

급성 위장관염으로 입원한 소아에서 분자 유전학적 방법에 의한 Human Astrovirus 감염의 유병률

인제대학교 의과대학 소아과학교실, *진단검사의학교실, † 서울시보건환경연구원

정주영 · 허 경 · 김상우 · 신보문* · 한태희* · 이재인† · 송미옥†

Molecular Epidemiology of Human Astrovirus Infection in Hospitalized Children with Acute Gastroenteritis

Ju-Young Chung, M.D., Kyung Huh, M.D., Sang Woo Kim, M.D., Bo Mun Shin, M.D.*,
Tae Hee Han, M.D.*, Jae In Lee, Ph.D.[†] and Mi-Ok Song, Ph.D.[†]

Departments of Pediatrics and *Laboratory Medicine, Sanggyepaik Hospital,
Inje University College of Medicine,

[†] Department of Virus Research, Seoul Health-Environmental Research Center, Seoul, Korea

Purpose: Human astrovirus (HAstV) is known to be an important etiologic agent of acute gastroenteritis in infants worldwide. However, the prevalence of HAstV infection varies according to geographic region and patient age. The purpose of our study was to investigate the incidence of HAstV infection among hospitalized children at a tertiary hospital in Seoul.

Methods: Fecal samples were collected from hospitalized children up to five years of age with acute gastroenteritis. A total of 812 fecal samples were collected from hospitalized children with acute gastroenteritis between February 2004 and January 2005. Fecal specimens were screened for rotavirus, enteric adenovirus and norovirus by enzyme immunoassay (EIA) or reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). HAstV positive samples were characterized by RT-PCR.

Results: Rotavirus was detected in 16.9% (138/812), norovirus in 11.6% (94/812), and adenovirus in 4.0% (33/812) of the study population. HAstV was detected in 4.0% (33/812) samples by RT-PCR. The age distribution of HAstV positive patients was as follows: <12 month old, 82.0% (27/33); 1~2 years old, 6.0% (2/33); 2~5 years old, 12.0% (4/33). The seasonal distribution of HAstV positive samples was as follows; April (3), May (5), June (4), August (12), September (4), October (2), November (2), and December (1). The peak rate of HAstV infection was observed during the summer season, 2004. A mixed infection of viral agents was confirmed in 2.7% (22/812) of the study population, most commonly with rotavirus and norovirus, and with rotavirus and HAstV.

접수 : 2006년 7월 21일, 승인 : 2006년 8월 29일

책임저자 : 정주영, 139-707, 서울시 노원구 상계동 761-1, 인제대학교 의과대학 상계백병원 소아과

Tel: 02-950-1073, Fax: 02-950-1955, E-mail: pedchung@sanggyepaik.ac.kr

2004년도 인제대 교내 학술 조성 연구비의 일부 지원을 받았음.

Genotype 1 was the predominant type (91%, 20/22) and genotype 8 was detected in two cases. **Conclusion:** The prevalence of HAsV infection was 4.0% in hospitalized children with acute gastroenteritis, and was especially high in infants. HAsV can be considered as an important etiologic agent of gastroenteritis in children. (*Korean J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 9: 139~146)

Key Words: Human astrovirus, Children, Acute gastroenteritis

서 론

급성 위장관염은 소아에서 매우 흔하게 접하는 감염성 질환 중의 하나이며, rotavirus가 가장 흔한 바이러스 병원체이지만 병원체를 확인할 수 없는 경우가 많다. 최근 EIA 및 RT-PCR 등의 검사 방법이 위장관염의 진단에 이용되면서 human astrovirus (HAsV)는 소아에서 중요한 바이러스 병원체로 알려졌다¹⁾.

1975년 급성 위장관염으로 진단된 영아에서 처음 발견된 HAsV는 Astroviridae에 속하는 28 nm 크기의 single stranded RNA 바이러스이며²⁾, 특히 유아 연령에서 주로 급성 위장관염을 유발하고, 면역 능력이 저하된 환자에서는 만성 설사를 유발하는 것으로 알려졌다^{3,4)}. 전세계적으로 소아 연령에서 HAsV 감염의 유병률은 1.5~26%로 매우 다양하지만^{5~14)}, 국내 소아에서 HAsV 감염에 대한 보고는 매우 드문 실정이다^{15,16)}.

