

2005년 하절기에 충남지역 소아에서의 장바이러스 감염원인

순천향대학교 의과대학 소아과학교실*, 예방의학교실†, 기생충학교실‡, 충청남도보건환경연구원§

전세윤* · 최석주* · 김용배† · 남해선† · 박귀성§ · 백경아§ · 박준수*

Cause of enteroviral infection in children in chungnam area summer, 2005

Se Yun Jeon, M.D.*, Suk Joo Choi, M.D.*, Yong Bae Kim, M.D.†, Hae Seon Nam, M.D.†, Kwi Sung Park§, Kyung Ah Baek§ and Joon Soo Park, M.D.*

Department of Pediatrics College of Medicine*, Department of preventive medicine†
Department of clinical parasitology‡, Soonchunhyang University, Cheonan, Korea
Chungcheongnam-Do Health and Environment Research Institute§

Purpose : Enterovirus infection is a type of viral infection that occurs relatively frequently in children during summer. It has clinical symptoms of non-specific fever, aseptic encephal meningitis, gastrointestinal diseases, skin rash and, hand-foot-mouth disease. However, it can also occasionally, result in fatal symptoms like myocarditis, epicardial inflammation, transverse myelitis, quadriplegia and etc. There have been epidemic enterovirus studies, but not in the Chungnam area. Therefore, we undertook this study in order to comprehend the cause viruses in this area.

Methods : We enlisted 157 children hospitalized with enteroviral infections at Soonchunhyang University hospital in Cheonan between May and August 2005. Cerebrospinal fluids or feces were collected during the acute phase after hospitalization, and observed the cytopathic effects caused by enterovirus and using reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).

Results : The number of children hospitalized due to possible enteroviral infection during the period of study was 157. The number of children who tested positive with the reverse transcription polymerase chain reaction totalled 32 cases (20.4 percent). Among the children with enteroviral diseases, 20 were male and 12 were female, thus the sex ratio of male to female was 1.67:1. Their clinical symptoms included fever most frequently (93.7 percent), was followed by headaches (90.0 percent), meningeal irritation signs (65.0 percent), and abdominal pain (30.0 percent). As for the type of isolated enterovirus, there were 17 cases of echovirus 18 and 6 cases of coxsackievirus B5. Furthermore, there were 2 cases of echovirus 9, 1 case of coxsackievirus A6 and coxsackievirus B3, respectively. But 5 cases were not determined by genotype.

Conclusion : Echovirus 18 is circulating in Korea. We reported on identified enteroviruses, including echovirus 18, using RT-PCR in the Chungnam area during the summer of 2005. (**Korean J Pediatr 2006;49:1186-1193**)

Key Words : Enterovirus, Echoviruses, Children, Reverse transcription polymerase chain reaction

서 론

장바이러스(enterovirus)는 Picornaviridae 과(family)에 속하는 바이러스로 3가지 혈청형의 Poliovirus와 23가지 혈청형의

Coxsackievirus A 군, 6가지 혈청형의 Coxsackievirus B 군, 그리고 28가지 혈청형의 Echovirus 군 및 Human enterovirus 68형에서 73형까지 약 70여종이 알려져 있다¹⁻³⁾. 계놈은 약 7,400염기로 단일가닥 RNA이고 5 non-coding region(NCR), 한개의 open reading frame(ORF) 및 3 NCR로 구성되어 있다. ORF은 약 2,100개의 아미노산으로 구성되는 다단백질(polyprotein)의 생성에 필요한 정보를 가지고 있는 것으로 알려져 있고, P1-3 부분으로 나누어진다. 다단백질은 번역 후(post-translation) 과정을 통하여 P1부분은 capsid 단백질의 구성요소

접수 : 2006년 7월 4일, 승인 : 2006년 9월 13일
책임저자 : 박준수, 순천향대학교 천안병원 소아과
Correspondence : Jun su Park, M.D.
Tel : 041)570-2160 Fax : 041)572-4996
E-mail : allergist@korea.com

대상 및 방법

인 VP4, VP2, VP3, VP1을 순서대로 암호화하고 있으며, P2 부분은 2Apro 단백질 분해효소와 현재까지 정확한 기능이 확인되지 않은 비구조 단백질을 암호화하고 있다. 또 P3 부분은 VPg 단백질과 3Cpro 단백질 분해효소, 그리고 RNA Dependent RNA Polymerase(RDRP)가 암호화되어 있다. 이중 VP1은 중화반응에서 특이적인 항원 위치(antigenic neutralization site)에 기여하여 유전자형과의 관계에서 중요한 역할을 하고 있다⁴⁻⁷. 따라서 항원성이 높은 것으로 알려진 VP1 유전자 분석은 장바이러스의 유전자형을 결정하는데 중요하다고 생각된다.

장바이러스는 분변-구강 경로를 통하여 사람에게 전염되며, 소화기를 통해 감염된 뒤 인후두 부위나 소장 림프절에서 일차적으로 증식한 후 신체의 각 장기로 이동하게 된다^{7,8}. 소아에서 비폴리오성 장바이러스 감염은 50% 정도에서 불현성 감염으로 나타나며, 상기도 감염이나, 소화기 증상, 결막염, 중이염, 피부 발진, 무균성 수막염, 포진성 구혈염, 수족구병, 인두편도염, 고환염 등 다양한 임상증세를 보이며 임상경과는 대부분 양호하다. 드물게 심근염, 심외막염, 뇌염이나 길랭바레 증후군, 실조증, 말단 신경염, 횡단성 척수염, 사지마비, 일시적인 체장 기능부전, 당뇨병 등 치명적이거나 합병증을 남기는 경우도 있다^{3,7-13}.

