

대전지역 설사환자 분변 유래 Group A Rotavirus의 P 및 G 유전자형 분포

대전광역시보건환경연구원, 질병관리본부¹, 충남대학교 수의과대학²

박선경 · 허영선 · 빙선혜 · 천두성¹ · 초가기² · 전무형^{2*}

Epidemiological Surveillance of P and G Genotypes of Group A Rotavirus Detected from Diarrheic Patients in Daejeon Region

Sun-Kyoung Park, Young-Sun Heo, Sun-Hye Bing, Doo-Sung Cheon¹, Jiaqi Chu² and Moo-Hyung Jun^{2*}

Daejeon Metropolitan City Institute of Health & Environment, Daejeon, ¹Korea Center for Disease Control, Seoul, ²College of Veterinary Medicine, Chungnam National University, Daejeon, Republic of Korea

Received : November 24, 2006

Accepted : July 25, 2007

During 3 years surveillance (January 2001 through December 2003) for acute gastroenteritis in human in Daejeon region, 432 out of 4,869 stool samples were selected as rotavirus-positive specimens by means of antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The P (VP4) and G (VP7) genotypes for 432 stool samples were investigated by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and nested multiplex PCR. The most prevalent P subtype was P[8] (44.9%), followed by P[4] (25.7%) and P[6] (17.1%). No cases for P[10] and P[9] subtypes were found through the study. In G subtyping, G1 (53.2%) was the most frequently found G type, followed by G2 (23.1%), G3 (9.5%), G4 (6.7%), and G9 (0.9%). The order of detection rates for G2, G3 and G4 was variable by years. The most common G- and P- type combination found in this study was G1P[8] (33.1%), followed by G2P[4] (20.4%), G1P[6] (10.0%), G3P[8] (7.2%) and G4P[6] (4.2%). The mixed types of G and P were observed most frequently in P[8] (1.4%) and G1 (3.2%), respectively. This is the first molecular epidemiological study for Group A rotavirus in Daejeon region. The results might be useful data for evaluating the epidemiological status of rotaviral diarrhea in the region.

Key Words: Rotavirus, Acute gastroenteritis, P and G genotypes, Nested multiplex PCR

서 론

설사증을 유발하는 여러 병원체 가운데 rotavirus는 전 세계적으로 영아와 유아에 급성위장염을 유발하여 심각한 설사증을 일으키고, 어린 소, 돼지, 망아지 및 양 등

가축에서도 급성위장염을 일으키는 중요한 병원체로 알려져 있다 (4,11,19,23). 특히 개발도상국의 영·유아에서 rotavirus에 기인된 설사환자 발생률과 이로 인한 사망률은 매우 높아 인류 보건학적 측면에서 매우 중요한 문제로 대두되고 있다 (7,19). Rotavirus성 설사는 이병율이 높고, 영·유아에 대한 사망률은 약 20%에 달하고, 다른 장내감염병원체에 비해 피해가 심각하기 때문에 지역적으로 rotavirus의 분자역학적 연구와 진단법과 예방약 개발에 대한 연구가 활발히 수행되고 있다.

Rotavirus는 1973년 호주에서 급성설사 증세로 입원한 어린이의 십이지장 생검 표본의 전자현미경 검사에서

*교신저자: 전무형. 305-764, 대전광역시 유성구 궁동 220, 충남대학교 수의과대학 미생물학교실
Phone: +82-42-821-6753, Fax: +82-42-821-6753,
e-mail: mhjun@cnu.ac.kr

**본 연구는 한국과학재단 우수연구센터 (R11-2002-100-0000-0) 및 충남대학교 교원연구력강화사업의 지원을 받아 수행되었음.

최초로 관찰되었다 (6). Rotavirus는 family *Reoviridae*의 genus *Rotavirus*에 속하며, 약 80 nm 크기의 nonenveloped 바이러스이다. 유전체는 double-stranded RNA로 11개의 분절을 형성하며, 6개의 구조 단백질 (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6, VP7)과 5개의 비구조 단백질 (NSP1~NSP5)를 암호하고 있으며, virion은 3개 층의 단백질로 구성된 capsid로 구성되어 있다. Capsid 단백질 중 inner capsid protein인 VP6는 rotavirus들이 공통적으로 가지는 항원결정기이기 때문에 혈청학적 진단에 중요하게 작용한다 (11,22,31). Out capsid protein인 VP4와 VP7은 중화항원으로 바이러스의 면역원성에 깊이 관계되며 rotavirus 분류에 이용된다 (11).

