

Epidemiological Characterization of Respiratory Viruses Detected from Acute Respiratory Patients in Seoul

Heejin Ham^{1,2}, Jungim Jang¹, Sungsun Choi¹, Seah Oh¹, Sukju Jo¹, Sungmin Choi¹, Sonil Pak²

¹Seoul Metropolitan Government Institute of Public Health & Environment, Gwacheon

²Kangwon National University, College of Veterinary Medicine, Chuncheon, Korea

Background: Viruses that cause acute respiratory infection include adenovirus (ADV), respiratory syncytial virus A and B (RSV(A), RSV(B)), influenza virus A and B (FluA, FluB), parainfluenza virus 1, 2 and 3 (PIV1, PIV2, PIV3), human metapneumovirus (hMPV), human coronavirus (hCoV), human rhinovirus (hRV), and enterovirus, among others.

Methods: Viral incidence was evaluated in acute respiratory patients in Seoul, Korea from 2010 to 2012. A total of 2,544 oropharyngeal swab specimens were tested by real-time polymerase chain reaction (PCR) methods. RNA viruses (hRV, PIV, RSV, hCoV, and hMPV) and DNA viruses (ADV and bocavirus) were detected using the one-step reverse transcriptase PCR (RT-PCR) premix kit (SolGent, Korea) from January 2010 to June 2011, and using the real-time PCR kit (Kogenebiotech, Korea) from July 2011 to December 2012.

Results: Thirty-two percent (813/2,544) of specimens were positive; 31.9% (294/923) in 2010, 31.4% (232/738) in 2011, and 32.5% (287/883) in 2012. The most frequently isolated virus was hRV (40.7%, 331/813), followed by ADV (23.9%, 194/813), RSV (14.1%, 115/813), PIV (12.3%, 100/813), and hCoV (8.7%, 71/813). PIV1 was the most commonly isolated PIV, followed by PIV3 and PIV2, respectively. hCoV OC43 was the most commonly isolated hCoV, followed by hCoV NL63 and hCoV 229E, respectively.

Conclusion: Information on respiratory viruses circulating in Seoul, Korea over the last three years will be helpful in the management of acute respiratory infections, and for larger-scale epidemiological studies. (Ann Clin Microbiol 2013;16:188-195)

Key Words: Polymerase chain reaction, Respiratory tract infections, Seoul, Viruses

INTRODUCTION

호흡기 바이러스는 인간에게 가장 전염성이 강한 병원체 중의 하나이다. 호흡기 바이러스는 세계적인 분포를 가지며 그 종류나 항원성의 차이, 감염 시의 양상도 매우 다양하며 확실한 감염 양상의 성상을 파악하기에 어려움이 있다. 동시에 전파력이 매우 강하여 세계적인 감시체제를 가지고 있으며 최근에는 사람 외에 조류독감을 비롯하여 인수공통감염(zoonosis)이 우려되고 있다[1].

호흡기 질환을 일으키는 바이러스는 대부분이 직접적인 접촉 및 매개물(fomite)이나 연무질(aerosol) 등으로 전염되고[1], 초기 임상증상이 비슷하여 증상만으로 병원체를 밝히기에는 어려움이 있다. 이환 대상도 모든 연령층이 감수성이 있으나 성인에 비해 어린이의 비율이 높으며 증상도 일반 감기와 같은

가벼운 경우도 있으나 폐렴이나 기관지염과 같은 중증 감염도 가능하며 세균이나 마이코플라스마와 같은 병원체의 혼합감염도 있다[1]. 최근 예측하기 힘든 새로운 호흡기 전염병이 계속 발생하고 있으며 신종 호흡기 전염병은 국가 간 인적, 물적 교류의 증가로 범세계적 확산의 가능성이 크므로 호흡기 바이러스 확인을 위한 다양한 방법들이 시도되고 있다[1].

호흡기 질환은 유행 시기에 따라서 다르지만 일반적으로 influenza virus (Flu)가 호흡기 질환 환자에서 높은 비율로 분리되고, 기타 parainfluenza virus (PIV) 등이 호흡기 질환의 주요 원인으로 알려져 있기도 하다[2]. 성인 호흡기 환자의 경우에는, 바이러스성 하기도 감염의 비중이 소아보다는 낮아서, 폐렴 환자를 대상으로 한 국내의 한 연구에서는 성인 폐렴 환자의 약 10%에서 호흡기 바이러스가 분리되었으며, 분리된 바이러스 중 Flu가 50%를 차지하였고 PIV, adenovirus (ADV), respi-

Received 3 July, 2013, Revised 17 October, 2013, Accepted 18 October, 2013

Correspondence: Heejin Ham, Seoul Metropolitan Government Institute of Public Health & Environment, 30, Janggunmaeul 3-gil, Gwacheon 427-070, Korea. (Tel) 82-2-570-3426, (Fax) 82-2-570-3275, (E-mail) hhj3814@seoul.go.kr

© The Korean Society of Clinical Microbiology.

© 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.

ratory syncytial virus (RSV) 등의 순서로 분리되었다[2]. 소아 호흡기 환자에서 가장 많은 주요 호흡기 감염 바이러스에는 RSV(A), RSV(B), FluA, FluB, PIV1, PIV2, PIV3, ADV 등이 있고, 하기도 호흡기 감염으로 입원한 소아의 40% 이상에서 이들 바이러스가 검출되고 있으며, 소아의 급성 호흡기 감염을 유발하는 또 다른 바이러스로는 거대세포바이러스(cytomegalovirus)도 보고되고 있다[3].

