

노로바이러스 감염 진단을 위한 신속항원검사법의 평가: 효소면역검사법(ELISA) 및 실시간정량 역전사중합효소연쇄반응 검사법과의 비교

Evaluation of Rapid Antigen Test for the Detection of Norovirus Infection: Comparison with ELISA and Real Time Quantitative Reverse Transcription PCR Assays

김현수¹ · 김경희¹ · 권혜원¹ · 강태영¹ · 허미나² · 김한성¹ · 김재석¹ · 송원근¹ · 강희정¹ · 이규만¹

Hyun Soo Kim, M.D.¹, Kyung Hee Kim, M.T.¹, Hye Won Kwon, M.T.¹, Tae Yeong Kang, M.T.¹, Mina Hur, M.D.², Han-Sung Kim, M.D.¹, Jae-Seok Kim, M.D.¹, Wonkeun Song, M.D.¹, Hee Jung Kang, M.D.¹, Kyu Man Lee, M.D.¹

한림대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 건국대학교 의과대학 진단검사의학교실²

Department of Laboratory Medicine¹, Hallym University College of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine², Konkuk University School of Medicine, Seoul, Korea

Background: Norovirus is a leading cause of epidemic and sporadic acute gastroenteritis worldwide. Because of the rapid transmission of the virus, early detection is important to prevent outbreak of norovirus infection. To evaluate the performance of a newly introduced rapid antigen test for detecting human norovirus in stool specimens, we compared it with the established ELISA test and real time quantitative reverse transcription PCR (qRT-PCR).

Methods: One hundred and eighty-four stool samples were analyzed by rapid antigen test (Denka-Seiken, Japan), ELISA (R-Biopharm, Germany), and qRT-PCR (R-Biopharm, Germany). Overall percent agreement, percent positive agreement (PPA), and percent negative agreement (NPA) of the rapid antigen test in comparison with ELISA and qRT-PCR were obtained.

Results: Positive rates of rapid antigen test, ELISA, and qRT-PCR were 44.0% (81/184), 51.6% (95/184), and 42.9% (79/184), respectively. Seventy samples (38.0%) showed all positive, and 86 samples (46.7%) showed all negative results by three methods. Overall percent agreement of three methods was 84.8% (156/184). Overall percent agreement, PPA, and NPA of the rapid antigen test in comparison with qRT-PCR were 89.1%, 88.6%, and 89.5%, respectively, and those of the rapid antigen test in comparison with ELISA were 90.2%, 83.2%, and 97.8%, respectively. Total procedure of the rapid antigen test was finished within 20 min.

Conclusions: Rapid antigen test was easier and quicker to perform, and showed high agreement rates with ELISA and qRT-PCR. This test may be useful for rapid screening of norovirus infection.

Key Words: Norovirus, Rapid antigen test, ELISA, PCR

서론

Corresponding author: Hyun Soo Kim, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Hallym University College of Medicine,
94-200 Yeongdeungpo-dong, Yeongdeungpo-gu, Seoul 150-719, Korea
Tel: +82-2-2639-5562, Fax: +82-2-2671-5270, E-mail: hskim0901@empal.com

Received: February 10, 2011

Revision received: March 26, 2011

Accepted: May 24, 2011

*This work was supported by Joinfos CMG Co., Ltd, Seoul, Korea.

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2011, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

노로바이러스는 전세계적으로 급성위장관염의 집단감염을 일으키는 대표적인 원인균주이며, 로타바이러스와 함께 바이러스성 설사를 일으키는 주요 원인균이다. 국내에서도 노로바이러스가 집단감염의 원인이 된 예가 보고되었으며[1, 2], 노로바이러스의 양성률은 연도 및 계절에 따라 약간씩 차이가 있어 13-35.8% 정도로 보고되었다[2-6]. 한편, 2006년과 2007년에는 노로바이러스의 양성률이 로타바이러스보다 높게 나타나기도 하였다[4].

노로바이러스는 Caliciviridae과에 속하는 RNA virus로[7, 8], polymerase와 capsid 단백질의 염기서열에 따라서 다섯 가지(GI-GV) 유전자군(genogroup)으로 분류되며, 현재까지 29개의 유전자형

(genotype)이 보고되었다. 이들 중 GI, GII, 그리고 GIV의 일부 균주가 사람에서 발견되었으며, 노로바이러스의 인체감염은 주로 유전자군 GI의 8개 유전자형, GII의 17개 유전자형에 의한 것으로 알려져 있다[9-12].

