

## 유소아 로타바이러스 장염 진단 검사의 비교 연구

고려대학교 의과대학 소아과학교실, <sup>1</sup>미생물학교실, <sup>2</sup>서울 위생병원 소아과

이장훈 · 고은영<sup>1</sup> · 김재웅<sup>2</sup> · 이정화 · 백낙주<sup>1</sup> · 김순겸

### Comparison among Diagnostic Methods of Rotaviral Gastroenteritis in Children

Jang Hun Lee M.D., Eun Young Ko M.D.<sup>1</sup>, Jae Oong Kim, M.D.<sup>2</sup>  
Jung Hwa Lee M.D., Lack Ju Baek, M.D.<sup>1</sup> and Soon Kyum Kim, M.D.

Department of Pediatrics and <sup>1</sup>Department of Microbiology, College of Medicine,  
Korea University, Seoul, Korea; <sup>2</sup>Department of Pediatrics,  
Seoul Adventist Hospital, Seoul, Korea

**Purpose:** The purpose of this study was to evaluate the clinical efficacy of reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) in detecting rotaviral gastroenteritis in children comparing with that of commercial immunoassays.

**Methods:** Stools from 79 children admitted Korea University Hospital due to diarrhea were collected from December 1999 to February 2000. Immunoassays were done using commercial rotavirus Latex kit and Rotatec (ELISA) kit. RT-PCR was performed to amplify group A rotavirus, most commonly pathogenic to human, using VP4- and VP7-specific primers. The detection rates of immunoassays and RT-PCR were compared.

**Results:** ELISA assay was superior to LA assay and moderately concordant with RT-PCR in detecting rotaviral gastroenteritis.

**Conclusion:** Although RT-PCR is known very sensitive, it does not have significant advantage over immunoassay in detecting rotaviral gastroenteritis. (*J Korean Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 4: 34~40)

**Key Words:** Rotavirus, Gastroenteritis, Diagnosis, RT-PCR, ELISA, Latex agglutination, Child

접수 : 2001년 3월 2일, 승인 : 2001년 3월 24일

책임저자 : 이정화, 425-797, 경기도 안산시 고잔동 516, 고려대학교 의료원 안산병원 소아과

Tel: 031-412-5090, Fax: 031-405-85901, E-mail: leejmd@chollian.net

이 논문은 1999년 고려대학교 의과대학 소아과학교실 동문회 기금의 지원을 받아 이루어진 것임.

## 서론

급성 설사증은 유소아기에 병원을 찾게 되는 가장 흔한 원인의 하나로 약 2/3가 바이러스에 기인한다<sup>1,2)</sup>. 바이러스성 장염의 가장 흔한 원인이 되는 로타바이러스는 Reoviridae에 속하는 RNA 바이러스로서 두 가닥의 RNA 11개 절편과 캡시드 단백질 3층으로 구성되어 있다<sup>3)</sup>. 혈청학적인 방법에 의해 중간 캡시드인 VP6에 따라 A~G의 7개 군으로 분류되는데<sup>4~6)</sup> 이 중 A군 로타바이러스가 가장 많은 부분을 차지한다<sup>7)</sup>. A군 로타바이러스는 외각 캡시드 단백질인 VP4와 VP7의 조성에 따라 다시 세분류되는데 VP7에 의한 G형과 VP4에 의한 P형이 있고 이 중 G1-4가 전 세계적으로 영유아에서 설사증을 유발하여 매년 1억 4천만 명의 유소아가 이환되고 이 중 약 100만 명이 사망한다고 한다<sup>8~10)</sup>.