이에 저자들은 2004년 2월부터 2005년 1월까지 12개월간 상계백병원에 급성 위장관염으로 입원한 5세 이하의 소아를 대상으로 분자 유전학적 방법을 이용하여 HAsV 감염의 유병률을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상 및 검체

2004년 2월부터 2005년 1월까지 12개월간 인제의대 상계백병원 소아과에 급성 위장관염으로 입원한 5세 이하의 소아에게서 수집된 대변 검체 812건을

대상으로 하였다. 대상 환아는 남아 346명, 여아 466명으로 성비는 1 : 1.4이었다. 전체 환아의 연령별 구성은 12개월 미만인 55.8% (453명/812명), 1~2세 미만 22.5% (183명/812명), 2~3세 미만 10.1% (82/812명), 3~5세 이하인 11.5% (94명/812명)이었다. 설사는 특별한 비감염성 원인이 없이 하루에 3회 이상 무른 변을 보는 경우로 정의하였다.

대변 검체는 환아가 입원한 후 2일 이내에 3개를 채취한 후, 2개의 검체는 각각 세균학적 검사와 로타 바이러스 항원 검사를 시행하였다. 따로 냉장 보관한 1개의 대변 검체는 1주에 1회씩 서울시보건환경 연구원에 전달하였다. 대변 검체 1 g을 PBS 용액 9 mL에 섞어 10% 대변 현탁액을 만든 후, 4°C 3,000 rpm에서 30분간 원심 분리한 다음 상층액을 이용하여 EIA 검사 및 바이러스 RNA 추출을 시행하였다. 여분의 원심분리 상층액은 영하 70°C에서 냉동 보관하였다.

2. RNA의 추출

대변 현탁액 200μL를 취하여 RNase free microcentrifuge tube에 옮긴 후 600μL Tri-reagent (Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, USA)를 첨가하였다. 10초간 vortex한 후 상온에 5분간 방치하고 간단히 spin down한 후 200μL chloroform을 첨가하였다. 30초간 vortex하여 용액이 완전히 섞이도록 하고 상온에서 10분간 정제시킨 후 4°C에서 7,500 rpm으로 15분간 원심하였다. 상층액 600μL를 취하여 새로운 tube에 옮긴 후 isopropyl alcohol 600μL를 첨가하고 10초간 vortex하였다. -20°C에서 2시간 정제하여 바이러스 핵산을 침전시킨 후 4°C 14,000

rpm에서 30분간 원심하였다. 상층액을 버리고 차가운 70% ethanol 1 mL를 첨가하여 tube를 가볍게 2~3회 돌려 용액이 섞이게 하고 4°C, 14,000 rpm에서 15분간 원심하였다. 상층액을 버리고 tube를 뒤집어서 남아있는 ethanol을 제거한 후 약 30분간 말리고 DEPC treated D.D.W 100μL를 첨가하여 약하게 진탕하였다. 즉시 실험에 사용하지 못할 때에는 -70°C에 보관하였다.

3. 미생물학적 검사

대변 검체에서 *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, pathogenic *E. coli*를 포함한 세균성 병원체를 감별하기 위하여 일반 미생물 배양 검사를 시행하였다. 로타바이러스 검출을 위해서는 Rotaclone (Meridian Bioscience, Cincinnati, OH, USA), 아데노 바이러스 검출을 위해서는 Adenoclone 40/41 (Meridian Bioscience, Cincinnati, OH, USA) ELISA kit를 이용하였다. Norovirus의 진단을 위하여 capsid 부위의 314 bp 염기서열에 반응하는 두 종류의 시발체를 이용한 semi-nested PCR을 시행하였다. NV-GIF1 (5'-CTG CCC GAA TTY GTA AAT GAT GAT-3')과 NV-GIR1 (5'-CCA ACC CAR CCA TTR TAC ATY TG-3') 시발체를 사용하거나 NV-GIIF1 (5'-GGG AGG GCG ATC GCA ATC T-3')과 NV-GIIR1 (5'-CCR CCI GCA TRI CCR TTR TAC AT-3') 시발체를 이용한 1차 PCR 반응을 시행하였다. NV-GIF1 또는 NV-GIIF1 시발체와 NV-GIF2 (5'-ATG ATG ATG GCG TCT AAG 5'-TTG TGA ATG AAG ATG GCG TCG ART-3') 시발체를 이용한 nested PCR 반응을 시행하였다.