Rotavirus는 항원적 특성에 의해 7개 Groups (A~G)으로 분류되며, 이중 Group A, B와 C가 사람과 동물에 감염하며, Group A rotavirus는 사람에게 가장 흔하게 감염하여 장염을 유발한다. Group A는 glycoprotein인 VP7과 protease-sensitive protein인 VP4의 항원적 성상에 의해 각각 G아형과 P아형으로 다시 분류된다. VP7의 중화항체반응에 따라 지금까지 16개의 G형 (G1~G16)이 알려져 있으며, VP7은 outer capsid의 대부분을 차지하고 있기 때문에 VP4에 비해 항원성이 높아 G 혈청형은 G 유전자형과 잘 일치된다고 보고되고 있다 (11,16,19). 그러나 VP4는 중화반응능이 약하며 특이적인 항체를 이용해서 검색하여야 하기 때문에 중화반응에 의한 혈청학적 분류상 문제가 많아 유전자 염기서열 분석에 의한 분류법을 많이 이용하고 있다 (11). P형 (VP4)은 염기서열 분석에 의해 적어도 28개의 유전자형, 즉 P[1]~P[28]이 있으며, 각 유전자형에 대응하는 혈청형이 밝혀진 바 있다 (11,20,24,33). 현재 Group A rotavirus에 대한 분류는 VP4와 VP7아형에 따른 이중 분류체계를 따르고 있으며, G와 P아형의 조합에 의해 다양한 혈청형과 유전자형이 존재할 수 있다 (10,11,12,34). 전 세계적으로 Group A rotavirus의 혈청형과 유전자형의 분리 빈도는 유행 시기와 발병지역 등 역학적 조건에 따라 다양하게 나타나지만 G1과 G2형 그리고 P[4], P[6] 및 P[8]의 검색 빈도가 비교적 높다. 유전자 조합형 분리 빈도로는 G1P[8], G2P[4], G3P[8] 및 G4P[8]이 분리율이 높은 것으로 보고되고 있다 (15,18,19,21,27). 그러나 최근 지역에 따라 혼합형 바이러스가 검색되기도 하고, 유전자형의 분리 빈도가 다양하게 변화되고 있어 역학적으로 중요한 과제가 되고 있다 (13,19,21).

사람 rotavirus와 동물 rotavirus 사이에는 RNA 단편들

의 교환이 빈번히 발생하며, 바이러스 유전자의 재조합과 재배열이 일어나서 항원형이 다른 변종 rotavirus가 생긴다 (11,18,35). 항원적 변이 때문에 유행하는 혈청형이 빈번히 변화할 수 있는 특성은 감염에 따른 면역방어능력을 약하게 하고, rotavirus에 대한 백신 개발을 어렵게 한다 (15,18). 따라서 특정 국가와 지역에서 유행하는 rotavirus의 항원형과 유전자형을 역학적으로 연구하고 분리 바이러스의 성상을 검색하는 것은 매우 중요하다 (2,3,17).

본 연구에서는 2001년 1월부터 2003년 12월까지 3년간 대전지역에서 발생한 설사환자 분변가검물 4,869건 중 rotavirus antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)에서 rotavirus 양성으로 확인된 432개의 분변검체에 대해 reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)과 nested multiplex PCR 방법으로 P와 G 유전자형의 분포실태를 연구하였다.

재료 및 방법

1. 분변재료

2001년 1월부터 2003년 12월까지 3년간 대전지역의 종합병원에 설사증상으로 입원 또는 내원한 환자의 분변가검물 4,869건 중 Rotavirus Ag capture ELISA (DACO, Copenhagen, Denmark) 키트를 이용한 시험에서 rotavirus 양성으로 확인된 432 분변검체를 시험에 사용하였다 (19,21).

2. RNA 추출

분변재료를 인산완충식염액 (0.01 M phosphate buffered saline, pH 7.2)에 10%되게 균질하게 부유한 후 분변검체 200 μ l를 Tri-reagent (Molecular Research Center, Cincinnati, OH, USA) 600 μ l에 넣고 30초간 진탕하고 5~10분간 실온에 방치한 후, chloroform (Sigma, St. Louis, MO, USA) 200 μ l를 첨가하고 30초간 진탕하고 10분간 방치한 후 14,000 rpm에서 15분간 냉장 원심분리하였다. 상층액을 취하고 isopropanol (Sigma)과 혼합한 후 -20°C에서 하루 동안 반응시켰다. 그 후 14,000 rpm에서 30분간 냉장 원심분리하여 상층액을 버린 후 70% ethanol (Sigma) 1.0 ml를 첨가하여 14,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 침전물을 2회 반복 원침하여 세척하고 실온에서 건조하였다. 침전물에 0.1%의 DEPC (Sigma) 용액 10 μ l에 녹인 다음 VP4와 VP7 유전자 검출을 위한 template로 사

용하였다 (12,14).