노로바이러스감염의 진단은 위장관염 증상을 보이는 환자의 대변에서 노로바이러스를 검출함으로써 이루어지는데 ELISA법, 웨스턴블롯법, 역전사중합효소연쇄반응(RT-PCR), 실시간정량 RT-PCR, 라텍스응집법, 신속항원검사법, 전자현미경 등이 검출에 이용되며, 염기서열분석에 의한 노로바이러스의 유전형 확인이 역학적 연구에 이용되고 있다. 이 중 현재까지 RT-PCR 또는 실시간정량 RT-PCR 법이 가장 민감도가 높은 방법으로 알려져 있으나[8, 13], PCR법의 경우 고가의 특수장비와 숙련된 기술자가 필요할 뿐 아니라, 감염성 질환의 진단법으로 많이 사용되고 있는 신속항원검사법에 비해 진단까지 많은 시간과 비용이 소요된다는 단점이 있다[13-15]. 노로바이러스에 대해서도 검사법이 간단하고 20분 이내로 신속하게 결과를 얻을 수 있는 신속항원검사법이 개발되어 최근에 국내에 도입되었으며 이 검사법과 ELISA법, 실시간정량 RT-PCR법의 결과를 비교해 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2010년 8월부터 2011년 1월까지 노로바이러스검사가 의뢰된 검체를 대상으로 하였으며, 신속항원검사, ELISA 검사, 실시간정량 RT-PCR 검사를 시행하여 결과를 비교하였다. 검체수 선정은 CLSI EP12-A2 정성검사의 평가지침[16]에 따라 정성검사의 검사법 간 비교를 위한 최소 권장기준인 양성검체와 음성검체의 수가 각각 50개 이상이 될 때까지로 계획하였다. 본 검사실에서는 노로바이러스 검사를 ELISA법으로 시행하여 결과를 보고하고 있었으므로 ELISA 검사 결과를 기준으로 양성 검체와 음성검체를 선별하였으며 양성검체보다 음성검체의 수가 훨씬 많으므로 ELISA 양성검체를 먼저 수집하여 비교하기 시작하였으며 양성검체가 50개 이상이 된 후에 양성 음성 결과에 관계없이 의뢰된 모든 검체에 대하여 비교검사를 시행하였다. ELISA 검사 후 추가 검사를 시행하기에 검체량이 부족한 경우와 ELISA 검사담당자가 휴가이거나 업무가 너무 바쁜 경우에는 검체 수집을 하지 못하여 연구대상에서 제외되었다. 6개월의 연구기간 동안 노로바이러스 검사가 총 1,795건 의뢰되었고 이중 ELISA 양성검체는 95건, 음성검체는 89건이 수집되었다. ELISA 검사와 신속항원검사는 노로바이러스 검사가 의뢰된 당일 또는 익일에 실시하였고 PCR 검사를 위한 검체는 당일 또는 익일에 RNA를 분리하여 -70℃에 냉동보관하였다가 PCR 검사일에 보관되었던 검체를 모두 해동하여 실시간정량 RT-PCR을 한번에 시

행하였다. 환자의 연령은 33.5 ± 79.0 개월(생후 7일-62세)이었으며 3세 이하의 소아 환자가 184명 중 154명으로 의뢰 환자의 83.7%를 차지하였다.

2. 검사방법

1) 노로바이러스 신속항원검사

QuickNavi-Noro 키트(Denka Seiken Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 제조회사의 지침에 따라 시행하였다. 검사원리는 면역크로마토그래피법이며, 검사선(test line)에는 항-노로바이러스항체가, 대조선(control line)에는 항-마우스면역글로불린 항체가 흡착되어 있다. 분변검체 중의 노로바이러스항원이 테스트디바이스의 컨จู게이트 패드에 있는 항-노로바이러스-GI 및 항-노로바이러스-GII 항체결합라텍스와 결합하여 면역복합체를 형성하고, 이 면역복합체가 막을 따라 퍼지면서 이동하는 중에 막의 검사선 위에 결합되어 있는 노로바이러스 항체와 특이적으로 결합하여 청색라인을 형성하는 것을 육안으로 확인하는 검사이다. 검사방법은 환자의 분변 검체를 검사키트에 포함되어 있는 면봉으로 면봉의 면구 부위에 해당하는 깊이로 찔러 검체를 채취한 후 키트에 포함되어 있는 검체부유액에 검체가 채워진 면봉을 넣고 충분히 혼합하였다. 이때 면봉의 채취 및 흡수량은 액체변의 경우 25-45 μ L, 고형변의 경우 25-45 mg 정도가 된다. 분변 검체부유액에 키트에서 제공되는 여과필터를 장착하여 분변검체부유액 3방울을 테스트디바이스의 검체주입구에 떨어뜨렸다. 결과 판독은 15분 후에 시행하는데 대조선과 검사선 모두에 청색라인이 생기면 양성, 대조선에만 청색라인이 보이면 음성으로 판정하고 대조선에 청색라인이 보이지 않는 경우는 검사가 정상적으로 진행되지 않은 것으로 보고 재검을 실시하였다.