장바이러스의 진단과 유전자형 결정은 세포배양과 중화 항체법을 이용하여왔으나 이러한 방법은 한달 이상의 시간이 소요되는 방법으로 임상적으로 전혀 도움이 되지 못하는 실정이었다. 최근 이러한 문제를 보완하기 위하여 장바이러스 유전자 중 5'NCR(5'non-coding region) 부분의 특이적인 염기서열을 이용한 역전사 중합효소연쇄반응(RT-PCR: reverse transcription-polymerase chain reaction)으로 빠른 시간 내에 장바이러스의 검출을 할 수 있게 되었다^{4,14-17}. 또한 혈청형에 따라 특이적인 항원부위를 포함하고 있는 것으로 알려진 VP1 유전자에 대한 염기서열의 분석을 통하여 유전자형을 좀 더 빠르게 결정할 수 있게 되었다^{4,17}.

국내에서 장바이러스의 분리와 혈청학적 동정 및 분자 유전학적 동정은 1991년에 시작되어 1993년 echovirus 9형에 의한 무균성 뇌수막염의 유행이 보고된 이후부터 1996년 coxsackievirus B1형과 echovirus 9형, 1997년 echovirus 30형, 2002년에는 다양한 장바이러스에 의한 무균성 뇌수막염의 대유행이 보고되었다¹⁸⁻²². 하지만 충남지역에서 장바이러스 감염에 대한 조사 및 연구 보고는 거의 이루어지지 않고 있다. 이에 저자들은 2005년 5월부터 8월까지 장바이러스 감염으로 의심되어 순천향대학교 천안병원에 입원한 소아를 대상으로 5'NCR 부분의 특이적인 염기서열을 이용한 역전사 중합효소연쇄반응을 통해 장바이러스를 감염여부를 확인하고 VP1 유전자에 대한 염기서열의 분석을 통하여 유전자형을 결정하여, 충남지역에서의 장바이러스의 감염에 대한 기초 자료를 제공함과 동시에 그 결과를 분석하고자 하였다.

1. 대상 및 검체 수집

2005년 5월부터 8월까지 순천향대학교 천안병원 소아과에 입원한 환자 중 임상적으로 무균성 수막염 및 장바이러스 감염이 의심되었던 환자 157명을 대상으로 입원 후 급성기에 뇌척수액 또는 분변을 채취하여 장바이러스 세포병변효과(cytopathic effect) 관찰 및 역전사 중합효소연쇄반응검사를 시행하였다.

뇌척수액 또는 분변 검체 172개를 검사하였으며 이중 뇌척수액 검체는 109개 분변 검체는 63개였으며 뇌척수액과 분변 검체를 모두 검사한 환자는 총 15명이었다. 환자로부터 얻은 검체 중 뇌척수액은 검체 그대로 사용하였고, 분변의 경우, 독성을 제거하기 위하여 PBS(phosphate buffered saline) 완충용액에 10% 농도로 혼합한 후 3,000 rpm으로 20분간 원심분리하여 침전물을 제거하고, 상층액을 chloroform으로 처리한 후 사용 전까지 -70에서 보관하였다.

2. 장바이러스 검증

장내바이러스에 감수성이 높은 RD(rhabdomyosarcoma) 세포주, BGM(buffalo green monkey kidney) 세포주, Vero 세포주를 ATCC(american type culture collection)에서 분양 받아 사용하기 전에 mycoplasma test 시행하였다. Mycoplasma test 검사를 시행한 세포주를 DMEM(dulbecco's modified eagle medium) 배지에 56에서 30분간 열로 불활성화 시킨 5% FBS(fetal bovine serum)와 penicillin/streptomycin을 첨가하여 37 이산화탄소 항온기에서 배양하였다. 전 처리한 검체를 배양된 세포주에 접종(0.2 ml/25 cm²)하여 세포병변 효과를 관찰하였다. 약 70-80% 정도의 세포병변 효과가 관찰될 때 세포를 -70°C에서 냉동시키고 다시 용해하는 과정(freezing/thawing)을 2-3회 반복한 후 현탁액을 동일 세포에 접종하여 역가를 높인 뒤 역상현미경에서 관찰하였다. 24시간 내에 급격한 세포병변 효과가 관찰될 경우 가검물에 의한 독성(toxin)이 남아있는 것으로 판정하고 -70에서 다시 한 번 냉동시키고 다시 용해하는 과정을 시행한 뒤 그 배양액을 RD 세포주, BGM 세포주, Vero 세포주에 재접종을 반복하여 장내바이러스 확인전의 모든 독성을 제거하였다.

3. 5' NCR primer의 역전사 중합효소연쇄반응을 이용한 장바이러스 검출

1) RNA 추출 및 cDNA 합성

세포병변 효과를 보인 세포배양 상층액에 Tri-reagent (molecular research center, cincinnati, Ohio, USA)를 이용하여 RNA를 추출하고, cDNA합성을 위한 RNA 주형으로 사용하였다. 추출한 RNA를 주형으로 10 mM dNTP(Bioneer, Daejeon, Korea) 4 μL, 5X RTase 완충용액(Invitrogen, Carlsbad, Cali-

Table 1. Specific Primer Sets of the 5'NCR and the VP1 region of Human Enterovirus for the Amplification

Primer	Sequence ^a	Position	Region
Ent-F	5'-AAG CAC TTC TGT TTC CCC GG-3'	161 - 181	5'NCR
Ent-R	5'-ATT GTC ACC ATA AGC AGC CA-3'	569 - 577	5'NCR
008	5'-GRC TGC AAT GAY TTC TCW GT-3'	2411 - 2430	VP1
011	5'-GCI CCI GAY TGI TGI CCR AA-3'	3408 - 3389	VP1

^aIUB ambiguity codes: I , deoxyinosine

fornia, USA) 4 μ L, MMLV RNA Reverse Transcriptase (Invitrogen, Carlsbad, California, USA) 200U, oligo-dT 1 μ L(Perkin Elmer, Wellesley, Massachusetts, USA), RNA 시료 5 μ L에 증류수 20 μ L로 적정한 후 20에서 10분, 37 $^{\circ}$ C에서 90분, 95 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시켜 cDNA 합성하였다.

