

## 한국 이매패류 내 VHSV 검출 및 잠재적 위험성 분석

최재찬 · 김영철 · 최환준 · 박전오 · 정현도<sup>†</sup>

부경대학교 수산생명의학과

### Detection and Analysis of the Potential Risk of VHSV in Bivalves in Korea

Jae Chan Choi, Young Chul Kim, Hwan Jun Choi,  
Jeon Oh Park and Hyun Do Jeong<sup>†</sup>

*Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea*

VHSV is a major viral agent that affects freshwater and marine fish, causing serious economic losses in aquaculture in the world. Due to their filter-feeding activity, bivalve mollusks may act as viral transmitters after accumulation of the fish viruses released into seawater from infected fish. Amplification by RT-PCR was carried out to investigate the presence of VHSV in pacific oysters (*Crassostrea gigas*) and blue mussels (*Mytilus edulis*), inhabiting regions around aquatic farms in Korea. Primers designed from conserved regions of VHSVs allowed us to detect four different types of VHSV in a single PCR. Twenty two of the eighty four samples showed positive results of VHSV in a 2-step RT-PCR. Using six positive samples from three different regions in Korea, we cloned and sequenced the glycoprotein (G) gene (467-bp long) of VHSVs. Genetic analysis of the VHSVs detected in shellfish in various geographical areas of Korea showed highly restricted results to VHSV type Iva. This was in agreement with the reports showing only a single genotype of VHSV (Iva genotype) in outbreaks in cultured or wild fish in Korea. Consequently, we investigated VHSVs carried by bivalve mollusks inhabiting the vicinity of aquatic farms, and revealed correlation between the type of viral accumulated in shellfish by filter-feeding, and those detected in disease outbreaks in fish.

**Key words:** VHSV, Bivalves, Shellfish, Glycoprotein gene, Genotype

Viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV)는 담수 및 해수 어류에 질병을 일으켜 심각한 피해를 입히는 병원체이며(Mortensen *et al.*, 1999; Smail, 1999), 지역적으로는 유럽지역에서 최초로 분리되어 현재는 국내 뿐만 아니라 전세계적으로 분리되

고 있어 지리적 분포가 광범위한 바이러스에 속한다. 또한 VHSV는 OIE (Office international des Epizooties)에서 규정한 ‘OIE notifiable disease’로 지정되어 있어 수산물 유통 시 검역대상이 되는 질병이므로 전 세계적으로 이 질병의 발생이나 분포에 대한 관심이 매우 높다.

VHSV의 계통학적인 분류를 보면 nucleoprotein (N) gene과 glycoprotein (G) gene을 토대로 4개의

<sup>†</sup>Corresponding author: Hyun Do Jeong  
Tel: +82-51-629-5941, Fax: +82-51-629-5938  
E-mail: jeonghd@pknu.ac.kr

genotype으로 알려져 있다(Snow *et al.*, 1999). 일반적으로 알려진 분포로 genotype I, II 그리고 III는 유럽에 분포하고 있으며(Jensen *et al.*, 1979; Mortensen *et al.*, 1999; Smail 2000; Brudeseth and Evensen, 2002), IVa과 IVb는 북미지역에 많이 발생하고 있으며(Brunson *et al.*, 1989; Traxler and Kieser, 1994; Meyers and Winton, 1995; Cox and Hedrick, 2001), 우리나라와 일본은 genotype IVa가 존재한다(Kim *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2009).

현재까지는 국내의 VHSV 검출에 관한 문헌의 경우 해산어를 이용한 연구만 보고되어 있으며, 다른 수생생물에 대한 검출은 연구된 바가 거의 없다. 이때패류는 먹이섭취 과정인 filter-feeding을 통하여 다양한 종류의 바이러스를 패류 장내로 축적하는 것으로 알려져 있다. 특히 중장선(mid-gut gland)의 경우 바이러스의 축적이 가장 많이 일어나는 기관으로 알려져 있으며, 이 때문에 패류의 바이러스 축적에 관한 연구에 가장 많이 사용되고 있다(Gerba *et al.*, 1978; Goyan *et al.*, 1978; Atmar *et al.*, 1995).