급성호흡기 환자 관련 검체를, 전국에서 가장 많은 인구가 밀집되어 있는 서울지역에 소재하는 병의원으로부터 채취하여, 그 원인 바이러스들에 대한 검사를 수행함으로써, 각 바이러스들의 분포 양상을 살펴보고, 최근 실태와 유행을 분석하며, 이를 기초자료로 국내 바이러스성 호흡기 질환 연구에 대한 토대를 마련코자 이 연구를 수행하였고, 더불어 호흡기 감염병 사전차단 및 확산 방지 등 감염 병 예방 대책 수립을 위한 기초 자료를 확보하고자 한다.

MATERIALS AND METHODS

1. 검체수집과 가검물처리

서울시내 6개 병의원(K병원, A병원, S병원, Y병원, H의원, G의원)으로부터 2010년부터 2012년까지 급성호흡기감염증 환자의 인후도말 가검물(orpharyngeal swabs)을 멸균된 면봉으로 수집하였고, 급성호흡기감염증에 대한 감염을 일으키는 원인 바이러스들에 대해 서울시 보건환경연구원에서 분석하였다. 환자의 인후도말 가검물은 바이러스 수송용 배지(viral transport medium, Becton Dickinson, Clare, Ireland)에 넣은 후 냉장, 운반하여 즉시 또는 -70°C 이하에 보관하였다가, 멸균된 0.1 M PBS (phosphate buffered saline, pH 7.4, Sigma, Missouri, USA) 9 mL에 넣어 4°C , 3,000 rpm에서 30분간 원심분리 하였으며 상층액을 사용하였다. 수집된 검체 숫자를 병원별로 보면 3년 동안 K병원 632건, A병원 782건, S병원 481건, Y병원+H의원+G의원 649건 등이었다.

2. 바이러스 핵산 추출 및 유전자 확인

수집된 가검물은 진탕하여 원심분리한 상층액을 viral RNA mini kit (QIAgen, Hilden, Germany)를 사용하여 RNA를 추출하였다. 검체 140 μL 에 AVL buffer (guanidine thiocyanate 함유) 560 μL 를 15초간 혼합하여 실온에서 10분 동안 방치하였고, 95-100%에탄올 560 μL 를 넣어 혼합 후 10초간 vortexing하였으며, 이 용액 630 μL 를 spin column tube에 옮긴 후 8,000 rpm에서 1분간 원심분리 하였고, spin column tube 아래 수집된 용액을 제거 후 위의 과정을 1회 더 반복하였다. 또한 AW1 Buffer (guanidine hydrochloride 함유) 500 μL 를 첨가 후 8,000 rpm에서 1분간 원심분리 하였고, spin column tube 하단에 수집된 용액을 제거 후 AW2 Buffer를 500 μL 를 첨가 후 13,000

rpm에서 2분 원심분리 하였으며, spin column을 새 spin column tube에 꽂은 후 Buffer AVE (sodium azide 함유) 50 μL 를 첨가하고 실온에서 1분간 정치 한 후 8,000 rpm에서 1분간 원심 분리, real time-PCR을 위한 template로 사용하였다. 2010년 1월부터 2011년 6월까지의 전통적인 PCR방법을 사용하였고, 2011년 7월부터 2012년 12월까지의 real-time PCR방법을 사용하였다.

1) RT-PCR test: One step RT-PCR를 위해 추출한 RNA 6 μL 를 RT-PCR 진단 one step RT-PCR premix Kit (SolGent, Seoul, Korea)에 각각 넣은 후 반응액이 완전히 섞이도록 하였다. 유전자 증폭을 위해 2720 thermal cycler (Applied Bio-systems, USA)를 이용하여 RNA virus (rhinovirus, parainfluenza virus, respiratory syncytial virus, coronavirus, metapneumovirus)의 경우, 50°C 에서 30분, 95°C 에서 15분 RNA를 변성시키고, DNA virus (adenovirus, bocavirus)의 경우 유전자 증폭을 위해 95°C 에서 15분 DNA를 변성시켰다. 그 후 각각 95°C 20초, 54°C 40초, 72°C 1분를 1회로 하여 35회 반응시킨 후, 72°C 에서 5분간 연장 반응시켰다.

PCR 증폭 생성물 5 μL 를 1.5% agarose gel의 각 홈에 검체를 넣고, 나머지 한 홈에 PCR 증폭산물의 크기를 식별하기 위한 100 bp DNA ladder (Bioneer, Daejeon, Korea)를 3.5 μL loading하였고, MUPID-21 J (Cosmo Bio, Seoul, Korea)를 사용하여 30분간 전기영동한 후 양성을 각각 확인하였다(Table 1). PIV, RSV, 그리고 coronavirus의 subtype들은 추가로 각각 분석하였다.

2) Real-time PCR test: Real-time PCR을 위해 추출한 RNA 5 μL 를 real-time PCR 진단 kit (Kogenebiotech, Seoul, Korea)에 각각 넣은 후 반응액이 완전히 섞이도록 하였다. 유전자 증폭을 위해 real-time PCR 기기인 7500 fast thermal cycler (Applied Bio-systems, Chromos, Singapore)를 이용하여 RNA virus (rhinovirus, parainfluenza virus, respiratory syncytial virus, coronavirus, metapneumovirus)의 경우 50°C 에서 30분, 95°C 에서 15분 처리 후 RNA를 변성시키고, DNA virus (adenovirus, boca-

Table 1. Respiratory viruses tested and their sizes of PCR products

Viruses	Size (base pairs)
Adenovirus	458 bp
Human bocavirus	347 bp
Human rhinovirus	380 bp
Parainfluenza virus	
PIV1	399 bp
PIV2	196 bp
PIV3	273 bp
Respiratory syncytial virus (RSV(A), (B))	577 bp
Human coronavirus	
hCo(229E)	574 bp
hCo(OC43)	334 bp
Human metapneumovirus	930 bp

virus)의 경우 유전자 증폭을 위해 50°C에서 2분, 95°C에서 15분 DNA를 변성시킨다. 그 후 각각 95°C 15초, 60°C 1분을 1회로 하여 40 회 반응시킨 후, Ct값과 curve를 확인하였다.