2) 노로바이러스 효소면역검사법

RIDASCREEN Norovirus 검사키트(R-Biopharm, Darmstadt, Germany)를 사용하여 제조회사에서 제시한 방법대로 시행하였다. 검사원리는 샌드위치 ELISA법으로 ELISA plate의 각 well에 노로바이러스 유전자군 제1군(GI) 및 2군(GII) 항원에 반응하는 특이항체가 부착되어 있다. 분변 검체 50-100 mg 또는 100 μ L를 키트에서 제공되는 검체희석액 1 mL에 넣고 잘 혼합한 후 5,000 rpm (약 2,300-2,500 g)에서 5분간 원심하였다. ELISA plate의 well에 분변부유액 상층액 100 μ L를 넣고 여기에 동량의 biotinylated monoclonal anti-norovirus antibodies를 가한 후 실온에서 60분간 반응시켰다. 세척액으로 세척한 후 streptavidin peroxidase conjugate 시약 100 μ L를 첨가한 후 실온에서 30분간 반응시켰다. 세척 후 기질 시약(tetramethylbenzidine)을 가하여 실온에서 15분간 반응시킨 후 반응정지액을 가하고 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결

과판정도 제조회사에서 제시한 방법대로 시행하였다. 계산된 cut-off (음성대조의 흡광도 +0.15)를 기준으로 하는데, cut-off의 +10% 이상일 경우 양성으로, -10% 미만인 경우 음성으로 판정하며, cut-off의 $\pm 10\%$ 이내의 값을 보이는 경우(equivocal)는 재검하며, 재검시에도 equivocal로 나오는 경우는 음성으로 판정하였다.

3) 노로바이러스 실시간정량 역전사중합효소연쇄반응

RIDA GENE Norovirus V (R-Biopharm, Darmstadt, Germany) 키트를 사용하였으며 제조회사의 지침에 따라 시행하였다. RIDA GENE Norovirus V 키트는 분변 검체에서 노로바이러스 유전자군 1군(GI) 과 2군(GII)을 검출하도록 고안된 분자진단검사로, 역전사 반응(reverse transcription)과 실시간정량 PCR 반응이 동일한 PCR 반응용기에서 한 단계로 시행된다. 분변검체에서의 RNA 추출은 QIAamp Viral RNA mini kit (QIAGEN, Hilden, Germany)와 자동화장비인 QIAcube (QIAGEN, Hilden, Germany)를 사용하여 추출하였다. RNA추출액(5 μ L)을 RIDA GENE Norovirus V에서 제공하는 master mix (20 μ L)에 혼합하여 PCR cyclet (QIAGEN, Rotor-Gene Q, Germany)에서 역전사과정(15 min, 50°C) 후 실시간정량 PCR 과정(denaturation 15 sec, 95°C; annealing/extension, 30 sec, 55°C; 45 cycles)을 진행하였다. 이때 증류수를 사용한 음성대조검체를 추가하고 내부대조물질(Internal control RNA)을 첨가하여 핵산 증폭 과정상의 오류가 없음을 확인하였다. 노로바이러스 cDNA에는 FAM 형광염색제(probe)가 부착되고 내부대조물질에는 VIC 형광물질(probe)이 부착되어 각각 별도의 형광채널(FAM: 522 nm, VIC: 553 nm)에서 측정하였다. 내부대조물질과 노로바이러스 cDNA의 증폭이 있을 경우 양성, 내부대조물질만 증폭될 경우에는 음성으로 판정하였다.

