



우리나라 양식 흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*)에서 발생한 전염성근괴사증(Infectious Myonecrosis) 역학 조사

권문경 · 김수미* · 신기원 · 조미영 · 황성돈 · 서정수 · 황지연 · 지보영
국립수산과학원(연구원)

Epidemiological Survey of Infectious Myonecrosis in Farmed Whiteleg shrimps(*Litopenaeus vannamei*) in Korea

Mun-Gyeong KWON · Su-Mi KIM* · Ki-Won SHIN · Mi-Young CHO · Seong-Don HWANG · Jung-Soo SEO · Jee-Youn HWANG · Bo-Young JEE

National Institute of Fisheries Science(researcher)

Abstract

We carried out an epidemiological survey of infectious myonecrosis which first occurred in farmed whiteleg shrimps in May 2015. The virus was not detected in culture water, feeds, and surrounding organisms in the IMNV-infected farms. In 2015, 5 hatcheries of whiteleg shrimps were operated in Korea, so we carried out virus tests on shrimp broodstock, shrimp feed lug worms(imported), rearing water, and surrounding organisms sampled from each of the 5 hatcheries. The tests detected the virus in one of 6 tested adult shrimps. 25~40% of the imported lug worms were also found infected, which requires us to consider need for import quarantine. The rearing water as well as the 11 species present in the infected hatcheries were also tested positive. These results require us to consider need for further research on correlations between the virus and surrounding animals in infected shrimp farms.

Key words : Whiteleg shrimp, IMNV, Epidemiology, Mortality

I. 서론

우리나라 새우 양식 산업은 1990년 보리새우(*Marsupenaeus japonicus*)를 중심으로 급속히 성장하였으나, 1993년 이후 흰반점병(WSD, White Spot Diseases) 피해 발생(Kim et al., 1997; Heo et al., 2000)으로, 2003년 이후 대하(*Fenneropenaeus chinensis*)로 품종을 바꿔 양식하기 시작하였다. 그러나 흰반점병이 전국적으로 확산되어 풍토병으로 정착되면서 대하 양식 산업 또한 붕괴되기

에 이르러(Jang et al., 2005), 2006년부터 흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*)로 대체하여 양식하고 있다(Jang and Jun, 2007).

전염성근괴사증(Infectious myonecrosis, IMN)은 Totiviridae에 속하는 Infectious myonecrosis virus(IMNV)에 의해 발생하는 질병으로 세계동물보건기구 (Office International des Epizooties, OIE)의 지정 질병이며 우리나라에서는 2015년 4월 이전까지 발병 사례가 없었던 수산생물질병관리법 제2종 수산생물전염병이다.

* Corresponding author : 032-745-0741, sumikim@korea.kr

※ 이 논문은 2019년 국립수산과학원 수산생물 방역프로그램 개발·운영(R2019058) 지원에 의해 수행되었음.

외국의 경우 2002년 브라질 남동부의 흰다리새우 양식장에서 처음 IMN이 발생하여 2004년 브라질의 다른 지역으로 확산되었고 2006년 브라질로부터 수입한 새우 종묘를 이식한 인도네시아 자바섬에서 발병하여 이후 동남아시아 전역으로 전파되어(Lightner et al., 2004; Senapin et al., 2007), 흰다리새우 양식에 큰 위협으로 인식되고 있다(Tang et al., 2005).

IMNV 감염 새우의 폐사율은 40~70%(Poulos et al., 2006) 해수나 기수지역에서 양식하는 흰다리새우의 유생기와 양성단계에 걸쳐 심각한 영향을 미친다(Prasad et al., 2017). 매개생물은 밝혀지지 않았지만, 일반적으로 TSV와 같은 non-enveloped virus는 죽거나 빈사상태의 새우를 먹은 물새 등의 장이나 분변을 통해 전파되는 것으로 알려져있다. 감염된 흰다리새우는 투망, 사료, 수온, 염분 등의 급격한 변화 등의 스트레스를 받으면 복부환절과 꼬리지느러미 황문근에 괴사가 나타나며, 괴사된 근육은 요리된 새우 색깔 처럼 적색으로 변하기도 한다(Senapin et al., 2007).

우리나라에서는 2015년 5월 흰다리새우 양식장에서 IMNV가 처음 검출되어 역학조사를 실시하고 결과를 보고하고자 한다.

II. 전염성근괴사증 발생현황

1. 전염성근괴사증 발생 및 진단방법

가. 전염성근괴사증 발생

2015년 5월 중순 흰다리새우 양성장인 T 센터 어린새우에서 폐사가 발생하여 원인 분석을 실시한 결과 IMNV가 검출되었다.