3. Primer 제작

cDNA 합성과 RT-PCR 및 PCR에 사용한 primer는 Gentsch 등 (12)과 Gouvea 등 (14)의 방법에 따라 G 및 P형에 특이하게 반응하는 primer를 사용하였다. VP7 (G)을 암호하는 유전자 (1~1062 nt; 1062 bp)에 대해 Beg9/End9, G1 유전자 (314~1062 nt; 749 bp)에 대해 aBT1, G2 유전자 (411~1062 nt; 652 bp)에 대해 aCT2, G3 유전자 (689~1062 nt; 374 bp)에 대해 aET3, G4 유전자 (480~1062 nt; 583 bp)에 대해 aDT4, 그리고 G9 유전자 (757~1062 nt; 306 bp)에 대해 aFT9 primer를 각각 제조하였다. 또한 VP4 (P)를 암호하는 유전자 (11~887 nt; 877 bp)에 대해 Con2/Con3, P[10] 유전자 (11~594 nt; 584 bp)에 대해 5T-1, P[4] 유전자 (11~494 nt; 484 bp)에 대해 2T-1, P[9] 유전자 (11~402 nt; 392 bp)에 대해 4T-1, P[8] 유전자 (11~356 nt; 346 bp)에 대해 1T-1, 그리고 P[6] 유전자 (11~278 nt; 268 bp)에 대해 3T-1 primer를 각각 Bioneer (Daejeon, Korea)에 의뢰하여 제조하였다.

4. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

Gentsch 등 (12)과 Gouvea 등 (14)의 방법을 응용하여 수행하였다. 약술하면, 추출된 RNA template를 주형으로 하여 VP4 (P)와 VP7 (G)에 대한 cDNA를 합성하였다. RNA template 5 µl, 5 × RT buffer 3 µl, dNTP 4 µl (2.5 mM), primer는 P의 경우 Con2와 Con3 그리고 G는 Beg9과 End9를 각각 1 µl (10 pmol)씩 가하고, 20 U RNase inhibitor (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) 0.5 µl, reverse transcriptase 0.5 µl (100 U, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 넣어 총용량 15 µl reaction mixture로 하여 T-Gradient PCR (Biometra, Goettingen, Germany) 기기를 사용하여 42°C에서 60분간 반응시켜 reverse transcription을 수행하여 cDNA를 합성하였다.

제조된 cDNA template 2.5 µl, 10 × RT buffer 2.5 µl, dNTP 2 µl (2.5 mM), Con 2/Con 3 및 Beg9/End9 primer (각각 0.5 µl; 10 pmol), Tag polymerase 0.5 µl (2.5 U, Solgent, Daejeon, Korea) 및 증류수를 추가하여 총용량 25 µl reaction mixture로 하여 T-Gradient PCR (Biometra)를 사용하여 반응시켰다. 94°C에서 30초, 42°C에서 45초, 72°C에서 90초의 사이클을 35회 실시하고 마지막에 72°C에서 7분간 extension

시켰다. PCR 산물은 1.5% agarose gel (Gibco, Grand Island, NY, USA)에 전기영동한 후 ethidium bromide (EtBr, Gibco)로 염색 후 Image analyzer (Pharmacia, Uppsala, Sweden)로 877 bp의 P 유전자와 1,062 bp의 G 유전자를 확인하였다.

5. Nested Multiplex PCR에 의한 P와 G 유전자 아형 검색

Gentsch 등 (12)과 Gouvea 등 (14)의 방법을 응용하여 수행하였다. RT-PCR에 의해 증폭된 DNA 산물을 주형으로 하고, VP4 (P)와 VP7 (G)에 대해 제조된 형 특이 primer를 각각 사용하였다. RT-PCR 산물 2 µl, 10 × PCR buffer 2.5 µl (MgCl₂, 25 mg/ml), dNTP mixture 2 µl (2.5 mM dNTP), VP4 (P)와 VP7 (G)에 대한 nested forward primer (10 pmole/µl) 및 reverse primer (10 pmole/µl) 0.5 µl, 그리고 Taq polymerase 0.5 µl (1 units/µl)를 각각 넣고, 증류수를 가하여 총용량이 25 µl되도록 혼합하였다. T-Gradient PCR (Biometra)를 사용하여 94°C에서 30초, 42°C, 94°C에서 30초, 42°C에서 45초, 72°C에서 60초의 사이클을 25회 실시하고 마지막 사이클 후 72°C에서 7분간 extension시켰다. PCR 산물은 1.5% agarose gel (Gibco)에 전기영동한 후 EtBr에 염색하여 관찰하였다. 유전자형 검출을 위한 RT-PCR에서는 밴드가 관찰되었으나 nested multiplex PCR에서 아형을 검색할 수 없는 시료는 비정형 (nontypeable), 그리고 두 개 이상의 밴드가 나타난 것은 혼합형 (mixed)으로 분류하였다.