2) 5'NCR 부분의 PCR 증폭

합성된 cDNA를 사용하여 10 mM의 dNTP(Bioneer, Daejeon, Korea) 6 μ L, 10X Taq polymerase buffer(Bioneer, Daejeon, Korea) 5 μ L, 10 pmol의 sense primer와 antisense primer(Table 1)를 각각 1 μ L씩 첨가하고, Taq polymerase(Bioneer, Daejeon, Korea) 250 U을 1.5 μ L, cDNA 10 μ L를 첨가하고 증류수 50 μ L로 적정한 후 94 $^{\circ}$ C에서 3분 간 pre-denature시키고, 94에서 30초 간 denature하고, 52 $^{\circ}$ C에서 30초 간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 45초 간 extension시키는 과정을 thermal cycler를 이용하여 35회 반복하고 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 7분 간 extension하여 증폭하였다. PCR 증폭에 의해 생성된 DNA 산물은 1% agarose gel에 전기영동 후 etidium bromide(EtBr)로 염색하였고, 436bp 밴드를 보이는 것을 장바이러스 양성으로 판단하였다.

4. VP1 유전자를 이용한 장바이러스 유전자형 결정

1) VP1의 유전자 증폭

합성된 cDNA를 사용하여 10mM의 dNTP(Bioneer, Daejeon, Korea) 6 μ L, 10X Taq polymerase buffer(Bioneer, Daejeon, Korea) 5 μ L, 10 pmol의 sense primer와 antisense primer를 각각 1 μ L씩 첨가하고(Table 1), Taq polymerase(Bioneer, Daejeon, Korea) 250 U을 1.5 μ L, cDNA 10 μ L를 첨가하여 증폭한 후 DNA 산물은 1% agarose gel에 전기영동 후 EtBr로 염색하여 특정 밴드를 관찰하였다.

2) DNA 정제 및 VP1 유전자의 염기서열 결정

EtBr로 확인된 DNA 산물은 QIAquick Gel Extraction kit(Qiagen, Hilden, Germany)을 사용하여 정제하였다. 정제된 DNA를 주형으로 하여 1pmol의 sense primer와 antisense primer를 각각 염기서열 결정에 이용하였다. ABI PRISM Dye terminator(Perkin-Elmer Applied Biosystem, Wellesley, Massachusetts, USA)를 사용하여 96 $^{\circ}$ C에서 10초, 50 $^{\circ}$ C에서 5초, 60 $^{\circ}$ C에서 4분간 25회 반복하여 염기서열 결정반응을 하였다. 반응 후 반응산물을 3M sodium acetate(pH 5.8)와 ethanol로

Table 2. Age and Sex Distribution of Enterovirus Positive Patients(n=157)

Age (year)	Male		Female		Total		Positive rates(%)
	No.	Positive	No.	Positive	No.	Positive	
<1	33	5	14	3	39	8	20.5
1-2	13	2	8	0	19	2	10.5
3-5	11	3	14	3	18	6	33.4
6-10	38	10	19	5	42	15	35.7
>11	4	0	3	1	6	1	16.6
Total	99	20	58	12	157	32	20.4

Table 3. Clinical Manifestation of Enterovirus Positive Patients(n=32)

Symptom	No. of patient	%
General weakness	11	34.0
Fever	30	93.7
Headache [#]	18	90.0
Vomiting	20	62.5
Diarrhea	7	21.8
Irritability [*]	4	40.0
Poor oral intake	16	50.0
Abdominal pain [#]	6	30.0
Meningeal Irritation sign [#]	13	65.0

* : 3 years old, [†] : > 3 years old

침전시킨 후 ABI 3100 Genetic Analyser(Applied Biosystem Inc., Foster City, California, USA)을 이용하여 염기서열을 결정하였다.

4) 장바이러스의 유전자형 결정

결정된 염기서열은 DNASTAR(Madison, Wi, USA) 프로그램을 이용하여 교정과정을 수행하였고, 교정된 염기서열 자료는 National Center for Biotechnology Information에서 제공하는 Blast를 이용하여 가장 가까운 원형주를 분석함으로써 유전자형을 결정하였다.

Table 4. Percentage Homology of Nucleotide Sequence of VP1 Region among Echovirus 18 Isolates

	Prototypes						SCH strains							
	AF081331	AY208092	LSDD	ASH	CDH	CYG	KCW	KHD	KYK	MHY	OBH	PIS	PJH	PJW
AF081331	***	78.1	79.4	79.3	79.3	79.3	78.9	79.4	79.4	79.4	79.9	79.5	79.5	79.3
AY208092		***	90.5	90.6	90.4	89.9	90.2	90.6	90.5	90.3	90.4	90.4	89.8	90.2
LSDD			***	99.4	99.4	98.9	98.6	99.9	100	99.8	99.4	99.9	98.7	98.9
ASH				***	99.5	99.3	98.9	99.3	99.4	99.2	98.8	99.3	99.1	99.1
CDH					***	99.1	98.7	99.3	99.4	99.2	99.1	99.3	98.8	99.1
CYG						***	98.5	98.8	98.9	98.9	98.3	98.8	98.6	98.6
KCW							***	98.5	98.6	98.3	98.0	98.5	98.7	98.2
KHD								***	99.9	99.6	99.3	99.8	98.6	98.8
KYK									***	99.8	99.4	99.9	98.7	98.9
MHY										***	99.2	99.6	98.5	98.7
OBH											***	99.3	98.1	98.3
PIS												***	98.6	98.8
PJH													***	98.3
PJW														***