3. 연구 대상에 대한 검출률 계산

3년간 호흡기 바이러스 검출률은, 동 기간의 인플루엔자 바이러스 단독 검출률에 대하여는 별도로 이미 국내 타 학회지에 발표하였으므로 이 부분에 대한 인플루엔자 바이러스 검출률 집계는 중복된 발표가 됨으로 포함치 않고 제외하였고, 동일기간의 전체 환자 검체는 동일하였으므로 검체 수에는 변동이 없었다.

RESULTS

1. 바이러스 분포

3년간 채취한 총 2,544건의 검체 검사결과, 호흡기 바이러스 32.0% (813/2,544)를 검출하였고, 연도별로는 2010년 31.9% (294/923), 2011년 31.4% (232/738), 그리고 2012년 32.5% (287/883)였다(Table 2).

검출된 호흡기 바이러스 813건 가운데 human rhinovirus 40.7% (331/813) 가 가장 많이 검출되었고, 그 다음으로 adenovirus 23.9% (194/813), respiratory syncytial virus 14.1% (115/813), parainfluenza virus 12.3% (100/813), human coronavirus 8.7% (71/813) 순이었다(Table 3). 연도별 검출률 차이를 비교하지 않은 이유는 2010년 1월에서 2011년 6월까지의 conventional RT-PCR 방법에 의하여 검사하였고, 2010년 7월에서 2011년 12월까지의 real time RT-PCR 방법에 의하여 검사하는 등 서로 다른 방법으로 수행하였기 때문에 감도나 검출률이 보다 높은 것으로 알려진 real time RT-PCR 방법에 의한 검사에 따른 상호 비교가 어렵기 때문이었다.

2. 연령별 바이러스 분포

연령별 급성호흡기바이러스 검출률을 살펴보면, 2세 이하 영유아에서 14.8% (376/2,544), 3-6세 학령전기 소아에서 11.0% (280/2,544), 7-13세의 초등학생에서 2.2% (56/2,544), 14-19세 중고등학생에서 0.7% (17/2,544), 20-49세의 성인층에서 4.8% (121/2,544), 50-64세 장년층에서 0.5% (13/2,544), 그리고 65세

이상 노인층에서 0.2% (5/2,544)로 각각 나타나, 2세 이하 영유아 환자가 가장 많았으며, 그 다음으로 3-6세 학령전기 소아, 20-49세의 성인층, 7-19세의 학령기, 50-64세 장년층, 그리고 65세 이상 노인층 순이었으며, 특히, 0세에서 6세까지에 해당되는 연령층에서는 25.8% (656/2,544)로 나타나 가장 많은 분포를 보였다. 각각의 바이러스별 연령별 특이사항을 알아보기 위해, 2세 이하, 3-6세 학령전기 소아, 7-19세 학령기, 20-49세의 성인층, 그리고 50세 이상으로 다섯 단계로 살펴본 결과, adenovirus는 3-6세>0-2세>7-19세>20-49세>50세 이상 순으로, human coronavirus는 0-2세>20-49세>3-6세>7-19세>50세 이상 순으로, human bocavirus, parainfluenza virus, respiratory syncytial virus, human rhinovirus, 그리고 human metapneumovirus의 경우들은 0-2세>3-6세>20-49세>7-19세>50세 이상 순으로 각각 나타났으며, 특히, 사회활동이 많은 20-49세의 성인층에서 human rhinovirus가 다른 바이러스들에 비해 많은 것이 두드러졌다(Table 3).

3. 각 바이러스별 유형

Parainfluenza virus (PIV)를 PIV1, PIV2, PIV3의 유형별로 보면, 2010년에는 PIV3>PIV1>PIV2 순으로, 2011년은 PIV2>PIV3>PIV1 순으로, 2012년에는 PIV1>PIV3>PIV2 순으로 나타나는 등 연도별로 전혀 다른 양상을 나타내었으며 상관관계가 없었다(Table 4).

Human coronavirus (hCoV)는 hCoV(229E), hCoV(NL63), hCoV(OC43)의 유형별로는, 2010년부터 2012년까지 3년간 hCoV(OC43)>hCoV(NL63)>hCoV(229E) 순으로 나타나, human coronavirus (OC43)이 3년 동안 항상 가장 많은 것으로 나타났다. 연도별로 보면, 2010년에는 hCoV(OC43)>hCoV(NL63)>hCoV(229E) 순으로, 2011년에는 hCoV(OC43)>hCoV(229E)>hCoV(NL63) 순으로, 2012년에는 hCoV(OC43)>hCoV(NL63) 순으로 각각 나타났다(Table 5).

Respiratory syncytial virus (RSV)도 RSV, RSV(A), RSV(B) 유형별로 보면, 서울지역에서 검출된 RSV의 대부분이 RSV(A)인 것으로 나타났다. RSV, RSV(A), RSV(B) 유형으로의 비교 이유는 2010년 1월부터 2011년 6월까지의 RSV(A)와 RSV(B)를 구별 없이 검사하여 RSV로 표시하였고, 2011년 7월부터 2012년 12월까지에는 RSV(A)와 RSV(B)를 각각 구별하여 검사하였으므로 각각 RSV(A) 또는 RSV(B)로 각각 나누어 기술하였기 때문이다(Table 6).

