

최근 부산지역에서 유행하는 설사유발 Norovirus 유전자형에 관한 연구('08~'10)

김남호[†] · 민상기 · 박은희 · 박연경 · 진성현 · 류병순
역학조사과

Study on Gastroenteric Norovirus Genotypes in Busan, Korea, from 2008 to 2010.

Nam-Ho Kim[†], Sang-Kee Min, Eun-Hee Park, Yon-Koung Park Seong-Hyun Jin and Byung-Soon Ryu
Epidemiology Division

Abstract

Norovirus (NoV) cause major acute non-bacterial gastroenteritis in humans. NoV genus is a member of the family Caliciviridae, which is transmitted by contaminated food and water or human to human. Many genotypes of genogroup I and II have been reported, because of high genetic diversity. To obtain the molecular epidemiological information on gastroenteritis sporadic cases in Busan, Korea, we analyzed the nucleotide sequences of NoV strains detected during 2008~2010. We performed one step RT-PCR amplifying the open reading frame (ORF) 2 (capsid region) followed by semi-nested PCR. Fecal samples were collected from 4,071 acute gastroenteritis and genotypes of the 421 positive samples were determined by sequence analysis. Based on partial sequence of capsid region, NoV was resolved into 7 of genogroup I and 13 of genogroup II. Prevalent genotypes among gastroenteritis patients within the Busan were GII.4, GI.6, GII.5 in 2008~2010. The results of this study will contribute to accumulate the currently available epidemiological data and improve public health and hygiene via development of diagnostic methods and sustainable surveillance.

Key Words : Norovirus, Gastroenteritis, Genotype

서 론

바이러스성 설사질환의 주요 병원체로는 로타바이러스, 노로바이러스, 장 아데노바이러스, 아스트로바이러스 등이 있다¹⁾. 노로바이러스는 미국 오하이오주 Norwalk 지방에서 발생한 집단 식중독에서 그 지역의 지명을 따서 Norwalk virus로 불리기 시작하였으며, 정확한 바이러스의 분류가 이루어지기 전에는 형태학적으로 유사한 소형의 구형바이러스들과 더불어 Small Round Structural Virus (SRSV)로 총칭되었다^{2,3)}. 이후 International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)에서 바이러스의 유전자 염기서열, 유전자의 구성, 숙주동물의 특성 분석을 통한 분류법에 의거하여 Norwalk-like virus는 norovirus로 Sapporo-like virus는 sapovirus로 명명되어 사용되고 있다⁴⁾. Norovirus는 Sapovirus, Lagovirus, Vesivirus 등과 함께 Caliciviridae에 속하는 7.5 kb의 single

positive stranded RNA 바이러스로서 유전자는 세 개의 단백질 (open reading frame)을 코딩하는 것으로 알려져 있다. Norovirus는 capsid 부위와 RNA dependent RNA polymerase (RDRP)의 조성에 따라 5개의 Genogroup (I, II, III, IV, V)으로 분류되며, 대부분의 인체 감염은 GI군, GII군에 의한 것으로 알려져 있다^{5,6,7,8)}. 유전자형은 변이 정도에 따라 GI군은 14종, GII군은 17종으로 알려져 있으나, 최근 새로운 아형이 검출되어 GI군은 15종, GII군은 18종으로 분류되기도 한다^{9,10,11,12)}. 노로바이러스는 12~48시간의 잠복기를 거쳐 메스꺼움, 구토, 설사, 복통의 주요 증상을 나타내며 드물게는 두통, 오한 및 근육통을 유발하기도 한다. 증상은 보통 1~2일 정도로 짧게 나타나지만, 하루에도 몇 번씩 구토 등의 심각한 증세를 보이기도 한다¹³⁾. 노로바이러스는 1차적으로 경구에서 분변의 경로로 전파될 뿐만 아니라 오염된 식품, 물 등을 매개로 하여 전 연령층에서 집단 발병의 원인체로도 작용한다^{14,15,16,17,18,19)}. 전염성이 강하여 병원 내 감염, 유람선,

[†]Corresponding author. E.mail : brave1210@korea.kr
Tel : +82-51-757-6936, Fax : +82-51-753-1424