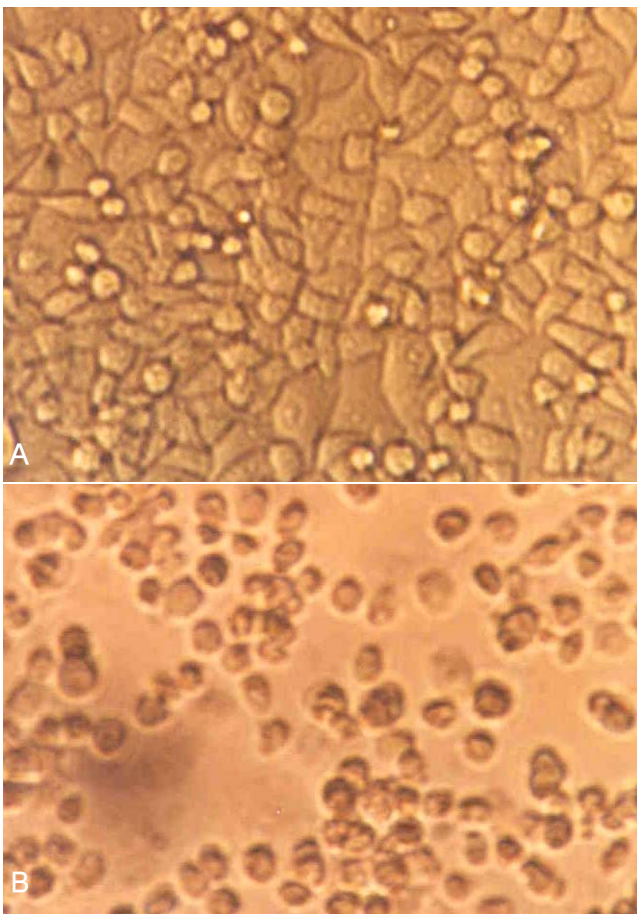


Fig. 1. Typical cytopathic effect on the Vero cells infected by the propagation of the enterovirus. (A) Normal Vero cells, (B) Enteroviruses infected Vero cells.

결 과

1. 장바이러스 감염이 의심되는 환자의 검체에서 장바이러스 검출

바이러스 감염이 의심되는 환자 157명의 분변 또는 뇌척수액 172건을 RD 세포주, BGM 세포주, Vero 세포주에 직접 접종하였으며, 장바이러스에 의한 세포의 원형화, 세포질의 수축, 세포의 파괴 등의 세포병변효과를 역상현미경 상에서 관찰할 수 있었다(Fig. 1).

2. 장바이러스 검출을 위한 5’NCR primer를 이용한 역전사중합효소연쇄반응

장바이러스를 확인하기 위하여 장바이러스 genome 중 염기 서열이 가장 잘 보존된 부분으로 알려진 5’NCR에 대한 특이적인 primer를 사용하여 역전사중합효소연쇄반응을 수행하였고, 전기영동을 수행하여 436bp 크기의 밴드를 확인하였다(Fig. 2).

3. 성별 및 연령별 분포

장바이러스 감염이 의심되었던 157명의 환자 중 바이러스 양성을 보였던 환아는 32명으로 20.4%의 양성률을 보였다. 이들 환아의 연령분포는 생후 1주일부터 14세에 이르기까지 다양한 분포를 보였으나 6-10세 사이의 환아의 수가 15명으로 전체 46.8%를 차지해 가장 많았고 남자가 20명, 여자가 12명으로 남녀비는 1.67:1 이었다(Table 2). 5월부터 8월까지 월별 양성률은 5월의 양성률이 40%로 가장 높았으며 8월의 양성률이 3.8%로 가장 낮았다(Fig. 3).

4. 임상 증상 및 이학적 소견

임상 증상은 환자의 93.7%에서 발열증상을 보였으며 50.0%

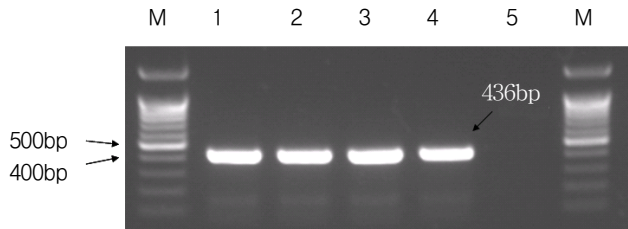


Fig. 2. Agarose gel electrophoresis of the 5'NCR PCR products in enterovirus from patients. (M: 100base DNA marker, 1-3: enterovirus infected patients samples, 4: Positive control, 5: Negative control)

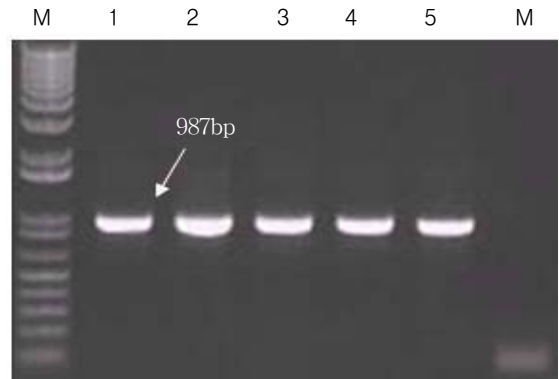


Fig. 4. Agarose gel electrophoresis of purified PCR products of VP1 gene of enterovirus isolates. (M 1kb Marker, 1-4: enterovirus positive samples, 5: Positive control, 6: Negative control).