국내 연구에서 VHSV 검출에 사용하고 있는 primer는 genotype IVa에 specific하게 제작되어 genotype IVa만을 검출하도록 제작된 primer를 사용하고 있다(Kim *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2009). 이러한 primer의 사용은 genotype IVa이외의 다른 genotype의 경우 검출의 한계가 따르기 마련이다. 따라서 우리나라의 어류에서 발병하지 않았지만 VHSV의 다른 genotype이 유입되었을 가능성을 배제할 수 없다. 한 예로 중국의 경우 이전에 genotype IVa만 존재한다고 보고되어 왔으나 최근 Erhai lake의 수중에서 VHSV genotype Ib (GenBank accession number, AB709906)가 검출된바 있다.

따라서 본 연구에서는 우리나라에 이미 유입된 IVa type과 함께 유입되었으나 검출되지 않고 환경중에 있을 수 있는 다른 3가지 genotype VHS 모두를 검출할 수 있는 PCR용 primer를 제작하였고, 이를 이용하여 직접적인 감염이 일어나는 넙치와 filter-feeding 섭식에 의하여 환경중의 바이러스를 축적하는 패류의 중장선 시료를 채취하여 VHSV를

검출하고 G gene의 염기서열을 분석하였다. 이를 통하여 국내에서 보고된 VHSV isolates genotype과 다른 genotype과의 상관관계를 유전학적으로 비교·검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 패류 및 어류

모니터링에 사용된 패류는 서산, 울산 그리고 통영지역에서 구입한 굴(*Crassostrea gigas*)과 담치(*Mytilus edulis*)를 사용하였다. 매 샘플링 마다 종에 상관없이 세 개체씩 분석하였다. Kim *et al.* (2011)의 방법에 따라 굴과 담치의 여과섭식의 주요기관인 중장선 50 mg을 이용하여 RNA 분리 및 2-step PCR을 시행하였다.

### PCR Primers의 제작

패류 내 축적되어 있는 다양한 genotype의 VHSV를 검출하기 위해서 새로운 primer를 제작하였다 (Table 1). 본 연구에서 제작한 primer는 genotype I, II, III 그리고 IV도 검출 가능하게 하여 기존에 우리나라에 보고된 바 없는 genotype도 검출 가능하게 하였다. 또한 패류 내에 바이러스가 미량만 존재하는 만큼 민감도를 높이기 위해 2-step PCR을 할 수 있도록 2 sets의 primer를 제작하였다(Fig. 1).

### RT-PCR 및 2-step PCR

cDNA 합성을 위하여 M-MLV reverse transcriptase 1  $\mu$ L (Promega), 5 $\times$ buffer 2  $\mu$ L, dNTP 2  $\mu$ L, Random hexamer primers 1  $\mu$ L (Promega), RNasin<sup>®</sup> Ribonuclease inhibitor (Promega) 1  $\mu$ L, extracted total RNA 1  $\mu$ L 을 넣고 total volume이 10  $\mu$ L 이 되게 Nuclease-free water을 첨가한 후, 42 $^{\circ}$ C에서 60분, 99 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시켰다. 여기서 만들어진 cDNA는 PCR 반응의 template로 사용하였다.

1-step PCR amplification은 Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler를 사용하였고 아래와 같은 방법으로 실시하였다. 10 $\times$  PCR buffer 2  $\mu$ L, 200  $\mu$ M의 각각의 dNTP, 1  $\mu$ M의 sense primer 와 1  $\mu$ M의 antisense primer (Table 1), Taq DNA polymerase

Table 1. Primers used in this study

Primers	Sequence (5' to 3')	Product size (bp)	Object	Region	Reference
GF1 GR1	cacagatcacycyaamgacc gtgatcatgkgyctyctggtg	559	1-step PCR	Glycoprotein gene	This study
GF2 GR2	gaytgggacactccrytrta caracccccctatgaartc	467	2-step PCR		
VqF VqR	tttcttggtgattctgatcatca ccgaatcggaacaaaggag	157	qPCR	Glycoprotein gene	Jee et al. (2012)
VN For VN Rev	atggaaggaggaattcgtgaagecg gcggtgaagtctgcagttccc	505	Comparison of sensitivity	Nucleoprotein gene	Snow et al. (2004)