4. HAsV 검출을 위한 RT-PCR

HAsV에 대한 RT-PCR 검사를 시행하기 위해 open reading frame-1a (ORF-1a) 부위를 이용한 Mon 340 (5'-CGT CAT TAT TTG TTG TCA TAC T-3')과 Mon 348 (5'-AA TGT GCT GCT GTT ACT ATG-3') 시발체를 사용하였다.

cDNA는 dNTP 8μL, 5x buffer 5μL, Mon 348 2.5 μL, RNase inhibitor 0.5μL, reverse transcriptase 0.5μL

과 DEPC 처리된 증류수 3.5μL의 혼합물에 추출된 RNA 5μL를 첨가하여, 다음과 같은 조건(42°C 60분, 95°C 5분, 4°C에서 soaking)에서 반응시켜 제작하였다. PCR 반응은 dNTP 6μL, 10x buffer 5μL, Mon 348 2.5μL, Mon 340 2.5μL, Taq polymerase 0.5μL, DEPC 처리된 증류수 28.5μL의 혼합물에 cDNA 5μL를 첨가하고 다음과 같은 조건(94°C 3분, 94°C 30초, 50°C 20초, 72°C 30초, 72°C 5분)에서 총 30회 반응시켰다. 증폭된 유전자 산물은 1.2% 한천젤에서 전기영동을 시행하여 289 bp 크기 band를 확인하였다. PCR 반응 산물은 정제한 후 BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Foster, USA)와 ABI prism 377 analyzer (Applied Biosystems, Foster, USA)를 이용하여 염기서열을 판독하였다. HAsV 유전형 분석을 위해 MEGA version 3.0 (Kumar, Tamura, Nei 2004)을 이용하여 phylogenetic tree를 구성하였으며, GenBank에 등록된 reference strain을 참조하였다 [Genotype 1, Z25771; genotype 8, AF260508; KS106211 (Korean strain), AF361036].

결 과

총 812건의 검체에서 rotavirus 양성률은 16.9% (138/812), norovirus 양성률은 11.5% (94/812), adenovirus 양성률은 4.0% (33/812)였다. HAsV의 양성률은 RT-PCR 방법에 의해 4.0% (33/812)였다(Table 1).

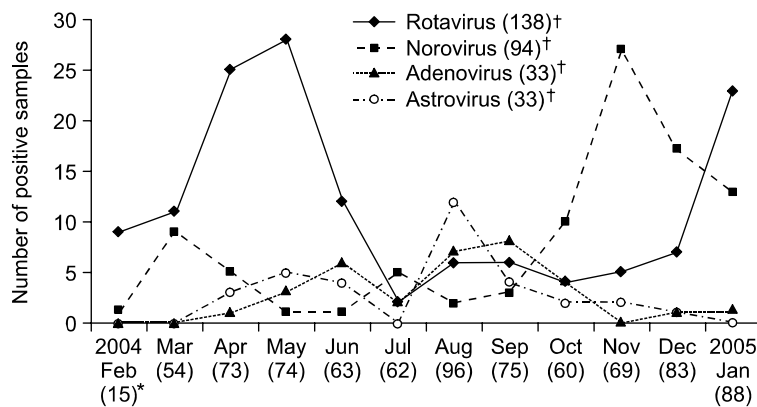
HAsV 양성인 환자의 연령별 분포는 생후 12개월 미만 환아가 82.0% (27/33), 1~2세 미만 6.0% (2/33), 2~3세 미만 6.0% (2/33), 3~5세 이하 6.0% (2/33)였다. 특히 신생아는 전체 HAsV 양성 환자의 39.4% (13/33)에 달하였다.