결 과

1. P 유전자형의 분포

준비된 primer를 이용하여 P 유전자형에 대한 RT-PCR과 Nested multiplex PCR를 실시한 바, P[8], P[4], 및 P[6]형 유전자에 대한 345 bp, 483 bp 및 267 bp의 밴드가 관찰되었다 (Fig. 1A). 3년간 (2001~2003) 시험한 432 검체에 대해 분리 빈도를 분석한 바, P 유전자형이 결정된 것은 379건 (87.7%) 결정되지 않은 것이 53건 (12.3%)이었다. P[8]이 44.9% (194/432), P[4]형; 25.7% (111/432), P[6]; 17.1% (74/432)로 P[8]과 P[4]형이 비교적 높았으며, 혼합형 (mixed type)과 비정형 (nontypeable type)은 각각 4.2% 및 8.1%이었다. P[10]과 P[9]형은 관찰되지 않았으며, 유전자형 별 연도별 분리 빈도의 추세는 일치하는 경향이 있었다 (Table 1).

Table 1. Distribution of P and G genotypes of rotavirus detected from stool samples of diarrhetic patients in Daejeon region during 2001~2003

Types	G							Total
	G1	G2	G3	G4	G9	Mixed	Nontypeable	
P[8]	143 (33.1)	3 (0.7)	21 (7.2)	10 (2.3)	2 (0.5)	6 (1.4)	9 (2.1)	194 (44.9)
P[4]	12 (2.8)	88 (20.4)	6 (1.4)	1 (0.2)	0 (0.0)	3 (0.7)	1 (0.2)	111 (25.7)
P[6]	43 (10.0)	3 (0.7)	5 (1.2)	18 (4.2)	2 (0.5)	1 (0.2)	2 (0.5)	74 (17.1)
P	P[10]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	P[9]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Mixed	14 (3.2)	2 (0.5)	1 (0.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.2)	18 (4.2)
	Nontypeable	14 (3.2)	4 (0.9)	8 (1.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.2)	35 (8.1)
Total		226 (52.3)	100 (23.1)	41 (9.5)	29 (6.7)	4 (0.9)	12 (2.8)	432 (100.0)

() = %; No. of types/Total No. of specimens \times 100

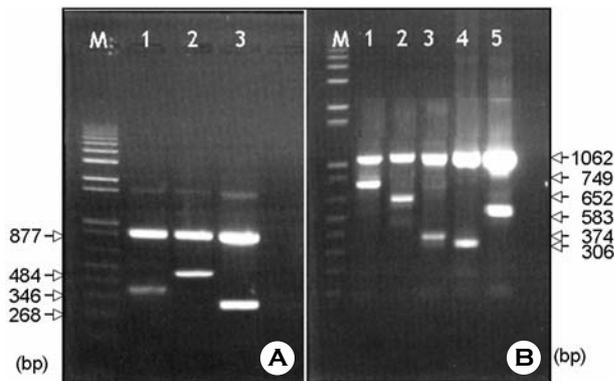


Figure 1. Patterns of nested multiplex PCR for P and G genotypes of Group A rotavirus detected from stool specimens. (A) Lane M; 100 bp DNA ladder, Lanes 1; P[8], 2; P[4], 3; P[6]. (B) Lane M; 100 bp DNA ladder, Lanes 1; G1, 2; G2, 3; G3, 4; G9, 5; G4.

2. G 유전자형의 분포

준비된 primer를 이용하여 G 유전자형에 대한 RT-PCR과 nested multiplex PCR를 수행한 바, G1, G2, G3, G4 및 G9형에 대해 749 bp, 652 bp, 374 bp, 583 bp 및 305 bp 크기의 밴드가 관찰되었다 (Fig. 1B). 3년간 (2001~2003) 시험한 432검체에 대해 유전자형의 분리 빈도를 분석한 바, G 유전자형이 결정된 것은 400건 (92.6%)이고 결정되지 않은 것이 32건 (7.4%)이었다. G1은 52.3% (226/432), G2; 23.1% (100/432), G3; 9.5% (41/432), G4; 6.7% (29/432), G9; 0.9% (4/432)로 G1형과 G2형이 비교적 높았으며, 혼합형 (mixed types)은 2.8% (12/432) 그리고 비정형 (nontypeable types)은 4.6% (20/432)이었다 (Table 1).