4. 어린이(13세 이하) 연령층 바이러스 검출

2010년에서 2012년까지 1,641건의 어린이 검체에서는 호흡기 바이러스 41.9% (688/1,641)가 검출되었는데, 전체검출 대비 84.6% (688/813)를 어린이가 차지하였다. 어린이 검체에서 검출된 688건 가운데 adenovirus는 24.7% (170/688), human boca-

Table 2. Yearly distributions of viruses detected from patients with acute respiratory infection from 2010 to 2012 in Seoul by periodic surveillance

Years	Numbers of samples	Numbers of respiratory viruses (%)
2010	923	294 (31.9)
2011	738	232 (31.4)
2012	883	287 (32.5)
Total	2,544	813 (32.0)

Table 3. Distributions of viruses detected from patients with acute respiratory infection by age from 2010 to 2012 in Seoul by periodic surveillance

Years (n=sample numbers)	Viruses	Positive numbers	Positive %	Ages							Unknown
				0-2	3-6	7-13	14-19	20-49	50-64	≥65	
2010 (n=923)	Adeno	104	11.3	33	51	10	1	7			
	Boca	19	2.1	14	2			1			
	PIV	27	2.9	14	6	1	2	3			
	RSV	40	4.3	19	12	3		2	1		
	hCo	29	3.1	14	8			6	1		
	hRV	88	9.5	44	14	4	6	13	1		
	hMPV	25	2.7	11	8	1	1	3			
	Subtotal n=923	332	36.0	149	101	19	10	35	3		15
2011 (n=738)	Adeno	39	5.3	9	13	1	1	10	1	1	
	Boca	15	2.0	8	2	1	1	2			
	PIV	22	3.0	8	11		1	1		1	
	RSV	41	5.6	23	14		1	2			
	hCo	20	2.7	5	1	2		10	2		
	hRV	105	14.2	46	29	11		17	3	1	
	hMPV	7	0.9	2	2	1		2			
	Subtotal n=738	249	33.7	101	72	16	4	44	6	3	3
2012 (n=883)	Adeno	51	5.8	18	25	8		1			
	Boca	15	1.7	8	7			4			
	PIV	51	5.8	18	19	3		4	2	2	
	RSV	34	3.9	24	7			3			
	hCo	22	2.5	8	7	2	1	4			
	hRV	138	15.6	49	41	8	2	22	2		
	hMPV	6	0.7	1	1			4			
	Subtotal n=883	317	35.9	126	107	21	3	42	4	2	12
Total (n=2,544)	Adeno	194	7.6	60	89	19	2	18	1	1	
	Boca	49	1.9	30	11	1	1	7			
	PIV	100	3.9	40	36	4	3	8	2	3	
	RSV	115	4.5	66	33	3	1	7	1		
	hCo	71	2.8	27	16	4	1	20	3		
	hRV	331	13.0	139	84	23	8	52	6	1	
	hMPV	38	1.5	14	11	2	1	9			
	Total	898*	35.3	376	280	56	17	121	13	5	30
				(14.8%)	(11.0%)	(2.2%)	(0.7%)	(4.8%)	(0.5%)	(0.2%)	(1.2%)
n=2,544				596	601	318	90	648	74	17	200

*The difference of 813 and 898 was caused by duplex positive numbers 85.

Abbreviations: Adeno, adenovirus; Boca, human bocavirus; PIV, parainfluenzavirus; RSV, respiratory syncytial virus; hCo, human coronavirus; hRV, human rhinovirus; hMPV, human metapneumovirus.

virus 6.3% (43/688), PIV 12.1% (83/688), RSV 15.3% (105/688), hCoV 6.7% (46/688), hRV 38.2% (263/688), 그리고 hMPV 4.1% (28/688) 등으로 나타나, hRV 38.2%가 가장 많았고, 그 다음으로 adenovirus 24.7%, RSV 15.3%, PIV 12.1%, hCoV 6.7% 순으로, 전체 대비해 볼 때 검출빈도 순서에는 차이가 없었다.

DISCUSSION

검출된 호흡기 바이러스 813건 가운데 human rhinovirus

(hRV)가 40.7% (331/813)로 가장 많이 검출되었는데 검체수를 대비하면 13.0% (331/2,544)로 이는 최근 hRV 빈도가 증가하였다고 하여 호흡기질환이 급격히 증가했다고 보기보다는, 본래 hRV는 상기도 감염의 매우 흔한 원인으로 보인다. 한편, 근래 임상적 의미가 알려진 coronavirus, human metapneumovirus (hMPV)와 함께, 과거 주로 상기도 감염의 원인으로 알려졌던 human rhinovirus (hRV)와 enterovirus도 하기도 감염에서의 중요성이 보고되고 있다[3,4]. Rhinovirus는 이전에는 일부 검사실에서만 진단이 가능하였지만, 최근 reverse-transcriptase PCR이 보편화되면서 진단이 용이해졌으며, 쉽게 사용할

Table 4. Yearly distribution of parainfluenza viruses detected from patients with acute respiratory virus infection

Respiratory viruses	Years			Total
	2010	2011	2012	
Sample numbers	923	738	883	2,544
Parainfluenza virus (PIV)				
PIV1	13	4	27	44
PIV2		12	2	14
PIV3	14	6	22	42
Total	27 (2.9%)	22 (3.0%)	51 (5.8%)	100 (3.9%)

Table 5. Yearly distribution of human coronavirus (hCoV) detected from patients with acute respiratory virus infection

Respiratory viruses	Years			Total
	2010	2011	2012	
Sample numbers	923	738	883	2,544
Human coronavirus (hCoV)				
hCoV 229E	6	7		13
hCoV NL63	11	5	5	21
hCoV OC43	12	8	17	37
Total	29 (3.1%)	20 (2.7%)	22 (2.5%)	71 (2.8%)

수 있는 검사법의 도입으로 진단이 늘어난 것이다.