T 센터는 4월 16일 C 종묘생산장에서 흰다리새우 종묘 50만마리를 입식하였고, 5월 14일에 2개 수조에서 폐사가 시작되어 3일간 20만 마리가 폐사하여 입식량 중 40%의 피해가 발생되었다. 다른 수조에는 D 수산에서 4월 29일 30만마리를

입식하였으며, D 수산의 종묘에서는 폐사가 발생하지 않았다.

IMN은 수산생물질병관리법 2중전염병으로 격리·이동제한 등의 방역조치가 시행되었다. 폐사가 발생한 2개 수조는 자체적으로 차아염소산칼슘으로 소독처리하고, 국립수산과학원은 역학조사를 실시하게 되었다.

나. 진단방법

IMNV 검출은 세계동물보건기구(OIE)의 진단매뉴얼을 기초로 작성된 국립수산과학원 병성감정 지침서에 따라 분자생물학적 진단과 병리조직학적 진단을 실시하였다.

분자생물학적 진단은 IMN RT-PCR 방법에 따라 cDNA 합성 및 PCR을 실시하였으며 primer 정보는 다음과 같다(표 1). 모든 증폭된 산물은 염기서열분석을 통해 GenBank에 등록되어 있는 IMNV의 유전자와 상동성을 확인하였다.

병리조직학적 진단은 전장, 후장, 신경절, 간체장, 정소, 임파조직, 결합조직 등을 병리조직 처리하여 H&E 염색 후 검경하였다. 근섬유 응고괴사 및 혈구침윤, 임파기관의 Lymphoid organ spheroids (LOS) 형성, Ectopic LOS 등을 확인하여 감염여부를 확인하였다.

<Table 1> Primer sets

Primer sets	PCR primers		Product size
1st	F	5'-CGACGCTGCTAACCATACAA-3'	328 bp
	R	5'-ACTCGGCTGTTCGATCAAGT-3'	
2nd	NF	5'-GGCACATGCTCAGAGACA-3'	139 bp
	NR	5'-AGCGCTGAGTCCAGTCTTG-3'	

다. 해수 중 IMNV 검출법

5L 이상의 해수를 멸균된 채수통을 이용하여 채집하고 냉장상태로 운반하였다. 해수는 음이온 여과막을 이용하여 최종 1/12,500~1/16,000로 농축 후 핵산추출 및 PCR에 사용하였다.

2. 발생 양성장 역학조사

가. 새우 종묘

T 센터의 역학 현장조사는 5월 30일에 실시하였으며 현장조사 당시 D 수산과 C 수산의 종묘를 입식하여 양성중에 있었으며, 폐사 발생 수조의 새우는 C 수산의 종묘를 분양받은 것으로 조사되었다.

나. 사육시설 및 출입자 관리

양식시설 중 양식장 내부 복도는 주5회, 작업장은 주1회 차아염소산칼슘을 10,000배 희석하여 수동 분무기로 소독하고 있었고 소독실시 기록은 관리 일지에 기록되어 있었다. 사육동 출입구에는 소독발판이 설치되어 있었고 폐사한 수조는 출입이 폐쇄되어 있었다.

관리자 및 근무자의 주요 이동현황은 4월 16일 C 수산에서 T 센터로 차량을 이용하여 50만 마리 입식하고 4월 29일 D 수산에서 동일한 차량으로 종묘 30만 마리를 수송하였다. 출입차량에 대한 소독 등의 방역관리는 이루어지지 않았다.

다. 사육 용수

사육용수는 고압모래여과기를 통과한 해수, 고압모래여과기를 통과한 해수에 담수를 첨가하여 염분을 낮춘 저염분 해수, 새우를 사육중인 수조의 사육수, 배수관 인근 해수를 분석하였으며 모두 IMNV는 검출되지 않았다.

라. 먹이(배합사료)

중국산 냉동 배합사료를 사용하고 있었으며, 사료에서 IMNV는 검출되지 않았다.

마. 주변 서식 생물

배수구에 위치한 갯벌 서식생물을 채집하여 바위게, 불가사리, 기타 패류, 플랑크톤, 집게발새우를 검사하였으며, 모두 IMNV는 검출되지 않았다.

3. 새우 종묘생산장 역학조사

2015년 당시 우리나라 흰다리새우 종묘생산장은 전라남도 1개소와 충청남도 4개소가 있었으며, 이들 종묘생산장 5개소에서 흰다리새우 종묘를 생산하여 전국 양성장으로 분양하였다.

