

< Case Report >

국내 청금강 앵무새(*Ara ararauna*)에서 psittacine beak and feather disease virus 최초 검출

김희정¹ · 강대영¹ · 김은미¹ · 김은직¹ · 이부흥² · 여상건¹ · 박최규^{1*}

경북대학교 수의과대학 & 수의전염병제어센터¹, 굿닥터동물병원²

Detection of psittacine beak and feather disease virus from a caged blue and yellow macaw (*Ara ararauna*) in Korea

Hee-Jung Kim¹, Dae-Young Kang¹, Eun-Mi Kim¹, Eun-Gik Kim¹, Bu-Heung Lee², Sang-Geon Yeo¹, Choi-Kyu Park^{1*}

¹College of Veterinary Medicine & Animal Disease Intervention Center, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea, ²Good Doctor Animal Hospital, Anyang 431-815, Korea

(Received 21 July 2014; revised 22 August 2014; accepted 5 September 2014)

Abstract

A eight-month-old blue and yellow macaw (*Ara ararauna*) with psittacine beak and feather disease (Pbfd)-suspected signs, such as, abnormal feather, depression and diarrhea, was presented to Animal Disease Intervention Center, Kyungpook National University in 16 April 2014. The partial ORF VI gene of Pbfd virus (PbfdV) was detected by polymerase chain reaction (PCR) from DNA templates extracted from feather, blood and cloacal swab sample of the bird, but no other viral DNAs that often infected in psittacine birds including avian bornavirus and avian polyomavirus were detected from the samples of the bird, indicating this case is due to single infection of PbfdV. Nucleotide sequence analysis of the amplified partial ORF VI gene was confirmed to have 96.7% and 93.6% homology with that of previously reported PbfdV strain (Genbank no. HM748924 and FJ685980). This report describes the first detection of PbfdV in Pbfd-suspected blue and yellow macaw in Korea.

Key words : Psittacine beak and feather disease (Pbfd), Blue and yellow macaw, Polymerase chain reaction (PCR)

서 론

Psittacine beak and feather disease (Pbfd)는 야생 및 사육 앵무새 종에서 가장 흔히 발생하는 질병으로 현재 전 세계적으로 발생하고 있다(Pare와 Robert, 2007; Sarker 등, 2014; Varsani 등, 2011). Pbfd는 앵무새 종에서만 발생하며, 감염된 앵무새의 품종과 연령 및 숙주의 면역반응에 따라 감염의 경과가 달라진다(Pass와 Perry 1984; Raidal과 Cross, 1995; Todd, 2000).

Pbfd의 잠복기는 3주에서 1년까지 다양하지만 갓 태어난 앵무새인 경우에는 심급성으로 경과하여 별다른 임상증상 없이 급사하며, 포유종이거나 어린 앵무새에서 나타나는 급성형의 경우에는 깃털의 발육 장애, 괴사나 출혈 소견과 함께 침울, 설사, 쇠약 등의 증상을 보이며, 2~3주안에 폐사하기도 한다. 반면, 성장한 앵무새인 경우에는 별다른 임상증상 없이 감염에서 회복되거나 만성형으로 경과하여 깃털의 위축과 면역억압 증상을 나타내며, 드물게 부리나 발톱에 병변을 나타낸다(Pare와 Robert, 2007). 만약 면역억압에 의한 2차 감염이 있을 경우에는 추가적인 임

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

상증상을 유발하여 치명적인 결과를 초래할 수도 있다 (Ritchie, 1995; Pare와 Robert, 2007). PBFDF의 원인체인 PBFDF 바이러스(PBFDV)는 씨코비리데과(*Circoviridae*)에 속하는 DNA 바이러스로 감염된 조류에서 다량으로 배설되며, 외부환경에 대한 저항성이 강하기 때문에 일단 감염이 확인된 앵무새 집단에서 상재화되는 경향을 나타낸다(Pare와 Robert, 2007). 이와 같이 PBFDF는 세계적으로 다양한 앵무새종에서 발생하고 있으나 국내에서는 현재까지 PBFDF에 대한 발생 보고가 없었다. 이번 증례에서는 PBFDF의 임상증상을 나타내는 청금강 앵무새(*Ara ararauna*)로부터 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction; PCR)으로 국내 최초로 PBFDV를 검출하였기에 보고하는 바이다.

