : NNV, ▩ : HRV, ▣ : FHV.

그림 1. 1999년 부터 2002년 사이에 넙치 양식장에서의 발생되어진 바이러스성 질병 발병율 비교 (%).



□ : MABV, ▨ : NNV, ▩ : HRV, ■ : FHV.
 그림 2. 넙치 양식장에서의 바이러스성 질병 발생 월별 비교.

HRV, FHV의 경우에는 주로 11월에서 4월에 이르는 저수온기에 집중적으로 나타남을 알 수 있었다. 지역별 발생 현황을 보면 현재 주로 종묘를 집중적으로 생산하는 지역에서 MABV, NNV, FHV가 주로 발병하였고, 양성만을 집중적으로 하는 지역에서는 MABV와 LCDV가 주요한 감염원으로 검출되어지고 있었다 (그림 2).

이상의 결과는 바이러스성 질병 조사에 대한 양식현장의 낮은 이해도 또는 개개의 양식장의 질병 상황의 정보 유출을 꺼리는 우리나라 양식장의 오래된 관습 및 질병의 전염에 대한 인식도의 차이 등의 이유로 조사 시기 및 지역이 부정기적, 한정되어진 조사 결과에 머물 수밖에 없었던 점에서 정확한 바이러스성 질병의 역학 조사 결과로서 인정받기에는 그 한계를 가진다고 할 수 있다. 그러나 현재 넙치 생산장에서 빈번히 발생되고 있는 바이러스성 질병의 종류와 그 발생 상황을 현실적인 한계 내에서 일정기간 동안 연구하여 우리나라에서 발생하고 있는 넙치 바이러스성 질병의 전반적인 발생 상황에 대한 이해를 높일 수 있었다는 점에는 의의를 지닌다고 할 수

있겠다. 앞으로 국가적인 어류 질병방역 대책 수립 차원에서의 계획적이며 전면적인 어류 양식장의 역학조사의 실시를 기대해본다.

참 고 문 헌

Eou J. I., M.J. Oh, S. J. Jung, Y. H. Song and T. J. Choi, 2001. The protective effect of recombinant glycoprotein vaccine against HIRRV infection. *Fish Pathology*, 36, 67-72.

Kang M. S., M. J. Oh, Y. J. Kim, K. Kawai and S. J. Jung, 2003. Establishment and characterization of two new cell lines derived from flounder, *Paralichthys loivaceus* (Temminck & Schlegel). *Journal of Fish Diseases*, 26, 657-665.

Kim, S. R., S. J. Jung, Y. J. Kim, J. D. Kim, T. S. Jung, T. J. Choi, M. Yoshimizu and M. J. Oh, 2002. Phylogenic Comparison of Viral Nervous Necrosis (VNN) Viruses Occurring Seed Production Period. *J. Korean Fish. Soc.* 35(3) : 237-241.

Kim Y. J., S. J. Jung, T. J. Choi, K. V. Rajendran and M. J. Oh, 2002. PCR amplification and sequence analysis of irido-like virus infecting fishes in Korea. *Journal of Fish Diseases*, 25, 121-124.

Jung S. J. and M. J. Oh 2000. Irido-like infection associated with high mortalities of striped beakperch in southern coastal areas of the Korean peninsula. *Journal of Fish Diseases*, 23, 223-226

Jung S. J., S. Suzuki and M. J. Oh and Kawai

- Kenji. 2001. Pathogenicity of marine birnavirus against Ayu. *Fish Pathology*, 36(2), 99-101.
- Jung S. J., M. J. Oh, T. Date and S. Suzuki, 2001. Isolation of marine birnavirus from sea squirts. *The biology of Ascidians* (Springer-Verlag), 436-441
- Jung S. J. and M. J. Oh. 2002. Persistent infection of marine birnavirus and its status of infection in cells. *Journal of Fish Pathology*, 15(1), 9-16.
- Kim K. H., W.S. Kim, C. S. Kim, Y. J. Kim, S. I. Kitamura, S. J. Jung, T. S. Jung and M. J. Oh, 2004. Molecular characterization of iridovirus in cultured turbot, *Scophthalmus maximus*. *Journal of the Korean Aquaculture Society*, 17, 24-29.
- Kim Y. J., S. R. Kim, S. J. Jung and M. J. Oh, 2001. Quantitative detection of marine birnavirus (MABV) by competitive PCR. *Journal of Fish Pathology*, 14(3), 137-144.
- Kim Y. J., W. C. Choi, H. R. Kim, S. J. Jung, T. S. Jung, J.H. Kim, I. K. Yeo and M. J. Oh, 2000. Relationship between viral propagation and apoptosis after marine birnavirus infection. *Journal of Fisheries Science & Technology*, 3(1), 49-51
- Kim W. S., K. H. Kim, C. S. Kim, Y. J. Kim, S. J. Jung, T. S. Jung, S. I. Kitamura, M. Yoshimizu and M. J. Oh, 2003. The infection of irido-like virus in cultured turbot. *Journal of Fish Pathology*, 16, 153-159.
- Oh M. J. and T. J. Choi, 1998. A new rhabdovirus (HRV-like) isolated in Korea from cultured Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Pathol.* 11(2) : 129-136.
- Oh M. J., S. J. Jung and H. R. Kim, 1999. Biological and serological characteristics of birnavirus isolated from cultured Japanese flounder. *J. Fish Pathol.*, 12(1) : 56-62.
- Oh M. J., S. J. Jung and Y. J. Kim, 1999. Detection of RSIV (Red sea bream iridovirus) in the cultured marine fish by the polymerase chain reaction. *Journal of Fish Pathology*, 12(1), 66-69.
- Oh M. J., S. J. Jung and H. R. Kim, 1999. Biological and serological characteristics of birnavirus isolated from cultured olive flounder in 1999. *Journal of Fish Pathology*, 12(1), 56-62.
- Oh M. J., S. J. Jung and Y. J. Kim, 1999. Detection of birnavirus from cultured marine fish using polymerase chain reaction. *Journal of Fish Pathology*, 12(1), 49-55
- Oh, M. J., S. R. Kim, S. J. Jung, H. R. Kim, H. Y. Kim and I. K. Yeo, 2000. A simple method for the concentration of fish pathogenic virus in sea water. *J. Fish Pathol.*, 13(1) : 61-66.
- Oh M. J., S. J. Jung, Y. J. Kim, H. R. Kim, T. S. Jung and I. K. Yeo, 2000. The screening of marine birnavirus (MABV) infected in brood stocks of flounder *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Fish Pathology*, 13(1), 53-59.
- Oh M. J., S. R. Kim, S. J. Jung, K. V. Rajendran, T. J. Choi, Y. J. Kim and J. D. Kim, 2002. A fish nodavirus associated with mass mortality in

hatchery-reared red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*. 211(1-4), 1-7.

Sung H. K., Y. J. Kim, S. J. Jung, W.C. Choi, T. S. Jung, T. J. Choi and M. J. Oh, 2002. Apopto-

sis in CHSE-214 chinook salmon embryo cells infected with hirame rhabdovirus (HIRRV).

Journal of Fisheries Science & Technology, 5(1), 32-35.