연도별로는 2001년에는 G3와 G9형이 전혀 검출되지 않았으며, 2002년에는 G4가 G3보다 높은 분리 빈도를 보였으며, 2003년에는 G3가 G2보다 분리 빈도가 높았고, G9형은 전혀 검출되지 않았다.

3. P 및 G 유전자 조합형의 분포

3년간 검사한 총 432건에 대해 P와 G 유전자 조합형의 출현 빈도의 분포를 분석하였던 바, P와 G 유전자형이 모두 결정된 것은 357건 (82.6%)이었고, 3년간 유전자형별 출현 빈도는 G1P[8]; 143건 (33.1%), G2P[4]; 88건 (20.4%), G1P[6], 43건 (10.0%), G3P[8]; 21건 (7.2%), G4P[6]; 18건 (4.2%) 순으로 나타나 G1P[8]형과 G2P[4]형이 비교적 높았으며, G9P[4]형은 검출되지 않았다. P 혼합형 및 비정형에는 G1형이 각각 14건 (3.2%)으로 가장 빈도가 높았고 G4와 G9형은 없었다. G 혼합형 12건과 비정형 20건은 P[8]형이 각각 6건 (1.4%) 및 9건 (2.1%)으로 높게 나타났다 (Table 1).

고 찰

2001년 1월부터 2003년 12월까지 3년간 대전지역의 종합병원에 설사증상으로 입원 또는 내원한 환자의 분변가검물 4,869건에 대해 rotavirus Ag capture ELISA kit를 이용한 시험하여 432건의 rotavirus 양성례를 검색하였으며, 지역내 rotavirus 설사증에 대한 역학적 자료를 얻기 위해 rotavirus 양성 분변검체에 대해 RT-PCR과 nested multiplex PCR 방법을 사용하여 P와 G 유전자 아형의 분포를

태를 조사하였다.

Group A rotavirus는 11개의 분절형 RNA 핵산을 가진 바이러스로써 유전자 재조합과 재배열이 쉽게 일어나서 변이형이 자주 발생하여 항원형과 혈청형의 변동 가능성이 높다 (11,18). 따라서 rotavirus성 감염을 효과적으로 진단하고 방역하기 위한 기초 자료를 획득하기 위해 혈청학적 및 분자역학적 조사를 지속적으로 수행하는 것이 중요하다고 강조되고 있으며, 특히 성공적인 백신프로그램을 위해 유행하는 혈청형과 유전자형을 검색하는 것이 중요하다고 지적되고 있다 (7,26,28,30).

Group A rotavirus의 혈청형과 유전자형의 분포는 연도별로 차이가 나며, 지역적으로도 다양한 양상을 나타낸다는 사실은 유럽, 북·남미, 아프리카 및 아시아 등지에서 수행된 역학적 조사 결과에서 보고된 바 있다 (10,19,21,34). 세계적으로 Rotavirus의 G형 (VP7) 분포를 ELISA로 검사한 바에 의하면 G1~G4 혈청형이 주종을 이루며 그 중 G1형이 지배적으로 많이 검출된다고 하였다 (11,25). 1984년부터 1997년까지 일본에서 수행된 시험 결과에 의하면 G1~G4형이 91.5%를 차지하고, G1 (70.5%), G2 (9.6%), G3 (6.2%), 및 G4 (5.2%) 순의 빈도로 나타났다고 보고된 바 있다 (35). P형 (VP4)에 대한 혈청형 분포 연구는 시험의 난이도가 높고 결과의 재현성이 낮아 G형에 비해서는 많지 않지만, P1A[8]가 우세하게 나타나는 것으로 알려져 있다 (18,25). 또한 영국에서 발병한 rotavirus성 설사 증례에서는 G1/P[8], G2/P[4], G3/P[8] 및 G4/P[8] 유전자형이 93%를 차지하며 검출율이 높았다고 하였다 (10).