결 과

본 연구의 184검체에 대하여 신속항원검사, ELISA, 실시간정량 RT-PCR의 세 검사법의 양성률은 각각 44.0% (81/184), 51.6% (95/184), 42.9% (79/184)로 ELISA의 양성률이 가장 높게 나타났다 (Table 1). 검사법 간 일치율을 살펴보면, 세 검사 모두 양성 결과가 나온 경우는 38.0% (70/184)였고 모두 음성인 경우는 46.7% (86/184)로 세 검사법 모두 일치한 결과를 보인 비율은 총 184건 중 156건으로 84.8%를 차지했다. 신속항원검사와 실시간정량 RT-PCR 간의 총일치율은 89.1% (164/184)였으며, 신속항원검사와 ELISA의 총일치율은 90.2% (166/184), ELISA와 실시간정량 RT-PCR간의 총일치율은 90.2% (166/184)로 각 검사법 간 일치율이 비슷하였다. 신속항원검사의 실시간정량 RT-PCR 법에 대한 양성일치율(percent positive agreement, 민감도) [16]은 88.6% (70/79), 음

Table 1. Comparison of the results of ELISA, rapid antigen test, and real time RT-PCR assays for the detection of norovirus in stools

ELISA	Rapid antigen test	Real time RT-PCR	No. of specimen (%)
Positive	Positive	Positive	70 (38.0)
Positive	Positive	Negative	9 (4.9)
Positive	Negative	Positive	8 (4.3)
Negative	Positive	Positive	0 (0.0)
Positive	Negative	Negative	8 (4.3)
Negative	Positive	Negative	2 (1.1)
Negative	Negative	Positive	1 (0.5)
Negative	Negative	Negative	86 (46.7)
Total			184 (100)
Positive rate of rapid antigen test:			44.0% (81/184)
Positive rate of ELISA:			51.6% (95/184)
Positive rate of PCR:			42.9% (79/184)
Overall percent agreement among three methods:			84.8% (156/184)
Overall percent agreement of rapid antigen test compared to PCR:			89.1% (164/184)
Percent positive agreement of rapid antigen test compared to PCR:			88.6% (70/79)
Percent negative agreement of rapid antigen test compared to PCR:			89.5% (94/105)
Overall percent agreement of rapid antigen test compared to ELISA:			90.2% (166/184)
Percent positive agreement of rapid antigen test compared to ELISA:			83.2% (79/95)
Percent negative agreement of rapid antigen test compared to ELISA:			97.8% (87/89)
Overall percent agreement of ELISA compared to PCR:			90.2% (166/184)
Percent positive agreement of ELISA compared to PCR:			98.7% (78/79)
Percent negative agreement of ELISA compared to PCR:			83.8% (88/105)

성일치율(percent negative agreement, 특이도)은 89.5% (94/105)이었고, 신속항원검사의 ELISA법에 대한 양성일치율은 83.2% (79/95), 음성일치율은 97.8% (87/89), ELISA의 실시간정량 RT-PCR 법에 대한 양성일치율은 98.7% (78/79), 음성일치율은 83.8% (88/105)이었다. 세 검사법 간 불일치를 보인 28건은 실시간정량 PCR만 음성인 경우가 9건, 신속항원검사만 음성인 경우 8건, ELISA만 양성인 경우가 8건, 신속항원검사만 양성인 경우가 2건, 실시간정량 RT-PCR만 양성인 경우 1건이었다 (Tables 1, 2).

결과가 수치로 나타나는 ELISA(O.D.; optical density)와 실시간정량 RT-PCR (Ct; threshold cycle), 그리고 신속항원검사 간의 상관성은 Fig. 1-3에 나타내었다. 신속항원검사와 ELISA의 상관성을 나타낸 Fig. 1에서 신속항원검사음성으로 나타난 검체들은 대부분 ELISA 흡광도(O.D.) 값이 낮았고 신속항원검사 양성인 ELISA 흡광도(O.D.) 값이 높게 나타나는 경우가 대부분이었으나, ELISA 흡광

Table 2. Specimens showing discrepant results among the ELISA, rapid test, and real-time RT-PCR assays for the detection of norovirus in stools

Specimen	ELISA (O.D.)	Rapid test	Real time RT-PCR (Ct)	Age/Sex	Clinical characteristics
1	P (0.30)	P	N	5 months/F	Intussusception
2	P (0.34)	P	N	30 days/M	AGE
3	P (0.43)	P	N	12 months/F	Acute pharyngitis
4	P (0.52)	P	N	1 month/F	Sepsis, AGE
5	P (0.34)	P	N	18 days/F	Sepsis, AGE
6	P (3.24)	P	N	26 months /F	AGE
7	P (0.29)	P	N	27 months/F	AGE
8	P (0.23)	P	N	62 years/F	Ileus
9	P (3.12)	P	N	21months/M	AGE
10	P (0.33)	N	P (30.23)	12 months/M	AGE
11	P (3.10)	N	P (20.96)	19 months/M	Acute bronchiolitis
12	P (0.63)	N	P (22.59)	18 months/F	AGE
13	P (0.36)	N	P (25.14)	17 months/M	AGE
14	P (1.02)	N	P (28.23)	16 months/M	AGE
15	P (1.14)	N	P (24.87)	9 months/M	R/O Gastritis, APT
16	P (0.72)	N	P (33.33)	16 months/F	AGE
17	P (1.04)	N	P (23.56)	6 years/M	AGE
18	P (3.12)	N	N	26 months/M	Croup
19	P (0.35)	N	N	3 months/F	Acute tonsillitis
20	P (0.55)	N	N	20 months/F	AGE
21	P (0.42)	N	N	5 months/F	Acute gastroenteritis
22	P (0.54)	N	N	2 months/M	Fever
23	P (0.51)	N	N	3 years/F	Acute bronchiolitis
24	P (0.37)	N	N	9 months/F	AGE
25	P (2.96)	N	N	3 years/F	Pneumonia, AGE
26	N (0.086)	P	N	21 years/F	Pseudomembranous colitis
27	N (0.098)	P	N	19 months/F	Kawasaki disease
28	N (0.076)	N	P (24.41)	5 years/M	AGE

