

< Short Communication >

선위확장증-의심 한스 마코앵무새(*Ara nobilis nobilis*)로부터 RT-PCR에 의한 avian bornavirus 최초 검출

김진현¹ · 이부흥² · 조재근³ · 윤원경⁴ · 김 원⁵ · 김희정⁶ · 김은미⁶ · 김기석^{5,6} · 박최규^{5,6*}

경상북도가축위생시험소¹, 굿닥터동물병원², 대구광역시보건환경연구원³,
수호천사동물병원⁴, 경북대학교 수의전염병제어센터⁵, 경북대학교 수의과대학⁶

First detection of avian bornavirus by RT-PCR in proventricular dilatation disease-suspected Hahns Macaw (*Ara nobilis nobilis*) in Korea

Jin-Hyun Kim¹, Bu-Heung Lee², Jae-Keun Cho³, Won-Koung Yoon⁴, Won Kim⁵,
Hee-Jung Kim⁶, Eun-Mi Kim⁶, Ki-Seuk Kim^{5,6}, Choi-Kyu Park^{5,6*}

¹Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Daegu 702-911, Korea

²Good Doctor Animal Hospital, Anyang 431-815, Korea

³Metropolitan Health & Environmental Research Institute, Daegu 706-732, Korea

⁴Guardian Angel Animal Hospital, Anyang 431-081, Korea

⁵Animal Disease Intervention Center, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

⁶College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

(Received 23 December 2013; revised 12 February 2014; accepted 5 March 2014)

Abstract

Two Hahns Macaws (*Ara nobilis nobilis*), three and nine-month-old, with a three-weeks history of weight loss and anorexia were diagnosed presumptively with proventricular dilatation disease (PDD) by radiographic examination. The birds were treated with antimicrobials, analgesics, and fluid administration. However, these birds died three weeks after the first signs of PDD. At necropsy, the birds had severely dilated proventriculus, severe pectoral muscles atrophy, and blood vessels congestion on cortex of cerebrum. The partial matrix gene of avian bornavirus (ABV) was detected by RT-PCR from tissues of the brain, feather calami, and proventriculus of each PDD-suspected birds. This report describes the first detection of ABV in PDD-suspected Hahns Macaw in Korea.

Key words : Avian bornavirus, Hahns Macaw, Proventricular dilatation disease

서 론

선위확장증(proventricular dilatation disease; PDD)은 앵무새에서 치명적인 진행성 질병으로써 1970년대 후반 미국, 독일 및 스위스에서 사육 중인 애완 앵무새에서 최초로 확인되었다(Mannl 등 1987; Gregory 등 1994). 이 병은 과거 앵무새에서 주로 발생하는 것

으로 알려져 있었으나, 최근에 들어 세계 각국의 거위, 백조, 갈매기 및 오리 등 다양한 품종의 조류에서도 발견되고 있는 실정이다(Payne 등, 2012). 이 병에 감염된 조류는 다양한 범위의 소화기 및 신경계 증상을 보인다. 식욕부진, 체중 감소, 소화되지 않은 씨앗의 배출, 선위 증체 및 구토 등의 소화기 증상과 운동 실조, 경련 및 비이상적인 머리 움직임 등의 신경계 증상이 관찰된다(Gregory 등 1994; Berhane 등 2001). 이 질병의 원인체에 대한 많은 연구가 수행되어왔

*Corresponding author: Choi-Kyu Park, Tel. +82-53-950-5973,
Fax. +82-53-950-5973, E-mail. parkck@knu.ac.kr

나 최근 2008년에 이르러서야 이 병의 원인체가 avian bornavirus (ABV)인 것으로 확인되었다(Kistler 등, 2008, Honkavuori 등, 2008). 이후 전 세계적으로 다양한 품종의 조류에서 이 바이러스가 검출되고 있으나 (Payne 등, 2012) 국내에서는 현재까지 ABV의 검출 보고가 없는 실정이다. 따라서 본 증례에서는 국내 최초로 PDD가 의심되는 한스 마코앵무새(*Ara nobilis nobilis*)로부터 역전사중합효소연쇄반응(reverse transcription polymerase chain reaction; RT-PCR)을 통한 ABV의 검출을 보고하는 바이다.