놀이방, 거주지 등의 밀집된 환경 내에서 감염자와의 접촉으로 공기전염이나 오염된 바닥을 통한 전파로 폭발적인 유행의 형태를 보이기도 하여 이로 인한 2차 발병율이 30% 이상이라는 보고도 있다^{20,21}. 주로 영유아에서 문제가 되는 다른 바이러스성 위장관염과는 달리 노로바이러스는 모든 연령층에서 감염이 높고 집단 식중독을 일으키는 주요한 원인 병원체란 점에서 사회적으로 문제가 되고 있다^{17,22,23,24}. 1990년대 말 미국에서 대규모로 발생한 식중독의 93%가 노로바이러스가 원인 병원체로 드러났으며, 같은 시기 영국에서 발생한 비 세균성 설사증의 85%가 노로바이러스에 의한 것으로 연구결과가 보고된 바 있다^{25,26}. 최근의 연구 결과들은 노로바이러스, 특히 GII.4형이 식중독뿐만 아니라 일상적인 감시에서도 꾸준히 증가하고 있음을 보여주고 있으며, 이러한 현상은 산업화된 국가들에서 공통적으로 보고되고 있다^{19,26,27}. 세계화 추세에 따른 국가간 인적, 물적 교류가 증가함에 따라 각종 질환들 또한 보다 빠르게 광범위한 지역에서 창궐하는 경향이 있다. 2002년 겨울에 오염된 굴 섭취로 인해 이탈리아와 프랑스에서 노로바이러스 식중독이 발생한 사례가 있었으며²⁷, 2003년 11월부터 2004년 1월까지 호주에서 발생한 노로바이러스 설사증 창궐 또한 오염된 수입 굴에 의한 것으로 밝혀졌고²⁸, 한국산 굴에 의한 노로바이러스 식중독이 뉴질랜드에서 보고되기도 하였다²⁹. 또한 2006년 독일 월드컵 기간 중 국제방송센터에서 세계 각국 61명이 노로바이러스와 관련된 식중독에 감염된 적 있다³⁰. 외식산업의 발달과 학교 또는 회사 등 단체급식의 비중이 날로 높아지면서 식중독 사고의 파괴력은 과거에 비해 더욱 커졌으며, 숙주세포 밖에서는 증식하지 못한다는 바이러스의 특징^{31,32}을 고려할 때 이에 대한 적절한 검출방법의 개선이 필요하겠으며, 적절한 음식물 보관이나 조리실의 청결 등 전통적인 위생상태 향상만으로는 노로바이러스에 의한 식중독을 제어하기는 어렵다. 이에 2000년 이후부터 국립보건연구원에서는 설사원인 병원체에 의한 국내 발생현황을 지속적으로 감시하고자 전국 16개 시도 보건환경연구원에 의해 급성설사질환 감시사업이 진행되고 있다. 특히 집단 급식과 같은 대형 식중독을 일으키는 바이러스성 장염의 원인 병원체로 대두되고 있는 노로바이러스의 조기 검출을 위하여 2004년부터 바이러스성 설사질환 감시체계를 수행하여 노로바이러스에 의한 원인 병원체의 조기 검출이 용이하게 되었다.

본 연구는 2008년부터 2010년까지 3년간 부산지역에서 산발적으로 발생한 급성 위장관염 검체를 대상으로 노로바이러스를 검출하여 유전자형을 분석하였다. 다양하게 검출된 유전자형을 통해 연도별, 연령별, 계절적 특성을 파악하였으며, 노로바이러스의 분자 역학적 특성을 규명하여 새로운 유전자형의 유입을 조기에 탐지하고 최근 집단 식중독 등으로 인한 사회경

제적 피해예방 및 홍보에 대한 자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

분변가검물 전처리

2008년 1월부터 2010년 12월까지 부산 관내 7개 병원에서 임상소견에 의해 급성 장관염으로 의심되는 환자의 분변가검물을 수집하여 2008년 1,506건, 2009년 1,384건, 2010년 1,211건으로 총 4,101건의 분변가검물을 사용하였다. 분변가검물 1g을 멸균된 9mL phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4, Sigma, USA)에 3~4개의 glass beads를 넣고 진탕하여 부유된 가검물을 4°C에서 20분간 3,000 rpm (UNION 32R PLUS, Hanil, Korea)으로 원심 분리하여 상층액을 본 연구에 사용하였다.

노로바이러스 RNA 추출

Norovirus의 RNA를 추출하기 위해 QIAamp viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Germany)를 사용하였다. Carrier RNA가 첨가된 Buffer AVL 560 μ L를 1.5ml microcentrifuge tube에 부진한 후 검체 140 μ L를 넣어 15초간 vortex하여 실온에서 10분간 반응시킨다. 짧게 원심분리하여 뚜껑에 있는 droplet을 떨어뜨린 후 100% 에탄올 560 μ L를 첨가한 후 15초간 vortex한다. vortex한 용액 630 μ L을 QIAamp spin column에 옮긴 후 8,000 rpm에서 1분간 원심분리한다. Spin column 아래 수집된 용액을 제거한 후 앞의 과정을 1회 더 실시한다. Spin column 아래 수집된 용액을 제거한 후 500 μ L Buffer AW1 첨가 후 8,000 rpm, 1분간 원심분리한다. Spin column 아래 수집된 용액을 제거한 후 500 μ L Buffer AW2 첨가 후 14,000 rpm, 3분간 원심분리한다. Spin column을 새 tube에 꽂은 후 60 μ L Buffer AVE를 첨가한 후 실온에서 1분간 정치한 후 8,000 rpm으로 1분간 원심해서 RT-PCR을 위한 주형으로 사용하였다.

노로바이러스 유전자 검출

One step RT-PCR

Onestep RT-PCR을 위해 국립보건연구원에서 분양된 primer 조건에 따라 수행하였다(Table 1). RNA template 2 μ L에 2X RT-PCR Master mix 12.5 μ L, 노로바이러스 RNA polymerase와 capsid 부위에서 유래한 sense primer와 antisense primer를 각각 2 μ L (10pmol), DW 6 μ L를 넣어 총 25 μ L를 반응액으로 사용하였다. 유전자 증폭을 위해 Thermal cycler (C-1000 thermal cycler, BIO-RAD, USA)

Table 1. The sequence of primer sets used for the detection of Norovirus in this study

| Genogroup | Primer | Primer Sequence (5'-3') | Position |
|------------------|---------|--------------------------|----------|
| Norovirus GI | GI-F1M | CTGCCCGAATTYGTAATGATGAT | 5342 |
| | GI-R1M | CCAACCCARCCATTRTACATYTG | 5671 |
| | GI-F2 | ATGATGATGGCGTCTAAGGACGC | 5357 |
| Norovirus GII | GII-F1M | GGGAGGGCGATCGCAATCT | 5058 |
| | GII-R1M | CCRCCIGCATRICRTRTACAT | 5401 |
| | GII-F3 | TTGTGAATGAAGATGGCGTCGART | 5088 |

를 이용하여 47°C에서 40분간 reverse transcription (RT)을 수행하여, 94°C 15분 동안 denaturation 반응시킨 뒤 94°C 30초, 54°C 30초, 72°C 45초로 35 cycle을 반복한 후 72°C에서 7분간 extension하였다.