HAsV의 월별 분포는 각각 4월 3건, 5월 5건, 6월 4건, 8월 12건, 9월 4건, 10월 2건, 11월 2건, 12월 1건으로 8월에 가장 높은 발생률을 보였다(Fig. 1).

바이러스 병원체의 혼합 감염은 총 22건(2.7%)에서 확인되었다. Rotavirus와 norovirus 양성 12건, rotavirus와 HAsV 양성 5건, rotavirus와 adenovirus 양성 2건, norovirus와 adenovirus 양성 2건, 그리고 HAsV와 adenovirus 양성 1건이었다.

Table 1. Age Distribution of Viral Etiologic Agents in Hospitalized Children with Acute Gastroenteritis at Sanggyepaik Hospital, from February 2004 to January 2005

Viral agent	Number (%)				
	0~12 mos (n=453)	1~2 yr (n=183)	2~3 yr (n=82)	3~5 yr (n=94)	Total (n=812)
Rotavirus	59 (13.0)	39 (21.3)	20 (24.3)	20 (21.3)	138 (16.9)
Norovirus	37 (8.1)	33 (18.0)	14 (17.0)	10 (10.6)	94 (11.5)
Astrovirus	27 (5.9)	2 (1.1)	2 (2.4)	2 (2.1)	33 (4.0)
Adenovirus	18 (3.9)	8 (4.4)	4 (4.8)	3 (3.2)	33 (4.0)
No. of positive	141 (31.1)	154 (44.8)	40 (48.7)	35 (37.2)	298 (36.6)

**Fig. 1.** Seasonal distribution of viral agents in hospitalized children, between February 2004 and January 2005. *The number in parenthesis after each month gives the number of the samples tested.[†] The number in parenthesis after each virus gives the total number of positive cases.

염기서열 분석이 가능하였던 HAstV 양성 검체 22 건 중에서 유전형-1이 20건, 유전형-8이 2건이었다 (Fig. 2).

고 찰

HAstV는 28 nm 크기의 non-enveloped capsid를 가진 single stranded RNA 바이러스로서, 전체 6.8 kb 염기쌍이며 3개의 ORF (ORF-1a, ORF-1b, ORF-2)로 구성되어 있다¹⁷⁾. Astrovirus는 크게 mamastrovirus와 avastrovirus로 구분되며 전자에는 human astrovirus, porcine, feline과 bovine astrovirus가 속하며, 후자에

는 turkey astrovirus와 avian nephritis virus가 속한다¹⁸⁾. HAstV는 현재 8가지 혈청형이 알려져 있으며 유전형-1~유전형-5번과 유전형-8번은 전체 염기서열이 밝혀져 있다^{18,19)}. HAstV 유전형은 ORF 염기서열 분석에 의해 구분되지만 혈청형과 거의 일치하는 것으로 알려져 분류에 사용되고 있다. 한 종류의 HAstV 혈청형에 의한 위장관염을 앓았더라도, 다른 종류의 HAstV 혈청형에 대한 면역력은 발생하지 않는 것으로 알려진다²⁰⁾. 본 연구는 3차 병원 한 곳에 급성 위장관염으로 입원한 5세 이하의 소아를 대상으로 HAstV 감염의 유병률을 파악한 점에 의의가 있으며 이전의 연구들과 비슷한 결과를 보였다.