로타바이러스 장염의 진단을 위하여 현재 임상에서 널리 쓰이는 방법으로는 면역학적인 방법에 기초한 Latex agglutination (LA)법과 Enzyme-linked immunoabsorbant assay (ELISA)가 있다<sup>11~13)</sup>. 이러한 immunoassay는  $4.5 \times 10^5$  /mL 이상의 바이러스 입자가 대변내 존재할 정도로 다량의 virus를 배설하는 경우에만 양성 결과의 결과를 나타낼 정도로 예민도가 떨어지는 것으로 알려져 있다<sup>14,15)</sup>. 따라서 대변에서 소량의 바이러스 입자를 분비하는 경증의 장염 환자나 병원, 육아시설, 학교에서 로타바이러스 전파 감염을 유발할 수 있는 불현성 감염 환아를 진단할 수 있는 높은 예민도를 가진 검사법의 필요성이 대두되었다<sup>12,16)</sup>. 일부 연구에서 대변내 로타바이러스의 유전자에 대한 역전사 중합효소 증폭법(Reverse transcription-Polymerase chain reaction, RT-PCR)이 ELISA보다 100~1000배 이상의 예민도를 보이는 것으로 보고된 바 있다<sup>17~19)</sup>. 이에 본 연구에서는 RT-PCR을 ELISA나 LA와 비교하여 예민도를 판정함으로써 RT-PCR이 임상적으로 로타바이러스 감염 유무를 판단하는 진단 술기로서 유용한지를 알고자 하였다.

## 대상 및 방법

1999년 12월부터 2000년 2월까지 고대병원 소아과에 입원하여 설사 증상을 보인 영유아 79명을 대상으로 하였다. 대변은 채취 즉시  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다가 Phosphate buffered saline (1×)을 사용하여 10%로 희석하였고 160 g에서 10분 간 원심분리한 후 상층액을 검사에 사용하였다.

### 1. Latex agglutination 검사

로타 바이러스 라텍스 키트(일본 영연화학)를 사용하여 검사하였다. 검사방법을 간략하면 대변 상층액을 anti-human Rotavirus latex와 잘 섞은 후 응집이 생기는 경우를 양성으로 판정하였다.

### 2. Enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA)

Solid phase enzyme immunoassay로서 로타텍 키트(녹십자)를 사용하였다. 검사방법을 간략하면 Rotavirus 항체가 부착된 plate에 대변 상층액을 반응시키고 이에 형광물질을 부착한 2차 항체를 반응시킨 후 450 nm에서 흡광도를 측정하여 0.2 이상인 경우를 양성으로 판정하였다.

### 3. Reverse transcription-Polymerase chain reaction (RT-PCR) 검사

QIAmp viral RNA mini kit (QIAGEN, USA)를 사용하여 대변 상층액으로부터 RNA를 추출하여 RT-PCR에 사용하였다. RT-PCR의 조건을 간략하면 먼저 cDNA 합성을 위해 추출한 RNA 10 microL를  $97^{\circ}\text{C}$ 에서 5분 간 가열하고 반응액으로 Superscript II (Gibco, USA) 5×buffer 2 microL, 2.5 mM dNTP 1 microL, DTT 2 microL, Rotavirus VP4와 VP7 증폭을 위한 10 microM의 각각의 primer 2 microL, Superscript II reverse transcriptase 0.5 microL를 첨가하고  $42^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 반응시켰다. cDNA 합성 후  $94^{\circ}\text{C}$ 에서 1분,  $42^{\circ}\text{C}$ 에서 2분,  $72^{\circ}\text{C}$ 에서의 5분 간 반응을 30회 반복한 후 마지막으로  $72^{\circ}\text{C}$ 에서 5분 간 반응시켜 증폭시켰고 증폭된 반

응물은 1% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다. 사용한 primer는 VP4의 경우 Gentsh 등<sup>20)</sup>이 사용한 것을, VP7의 경우 Vera 등<sup>21)</sup>이 사용한 것을 기본으로 하였는데 각 염기서열은 Table 1에 기술하였다.

