

Rotavirus 성 위장염

*유성병원 임상병리과 **한양대학교 의과대학 임상병리학교실 ***소아과학교실

강정옥* · 박승합** · 김기홍** · 이근수***

= Abstract =

Rotavirus Gastroenteritis

Jeong Oak Kang M.D.,* Seung Hahm Park, M.D.**, Ki Hong Kim, M.D.** and Keun Soo Lee, M.D.***

*Dept. of Clinical Pathology, Yuseong Hospital and **Dept. of Clinical Pathology and

***Dept. of Pediatrics, College of Medicine, Hanyang University

Fifty two infants and young children hospitalized in the pediatric department of Hanyang University Hospital with acute gastroenteritis from February through April 1982 were examined for the evidence of infection with rotavirus by electron microscopic technique and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Of 52 patients examined, rotaviruses were detected in stools of 11 patients (21%) by EM technique and 16 patients (31%) by ELISA. But there was no significant statistical difference between the two methods ($Z=1.2 < 2$).

During the study period, rotaviruses were detected in stools of 6(38%) of 16 patients in February, 10(30%) of 33 patients in March, and none of 3 patients in April.

The age of the 16 patients who shed the rotaviruses in their stools ranged from 3 months to 6 years, and 12 patients (75%) were between 6 and 24 months.

Our study suggests that the rotaviral gastroenteritis of infants and young children in Korea might have similar frequency, seasonal variation, and age distribution with other countries in temperate zone.

서 론

심한 설사와 탈수를 특징으로 하는 급성 위장염은 소아과 영역에서 가장 흔한 질병 중의 하나이며 대개는 수액요법 등으로 일주일 이내에 치유되나 때로는 치명적인 경우도 있다.

이러한 소아 위장염 중 세균성 위장염은 30% 이하라고 하며¹⁾, 나머지 비세균성 위장염의 원인은 바이러스일 것이라고 추측되어 왔었다. 그러나 바이러스 학자들의 부단한 노력에도 불구하고 그 원인을 밝혀내지 못하다가, 1973년 호주²⁾의 Bishop 등이 급성 위장염 환자의 십이지장 생검 조직에서 전자현미경으로 EDIM

바이러스와 유사한 바이러스 입자를 발견하여 이를 바세균성 위장염의 주원인일 것이라고 보고했다³⁾.

곧 이어 영국의 Flewett⁴⁾, 캐나다의 Middleton⁵⁾, 미국의 Kapikian⁶⁾, 등이 설사 환자들의 분변에서 Bishop이 관찰한 것과 유사한 바이러스 입자를 전자현미경으로 관찰하여 그의 발견을 재확인하였다. 이 바이러스 입자는 보고자에 따라서 reovirus-like agent, orbivirus-like agent, duovirus, infantile gastroenteritis virus, rotavirus 등으로 명명되다가 ICTV에 의해 family Reoviridae 중의 genus rotavirus로 분류되었다. 이 후 세계 각지에서 여러 연구자들에 의해 rotavirus가 소아 급성 위장염의 50% 정도를 차지하는 중요한 원인 인자임이 밝혀졌으며 특히 온대 지방

에서는 겨울철 소아 위장염의 50% 내지 90%를 차지한다고 보고되고 있다⁷⁻¹⁵⁾.

그러나 한국에서는 아직까지 rotavirus성 위장염에 관한 보고가 없는 실정이므로 저자들은 1982년 2월부터 4월까지 한양대학병원 소아과에 입원했던 급성 위장염 환자 52명을 대상으로 rotavirus성 위장염의 이환 실태를 조사하여 보고하고자 하며 아울러 그 검사 실적 진단법을 소개하고자 한다.

검사재료 및 방법

1982년 2월부터 4월까지 한양대학병원 임상병리과 미생물부에 배양 검사를 위해 의뢰된 52명의 설사 환자 분변을 검사재료로 사용하였으며, 전자현미경법과 ELISA법을 이용하여 rotavirus를 증명하였다.

1. 전자현미경법

Bishop의 원법을 간략화시킨 Tohoku 변법을 사용하였다.

- 1) 환자 분변 10% 부유액을 3,000 rpm에서 10분간 원심시킨다.
- 2) 상층액을 취하여 다시 10,000 rpm에서 30분간 원심시킨다.
- 3) 상층액 한 방울을 400 mesh 전자현미경용 grid에 떨어뜨린다.
- 4) 2% uranyl acetate로 negative 염색을 한 후 전자현미경으로 rotavirus 입자를 찾는다.

