

간접 효소 면역측정법을 이용한 입원 환자의 대변에서 바이러스 항원의 검출과 임상적 의의

홍익병원 소아과, 이화여자대학교 의과대학 *소아과학교실 및 † 미생물학교실

민 정 혜 · 서 정 완* · 박 혜 경†

Detection of Viral Antigens in Stool Using EIA in Hospitalized Children and Clinical Implication

Jung Hye Min, M.D., Jeong Wan Seo, M.D.* and Hye Kyung Park, M.D.†

Department of Pediatrics, Hongik General Hospital, Departments of *Pediatrics and
† Microbiology, Ewha Womans University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: The purpose of this study is to detect viral coproantigens in children who were hospitalized with acute diarrhea and to compare its association with clinical symptoms.

Methods: Seventy-four stool samples were collected from children admitted to Ewha Mokdong Hospital from March 1996 to December 1999. The samples were frozen and analyzed for rotavirus, adenovirus, enterovirus, astrovirus, and calicivirus by enzyme immunoassay (EIA) with monoclonal antibody. 53 stool samples were collected from patients with diarrhea (diarrheal group) and 21 stool samples from patients hospitalized for reasons other than diarrhea (control group). Clinical features and laboratory findings were reviewed in both groups.

Results: Among 74 stool samples, virus antigens were detected in 60 samples. Of the 60 virus-positive stool samples, 47 enterovirus, 26 rotavirus, 16 adenovirus, 11 astrovirus, and 11 calicivirus antigens were detected by EIA. Of the 60 virus-positive stool samples, 28 samples have one viral antigen, 30 samples have 2 or more viral antigens, and 2 samples showed a simultaneous infection of Salmonella group B and enterovirus. There was no relationship between the detected virus and clinical features.

Conclusion: In this study, viral coproantigen and clinical symptoms were not associated. In the future, further larger scale studies are necessary. (*Korean J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 7: 143~152)

Key Words: Rotavirus, Adenovirus, Enterovirus, Astrovirus, Calicivirus, EIA

접수 : 2004년 8월 5일, 승인 : 2004년 9월 17일

책임저자 : 서정완, 158-710, 서울시 양천구 목동 911-1번지, 이화여대 부속 목동병원 소아과

Tel: 02-2650-5275, Fax: 02-2650-3728, E-mail: jwseo@ewha.ac.kr

서 론

우리나라에서 지난 30여년간 위생의 증진과 사회경제적 여건의 발전에 힘입어 급성 설사로 인한 입원은 30%에서 5%로 줄었으며¹⁾, 세균성 장염은 위생 환경이 개선되고 경제 여건이 좋아지면서 줄어들고 바이러스 장염이 늘고 있다. 바이러스 장염의 원인으로는 rotavirus가 가장 흔하나 최근에 astrovirus, calicivirus, adenovirus 40과 41형에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다. Astrovirus는 소아의 급성 설사의 10%²⁾, 장관형 adenovirus 40, 41형은 3>5%를 차지하며^{3,4)}, calicivirus와 enterovirus도 소아 급성 설사의 원인으로 지목되고 있다.

실제로 임상에서 급성 설사의 바이러스 진단은 rotavirus만을 시행하고 있으며 다른 바이러스의 진단은 거의 시행하지 않고 있다. 우리나라에서는 강 등⁵⁾, 박 등⁶⁾의 astrovirus 동정, 지 등⁷⁾의 calicivirus 동정에 관한 연구 외에는 바이러스의 검출과 이와 연관된 임상 증상에 관한 연구가 없다.

본 저자는 급성 설사로 입원한 소아에서 대변에서 rotavirus, astrovirus, calicivirus, adenovirus 및 enterovirus의 바이러스 항원을 검사하고 임상 증상과의 연관성을 조사하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환아와 대변 검체

이화여자대학교 의과대학 목동병원 소아과에 1996년 3월부터 1999년 12월 사이에 입원하였던 소아 74명의 대변을 채취하였는데, 소아 1명당 2개의 검체를 입원 48시간 이내에 또는 입원 도중 설사가 발생한 경우에 채취하였다. 한 검체는 4°C에서 보관하여 24시간 이내에 세균과 기생충에 대한 일반 대변 검사 및 대변 내 세균 배양 검사를 하였으며, 다른 검체는 바이러스 항원 검출을 위하여 영하 20°C에서 냉동 보관하였다.

전체 74개의 검체 중 53개는 설사하는 소아에서 채취하여 이를 설사군으로, 21개는 동일 시기에 설

사가 없는 타질환으로 입원한 소아에서 무작위로 채취하여 이는 대조군으로 분류하였다. 대조군의 입원 시 진단은 호흡기 감염 7례(33%), 패혈증 의증 4례(19%), 요로 감염 3례(14%) 등이었다.

2. 대변 내 바이러스 항원의 검출

냉동된 대변 검체는 rotavirus, adenovirus, astrovirus, calicivirus와 enterovirus의 항원 검출을 위하여 단클론 항체를 이용하여 간접 효소 면역측정법(enzyme immunoassay, EIA)으로 검사하였다.

대변 검체는 인산 완충 식염수(phosphate-buffered saline, PBS)로 10% 부유액을 만든 후 2,000 g에서 30분간 원심 침전하여 상층액을 0.1 M bicarbonate 완충 용액(pH 9.5)으로 1 : 20으로 희석하여 단클론 항체가 피복된 EIA plate에 well당 100μL를 첨가 후 37°C에서 30분간 작용시키고, 0.05% Tween 20이 포함된 2% skim milk/PBS 용액으로 37°C에서 30분간 block시키고 세척하였다.