Semi-nested PCR

Nested PCR은 RT-PCR 산물 2 μ L를 이용하여 10 X PCR reaction buffer, 2.5 mM dNTP, 20 pmol primer, 1U Taq polymerase (Bioneer, Korea)를 넣어서 50 μ L 반응액을 제조한 후 실험에 사용하였다. 94°C에서 3분간 denaturation 반응시킨 후 94°C 30초, 56°C 30초, 72°C 45초로 25 cycle을 반복한 후 72°C에서 7분간 반응시켰다. PCR생성물(5 μ L)은 prestaining (SYBR safe, Invitrogen, USA)된 1.5% agarose gel (TaKaRa, Japan)에 100 bp DNA ladder (TaKaRa, Japan)와 함께 loading 하고 25분간 전기영동 (Advance, Japan)하여 Image analyzer (Geldoc XR image system, BIO-RAD, USA)로 GI-314, GII-313 bp band를 확인하였다.

노로바이러스 유전형 분석

노로바이러스 유전형 분포양상을 분석하기 위하여 2008년부터 2010년까지의 노로바이러스 유전자 검출 결과 양성으로 확인된 검체 426건 중에서 노로바이러스 유전형을 분석하여 348건의 결과를 얻었다. RT-PCR 결과 확인된 증폭 산물은 염기서열분석을 위하여 agarose gel에서 가능한 작게 원하는 DNA band를 잘라 1.5 mL tube로 옮긴 후 QIAquick gel Extraction kit (QIAGEN, Germany)를 이용하여 정제하였다. 이 정제과정을 통해 회수된 DNA를 주형으로하여 ABI PRISM Dye terminator (Perkin-Elmer Applied Biosystem, USA)를 사용하여 염기서열을 수행하였다.

결과 및 고찰

노로바이러스 검출

연도별 월별 검출 결과

2008년 1월에서 2010년 12월까지 부산지역에서 산발적으로 발생한 급성 위장관염 환자를 대상으로 노로바이러스 GI군, GII군에 특이적인 유전자로 전체 검사 건수 4,101건 중 10.3%인 426건 양성으로 확인되었다. 연도별 검출현황은 2008년 14.7% (222/1,506), 2009년 6.9% (95/1,384), 2010년 8.8% (109/1,211)로 나타났다.

월별 분석 결과는 2008년에는 3월에 35.7% (50/140), 4월에 31.8% (63/198)로 가장 높은 검출율을 보였고, 2009년 역시 3월이 21.9% (23/105)로 높게 나타났으며, 2010년에는 1월이 23.8% (29/122)로 높은 검출율을 보여 겨울에서 초봄에 노로바이러스가 유행하는 것을 알 수 있었다. 반면 매해 7-8월 여름절기에는 노로바이러스 분리가 거의 없었다 (Fig. 1). 1993년부터 2006년 까지 잉글랜드와 웨일스의 노로바이러스 실험실 실태조사 결과 기온, 습도, 인구의 면역력 등이 노로바이러스와 상관있으며, 춥고 건조하며 인구의 면역력 저하 등이 노로바이러스의 증가에 관여한다는 연구결과가 보고된 바 있다³³⁾. 부산지역의 노로바이러스의 유행 시기는 타 연구결과^{34,35)} 와 같이 11월에서 3월까지 겨울절기에 63.4%의 검출을 보여 부산지역에서도 춥고 건조한 겨울철에 노로바이러스가 유행하는 것을 확인할 수 있었다.

연령별 검출 결과

임상소견에 의해 급성위장관염으로 확인된 검체를 0세 신생아, 1세 영아, 2-6세 소아군, 7-12세 초등학생군, 13-19세 중등학생군, 20-29세, 30-39세, 40-49세, 50-59세, 60-69세, 70세 이상으로 분석한 결과 1세 영아와 13-19세 중등학생군에서 각각 20.9%로 가장 높은 검출율을 나타내었으며, 2-6세 소아군에서 17.5%, 20-29세 13.4%, 7-12세 초