2. ELISA 법

Yoiken 등이 개발한 direct ELISA 법¹⁶⁾을 이용하였으며, rabbit anti-rotavirus IgG와 Alkaline phosphatase(ALP)-labelled rabbit anti-rotavirus IgG는 일본 Tohoku 의과대학 소아과학교실의 Konno 교수가 분양해준 것을 사용하였다.

- 1) Rabbit anti-rotavirus (Wa strain) IgG를 carbonate buffer로 1 : 10,000 희석한 후 100 μ l씩 polyvinyl microtitration plate (Dynatech Lab)의 각 well에 가한 후 4°C에서 24시간 이상 흡착시킨다.
- 2) 사용 직전에 phosphate buffered saline (PBS)-Tween으로 3회 세척한 후, 원심과정이 끝난 10% 분변 부유액 50 μ l와 0.5% Bovine serum albumin 50 μ l를 각 well에다 검체당 duplicate로 가한 후 37°C에서 1시간 반응시킨 다음 PBS-Tween으로 3회 세척한다.

3) ALP-labelled rabbit anti-rotavirus IgG를 PBS-Tween으로 1 : 800 희석한 후 각 well에 100 μ l씩 가하고 37°C에서 1시간 반응시킨 다음 PBS-Tween으로 3회 세척한다.

4) 기질액 (*p*-nitrophenyl phosphate 1mg/ml in 10% diethanolamine buffer) 100 μ l씩을 각 well에 첨가한 후 실온에 10분 내지 15분 방치한다.

5) 3N NaOH 용액 30 μ l씩을 각 well에 가하여 반응을 정지시킨 후 환자의 검체를 양성, 음성 대조와 비교하면서 눈으로 결과를 판정하거나 ELISA 용 광도계로 흡광도를 측정해서 cut-off value와 비교한다.

결 과

Rotavirus 감염률

총 52명의 위장염 환자 중 전자현미경법으로는 11명 (21%)에서, ELISA 법으로는 16명 (31%)에서 분변 중에 rotavirus가 검출되었으며, 두 방법 간에 유의한 통계적 차이는 없었다 ($Z=1.2 < 2$)¹⁷⁾ (Table 1).

Table 1. Comparison of EM and ELISA for detection of human rotavirus in stools.

EM \ ELISA	Positive	Negative	Total
Positive	11	0	11
Negative	5	36	41
Total	16	36	52

전자현미경으로 관찰한 rotavirus의 형태적 특징

4번 환자의 분변에서 검출되었던 rotavirus는 이중 capsid를 가진 70 nm 직경의 구형 바이러스로 그 모양이 마차바퀴와 유사하여 rota(라틴어로 영어의 wheel을 의미) virus라는 명칭이 붙여지게 되었다. Rotavirus 입자는 두 가지 형태로 관찰되었는데, complete (혹은 smooth) particle은 외부 capsid가 온전하여 가장자리가 매끈하고, 직경이 60nm 정도인 incomplete (혹은 rough) particle은 외부 capsid가 없어지고 내부 capsid가 노출되어 가장자리가 울퉁불퉁하다. 그리고 때로는 central core가 빠져나간 empty particle도 관찰되었다 (Fig. 1).

Rotavirus성 위장염의 월별 분포

조사기간 중 2월에는 설사 환자 16명 중 6명 (38%), 3월에는 33명 중 10명 (30%), 4월에는 3명 중 0명에서

각각 rotavirus가 검출되어, 한국에서는 초봄까지도 rotavirus성 위장염이 상당히 많음을 알 수 있었다 (Fig.2).

Rotavirus성 위장염 환자의 나이 분포

Rotavirus가 검출된 16예 중 12예가 6개월부터 24개월 미만의 소아로 75%를 차지했다 (Fig. 3, Table 2).

Table 2. Age distribution of diarrheal patients and detection of rotavirus.

Age in month	No. of Pt.	Positive
0-5	17	3
6-11	16	8
12-17	6	3
18-23	1	1
> 24	12	1
Total	52	16

Fig. 1. Rotaviruses as visualized by EM in stools of patients No. 4 with gastroenteritis, 2% uranyl acetate stain (magnification X75,000)

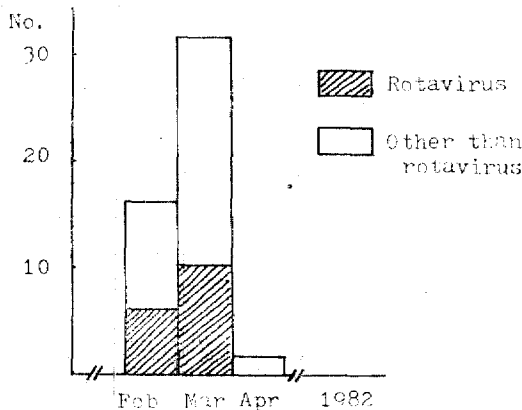


Fig. 2. Monthly distribution of patients with acute gastroenteritis and frequency of rotavirus.