증 례

서로 다른 가정에서 사육 중인 3개 월령 및 9개 월령의 한스 마코앵무새 2수가 3주 동안 심한 식욕 부진, 구토 및 우울증 등의 증상을 보여 2013년 11월에 경기도 안양 소재 동물병원에 내원하였다. 이들 모두는 국내 애완조류 사육농장에서 부화되어 각 가정으로 분양되었으며, 각 가정 거실의 케이지에서 사육되었다. 3개 월령 한스 마코앵무새의 경우는 함께 사육 중인 동거조는 없었으며, 이유식(Harrison's bird foods, USA)만을 급여하였다. 한편 9개 월령의 한스 마코앵무새는 동시에 분양받은 동거조 2수 중 1

수가 과거 설사 증상 등을 보인 후 폐사한 것으로 축주가 품고하였으며, 펠렛 사료(Harrison's bird foods), 과일 및 씨앗 등을 급여 하였다.

방사선 검사를 실시한 결과 현격한 선위의 확장 소견이 관찰되었다(Fig. 1A and B). 식욕 부진 및 구토 등의 임상 증상과 방사선 검사 결과 등을 통하여 PDD로 진단 하였으며, 대증 요법으로 따뜻한 생리 식염수를 이용하여 소낭 세척을 실시하였으며, half-sol (Halfsol inj., Daihan Pharm co. LTD., Korea)을 1.5 ml/시간으로 점적 정맥 주사하였고, enrofloxacin (Baytril 50 inj., Bayer animal health GmbH, Germany)을 30 mg/kg, cefotaxime (Wooridul cefotaxime sodium, Wooridul pharmaceutical LTD., Korea)을 75 mg/kg 및 metoclopramide (Geslong, Cheil bio co. LTD., Korea)을 1 mg/kg의 용량으로 하루 2회 정맥 주사하였다. 또한 celecoxib (Celebrex capsule, G. D. Searle LLC, USA)을 10 mg/kg의 용량으로 하루 1회 경구투여 하였으나, 치료 1~2일 후 2수 모두 폐사하였다.

정확한 폐사 원인을 알아보기 위하여 부검을 실시한 결과 선위의 현격한 종대가 관찰되었으며(Fig 2A), 선위 장막 충혈(Fig. 2A) 및 점막 부위 출혈(Fig. 2B)과 선위 내벽이 얇아지는 소견이 확인되었다. 또한 대뇌 피질부의 충혈 소견(Fig. 2C) 및 흉근의 심한 수축(Fig. 2D)도 관찰되었다.