그 다음으로 adenovirus가 23.9% (194/813)로 검출되었는데, 검체수를 대비하면 7.6% (194/2,544)로 Lee 등[5]이 경기도에서 2009년부터 2011년까지 소아청소년과 및 내과에 내원한 환자들에서 분리한 adenovirus 검출률 6.3% (102/1,622), Yi 등[3]이 한양대병원에서 1996년부터 2001년까지 조사한 adenovirus 검출률 5.5% 등에 비해 다소 높게 나타났으나, Kang 등[2]이 대학병원, 종합병원 등에서 2001년부터 2005년까지 조사한 adenovirus 검출률 12.8%에 비하면 낮게 나타났다. Kang 등[2]은 adenovirus의 경우 연도별로 분리율이 7-30%로 매우 다양하다고 첨부하였다. Adenovirus는 adenoviridae 과에 속하는 DNA 바이러스이다[5]. 또한, Yi 등[3]은 adenovirus가 주로 봄철에 많이 유행하는 경향이 있다고 하였다. Adenovirus에 의한 호흡기 감염증은 비교적 특징적인 양상을 보이는 일부질환을 제외하고는 임상적으로 다른 세균성 또는 바이러스성 호흡기 질환과 구별하기 어려울 뿐 만 아니라 다른 병원체와 동시감염이 빈번하게 일어난다[6].

검출된 호흡기 바이러스 가운데 respiratory syncytial virus (RSV)는 14.1% (115/813)로 검출되었는데, 검체수를 대비하면 RSV 검출률은 4.5% (115/2,544)였다. 검출 빈도에서는 Yi 등[3]이 소아 환자를 대상으로 1996년부터 2001년까지 한양대병원에서 조사한 결과인 검출된 호흡기 바이러스 770건 가운데

Table 6. Yearly distribution of respiratory syncytial virus (RSV) detected from patients with acute respiratory virus infection

Respiratory viruses	Years			Total
	2010	2011	2012	
Sample numbers	923	738	883	2,544
Respiratory syncytial virus (RSV)				
RSV	40	10		50
RSV(A)		31	33	64
RSV(B)			3	3
Total	40 (4.3%)	41 (5.6%)	36 (4.1%)	117 (4.6%)

RSV가 53.6% (413/770)인 것과, Kang 등[2]이 대학병원 및 종합병원에서 2001년에서 2005년까지 조사한 결과인 검출된 바이러스 2,544건 가운데 RSV가 54.3% (1,306/2,405)에 비해서는 매우 낮게 나타났다. 한편, Kang 등[2]은 병원에 따라 RSV 양성률이 25.9-80.7%까지 다양했다고 보고하였다. 또한, 소아 환자에서는 가장 중요한 호흡기 질환 원인 인자로서 알려져 있는 respiratory syncytial virus (RSV)가 폐렴이나 세 기관지염 등 하기도 감염에 의한 감염증 빈도가 높았다[2].

Parainfluenza virus (PIV)는 검출된 바이러스 가운데 12.3% (100/813)로, 검체수를 대비하면 PIV 검출률은 3.9% (100/2,544)였다. 검출 빈도에서는 Kang 등[2]의 경우 대학병원 및 종합병원에서 2001년에서 2005년까지 검출된 호흡기 바이러스 2,405건 가운데 검출한 17.6%가 PIV라고 하여 유사한 결과를 나타내었으나, Yi 등[3]은 한양대병원에서 1996년부터 2001년까지 호흡기 바이러스 770건 가운데 PIV가 0.4%라고 하여 서로 다른 결과를 나타내었다. 한편, PIV1은 전형적으로 2년에 한번씩 유행을, PIV2는 매년 또는 격년의 유행을 보인다고 알려져 있으나 3년 동안의 짧은 기간이라 좀 더 장기간의 연구가 필요할 것으로 보인다.

Human coronavirus의 경우 검출된 바이러스 가운데 8.7% (71/813)가 검출되었고, human bocavirus는 6.0% (194/813)로 나타났으며, 최근 문제가 되고 있는 human coronavirus나 생소한 human bocavirus 등에는 비교 자료가 없었으며 호흡기 질환을 일으키는 이 두 바이러스들에 대해서는 지속적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

Human metapneumovirus (hMPV)는 검출된 바이러스 가운데 4.7% (38/813)였는데, 검체수를 대비하면 hMPV 검출률은 1.5% (38/2,544)였다. Song 등[7]이 2005년에서 2006년까지 서울시내 청소년과 및 소아과 등에서 조사한 hMPV 검출률 3.7% (28/757)에 비해서는 다소 낮게 나타났다. Song 등[7]은 이 가운데 남아가 39.3%이고, 여아가 60.7%라고 각각 보고하였다. hMPV는 늦은 겨울이나 이른 봄에 주로 유아나 면역이 저하된 환자들에게서 심한 호흡기 질환을 유발하고, 급성 호흡기 감염

의 10% 이하를 차지하면서 5세 이상에서는 100%가 항체를 보유하고 2세이하에서는 55%가 항체를 보유한다[7]. 최근에는 human metapneumovirus (hMPV)에 의한 하기도 감염이 보고되고 있으며 소아 호흡기 감염환자 중 7-12%에서 이 바이러스가 검출된다고 알려져 있다[2]. Human metapneumovirus (hMPV)는 paramyxoviridae과의 metapneumovirus속에 속하는 새로운 paramyxovirus이며, 2001년 이후 여러 연구자들에 의해 병원체가 밝혀지지 않았던 급성호흡기감염의 약 10% 이하가 hMPV임이 밝혀지기도 하였다[7].