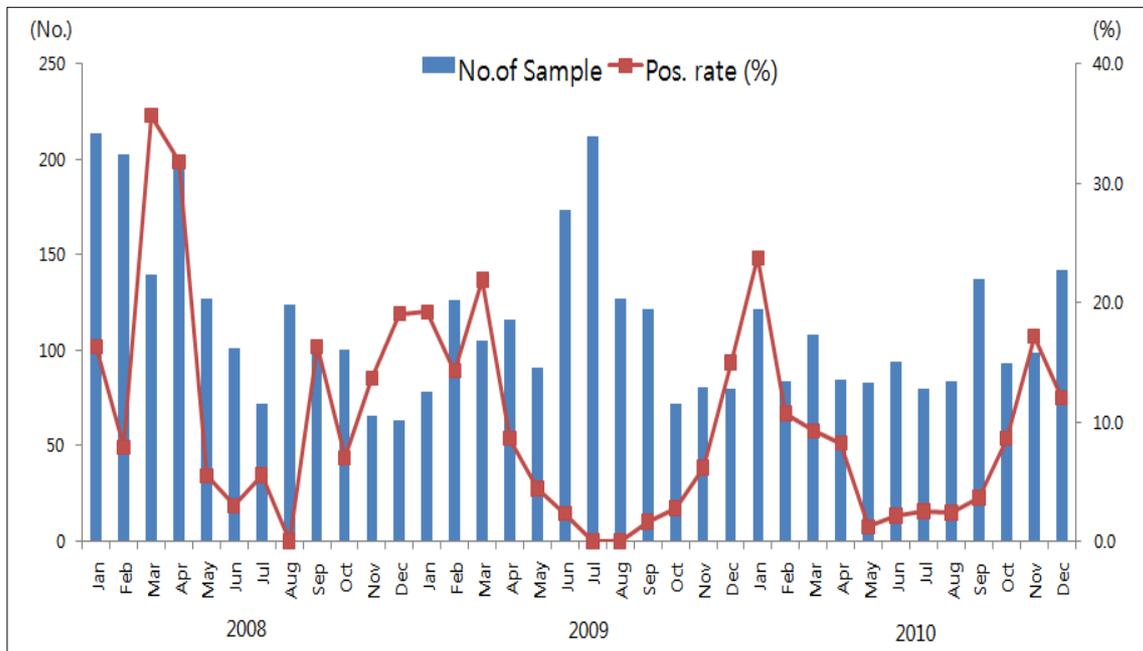


Fig. 1. Monthly distribution of Norovirus-associated gastroenteritis in Busan, Korea, from January 2008 to December 2010.

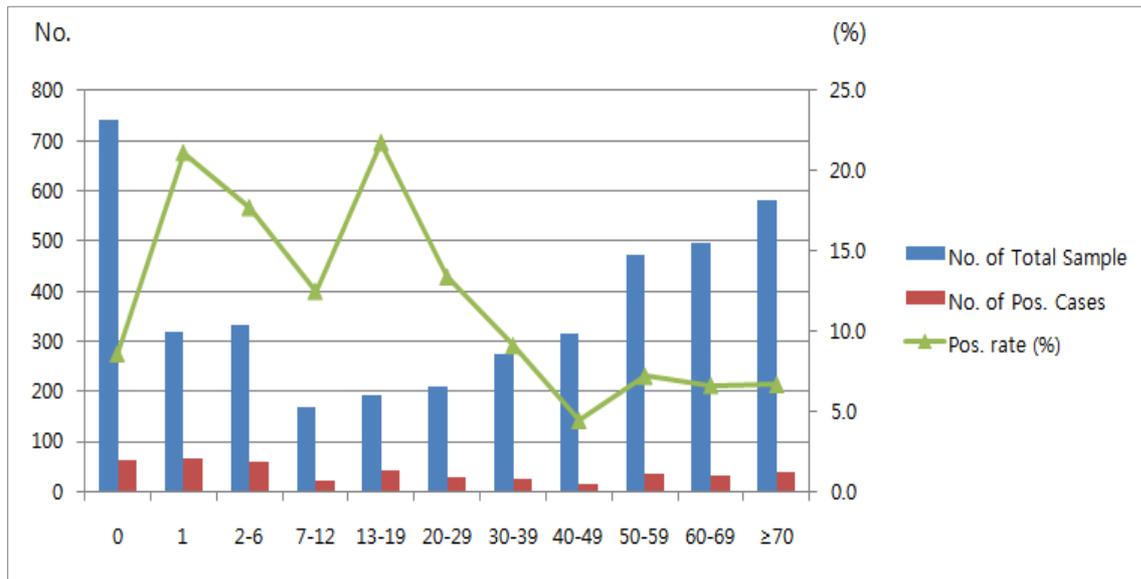


Fig. 2. Age group distribution of studied cases tested for norovirus detection in Busan, Korea, 2008~2010.

등학생군에서 12.7%, 30-39세 9.1%, 0세 신생아 8.7%, 50-59세 7.2%, 60-69세와 70세 이상에서 각각 6.7%, 40-49세 4.5%로 확인되었다(Fig. 2). 주로 영·유아에서 문제가 되고 있는 다른 바이러스성 위장관염과는 달리 노로바이러스는 본 연구와 인천지역, 충남지역에서의 연구결과와 마찬가지로 전 연령층에 걸쳐 감염이 확인되었다^{34,35}.

노로바이러스 유전자형 분포

2008년부터 2010년까지 부산지역에서 발생한 노로바이러스 양성 검체 348건에서 유전자형을 분석한 결과 GI군 7종류, GII군 13종류로 총 20종류가 검출되어 다양한 유전자형의 노로바이러스들이 유행함을 알 수 있었다. 연구결과 부산지역에서는 GI군이 21.8% (76/348), GII군이 78.2% (272/348)로 GII군이 우세하여 유행하였다. 3년간 부산지역에 유행한 노로

바이러스 유전자형을 살펴보면 GI군에서 GI.6형 16.4%로 가장 많이 검출되었으며, 그 외 GI.4형 2.0%, GI.2형, GI.7형, GI.14형 각각 0.9%, GI.5형 0.6%, GI.9형 0.3%의 순으로 나타났다. GII군에서는 GII.4형 49.1%로 가장 많이 검출되었으며, GII.5형 12.4%, GII.3형 6.3%, GII.1형 2.6%, GII.6형 2.0%, GII.2형과 GII.8형이 각각 1.1%, GII.7형 0.9%, GII.9형, GII.12형, GII.13형, GII.17형이 각각 0.6%, 마지막으로 GII.16형이 0.3%의 순으로 확인되었다. 연도별 유전자형 분포를 살펴보면, 2008년에는 2009년과 2010년에 비해 노로바이러스의 검출율이 높았고, 그 중 GI군의 유행이 두드러져 26.8%의 검출율을 보였다. GII군은 2008년부터 2010년까지 꾸준히 GII군의 검출이 높았으며 그 중 GII.4형이 2008년 36.1%, 2009년 68.3%, 2010년 63.7%로 타 유전자형보다 월등히 높은 검출빈도를 보여 3년 동안 부산지역에서 GII군이 꾸준히 검출되었으며, 매해 12~16종의 유전자형이 다양하게 유행하였음을 확인 할 수 있었다(Table 2).