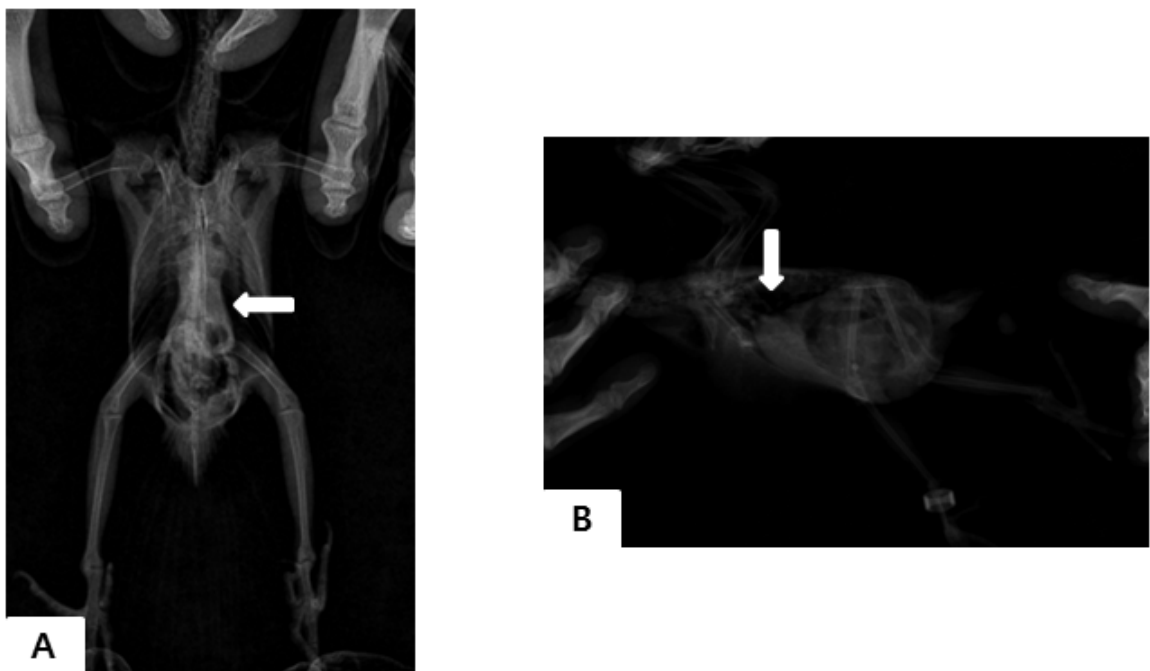


Fig. 1. Radiographic examination. A: Ventrodorsal view of a nine-month-old Hahns Macaw. Dilated proventriculus (arrow). B: Lateral view of a three-month-old Hahns Macaw. Dilated proventriculus (arrow).