국내에서 발병한 설사환자의 분변을 대상으로 P형과 G형의 유행양상을 RT-PCR과 ELISA를 이용하여 분석한 결과 G1은 45~81%로 가장 높았고, G2, G3 및 G4 순서로 빈도를 나타냈다고 보고된 바 있으며 (8,29). 그 후 2000년도에는 G4형이 가장 높게 나타나서 G 혈청형의 유행패턴이 G1에서 G4로 변화되었을 가능성이 높다고 지적된 바 있었다 (32). 또한 G2와 G4 혈청형은 주기적으로 유행패턴이 변하는 경향이 있고, G4는 2~3년의 간격으로 유행한다고 보고하였다 (5). 최근 2000년대에 와서 수행된 국내의 역학조사에서 G형의 유행양상은 일반적으로 G1이 가장 높고, G2, G3 및 G4형의 빈도가 다양하게 나타나는 양상을 보이며, 두 가지 이상의 유전자형이 혼입되어 나타나는 혼합형 (mixed)과 유전자형은 검출되고 아형이 증명되지 않는 비정형 (nontypeable) 레도

흔히 보고되고 있다 (1,9,25).

본 연구에서 G형의 총체적인 출현 빈도는 G1 (52.3%), G2 (23.1%), G3 (9.5%) 그리고 G4 (6.7%) 순서로 나타나서 3년간 분석한 경향은 전자들의 성적과 유사한 경향을 보였으나, 연도별로는 2001년에는 G1 > G2 > G4, 2002년에는 G1 > G2 > G4 > G3 > G9, 그리고 2003년에는 G1 > G3 > G2 > G4 순서로 나타나서 연도별 출현 빈도에 차이가 있었다. 또한 2002년도에 G9형이 특이하게 출현하고 2003년에 G2형이 감소되고 G3형이 증가하는 양상을 나타낸 것은 특이할 만한 것으로 역학적으로 추가적인 시험과 관찰이 필요하다고 생각된다. 김 등 (1)은 2002년 서울지역 설사환자로부터 P 유전자형의 분포를 시험하여 P[4] (44%), P[6] (30%), 및 P[8] (6%) 순서로 보고하였으며, 유사한 성적이 Min 등 (25)에 의해 보고된 바 있다. 본 실험에서는 P[8] (44.9%), P[4] (25.7%), P[6] (17.1%) 순으로 나타나 순위상 약간의 차이가 있으나, 추후 지속적인 시험을 통해 얻어진 결과를 토대로 의미를 부여해야 한다고 생각된다.

또한 P와 G형의 조합된 유전자형 분석에서 김 등 (1)은 P[4]/G2 (28.1%), P[6]/G4 (27.0%) 순서로, Min 등 (25)은 P[4]/G2, P[8]/G1, P[6]/G1, P[6]/G4 순으로 나타났다고 보고하였다. 특히 Kang 등 (19)은 2002년에서 2003년간 전국에서 수집된 분변재료로부터 G4P[6]와 G9P[8]형이 특이하게 다량 검출되어 공중보건학적으로 의미가 크다고 보고하였으며, 최근 Kim 등 (21)은 정읍지역 역학조사에서 어린이 설사증의 주요 원인체는 rotavirus이고, 유전자형별로는 G9P[8]이 39%로 가장 많이 검출되었고, 이어서 G1P[8], G3P[8], G2P[4] 순으로 나타났다고 보고하였다. 본 연구에서 G9형은 2001년과 2003년도에는 전혀 검출되지 않았고, 2002년도에 4건 (2.5%)으로 소수가 검출되었으며, 조합형별로는 G1P[8] (33.1%), G2P[4] (20.4%), G1P[6] (10.0%), G3P[8] (7.2%), G4P[6] (4.2%) 순으로 나타나 조합형의 출현 빈도는 지역에 따라 다르게 나타나 지속적인 모니터링이 필요하다고 생각된다.

분변재료에 대한 rotavirus 유전자형 검사에서 혼합형과 비정형은 여러 보고에서 기술되고 있다 (1,9,18,19,21,25). 본 연구에서는 혼합형과 비정형 레가 주로 G1과 P[8]에서 1.4~3.2% 비율로 나타났다. 이러한 결과는 최근 국내 역학조사에서 P[8]형과 G1, G2 및 G3형에서 각각 1% (21), 그리고, P[8]과 G1, G3 및 G4에서 0.4~0.9% 수준으로 검출되었다고 보고한 성적 (19)에 비해 다소

높았으나, Jain 등 (18)이 인도에서 P[11]과 G2 및 G4사 이에서 2% 수준으로 검출되었다고 보고한 것과 유사하였다. 혼합형의 출현은 환자가 두 가지 이상의 유전자 형에 감염되어 일어날 수 있으나, 검사시료의 오염과 비특이 반응으로 인한 밴드 출현이 원인이 될 수도 있으며, 비정형 예는 RT-PCR의 술식에 원인이 있을 수도 있으므로 시험의 신뢰도를 높이기 위해 표준화된 시험 방법의 확립이 지속적으로 요구된다.