급성 위장관염 바이러스는 최근 분자생물학의 빠른 발전과 진단기술이 발달함에 따라 과거에 진단하지 못했던 원인 병원

체들이 밝혀지고 있다. 국내에서는 집단 급식이 증가되면서 식품, 물 등을 매개로 한 급성 위장관염 및 집단 식중독의 발생빈도가 증가하고 있고, 이에 대한 원인 병원체로 노로바이러스의 공중보건학적인 중요성이 인식되고 있다³⁶⁾.

본 연구는 부산지역에서 2008년부터 2010년까지 관내 병원에 내원한 급성 위장관염 환자를 대상으로 노로바이러스 감염 실태 및 지역에서 유행하고 있는 유전자형의 분포양상을 조사하였다. 본 실험은 ORF1과 ORF2 인접부위에 반응하는 primer를 사용하여 RT-PCR 및 nested PCR을 수행하였으며, 총 340건에서 노로바이러스 유전자형을 확인할 수 있었으며, GI군이 21.8% (76건), GII군이 78.2% (272건)로 GII군이 부산지역에서 유행을 주도한 주요한 원인 병원체로 드러났다.

2005년부터 2007년까지 인천지역에서 유행한 노로바이러스 유전자형 실태조사 결과 GI군이 0.6%, GII군이 99.4%로 확인된 결과와는 차이가 있었으며³⁴⁾, 2008년 충남지역 노로바이러스 유전자형 실태조사 결과 GI군이 3.3%, GII군이 96.7%로 확인된 결과³⁵⁾와도 차이가 있어 노로바이러스 유전자형 유행 현황은 시기적, 지역적 차이가 있는 것으로 보인다.

Table 2. Annual genotypic distribution of norovirus in Busan, Korea, 2008~2010

| Genogroup Genotype | | 2008 | | 2009 | | 2010 | | total | |
|--------------------|--------|------|-------|------|-------|------|-------|-------|-------|
| | | No. | (%) | No. | (%) | No. | (%) | No. | (%) |
| GI | GI.2 | 1 | 0.5 | 1 | 1.6 | 1 | 1.1 | 3 | 0.9 |
| | GI.4 | 5 | 2.6 | 2 | 3.2 | | | 7 | 2.0 |
| | GI.5 | 2 | 1.0 | | | | | 2 | 0.6 |
| | GI.6 | 52 | 26.8 | 3 | 4.8 | 2 | 2.2 | 57 | 16.4 |
| | GI.7 | | | 1 | 1.6 | 2 | 2.2 | 3 | 0.9 |
| | GI.9 | | | | | 1 | 1.1 | 1 | 0.3 |
| | GI.14 | 2 | 1.0 | 1 | 1.6 | | | 3 | 0.9 |
| GII | GII.1 | 2 | 1.0 | 1 | 1.6 | 6 | 6.6 | 9 | 2.6 |
| | GII.2 | 2 | 1.0 | 2 | 3.2 | | | 4 | 1.1 |
| | GII.3 | 7 | 3.6 | 2 | 3.2 | 13 | 14.3 | 22 | 6.3 |
| | GII.4 | 70 | 36.1 | 43 | 68.3 | 58 | 63.7 | 171 | 49.1 |
| | GII.5 | 42 | 21.6 | 1 | 1.6 | | | 43 | 12.4 |
| | GII.6 | 3 | 1.5 | 2 | 3.2 | 2 | 2.2 | 7 | 2.0 |
| | GII.7 | | | | | 3 | 3.3 | 3 | 0.9 |
| | GII.8 | | | 3 | 4.8 | 1 | 1.1 | 4 | 1.1 |
| | GII.9 | 1 | 0.5 | 1 | 1.6 | | | 2 | 0.6 |
| | GII.12 | 1 | 0.5 | | | 1 | 1.1 | 2 | 0.6 |
| | GII.13 | 2 | 1.0 | | | | | 2 | 0.6 |
| | GII.16 | 1 | 0.5 | | | | | 1 | 0.3 |
| | GII.17 | 1 | 0.5 | | | 1 | 1.1 | 2 | 0.6 |
| total | | 194 | 100.0 | 63 | 100.0 | 91 | 100.0 | 348 | 100.0 |

연도별 유전자형의 분포를 보면 2008년에는 16종의 유전자형이 검출되었고 검출건수도 194건으로 2009년 (63건), 2010년 (91건)보다 두배 이상 많았다. 그 중 GII.4형이 36.1%로 가장 많이 검출되어 2009, 2010년과 유사하였으며 다음으로 GI.6형이 26.8% 검출되어 2009년과 2010년과 다르게 2008년 부산지역에서 유래 없던 GI군이 유행하였음을 알 수 있었다. 2009년에는 13종의 유전자형이 유행하였으며, GII.4형이 68.3%로 가장 많이 검출되었고, 그 외 GII군이 우세하여 나타났다. 2010년에는 11종의 유전자형이 유행하였으며, 2009년과 마찬가지로 GII.4형이 63.7%로 가장 많이 검출되었고, 다음으로 GII.3형이 14.3%로 검출되었으며 그 외 GII군이 우세한 것으로 나타났다. 부산지역에서 발생한 노로바이러스의 유전자형 총 20종 중 GII.4형이 49.1%로 가장 많이 검출되었고, 이는 국내의 연구결과인 인천지역³⁴⁾ 및 충남지역³⁵⁾의 결과와도 일치하였다.