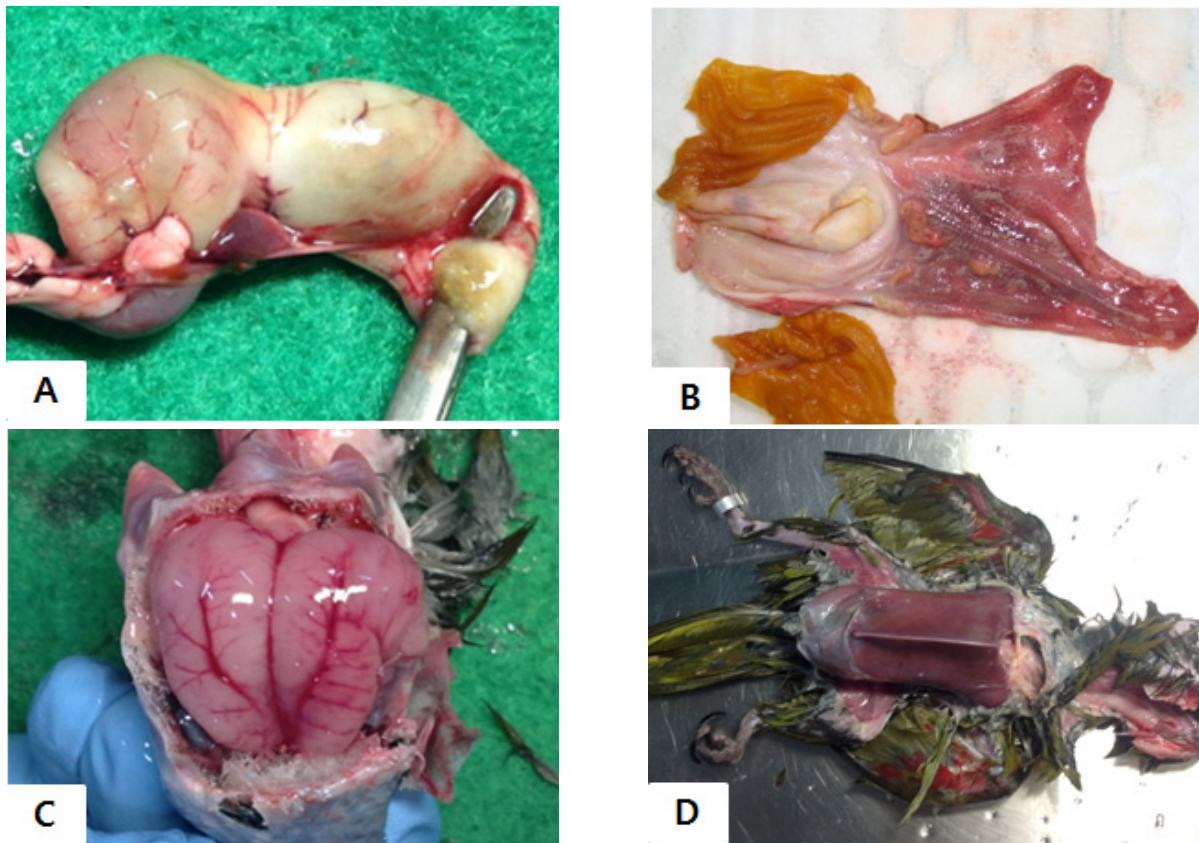


Fig. 2. Postmortem examination of a nine-month-old Hahns Macaw with PDD. (A) Severely distended proventriculus with blood vessels congestion on the serosa surface (B) Hemorrhages on mucosal surface of proventriculus (C) blood vessels congestion on cortex of cerebrum (D) Marked reduced pectoral muscle.

의뢰된 PDD 의심 한스 마코앵무새로부터 깃축, 소장, 뇌 및 선위를 채취하여 시판 핵산추출키트(RNA extraction kit, Inclone biotech, Korea)를 이용하여 RNA를 추출한 다음, Guo 등 (2012)의 방법에 따라 RT-PCR을 실시한 다음, 1.5% agarose gel 전기영동을 실시하여 ABV의 matrix 유전자의 증폭 여부를 확인하였다. RT-PCR에 사용한 primer는 Guo 등(2012)이 보고한 PM-F1 5'-GGTAATTGTTCTGGATGGC-3', PM-R1 5'-ACACCAATGTTCCGAAGACG-3'이며, RT-PCR 조건은 45°C에서 30분간 reverse-transcription 및 95°C에서 15분간 pre-denaturation 과정을 거친 다음, denaturation 95°C에서 30초, annealing 55°C에서 30초, extension 72°C에서 30초를 35 cycle 증폭과정을 거친 후, 72°C에서 10분간 final extension을 실시하였다. PCR 증폭산물은 UV trans-illuminator (Bio-Rad, USA)로 확인하였다. 그 결과, 2수의 한스 마코앵무새의 장기(뇌, 선위, 깃축)에서 351 bp의 특이 유전자가 증폭되어 해당 개체가 공히 ABV에 감염되었음을 확인할

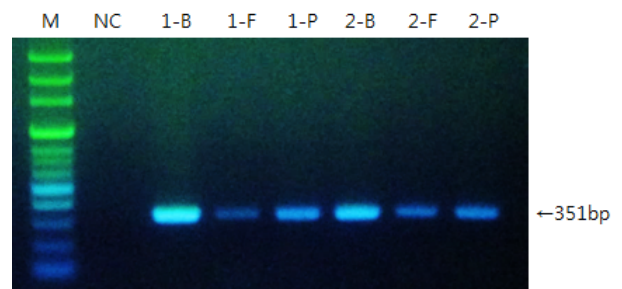


Fig. 3. Amplification of partial M gene of avian bornavirus from tissues of PDD-suspected Hahns Macaws by RT-PCR. Lane M, 100 bp DNA ladder; Lane NC, negative control; Lane 1- and 2-B, F and P, amplified genes from brain, feather calami and proventriculus of each PDD-suspected birds, respectively.

수 있었다(Fig. 3). 증폭된 유전자 단편들에 대한 핵산 염기서열을 실시하고, DNASTAR[®] Lasergene (DNASTAR Inc. USA)를 이용하여 기존의 보고된 ABV 핵산 염기서열과 비교분석한 결과, Weissenbock 등(2009)이 보고한 ABV genotype-4 유전자(Genbank No. FJ794731)