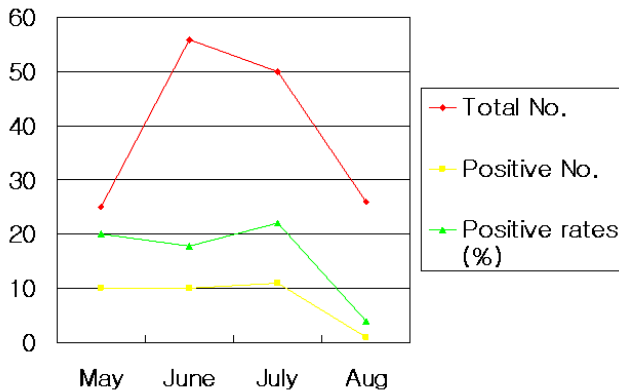


Fig. 3. Monthly numbers of enterovirus positive samples among the patients from May to August in 2005

의 환아에서 섭식장애를 보였다. 문진이 가능하였던 3세 이상의 환아에서 두통, 뇌막자극증상 및 복통 이 각각 90.0%, 65.0%, 30.0%에서 호소하였다. 그 외 구토, 전신쇠약, 설사 등의 순으로 증상을 나타내었다(Table 3).

5. 장바이러스 유전자형

5'NCR primer를 이용한 역전사중합효소연쇄반응 양성으로 판정된 장바이러스의 VP1 유전자 부분의 증폭을 실시한 후 DNA를 정제하였다(Fig. 4). 정제된 DNA는 자동염기서열분석기(automatic sequencer)에 의해서 염기서열이 결정되었는데, 이것을 통하여 각각의 유전자형이 결정되었다. 2005년 5-8월까지 분원에 뇌수막염 및 장바이러스 감염으로 입원한 환아들에서 분리된 장바이러스는 Echovirus 18형 17례, Coxsackievirus B5형 6례 였으며, 그 외 Echovirus 9형 2례, Coxsackievirus A6형 1례, Coxsackievirus B3형 1례 분리되었으며 유전자형이 결정되지 않은 Enterovirus가 5례였다.

6. Echovirus 18형의 VP1 염기서열 분석

이번 연구에서 분리된 Echovirus 18형은 1993년 장바이러스에 대한 역학조사를 실시한 이후로 처음으로 분리된 것이다. 그래서 결정된 Echovirus 18형의 VP1 염기서열에 대한 분석을

외국에서 분리된 Echovirus 18형의 원형주를 포함 시켜 실시하였다(Fig. 5). 충남지역에서 분리된 분리주들 사이에서는 98.2-100%의 상동성을 보이고 있었으며, AF081331 strain과는 약 79%, 그리고 AY208092 strain과는 약 90%의 상동성을 보이고 있었다(Table 4). 또한 Echovirus 18형에 대한 계통분석을 실시하였다. 분석 결과 충남 분리주 사이에서 크게 두개의 클러스터를 형성하였다. 그리고 OBH strain이 상대적으로 멀게 위치하는 것을 확인 할 수 있었다. 외국의 원형주와의 비교에서는 AF081331 strain 보다는 AY208092 strain과 가깝게 클러스터를 형성 하는 것을 볼 수 있었다(Fig. 6).

고 찰

본 연구는 2005년 5월부터 8월까지 충남 지역에서 무균성 수막염 및 장바이러스 감염으로 의심되는 환아 157명의 분변이나 뇌척수액 172건에 대하여 역전사중합효소연쇄반응을 이용하여 장바이러스 분리를 실시하였으며 총 32명의 환아의 검체에서 분리되었으며 20.4%의 검출율을 보였다.

장바이러스 감염은 전 세계적으로 발생하며, 온대 지역의 경우 더운 계절, 특히 여름 및 가을에 주로 감염을 일으킨다^{7, 8, 23}. 국내에서 보고 된 무균성 뇌수막염의 발생 분포를 보면 대부분이 3월에 환자가 발생하여 7, 8월에 가장 높은 빈도를 보이다가 이후 점차 감소하는 양상을 보였다¹⁸⁻²². 이번 연구에서는 조사기간이 짧아 월별 발생빈도를 정확히 알 수는 없었지만 5-7월까지 장바이러스 양성률이 높다가 8월 이후 감소하는 것을 볼 수 있었다.

장바이러스는 분변-구강 경로를 통하여 사람에게 전염되며 가족 내 전파도 쉽게 일어난다. 분변에 오염된 물로 조리된 식품, 수영장, 해수욕장, 샤워장을 통하여 전파되므로 물놀이가 많은 하절기에 유행률이 높을 것으로 생각된다.