Rotavirus monoclonal antibody (Chemicon, Lot No. 20020781)는 1 : 200, adenovirus monoclonal antibody (Chemicon, ADV 40 & 41 type에 모두 반응하는 단클론 Lot No.20010030)는 1 : 1,000, astrovirus monoclonal antibody (Chemicon, Lot No.3729014)는 1 : 150, calicivirus monoclonal antibody (Chemicon, Lot No. 18060590)는 1 : 200, enterovirus monoclonal antibody (DAKO Diagnostics, Lot No.01103501-0700, Denmark)는 1 : 200으로 각각 희석하여 사용하였다.

각 바이러스의 단클론 항체의 희석 배수에 따라 희석하여 50μL 첨가 후 37°C에서 2시간 방치하였다. 3회 세척 후 goat antimouse IgG conjugate horseradish peroxidase를 50μL 첨가 후 37°C에서 3시간 방치하였다. 다시 3회 세척 후 substrate인 orthophenylene diamine을 H₂O₂와 함께 첨가하여 100μL 첨가 후 30분간 어두운 곳에 방치하였다. 2N H₂SO₄ 50μL를 첨가하여 발색을 차단 후 분광광도계 490 nm에서 OD를 판독하였다. OD는 2회 측정하여 평균치를 구하였다. Cubitt 등⁸⁾의 판독 방법을 따라 음성 대조군에 0.15를 더하여 OD 0.25 이상을 양성이라 하였다⁹⁾.

3. 임상증상

설사군과 대조군에서 설사 및 구토의 임상 증상 여부와 증상의 심한 정도를 판정하기 위하여 의무 기록에서 소변량 감소 및 탈수 교정 요법 여부, 전해 질 불균형 및 산-염기 상태를 조사하였다.

결 과

1. 바이러스 항원의 검출

바이러스 항원은 74례의 대변 검체 중 60례에서 검출되었고, 14례에서 검출되지 않았으며 설사군에서 7례, 대조군에서 7례이었다(Table 1). 바이러스가 검출된 60례 중 바이러스의 분포는 rotavirus가 26례, adenovirus가 16례, astrovirus가 11례, calicivirus가 11례, 그리고 enterovirus가 47례 검출되었다(Table 2). 바이러스 항원의 단독 감염은 28례, 동시 검출은 32례이었다. 설사군의 평균 연령은 16개월이고 남녀 비는 1.5 : 1이었으며, 대조군의 평균 연령은 15개월이고 남녀 비는 2 : 1이었다. 바이러스는 모두 봄(3 > 5월)에 가장 많이 검출되었다(Fig. 1).

2. 바이러스 항원의 단독 감염과 임상 증상

바이러스 항원이 단독 검출된례에서의 임상 증상

Table 1. Number of Viral Pathogens detected in Stool Samples

	Diarrheal group	Control group	Total
Virus detected	46	14	60
Single detection	22	6	28
Double detection*	13	4	17
Triple detection	8	3	11
Quadruplet detection	1	1	2
Quintet detection	2	0	2
No virus	7	7	14
Total	53	21	74

*2 cases of simultaneous infection of enterovirus and Salmonella group B are included.

은 Table 3에서와 같다.

단독 감염은 설사군 22례, 대조군 6례에서 검출되었다. 설사 환자의 단독 감염은 enterovirus 감염이 18례, rotavirus, astrovirus, calicivirus와 adenovirus 감염이 각 1례이었다. 단독 감염된 설사군 소아의 평균 연령은 rotavirus 감염 11개월, enterovirus 감염 20개월, calicivirus 감염 3개월, astrovirus 감염과 adenovirus 감염 각 12개월이었다. 평균 입원 기간은 rotavirus 감염 때 2일이었으며, enterovirus 검출례에서 5.5일, astrovirus, calicivirus 및 adenovirus 검출례에서 각 6일이었다.

Astrovirus 감염에는 설사에 구토도 동반되었지만, rotavirus, calicivirus 및 adenovirus 감염에 의한 증상은 설사만 있었다. Enterovirus 감염에서 설사는 17례

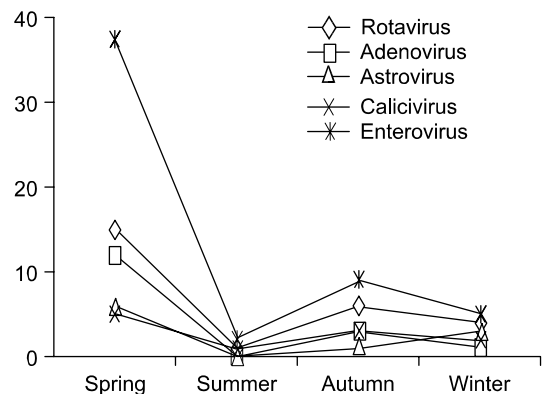


Fig. 1. Seasonal distribution of 5 viral diarrheas over 4-year time span (1996~1999).

Table 2. Distribution of Viral Pathogens in Stools of Acute Diarrheal Patients

Viral pathogens	Diarrheal group n=46 (%)	Control group n=14 (%)	Total n=60
Rotavirus	21 (46)	5 (36)	26
Adenovirus	12 (26)	4 (29)	16
Astrovirus	9 (20)	2 (14)	11
Calicivirus	10 (22)	1 (7)	11
Enterovirus	36 (78)	11 (79)	47

Multiple detection of viruses is included.