Abbreviations: P, Positive; N, negative; M, male; F, female; O.D. optical density; Ct, threshold cycle; AGE, acute gastroenteritis; APT, Acute pharyngeal tonsillitis

도(O.D.) 값이 2 이상으로 높은데도 신속항원검사 음성인 경우도 3건 있었다. 신속항원검사와 실시간정량 RT-PCR의 상관성을 나타낸 Fig. 2에서도 두 결과가 일치되는 경우가 많았으나 일부 PCR 양성 검체는 신속항원검사서 음성으로 나타났으며, 일부 PCR 음성 검체가 신속항원검사서 양성이었다. PCR 양성검체의 Ct값은 14.8-33.3 사이의 값을 보였다. 실시간정량 RT-PCR과 ELISA의 상관관계를 보는 Fig. 3에서도 결과가 일치하는 경우가 많았으나, ELISA 흡광도(O.D.) 값이 2이상으로 높은데 PCR이 음성인 경우도 4건 관찰되었다.

고 찰

본 연구에서는 노로바이러스장염 진단용 세가지 검사법을 비교하여 보았으며 세가지 검사법 모두 일치되는 결과를 보인 검체는

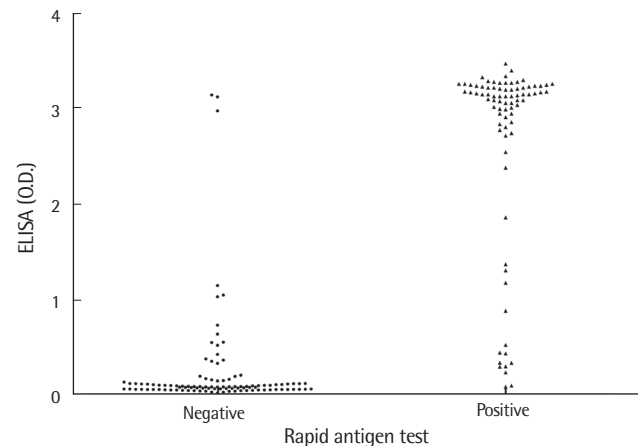


Fig. 1. Correlation of rapid antigen test results with ELISA results. Abbreviation: O.D., optical density.

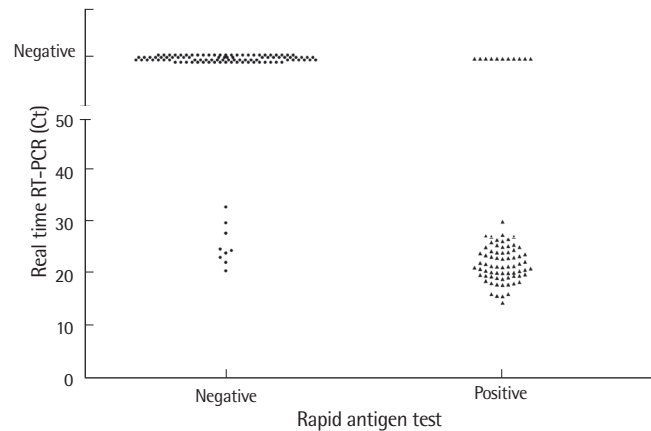


Fig. 2. Correlation of rapid antigen test results with real time RT-PCR results. Abbreviation: Ct, threshold cycle.