또한, 2008년 6월 14일 인천지역의 한 초등학교에서 급성 위장관염 집단발병과 관련하여 학교선생님, 식품취급자, 초등학생들을 상대로 역학조사를 실시하고 식중독 원인병원체를 검사한 결과 142건의 설사환자 검체 중 45% (64건)에서 노로바이러스 GII군이 검출되었다. 이때 확인된 노로바이러스 GII.4형 64건 중 1건을 제외하고 63건에 대해 Phylogenetic analysis 결과 염기서열 유사성이 100%로 확인된 바 있다³⁷⁾.

또한 국외의 연구결과인 2000년-2008년까지 캐나다의 결과³⁸⁾, 2000년-2003년까지의 스웨덴 스톡홀름의 결과³⁹⁾, 2000년-2005년까지 겨울철 집단 발병에 관한 노르웨이에서의 결과⁴⁰⁾, 2006년-2007년 일본의 노로바이러스 연구결과와도 일치하였다^{41,42)}. 이러한 연구결과에서 주목할 점은 세계적으로 우세한 노로바이러스 GII.4형의 유행과 함께 GII.4형의 새로운 변이형이 검출되고 있다는 점인데 2006년 수행된 홍콩의 감시사업 결과⁴³⁾, 노르웨이에서 2000년부터 2005년간 겨울철 집단발병 204건이 노로바이러스에 의한 것으로 확인되었으며, 그 중 GII군이 91.8%를 차지하였고 GII.4의 새로운 변이형을 확인하였다⁴⁰⁾.

본 연구에서는 부산지역에서 유행한 노로바이러스 GII.4형의 변이형 연구의 수행은 불가능하였으나, 향 후 이에 대한 연구도 이루어져야 할 것이며, 부산지역의 노로바이러스에 대한 예방대책은 우선적으로 GII.4형에 대해서 고려되어야 할 것으로 사료된다.

노로바이러스는 환경적 요인에 저항성이 매우 큰 바이러스로 높은 감염성과 광범위한 전염력을 보이고 있으며^{20,21)}, 전 세계 비세균성 급성 위장관염의 90% 이상이 노로바이러스에 책임이 있다는 보고에도 불구하고^{44,45)} 체외에서의 배양에 어려워 노로바이러스의 연구에 심각한 제한이 있다^{31,32)}. 이제까지 부산지역 급성 설사질환 환자에서 발생한 노로바이러스의 역학적 분석 자료가 미비한 실정에서 본 연구를 통해 2008년부터 2010년까지 최근 3년 동안 부산지역에서 유행한 노로바이

러스에 대한 감염실태와 유전자형의 분포양상을 분석해 볼 수 있었으며, 이를 통해 부산지역의 노로바이러스성 급성장관염 발생에 대한 많은 역학적 자료를 제공하게 될 것이다. 이러한 노력들로 최근 급증하고 있는 노로바이러스에 의한 집단 식중독 발생의 지속적인 감시와 새로운 유전자형에 의한 폭발적 발생을 조기에 예방하고, 유행을 차단할 수 있기를 기대한다.

요 약

2008년부터 2010년까지 최근 3년 동안 부산지역에서 산발적으로 발생한 급성 위장관염 환자를 대상으로 유전자를 검사한 결과 4,101건 중 426건(10.4%)에서 노로바이러스를 확인하였다.

연도별 검출현황은 2008년 14.7%(222/1,506), 2009년 6.9% (95/1,384), 2010년 9.0% (109/1,211)로 나타났다. 월별 분석 결과는 2008년에는 3월에 35.7% (50/140)로 가장 높은 검출율을 보였고, 2009년 역시 3월이 21.9% (23/105)로 높게 나타났으며, 2010년에는 1월이 23.8% (29/122)로 높은 검출율을 보여 겨울철기에 노로바이러스가 유행하는 것을 알 수 있었다. 반면 매해 7-8월 여름철기에는 노로바이러스가 거의 분리되지 않았다. 연령별로는 1세 영아와 13-19세 중등학생군에서 각각 20.9%로 가장 높은 검출율을 나타내었으며, 2-6세 소아군에서 17.5%, 20-29세 13.4%, 7-12세 초등학생군에서 12.7%, 30-39세 9.1%, 0세 신생아 8.7%, 50-59세 7.2%, 60-69세와 70세 이상에서 각각 6.7%, 40-49세 4.5%로 확인되었다.

노로바이러스 양성 검체 340건에서 유전자형을 분석한 결과 GI군 7종류, GII군 13종류로 총 20종류가 검출되어 다양한 유전자형의 노로바이러스들이 유행함을 알 수 있었다. 연구결과 부산지역에서는 GI군이 21.8% (76/348), GII군이 78.2% (272/348)로 GII군이 우세하여 유행하였고, 유전자형 총 20종 중 GII.4형이 49.1%로 가장 많이 검출되었다.