Degenerated positions Y:C/T, M:A/C, R:G/A, K:G/T

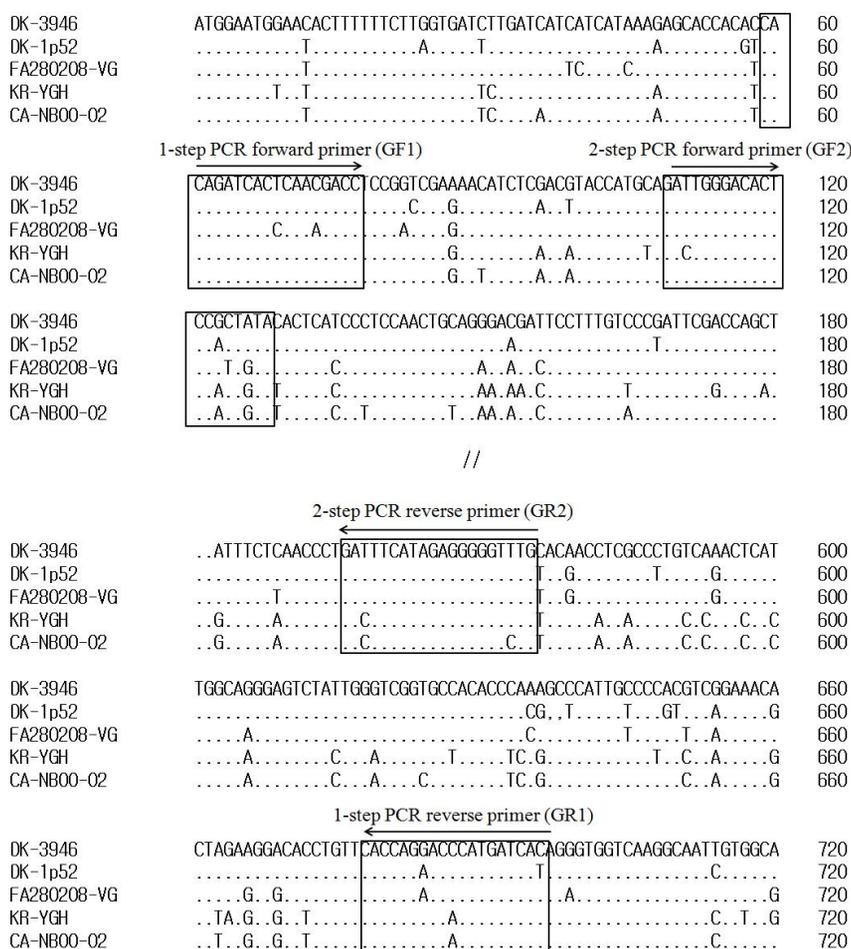


Fig. 1. The nucleotide sequence alignment of glycoprotein genes from VHSV for preparation of PCR primers. The Genbank accession numbers for the nucleotide sequences are as follows: DK-3946 (genotype I, AY546586), DK-1p52 (genotype II, AY546576), FA280208-VG (genotype III, GU121101), KR-YGH (genotype IVa, JQ651393) and CA-NB00-02 (genotype IVb, HQ168405). Four primers (SF1/R1 and SF2/R2) used for PCR are shown in boxes.

(Taq DNA polymerase, Cosmo, Korea) 및 template 1  $\mu$ L (DNA 및 cDNA)를 첨가한 후 Nuclease-free water로 최종액의 volume이 20  $\mu$ L가 되도록 했다. PCR 혼합물은 94°C에서 3분간 pre-denaturation 시킨 후, 94°C에서 30초 denaturation, 55°C에서 30초 annealing, 72°C에서 30초 extension의 반응을 30 cycle 또는 35 cycle 수행 한 후 72°C에서 7분간 post-extension 시켰다. 2-step PCR amplification은 1-step PCR의 product 1  $\mu$ L를 template로 사용하여 1-step PCR과 같은 조건에서 실시하였다.

PCR 후 증폭 산물은 1×TAE buffer (40 mM Tris-acetate, 1 mM EDTA)를 전기영동을 위한 완충액으로 하여 0.5  $\mu$ g/ $\mu$ L EtBr (Ethinium Bromide)이 첨가된 2% agarose gel (SeaKem<sup>®</sup> LE Agarose, CAM-BREX Bio Science Rockland, Inc, USA) 상에서 전기 영동한 후 UV 검출기를 이용하여 전기영동 상에서 검출되는 밴드의 길이를 관찰하여 바이러스의 검출 유무를 확인하였다.

### Primer 특이성 분석

본 연구에서 제작한 primer와 우리나라 병성감정기관에서 사용 중인 primer의 민감도 비교 실험을 실시하였다(Table 1). VHSV (genotype IVa)에 감염된 넙치의 두신에서 RNA 분리 및 cDNA 합성을 실시하였으며, 합성된 cDNA를 10-fold씩  $10^5$ 까지 단계희석 하였다. 희석한 cDNA를 template로 하여 본 연구에서 제작한 primer set (GF1/R1)와 병성감정기관에서 사용한 primer set (VN For/Rev)를 이용하여 PCR을 수행함으로써, 그 특이성을 비교하였다.