Table 3. Clinical Features Associated with Single Viral Detection in Diarrheal and Control Patients

	Rotavirus		Enterovirus		Astrovirus	Calicivirus	Adenovirus
	Dia*	Con [†]	Dia	Con	Dia	Dia	Dia
Number of sample	1	2	18	4	1	1	1
Age (months)	11	17	20	13	12	3	12
Hospital stay (days)	2	7	5.5	8.5	6	6	6
Diarrhea	1	0	17	0	1	1	1
Vomiting	0	1	11	1	1	0	0
Decreased urine output	0	1	10	0	0	0	0
Electrolyte &/or acid-base imbalance	0	1	9	1	0	0	0
IV rehydration	0	1	6	0	0	0	0

*Dia: diarrheal group, [†] Con: control group.

(94%)에서 있었고, 11례(61%)에서 구토를 동반했으며, 탈수가 있었던 10례와 전해질 불균형 및 산-염기 대사 이상이 있던 9례에서 초기 수액 요법을 받아 탈수를 교정하였다.

대조군에서는 rotavirus 2례, enterovirus 4례가 단독 검출되었다. Rotavirus는 설사가 없었던 장중첩증 소아와 직장 출혈로 입원한 소아의 대변에서 검출되어 평균 연령 17개월에 7일간 입원하였고, enterovirus는 패혈증 의증, 폐렴, 또는 요로 감염으로 입원한 소아의 대변에서 검출되어 평균 연령 13개월에 8.5일 입원하였다. Rotavirus가 검출된 1례에서 만 구토가 심하고 소변량 감소 및 전해질 불균형과 산-염기 대사 이상이 있어 초기 수액 요법으로 탈수를 교정하였으며, enterovirus가 검출된 경우 중 1례에서 구토 및 전해질 불균형과 산-염기 대사 이상이 있었으나 초기 수액 요법까지는 시행하지 않았다.

3. 바이러스 항원의 복합 감염과 임상 증상

32례에서 두 종류 이상의 바이러스 항원이 동시 검출되었다. 동시 검출이 30례, Salmonella group B와 enterovirus의 동시 감염이 2례이었다. 두 종류 바이러스 항원 동시 검출 15례, 세 종류 바이러스 항원 동시 검출 11례, 네 종류 바이러스 항원 동시 검출 2례, 다섯 종류의 바이러스 항원 모두 검출된 것 2례

이었다(Table 1).

두 종류의 바이러스 항원이 검출된 경우는 rotavirus와 calicivirus 항원의 동시 검출 3례, rotavirus와 enterovirus 항원의 동시 검출 6례, adenovirus와 enterovirus 항원의 동시 검출 6례가 있었다. 세 종류의 바이러스 항원이 검출된 경우는 rotavirus, calicivirus와 astrovirus 항원 4례, rotavirus, enterovirus와 astrovirus 항원 1례, rotavirus, enterovirus와 adenovirus 항원 5례, adenovirus, astrovirus와 enterovirus 항원 1례이었다. 네 종류의 바이러스 항원이 검출된 경우는 rotavirus, calicivirus, astrovirus와 enterovirus 항원의 동시 검출 1례, rotavirus, enterovirus, astrovirus와 adenovirus 항원의 동시 검출 1례이었다(Table 4). Rotavirus는 설사군에서 18례, 대조군에서 8례 검출되었다. 대조군에서 검출된 rotavirus 2례는 설사가 없었던 장중첩증 소아와 직장 출혈로 입원한 소아에서 단독 검출되었다. 호흡기 감염, 패혈증 의증, 불거리, 항문 주위 농양 및 purpura로 입원한 소아에서 검출된 rotavirus 6례는 모두 무증상이었다. Adenovirus는 설사군에서 11례, 대조군에서 5례 검출되었다. 상기도 감염, 폐렴, 불거리, 요로 감염 및 패혈증 의증으로 입원한 소아에서 adenovirus 5례가 무증상으로 동시에 검출되었다. Adenovirus가 검출된 16례 중 9례에서 호흡기 감염이 동반되었다. Astrovirus는

Table 4. Incidence of Individual Viral Detection in Diarrheal and Control Group

	Diarrheal group	Control group	Total
Rotavirus	1	2	3
R+C	3	0	3
R+C+As	3	1	4
R+C+As+E	1	0	1
R+E+As	1	0	1
R+E+As+Ad	0	1	1
R+E	4	2	6
R+E+Ad	3	2	5
Adenovirus	1	0	1
Ad+E	4	2	6
Ad+E+As	1	0	1
Astrovirus	1	0	1
Calicivirus	1	0	1
Enterovirus*	20	4	24
All 5 viruses	2	0	2
Total	46	14	60

R: rotavirus, Ad: adenovirus, As: astrovirus, C: calicivirus, E: enterovirus. *2 cases of simultaneous infection with Salmonella group B are included.

설사군에서 9례, 대조군에서 2례 검출되었다. 항문 주위 농양과 패혈증 의증으로 입원한 소아에서 *astrovirus* 2례가 무증상으로 동시에 검출되었다. *Calicivirus*는 설사군에서 10례, 대조군에서 1례 검출되었다. 항문 주위 농양으로 입원한 소아에서 *calicivirus* 1례가 무증상으로 동시에 검출되었다. *Enterovirus*는 설사군에서 36례, 대조군에서 11례 검출되었다. 호흡기 감염 4례, 요로 감염 2례, 패혈증 의증 2례, 가와사키병 1례, 볼거리 1례 및 HSP 1례의 진단으로 입원한 소아에서 *enterovirus*가 무증상으로 동시에 검출되었다.