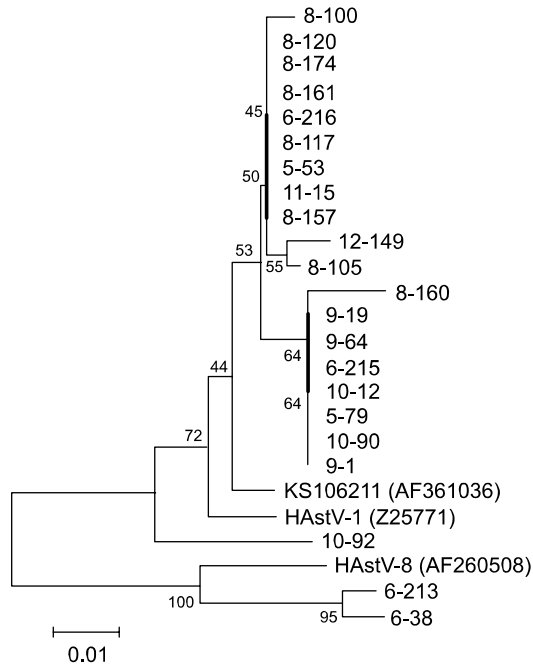


Fig. 2. Phylogenetic analysis of HAdV (Korean strain) in MEGA 3.0. Nucleotide alignment of a 289 bp portion of the ORF-1a gene was prepared using BioEdit V7.0. The nucleotide distance matrix was generated using the Kimura two-parameter estimation. Nodal confidence values indicate the results of bootstrap resampling ($n=1,000$). Sequences of HAdV strains used for comparison were obtained from the GenBank database [Genotype 1, Z25771; genotype 8, AF260508; KS106211 (Korean strain), AF361036].

HAdV 감염의 진단은 EIA, 바이러스 배양 검사와 RT-PCR 검사에 의해 할 수 있지만, 바이러스 배양은 비경제적이며 EIA 검사는 RT-PCR에 비해 예민도가 낮은 것으로 알려지고 있다^{4,18}). HAdV 감염의 유행률에 대한 최근 연구는 높은 예민도와 유전형의 분류를 시행할 수 있다는 장점 때문에 주로 RT-PCR 검사가 시행되고 있다. HAdV의 전체적인 유행률은 1.5~26%로 보고되었으며^{5~14}), 이는 지역적 차이, 연구 대상의 연령군, 검사 방법에 따른 차이 때문인 것으로 보인다. HAdV 감염에 의한 증상은 rotavirus나 adenovirus에 비해 가볍기 때문에 병원을 방문하지 않는 경우와 세균과의 혼합 감염 가능성을 감안한다면, 실제 감염의 유행률은 더 높을

가능성이 많다⁴). 또한 본 연구에서 분석이 되지 않았지만 무증상적 HAdV 감염 환자에 의한 병원 내 감염도 가능할 것으로 생각된다^{21~23}). 국내 소아에서 HAdV 감염에 대한 초기 연구들은 적은 수의 환자를 대상으로 한 일시적 유행에 대한 보고였으며^{15,16}), 충분한 수의 검체를 대상으로 한 HAdV 유행률에 대한 연구는 Kang 등²⁴)에 의해 처음으로 시행되었다. Kang 등은 2000년에 ORF-1a 부위를 이용한 RT-PCR 검사방법을 이용하여 HAdV 양성률을 1.5% (15/1,153)라고 보고하였지만, 정확한 연령 분포에 대한 기술은 하지 않았다. 본 연구에서 HAdV 양성률은 4.0% (33/812)로 Kang 등의 보고에 비해 높았으며, 생후 1개월 미만이 39.3% (13/33), 만 1세 미만의 영아가 81.8% (27/33)로 영아군에서 높은 유행률을 보였다. 혈청 역학적 연구 결과에 의하면 영아기 초기부터 HAdV에 노출되며²⁵), Traore 등²¹)은 본 연구에서와 같이 생후 1개월 이내의 소아에서 HAdV에 의한 급성 위장관염의 발생을 보고하였다. HAdV의 유행적 발생에 대한 과거 연구들에서는 대부분 생후 6개월부터 12개월의 연령군에서 양성률이 높지만, 생후 12개월 이상부터는 연령 증가에 따라 감소하였다. 하지만 Jakab 등²⁶)은 0~2세군의 HAdV 양성률(0.8%, 5/568)에 비해 3~5세군의 양성률(12.8%, 5/39)이 높다는 상반된 결과를 보고하기도 하였다. HAdV 감염은 온대성 기후에서는 주로 겨울에 호발하고, 아열대성 기후에서는 우기에 집중적으로 발생하는 것으로 알려지지만⁴), 여름에 높은 유행률을 보이거나, 연중 발생하였다는 보고들도 있다^{6,27,28}). 본 연구에서 HAdV 양성률은 2004년 8월에 가장 높았으며, 이는 신생아 연령층에서 HAdV에 의한 급성 위장관염의 유행적 발생이 반영된 결과로 보인다. 하지만 국내에서 HAdV 감염이 여름에 발생하는 계절적 경향이 있는지 확인하기 위해서는 장기간의 연구가 필요할 것으로 보인다.