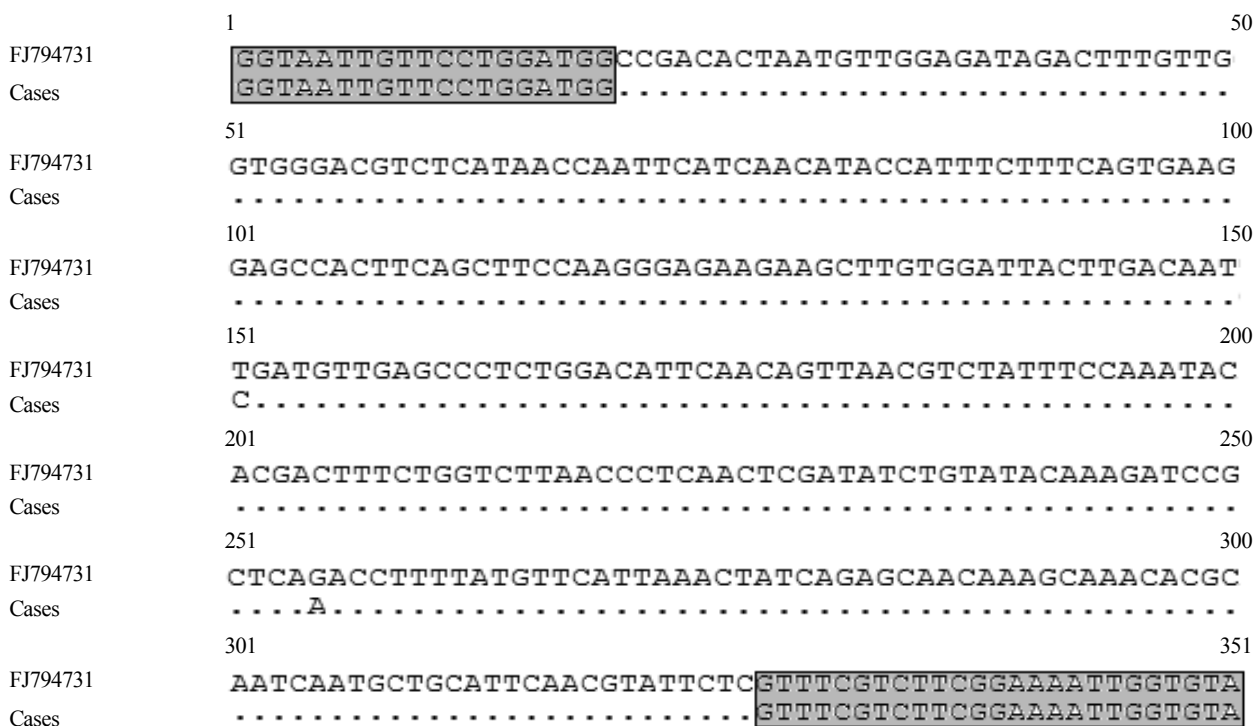


Fig. 4. Nucleotide sequences of amplified partial matrix genes of avian bornavirus in this study. The boxes indicate primer sequences for RT-PCR.

와 99% 이상 일치하였다(Fig. 4).

고 찰

PDD는 전 세계적으로 앵무새를 비롯한 다양한 조류에서 발생하고 있으며(Payne 등, 2012), 이 병은 주로 심한 식수 및 식욕 부진 등의 소화기 증상 발현 후 운동 실조 및 경련 등의 신경 증상을 보이는 것으로 알려져 있다(Lutz와 Wilson, 1991). 이 병의 진단은 일반적으로 심한 식수 및 식욕 부진 등의 소화기 증상과 더불어 방사선 검사를 통한 선위 종대 등의 소견을 통하여 추정 되고 있으며, 확진을 위해서는 발병한 개체에 대한 부검 소견 및 병리조직학적 소견 등을 통하여 확인하는 것으로 알려져 왔다(Gregory 등, 1994).

1970년대 후반 처음으로 PDD가 발생한 이래로 이 병의 발생 원인을 찾기 위하여 지속적인 연구가 수행 되어왔으며, 최근 2008년에 선위 종대 등의 부검 소견을 보인 앵무새의 선위 및 뇌 등 다양한 장기에서 ABV가 처음으로 동정되었다(Honkavuori 등, 2008; Kistler 등, 2008). 이 병의 원인체인 ABV는 전 세계적