참고 문헌

- Ando T., Mulders M.N., Lewis D.C., Estes M.K., Monroe S.S., Glass R.I. A waterborne outbreak of Norwalk-like virus among snowmobilers-Wyoming, 2001. *J Infect Dis*, 187, pp. 303~306(2003).
- Adler J.L., Zickl R. Winter vomiting disease, *J Infect Dis*, 119, pp.668~673(1969).
- Kapikian A.Z., Wyatt R.G., Dolin R., Thornhill T.S., Kalica A.R., Chanock R.M. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol*, 10, pp.1075-1081(1972).
- Mayo M.A. A summary of taxonomic changes recently approved by ICTV. *Arch Virol* 147, pp.1655~1663(2002).
- Belliot G, Noel J.S, Li J.F., Seto Y., Humphrey C.D, Ando T., Glass R.I., Monroe S.S. Characterization of capsid genes, expressed in the baculovirus system, of three new genetically distinct strains of "Norwalk-like viruses". *J Clin Microbiol*, 39, pp.4288~4295(2001).
- Green J., Wright P.A., Gallimore C.I., Mitchell O., Morgan Capner P., Brown D.W. The role of environmental contamination with the small round structured viruses in a hospital outbreak investigated by reverse-transcriptase polymerase chain reaction assay. *J Hosp Infect*, 39, pp.39~45(1998).
- Green K.Y., Ando T., Balayan M.S., Berke T., Clarke I.N., Estes M.K., Matson D.O., Nakata S., Neill J.D., Studert M.J., Thiel H.J. Taxonomy of the caliciviruses, *J Infect Dis*, 181, pp.S322~S330(2000).
- Karst S.M., Wobus C.E., Lay M., Davidson J., Virgin H.W. 4th. STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus. *Science* 299, pp.1575~1578(2003).
- Jiang X., Wang M., Wang K., Estes M.K. Sequence and genomic organization of Norwalk virus. *Virology* 195, pp.51~61(1993).
- Kageyama T., Shinogara M., Uchida K., Fukushi S., Hoshino F.B., Kojima S., Takai R., Oka T., Takeda N., Katayama K. Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan. *J Clin Microbiol*, 42, pp.2988~2995(2004).
- Okada M., Ogawa T., Kaiho I., Shinozaki K. Genetic analysis of noroviruses in Chiba Prefecture, Japan, between 1999 and 2004. *J Clin Microbiol*, 43, pp.4391~4401(2005).
- Shiota T., Okame M., Takanashi S., Khamrin P., Takagi M., Satou K., Masuoka Y., Yagyu F., Shimizu Y., Kojno H., Mizuguchi M., Okitst S., Ushijima H. Characterization of a broadly reactive monoclonal antibody against norovirus genogroups I and II: recognition of a novel conformational epitope. *J Virol*, 81, pp.12298~12306(2007).
- Parashar U., Quiroz E.S., Mounts A.W., Monroe S.S., Fankhauser R.L., Ando T., Noel T., Noel J.S., Bulens S.N., Beard S.R., Li J.F., Bresee J.S., Glass R.I. "Norwalk-like virus". Public health consequences and outbreak management. *MMWR Recomm Rep*, 50, pp.1~17(2001).
- Anderson A.D., Heryford A.G., Sarisky J.P., Higgins C., Monroe S.S., Beard S., Newport C.M., Cashdollar J.L., Fout G.S., Robbins D.E., Seys S.A., Musgrave K.J., Medus C., Vinj J., Bresee J.S., Mainzer H.M., Glass R.I. A waterborne outbreak of Norwalk-like virus among snowmobilers-Wyoming, 2001. *J Infect Dis*, 187, pp.303~306(2003).
- Beller M., Ellis A., Lee S.H., Drebot M.A., Jenkerson S.A., Funk E., Sobsey M.D., Simmons O.D. 3rd, Monroe S.S., Ando T., Noel F., Petric M., Middaugh J.P., Spika J.S. Outbreak of viral gastroenteritis due to a contaminated well. International consequences. *JAMA* 278, pp.563~568(1997).
- Boccia D., Tozzi A.E., Cotter B., Cotter C., Russo T., Buttinelli G., Caprioli A., Marziano M.L., Ruggeri F.M. Water-borne outbreak of Norwalk-like virus gastroenteritis at a tourist resort Italy. *Emerg Infect Dis*, 8, pp.563~568(2002).
- Chikhi-Brachet R., Bon F., Toubiana L., Pothier P., Nicolas J.C., Flahault A., Kohli E. Virus Diversity in a Winter Epidemic of Acute Diarrhea in France. *J Clin Microbiol*, 40, pp.4266~4272(2002).
- Lopman B.A., Reacher M.H., Vipond I.B., Sarangi J., Brown D.W. Clinical manifestation of norovirus gastroenteritis health care setting. *Clin Infect Dis*, 39, pp.318~324(2004).
- Svraka S., Duizer E., Vennema H., de Bruin E., van der Veer B., Dorresteyn B., Koopmans M. Etiological role of viruses in outbreaks of acute gastroenteritis in the Netherlands from 1994 through 2005. *J Clin Microbiol*, 45, pp.1389~1394(2007).

