

식중독 유발 바이러스의 문제점 및 검출법

Foodborne Virus Diseases and Detection Methods

김두운¹, 김석렬¹, 문제학², 김선재³, 오명주^{1,3*}

Duwoon Kim¹, Seok-Ryel Kim¹, Jae-Hak Moon², Seon-Jae Kim³, Myung-Joo Oh^{1,3*}

¹전남대학교 친환경해양바이오특성화사업단, ²전남대학교 식품공학과 및 기능성식품연구소,

³전남대학교 식품·수산생명의학부

¹Eco Marine Bio Research Center, Chonnam National University

²Department of Food Science & Technology and Functional Food Research Center, Chonnam National University

³Division of Food Science and Aqualife Medicine, Chonnam National University

I. 서론

2007년도 국내 식중독 발생 통계에 의하면 총 510건 중 노로바이러스(norovirus)에 의한 발생이 97건(19%)으로 집계되어 노로바이러스가 우리나라에서 흔히 발생하는 장염을 일으키는 바이러스성 식중독 원인 병원체로 인식되었고, 이외에도 아스트로바이러스(astrovirus)나 로타바이러스(rotavirus), 간염 A 바이러스(hepatitis A virus)에 의한 집단 설사 사례가 보고되었다. 비세균성 유래 식중독 사례를 보면, 미국의 경우 1993년부터 1997년 사이에 발생한 2,571건의 식중독 사건 중 세균성은 655건으로 전체의 약 23.8%에 불과하고 전체의 68.1%는 미확인으로 보고되고 있으나 섭취부터 발병까지의 시간, 수일간 계속되는 구토 또는 설사, 높은 감염률, 높은 이차 감염률 등의 증세를 고려하면 전체의 32 ~ 42% 정도(미확인의 약 50 ~ 60%)가 바이러스성 식중독으로 추정되고 있다. 따라서 우리나라의 경우도 미확인 비세균성의 경우 적어도 50 ~ 60%는 바이러스성일 것으로 추정되고 이를 고려하면 바이러스성 식중독의 전체 발생률은 미국과 비슷한 34 ~ 40%에 이를 것으로 보인다(1,2).

집단식중독 발생은 증가추세에 있고 바이러스에 의한

식중독 환자의 숫자도 계속 증가하고 있는데 이는 실제로 환자가 증가했을 수도 있지만 검출기술의 발달에 의해 과거에는 밝혀지지 않고 미확인으로 분류되던 것이 확인되고 있기 때문인 것으로 보인다. 이 글에서는 식품 위생 및 사람의 건강에 직접적인 영향을 주는 중요한 요소로 작용하고 있는 식중독 유발 바이러스(노로, 로타, 간염 A 바이러스)의 국내외 현황과 바이러스의 특징을 알아보고 아울러 이들을 검출하기 위해 개발되어지고 있는 검출법에 관하여 살펴보고자 한다.

II. 국내 식중독 발생 현황

식중독 예방을 위한 적절한 조기 검출방법의 미확립으로 인한 위생관리제도의 부재는 엄청난 사회적 과장과 더불어 경제적 손실을 초래하였다. 국내에서 식중독으로 인한 경제적 손실은 한 해 1조3000억 원이 넘는다고 한다. 바이러스성 식중독이 전체 식중독의 34 ~ 40%를 차지한다고 계산하더라도 바이러스 식중독에 의한 손실액만 4000억 원에 이른다.

식중독 유발 바이러스 중 노로바이러스는 로타바이러스와 함께 바이러스성 구토 설사병의 주요 인자이다. 위생

*Corresponding author: Myung-Joo Oh, Division of Food Science and Aqualife Medicine, Chonnam National University
Tel: +061-659-3173
e-mail: ohmj@chonnam.ac.kr

과 의료시스템의 미비로 전염되는 후진국형 질병이 아니라 선진국에서도 아주 빈번히 발병해 확산되는 전염병 인자이다. 우리나라의 집단식중독 발생 추이를 보면 2001년 93건에 6,406명(건당 68.9명)이던 것이 2002년 78건에 2,980명(건당 38.2명)으로 줄었으나 이후 2003년 135건에 7,909명(건당 58.6명), 2004년 10월 말 147건에 9,566명(건당 65.1명)으로 증가추세에 있다. 이 중 바이러스가 차지하는 비율은 2003년의 경우 노로바이러스가 135건 중 14건에 1,442명이요, 아스트로바이러스(astrovirus)에 의한 것이 2건에 164명으로 바이러스가 원인물질로 밝혀진 것이 총 16건에 1,606명, 전체 7,909명 중 20.3%이다. 그러나 원인물질이 밝혀지지 않은 것도 47건에 2,180명으로 전체의 27.6%를 차지한다.

로타바이러스는 소아에서 설사를 일으키는 장내 감염성 질환으로 생후 약 3 ~ 24개월 사이의 소아 및 어린이들이 감염될 경우 심한 설사와 구토를 일으키는 주요 원인 바이러스로 알려져 있다. 이 바이러스는 치료하지 않으면 하루 만에 10 ~ 20회의 설사를 일으키며, 심할 경우 탈수로 인해 급속하게 사망에 이를 수 있다고 한다. 로타바이러스 발생국은 주로 인도와 사하라사막이남, 아프리카 및 남미 등으로, 대소변이나 경구의 경로를 통해 감염되며 전염성이 높다.