연령별 급성호흡기바이러스 검출률에서, 2세 이하, 3-6세 학령전기 소아, 7-19세 학령기, 20-49세의 성인층, 그리고 50세 이상 등 다섯 단계로 살펴본 결과, adenovirus는 3-6세>0-2세>7-19세>20-49세>50세 이상 순으로, human coronavirus는 0-2세>20-49세>3-6세>7-19세>50세 이상 순으로, human bocavirus, parainfluenza virus (PIV), respiratory syncytial virus (RSV), human rhinovirus, 그리고 human metapneumovirus의 경우들은 0-2세>3-6세>20-49세>7-19세>50세 이상 순으로 각각 나타났는데, Yi 등[3]이 RSV는 1세 미만에서 현저히 검출된다는 보고와 일치하였고, Cho와 Kim[1]이 PIV가 유아나 어린이에서 기침 등의 질병을 유발하는 주요 바이러스라는 주장과 일치하였으며, Shin 등[8]이 PIV가 6개월 미만의 영아에서 하기도 감염을 일으킨다는 보고와도 일치하였다.

각 바이러스별 유형에서, parainfluenza virus (PIV)는 3년간 PIV1>PIV3>PIV2 순으로 나타났는데, PIV 1형은 2년을 주기로 여름과 가을에 유행하며, 소아에서 주로 후두기관지염을 일으키고, PIV 2형은 PIV 1형과 유사한 임상증후를 보이지만, 그 빈도와 징후가 더 심한 것으로 알려져 있으며, PIV 3형은 연중 산발적으로 발생하지만 우리나라에서는 5월 전후에 주로 발생한다[8].

Human coronavirus (hCoV)는 3년간 hCoV(OC43)가 항상 가장 많이 분리되었고, hCoV(NL63), hCoV(229E) 순서로 분리되었다. Song과 Lee[9]에 의하면, 코로나 바이러스는 4종류가 존재하는데 제 1형은 사람(hCoV-229E 주), 개, 돼지, 고양이, 토끼, 제 2형은 사람(hCoV-CC43 주), 쥐, 돼지, 소, 칠면조, 제3형은 닭, 칠면조에서, 제4형은 중증급성호흡기 증후군(SARS)환자로부터 분리한 사스코로나 바이러스(SARS-CoV)라 하였다. 한편, 2003년 4월에는 사스-코로나 바이러스 Tor2 주의 전체 염기서열이 규명되기도 하였다[9]. 또한, SARS-CoV의 동물 숙주로 사향고양이나 너구리 등이 보고되고 있고, 족제비에서도 항체가 검출되었다[9].

Respiratory syncytial virus (RSV)도 RSV, RSV(A), RSV(B) 등 유형별로 보면, 서울지역에서 검출된 RSV의 대부분이 RSV(A)인 것으로 나타났는데, Yoon과 Cho[4]는 RSV(A)와 RSV(B)가 하기도 감염으로 입원한 소아에서 검출되고 있다고 하였다.

3년간 호흡기 바이러스 검출률은 32.0% (813건/2,544건)였

고, Ham 등[10]이 다른 논문에서 발표한 동 기간의 인플루엔자 바이러스 단독 검출률은 19.1% (486/2,544)였으며, Ham 등[10]이 검출한 인플루엔자 바이러스 가운데 A형은 10.8% (275/2,544), B형은 8.3% (211/2,544)로 각각 나타났다. 이는 Kang 등[2]이 2001년에서 2005년까지 서울, 경기지역 대학병원 및 종합병원에서 조사한 인플루엔자 바이러스를 포함한 호흡기 바이러스 검사결과인 평균 양성률 21.6% (2,405/11,131)에 비하면 호흡기 바이러스 검출률은 높았다. 한편, Kang 등[2]은 병원별 호흡기 바이러스 양성률이 각 병원에 따라서 11.6-27.9%까지 다양하다고 발표하였다[2]. 호흡기 바이러스 양성률을 연도별로 보면, 2010년 31.9% (294/923), 2011년 31.4% (232/738), 그리고 2012년 32.5% (287/883)였는데, 이는 소아 환자를 대상으로 1996년부터 2001년까지 한양대병원에서 조사한 Yi 등[3]의 인플루엔자 바이러스를 포함한 연구 결과인 1996년 35.3%, 1997년 28.2%, 1999년 36.7%, 2000년 17.5%, 2001년 33.8% 등과 비교하면 유사하였다. 소아과 환자를 대상으로 한 바이러스성 호흡기 질환의 원인 인자에 관한 국내의 연구에 의하면, 바이러스 양성률은 30% 내지 50%였다[3]. 한편, 호흡기 바이러스 검출률의 차이가 검사 방법의 차이로 인한 것일 가능성도 있다[2,3,10].