단독 감염과 두 종류 이상의 바이러스가 동시 검출된 경우의 임상 증상과 검사 결과를 비교하였다 (Table 5).

설사하는 소아에서 바이러스의 단독 감염은 22례이었으며, 두 종류 이상의 바이러스가 동시 검출된 경우도 22례이었다. 바이러스의 단독 감염에서 소

Table 5. Comparison of Clinical Features of Single Viral Detection Group and Multiple Viral Detection Group in Patients with Diarrhea

	Single viral detection n=22 (%)	Multiple viral detection n=22 (%)
Age (months)	18	11
Hospital stay (days)	5.4	5.2
Diarrhea	21 (95)	19 (86)
Vomiting	11 (50)	11 (50)
Decreased urine output	8 (36)	6 (27)
Electrolyte &/or acid-base imbalance	9 (41)	6 (27)
IV rehydration	7 (32)	7 (32)

아의 평균 연령은 18개월로 여러 개의 바이러스가 동시 검출된 소아의 평균 연령인 11개월보다 많았으며, 입원 기간은 두 군에서 비슷하였다. 바이러스의 단독 감염일 때 95%에서, 두 종류 이상의 바이러스가 동시 검출된 경우에는 86%에서 설사가 있었으며, 구토는 두 군 모두 환자의 50%에서 있었다. 소변량 감소는 바이러스의 단독 감염일 때 36%로, 두 종류 이상의 바이러스가 동시 검출된 경우의 27%보다 조금 많았다. 전해질 불균형 및 산-염기 대사 이상은 바이러스의 단독 감염의 41%에서 동반되고, 두 종류 이상의 바이러스가 동시 검출된 경우에는 27%만 동반되어, 검출되는 바이러스의 종류가 많은 것과 임상 증상 또는 검사 결과의 심한 정도와의 연관성은 없었다.

설사군에서 병원 내 감염은 7례로, *rotavirus*와 *enterovirus* 또는 *calicivirus*가 동시 검출된 경우 3례, *adenovirus*와 *enterovirus*가 동시 검출된 경우 1례, *enterovirus* 감염 2례 그리고 *calicivirus* 감염 1례이었다.

대조군에서 검출된 바이러스 14례에는 *rotavirus* 감염 2례, *enterovirus* 감염 4례, *rotavirus*와 나머지 4 바이러스가 동시 검출된 경우 6례, *enterovirus*와 *adenovirus*가 동시 검출된 경우 2례이었다.

고 찰

우리나라에서 바이러스 장염의 원인 바이러스에 따라 임상 증상의 차이가 있는지 알기 위하여 소아의 대변 검체에서 바이러스 항원을 간접 효소 면역 측정법으로 검사하였으며, 소아에서는 감기나 폐렴 등 호흡기 질환, 발진성 질환의 발생률도 높으므로 대변 내 enterovirus를 검사하였다. 그 결과 소아의 대변 검체에서 enterovirus, rotavirus, adenovirus, astrovirus, calicivirus순으로 바이러스가 검출되었다. Rotavirus가 소아 설사를 일으키는 주 원인으로 알려져 있는데, 본 연구에서는 enterovirus가 가장 많이 검출되었다. 이는 대변을 채취할 때 위장관계의 enterovirus에 의한 직접 감염도 있으나, 임상 증상과 연관이 없는 것으로 미루어, 대부분 장기간 하부 장관에 잠재하여 있던 enterovirus의 무증상 배출로 추정된다¹⁰⁾. Enterovirus와 adenovirus 감염 시 호흡기 분비물이나 대변으로 장기간 배출될 수 있으므로 설사의 직접적인 원인 바이러스로 작용하기 보다는 다른 바이러스 감염에 동시 검출되는 경우가 많을 것으로 생각된다.

Rotavirus의 증상은 다양하며, 생후 첫 6>24개월 사이에 입원을 요하는 설사를 일으키는 중요한 바이러스이다. 6>24개월 소아에서 rotavirus 설사의 발병률은 매년 소아 1명당 0.3>0.8회다¹¹⁾. 개발도상국에서는 rotavirus에 의한 심한 감염은 어린 소아에서 일어나며, 입원 환자 대부분이 생후 6>12개월인 반면¹¹⁾, 선진국에서는 12>18개월 연령의 소아가 입원을 하였다¹²⁾. 모든 소아는 5세 이전에 한번 정도 rotavirus에 감염되며, 해마다 여러 차례에 걸쳐 증상 없이 점막 면역력을 증강시키게 된다. 온대 기후에서 rotavirus는 늦가을에서 겨울철에 발병하는데 본 연구에서는 봄에 제일 많이 발병하여 지난 몇 년간 발병 시기가 점점 늦춰지는 추세를 발표한 손 등¹³⁾의 연구와 일치하였다.

Barron-Romero 등¹⁴⁾은 rotavirus는 병원과 육아 기관 종사자의 10>48%^{15~19)}, Haffjee 등^{20,21)}은 지역사회 일원의 16%가 무증상 보유자라고 하였다. 본

연구에서는 소아에서도 rotavirus 무증상 보균 상태는 단독 감염 및 동시 검출된 경우 포함하여 8례 (31%) 있었으며 연령이 3.5세로 다소 높았다.