20. Cramer E.H., Blanton C.J., Blanton L.H., Vaughan G.H., J. R., Bopp C.A., Forney D.L. Epidemiology of gastroenteritis on cruise ships, 2001~2004. *Am J Prev Med.* 30, pp.252~257(2006).
21. Lopman B.A., Brown D.W., Koopmans M. Human caliciviruses in Europe. *J Clin Virol.* 24, pp.137~160(2002).
22. Dey S. K., Nguyen T., ANishio O., Salim A. F., Rahman M., Yagyu F., Okitsu S., Ushijima H. Molecular and epidemiological trend of norovirus associated gastroenteritis in Dhaka City, Bangladesh. *J Clin Virol.* 40, pp.218~223(2007).
23. Guntapong R., Hansman G.S., Oka T., Ogawa S., Kageyama T., Pongsuwanna Y., Kateyama K. Norovirus and sapovirus infections in Thailand. *Jpn J Infect Dis.* 57, pp.276~278(2004).
24. Green K.Y. Caliciviridae: The Noroviruses. In: *Fields Virology*. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp.949~980(2007).
25. Fankhauser R.L., Monroe S.S., Noel J.S., Humphrey C.D., Bresee J.S., Parashar U.D., Ando T., Glass R.I. Epidemiologic and molecular trends of "Norwalk-like viruses" associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J Infect Dis.* 186, pp.1~7(2002).
26. Lopman B.A., Reacher M.H., Van Duijnhoven Y., Hanon F.X., Brown D., Koopmans M. Viral gastroenteritis outbreaks in Europe, 1995-2000. *Emerg Infect Dis.* 9, pp.90~96(2003).
27. Le Guyader F.S., Bon F., DeMedici D., Parnaudeau S., Bertone A., Crudeli S., Doyle A., Zidane M., Suffredini E., Kohli E., Maddalo F., Monini M., Gallay A., Pommepuy M., Pothier P., Ruggeri F.M. Detection of multiple noroviruses associated with an international gastroenteritis outbreak linked to oyster consumption. *J Clin Microbiol.* 44, pp.3878~3882(2006).
28. Webby R.J., Carville K.S., Kirk M.D., Greening G., Ratcliff R.M., Crerar S.K., Dempsey K., Sarna M., Stafford R., Patel M., Hall G. Internationally distributed frozen oyster meat causing multiple outbreaks of norovirus infection in Australia. *Clin Infect Dis.* 44, pp.1026~1031(2007).
29. Simmons G., Garbutt C., Hewitt J., Greening G. A New Zealand outbreak of norovirus gastroenteritis linked to the consumption of imported raw Korean oysters. *N Z Med J.* 120, p.U2773(2007).
30. Schenkel K., Williams C., Eckmanns T., Poggensee G., Benzler J., Josephsen J., Krause G. Enhanced surveillance of infectious disease: the 2006 FIFA World Cup experience, Germany. *Euro Surveill.* 11, pp.234~238(2006).
31. Duizer, E., Schwab, K.J., Neill, F.H., Atmar, R.L., Koopmans, M.P.G., Estes, M.K. Laboratory efforts to cultivate noroviruses. *J.Gen. Virol.* 85 (1), pp.79~87(2004).
32. Medici, M.C., Martinelli, M., Ruggeri, F.M., Abelli, L.A., Bosco, S., Arcangeletti, M.C., Pinardi, F,m De Conto, F., Calderaro, A,m Chezzi, C., Dettori, G. Broadly reactive nested reverse transcription-PCR using an internal RNA standard control for detection of noroviruses in stool samples. *J. Clin. Microbiol.* 43 (8), pp.3772~3778(2005).
33. Lopman B., Amstron B., Atchison C., Gray J. Host, Weather and Virological Factors Drive Norovirus Epidemiology: Time-Series Analysis of Laboratory Surveillance Data in England and Wales. *PLoS ONE* 4, p.e6671(2009).
34. Gong Y.W., Oh B.Y., Kim H.Y., Lee M.Y., Kim Y.H., Go J.M., Lee J.M., Jeong H.S., Cheon D.S. Molecular Epidemiology Investigation of Norovirus Infections in Incheon City, Korea, from 2005 to 2007. *Journal of Bacteriology and Virology* 38(4), pp.249~257(2008).
35. Park K.S., Baek K.A., Song N.S., Park S.M., Cha Y.T., Mun T.J., Kim W.S., Kim K.J., Seo W.S. Genetic characterization of Norovirus isolated from Chungnam area. *Journal of CHIHJ.* 19, pp.11~21(2009).
36. Ma S.H. Acute infectious diarrhea in pediatric patients. *Korean J Pediatr.* 48, pp.235~250(2005).
37. Yu J.H., Kim N.Y., Koh Y.J., Lee H.J. Epidemiology of Foodborne Norovirus Outbreak in Incheon, Korea. *J Korean Med Sci.* 25, pp.1126~1133(2010).
38. Pang X.L., Preiksaitis J.K., Wong S., Li V., Lee B.E. Influence of Novel Norovirus GII.4 Variants on Gastroenteritis Outbreak Dynamics in Alberta and the Northern Territories, Canada between 2000 and 2008. *PLoS ONE* 5, p.e11599(2010).
39. Lindell A.T., Grillner L., Svensson L., Wirtgart S.Z. Molecular Epidemiology of Norovirus Infections in Stockholm, Sweden, during the Years 2000 to 2003: Association of the GGIIB Genetic Cluster with Infection in Children. *J Clin Microbiology,* 43,

- pp.1086~1092(2005).
40. Kirsti Vainio, Mette Myrmet Molecular Epidemiology of Norovirus in Norway during 2000 to 2005 and Comparison of Four Norovirus Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assays. *J Clin Microbiology*, 44, pp.3695~3702(2006).
 41. Kazuhiro O., Romoichiro O., Naokazu T., Hansman G.S. Norovirus Infection in Symptomatic and Asymptomatic Food Handlers in Japan. *J Clin Microbiology*, 45, pp.3996~4005(2007).
 42. Kazushi M., Tomoichiro O., Masaru Y., Hiromi N., Hiromi M., Hirotaka O., Hansman G.S., Kazuhiko K., Radahito K., Tomoyuki T., Naokazu T., Hironori S.M. Identification of Monomorphic and Divergent Haplotypes in the 2006-2007 Norovirus GII/4 Epidemic Population by Genomewide Tracing of Evolutionary History. *Journal of Virology*, 82, pp.11247~11262(2008).
 43. Eric C.M Ho., Peter K.C.Cheung., Angela W.L.Lau., Ann H. Wong, Wilina W.L.Lim, Atypical Norovirus Epidemic in Hong Kong during Summer of 2006 Caused by a New Genogroup II/4 Variant. *J Clin Microbiology*, 45, pp.2205~2211(2007).
 44. Green. K.Y., Chanock, R. M., Kapikian, A.A., *Fields Virology*, Vols. 1-2, 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, pp.841~874 (2001).
 45. Inouye, S., Yamashita, K., Yamadera, S., Yoshikawa, M., Kate, N., Okabe, N. Surveillance of viral gastroenteritis in Japan: Pediatric cases and outbreak incidents. *J. Infect. Dis.* 181(S2), pp.270~274(2000).