#### 4. 통계

카파값은 두 진단법 사이의 임상적 유용성을 기존의 진단법을 표준으로 하여 일치도의 형태로 계량화한 값으로 두 방법 사이의 검사 결과가 일치할수록 +1.0에 가까운 수치로 나타낸다. 카파값은 일반적으로 사용되는 전체일치도(Overall percent agreement)에 우연에 의한 일치의 정도를 보정한 지표(chance-corrected agreement)를 이용하였다<sup>22)</sup>. Landis와 Koch<sup>23)</sup>는 카파값이 0.0 이하일 경우 두 진단법 사이의 결과 일치도가 거의 존재하지 않으며(Poor agreement) 0.0에서 0.20 사이일 경우 Slight agreement, 0.21에서 0.40 사이일 경우 Fair agreement, 0.41에서 0.60 사이를 Moderate agreement, 0.61에서 0.80 사이를 Substantial agreement 라고 하였으며 0.81에서 1.00 사이를 Almost perfect 하다고 하였다.

### 결 과

각 검사의 위양성률과 위음성률을 알기 위해서

는 먼저 로타바이러스 감염의 절대적인 비교 표준을 정하여야 하는데 이를 위해 본 검사에서는 일반적으로 알려진 예민도의 순서를 기준으로 하여 예민도가 낮은 검사에서 양성인 경우를 예민도가 높은 검사의 위음성 기준으로 하고 예민도가 높은 검사의 음성을 예민도가 낮은 검사의 위양성 기준으로 하여 각 검사의 위양성률과 위음성률을 비교하였다. 일반적으로 LA 검사의 예민도가 가장 떨어지고 RT-PCR의 예민도가 가장 높은 것으로 알려져 있으므로 LA 양성인 경우를 ELISA와 RT-PCR의 위음성 기준으로 하여 LA가 양성임에도 불구하고 ELISA나 RT-PCR이 음성이면 위음성으로 하였고 RT-PCR 음성을 LA와 ELISA의 위양성 기준으로 하여 RT-PCR이 음성임에도 불구하고 LA나 ELISA가 양성이면 위양성으로 하였다.

#### 1. RT-PCR과 LA 검사 결과의 비교

Table 2에서 RT-PCR과 LA에 의한 검사 결과를 비교하였다. LA 검사 결과를 기준으로 하였을 때 RT-PCR에서 음성인 경우 31례 중 LA에서 양성인 경우가 11례가 있어 RT-PCR의 위음성률은 35%이었고 RT-PCR 검사 결과를 기준으로 하였을 때 LA에서 양성인 경우 45례 중 RT-PCR에서 음성인 경우가 11례가 있어 LA 검사의 위양성률은 24%이었다(Table 5).

Table 1. Primers used for RT-PCR

Primer	Nomenclature	Oligonucleotide sequence (5'-3')
VP7	RG1	CAAGTACTCAAATCAATGATGG (reverse)
	RG2	CAATGATATTAACACATTTTCTGTG (reverse)
	RG3	CGTTTGAAGAAGTTGCAACAG (reverse)
	RG4	CGTTTCTGGTGAGGAGTTG (reverse)
	BEG9	GGCTTTAAAAGAGAGAATTTCCGCTGG (forward)
VP4	CON3	TGGCTTCGCCATTTTATAGACA (forward)
	P8	TCTACTTGGATAACGTGC (reverse)
	P4	CTATTGTTAGAGGTTAGAGTC (reverse)
	P6	TGTTGATTAGTTGGATTCAA (reverse)
	P9	TGAGACATGCAATTGGAC (reverse)

**Table 2.** Comparison of RT-PCR and LA

		LA		Total
		+	-	
RT-PCR	+	34	14	48
	-	11	20	31
Total		45	34	79

**Table 3.** Comparison of RT-PCR and ELISA

		ELISA		Total
		+	-	
RT-PCR	+	37	11	48
	-	8	23	31
Total		45	34	79

**Table 4.** Comparison of LA and ELISA

		ELISA		Total
		+	-	
LA	+	31	14	45
	-	14	20	34
Total		45	34	79

## 2. RT-PCR과 ELISA 검사 결과의 비교

Table 3에서 RT-PCR과 ELISA에 의한 검사 결과를 비교하였다. ELISA 검사 결과를 기준으로 하였을 때 RT-PCR에서 음성인 경우 31례 중 ELISA에서 양성인 경우가 8례가 있어 RT-PCR의 위음성률은 25%이었고 RT-PCR 검사 결과를 기준으로 하였을 때 ELISA에서 양성인 경우 45례 중 RT-PCR에서 음성인 경우가 8례가 있어 ELISA 검사의 위양성률은 18%이었다(Table 5).