### 염기서열 분석

패류에서 확인된 VHSV의 검출이 확인된 PCR 생성물은 GeneAll<sup>®</sup> Expin Gel SV kit (GeneAll Biotechnology)를 사용하여, agarose gel로부터 각각 분리 및 정제하였으며, 정제된 DNA는 pGEM-T Easy vecotor (Promega)에 ligation 후 *Escherichia coli* (DH5a) 균주에 transformation 시켰다. 그리고 GeneAll<sup>®</sup> Plasmid SV Mini kit (GeneAll Biotechnology)를 이용하여 plasmid DNA를 분리하였다. 분리된 plasmid DNA는 Big Dye Terminator Cycle DNA

Sequencing Kit (ABI PRISM, Applied Biosystems)와 automatic sequencer를 이용하여 염기서열을 결정하였다. 분석된 염기서열은 BioEdit program (Version 7.0.6)을 이용하여 정렬하였으며, MEGA4 program (Version 4.1)를 이용하여 phylogenetic tree를 제작하였다.

### 세포배양 및 바이러스 접종

감염실험을 위해 VHSV가 검출된 패류중장선 조직과 MEM 배지를 1:10 (w/v)의 비율로 마쇄하였다. 마쇄액은 5,000 g에서 10분간 원심분리한 뒤 상등액을 0.45  $\mu$ m syringe filter를 통과시켜 바이러스액을 얻었다. 패류에서 검출된 VHSV의 viability를 확인하기 위해 VHSV에 감수성이 높다고 알려진 hirame natural embryo (HINAE) cell을 이용하였다. HINAE cell은 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco)와 1% Antibiotic-Antimycotic (Gibco)이 첨가된 Minimum Essential Eagle, HEPES Modification (MEM, Sigma) 배지에서 20°C 조건에서 배양하였다. HINAE cell을 T-25 flask (Corning)에서 80% confluency를 보일 때까지 배양한 뒤 패류의 중장선에서 획득한 바이러스 액 500  $\mu$ L로 20°C에서 30분간 흡착시킨 뒤 washing 한 후 FBS 및 항생제가 포함된 MEM 배지를 넣어주어 바이러스 감염을 확인하였다. 양성대조구로 HINAE cell에서 배양된 VHSV를 패류 조직내에 존재하는 바이러스와 유사한 농도인  $1.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^0$  copies/flask를 접종하였다.

## 결 과

### Primer 제작과 특이성 분석

본 연구에서 제작한 GF1/R1 primer set를 이용하여 패류조직으로부터 VHSV를 검출한 결과,  $10^4$ 배 희석한 cDNA에서도 VHSV가 검출된 반면 현재 우리나라 병성감정기관에서 사용 중인 VN For/Rev primer set의 경우  $10^2$ 배 희석한 cDNA까지만 VHSV가 검출되는 것이 확인되어, GF1/R1 primer set가 약 100배 높은 감수성을 보여주었다(Fig. 2). 따라서 이후 모든 VHSV의 검출에 GF1/R1과 GF2/R2 primer set를 사용하여 검출하였다.

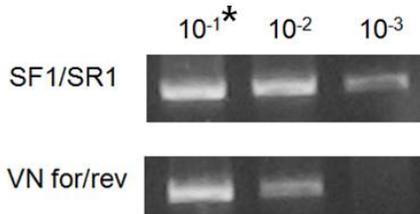


Fig. 2. Comparison of PCR sensitivity performed with the primers designed in this study and the ones used in NFRDI (National Fisheries Research and Development Institute). \*Dilution rate of the cultured VHS supernatant in HINAE.

**패류에서의 VHSV의 검출**

우리나라 동해안(울산), 남해안(통영) 그리고 서해안(서산)의 각 패류에 대해 총 24번의 샘플링, 84개체의 분석을 실시한 결과, 어류와는 달리 같은 batch임에도 불구하고 양성결과와 음성결과는 개체마다 다르게 나타났으며, 총 84개의 개체 중 22개의 VHSV 양성시료를 얻을 수 있었다. 또한 계절에 상관없이 지속적으로 검출됨이 확인되었다. 그리고 비록 분석 개체수는 적었지만 넙치양식장이 적은 서해안의 패류에서도 VHSV가 검출되는 것이 확인되었다(Table 2).