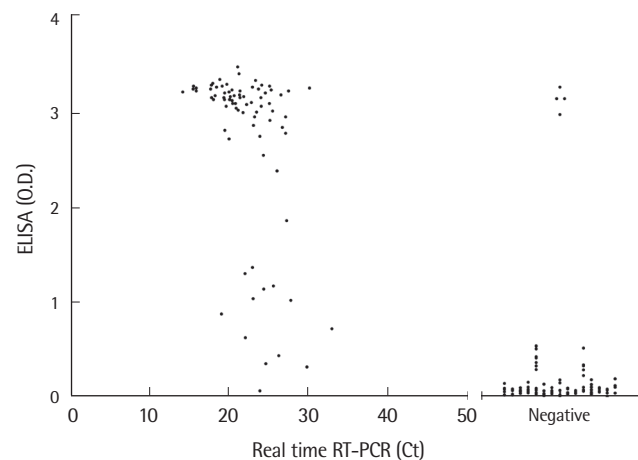


Fig. 3. Correlation of ELISA results with real time RT-PCR results. Abbreviations: Ct, threshold cycle; O.D., optical density.

총 184건 중 156건으로 84.8%의 일치율을 보였고, 28검체에서 세 검사법 간 불일치 결과를 보였다. 실시간정량 PCR은 분변 내 노로바이러스의 유전자를 검출하는 검사법이고 신속항원검사법과 ELISA법은 분변내 노로바이러스 항원을 검출하기 위한 검사법이다. 같은 노로바이러스 capsid 항원을 검출하는 검사법이라도 제조사마다 어떤 항체를 사용하느냐에 따라 결과가 달라질 수 있다. 즉 노로바이러스의 capsid 항원은 많은 항원결정기(epitope)를 가지고 있으며 이 항원결정기 중 어떤 항원결정기와 반응하는 항체들을 어떤 조합으로 제조하느냐에 따라 결과가 다르게 나타날 수 있으며 이는 각 제조사의 고유의 기술이다. 각 제조사는 다른 미생물과는 교차반응이 없으면서 노로바이러스에만 고유하게 갖고 있는 항원결정기를 찾아 이와 반응하는 항체를 제조해야 하는데 이는 많은 시행착오를 필요로 하며 쉽지 않다. 또한 노로바이러스는 제1-5군(GI-GV)의 유전자군과 각 군에 다양한 유전자형 및 변이가 존재하는데 세 검사법이 검출하는 노로바이러스의 유전자형이 조금씩 다를 수 있으므로 검사법 간에 불일치 결과를 보일 수 있을 것으로 생각되었다. 제조회사의 자료에 따르면 QuickNavi-Noro는 1군(GI)의 1, 2, 3, 4, 6, 11형, 2군(GII)의 1-8, 12-15, 17형의 총 19개의 유전자형과 반응하는 것으로 기술되어 있다.

본 연구에서 사용된 신속항원검사를 현재까지 가장 정확한 검사법으로 알려져 있는 실시간정량 RT-PCR법과 비교하였을 때 QuickNavi-Noro 검사의 양성일치율은 88.6%, 음성일치율은 89.5%로 다른 보고의 ELISA법과 PCR에 대한 양성일치율(민감도) 43.8-76.3%, 음성일치율(특이도) 47.0-96.4%과 비슷하거나 더 높은 양성 및 음성일치율을 보였다[17, 18]. 한편, 본 연구 결과에서 ELISA법의 양성률이 51.6%로 신속항원검사법(44.0%)이나 PCR법(42.9%)보다 높게 나타났으며 실시간정량 PCR법과 비교하였을 때 ELISA법의 양성일치율이 98.7% (78/79)로 매우 높은 양성일치율과 상대적으로 낮은 음성일치율(83.8%)을 보였다. 이는 본 연구에서 사용된 ELISA법의 민감도가 좋고 특이도가 다소 낮은 것으로 해석할 수도 있겠으나, 노로바이러스 감염을 진단하는 참고방법이 없는 현재 상황에서는 검사의 정확도인 민감도와 특이도로 해석하기 보다는 단지 PCR 검사에 대한 양성일치율 및 음성일치율 정도로 해석해야 하겠다. 그리고 본 연구 결과의 해석에서 고려할 점은 본 연구가 일정기간 동안 의뢰되었던 모든 검체를 대상으로 세가지 검사를 비교한 것이 아니라 ELISA 결과를 기준으로 양성검체를 먼저 수집한 이후에 양성검체와 음성검체를 같이 수집하여 결과를 비교하였고, 최종 수집된 양성검체의 수가 음성검체의 수보다 약간 많았기 때문에 결과의 양성률에 의미를 두기는 어렵다는 점이다. 즉, ELISA와 PCR 검사의 결과 차이가 존재하는데 ELISA 결과를 기준으로 양성검체를 수집하여 PCR, 신속항원검사 결과와 비교하였으므로 ELISA 양성률이 가장 높게 나타났을 가능성이 있었