**Table 5.** Comparison of False Positive Rate and False Negative Rate

	False-positive rate	False-negative rate
LA	24%, 31%	
ELISA	18%	41%
RT-PCR		25%, 35%

**Table 6.** The Kappa Values

	RT-PCR	ELISA	LA
RT-PCR	1.0	0.456	0.347
ELISA		1.0	0.277
LA			1.0

## 3. LA와 ELISA 검사 결과의 비교

Table 4에서 LA와 ELISA 검사 결과를 비교하였다. LA 검사 결과를 기준으로 하였을 때 ELISA에서 음성인 경우 34례 중 LA에서 양성인 경우가 14례가 있어 ELISA의 위음성률은 41%이었고 ELISA 검사 결과를 기준으로 하였을 때 LA에서 양성인 경우 45례 중 ELISA에서 음성인 경우가 14례가 있어 LA 검사의 위양성률은 31%이었다(Table 5).

## 4. 각 검사들 사이의 카파값(Kappa Value)

Table 6에서와 같이 본 연구에서는 RT-PCR과 ELISA 사이의 카파값이 0.456으로 가장 높았으며 ELISA와 LA 사이의 카파값이 0.277로 가장 낮았다.

## 고 찰

로타바이러스 장염의 진단에는 전자 현미경으로 대변내에서 바이러스 입자를 확인하는 방법과 ELISA, LA 등과 같은 면역학적 방법 그리고 Polyacrylamide gel electrophoresis, Dot blot hybridization 등이 이용되고 있다<sup>8,12,24</sup>. 로타바이러스 장염의 진단에 있어 표준 방법으로 알려진 전자 현미경법은

바이러스 입자를 대변 검체에서 직접 확인하는 것으로 그 특이도는 매우 높으나 검사자의 숙련된 기술과 많은 시간이 요구되며 다수의 검체를 검사하는데 부적합하여 실제 임상에서 사용되고 있지 않다<sup>25)</sup>. 또한 일반 전자현미경법의 예민도를 높이기 위해 개발된 면역 전자 현미경법 역시 전자 현미경을 이용한 방법과 같은 이유로 임상에서 쓰여지고 있지 않은 실정이다. ELISA는 LA법과 함께 현재 임상에서 로타바이러스 감염을 진단하는 데 가장 널리 쓰이고 있는 방법이나 동시에 다수의 검체를 검사하므로 적은 수의 검체인 경우에는 비용상의 문제로 인해 임상적 이용에 제한이 있을 수 있다<sup>26,27)</sup>. LA법은 현재 임상적으로 널리 사용되고 있기는 하나 낮은 예민도로 인하여 과연 로타바이러스 감염을 적절히 진단할 수 있는지에 대해서는 논란이 있다<sup>26,28,29)</sup>. 대변에서 소량의 바이러스 입자를 분비하는 경증의 감염 환자나 불현성 감염 환자를 진단할 수 있기 위해서는 높은 예민도를 가진 검사법이 필요한데 이러한 검사로서 로타바이러스 유전자의 증폭을 통한 RT-PCR 검사의 높은 예민도가 보고되고 있다<sup>30)</sup>. Husain 등<sup>31)</sup>은 대변 검체의 연속적 희석법(serial dilutions)에 의한 RT-PCR assay와 ELISA의 비교연구를 시행하여 RT-PCR이 ELISA보다 100배 이상의 높은 예민도를 보였다고 하였으며 Wilde 등<sup>19)</sup>은 같은 연구에서 1,000 배 이상의 높은 예민도를 보인다고 보고하였다. Gouvea 등<sup>21)</sup>은 대변 검체를 이용하여 RT-PCR을 시행할 경우 2 ng ( $10^8$  copies)의 바이러스 RNA만 있어도 로타바이러스 양성의 결과를 얻을 수 있다고 발표하였고 Xu 등은 실험적 상태에서  $8 \times 10^3$  바이러스 입자만으로도 양성의 결과를 얻을 수 있을 만큼 RT-PCR은 예민도가 높은 검사법이라고 보고하였다. 일반적인 RT-PCR의 단점으로는 그 시행에 있어 시간이 더 걸리고 비용이 많이 들며 숙련된 검사자가 필요하다는 점을 들 수 있는데 그 이외에도 대변을 검체로 사용하는 경우 예민도에 있어 기대치에 떨어지는 경우가 있다. 이는 1990년 Gouvea 등<sup>21)</sup>의 연구와 1992년 Ushijima 등<sup>31)</sup>의 연구 결과에서도 볼 수 있는 것으로 RT-PCR 도중에