**VHSV의 계통발생학적 분석**

분리된 VHSV의 Genotype을 결정하기 위해 reference sequence로 이미 보고된 10개의 genotype I sequence와 2개의 genotype II와 III의 sequence 그리고 각각 3개와 2개의 IVa와 IVb genotype의 sequence를 이용하여 비교하였고, 또한 이 중 genotype IVa인 JQ651388과 JQ651393은 우리나라 넙치

Table 3. Viability of VHSV in cell culture system

Samples	Cultured VHS (copies/flask)	CPE formation		
		1**	2	3
Positive control	1.0×10 <sup>2</sup> *	-	+	+
	1.0×10 <sup>1</sup>	-	-	+
	1.0×10 <sup>0</sup>	-	-	-
1011GOYS3	ND***	-	-	-
1011NGA2	ND	-	-	-
1011NGET3	ND	-	-	-

\*Inoculated viral particle numbers

\*\*Number of blind passage in HINAE cell line

\*\*\*No data

에서 분리된 VHSV로 이들 시퀀스와의 비교도 함께 실시하였다. 그 결과 패류에서 분리된 VHSV의 경우 울산에서 분리된 1011NGET3-1, 1011NGET3-2통영에서 분리된 1011NGA1-1, 1011NGA2-2, 1011NGA2-1그리고 서산에서 분리된 1011GOYS3-1 모두 genotype IVa로 나타났으며 우리나라 양식넙치에서 분리된 VHSV와 그 유사도가 가장 높았다 (Fig. 3.).

**VHSV의 viability 분석**

1011GOYS3, 1011NGA2, 1011NGET3 3개의 양성시료의 증장선 homogenates를 접종하여 세포변성효과 (cytopathic effect, CPE)를 관찰한 결과, 모두 3번째 passage까지 CPE를 나타내지 않았다 (Table 3). 양성대조구로서 HINAE cell에 VHSV를 농도별로 접종한 후 CPE를 관찰한 결과, 1.0×10<sup>2</sup> copies/flask 농도로 접종한 그룹에서는 2번째 passage부터 확인할 수 있었고, 1.0×10<sup>1</sup> copies/flask 농

Table 2. Detection rate of VHSV from bivalves

	Jan-Mar	Apr-Jun	Jul-Sep	Oct-Dec	Total
Ul-san	3/12 (25.0%)	1/9 (11.1%)	2/6 (33.3%)	3/9 (33.3%)	9/36 (25.0%)
Tong-yeong	1/3 (33.3%)	3/9 (33.3%)	2/9 (22.2%)	6/24 (25.0%)	12/45 (26.7%)
Seo-san	1/3 (33.3%)	NT*	NT	NT	1/3 (33.3%)
Total	5/18 (27.8%)	4/18 (22.2%)	4/15 (26.7%)	9/33 (27.3%)	22/84 (26.2%)