을 것으로 생각되었다. 만일 본 연구에서도 기존 연구들과 같이 PCR 검사를 먼저 시행하여 PCR 결과를 기준으로 양성검체를 선택하여 ELISA 결과와 비교하였거나 일정기간 의뢰된 모든 검체를 대상으로 세가지 검사를 비교했다면 PCR의 양성률이 가장 높게 나타났을 가능성도 생각해 볼 수 있겠다. 세 검사법의 양성률을 비교하려면 일정기간 의뢰된 모든 검체를 대상으로 세가지 검사를 동시에 시행하는 것이 필요하겠다. 현재까지 PCR 검사법이 가장 민감도가 높고 정확한 검사법으로 알려져 있으나 역시 노로바이러스 감염 진단의 참고방법이 될 수 없고 위양성과 위음성이 많은 검사법이므로 앞에서 언급하였듯이 ELISA나 신속검사법의 민감도, 특이도를 구하기보다는 검사법 간 일치율을 보는 것이 적절한 것으로 생각된다. 그 한 예로 최근 한 연구에서는 RT-PCR 법으로 급성위장관염의 증상이 있는 소아와 증상이 없는 소아의 분변에서 노로바이러스가 각각 17%와 13%가 검출되었다는 보고가 있었는데[19], 이는 PCR의 민감도가 높아서 임상적으로 의미가 없는 적은 양의 노로바이러스도 검출되는 것으로 생각할 수 있으며, 이런 경우에는 신속항원법이 환자의 임상상을 더 잘 반영할 수도 있을 것이다.

신속항원검사법, ELISA법, PCR법의 장단점을 비교하여 보면 PCR법은 현재까지 노로바이러스의 검출에 가장 정확한 검사법으로 알려져 있지만 검사과정의 복잡하고 검사소요시간이 길며 숙련된 인력과 고가의 시약, 장비를 필요로 하였다. ELISA법은 PCR에 비해 소요되는 비용이 적고 다량의 검체를 동시에 검사하기에 편리한 장점이 있었다. 최근 개발된 신속항원검사법은 원침 등의 전처리 과정이나 특수장비 없이 간편한 조작으로 20분 이내에 결과를 얻을 수 있으며, 한 검체씩 검사가 가능하여 검체를 모아서 검사하지 않고 그때그때 검사가 가능하다는 장점이 있었다.

결론적으로 본 연구에 사용된 신속항원검사법은 간편하고 신속하게 결과를 얻을 수 있으면서 PCR, ELISA 검사법과 비교하였을 때 높은 일치율을 보이므로, 노로바이러스 감염의 선별검사로 유용한 검사법으로 생각되었다.

요 약

배경: 노로바이러스는 전세계적으로 급성위장관염을 일으키는 주요 원인균이다. 노로바이러스는 전염성이 강한 바이러스이므로 노로바이러스감염의 유행을 예방하기 위해서는 조기진단이 매우 중요하다. 본 연구는 최근에 개발된 대변에서 노로바이러스를 검출하는 신속항원검사법을 평가하기 위하여, 이 검사법과 기존 검사법인 ELISA법, 실시간정량 RT-PCR법을 비교하여 보았다.

방법: 184개의 대변검체를 신속항원검사법(Denka-Seiken, Japan), ELISA법(R-Biopharm, Germany), 실시간정량 RT-PCR법(R-Bio-

pharm, Germany)으로 검사하였다. ELISA법 및 실시간정량 RT-PCR법과 비교하여 신속항원검사법의 총일치율, 양성일치율, 음성일치율을 구하였다.

결과: 본 연구의 184검체에 대하여 신속항원검사, ELISA, 실시간정량 RT-PCR의 세 검사법의 양성률은 각각 44.0% (81/184), 51.6% (95/184), 42.9% (79/184)였다. 70검체(38.0%)는 세가지 검사법 모두 양성 결과를 보였고, 86검체(46.7%)는 모두 음성 결과를 보여, 세가지 검사법의 일치율은 84.8% (156/184)였다. 실시간정량 RT-PCR법에 대한 신속항원검사법의 일치율, 양성일치율, 음성일치율은 각각 89.1%, 88.6%, 89.5%이었고, ELISA법에 대한 신속항원검사법의 일치율, 양성일치율, 음성일치율은 각각 90.2%, 83.2%, 97.8%로 나타났다. 신속항원검사법의 총 검사소요시간은 20분 이내였다.

