

Nested RT-PCR을 이용한 패류 중의 Norovirus 검출

유홍식 · 오은경 · 이태식
국립수산물과학원 식품위생팀

서론

Norovirus는 Calicivirus과에 속하는 소형 구형의 바이러스로 직경이 27~34nm이며, 약 7.6kb의 single stranded RNA를 가지며 envelop이 없는 것이 특징이다. 이 바이러스는 1968년 미국 오하이오주 Norwalk의 초등학교에서 발생한 집단 위장염 조사에서 최초로 보고된 이후 세계적으로 비 세균성 위장염의 주요한 원인 병원체로 알려지고 있다(Kapikian et al., 1972).

Norovirus 식중독은 겨울철에 많이 발생하는데 가장 중요한 원인식품은 굴과 백합 등 패류이며, 그 외에 음용수, 얼음, 샐러드 등이 있고, 보균자나 오염된 기구에 의한 접촉감염으로 추정되는 경우도 일부 있다(Kohn et al., 1995).

이 식중독은 여러 나라에서 매년 10월부터 다음 해 4월에 걸쳐서 가장 많이 발생하는데, 우리나라에서도 2003년 3월 Norovirus에 의한 식중독이 14건, 1,442명의 환자가 발생한 바 있으며, 그 중 일부는 굴이 원인식품인 것으로 추정되고 있다(질병관리본부, 2004).

한편 Norovirus는 host cell line이 밝혀지지 않아 배양이 불가능하며, 식품 중에 저 농도로 존재하기 때문에 식품에서의 검출법이 정립되지 못하고 있다. 현재 가장 효과적인 검출법은 RT-PCR에 의한 검출법이지만, 패류와 같은 식품에 존재하는 Taq-inhibitor에 의해 PCR 반응을 방해받는 경우가 많기 때문에 방해물질을 효과적으로 제거하고 virus 입자를 농축할 수 있는 전 처리법을 정립하는 것이 중요하다고 할 수 있다(Green et al., 1998).

따라서 본 연구에서는 패류 중에 존재하는 PCR 반응 저해물질을 효과적으로 제거하고 매우 낮은 농도로 존재하는 virus 입자를 농축할 수 있도록 전 처리법을 확립하고 기존의 nested RT-PCR법을 개선하고자 하였다. 그리고 개선된 방법을 적용하여 2004년 1월부터 12월까지 남해안 주요패류 양식장에 대한 Norovirus 오염실태를 조사하였으며, 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

(1) Norovirus 검출법 개선

기존의 연구보고들과 관련기관의 표준법을 근거로 하여 패류의 전 처리법과 total RNA 추출법 및 nested RT-PCR 방법을 구상하고 검증을 실시하였다. 유전자 표준물질은 일본 히로시마 보건환경연구소 및 홍콩의 식품환경위생청에서 분양받은 Norovirus genogroup I 및 II의 유전자를 사용하였다.

(2) 남해안 주요 패류양식장에 대한 Norovirus 오염실태 조사

개발된 Norovirus 검출법의 현장 적용성을 평가하고 우리나라 남해안 주요 패류양식장의 Norovirus 오염실태를 파악하기 15개소의 조사지점을 설정하고 2004년 1월부터 12월까지 월 1회의 빈도로 패류 시료를 채취하여 조사를 실시하였다.

결과 및 요약

(1) Norovirus 검출법 개선

확립된 검출법을 Norovirus 감염환자의 분변(질병관리본부 제공)과 Norovirus 양성 패류 시료를 이용하여 검증하였다. 그 결과 시료 전량을 농축하여 total RNA 추출에 이용할 수 있었으며 최종적으로 기존의 방법에 비해 높은 검출감도를 보였다.

(2) 남해안 주요 패류양식장의 Norovirus 오염실태

도시하수 및 육상 폐출 수의 영향을 받고 있는 연안해역에 설정된 조사지점에서 채취한 굴 시료에서 Norovirus가 검출되었다.

참고문헌

- Green, J., K. Henshilwood, C.I. Gallimore, D.W.G. Brown, and D.N. Lees. 1998. A Nested Reverse Transcriptase PCR Assay for Detection of Small Round-Structured Viruses in Environmentally Contaminated Molluscan Shellfish. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64(3), 858-863.
- Kapikian, A.Z., R.G. Wyatt, R. Dolin, T.W. Thornhill, A.R. Kalica and R.M. Chnock 1972. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J. Virol.*, 10, 1075-1081.
- Kohn, M.A., T.A. Farley, T. Ando, M. Curtis, S.A. Wilson, Q. Jin, S.S. Monroe, R.D. Baron, L.M. McFarland and R.I. Glass. 1995. An outbreak of Norwalk virus gastroenteritis associated sith eating raw oysters. *JAMA.*, 273, 466-471.