Gaggero 등²⁹)은 HAdV 양성률은 rotavirus 음성 환자에서 16%, rotavirus 양성 환자에서 7%였고, Liu 등³⁰)도 전체 바이러스 양성 검체의 9%에서 혼합감염의 발생을 보고하였다. HAdV와 2개 이상의 바이러스 병원체나 *E. coli*와 같은 세균성 병원체의 혼합 감염

이 보고되었지만, 혼합감염과 임상 증상의 중등도는 관련이 없는 것으로 알려졌다^{30,31)}. 본 연구결과에 의하면 급성 위장관염으로 입원한 환자에서 바이러스 병원체의 혼합감염은 2.7% (22/816)에서 있었으며 rotavirus와 norovirus (12건), rotavirus와 HAsV (5건)의 조합이 가장 흔하였다.

본 연구에서 염기서열 분석을 시행하였던 22건 중 20건은 유전형 1이었으며, 2건은 유전형 8이었다 (Fig. 2). 이는 HAsV 유전형-1이 가장 흔한 것으로 보고된 다른 연구들과 일치하는 결과이며, 최근 유전형-8을 포함한 다른 유전형에 의한 유행이 보고되고 있다^{6,12,26,28)}. 본 연구는 급성 위장관염 진단으로 입원한 소아만 대상으로 하였으며, 설사 증상을 보이는 외래 환자는 포함하지 않았기 때문에 전체적인 HAsV 감염의 유병률을 파악하기는 어렵지만, HAsV는 2세 이하의 소아에서 급성 위장관염의 중요한 원인 병원체임을 확인할 수 있었다.

결론적으로 2004년 2월부터 2005년 1월까지 12개월간 급성 위장관염 진단 하에 입원한 소아에서 HAsV 감염 유병률은 4.0%였으며, 영아기 연령에서 주로 발생하였다. 국내 소아에서 HAsV 감염의 정확한 역학적 특성을 파악하기 위해서는, 앞으로 다수의 기관과 많은 수의 환자를 포함한 전향적인 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

목 적: Human astrovirus (HAsV)는 전세계적으로 영아 연령에서 중요한 위장관염의 중요 병원체로 알려지고 있지만 국내에서 HAsV 감염의 유병률에 대한 연구는 드문 편이다. 이에 저자들은 분자 유전학적 방법을 이용하여 위장관염으로 입원한 5세 이하의 소아에서 HAsV의 유병률과 유전형을 알아보기 위하여 본 연구를 시행하였다.

방 법: 2004년 2월부터 2005년 1월까지 12개월간 인제대의 상계백병원 소아과에 급성 위장관염으로 입원한 5세 이하의 소아에게서 수집된 대변 검체 812건을 대상으로 하였다. 대변 검체에 대해서 enzyme immunoassay (EIA) 또는 RT-PCR을 이용하여 ro-

tavirus, enteric adenovirus와 norovirus 감염여부를 진단하였다. HAsV 특이적인 시발체를 이용하여 RT-PCR을 시행한 다음 염기서열 분석을 시행하였다.