증 례

2014년 4월 7일 설사, 쇠약 및 침울 증상과 함께 깃털의 이상을 나타내는 8개월령의 청금강 앵무새(*Ara ararauna*) 1수가 경기도 안양 소재 G 동물병원에 내원하였다. 내원한 앵무새는 전신의 깃털 상태가 불량하였으며, 특히 날개와 가슴 및 목 부위의 깃털 소실과 발육장애가 심각하였고, 목 부위의 깃털에서는 기형 소견이 관찰되었다(Fig. 1). 해당 동물병원에서는 2차적인 감염을 예방하기 위해 비타민 복합제제와 항생제(amoxicillin-clavulanic acid, Doxycycline 및 fluconazole)를 투여하였고, 그 결과, 설사 및 쇠약 증상이 호전되고, 식욕도 정상으로 회복되었으나 깃털의 증

상은 호전되지 않아 2014년 4월 16일 경북대학교 수의전염병제어센터에 진단을 의뢰하였다. 해당 앵무새로의 임상증상(침울, 설사, 전신의 깃털 소실, 발육장애 및 기형)으로 보아 내원 앵무새가 PBFDF에 이환된 것으로 추정되었고, 해당 앵무새의 깃털, 혈액 및 총배설강 도말시료를 채취하여 시판 핵산추출키트(RNA extraction kit, Inclone biotech, Korea)를 이용하여 DNA를 추출한 다음, Ypelaar 등(1999)의 방법에 따라 PCR을 실시하였다. PCR에 사용한 primer는 PM-F1(5'-AACCCTACAGACGGCGAG-3')와 PM-R1(5'-GTCACAGTCCTCCTGTACC-3')로 이 primer를 이용할 경우 PBFDV의 증식에 관여하는 ORF V1 유전자 중 717 bp 단편을 증폭하게 된다. PCR 조건은 95°C에서 2분간 전처리한 다음, 35회전의 PCR 증폭 과정(95°C에서 30초간 denaturation, 55°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 45초간 extension)을 거친 다음, 72°C에서 10분간 최종 처리하였다. PCR 증폭산물을 1.5% agarose gel 전기영동을 실시하여 분획한 다음, UV trans-illuminator (Bio-Rad, USA)을 이용해 특이 유전자 단편의 증폭 여부를 확인하였다. 그 결과, 해당 앵무새의 깃털, 혈액 및 분변시료에서 공히 717 bp의 특이 유전자가 증폭되어 해당 개체가 PBFDV에 감염되었음을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 또한 PBFDV 이외 앵무새종에서 흔히 감염되는 것으로 알려진 바이러스성 질병의 감염 여부를 확인하기 위하여 이전 연구자들의 방법에 따라 avian polyoma virus (Johne과 Müller, 1998)와 avian bornavirus (Guo 등, 2012)의 검출을 위한 PCR을 실시한 결과(Fig. 2), PBFDV 이외