Rotavirus의 병원 내 감염 경로는 호흡기 전파를 배제하지는 못하지만 의료 종사자의 손을 통한 전파가 가장 많다²²⁾. 실제로 rotavirus에 감염되어 설사를 하는 소아와 접촉한 성인의 무증상 rotavirus 2차 감염이 높은 빈도로 발견되어^{23~25)}, 이에 따른 바이러스 배출이 rotavirus를 더 많이 전파시킨다. 서 등¹⁾의 연구에서는 설사가 아닌 다른 원인으로 입원했다가 72시간 이후에 설사하기 시작한 병원 내 감염의 78%에서 rotavirus 항원이 발견되었다. 본 연구에서는 3례(5%)에서 rotavirus 병원 내 감염이 의심되었다. 설사하는 소아의 원인 바이러스로 rotavirus가 가장 흔하고 입원을 요할 만큼 증상이 심해서 rotavirus 항원의 검출 유무에 따라 임상 증상을 비교해 보았으나 차이가 없었다.

본 연구에서는 rotavirus는 astrovirus 9례, calicivirus 10례, enterovirus 16례에서 동시 검출되었다. Bon 등²⁶⁾은 간접 효소 면역측정법으로 검출된 대변 내 바이러스 중 동시 감염률 16.7%를 보고하였다. 동시 검출된 바이러스에 대하여 역전사-중합효소 연쇄 반응을 이용하여 감염 여부를 확인하여 대부분(94%)이 rotavirus와 astrovirus, calicivirus, enteric adenovirus 중 하나와 동시 감염임을 보고한 바 있다. Rodriguez-Baez²⁷⁾은 설사로 입원한 소아의 대변 검체를 간접 효소 면역측정법으로 astrovirus, adenovirus, rotavirus의 장염과의 관계 및 발병률을 연구하였는데, rotavirus는 astrovirus, respiratory syncytial virus (RSV), influenza B, 또는 adenovirus와 동시 감염이 있었고, astrovirus는 rotavirus, RSV, 또는 cytomegalovirus (CMV)와 동시 감염이 있었고, 비장관형 adenovirus는 RSV, CMV 또는 astrovirus와 동시 감염이 있었다고 보고한 바 있다.

Astrovirus는 대부분 증상이 rotavirus보다 경하여, 입원 치료는 드물다. Barnes와 Bass²⁸⁾는 astrovirus는 rotavirus나 다른 병원체와의 동시 감염이 흔히 일어나며, 이럴 경우 증상은 좀 더 심하게 나타난다고 하였다. Astrovirus 감염은 1세 미만 유아에, 온대 기

후에서는 겨울철에 잘 일어나며 대변-경구 경로로 전파된다. 본 연구에서 astrovirus는 10>14개월 소아의 대변 검체에서 발견되었고, 겨울철 보다는 봄에 호발하였다. Astrovirus는 개발도상국, 병원 내 발병 및 육아 기관에서 발생하는 설사의 중요한 원인이며, 특히 면역 저하된 환자의 설사의 주 원인이다. Ashley 등²⁹⁾은 astrovirus의 무증상 배출을 보고하였는데, 본 연구에서는 astrovirus 단독에 의한 무증상 배출은 없었으나, 항문 주위 농양과 패혈증 의증으로 입원한 소아 2례에서 증상 없이 다른 바이러스와 동시 검출되었다.

Calicivirus 감염은 소아와 성인에 집단 발생이 보고되고 있다. 감염 경로는 조개류, 케익 장식과 같은 음식물과 오염된 물을 통하여 전파된다. Calicivirus 감염의 특징은 증상 발현과 전파가 급속도로 일어나며 모든 연령층에 높은 발병률을 보인다. 일반적으로 질병은 경하고 1>2일의 잠복기를 지난 후에 12>24시간 내에 끝난다. Cubitt 등³⁰⁾은 calicivirus 무증상 보균자가 있으며 주기적으로 바이러스를 배출한다고 발표하였다. 본 연구에서는 calicivirus 단독에 의한 무증상 배출은 없었으나, 항문 주위 농양 소아에서 rotavirus, astrovirus와 무증상 동시 검출되었다. Calicivirus도 astrovirus와 같이 다른 병원체와 동시 감염을 잘 일으킨다²⁸⁾.

Rotavirus, calicivirus, astrovirus, adenovirus type 40과 41의 발생률을 보고한 Bon 등²⁶⁾의 연구에서는 대조군에서 calicivirus와 adenovirus가 전혀 검출되지 않았으나, 본 연구의 대조군에서는 calicivirus 1례, astrovirus 2례, adenovirus 5례가 검출되어 차이가 있었다. 16.7%에서 2개 바이러스가 동시에 검출되었으며, 대부분(94%)이 rotavirus와 나머지 바이러스들의 조합으로 구성되었다고 하는데, 본 연구에서는 32례(53%)에서 2개 이상의 바이러스가 동시 검출되었으며, 각 1례씩의 단독 감염을 제외하고 astrovirus와 calicivirus는 rotavirus와 동시 검출되었다.