본 연구를 수행함으로써 대전지역 설사환자에 감염된 Group A rotavirus의 P와 G형의 혈청형과 유전형의 다양성을 확인하였으며, 얻어진 결과는 rotavirus 감염에 의한 설사질환을 진단하고 예방하기 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) 김은정, 서병태, 박석기, 이정자: 서울지역 설사환자에서 분리한 A군 Rotavirus의 Multiplex PCR을 이용한 VP4, VP7 유전자형. *대한미생물학회지* **32**: 291-297, 2002.
- 2) Barnes GL: Etiology of acute gastroenteritis in hospitalized children in Melbourne, Australia, from April 1980 to March 1993. *J Clin Microbiol* **36**: 133-138, 1998.
- 3) Beards GM, Dessel BU, Flewett TH: Temporal and geographical distributions of human rotavirus serotypes, 1983 to 1988. *J Clin Microbiol* **27**: 2827-2833, 1989.
- 4) Bern C, Martines J, Zoysa I, Glass RI: The magnitude of the global problem of diarrheal disease: a ten-year up-date. *Bull WHO* **70**: 705-714, 1992.
- 5) Bishop RF: Natural history of human rotavirus infections. pp131-167. In *Viral Infections of the Gastrointestinal Tract*, 2nd ed., Kapikian AZ(Ed). Marcel Dekker, New York, 1994.
- 6) Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ: Detection of a new virus by electron microscopy of fecal extracts from children with acute gastroenteritis. *Lancet* **1**: 149-151, 1973.
- 7) Bresee JS, Parashar UD, Gentsch JR, Glass RI: Rotavirus vaccines :review, Rationale and prospects. *Vaccines Children Practice* **2**: 8-11, 1999.
- 8) Cha KJ, Song JO, Cho HC: Serotype and nucleotide analysis of human rotavirus isolates in Korea. *J Korean Soc Virology* **29**: 75-85, 1999.
- 9) Chung JK, Song HJ, Kim SH, Seo JJ, Kee HY, Kim ES, Ha DR, Ryu PY, Lee JI: Epidemiological study of viral diarrhea in Gwangju area during 2000-2002. *JBV* **36**: 195-203, 2006.
- 10) Cubitt WD, Steele AD, Iturriza M: Characterization of rotavirus from children treated at a London hospital during 1996: emergence of strain G9P2A[6] and G3P2A[6]. *J Med Virol* **61**: 150-154, 2000.
- 11) Estes MK, Kapikian A: Rotavirus and their replication. pp1917-1974. In *Fields Virology Vol 2*, 5th ed, Knipe D et al. (Ed), Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2007.
- 12) Gentsch JR, Glass RI, Woods P: Identification of group A rotavirus gene 4 types by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* **30**: 1365-1373, 1992.
- 13) Gouvea V, Castro L, Timenetsky MD, Greenberg H, Santos N: Rotavirus serotype G5 associated with diarrhea in Brazilian children. *J Clin Microbiol* **32**: 1408-1409, 1994.
- 14) Gouvea V, Glass RI, Woods P, Taniguchi K, Clark HF, Forrester B, Fang ZY: Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J Clin Microbiol* **28**: 276-282, 1990.
- 15) Griffin DD, Kirkwood CD, Parashar UD, Woods PA, Bresee JS, Glass RI, Gentsch JR: Surveillance of rotavirus strains in the United States: identification of unusual strains. *J Clin Microbiol* **38**: 2784-2787, 2000.
- 16) Gulati BR, Deepa R, Singh BK, Rao CD: Diversity in Indian equine rotaviruses; identification of genotype g10, p6[1] and g1 strains and a new VP7 genotype (g16) strain in specimens from diarrheic foals in India. *J Clin Microbiol* **45**: 2354, 2007.
- 17) Iturriza-Gomara M, Green J, Brown DW, Ramsay M, Desselberger U, Gray JJ: Molecular epidemiology of human group A rotavirus infections in the United Kingdom between 1995 and 1998. *J Clin Microbiol* **38**: 4394-4401, 2000.
- 18) Jain V, Das BK, Bhan MK, Glass RI, Gentsch JR: Great diversity of group A rotavirus strains and high prevalence of mixed rotavirus infections in India. *J Clin Microbiol* **39**: 3524-3529, 2001.
- 19) Kang JO, Kilgore P, Kim JS, Nyambat B, Kim JG, Suh HS, Yoon YM, Jang SJ, Chang CH, Choi SW, Kim MN, Gentsch J, Bresee J, Glass R: Molecular epidemiological profile of rotavirus in South Korea, July 2002 through June 2003: Emergence of G4P[6] and G9P[8] strains. *JID* **192** (Suppl 12): S57-S63, 2005.
- 20) Khamrin P, Maneekarn N, Peerakome S, Chan-it W, Yagyu F, Okitsu S, Ushijima H: Novel porcine rotavirus of genotype P[27] shares new phylogenetic lineage with G2 porcine rotavirus strain. *Virology* **361**: 243-252, 2007.