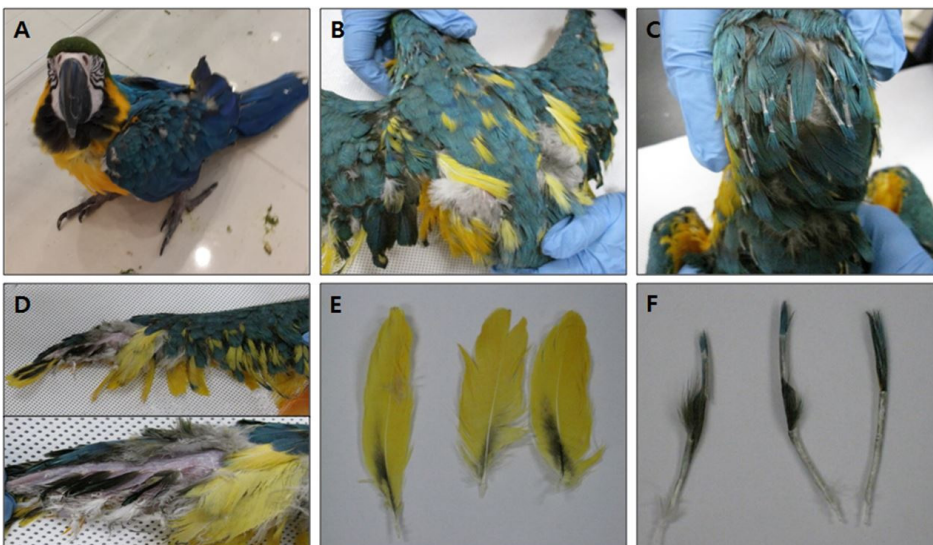


Fig. 1. Clinical signs of a eight-month-old blue and yellow macaw affected with PBFDF. (A and B) Loss and deformity of the contour and down feather. (C) Feather dystrophy on the neck. (D) Loss and dystrophy on the wing feather. (E and F) Mild and severe dystrophy of feather.

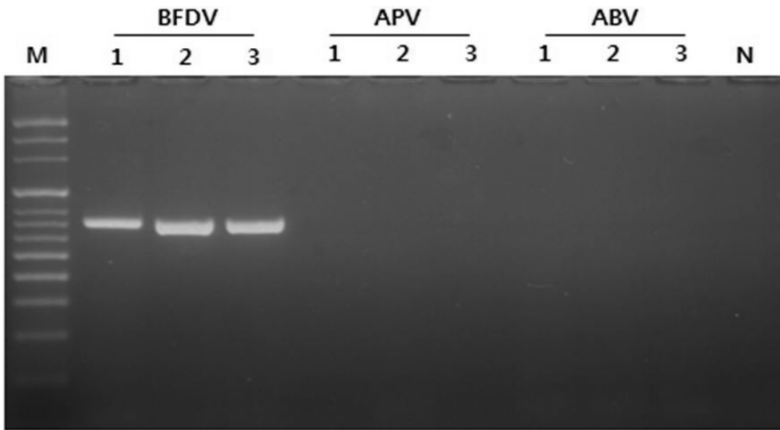


Fig. 2. Detection of psittacine beak and feather disease virus (PBFDV) and avian polyomavirus (APV) and avian bornavirus (ABV) from the PBFD-affected blue and yellow macaw by PCR. Lane M, 100 bp DNA ladder; Lane NC, negative control; Lane 1, 2 and 3, amplified results from feather, blood and cloacal swab samples of the bird, respectively.