발생하는 비특이적 반응 억제물질에 의한 억제 반응 때문인데 이러한 억제 반응은 대변 검체내에서 RNA 바이러스를 검출하는 데 있어 심각한 제한을 야기시키는 것으로 알려져 있으며 현재 이러한 반응 억제 물질의 제거법이 다양하게 제시되고 있다<sup>18~20)</sup>. 이에 본 연구에서는 설사하는 환자의 대변에서 동시에 RT-PCR과 immunoassay를 시행하여 로타바이러스의 검출률을 비교함으로써 로타바이러스 감염을 진단하는 데 있어 각 검사의 효율을 비교하고자 하였다.

Table 5에서 각 검사의 위양성률을 비교하면 RT-PCR은 자체가 위양성률의 비교 기준이 되었으므로 RT-PCR의 위양성률을 정할 수는 없었고 LA는 ELISA와 RT-PCR과 비교하였을 때 위양성률이 각각 24%와 31%이었으며 ELISA는 RT-PCR과 비교하였을 때 18%이었다. 마찬가지로 각 검사의 위음성률을 비교하면 LA는 자체가 위음성률의 비교 기준이 되었으므로 LA의 위음성률을 정할 수는 없었고 RT-PCR은 LA와 ELISA와 비교하였을 때 위음성률이 각각 35%와 25%이었으며 ELISA는 LA와 비교하였을 때 41%이었다. 각 검사별로 보았을 때 위양성률은 RT-PCR과 비교하여 LA는 31%, ELISA는 18%로서 ELISA가 LA보다 우수하였으나 위음성률은 LA와 비교하여 RT-PCR은 35%, ELISA는 41%로서 RT-PCR과 ELISA는 의미 있는 차이를 보이지 않았는데 이러한 차이는 간접적인 특이도의 차이로도 볼 수 있다. 그러나 이러한 수치는 RT-PCR이나 LA 자체의 위양성률이나 위음성률을 고려하지 않은 것으로 RT-PCR 자체의 위양성률과 LA 자체의 위음성률을 고려한다면 각 검사의 위양성률과 위음성률은 그보다 더 높을 수 있다. 따라서 이러한 수치만으로 각 검사를 비교하기가 어려워 두 진단법 사이의 일치도를 카파값을 구하여 알아 보았다. Table 6에서 RT-PCR과 ELISA 사이의 카파값이 0.456이었으며 RT-PCR과 LA 사이의 카파값은 0.347이었고 ELISA와 LA 사이의 카파값은 0.277이었다. 카파값의 정의에 의하여 RT-PCR과 ELISA 사이에는 중등도의 일치도(Moderate agreement)를 보임을 알 수 있으며 상대

적으로 LA는 나머지 두 검사법과의 일치도가 다소 낮음을 알 수 있었다. 이상의 특이도와 카파값에 의한 결과로 면역학적 방법 중 ELISA는 LA보다 대변에서 로타바이러스 감염을 진단하는 데 있어 우월하며 또한 가장 예민한 것으로 알려져 있는 RT-PCR과 특이도의 의미있는 차이없이 상당한 일치를 보임을 알 수 있었다.