IMN 역학조사를 위하여 종묘생산장 5개소의 흰다리새우 모하, 먹이로 사용하는 갯지렁이, 사육수, 해역해수, 주변서식 생물의 IMNV를 분석하였다.

가. 종묘 생산용 흰다리새우 모하

종묘생산장의 모하는 전량 미국 하와이 몰로카 이씨팜스에서 무병새우로 생산되었으며, 수산생물질병관리법 제27조 및 같은법 시행규칙 제29조의 검역 절차에 따라 검역(정밀검사)을 거친 후 국내에 반입되므로 흰다리새우 종묘생산용 모하로부터 IMNV의 유입 가능성은 매우 낮은 것으로 판단된다.

D 수산의 역학조사에서 모하의 6마리 중 암컷 1마리에서 IMNV가 검출되었다. 수입 모하의 검역은 철저하게 이루어져 모하로부터 유입가능성은 낮은 것으로 보여 수개월 동안 수조에서 관리되는 과정에서 사육용수나 먹이생물로부터 감염되었을 가능성이 큰 것으로 생각된다.

나. 수입산 갯지렁이

D 수산의 1차 현장 역학조사(5월 29일)에서 모하 난성숙을 위해 먹이로 사용하는 중국산 갯지렁이 20마리를 채집하여 검사한 결과 5마리가 IMNV 양성으로 나타나 보유율 25%로 조사되었다. 이후 D 수산에 중국산 갯지렁이를 납품하는 업체로부터 갯지렁이를 수입 즉시 미개봉 상태로 구입하여 검사한 결과, IMNV는 nested PCR에서 40%의 검출율을 나타내었다.

미성숙 어미새우, 특히 암컷 난소의 성숙과정에서 가장 중요한 것은 먹이이다. 부화장에서는 일반 양식 새우와는 달리 어미새우에 여러 종류의 생사료를 먹이고 있으며, 먹이에서 가장 중요하고, 가장 많이 차지하는 생사료 원료는 갯지렁이류이다.

하와이에 소재한 해양연구소(Oceanic Institute)는 새우에 감염될 수 있는 전염병의 위험성을 최소화하기 위하여 갯지렁이에 철저한 검역과정을 거치고 PCR 기법을 사용하여 흰반점바이러스(WSSV, White spot syndrome Virus), 타우라바이러스(TSV, Taura Syndrome virus), 전염성피하및조혈기괴사증스(IHHNV, Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus), 급성간췌장괴사증(AHPND, Acute hepatopancreatic necrosis disease)의 원인 세균에 대한 보균여부를 검사하여 보균하지 않은 20%를 골라내어 무균갯지렁이 양식을 시도하고 있다.

우리나라는 연간 300톤가량의 갯지렁이를 대부분 중국에서 수입하고 있다. 갯지렁이의 품목 분류 코드는 HS 010690310이며 원산지제도 운영에 관한 고시에 의하여 원산지표시 '비대상', 적정표시방법 '비대상' 품목으로 분류되어 질병검사가 없이 자유롭게 수입되고 있다.

브라질에서는 IMNV 감염 새우를 먹은 조류의 분변에서 IMNV가 검출되었고, 감염 새우를 공식한 새우에서 감염이 유발되며, 알테미아에 IMNV를 감염시켜 흰다리새우에 공급하였을 때 인위감염되어 먹이를 통하여 IMNV 감염이 가능하다고 보고하였다(Andrade, 2009).

본 조사에서 수입산 갯지렁이에서 IMNV가 검출되었으며, 갯지렁이를 먹이로 사용한 흰다리새우 모하에서 IMNV가 검출되어 갯지렁이를 통한 감염 가능성이 높을 것으로 생각된다.

다. 종묘생산장 사육수

C 수산과 D 수산의 6월부터 9월까지 소독처리하지 않은 원수, 소독처리한 모하 사육수 및 유생 사육수를 10,000배 농축하여 IMNV를 조사하였다.

C 수산 및 D 수산의 모하 유생 수조와 D 수산의 소독처리하지 않은 원수에서 IMNV가 검출되었다. 해수 중의 바이러스 농도는 Real-time PCR법과 같은 정량분석이 필요하겠지만 nested

PCR의 검출한계가 1,000 copy/ μ L 정도라는 것을 감안할 때 해수 중 바이러스 검출 농도는 1×10^6 copy/ml 이상일 것으로 추정된다. 이 농도는 브라질 IMNV 발생 양식장 유입수 1 mL 당 $1.0 \times 10^5 \sim 3.0 \times 10^7$ viral RNA의 검출농도와 유사한 수준으로 보인다(Andrade, 2009).