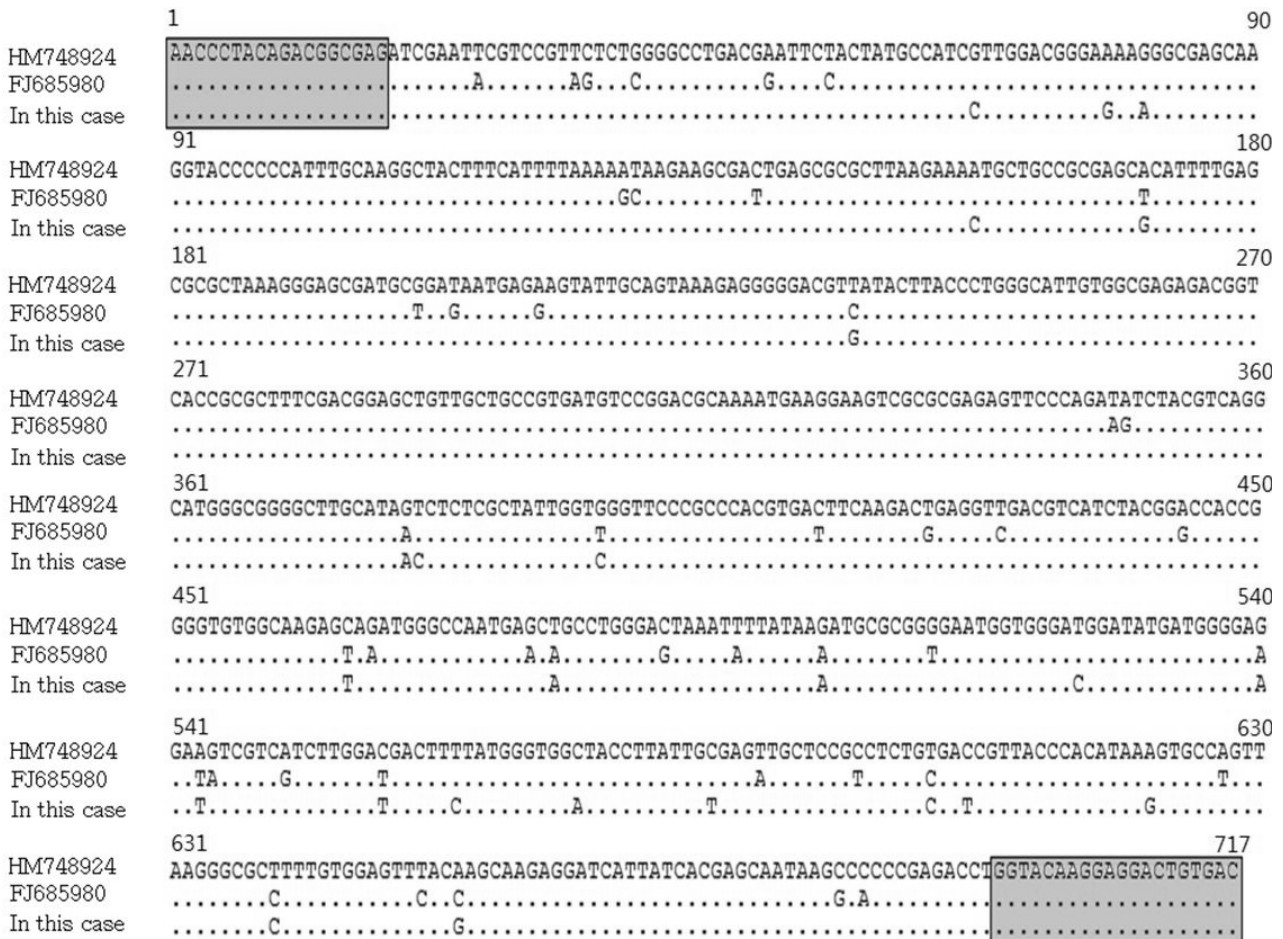


Fig. 3. Nucleotide sequence of partially amplified ORF V1 genes of psittacine beak and feather disease virus in this study. The boxes indicate primer sequences for PCR.

다른 바이러스는 확인되지 않아 이번 증례는 PBFDV 단독감염에 의한 것으로 확인되었다. 증폭된 DNA를 핵산 분석 전문업체(Cosmogenetech co Inc. Daejeon, Korea)에 의뢰하여 염기서열을 분석한 다음, Genbank에 등록하였고(Genbank No. KM409545), DNASTA

Lasergene (DNASTAR Inc. USA)를 이용하여 기존에 보고된 PBFDV의 ORF V1 유전자의 핵산 염기서열과 비교분석한 결과, Varsani 등(2011)이 보고한 PBFDV 유전자들(Genbank No. HM748924 및 FJ685980)과 96.7% 및 93.6% 일치하였다(Fig. 3).