환아들의 남녀의 비는 대부분의 조사에서 남자에서 많이 발병

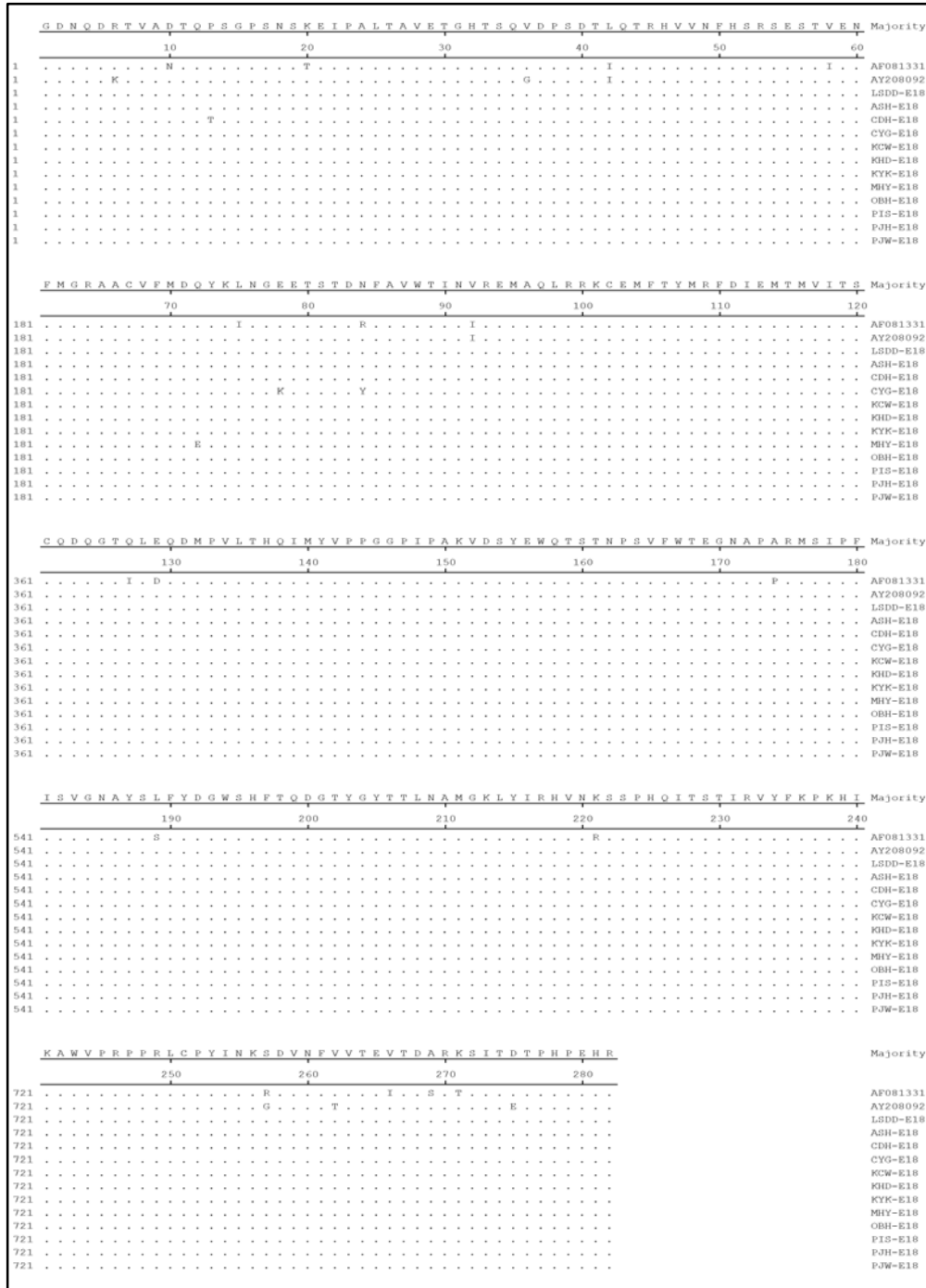


Fig. 5. Comparison of nucleotide sequences of the VP1 region of chovirus 18 isolates.

하는 것으로 나타나¹⁸⁻²²⁾ 본 조사에서의 남녀비 1.67:1과 비슷한 결과를 보이고 있으나 일반적으로는 성별과는 무관하며 남아에서 심한 증세를 보이는 것으로 알려져 있어^{7, 8, 23)}, 남아에서 더 많이 발생한다기 보다는 더 심한 임상증상으로 인하여 남아의 입원률이 더 높은 것으로 생각된다.

환자들의 연령별 분포를 보면 1996년의 유행시에는 5세 이하

에서 대부분 환자가 발생하였으나¹⁹⁾ 1997년 유행에서는 4-9세 사이에서 환자의 발생이 가장 많았으며²⁰⁾ 본 연구에서도 5-10세 사이에 장바이러스 감염이 의심되는 환아가 가장 많았으며 높은 양성율을 보였다.

국내에서 장바이러스의 분리와 혈청학적 동정 및 분자 유전학적 동정은 1991년에 시작되어 1993년 echovirus 9형에 의한 무

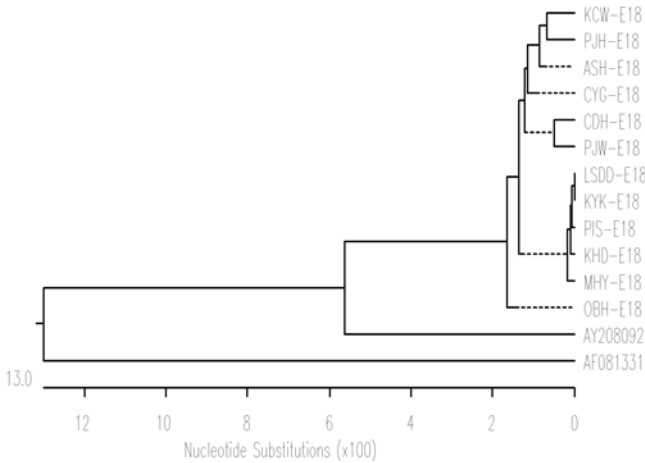


Fig. 6. Phylogenetic analysis of SCH strains and Prototypes of EV18. Phylogram based on partial VP1 sequences. Nucleotide sequences encoding the VP1 were analyzed by the neighbor-joining method.

균성 뇌수막염의 유행이 보고된 이후부터 1996년 coxsackievirus B1형과 echovirus 9형, 1997년 echovirus 30형, 2000년 enterovirus 71형, 2001년 coxsackievirus B5형, 2002년에는 echovirus 6형과 9형, coxsackievirus B3형 및 기타 여러 장바이러스 혈청형이 분리되었다¹⁸⁻²²⁾. 2002년도에는 echovirus 13형이 국내에서 최초로 검출되어 대유행 하였다²⁴⁾. 본 연구에서 검출된 echovirus 18형 역시 국내에서 장바이러스의 분리와 혈청학적 분리를 시작한 이래로 한번도 분리된 적이 없었던 것으로 외국에서 유입되었거나, 우리나라에 잠재적으로 존재하였던 것이 어떠한 이유로 대유행 했을 것으로 추정된다.