\*Not tested

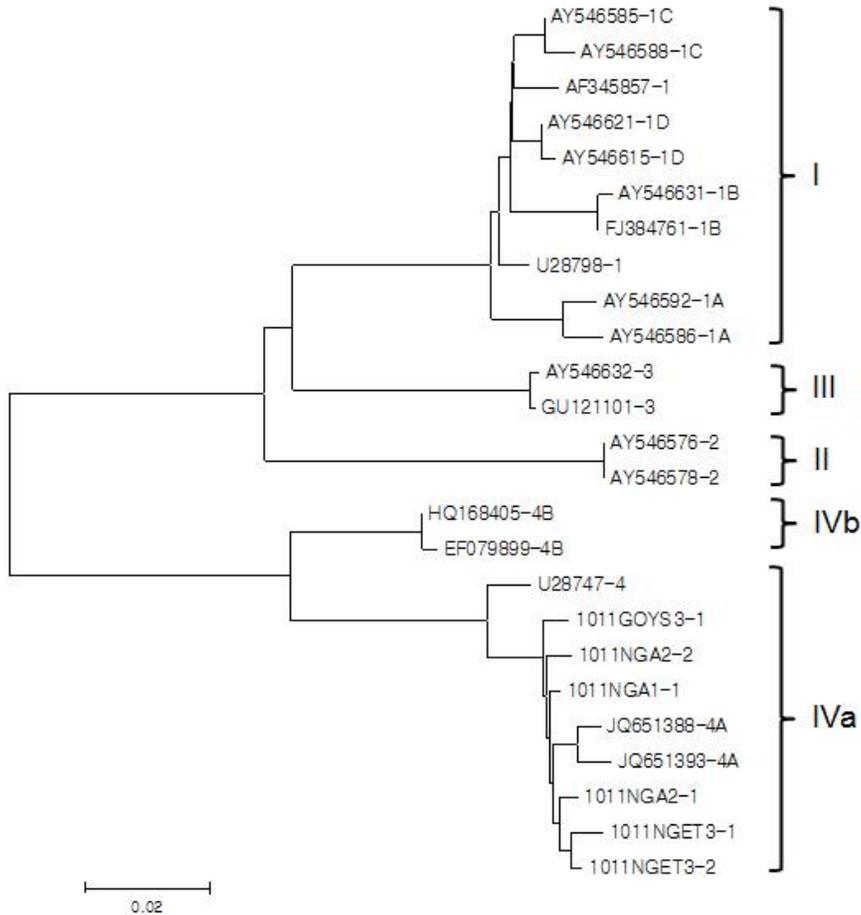


Fig. 3. Phylogenetic tree constructed based on partial sequence of VHSV glycoprotein gene using SF1/R1 and SF2/R2 primer set obtained from bivalves.

도 집종그룹에서는 3번째 passage 그리고  $1.0 \times 10^0$  copies/flask 농도 집종그룹에서는 3번의 passage 동안 CPE를 전혀 나타내지 않았다.

## 고 찰

VHSV는 다양한 어종에서 감염성 및 병원성이 높은 바이러스로, 특히 우리나라의 주요 양식어종인 넙치에 높은 병원성으로 해마다 큰 피해를 주고 있다. 현재 다양한 문헌에서 국내에서 발생한 VHSV는 genotype IVa 만 존재한다고 알려져 있다 (Kim *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2009). 하지만 이러한 문헌에서 사용한 primer의 경우 모든 genotype에 대해 conserved 하게 제작되지 않았

으며, 특히 병성감정기관에서 사용하는 VN For/Rev primer set의 경우 genotype I, II 그리고 III에 더 conserved하게 제작되어 있다. 이러한 primer의 사용은 다른 genotype의 검출률의 감소를 가져올 것으로 생각된다. 또한 패류 내 존재하는 바이러스의 경우 그 양이 매우 미량이기 때문에 이러한 바이러스의 검출을 위해서는 2-step PCR이 꼭 필요할 것으로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 지역적 분포가 다른 VHSV의 국내 유입여부 확인 및 더 높은 검출효과를 위해 genotype I, II, III 그리고 IV에 conserved한 2-step PCR primer를 제작하여 사용하였으며 그 민감도를 현재 병성감정기관에서 사용하는 primer set (VN For/Rev) 와 비교해 보았다. 그 결과 본 연

구에서 제작한 primer set (GF1/R1)이 약 100배 정도 높은 민감도를 보여주었다(Fig. 2). 비록 genotype IVa 이외의 genotype에 대해서는 실험할 수 없었지만 GF1/R1 primer set은 conserved 하지 않은 염기를 degeneration 시켰기 때문에 다른 genotype에도 비슷한 결과를 보여줄 것으로 생각되어진다. 이렇게 높은 검출률의 이유는 병성감정기관에서 사용한 primer의 경우 특정 genotype에 specific하게 제작되어 있어 국내에 가장 높은 비율로 검출되는 genotype IVa를 검출하는 데에는 적합하지 않다. 따라서 본 연구에서 제작한 primer의 경우 genotype IVa의 높은 검출률 뿐만 아니라 다른 genotype에서는 비슷한 검출율을 보일 것으로 생각된다. 따라서 검출범위의 확대 및 검출한계의 확장까지 가져올 수 있을 것으로 생각된다.

울산, 통영 그리고 서산 이매패류에서의 VHSV의 검출을 확인해 본 결과 이매패류에 함유된 바이러스의 양은 현저히 낮아 2-step PCR에서만 검출되었으며, VHSV가 어류에서는 저수온기에 유행하지만 이매패류에서는 계절에 따른 차이를 보이지 않고 연중 검출되는 것을 확인할 수 있었다. 또한 같은 batch임에도 불구하고 그 검출양상은 개체에 따라 다르게 나타났다. 이러한 결과는 사람에게 장염을 유발하는 노로바이러스를 비롯한 다른 어류 바이러스의 경우와 비슷한 결과이다(Mortensen *et al.*, 1993; Atmar *et al.*, 1995; Suzuki *et al.*, 1999; Vazquez-Boucard *et al.*, 2010). 이것은 아마도 바이러스가 축적되는 과정에서 개체별 소화효소 작용의 차이 및 서식기간의 차이에 따른 농축기간의 차이 때문으로 생각된다. 또한 흥미로운 점은 넙치 양식장이 거의 없는 서해안(서산)에서도 검출이 되어 VHSV가 우리나라 전역에 확산되었음이 확인되었다(Table 2).