고 찰

PBFD는 세계적으로 다양한 야생 및 사육 앵무새 종에서 발생 보고되고 있으나(Sarker 등, 2014; Varsani 등, 2011) 현재까지 한국에서는 PBFD 감염 사례에 대한 보고가 없었다. 2014년 4월 16일에 PBFD의 특징적인 임상증상인 깃털 손상 및 기형 소견을 보이는 8개월령의 청금강 앵무새가 살아있는 상태로 경북대학교 수의전염병제어센터로 의뢰되었고(Fig. 1), 해당 앵무새의 깃털, 혈액 및 총배설장 도말시료에 대하여 PCR을 실시한 결과(Fig. 2), 717 bp의 PBFDV의 특이 유전자가 증폭되어 국내 최초로 PBFD 감염 사실이 확인되었다.

PBFD는 1970년대 호주의 앵무새에서 처음 보고된 이후(Pass와 Perry, 1984), 유럽, 아시아, 북미, 아프리카 등 세계적으로 발생이 확인되었으며(Jackson 등, 2014; Katoh 등, 2010; Khalesi 등, 2005; Kiatipattanasakul- Banlunara 등 2002), 애완 앵무새의 국가간 교역에 따라 앵무새를 사육하는 대부분의 나라에서 발생하고 있을 것으로 추정된다(Harkins 등, 2014; Varsani 등, 2011). 한국에서도 애완 앵무새 사육 인구가 늘어남에 따라 외국으로부터의 앵무새 수입이 늘어나고 있다. 농림축산검역본부의 수입동물 통계에 의하면 최근 3년간(2011~2013) 15,580수의 앵무새가 대만, 필리핀, 네덜란드, 스페인, 미국 및 캐나다 등지로부터 수입된 바 있으나 아직 수입 앵무새의 질병에 대한 체계적인 검역 및 검사는 이루어지지 않고 있다. 따라서 외국의 예와 마찬가지로 우리나라에도 수입 앵무새를 통하여 이 질병이 유입되었을 것으로 추정되며, 향후 수입 앵무새에 대한 질병 검사가 강화되어야 할 것으로 생각된다.

PBFDV에 감염된 앵무새는 분변, 깃털 비듬, 소변 분비물로 다량의 바이러스를 배설하여 수평전파가 용이하며, 알을 통한 수직전파 또한 가능하다. 또한 PBFD에 이환된 앵무새는 회복된 후 장기간 바이러스를 배설하는 보균축이 되어 사육집단 내에서 바이러스를 전파하는 감염원으로 작용하게 된다(Latimer 등, 1991; Pare와 Robert, 2007; Ritchie 등 2003). PBFD의 잠복기가 3주~1년임을 고려할 때(Pare와 Robert, 2007), 이번 증례의 8개월령의 앵무새는 사육자가 입식하기 이전 앵무새 사육장이나 판매장에서 감염되어 왔을 가능성이 높을 것으로 판단된다. 이는 이번 증례를 통하여 국내에서 PBFD 감염사례가 처음 확인되기는 하였으나 이미 국내 사육 앵무새 집단에 PBFD

가 감염되고 있었다는 것을 시사한다. 따라서 향후 국내 앵무새 종에서의 PBFD의 전파를 사전에 차단하기 위한 체계적인 조사가 필요할 것으로 판단된다.

PBFD는 감염 앵무새의 임상증상과 병변만으로도 1차적인 진단이 가능하지만 해당 병변으로부터 바이러스나 바이러스 항원 또는 핵산을 증명함으로써 확진한다(Pare와 Robert, 2007). 감염 폐사한 앵무새의 경우에는 병변조직으로부터 전자현미경으로 바이러스 입자를 검출하거나 조직학적 검사를 통하여 진단이 가능한 반면, 살아 있는 앵무새인 경우에는 시료 채취 범위가 한정되기 때문에 주로 깃털, 분변 및 혈액 시료에서 바이러스 유전자를 증명하거나 혈액시료에서 혈구응집반응으로 바이러스의 존재 여부를 진단하기도 한다(Hess 등, 2004; Khalesi 등, 2005; Pare와 Robert, 2007). 이번 증례에서는 해당 앵무새가 살아있는 상태이었기 때문에 깃털, 혈액 및 총배설장 도말시료를 채취하여 Ypelaar 등(1999)의 방법에 따라 PCR을 실시하였고, 해당 시료에서 공히 PBFDV의 특이 유전자를 검출할 수 있었다(Fig. 2). Hess 등(2004)은 감염된 앵무새에 대하여 경시적으로 깃털, 혈액 및 총배설장 도말시료를 채취하여 PCR을 실시한 결과, 깃털 시료에서 가장 안정적으로 바이러스를 검출할 수 있었다고 보고하였다. 따라서 향후 국내 앵무새 사육집단에 대한 질병 조사를 실시할 경우, 생축의 깃털을 채취하여 PCR을 실시하는 방법이 가장 우선적으로 고려되어야 할 것으로 보인다.