이상의 연구 결과를 종합하면 대변에서 로타바이러스 감염 여부를 아는 데 있어 RT-PCR이 ELISA에 비해 탁월하게 우월하다고 생각되지는 않았다. 오히려 RT-PCR을 시행하는 데 드는 많은 시간과 경제적 비용 그리고 숙련된 검사자의 필요성을 고려한다면 임상에서 로타바이러스 감염 여부를 알기 위해 RT-PCR을 사용하기보다는 로타바이러스 감염이 있을 때 역학적 조사의 목적이나 감염 예방을 위한 백신 개발을 위해 로타바이러스의 유전자 typing을 하는 등의 목적으로 사용하는 것이 바람직하다고 생각된다.

## 요 약

**목 적:** 로타바이러스에 의한 장염의 진단에서 RT-PCR을 ELISA나 LA와 비교하여 각 검사의 효율을 비교하였다.

**방 법:** 설사증을 주소로 내원한 유소아의 대변에서 ELISA나 LA에 의한 로타바이러스 항원 검출률과 RT-PCR에 의한 로타바이러스 유전자 검출률을 비교하였다.

**결 과:** 대변에서 로타바이러스 감염을 진단하는 데 있어 ELISA는 LA보다 우월하며 RT-PCR과 특이도의 의미있는 차이없이 상당한 일치를 보였다.

**결 론:** 로타바이러스 장염의 진단에서 ELISA는 LA보다 우월하며 RT-PCR은 ELISA 보다 의미있게 우월하지는 않았다.

## 참 고 문 헌

- 1) Cukor G, Blacklow NR. Human viral gastroenteritis. *Microbiol Rev* 1984;48:157-79.
- 2) World Health Organization Scientific Working Group. Rotavirus and other viral diarrheas. *Bull W.H.O.* 1980; 58:183-98.
- 3) 송미옥, 윤여란, 정상인, 최철순, 임인석, 강신영 등. 한국영아에서 분리된 로타바이러스 VP7 유전자형 및 염기서열 분석. *대한바이러스학회지* 2000;30:101-12.
- 4) Estes MK, Cohen J. Rotavirus gene structure and function. *Microbiol Rev* 1989;53:410-9.
- 5) Kapikian AZ, Chanok RM. Rotavirus. In: Field BM, Knipe DM, Howley PM, Melnick JL, Monath TP, et al. *Field Virology* 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996;1657-708.
- 6) Bernstein DI, Ward RL. Rotaviruses. In: Feigin RD, Cherry JD, editors. *Textbook of pediatric infectious diseases* 4th ed. Philadelphia: WB Saunders 1998; 1901-22.
- 7) Desselberger U, McCrae MA. The rotavirus genome. *Curr Microbiol Immunol* 1994;185:31-66.
- 8) Kapikian AZ, Wyatt RG, Greenberg HB, Kalica AR, Kim HW, Brandt CD, et al. Approaches to immunization of infants and young children against gastroenteritis due to rotavirus. *Rev Infect Dis* 1980;2:459-69.
- 9) Institute of Medicine. Prospects for immunizing against rotavirus. Washington, DC: National Academy Press 1985.
- 10) Bishop RF. Natural History of human rotavirus infections. In: Kapikian AZ (Ed.), *Viral Infections of the Gastrointestinal Tract*, 2. Marcel Dekker, New York, 1994;131-67.
- 11) Dennehy PH, Gauntlett DR, Tente WE. Comparison of nine immunoassays for the detection of rotavirus in fecal specimens. *J Clin Microbiol* 1988;26:1630-4.
- 12) Miotti P, Eiden J, Yolken R. Comparative efficacy of commercial immunoassays for the diagnosis rotavirus gastroenteritis during the course of infection. *J Clin Microbiol* 1985;22:693-8.
- 13) Dennehy PH, Hartin M, Nelson SM, Reising SF. Evaluation of the ImmunoCardSTAT of Group A Rotavirus in Fecal Specimens. *J Clin Microbiol* 1999; 37:1977-9.
- 14) Hughes JH, Tuomari AV, Mann DR, Hamparian VV. Latex Immuno assay for rapid detection of rotavirus. *J Clin Microbiol* 1984;20:441-7.
- 15) Ward RL, Bernstein DI, Young EC, Sherwood JR, Knowlton DR, Schiff GM. Human rotavirus studies in volunteers: determination of infectious dose and sero-