한편, 서울시내 6개 병원의 선정이 대표성이 있는지의 여부는 참여도와 지역별 분포 등을 고려하여 자체 엄정한 선정된 지정병원들이기는 하나, 실제 참여 병의원들이 K병원과 Y의원은 송파구에 소재하였고, A병원은 강남구에, S의원은 동작구에, H의원은 마포구에, 그리고 G의원은 노원구에 각각 소재하는 등 서울시내 25개 자치구 가운데 5개 자치구에 한정하는 등, 지역별 분포가 고려되는 과정에서 참여도가 고려되지 않을 수 없는 부분 등으로 인한 충분한 대표성이 확보하지는 못한 제한점이 있기는 하나 전체적인 경향과 흐름 파악에는 의미 있는 결과들로 사료된다. 6개 병원 가운데 종합병원이나 대형병원은 없었으며, 중소 규모의 1차 병원들이었고, 소아과 1개소, 청소년과 4개소, 가정의학과 1개소 등으로 운영하는 개인 병원들이었으며, 모두 외래환자들의 가검물로 분석하였다.

호흡기 바이러스 검사는 직접면역형광법(direct immunofluorescence assay, DFA)과 그 외 신속 항원검사법은 경제성 및 당일 보고가 가능하다는 점에서 많이 사용되는 방법이고, 바이러스 배양법은 바이러스 질환의 진단에 표준방법으로서, 신속성과 편이성을 증대시키고자 mixed cell line과 원심을 이용한 셀 바이알법(shell vial culture, SVC)이 병원 검사실에서 사용되고 있으며, 분자생물학적 방법은 배양이 힘들거나, 낮은 농도로 존재하는 경우, 근래에는 실시간 PCR (real-time PCR)이나 다중역전사효소 PCR (multiplex reverse transcriptase PCR, mRT-PCR)이 다수의 바이러스에 대하여 적절한 시간대에, 정량적 보고가 가능하게 되었다[4]. 최근 호흡기 바이러스 감염의 진단에, 기존에 사용되고 있는 배양법과 항원검출법에 더하여 분자

생물학적 방법의 중요성이 증가하고 있는데, Jennings 등[11]은 급성 호흡기 바이러스 감염 환자의 진단에서 기존 방법으로는 검출할 수 없었던 바이러스를 PCR에 의하여 21% 추가 검출함으로써, 환자의 87%에서 원인 바이러스가 검출되었고, 중복감염율이 27%임을 보고하였다. Kang 등[2]에 의하면 핵산증폭법 또는 배양법을 사용하는 검사실이 호흡기 바이러스 검사를 실시하는 검사실의 42%를 차지한다고 한다. 본 실험에서 사용한 호흡기 바이러스 검사용 검체로는 구강을 통한 oropharyngeal swab이었는데, 호흡기 바이러스 배양을 위한 최상의 검체를 얻을 수 있는 곳은 nasopharynx라고 알려져 있으며, 이는 nasopharynx의 표면을 구성하는 상피 세포는 호흡기 기도와 같은 ciliated pseudostratified columnar epithelium인 반면에 oropharynx (throat)부위는 nonkeratinizing stratified squamous epithelium으로 덮여 있고, 이들에는 호흡기 바이러스가 잘 증식하지 않는 것으로 알려져 있기 때문이다. 한편, Kim 등[12]은 oropharyngeal swab와 nasopharyngeal swab 중에서 아데노 바이러스 검사에서는 oropharyngeal swab가 nasopharyngeal swab보다 각각 더 민감하고, hMPV와 RSV 등의 바이러스에서는 oropharyngeal swab와 nasopharyngeal swab 사이에 바이러스 검출 민감도에 차이가 각각 없다고 보고하기도 하였다.

급성호흡기 환자는 다양한 원인에 의해 발생하고, 각각의 원인에 의한 임상증상이 서로 유사한 경우가 많아 감별진단을 세심히 해야 하는 등 어려움이 있다[3]. 특히 아동들이 집단 내에 바이러스를 퍼뜨리는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으므로 각별한 주의가 요구되며, 의사환자 발생을 및 바이러스 분리를 간 상관관계에 대한 더 많은 연구와 대책이 필요하다. 매년 어김없이 발생하는 급성호흡기 질환들에 대한 지속적인 감시 자료의 축적을 통하여 호흡기 질환의 증가율이나, 입원 및 사망률을 줄일 수 있을 것으로 보며, 또한, 앞으로 닥칠 감염에 대한 대책수립에 활용될 수 있으리라 생각한다.

서울시내 6개 중소 병의원으로부터 2010년에서 2012년까지 3년간 2,544건의 급성 호흡기 질환 관련 인후도말 검체들에서 32.0% (813/2,544)의 급성호흡기원인바이러스를 검출하였다. 검출된 바이러스 중에는 human rhinovirus가 가장 많이 검출되어 40.7% (331/813)였고, 그 다음으로 adenovirus 23.9% (194/813), respiratory syncytial virus 14.1% (115/813), parainfluenza virus 12.3% (100/813), human coronavirus 8.7% (71/813) 순이었다. Parainfluenza 바이러스와 human coronavirus의 분포는 PIV1 > PIV3 > PIV2, 그리고 hCoV(OC43) > hCoV(NL63) > hCoV(229E)순이었다. 급성호흡기 질환이 사망률 자체가 높지는 않지만, 그 발생 규모가 매우 커서 막대한 사회경제적 손실을 초래할 수 있으

로, 지속적인 감시체계가 필요하리라 생각한다.