으로 PDD의 임상증상을 동반한 조류에서 검출되고 있는 실정이다(Payne 등, 2012). 하지만 국내에서는 Lee 등(2007)이 식욕 부진 및 체중 감소 등의 증상을 보인 앵무새에 대한 임상증상 및 병리조직학적 소견을 통한 PDD의 발생을 보고한 적이 있으나, 현재까지 임상 환례에서 원인체인 ABV를 증명한 보고는 없었다. 본 증례를 통하여 국내에서 처음으로 PDD의 증상을 보인 앵무새에서 RT-PCR 기법을 이용하여 ABV를 검출하였으며, 증폭된 유전자의 핵산염기서열을 확인한 결과, Weissenbock 등(2009)이 보고한 ABV genotype 4와 90% 이상 일치함을 확인하였다. ABV는 현재 국가별 또는 감수성 조류별로 다양한 유전형이 존재하는 것으로 보고되고 있으나(Weissenbock 등, 2009) 우리나라에서는 아직 ABV의 유전형 분포 등 체계적인 조사가 이루어진 적이 없어 향후 이에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

ABV는 주로 분변 오염을 통하여 전파되는 것으로 알려져 있으며(de Kloet와 Dorrestein, 2009; Gray 등, 2010; Kistler 등, 2010), 최근에는 종란을 통한 수직 감염의 가능성도 있는 것으로 보고되고 있다(Kerski 등, 2012). 또한 이 바이러스는 PDD의 임상증상을 보이지 않은 개체의 분변 혹은 깃속에서도 검출되고 있

어(Lierz 등, 2009; de Kloet 등, 2011) 국내 사육 애완 앵무새에서도 임상 또는 준임상형으로 감염되고 있을 가능성이 높은 것으로 판단된다. 본 증례에서 PDD가 발생한 한스 마코앵무새 2수는 국내 서로 다른 앵무새 사육농장에서 부화되어 각 사육 가정으로 판매된 개체들로 서로 역학적인 연관성이 확인되지 않았다. 따라서 관련 앵무새 사육장에서 감염되었을 가능성과 다른 감염 앵무새와의 직·간접 접촉에 의하여 감염되었을 가능성이 높은 것으로 판단되며, 향후 앵무새 사육장이나 유통되는 앵무새에 대한 감염 상황을 파악하기 위한 확대 조사가 필요할 것으로 생각된다. 한편, 미국 및 캐나다 등에서 야생 오리, 거위, 백조 및 갈매기 등의 분변에서 ABV를 검출하였다는 보고도 있어(Payne 등, 2012), 국내 야생 조류도 이 바이러스에 감염되어 있을 것으로 생각되며, 이들 야생조류를 통하여 ABV가 전파될 가능성 또한 배제할 수 없을 것으로 사료된다.

본 증례를 통하여 국내에서 PDD에 감염된 애완 앵무새에서 ABV의 감염을 처음으로 확인하였으며, 본 증례에서 이용한 RT-PCR 기법은 PDD 의심환례에서 ABV를 확진하는 진단법으로 활용될 수 있을 것으로 사료된다. 또한 향후 국내 애완조류 및 야생조류에서의 ABV 감염 실태 파악과 함께 ABV의 유전적 특성 조사, 애완조류간 감염 및 전파를 차단하기 위한 역학 및 방제 분야에 대한 추가적인 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

결 론

심한 삭수 및 식욕부진의 증상을 보여 내원한 3개월령 및 9개월령 한스 마코앵무새 2수에 대하여 방사선 검사를 실시한 결과 선위확장증이 의심되어 치료를 실시하였으나 폐사하였다. 부검을 실시한 결과 2수 모두에서 선위의 종대, 흉근의 심한 수축 및 대뇌 피질부의 충혈 소견이 관찰되었다. 이 병의 원인체인 avian bornavirus (ABV) 검출을 위하여 역전사중합효소연쇄반응을 실시한 결과, 뇌, 선위 및 깃털에서 ABV 특이유전자가 검출되었다. 본 증례를 통하여 국내에서 선위확장증에 감염된 한스 마코앵무새에서 ABV가 처음으로 확인되었음을 보고한다.

감사의 글

이 논문은 2013학년도 경북대학교 학술연구비에 의하여 연구되었음.