- logical response to infection. *J Infect Dis* 1986;154: 871-80.
- 16) Thomas EE, Puterman ML, Kawano E, Curran M. Evaluation of seven Immunoassays for Detection of Rotavirus in Pediatric Stool Samples. *J Clin Microbiol* 1988;1189-93.
- 17) Wilde J, Eiden J, Yolken R. Removal of inhibitory substances from human fecal specimens for detection of group A rotaviruses by reverse transcriptase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1990;28:1300-7.
- 18) Xu L, Harbour D, McCrae M. The application of polymerase chain reaction to the detection of rotaviruses in feces. *J Virol Methods* 1990;27:29-38.
- 19) Wilde J, Yolken R, Willoughby R, Eiden J. Improved detection of rotavirus shedding by polymerase chain reaction. *Lancet* 1991;337:323-6.
- 20) Gentsch J, Glass RI, Woods P, Gouvea V, Gorziglia M, Flores J, et al. Identification of group A rotavirus gene 4 types by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992;30:1365-73.
- 21) Gouvea V, Glass RI, Woods P, Taniguchi K, Clark HF. Polymerase chain reaction and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J Clin Microbiol* 1990;28:276-82.
- 22) 신영수, 안윤옥. 의학 연구 방법론. 서울, 서울대학교 출판부 1997;140-4.
- 23) Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977;33: 159-74.
- 24) Krause PJ, Hyams JS, Middleton PJ, Herson VC, Flores J. Unreliability of rotazyme ELISA test in neonate. *J Pediatr* 1983;103:259-62.
- 25) Rubinstein AS, Miller MF. Comparison of an enzyme immunoassay with electron microscopic procedures for detecting rotavirus. *J Clin Microbiol* 1982;15:938-44.
- 26) Knisley CV, Bednarz-preashad J, Pickering LK. Detection of rotavirus in stool specimens with monoclonal and polyclonal antibody-based assay system. *J Clin Microbiol* 1986;23:897-900.
- 27) 장혜경, 김창렬, 오성희, 이하백, 이근수. 소아 Rotavirus 설사증에 대한 고찰. *소아과* 1988;31:961-7.
- 28) Sanekata T, Yoshida Y, Okada H. Detection of rotavirus in faeces by latex-agglutination. *J Immunol Methods* 1981;41:377-85.
- 29) Haikala OJ, Kokkonen JO, Leinonen MK, Nurni T, Mantyjarvi R, Sarkkinen HK. Rapid detection of rotavirus in stool by latex agglutination: Comparison with radioimmunoassay and electron microscopy and clinical evaluation of the test. *J Med Virol* 1983;11: 91-7.
- 30) Buesa J, Colomina J, Raga J, Villanueva A, Prat J. Evaluation of reverse transcription and polymerase chain reaction for the detection of rotavirus: Applications of the assay. *Res Virol* 1996;147:353-61.
- 31) Hiroshi Ushijima, Hinako Koike, Atsushi Mukoyama, Ayako Hasagawa, Shuichi Nishimura, Gentsch J. Detection and serotyping of rotaviruses in stool specimens by using reverse transcription and polymerase chain reaction amplification. *J Med Virol* 1992;38:292-7.