분변에서 rotaviruses가 검출되었던 가장 어린 환자는 3개월이었으며, 가장 나이가 많았던 환자는 6년 11개월 된 남아였다.

고 안

인간에게 설사를 일으키는 바이러스는 rotavirus, Norwalk agent, adenovirus, astrovirus, calicivirus, coronavirus, small virus particles 등이 있으며 이중 rotavirus는 유소아의 바이러스성 위장염의 90% 이상을 차지하는 중요한 원인인자이다¹⁸⁾. Rotavirus성 위장염은 세계 각지에서 보고되고 있으며 온대지방에서는 특히 겨울철 유소아위장염의 50%내지 90%를 차지한다⁹⁻¹⁵⁾. 그러나 열대지방에서는 계절적 차이없이 연중 약 20%내지 30%정도 발생한다고 보고되었다^{19,20)}.

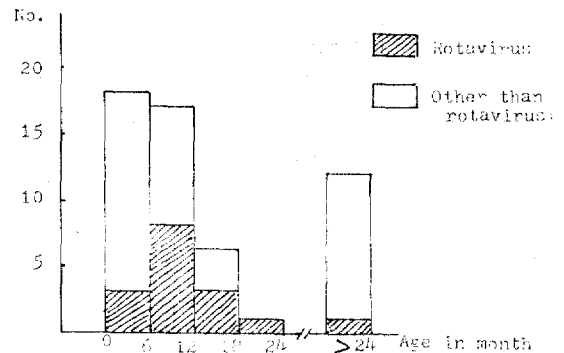


Fig. 3. Age distribution of patients with acute gastroenteritis during the period from February through April 1982 and detection of rotavirus.

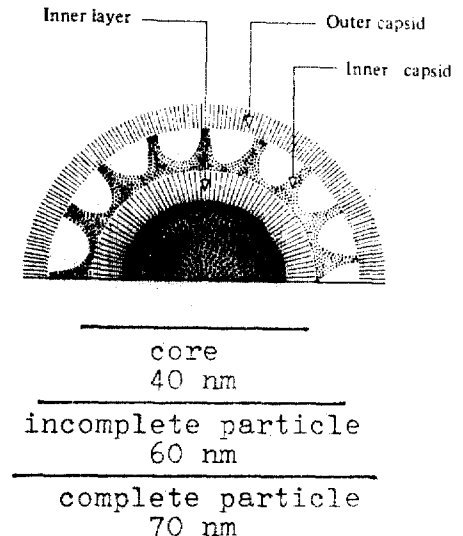


Fig. 4. Schematic diagram of rotavirus morphology. Modified from Esparza (ref.21).

이러한 소아 위장염의 주범인 rotavirus는 naked, icosahedral, double-stranded RNA virus로서 내부 capsid와 외부 capsid를 가지고 있다(Fig. 4)²¹⁾. 내부 capsid에는 human rotavirus와 animal rotavirus에 공통적인 group specific common antigen이 있으며, 외부 capsid에는 type-specific antigen이 있다고 한다²²⁾. 또한 human rotavirus는 ELISA, complement fixation test, 면역전자현미경법 등에 의하여 두 가지 혈청형이, neutralization test에 의해서는 네 가지 또는 다섯 가지 혈청형이 있다고 보고되었다²³⁻²⁶⁾. Yolken 등²⁷⁾은 ELISA 법에 의한 type 1과 type 2 rotavirus의 역학적 조사 결과 type 2에 의한 위장염이 더욱 심한 임상 증세를 나타낸다고 보고했으며, Bridger²⁸⁾와 Elias²⁹⁾ 등은 complete particle은 전염성이 강하고 incomplete particle은 감염성이 없다고 보고했다.