이번 증례에서 PCR로 증폭된 PBFDV ORF V1 유전자 단편에 대한 핵산 염기서열을 분석하여 Varsani 등(2011)이 보고한 각국의 다양한 앵무새 종에서 분리한 PBFDV의 ORF V1 유전자 핵산 염기서열과 비교한 결과, 2008년 남아프리카의 아마존 앵무새(*Amazona* sp.) 분리주(GenBank accession no. HM748924)와 96.7%로 가장 높은 상동성을 나타내었으며, 2006년 청금강 앵무새에서 분리된 태국분리주(GenBank no. FJ685980)와는 93.6%의 비교적 낮은 상동성을 나타내었다(Fig. 3). PBFDV는 국가 및 지역별로 다양한 유전적 변이주가 존재하며, 동일지역 내에서도 서로 다른 앵무새종간에 전파가 이루어지면서 유전적 다양성이 매우 높은 것으로 보고되고 있기 때문에(Bassami 등, 2001; Sarker 등, 2014; Varsani 등, 2011) 종이 다른 앵무새 분리주와 상동성이 나타난 것은 결코 이례적인 결과는 아니라고 생각된다. 아직 한국에는 PBFDV에 대한 유전자 정보가 이번 증례 이외에는 없기 때문에 비교분석 자체가 불가능하지만 앞으로 다양한 앵무새 종에 대한

PBFDV 조사와 함께 유전자 정보가 확보된다면 한국에서도 다양한 유전형의 PBFDV가 확인될 가능성이 높을 것으로 판단된다.

결 론

깃털 이상, 침울 및 설사 증상 등 psittacine beak and feather disease (PBFD) 의심 증상을 보이는 8개월령의 청금강 앵무새가 경북대학교 수의전염병제어센터에 의뢰되었다. 해당 앵무새의 깃털, 혈액 및 총배설강 도말시료로부터 DNA를 추출하여 PCR을 실시한 결과, PBFD의 원인체인 PBFD 바이러스가 검출되었으며, 앵무새종에 흔히 감염되는 다른 바이러스성 질병 즉, avian bornavirus, avian polyomavirus는 검출되지 않아 이번 증례는 PBFDV 단독감염에 의한 증례로 확인되었다. 증폭된 PBFDV ORF V1 유전자에 대한 핵산 염기서열 분석결과, 이전에 보고된 PBFDV의 해당 유전자(GenBank no. HM748924 및 FJ685980)와 96.7% 및 93.6% 일치하는 것으로 확인되었다. 이번 증례를 통하여 국내 애완 앵무새 종에서 PBFDV가 처음으로 확인되었음을 보고하며, 향후 국내 앵무새종에서의 PBFD 발생현황 파악, 바이러스의 특성조사, 질병의 유입 차단을 위한 검역기술 개발 등에 대한 체계적인 연구와 조사가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 가축질병대응기술개발사업(과제번호: 313060-03-1-HD020), 생명산업 기술개발사업(과제번호 311007-5) 및 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ009410)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