2005년도에 하절기에 충청남도에서 유행한 echovirus 18형은 유전자형 내부적으로 98.2%~100%의 상동성을 나타내었으나, 외국에서 분리된 echovirus 18형의 원형주와 10%~21%의 다양성을 보였는데 이는 장바이러스의 유전학적 특징을 이해하면 설명될 수 있다. 장바이러스의 게놈은 한 가닥의 RNA로써, RNA의 복제를 담당하는 RNA 의존성 RNA 중합효소가 교정기능을 가지고 있지 않기 때문에 돌연변이율이 매우 높다고 밝혀져 있다³³⁾.

Echovirus 18형은 1958년 Ramos-Alvarez와 Sabin에 의해 설사증상이 있었던 아이들에게서 처음 분리되었다²⁵⁾. Echovirus 18형은 주로 신경계에 침범하여 뇌수막염을 일으키는 것으로 알려져 있으며⁷⁾, 1972년 미국 North Carolina주에서, 1998년 일본 기후현에서의 echovirus 18형에 의한 뇌수막염 유행이 보고되었다^{26, 27)}. 그 외 신생아 패혈증, 횡단성 척추염, 피부 발진을 유발하는 것으로 알려져 있다²⁸⁻³⁰⁾.

이 외에도 enterovirus 71형에 의한 무균성 뇌막염 및 수족구병과 동반된 운동마비¹²⁾, echovirus 11형과 관련된 자궁 내 태아 사망³¹⁾, 장바이러스와 관련된 1형 당뇨병³²⁾ 등이 보고되고 있으며, 다른 바이러스형과는 달리 71형의 경우 더 심한 신경학적

증상을 보이는 것으로 알려져 있다. 따라서 역전사중합효소연쇄 반응을 이용한 장바이러스 감염 검증 및 VP1 유전자를 이용한 장바이러스 유전자형의 유행 조사는 장바이러스 감염과 동반된 질환 및 합병증을 예측하는데 도움이 될 것이다.

우리나라에서 1993년, 1996년, 2002년에 장바이러스에 의한 폭발적인 감염을 경험하였지만 전국적인 조사가 이루어지지 못하였고, 앞으로 사회와 교통수단의 발달 및 해외여행의 증가 등으로 인하여 새로운 타입의 장바이러스의 유행이 예상되고 있다. 그리고 현재 충남 지역에서의 장바이러스 감염에 대한 조사는 거의 없는 상태였다. 이번 연구에서 수행한 장바이러스의 역학적 분석과 유전학적 분석은 외래에서 유입되는 장바이러스에 대한 대처로써 가장 기본적으로 이루어져야 한다고 생각된다. 본 연구는 향후 계속적으로 있을 것으로 생각되는 장바이러스에 대한 적절한 관리에 대한 기초 자료로써 중요하게 사용될 것이다.

요 약

목적 : 장바이러스 감염은 하절기에 소아에서 비교적 흔하게 일어나는 바이러스 감염이다. 임상증상으로 비특이적인 열, 무균성 뇌수막염, 위장관 질환, 피부 발진, 수족구병 등을 일으키며 드물게 심근염, 심외막염, 횡단성 척추염, 사지마비 등 치명적으로도 나타날 수 있다. 장바이러스 유행에 대한 보고는 있었으나, 충남지역에서 장바이러스 감염에 대한 조사 및 연구 보고는 이루어지지 않고 있었다. 이에 저자들은 2005년 5월부터 8월까지 장바이러스 감염으로 의심되어 순천향대학교 천안병원에 입원한 소아를 대상으로 역전사 중합효소연쇄반응을 이용하여 원인 바이러스를 파악하고자 본 연구를 시행하였다.

방법 : 같은 기간 순천향대학교 천안병원 소아과에 입원한 환자 중 임상적으로 장바이러스 감염이 의심되었던 환자 157명을 대상으로 입원 후 급성기에 뇌척수액 또는 분변을 채취하여 장바이러스 세포병변효과 관찰 및 역전사 중합효소연쇄반응검사를 시행하였다.

결과 : 연구 기간동안 장바이러스 감염이 의심되어 입원하였던 환자는 157명이었고 역전사 중합효소연쇄반응 검사에서 양성을 보인 환자는 32명(20.4%)이었다. 양성 환자 중 남자가 20명, 여자가 12명으로 남녀비는 1.67:1 이었다. 이들의 임상증상은 발열이 93.7%로 가장 많았으며 두통(90.0%), 뇌막자극증상(65.0%), 복통(30.0%) 순이었다. 분리된 장바이러스는 Echovirus 18형 17례, Coxsackievirus B5형 6례 였으며, 그 외 Echovirus 9형 2례, Coxsackievirus A6형 1례, Coxsackievirus B3형 1례 분리되었으며 유전자형이 결정되지 않은 Enterovirus가 5례였다.

결론 : 이번 연구로 Echovirus 18형을 국내 최초로 분리하였으며, 2005년 하절기에 충남지역에서 Echovirus 18형을 포함한 여러 장바이러스 감염 원인을 알 수 있었다. 향후 장바이러스 감염 환자의 진단 및 치료를 위한 지속적인 역학적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