결 과: 총 812건의 검체에서 rotavirus 양성률은 16.9% (138/812), norovirus 양성률은 11.5% (94/812), adenovirus 양성률은 4.0% (33/812)였다. HAsV의 유병률은 RT-PCR 방법에 의해 4.0% (33/812)였다. HAsV 양성인 환자의 연령은 생후 12개월 미만 82.0%, 1~2세 미만 6.0%, 2~3세 미만 6.0%, 3~5세 이하가 6.0%였다. HAsV의 월별 분포는 각각 4월 3건, 5월 5건, 6월 4건, 8월 12건, 9월 4건, 10월 2건, 11월 2건, 12월 1건으로 8월에 가장 높은 발생률을 보였다. 염기서열 분석이 가능하였던 HAsV 양성 검체 22건 중에서 유전형-1이 20건, 유전형-8이 2건이었다.

결 론: 2004년 2월부터 2005년 1월까지 12개월간 급성 위장관염으로 입원한 소아에서 HAsV 감염 유병률은 4.0%였으며, 영아기 연령에서 주로 발생하였다. 국내 HAsV 감염의 정확한 역학적 특성을 파악하기 위해서는 장기간에 걸친 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Simpson R, Aliyu S, Iturriza-Gomara M, Desselberger U, Gray J. Infantile viral gastroenteritis: on the way to closing the diagnostic gap. *J Med Virol* 2003;70: 258-62.
- 2) Madeley CR, Cosgrove BP. 28 nm particles in faeces in infantile gastroenteritis. *Lancet* 1975;2:451-2.
- 3) Unicomb LE, Banu NN, Azim T, Islam A, Bardhan PK, Faruque AS, et al. Astrovirus infection in association with acute, persistent and nosocomial diarrhea in Bangladesh. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:611-4.
- 4) Walter JE, Mitchell DK. Astrovirus infection in children. *Curr Opin Infect Dis* 2003;16:247-53.
- 5) Silva AM, Leite EG, Assis RM, Majerowicz S, Leite JP. An outbreak of gastroenteritis associated with astrovirus serotype 1 in a day care center, in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96:1069-73.
- 6) Phan TG, Okame M, Nguyen TA, Maneekarn N, Nishio O, Okitsu S, et al. Human astrovirus, norovirus