그러나 human rotavirus는 학자들의 부단한 노력에도 불구하고 세포배양이 되지 않아서 연구에 제한을 받아왔었다. 1980년 Wyatt 등³⁰⁾이 human rotavirus type 2 Wa strain을 Primary African Green Monkey Kidney (AGMK) Cell에 배양시켜 성공함으로써, RNA 분석과 polypeptide 분석 등 rotavirus 연구에 새로운 전환점을 제공했다^{31), 32)}. 이러한 발전에도 불구하고 한국에서는 아직 rotavirus성 위장염의 이환 실태가 전혀 파악되어 있지 않은 실정이므로 저자들은 rotavirus성 위장염의 이환 실태를 조사하고 아울러 그 검사실적 진단법을 소개하고자 시도했다.

저자들의 결과는 조사대상 위장염 환자 52명 중 전자현미경법으로는 11명(21%), ELISA 법으로는 16명(31%)에서 rotavirus가 검출되었으며, 두 방법 간에 유의한 통계적 차이는 없었다($Z=1.2 < 2$)¹⁷⁾ (Table 1).

조사기간 중 2월에는 위장염 환자 16명 중 6명(38%), 3월에는 33명 중 10명(30%)에서 rotavirus가 검출되어, Middleton¹²⁾과는 유사한 이환률을 보여주었으나 Kapikian¹⁰⁾, Konno¹⁶⁾보다는 이환률이 낮았다. 한국도 미국, 캐나다, 영국, 호주, 일본 등과 마찬가지로 일년 중 가장 추운 계절인 12월, 1월에 발생률이 가장 높을 것으로 추정되며 앞으로 일년 정도 계속 조사해 보면 정확한 계절적 분포를 알 수 있을 것이다.

Rotavirus성 위장염 환자의 나이는 3개월부터 6년 11개월까지로 다양했으나 총 16예 중 12예(75%)가 6개월부터 24개월미만의 소아로 다른 보고자들과 유사했다^{10), 12), 15), 32)}. 이상의 성적을 종합해 보면, 한국의 rotavirus성 위장염도 대부분의 다른 온대지방 국가들과 유사한 이환률, 계절적 분포, 나이 분포 등을 보여줄 것으로 사료된다.

끝으로 환자의 분변에서 rotavirus를 증명하는 검사 방법을 고려해 보면, 전자현미경법, 면역전자현미경법, immunofluorescence, complement fixation, immuno-electro-osmophoresis, RIA, ELISA 등 여러 가지 방법이 있으나 이 중 전자현미경법이 reference법으로 간주되며 일반 검사실에서는 ELISA(Rotazyme,[®] Enzygnost Rotavirus[®] 등 상품화된 Kit도 있음)법이 가장 타당한 검사법이라고 생각된다.

결 론

1982년 2월부터 4월까지 급성 위장염 환자 52명의 분변으로 전자현미경법과 ELISA법을 이용하여 rotavirus 이환 실태를 조사한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 급성 위장염 환자 52명 중 전자현미경법으로는 11명(21%), ELISA 법으로는 16명(31%)의 분변에서 rotavirus가 검출되었으며, 두 방법 간에 유의한 통계적 차이는 없었다($Z=1.2 < 2$).

2. 조사기간 중 2월에는 설사 환자 16명 중 6명(38%), 3월에는 33명 중 10명(30%), 4월에는 3명 중 0명에서 각각 rotavirus가 검출되었다.

3. Rotavirus성 위장염 환자 16명 중 6개월부터 24개월 미만의 소아가 12명으로 75%를 차지했다.

협조해 주신 국립보건의원의 배승복 병독부장님, 신영오 풍토병진단과장님, 그리고 한양대학병원 임상병리과 미생물부의 김태근씨에게 심심한 감사사를 드립니다.

REFERENCES

- 1) Maiya PP, Pereira SM, Mathan M, et al: Aetiology of acute gastroenteritis in infancy and early childhood in southern India. *Arch Dis Child* 52 : 482, 1977.
- 2) Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, et al: Virus particles in epithelial of cells duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet* 2 : 1281, 1973.
- 3) Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, et al: Evidence for viral gastroenteritis. *N Engl J Med* 289 : 1096, 1973.
- 4) Flewett TH, Bryden AS, Davies H: Virus particles in gastroenteritis. *Lancet* 2 : 1497, 1973.
- 5) Middleton PJ, Szymanski MT, Abbott GD, et