라. 주변 서식 생물

C 수산과 D 수산 주변 해역의 방게, 풀게, 칠게, 갈게, 바위게, 가지게, 농게, 집게, 고동류, 갯지렁이, 불가사리, 굴, 썩붙이, 망둥어, 삿갓조개류, 군부류, 중뿔류를 채취하여 IMNV 감염여부를 조사하였다. C 수산 주변 해역의 서식생물에서는 검출되지 않았으나, D 수산 주변 서식생물 중 풀게, 방게, 가지게, 썩붙이, 자연산 새우류, 홍합, 굴류, 고동류, 망둥어, 갯지렁이 등 11종에서 IMNV가 검출되었다.

IMNV의 감염 매개체(vector)는 명확하지 않지만 감염 양식장의 동물성플랑크톤(77%), 계류(80%), 굴류(40%)에서 높은 비율로 IMNV가 검출되어 vector의 가능성으로 지목되고 있다(Global aquaculture advocate, 2013). 또한 브라질의 IMNV 감염양식장에서 채집한 다모류와 이매패류에서 nested RT-PCR로 검출되어 이들 서식생물을 잠재적 숙주로 보고하였다(Andrade, 2009).

새우 양식장에서 바이러스가 배출된다는 직접적인 근거는 없지만 발생종묘장 인근 해역의 서식 생물에서 IMNV가 검출되는 것은 상관관계가 있어 보인다. 자연 생태계로 바이러스가 배출되거나 수중의 바이러스가 서식생물에 축적되는 생물학적 시간, 서식생물을 통한 바이러스의 전파 가능성 등에 대한 추가 연구가 필요할 것이다.

4. IMNV 유전자 분석

감염된 새우(모하, 종묘), 해수, 먹이생물(갯지렁이), 서식생물 등에서 검출된 PCR 산물을 모두 sequencing하여 상동성 분석을 실시한 결과, 분리 유래와 관계없이 모두 동일한 염기서열을 나타내

며 브라질 및 인도네시아 유전자와 100%의 상동성을 보였다. 현재까지 GenBank에 등록되어 있는 IMNV의 유전자는 브라질과 인도네시아 분리주(26개 등록) 뿐이며 이들 유전자간에도 full length 99.6% 유사하여 Genotype이 확인되어 있지 않아 유전자 분석으로 IMNV의 유입경로를 밝히기는 어려웠다.

Ⅲ. 고 찰

전염성근괴사증(IMN)은 국내 보고사례가 없는 제2종 수산생물전염병으로서 전염병의 확산 방지를 위해 역학조사를 실시하였다.

IMNV의 최초 유입 경로에 대해서는 현재 시점에서 명확히 밝힐 수는 없지만, 감염된 새우 종묘, 물(사육용수, 연안 해수), 먹이생물(중국산 갯지렁이), 주변서식생물을 전파 위험 요인으로 설정하고 다양한 가능성 조사에서 중국산 갯지렁이를 주요 유입 원인으로 의심하게 되었으며, 그 이유는 다음과 같다. 첫째, 중국산 갯지렁이는 검역 비대상 품목이므로 질병의 감염여부를 모르는 상태로 수입되어 모하의 먹이 및 낚시 미끼로 사용되어 있다. 둘째, Kim et al.(2009)은 흰반점바이러스에 감염된 두토막눈썩참갯지렁이를 대하모하에 먹였을 때 감염율이 약 9배(56%) 증가하여 먹이를 통한 바이러스 감염 가능성을 제시하여 본 조사에서도 가능성이 있을 것으로 판단된다. 셋째, 브라질에서는 IMN이 발생한 양식장에서 채집한 이매패류, 다모류를 잠재적 숙주로 보고하였다(Andrade and Lightner, 2009). 바이러스 감염 새우를 먹은 조류의 분변에서 IMNV가 검출되었고, 감염 새우를 공식한 새우도 감염되었으며, IMNV 감염 알테미아를 흰다리새우에 투여시 감염된다는 보고 등에서 먹이를 통한 IMNV 전파 가능성이 제시되었다. 따라서 중국산 갯지렁이가 매개체로 작용하여 직접적으로 IMNV를 모하 또는 사육수에 바이러스를 전달할 가능성도

있으며, 수년간 낚시 미끼 등으로 연안에 노출된 중국산 갯지렁이로 인한 해역의 바이러스 오염 가능성도 있을 것으로 판단된다.