Bates 등³¹⁾은 adenovirus가, Dennehy 등^{32~35)}은 astrovirus가 rotavirus 다음으로 유·소아 설사를 일으키는 두 번째 흔한 원인이라고 보고하였다. Duncan 등^{36~38)}은 설사를 하거나 안 하는 환자 모두에서 같

은 빈도로 adenovirus가 검출되었다고 보고하였으며, Ramoz-Alvarez 등^{39,40)}은 adenovirus의 유형과는 무관하게 설사하는 환자에서 adenovirus가 더 많이 검출된 연구를 보고하였는데, 전자현미경을 통한 유·소아 설사의 원인 바이러스로서의 adenovirus의 유형이 규명됨으로써 입원을 요하는 바이러스성 설사의 두 번째로 중요한 원인으로 adenovirus가 자리매김하게 되었다. 본 연구에서는 enterovirus 감염을 제외하면 rotavirus 다음으로 adenovirus가 두 번째로 많이 검출되었지만, 이는 설사와 연관 있는 장관형 adenovirus (40, 41형)을 포함한 전반적인 adenovirus 유형을 검출한 것이었고, 또 adenovirus가 검출된 16례 중 9례에서 호흡기 감염이 동반되었다. Adenovirus는 어디에나 편재하는 바이러스로 장기간 동안 호흡기 분비물과 대변으로 배출된다. Herrmann 등³⁴⁾은 설사군의 4.4%에서, 대조군의 1.8%에서 비장관형 adenovirus의 검출을 보고하였으며, Uhnno 등⁴¹⁾은 장관형 adenovirus에서도 0.1>2%의 무증상 보균 상태를 보고하였다. 본 연구에서는 대조군에서 5례(31%)의 adenovirus가 검출되었으며, 이 중 2례에서 호흡기 증상이 있었다.

Enterovirus에 의한 설사는 경미하여 수액성 변 또는 혈변은 거의 없으며, 묽은 변을 하루에 최대 6>8회, 2>4일 정도 본다. Enterovirus는 분변-구강 경로와 구강-구강 경로로 사람에서 사람으로 전파된다. 구강 또는 호흡기 경로로 습득된 enterovirus는 인두와 하부 소화기관에 머물면서 경미한 바이러스혈증을 일으켜 2차적으로 타 부위에 감염을 일으킨다. 2차 감염 부위에서의 바이러스 증식이 임상 증상의 발현 시기와 일치한다. 혈청 내 항체가 생성되면서 바이러스혈증은 사라지나, 비교적 장기간 동안 하부 장관에서 무증상 보균 상태로 머물러, 바이러스가 검출되어도 질환과의 인과 관계를 증명하기 힘들다. 모든 enterovirus 질환은 종류나 유형에 따라 정도와 범위의 차이는 있으나, 하나 이상의 위장관계 증상을 동반한다. Enterovirus 감염에서 나타나는 설사가 장염의 원인균일 수도 있으나, 호흡기 감염이나 전신 감염에 동반되는 비장관형 설사로서 나타나는 경우가 많다⁴²⁾. Assad와 Cockburn⁴³⁾은 coxsac-

kievirus 감염의 12%, echovirus 감염의 6.8%에서 위장관계 증상이 주증상을 밝혔다. 본 연구에서는 enterovirus가 47례로 가장 많이 검출됐는데, 16례의 enterovirus는 다른 바이러스 감염에 동시 검출된 것이었으며, 설사군에서 18례의 enterovirus가 단독으로 검출되었다. 일반적인 enterovirus 질환의 증상은 바이러스에 감염되어 바로 나타나고 단기간 동안만 발현되며, 대변 검체를 채취하기 2>3개월 전에 감염이 있어 하부 장관에 무증상 보관 상태로 남아있던 바이러스가 대변에서 검출되는 경우가 보고되고 있다¹⁰⁾. 설사군에서 단독 검출된 enterovirus 18례 중 11례는 호흡기 증상이, 1례는 간염이 동반되었었고, 설사만 있는 경우는 6례이었다. 무증상 배출이 enterovirus 감염의 많은 비율을 차지할 것이라는 추측과는 달리 본 연구에서는 의외로 enterovirus 단독에 의한 설사가 38%로 많았다. 그러나, enterovirus 감염은 다양한 증상이 나타나며 설사를 일으키는 특정 유형이 없으므로 enterovirus를 설사의 유일한 바이러스로 규정하기는 어렵다⁴⁴⁾.

Enterovirus나 adenovirus는 종류나 유형에 따라 나타나는 임상 증상이 다양하고, astrovirus나 calicivirus는 단독 감염보다는 rotavirus에 동시 검출되는 경우가 많았으며, 임상 증상에 차이가 없었다. 본 연구에서는 대변 내 바이러스 항원의 단클론 항체를 이용한 간접 효소 면역측정법으로 검사하였으며, 각 바이러스 항원과 임상 증상과의 연관성은 없었다. 앞으로 더 많은 소아를 대상으로 역전사 중합효소 연쇄반응, 바이러스 배양 검사 등으로 다양하게 검사하여 소아 설사의 바이러스성 원인과 역학이 연구되어야 할 것이다.

요 약

목 적: 급성 설사로 입원한 소아의 대변 검체에서 rotavirus, adenovirus, astrovirus, calicivirus 및 enterovirus의 바이러스 항원을 검출하고 임상 증상과의 연관성을 알기 위해 본 연구를 시도하였다.

방 법: 이화여자대학교 의과대학 목동병원 소아과에 1996년 3월부터 1999년 12월 사이에 입원하

였던 소아 74명의 대변을 채취하였는데, 53개는 급성 설사 환자에서 채취하여 이를 설사군으로, 21개는 동일시기에 설사가 없는 타질환으로 입원한 소아에서 무작위로 채취하여 이는 대조군으로 분류하였다. 대변 검체는 영하 20°C에서 냉동 보관 후 단클론 항체를 이용한 간접 효소 면역측정법으로 바이러스 항원 검출을 하였고 각 바이러스 검출과 임상 증상을 비교하였다.