ACKNOWLEDGMENTS

이 연구는 “질병관리본부 국립보건연구원 KINRESS (인플루엔자 및 호흡기 바이러스 실험실 감시) 사업”의 일환으로 수행되어 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Cho KS and Kim YH. Detection of respiratory track viruses in Busan, 1997-2000. *Korean J Microbiol* 2001;37:284-8.
2. Kang JO, Kim EC, Lee KM, Lee NY, Lee CK. Surveillance for respiratory virus testing situation in Korea and epidemiology for the respiratory viruses detected in 5 University Hospitals. *Korean J Clin Microbiol* 2007;10:102-8.
3. Yi K, Kang JO, Oh JW, Ham SY, Choi TY. Trends of viral respiratory pathogens detected in pediatric patients, 1996 through 2001. *Korean J Clin Microbiol* 2002;5:77-83.
4. Yoon KH and Cho JH. Detection of respiratory viruses in children by multiplex reverse transcriptase pcr, direct immunofluorescence assay, and shell vial culture. *Korean J Clin Microbiol* 2009;12:110-5.
5. Lee HK, Lee MJ, Mun SK, Kim WH, Cho HG, Yoon MH, et al. Serotype distribution of human respiratory adenovirus isolated in Gyeonggi Province. *Korean J Microbiol* 2012;48:175-9.
6. Cho KS and Jung MJ. Isolation and identification of influenza viruses from Busan, 2000-2001. *Korean J Microbiol* 2003;39:89-94.
7. Song MO, Lee JI, Kim EJ, Kim SJ, Kim JS, Jung SS, et al. Infection of human metapneumovirus in epidemic respiratory tract infections. *Report of SIHE* 2006;42:343-8.
8. Shin GC, Park C, Lee JY, Na BK, Park JW, Kang C, et al. Development of multiplex reverse transcription polymerase chain reaction for detection and typing of parainfluenza viruses. *J Bacteriol Virol* 2001;31:199-206.
9. Song DY and Lee WK. Severe acute respiratory syndrome, SARS. *Korean J Clin Microbiol* 2005;8:105-12.
10. Ham HJ, Jang JI, Choi SS, Oh SA, Jo SJ, Choi SM, et al. Epidemiological characterization of influenza viruses detected from acute respiratory patients in Seoul during 2010-2012. *J Environ Health Sci* 2013;39:230-8.
11. Jennings LC, Anderson TP, Werno AM, Beynon KA, Murdoch DR. Viral etiology of acute respiratory tract infections in children presenting to hospital: role of polymerase chain reaction and demonstration of multiple infections. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:1003-7.
12. Kim C, Ahmed JA, Eidex RB, Nyoka R, Waiboci LW, Erdman D, et al. Comparison of nasopharyngeal and oropharyngeal swabs for the diagnosis of eight respiratory viruses by real-time reverse transcription-PCR assays. *PLoS One* 2011;6:e21610.

=국문초록=

서울지역 급성 호흡기 환자들로부터 분리한 호흡기 바이러스의 유행양상

¹서울특별시 보건환경연구원, ²강원대학교 수의과대학

함희진^{1,2}, 장정임¹, 최성선¹, 오세아¹, 조석주¹, 최성민¹, 박선일²

배경: 급성호흡기감염을 일으키는 바이러스들에는 아데노바이러스(adenovirus, ADV), 호흡기융합체 바이러스(respiratory syncytial virus A and B (RSV(A), RSV(B)), 인플루엔자 바이러스(influenza virus A and B (FluA, FluB)), 파라인플루엔자 바이러스(parainfluenza virus 1, 2 and 3 (PIV1, PIV2, PIV3)), 메타뉴모 바이러스 (human metapneumovirus (hMPV)), 코로나 바이러스(human coronavirus, hCoV), 라이노 바이러스(human rhinovirus, hRV), 그리고 엔테로바이러스(enterovirus) 등이 있다.

방법: 서울시내 6개 병원(K병원, A병원, S병원, Y병원, H의원, G의원)으로부터 2010년부터 2012년까지 급성호흡기감염증 환자의 인후도말 가검물(oropharyngeal swabs)로부터 viral RNA mini kit (QIAgen, Germany)를 사용하여 RNA를 추출하였고, 2010년 1월부터 2011년 6월까지의 전통적인 PCR 방법을 사용하였고, 2011년 7월부터 2012년 12월까지의 real-time PCR 방법을 사용하였으며, RT-PCR test는 RT-PCR 진단 one step RT-PCR premix kit (SolGent, Korea)를 사용하였고, real-time PCR test는 real-time PCR 진단 kit (Kogenebiotech, Korea)를 사용하여 각각 시행하였다.

결과: 서울시내 6개 중소 병원으로부터 2010년에서 2012년까지 3년간 2,544건의 급성 호흡기 질환 관련 인후도말 검체들에서 32.0% (813/2,544)의 급성호흡기원인바이러스를 검출하였다. 검출된 바이러스 중에는 human rhinovirus 가장 많이 검출되어 40.7% (331/813)였고, 그 다음으로 adenovirus 23.9% (194/813), respiratory syncytial virus 14.1% (115/813), parainfluenza virus 12.3% (100/813), human coronavirus 8.7% (71/813) 순이었다. Parainfluenza 바이러스와 human coronavirus의 분포는 PIV1 > PIV3 > PIV2, 그리고 hCoV(OC43) > hCoV(NL63) > hCoV(229E)순이었다.

결론: 급성호흡기 질환이 사망률 자체가 높지는 않지만, 그 발생 규모가 매우 커서 막대한 사회경제적 손실을 초래할 수 있으므로, 지속적인 감시체계가 필요하리라 생각된다. [Ann Clin Microbiol 2013;16:188-195]

교신저자 : 함희진, 427-070, 경기도 과천시 장군마을 3길 30
서울특별시 보건환경연구원
Tel: 02-570-3426, Fax: 02-570-3275
E-mail: hhj3814@seoul.go.kr