- 21) **Kim JS, Kang JO, Cho SC, Jang YT, Min SA, Park TH, Nyambat B, Jo DS, Gentsch J, Bresee JS, Mast TC, Kilgore PE:** Epidemiological profile of rotavirus infection in the Republic of Korea: results from prospective surveillance in the Jeongeub district, 1 July 2002 through 30 June 2004. *JID* **192(Suppl 1):** S49-S56, 2005.
- 22) **Kirkwood CD, Palombo EA:** Genetic characterization of the rotavirus nonstructural protein, NSP4. *Virology* **236:** 258-265, 1997.
- 23) **Lee JS, Kim HH:** Clinical study of acute diarrhea in infants and children. *J Korean Pediatr Soc* **20:** 30-46, 1977.
- 24) **Martella V, Ciarlet M, Bányai K, Lorusso E, Arista S, Lavazza A, Pezzotti G, Decaro N, Cavalli A, Lucente MS, Corrente M, Elia G, Camero M, Tempesta M, Buonavoglia C:** Identification of group A porcine rotavirus strains bearing a novel VP4 (P) Genotype in Italian swine herds. *J Clin Microbiol* **45:** 577-580, 2007.
- 25) **Min BS, Noh YJ, Shin JH, Baek SY, Kim JO, Min KI, Ryu SR, Kim BG, Kim DK, Lee SH, Min HK, Ahn BY, Park SN:** Surveillance study (2000 to 2001) of G- and P-type human rotavirus circulating in South Korea. *J Clin Microbiol* **42:** 4297-4299, 2004.
- 26) **Murphy TV, Gargiullo PM, Massoudi MS, Nelson DB, Jumaan AO, Okoro CA, Zanardi LR, Setia S, Fair E., LeBaron CW, Wharton M, Livingood JR:** Susception among infants given an oral rotavirus vaccine. *N Engl J Med* **344:** 564-572, 2001.
- 27) **Nguyen TV, Van PL, Huy CL, Weintraub A:** Diarrhea caused by rotavirus in children less than 5 years of age in Hanoi, Vietnam. *J Clin Microbiol* **42:** 5745-5750, 2004.
- 28) **Palombo EA, Masendyca PJ, Bugg HC, Bogdanovic S, Akran N, Barnes GL, Bishop RF:** Emergence of serotype G9 human rotavirus in Australia. *J Clin Microbiol* **38:** 1305-1306, 2000.
- 29) **Park HK, Woo SV, Seoh JU, Chong YH, Seo JW:** VP7 genotypes of diarrhea by reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Korean Soc Microbiol*, **32:** 675-683, 1997.
- 30) **Rácz ML, Kroeff SS, Munford V, Caruzo TAR, Durigon EL, Hayashi Y, Gouvea V, Palombo EA:** Molecular characterization of porcine rotaviruses from the southern region of Brazil: characterization of an atypical genotype G[9] strain. *J Clin Microbiol* **38:** 2443-2446, 2000.
- 31) **Sato T, Suzuki H, Kitaoka S:** Patterns of polypeptide synthesis in human rotavirus infected cell. *Arch Virol* **90:** 29-40, 1986.
- 32) **Seo JK, Sim JG:** Overview of rotavirus infection in Korea. *Pediat Internat* **42:** 406-410, 2000.
- 33) **Steyer A, Poljsak-Prijatelj M, Barlic-Maganja D, Jamnikar U, Mijovski JZ, Marin J:** Molecular characterization of a new porcine rotavirus P genotype found in an asymptomatic pig in Slovenia. *Virology* **359:** 275-282, 2007.
- 34) **Unicomb LE, Podder G, Gentsch JR, Woods PA, Hasan KZ, Faruque AS, Albert MJ, Glass RI:** Evidence of high-frequency genomic reassortment group A strain Bangladesh emergence of type G9 in 1995. *J Clin Microbiol* **37:** 1885-1891, 1999.
- 35) **Zhou Y, NaKayama M, Hasegawa A:** Serotypes of human rotaviruses in 7 regions of Japan from 1984 to 1997. *Kansenshogaku Zasshi* **73:** 35-42, 1999.