결 과: 바이러스 항원은 설사군에서 46례와 대조군에서 14례 검출되었다. 이 중 enterovirus 47례, rotavirus 26례, adenovirus 16례, astrovirus 11례, 그리고 calicivirus가 11례 검출되었다. 시기적으로 바이러스 항원은 봄(3>5월)에 많이 검출되었다(63%). 하나의 바이러스 항원이 검출된 경우는 설사군 22례, 대조군 6례로 모두 28례이었다. 바이러스 항원이 동시 검출된 경우는 30례이며, Salmonella group B와 enterovirus의 동시 감염 2례 있었다. 여러 항원이 검출된 30례를 세분하면, 두 종류의 바이러스가 검출된 경우가 15례, 세 종류의 바이러스가 검출된 경우가 11례, 네 종류의 바이러스가 검출된 경우가 2례, 다섯 종류의 바이러스가 모두 검출된 경우도 2례 있었다. 대변에서 바이러스 항원이 동시 검출된 다중성이나 종류에 따른 임상 증상의 차이는 없었다.

결 론: 본 연구에서는 대변 내 바이러스 항원에 대한 단클론 항체를 이용한 간접 효소 면역측정법으로 검사하였으며, 각 바이러스 항원과 임상 증상과의 연관성은 없었다. 앞으로 더 많은 소아를 대상으로 역전사 중합효소 연쇄반응, 바이러스 배양 검사 등으로 다양하게 검사하여 소아 설사의 바이러스성 원인과 역학이 연구되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

- 1) Seo JK, Sim JG. Overview of rotavirus infections in Korea. *Pediatr Int* 2000;42:406-10.
- 2) Glass RI, Noel J, Mitchell D, Herrman JE, Blacklow NR, Pickering LK, et al. The changing epidemiology of astrovirus associated gastroenteritis: a review. *Arch Virol Suppl* 1996;12:287-300.

- 3) Kotloff KL, Losonsky GA, Morris JG Jr, Wasserman S, Singh-Naz N, Levine MM. Enteric adenovirus infection and childhood diarrhea: an epidemiologic study in three clinical settings. *Pediatrics* 1989;84:219-25.
- 4) Herrman JE, Blacklow NR, Perron-Henry DM, Clements E, Taylor DN, Echeverria P. Incidence of enteric adenoviruses among children in Thailand and the significance of the viruses in gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 1988;26:1783-6.
- 5) Kang YH, Park HK, Ahn JB, Yeun JD, Jee YM. Identification of human astrovirus infections from stool samples with diarrhea in Korea. *Arch Virol* 2002; 147:1821-7.
- 6) 박혜경, 우소연, 서주영, 정영해, 서정완. 중증 위장관염 소아의 대변 검체에서 역전사-중합효소 연쇄반응을 이용한 Astrovirus 검출. *대한미생물학회지* 1999; 34:453-9.
- 7) 지영미, 김가순, 천두성, 박정구, 강여화, 정윤석 등. 원주지역 설사 환자에서 분리한 Small Round Structured Viruses (SRSV) 염기서열 분석. *대한바이러스학회지* 1999;29:247-59.
- 8) Cubitt WD, Mitchell DK, Willcocks Holzel H. Application of electronmicroscopy, enzyme immunoassays, and RT-PCR to monitor an outbreak of astrovirus type 1 in a pediatric bone marrow transplant unit. *J Med Virol* 1999;57:313-21.
- 9) 박혜경, 우소연, 서정완. 하기도 질환으로 입원한 영아의 말초혈액 단핵세포에서 중합효소 연쇄반응을 이용한 아데노바이러스와 사람 헤르페스 바이러스 6의 검출. *대한미생물학회지* 2002;32:177-85.
- 10) Cherry JD. Enteroviruses: Polioviruses (Poliomyelitis), coxsackieviruses, echoviruses, and enteroviruses. In: Feigin RD, Cherry JD, editors. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. 3rd edition. Philadelphia: WB Saunders Co, 1992:1705-52.
- 11) Bishop R. Epidemiology of diarrheal diseases caused by rotavirus. In: Holmgren J, Lindeberg A, Molby R, editors. *Development of vaccines and drugs against diarrhea*. 11th Nobel Conference, 1986, Student-litteratur: Chartnell-Bratt, Bromley, United Kingdom, Land, Sweden, 158.
- 12) Barnes G, Uren E, Stevens K, Bishop R. Etiology of acute gastroenteritis in hospitalized children in Melbourne, Australia, from April 1980 to March 1993. *J Clin Microbiol* 1998;36:133-8.
- 13) 손영주, 박홍선, 정순이, 박미라, 최규철. Rotavirus 감염의 연도별 유행시기의 병동 양상. *대한소아과학회지* 2000;43:49-54.
- 14) Barron-Romero BL, Barreda-Gonzalez B, Doval- Ugalde R, Liz JZ-E, Huerta-Pena M. Asymptomatic rotavirus infections in daycare centers. *J Clin Microbiol* 1985; 22:116-8.
- 15) Champsaur H, Questiaux E, Prevot J, Henry-Amar M, Goldszmidt D, Bourjouane M, et al. Rotavirus carriage, asymptomatic infection, and disease in the first two years of life. I. Virus shedding. *J Infect Dis* 1984;149:667-74.
- 16) Gracey M. Gastro-enteritis in Australian children: Studies on the aetiology of acute diarrhoea. *Ann Trop Paediatr* 1988;8:68-75.
- 17) Walther FJ, Bruggeman C, Daniels-Bosman MS, Pourier S, Graul G, Stals F, et al. Symptomatic and asymptomatic rotavirus infections in hospitalized children. *Acta Paediatr Scand* 1983;72:659-63.
- 18) Keswick BH, Pickering LK, DuPont HL, Woodward WE. Prevalence of rotavirus in children in daycare centers. *J Pediatr* 1983;103:85-6.
- 19) Pickering LK, Bartlett AV, Reves RR, Morrow A. Asymptomatic excretion of rotavirus before and after rotavirus diarrhea in children in day care centers. *J Pediatr* 1988;112:361-5.
- 20) Haffejee IE, Windsor I, Moosa A. Asymptomatic rotavirus infections among normal Indian children in Chatsworth, Durban. *S Afri Med J* 1989;76:599-601.
- 21) Haffejee IE. The epidemiology of rotavirus infections: A global perspective. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995;20:275-86.
- 22) Ryder RW, McGowan JE, Hatch MH, Palmer EL. Reovirus-like agent as a cause of nosocomial diarrhea in infants. *J Pediatr* 1977;90:698-702.
- 23) Kim HW, Brandt CD, Kapikian AZ, Wyatt RG, Arrobo JO, Rodriguez WJ, et al. Human reovirus-like agent (HRVLA) infection. Occurrence in adult contacts of pediatric patients with gastroenteritis. *JAMA* 1977;238:404-7.
- 24) Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD, Schwartz RH, Gardner MK, Jeffries B, et al. Longitudinal study of rotavirus infection and gastroenteritis in families served by a pediatric medical practice: Clinical and epidemiologic observations. *Pediatr Infect Dis J* 1987;6:170-6.
- 25) Tallett S, MacKenzie C, Middleton P, Kerzner B,