- al: *Orbivirus acute gastroenteritis of infancy*. *Lancet* 1: 1241, 1974.
- 6) Kapikian AZ, Kim HW, Wyatt RG, et al: *Reovirus-like agent in stools: association with infantile diarrhea and development of serologic tests*. *Science* 185: 1049, 1974.
 - 7) Flewett TH, Davies H, Bryden AS, et al: *II Acute gastroenteritis associated with reovirus-like particles*. *J Clin Pathol* 27: 608, 1974.
 - 8) Davidson GP, Bishop RF, Townley RR, et al: *Importance of a new virus in acute sporadic enteritis in children*. *Lancet* 1: 242, 1975.
 - 9) Gomez-Barreto J, Palmer EL, Nahmias AJ, et al: *Acute enteritis associated with reovirus-like agents*. *JAMA* 235: 1857, 1976.
 - 10) Kapikian AZ, Kim HW, Wyatt RG, et al: *Human reovirus-like agent as the major pathogen associated with "winter" gastroenteritis in hospitalized infants and young children*. *N Engl J Med* 294: 965, 1976.
 - 11) Albrey MB, Murphy AM: *Rotaviruses and acute gastroenteritis of infants and children*. *Med J Aust* 1: 82, 1976.
 - 12) Middleton PJ, Szymanski MT, Petric M: *Viruses associated with acute gastroenteritis in young children*. *Am J Dis Child* 131: 733, 1977.
 - 13) Echeverria P, Ho MT, Blacklow NR, et al: *Relative importance of viruses and bacteria in the etiology of pediatric diarrhea in Taiwan*. *J Infect Dis* 136: 383, 1977.
 - 14) Echeverria P, Blacklow NR, Vollet III JL, et al: *Reovirus-like agent and enterotoxigenic Escherichia coli infections in pediatric diarrhea in Philippines*. *J Infect Dis* 138: 326, 1978.
 - 15) Konno T, Suzuki H, Imai A, et al: *A long-term survey of rotavirus infection in Japanese children with acute gastroenteritis*. *J Infect Dis* 138: 569, 1978.
 - 16) Yolken RH, Kim HW, Clem T, et al: *Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of human reovirus-like agent of infantile gastroenteritis*. *Lancet* 2: 263, 1977.
 - 17) 高應麟: 計量醫學通論. 新光出版社. 1977. p. 179.
 - 18) Holmes IH: *Viral gastroenteritis*. *Prog Med Virol* 25: 1, 1979.
 - 19) Suzuki H, Amano Y, Kinebuchi H, et al: *Rotavirus infection in children with acute gastroenteritis in Ecuador*. *Am J Trop Med Hyg* 30(1): 293, 1981.
 - 20) Hieber JP, Shelton S, Nelson JD, et al: *Comparison of human rotavirus disease in tropical and temperate settings*. *Am J Dis Child* 1978.
 - 21) Esparza J, Gorziglia M, Gil F, et al: *Multiplication of human rotavirus in cultured cells: an electron microscopic study*. *J gen Virol* 47: 461, 1980.
 - 22) McNulty MS: *Morphology and chemical composition of rotaviruses*. *P'INSERM* 90: 111, 1979.
 - 23) Zissis GP, Lamert JP: *Different serotypes of human rotavirus*. *Lancet* 1: 38, 1978.
 - 24) Thouless ME, Bryden AS, Flewett TH: *Serotypes of human rotavirus*. *Lancet* 1: 39, 1978.
 - 25) Flewett TH, Thouless ME, Pilfold JN, et al: *More serotypes of human rotavirus*. *Lancet* 2: 632, 1978.
 - 26) Beards GM, Pilfold JN, Thouless ME, et al: *Rotavirus serotypes by serum neutralization*. *J Med Virol* 5: 231, 1980.
 - 27) Yolken RH, Wyatt RG, Zissis G, et al: *Epidemiology of human rotavirus types 1 and 2: as studies by enzyme-linked immunosorbent assay*. *N Engl J Med* 299: 1156, 1978.
 - 28) Bridger JC, Woode GN: *Characterization of two particle types of calf rotavirus*. *J gen Virol* 31: 245, 1976.
 - 29) Elias MM: *Separation and infectivity of two particle types of human rotavirus*. *J gen Virol* 37: 191, 1977.
 - 30) Wyatt RG, James WD, Bohl EH, et al: *Human rotavirus type 2: Cultivation in vitro*. *Science* 207: 189, 1980.
 - 31) Altenburg BC, Graham DY, Estes MK: *Ultrastructural study of rotavirus replication in cultured cells*. *J gen Virol* 46: 75, 1980.
 - 32) Flewett TH, Woode GN: *The rotavirus*. *Arch Virol* 57: 1, 1978.