결론: 본 연구에 사용된 신속항원검사법은 간편하고 신속하게 결과를 얻을 수 있으면서 실시간정량 RT-PCR법, ELISA법과 비교하여 높은 일치율을 보이므로 노로바이러스 감염의 선별 검사로 유용한 검사법으로 생각되었다.

참고문헌

1. Division of Epidemic Intelligence Service, Korea Centers for Disease Control and Prevention. Epidemic investigation of group diarrhea in the metropolitan area spread by a large meal service provider. Annual report on the epidemiologic investigation of infectious diseases, 2006; 153-9.
2. Division of Epidemic Intelligence Service, Korea Centers for Disease Control and Prevention. Epidemic investigation on Norwalk virus that caused food poisoning in Seoul. Annual report on the epidemiologic investigation of infectious diseases, 2003;103-13.
3. Jee YM. Epidemiology of norovirus infection in Korea. Korean J Pediatr Infect Dis 2007;14:17-24.
4. Lee JI, Park SH, Kim MS, Oh YH, Yu IS, Choi BH, et al. Surveillance of acute gastroenteritis in Seoul, Korea, during May 2004 and June 2007. J Bacteriol Virol 2009;39:363-71.
5. Chung JY, Han TH, Park SH, Kim SW, Hwang ES. Detection of GII-4/2006b variant and recombinant noroviruses in children with acute gastroenteritis, South Korea. J Med Virol 2010;82:146-52.
6. Park DJ, Kim JS, Park JY, Kim HS, Song W, Kim HS, et al. Epidemiological analysis of norovirus infection between March 2007 and February 2010. Korean J Lab Med 2010;30:647-53.
7. Vinjé J, Hamidjaja RA, Sobsey MD. Development and application of a capsid VP1 (region D) based reverse transcription PCR assay for genotyping of genogroup I and II noroviruses. J Virol Methods 2004;116: 109-17.
8. Atmar RL and Estes MK. Diagnosis of noncultivable gastroenteritis viruses, the human caliciviruses. Clin Microbiol Rev 2001;14:15-37.
9. Ando T, Noel JS, Fankhauser RL. Genetic classification of "Norwalk-like viruses". J Infect Dis 2000;181(S2):S336-48.
10. Bui RA, Tu ET, McIver CJ, Rawlinson WD, White PA. Emergence of a new norovirus genotype II.4 variant associated with global outbreaks of gastroenteritis. J Clin Microbiol 2006;44:327-33.
11. Frankhauser RL, Monroe SS, Noel JS, Humphrey CD, Bresee JS, Parashar UD, et al. Epidemiologic and molecular trends of "Norwalk-like viruses" associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. J Infect Dis 2002;186:1-7.
12. Zheng DP, Ando T, Fankhauser RL, Beard RS, Glass RI, Monroe SS. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. Virology 2006;346:312-23.
13. Castriciano S, Luinstra K, Petrich A, Smieja M, Lee C, Jang D, et al. Comparison of the RIDASCREEN® norovirus enzyme immunoassay to IDEIA NLV G I/G II by testing stools also assayed by RT-PCR and electron microscopy. J Virol Methods 2007;141:216-9.
14. Bruins MJ, Wolfhagen MJ, Schirm J, Ruijs GJ. Evaluation of a rapid immunochromatographic test for the detection of norovirus in stool samples. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2010;29:741-3.
15. Kirby A, Gurgel RQ, Dove W, Vieira SC, Cunliffe NA, Cuevas LE. An evaluation of the RIDASCREEN and IDEIA enzyme immunoassays and the RIDAQUICK immunochromatographic test for the detection of norovirus in faecal specimens. J Clin Virol 2010;49:254-7.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. User protocol for evaluation of qualitative test performance; approved guideline-second edition. CLSI document EP12-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
17. Gray JJ, Kohli E, Ruggeri FM, Vennema H, Sánchez-Fauquier A, Schreier E, et al. European multicenter evaluation of commercial enzyme immunoassays for detecting norovirus antigen in fecal samples. Clin Vaccine Immunol 2007;14:1349-55.
18. Okitsu-Negishi S, Okame M, Shimizu Y, Phan TG, Tomaru T, Kamijo S, et al. Detection of norovirus antigens from recombinant virus-like particles and stool samples by a commercial norovirus enzyme-linked immunosorbent assay kit. J Clin Microbiol 2006;44:3784-6.
19. Barreira DM, Ferreira MS, Fumian TM, Checon R, de Sadovsky AD, Leite JP, et al. Viral load and genotypes of noroviruses in symptomatic and asymptomatic children in Southeastern Brazil. J Clin Virol 2009; 47:60-4.