References

- 1) Abebe A., Johansson B., Abens J., Strannegard O. Detection of enteroviruses in faeces by polymerase chain reaction. *Scand J Infect Dis* 1992;24:265-73.
- 2) Schlesinger Y, Sawyer MH, Storch GA. Enteroviral meningitis in infancy: potential role for polymerase chain reaction in patient management. *Pediatrics* 1994;94:157-62.
- 3) Rotbart HA, Sawyer MH, Fast S, Lewinski C, Murphy N, Keyser EF, et al. Diagnosis of enteroviral meningitis by using PCR with a colorimetric microwell detection assay. *J Clin Microbiol* 1994;32:2590-2.
- 4) Oberste MS, Nix WA, Maher K, Pallansch MA. Improved molecular identification of enteroviruses by RT-PCR and amplicon sequencing. *J Clin Virol* 2003;26:375-7.
- 5) Ehrenfeld E, Semler BL. Anatomy of the poliovirus internal ribosome entry site. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1995;203:65-83
- 6) Simoes EA, Sarnow P. An RNA hairpin at the extreme 5' end of the poliovirus RNA genome modulates viral translation in human cells. *J Virol*. 1991;65:913-21.
- 7) Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ, Kaplan SL. Enteroviruses and Parechoviruses In : Cherry JD, editor. Textbook of pediatric infectious disease. 5th ed. Philadelphia : Saunders 2004;1984-2041.
- 8) Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. Nonpolio enteroviruses In : Abzug MJ. Nelson textbook of pediatrics. 17th ed. Philadelphia : Saunders 2004;1042-8
- 9) Chumakov M, Voroshilova M, Shindarov L, Lavrova I, Gracheva L, Koroleva G, et al. Enterovirus 71 isolated from cases of epidemic poliomyelitis-like disease in Bulgaria. *Arch Virol* 1979;60:329-40.
- 10) Ishimaru Y, Nakano S, Yamaoka K, Takami S. Outbreaks of hand, foot, and mouth disease by enterovirus 71. High incidence of complication disorders of central nervous system. *Arch Dis Child* 1980;55:583-8.
- 11) Van Biervliet S, De Waele K, Van Winckel M, Robberecht E. Transient exocrine pancreatic insufficiency as a possible complication of an enterovirus infection. *Eur J Pediatr* 2003; 162:872-4.
- 12) Wee JS, Lee Sk, Seon KJ. Paralytic disease related to enterovirus 71 infection. *J Korean Acad Rehab Med* 1999; 23:1046-51
- 13) Roivainen M. Enteroviruses: new findings on the role of enteroviruses in type 1 diabetes. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38:721-5
- 14) Rotbart HA. Diagnosis of enteroviral meningitis with the polymerase chain reaction. *J Pediatr* 1990;117:85-9
- 15) Schlesinger Y, Sawyer MH, Storch GA. Enteroviral meningitis in infancy: potential role for polymerase chain reaction in patient management. *Pediatrics* 1994;94:157-62.
- 16) Guney C, Ozkaya E, Yapar M, Gumus I, Kubar A, Doganci L. Laboratory diagnosis of enteroviral infections of the central nervous system by using a nested RT-polymerase chain reaction (PCR) assay. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003;47: 557-62.
- 17) Thoelen I, Moes E, Lemey P, Mostmans S, Wollants E, Lindberg AM, et al. Analysis of the serotype and genotype correlation of VP1 and the 5' noncoding region in an epidemiological survey of the human enterovirus B species. *J Clin Microbiol*. 2004;42:963-71.
- 18) Cho JY, Kim HJ, Jung GY, Pang JK, Lee DB. Epidemic aseptic meningitis in 1993. *J Korean Pediatr Soc* 1995;38: 901-6.
- 19) Chung JA, Kim YJ, Choi HJ, Chung WK. An epidemic of aseptic meningitis in summer 1996 and global analysis and comparison of it with 1993. *J Korean Pediatr Soc* 1997;40: 1081-90
- 20) Park SY, Kwon OS, Kim WY, Jung WJ, Ma SH, Kim SK, et al. Epidemics of aseptic meningitis in kyoongsangnamdo from march to October, 1997. *Korean J Pediatr Infect Dis* 1998;5:104-14
- 21) Park JS, Kim MR, Kim DH, Park CY, Lee KH, Lee HR, et al. Epidemiologic and clinical features of enteroviral infections in children; 1996-1998. *Korean J Pediatr Infect Dis* 1999;6:210-8.
- 22) Cho KS, Jung MJ. Outbreak pattern of isolated enterovirus causing aseptic meningitis in busan, 2002 years. *Korea J Microbiol Biotechnol* 2004;32:179-83.
- 23) Sawyer MH. Enterovirus infections: diagnosis and treatment. *Semin Pediatr Infect Dis* 2002;13:40-7.
- 24) Cheon DS, Lee J, Lee K, Lee S, Park K, Ahn J, et al. Isolation and molecular identification of echovirus 13 isolated from patients of aseptic meningitis in Korea, 2002. *J Med Virol* 2004;73:439-42
- 25) Andersson P, Edman K, Lindberg AM. Molecular analysis of the echovirus 18 prototype: evidence of interserotypic recombination with echovirus 9. *Virus Res* 2002;85:71-83.
- 26) Wilfert CM, Lauer BA, Cohen M, Costenbader ML, Myers E. An epidemic of echovirus 18 meningitis. *J Infect Dis* 1975;131:75-8.
- 27) Miwa C, Watanabe Y. Epidemic of aseptic meningitis with echovirus type 18 in Gifu Prefecture in 1988. *Kansenshogaku Zasshi* 1990;64:815-21
- 28) Takahashi S, Miyamoto A, Oki J, Azuma H, Okuno A. Acute transverse myelitis caused by echovirus type 18 infection. *Eur J Pediatr* 1995;54:378-80.
- 29) Miyamura K, Yamashita K, Yamadera S, Kato N, Akatsuka M, Yamazaki S. An epidemic of echovirus 18 in 1988 in Japan high association with clinical manifestation of exanthem. A report of the National Epidemiological Surveillance of Infectious Agents in Japan. *Jpn J Med Sci Biol* 1990;43:51-8.
- 30) Shah SS, Gallagher PG. Neonatal sepsis due to echovirus 18 infection. *J Perinat Med* 1997;25:381-4.
- 31) Johansson ME, Holmstrom S, Abebe A, Jacobsson B, Ekman G, Samuelson A, et al. Intrauterine fetal death due to echovirus 11. *Scand J Infect Dis* 1992;24:381-5.
- 32) Roivainen M. Enteroviruses: new findings on the role of enteroviruses in type 1 diabetes. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38:721-5.
- 33) Drake JW. Rates of spontaneous mutation among RNA viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:4171-5.