- (GI, GII), and sapovirus infections in Pakistani children with diarrhea. *J Med Virol* 2004;73:256-61.
- 7) Guix S, Caballero S, Villena C, Bartolome R, Latorre C, Rabella N, et al. Molecular epidemiology of astrovirus infection in Barcelona, Spain. *J Clin Microbiol* 2002;40:133-9.
 - 8) Dennehy PH, Nelson SM, Spangenberg S, Noel JS, Monroe SS, Glass RI. A prospective case control study of the role of astrovirus in acute diarrhea among hospitalized young children. *J Infect Dis* 2001;184:10-5.
 - 9) Rodriguez-Baez N, O'Brien R, Qiu SQ, Bass DM. Astrovirus, adenovirus, and rotavirus in hospitalized children: prevalence and association with gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;35:64-8.
 - 10) Dalton RM, Roman ER, Negredo AA, Wilhelmi ID, Glass RI, Sanchez-Fauquier A. Astrovirus acute gastroenteritis among children in Madrid, Spain. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:1038-41.
 - 11) Palombo EA, Bishop RF. Annual incidence, serotype distribution, and genetic diversity of human astrovirus isolates from hospitalized children in Melbourne, Australia. *J Clin Microbiol* 1996;34:1750-3.
 - 12) Sakamoto T, Negishi H, Wang QH, Akihara S, Kim B, Nishimura S, et al. Molecular epidemiology of astroviruses in Japan from 1995 to 1998 by reverse transcription-polymerase chain reaction with serotype specific primers (1 to 8). *J Med Virol* 2000;61:326-31.
 - 13) Bon F, Fascia P, Dauvergne M, Tenenbaum D, Planson H, Peiton AM et al. Prevalence of group A rotavirus, human calicivirus, astrovirus, and adenovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France. *J Clin Microbiol* 1999;37:3055-8.
 - 14) Median SM, Guitierrez MF, Liprandi F, Ludert JE. Identification and type distribution of astroviruses among children with gastroenteritis in Columbia and Venezuela. *J Clin Microbiol* 2000;38:3481-3.
 - 15) Kim KH, Cho YJ, Glass RI, Park CH, Humphrey CD. Neonatal survey outbreaks of gastroenteritis associated with group A rotavirus, adenovirus types 40 and 41, and astrovirus in Seoul. *J Bacteriol Virol* 1996;31:299-308.
 - 16) Park HK, Woo SY, Seo JY, Chong YH, Seo JW. Detection of astrovirus infection from hospitalized young children feces by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *J Bacteriol Virol* 1999;34:453-9.
 - 17) Moser LA, Schultz-Cherry S. Pathogenesis of astrovirus infection. *Viral Immunol* 2005;18:4-10.
 - 18) Guix S, Bosch A, Pinto RM. Human astrovirus diagnosis and typing: current and future prospects. *Lett Appl Microbiol* 2005;41:103-5.
 - 19) Silva PA, Cardoso DD, Schreier E. Molecular characterization of human astroviruses isolated in Brazil, including the complete sequences of astrovirus genotypes 4 and 5. *Arch Virol* 2006;151:1405-17.
 - 20) Naficy AB, Rao MR, Holmes JL, Abu-Elyazeed R, Savarino SJ, Wierzbza TF, et al. Astrovirus diarrhea in Egyptian children. *J Infect Dis* 2000;182:685-90.
 - 21) Traore O, Belliot G, Mollat C, Piloquet H, Chamoux C, Laveran H, et al. RT-PCR identification and typing of astroviruses and Norwalk-like viruses in hospitalized patients with gastroenteritis: evidence of nosocomial infections. *J Clin Virol* 2000;17:151-8.
 - 22) Vernacchio L, Vezina RM, Mitchell AA, Lesko SM, Plaut AG, Acheson DW. Diarrhea in American infants and young children in the community setting: incidence, clinical presentation and microbiology. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25:2-7.
 - 23) Sasaki Y, Kai A, Hayashi Y, Shinkai T, Noguchi Y, Hasegawa M, et al. Multiple viral infections and genomic divergence among noroviruses during an outbreak of acute gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 2006;44:790-7.
 - 24) Kang YH, Park YJ, Ahn JB, Yeun JD, Jee YM. Identification of human astrovirus infections from stool samples with diarrhea in Korea. *Arch Virol* 2002;147:1821-7.
 - 25) Kriston S, Willcocks MM, Carter MJ, Cubitt WD. Seroprevalence of astrovirus types 1 and 6 in London, determined using recombinant virus antigen. *Epidemiol Infect* 1996;117:159-64.
 - 26) Jakab F, Walter JE, Berke T, Matson DO, Mitchell DK, Szucs G. Molecular characterization and sequence analysis of human astroviruses circulating in Hungary. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003;39:97-102.
 - 27) Mustafa H, Palombo EA, Bishop RF. Epidemiology of astrovirus infection in young children hospitalized with acute gastroenteritis in Melbourne, Australia, over a period of four consecutive years, 1995 to 1998. *J Clin Microbiol* 1998;38:1058-62.

- 28) Bhattacharya R, Sahoo GC, Nayak MK, Ghosh S, Dutta P, Bhattacharya MK, et al. Molecular epidemiology of human astrovirus infections in Kolkata, India. *Infect Genet Evol.* In press 2006.
 - 29) Gaggero A, O’Ryan M, Noel JS, Glass RI, Monroe SS, Mamani N, et al. Prevalence of astrovirus infection among Chilean children with acute gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 1998;36:3691-3.
 - 30) Liu C, Grillner L, Jonsson K, Linde A, Shen K, Lindell AT, et al. Identification of viral agents associated with diarrhea in young children during a winter season in Beijing, China. *J Clin Virol* 2006;35:69-72.
 - 31) Herrmann JE, Taylor DN, Echeverria P, Blacklow NR. Astrovirus as a cause of gastroenteritis in children. *N Engl J Med* 1991;324:1757-60.
-