참 고 문 헌

농림축산검역본부, 수출입 동축산물 검역검사현황: http://eminwon.qia.go.kr/statistics/statistics_No2.jsp
 Bassami MR, Ypelaar I, Berryman D, Wilcox GE, Raidal SR. 2001. Genetic diversity of beak and feather disease virus detected in psittacine species in Australia. *Virology* 279: 392-400.
 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.
 Harkins GW, Martin DP, Christoffels A, Varsani A. 2014. Towards inferring the global movement of beak and feather disease virus. *Virology* 450-451: 24-33.
 Hess M, Scope A, Heincz U. 2004. Comparative sensitivity of polymerase chain reaction diagnosis of psittacine beak and feather disease on feather samples, cloacal swabs and blood from budgerigars (*Melopsittacus undulatus*, Shaw 18005). *Avian Pathol* 33: 477-481.
 Jackson B, Harvey C, Galbraith J, Robertson M, Warren K, Holyoake C, Julian L, Varsani A. 2014. Clinical beak and feather disease virus infection in wild juvenile eastern rosellas of New Zealand; biosecurity implications for wildlife care facilities. *N Z Vet J* 62: 297-301.
 John R, Müller H. 1998. Avian polyomavirus in wild birds: genome analysis of isolates from Falconiformes and Psittaciformes. *Arch Virol* 143: 1501-1512.
 Katoh H, Ogawa H, Ohya K, Fukushi H.A. 2010. A review of DNA viral infections in psittacine birds. *J Vet Med Sci* 72: 1099-1106.
 Khalesi B, Bonne N, Stewart M, Sharp M, Raidal S. 2005. A comparison of haemagglutination, haemagglutination inhibition and PCR for the detection of psittacine beak and feather disease virus infection and a comparison of isolates obtained from lorids. *J Gen Virol* 86: 3039-3046.
 Kiatipattanasakul-Banlunara W, Tantileartcharoen R, Katayama K, Suzuki K, Lekdumrogsak T, Nakayama H, Doi K. 2002. Psittacine beak and feather disease in three captive sulphur-crested cockatoos (*Cacatua galerita*) in Thailand. *J Vet Med Sci* 64: 527-529.
 Latimer KS, Rakich PM, Steffens WL, Kircher IM, Ritchie BW, Niagro FD, Lukert PD. 1991. A novel DNA virus associated with feather inclusions in psittacine beak and feather disease. *Vet Pathol* 28: 300-304.
 Pare JA, Robert N. 2007. Circovirus. pp. 194-199. In: Thomas NJ, Hunter DB, Atkinson CT (ed.). *Infectious Diseases of Wild Birds*. 1st ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa.
 Pass, DA, Perry. RA. 1984. The pathology of psittacine beak and feather disease. *Aust Vet J* 61: 69-74.
 Raidal SR, Cross GM. 1995. Acute necrotizing hepatitis caused by experimental infection with psittacine beak and feather disease virus. *J Avi Med Surg* 9: 36-40.
 Ritchie BW. 1995. Circoviridae. pp. 223-252. In: *Avian Viruses, Function and Control*, Ritchie BW. (ed.). Wingers Publishing, Inc. Lake Worth, Florida.
 Ritchie PA, Anderson IL, Lambert DM. 2003. Evidence for specificity of psittacine beak and feather disease viruses among avian hosts. *Virology* 306: 109-115.
 Sarker S, Ghorashi SA, Forwood JK, Bent SJ, Peters A, Raidal SR. 2014. Phylogeny of beak and feather disease virus in cockatoos demonstrates host generalism and multiple-variant infections within Psittaciformes. *Virology* 460-461: 72-82.
 Todd D. 2000. Circoviruses: Immunosuppressive threats to avian

- species: A review. *Avian Pathol* 29: 373-394.
- Varsani A, Regnard GL, Bragg R, Hitzeroth II, Rybicki EP. 2011. Global genetic diversity and geographical and host-species distribution of beak and feather disease virus isolates. *J Gen Virol* 92: 752-767.
- Ypelaar I, Bassami MR, Wilcox GE, Raidal SR. 1999. A universal polymerase chain reaction for the detection of psittacine beak and feather disease virus. *Vet Microbiol* 68: 141-148.