수산생물전염병 방역은 유입원인이 구명되면 효율적 방역활동이 가능해 진다. 그러나 발생원인을 반드시 밝혀야만 방역이 가능한 것은 아니다. 질병의 특성상 위험 요소를 신속히 확인하여 제거하는 방역조치를 취하는 것이 최우선이기 때문이다. 또한 원인이 밝혀지더라도 다른 유입경로에 대한 조사나 관리를 소홀히 하여서는 안 될 것이다. 전염병의 근절은 방역당국만의 힘으로 가능한 것이 아니므로 지자체, 어업인의 협조가 필수적이므로 지속적으로 교육하고 홍보하여 방역의식을 제고하여야 하겠다.

또한 향후 재발방지 및 예방대책 수립을 위해서 종묘생산장 및 새우양식장 질병관리에 관한 제도 정비가 필요할 것으로 판단된다. 첫째 먹이로 사용되는 갯지렁이의 지정 검역물 지정 검토, 둘째 종묘생산장 집중 방역관리를 위하여 종묘생산장 전염병 검사 의무제 도입, 셋째 새우 양식장 입식신고 및 기록 의무화 등이 시급한 것으로 판단된다. 아울러 어업인의 자발적 참여 프로그램 개발 및 효율적인 제도 시행을 위해서는 유관기관간의 공동대응 시스템 강화가 필요할 것이다.

References

- Andrade TPD and Lightner DV(2009). Development of a method for the detection of infectious myonecrosis virus by reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification and nucleic acid lateral flow hybrid assay. *J Fish Dis*, 32, 911~924.
<http://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01072.x>
- Heo MS, Sohn SG, Kim JW, Park MA, Jung SH, Lee JS, Choi DL, Kim YJ and Oh MJ(2000). Isolation and characterization of white spot syndrome baculovirus in cultured peaneid shrimp(*Penaeus chinensis*). *J Fish Pathol*, 13, 7~13.

- Jang IK and Jun JC(2005). Current status of shrimp diseases and its control in Korea. In: The first Korea-U.S. Seminar and Workshop on the sustainable marine shrimp culture: Challenges and opportunities for the future of marine shrimp farming. August 8-12.
- Kim CK, Sohn SG, Heo MS, Lee TH, Hun HK and Jang KL(1997). Partial genomic sequence of baculovirus associated with white spot syndrome(WSBV) isolated from penaeid shrimp *P. chinensis*. J Fish Pathol, 10, 87~95.
- Kim KS, Park SY, Lee IR, Nam YK and Bang IC(2009). Prevalence of white spot syndrome virus (WSSV) in marine organisms around the shrimp farm and polychaete worm-mediated transmission of WSSV to *Fenneropenaeus chinensis*. J Fish Pathol, 22, 15~21.
- Lightner DV, Pantoja CR, Poulos BT, Tang KFJ, Redman RM, Andreas T and Bonami JR(2004). Infectious myonecrosis (IMN): a new virus disease of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 2004 Book of abstracts. Waquacult Soc., Baton Rouge, LA, p353.
- Poulos BT, Tang KFJ, Pantoja CR, Nonami JB, Lightner DV(2006). Purification and characterization of infectious myonecrosis virus of penaeid shrimp. J Gen Virol 87, 987~996.
DOI:10.1099/vir.0.81127-0
- Prasad KP, Shyam KU, Baun H, Jeena K and Krishnan R(2017). Infectious myonecrosis virus(IMNV)-An alarming viral pathogen to penaeid shrimps. Aquaculture, 477, 99~105.
DOI:10.1016/j.aquaculture.2016.12.021
- Senapin S, Phewsaiya, K, Briggs M and Flegel T(2007). Outbreaks of infectious myonecrosis virus(IMNV) in Indonesia confirmed by genome sequencing and use of an alternative RT-PCR detection method. Aquaculture, 266, 32~38.
<http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.02.026>
- Tang JFJ, Pantoja CR, Poulos BT, Redman RM and Lightner DV(2005). In situ hybridization demonstrates that *Litopenaeus vannamei*, *L. stylirostris* and *Penaeus monodon* are susceptible to experimental infection with infectious myonecrosis virus(IMNV). Dis Aquat. Org, 63, 261~265.
DOI:10.3354/dao063261
-
- Received : 10 December, 2018
 - Revised : 28 December, 2018
 - Accepted : 07 January, 2019