우리나라 전역에 분포하고 있는 VHSV 양성 sample의 genotype의 확인을 위해 염기서열 분석 및 phylogenetic tree를 이용한 유전적 거리를 비교해 보았다. 그 결과 본 연구에서 검출된 모든 VHSV의 경우 genotype IVa에 속하는 것으로 확인되었다(Fig. 3). 이러한 사실은 모든 genotype에 conserved 한 primer의 사용, 2-step PCR의 수행 그리고 패류에 축적된 바이러스의 확인이었음에도 불구하고

하고 모든 VHSV가 genotype IVa 로 확인된 것은 우리나라에 아직까지 다른 genotype이 유입되지 않은 것으로 생각된다.

패류에 존재하는 VHSV의 viability에 대한 분석을 위해 본 연구에서는 HINAE cell에서 VHSV를 배양하는 방법을 통해 확인해 보고자 하였다. PCR 반응에서는 양성을 보인 샘플이지만 3번의 passage 실험에서 모두 CPE는 관찰할 수 없었다. 이러한 이유는 비록 qPCR을 통해 감염이 가능한 정도의 바이러스가 축적되었음을 확인하였지만, qPCR의 특성상 감염력을 가진 바이러스 뿐만 아니라 감염력이 없는 바이러스까지 검출한다는 점을 감안한다면 패류의 중장선의 소화효소에 의해 다수의 바이러스가 불활화 되어 감염 역가 이하로 감소된 것으로 생각되어진다. 따라서 비록 본 연구에서는 패류 내 VHSV의 활성도를 알 수는 없지만 지속적으로 광범위한 지역에 검출되는 것으로 보아 패류 내 VHSV가 수중에서 어류 내로 침투하여 병원성을 일으킬 수 있는 가능성을 배제할 수 없다는 판단이다. 즉, 패류 내 축적된 바이러스가 vector로써 작용을 할 수도 있다 생각되며, 앞으로 패류를 이용한 바이러스 연구는 vector로써의 접근 및 바이러스의 확산을 연구하는 데 중요한 역할을 할 것으로 판단된다.

## 요 약

Viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV)는 세계적으로 담수와 해산어에 심각한 경제적 손실을 야기시키는 주요바이러스이다. 이매패류는 감염 어로부터 해수로 방출된 바이러스를 여과섭식작용을 통해 축적하는 것으로 알려져 있어 carrier로써의 가능성이 보고된 바 있으므로, 본 연구에서는 이를 확인하기 위해 국내 어류 양식장 주변에 서식하는 참굴(*Crassostrea gigas*)과 담치(*Mytilus edulis*)를 샘플링하였고, RT-PCR법을 통해 바이러스를 검출하여 패류 내 VHSV존재를 확인하였다. 기존 병성감정기관에서 사용하는 primer로는 IVa genotype만을 검출할 수가 있었기 때문에 Glycoprotein (G) gene의 conserved region에 대한 primer를 제작하여 VHSV의 4가지 타입 모두 검출할 수 있게 하

였고 이를 본 연구에 사용하였다. 총 84개 중 22개의 시료가 nested PCR을 통해 양성으로 확인되었고, 이 중 6개의 양성시료를 시퀀싱하여 유전학적 분석을 실시하였다. 그 결과 국내 여러 지역의 패류에서 검출된 VHSV는 모두 IVa genotype으로 아주 제한적인 결과를 보여주었으며, 이는 국내 어류에게 질병을 일으키는 VHSV의 타입은 IVa genotype이라는 이전의 보고와 상응하는 결과를 나타냈다고 할 수 있다. 결론적으로 본 연구에서는 양식장 주변에 서식하는 이매패류의 여과섭식작용으로 인한 축적되는 바이러스로 인한 전염가능성과 패류 내 존재하는 바이러스와 어류에서 질병을 발생시키는 바이러스와의 상호관계를 조사하였으며, 향후 다른 genotype의 유입 및 검출을 위한 연구는 계속적으로 필요하다고 생각된다.

## 감사의 글

이 논문은 2014년도 부경대학교 자율창의학술연구비(2014년)의 지원에 의해 연구되었습니다.