참 고 문 헌

- Berhane Y, Smith DA, Newman S, Taylor M, Nagy E, Binnington B, Hunter B. 2001. Peripheral neuritis in psittacine birds with proventricular dilatation disease. *Avian Pathol* 30: 563-570.
- de Kloet SR, Dorrestein GM. 2009. Presence of avian bornavirus RNA and anti-avian bornavirus antibodies in apparently healthy macaws. *Avian Dis* 53: 568-573.
- de Kloet AH, Kerski A, de Kloet SR. 2011. Diagnosis of avian bornavirus infection in Psittaciformes by serum antibody detection and reverse transcription polymerase chain reaction assay using feather calami. *J Vet Diagn Invest* 23: 421-429.
- Gray P, Hoppes S, Suchodolski P, Mirhosseini N, Payne S, Villanueva JH, Shivaprasad L, Honkavuori W, Lipkin I, Briese T, Reddy S, Tizard I. 2010. Use of avian bornavirus isolates to induce proventricular dilatation disease in conures. *Emerg Infect Dis* 16: 473-479.
- Gregory CR, Latimer KS, Niagro FD, Ritchie BW, Campagnoli RP, Norton TM, McManamon R, Greenacre CB. 1994. A review of proventricular dilatation syndrome. *J Assoc Avian Vet* 8: 69-75.
- Guo J, Covalada L, Heatley JJ, Baroch JA, Tizard I, Payan SL. 2012. Widespread avian bornavirus infection in mute swans in the Northeast United States. *Vet Med Res Rep* 3: 49-52.
- Honkavuori KS, Shivaprasad HL, Williams BL, Quan PL, Hornig M, Street C, Palacios G, Hutchison SK, Franca M, Egholm M, Briese T, Lipkin WI. 2008. Novel bornavirus in psittacine birds with proventricular dilatation disease. *Emerg Infect Dis* 14: 1883-1886.
- Kerski A, de Kloet AH, de Kloet SR. 2012. Vertical transmission of avian bornavirus in Psittaciformes: avian bornavirus RNA and anti-avian bornavirus antibodies in eggs, embryos, and hatchlings obtained from infected sun conures (*Aratinga solstitialis*). *Avian Dis* 56: 471-478.
- Kistler AL, Gancz A, Clubb S, Skewes-Cox P, Fischer K, Sorber K, Chiu CY, Lublin A, Mechani S, Farnoushi Y, Greninger A, Wen CC, Karlene SB, Ganem D, DeRisi JL. 2008. Recovery of divergent avian bornaviruses from cases of proventricular dilatation disease: identification of a candidate etiologic agent. *Virology* 388: 88.
- Kistler AL, Smith JM, Greninger AL, DeRisi JL, Ganem D. 2010. Analysis of naturally occurring avian bornavirus infection and transmission during an outbreak of proventricular dilatation disease among captive psittacine birds.

- J Virol 84: 2176-2179.
- Lee SY, Jung DI, Kim HJ, Kim JW, Lim CY, Kang BT, Yoo JH, Kim DY, Park HM. 2007. Proventricular dilation disease concurrent with ingluvititis in an Indian Ring-necked Parakeet (*Psittacula krameri manillensis*). J Vet Clin 24: 437-440.
- Lierz M, Hafez MH, Honkavuori KS, Gruber AD, Olias P, Abdelwhab EM, Kohls A, Lipkin WI, Briese T, Hauck R. 2009. Anatomical distribution of avian bornavirus in parrots, its occurrence in clinically healthy birds and ABV-antibody detection. Avian Pathol 38: 491-496.
- Lutz ME, Wilson RB. 1991. Psittacine proventricular dilatation syndrome in an umbrella cockatoo. J Am Vet Med Assoc 198: 1962-1964.
- Mannl A, Gerlach H, Leipold R. 1987. Neuropathic gastric dilatation in psittaciformes. Avian Dis 31: 214-221.
- Payne SL, Delnatte P, Guo J, Heatley JJ, Tizard I, Smith DA. 2012. Birds and bornaviruses. Anim Health Res Rev 13: 145-156.
- Weissenböck H, Bakonyi T, Sekulin K, Ehrensperger F, Doneley RJT, Durrwald R, Hoop R, Erdelyi K, Gal J, Kolodziejek J, Nowotny N. 2009. Avian bornaviruses in psittacine birds from Europe and Australia with proventricular dilatation disease. Emerging Infect Dis 15: 1453-1459.