- Hamilton R. Clinical, laboratory, and epidemiological features of a viral gastroenteritis in infants and children. *Pediatrics* 1977;60:217-22.
- 26) Bon F, Fascia P, Dauvergne M, Tenenbaum D, Planson H, Petion AM. 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.
- 27) 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;35:64-68.
- 28) Barnes GL, Bass DM. Intestinal infections. Part 3. Viral. In: Walker WA, Durie PR, Hamilton JR, Walker-Smith JA, Watkins JB, editors. *Pediatric Gastrointestinal Disease Pathophysiology, Diagnosis, Management*. 3rd edition. Ontario: BC Decker Inc, 2000:501-11.
- 29) Ashley CR, Caul EO, Paver WK. Astrovirus-associated gastroenteritis in children. *J Clin Pathol* 1978;31:939-43.
- 30) Cubitt WD. The candidate caliciviruses. In: Bock G, Whelan J, editors. *Novel Diarrhea Viruses*. CIBA Foundation Symposium 128. Chichester, England, John Wiley 1987: 126-43.
- 31) Bates PR, Bailey AS, Wood DJ, Morris DJ, Couriel JM. Comparative epidemiology of rotavirus, subgenus F (types 40 and 41) adenovirus and astrovirus gastroenteritis in children. *J Med Virol* 1993;39:224-8.
- 32) Dennehy PH, Nelson SH, Spangenberger 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; 84:10-15.
- 33) Shastri S, Doane AM, Gonzales J, Upadhyayula U, Bass DM. Prevalence of astroviruses in a children's hospital. *J Clin Microbiol* 1998;36:2571-4.
- 34) Hermann JE, Taylor DN, Echeverria P, Blacklow NR. Astroviruses as a cause of gastroenteritis in children. *N Engl J Med* 1991;324:1757-60.
- 35) Qiao H, Nilsson M, Abreu ER, Hedlund KO, Johansen K, Zaori G et al. Viral diarrhea in children in Beijing. *J Med Virol* 1999;57:390-6.
- 36) Duncan IB, Hutchinson JG. Type-3 adenovirus infection with gastrointestinal symptoms. *Lancet* 1961; 1:530-2.
- 37) Moffet HL, Shulenberg HK, Burkholder ER. Epidemiology and etiology of severe infant diarrhea. *J Pediatr* 1968;72:1-14.
- 38) Parks WP, Queiroga LT, Melnick JL. Studies of infantile diarrhea in Karachi, Pakistan. II. Multiple virus isolations from rectal swabs. *Am J Epidemiol* 1967; 85:469-78.
- 39) Ramoz-Alvarez M, Olarte J. Diarrheal diseases of children. *Am J Dis Child* 1964;107:218-31.
- 40) Yow MD, Melnick JL, Blattner RJ, Stephenson WB, Robinson NM, Burkhardt MA. The association of viruses and bacteria with infantile diarrhea. *Am J Epidemiol* 1970; 93:33-9.
- 41) Uhnou I, Wadell G, Svensson L, Johansson ME. Importance of enteric adenoviruses 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children. *J Clin Microbiol* 1984;20:365-72.
- 42) Melnick JL. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses echoviruses, and newer enteroviruses. In: Fields BN, Knipe DN, Chanock RN, editors. *Virology*. 2nd edition. volume 1. New York: Raven Press, 1990:549-605.
- 43) Assaad F, Cockburn WC. Four-year study of WHO virus reports on enteroviruses other than poliovirus. *Bull. WHO* 1972;46:329-36.
- 44) Melnick JL. Enteroviruses. In: Evans AS, editors. *Viral Infections of humans, epidemiology and control*. New York: Plenum Publishing, 1978.