## References

- Atmar, R.L., Metcalf T.G., Neill, F.H. and Estes, M.K.: Detection of enteric viruses in oyster by using the polymerase chain reaction. *Environ. Microbiol.*, 59: 631-635, 1993.
- Brudeseth, B.E. and Evensen, Ø.: Occurrence of viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) in wild marine fish species in the coastal regions of Norway. *Dis. Aquat. Org.*, 52: 21-28, 2002.
- Brunson, R., True, K. and Yancey, J.: VHS virus isolated at Makah National Fish Hatchery. *Am. Fish. Soc. Fish Health Sect. Newsl.*, 17: 3-4, 1989.
- Cox, B. and Hedrick, R.: VHS virus in Pacific sardines and mackerel. *Am. Fish. Soc. Fish Health Sect. Newsl.*, 29: 6, 2001.
- Dixon, P.F., Feist, S., Kehoe, E., Parry, L., Stone, D.M. and Way, K.: Isolation of viral haemorrhagic septicaemia virus from Atlantic herring *Clupea harengus* from the English Channel. *Dis. Aquat. Org.*, 30: 81-89, 1997.
- Gerba, C.P. and Goyal, S.M.: Detection and occurrence of enteric viruses in shellfish: a review. *J. Food. Protect.*, 41: 743-754, 1978.
- Goyan, S.M., Gerba, C.P. and Melnick, J.L.: Human enteroviruses in oysters and their overlaying waters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37: 572-575, 1979.
- Meyers, T.R., Sullivan, J., Emmenegger, E., Follett, J., Short, S. and Batts, W.N.: Identification of viral hemorrhagic septicaemia virus isolated from Pacific cod *Gadus macrocephalus* in Prince William Sound, Alaska, USA. *Dis. Aquat. Org.*, 12: 167-175, 1992.
- Mortensen, H.F., Heuer, O.E., Lorenzen, N., Otte, L. and Olesen, N.J.: Isolation of viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) from wild marine fish species in the Baltic sea, Kattegat, Skagerrak and the North Sea. *Virus. Res.*, 63: 95-106, 1999.
- Mortensen, S.: Passage of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) through invertebrates in an aquatic food chain. *Dis. Aquat. Org.*, 16: 41-45, 1993.
- Suzuki, S. and Nojima, M.: Detection of a marine birnavirus in wild molluscan shellfish species from Japan. *Fish. Pathol.*, 34: 121-125, 1999.
- Smail, D.A.: Viral haemorrhagic septicaemia. *Fish Diseases and Disorders*, pp. 123-147, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections, CAB International, New York, NY, 1999.
- Smail, D.A.: Isolation and identification of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) viruses from cod *Gadus morhua* with the ulcer syndrome and from haddock *Melanogrammus aeglefinus* having skin haemorrhages in the North Sea. *Dis. Aquat. Org.*, 41: 231-235, 2000.
- Snow, M., Cunningham, C.O., Melvin, W.T. and Kurath, G.: Analysis of the nucleoprotein gene identifies distinct lineages of viral haemorrhagic septicaemia virus within the European marine environment. *Virus. Res.*, 63: 35-44, 1999.
- Snow, M., Bain, N., Black, J., Taupin, V., Cunningham, C., King, J., Skall, H. and Raynard, R.: Genetic population structure of marine viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV). *Dis. Aquat. Org.*, 61: 11-12, 2004.
- Jensen, N.J., Bloch, B. and Larsen, J.L.: The ulcer-syndrome in cod (*Gadus morhua*). III. A preliminary virological report. *Nord. Vet. Med.*, 31: 436-442, 1979.
- Traxler, G.S. and Kieser, D.: Isolation of the North American strain of viral hemorrhagic septicaemia virus (VHSV) from herring (*Clupea harengus pallasii*) in British Columbia. *Am. Fish. Soc. Fish Health*

Sect. Newsl., 22: 8, 1994.  
Vazquez-Boucard, C., Alvarez-Ruiz, P., Escobedo-Fregoso,  
C., Anguiano-Vega, G., Duran-Avelar, MdJ., Pinto,  
V.S. and Escobedo-Bonilla, C.M.: Detection of

white spot syndrome virus (WSSV) in the Pacific  
oyster *Crassostrea gigas*. J. Invest. Pathol., 104:  
245-247, 2010.

---

Manuscript Received : Aug 29, 2014

Revised : Apr 3, 2015

Accepted : Apr 10, 2015