국내 건강인들의 A형 간염바이러스에 최근에는 소아기보다 청장년층의 A형 간염 사례가 증가하고 있는 추세이다. 최근의 연구 결과를 보면 A형 간염 발생은 연령 증가에 따라 꾸준히 증가하여 20 ~ 24세 군에서 가장 높고 이후에는 감소하는 경향을 보인다. 1996년부터 환자 발생 추이를 보면 1997년 봄부터 환자발생이 증가해오다 1997년 12월부터 급증하였다. 1996 - 1998년 사이에 전국(제주도 제외) 85개의 500병상 이상 병원에서 급성간염으로 치료받은 환자 중 anti-HAV 양성인 환자가 10만 명당 남자 3.29, 여자 2.97이었고, 50병상 이상의 병원을 기준으로 할 때는 10만 명당 남자 5.26, 여자 4.24명으로 더 높은 양성률을 보였다. 급성 간염을 앓은 후 대개는 아무 후유증 없이 회복되나 일부 전격성 간염으로 진행되어 0.1 - 0.2% 정도에서는 사망을 초래할 수 있다. A형 간염바이러스는 감염된 환자의 대변으로 배출되어 입을 통해 감염을 일으킨다. 비위생적인 음식물 취급 또는 하수처리로 인해 바이러스 전파가 가능하므로 사회경제적 상태가 낙후되고 위생상태가 나쁜 지역일수록 많이 발생한다.

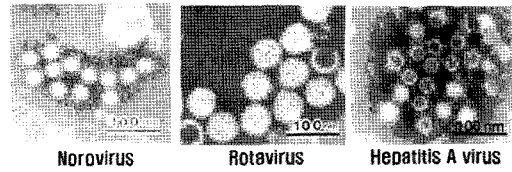


그림 1. 식중독 관련 바이러스

III. 노로바이러스의 특징

노로바이러스는 caliciviridae에 속하는 약 7.6 kb의 single stranded RNA 바이러스로써 3개의 ORF를 가지고 있다. 노로바이러스는 유전학적 또는 면역학적으로 매우 다양한 바이러스로 알려져 있다. 노로바이러스는 크게 5가지의 genogroup (GI-GV)으로 분류되며, 이중 3가지의 GI, GII 및 GIV genogroup이 인체에서 급성장염을 일으키는 인체의 병원성 바이러스로 알려져 있으나, GIV에 대한 정보는 매우 미약한 실정이다(3). 노로바이러스의 GI과 GII는 감염 및 분자생물학적, 역학적, 및 계통학적으로도 매우 상이하며, 현재까지 노로바이러스(GI 및 GII)의 capsid 유전자의 염기서열에 따라 31가지 이상의 유전자타입(genotype)으로 분류되고 있어(4), 다양한 변이 양상을 보이는 바이러스이다.

노로바이러스는 미국의 Norwalk 초등학교에서 처음 발병되어 Norwalkvirus, Norwalk-like viruses(NLVs),

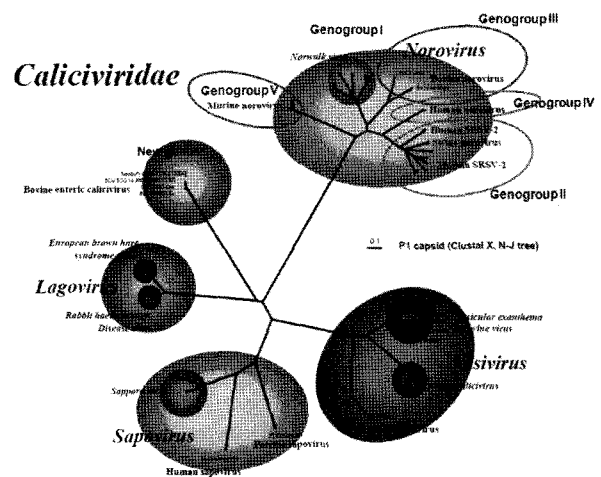


그림 2. Calicivirus family의 분류도

caliciviruses, small round structured viruses 등 대부분 분리된 지역이나 특징을 따라 명명되었으나, 최근에 장염을 일으키는 병원성 바이러스 그룹으로 노로바이러스라는 공식 명칭이 승인되었다. 1년 중 전체 설사 환자의 10%가 감염되는 노로바이러스는 특히 겨울철에 급증하는데, 노로바이러스는 오염된 물이나 조개류, 야채류에서 발생하며 섭씨 60°C 미만의 열에서도 생존할 수 있는 것으로 알려져 있다. 노로바이러스에 의한 장염은 대부분 자연 치유되지만 구토와 설사를 동반한다.

IV. 로타바이러스의 특징

로타바이러스는 family reoviridae에 속하며 2겹의 단백질외각(capsid)으로 싸여 있다. 직경은 약 70 nm이며, 막을 갖지 않는 바이러스이고 3가지 종류의 단백질과 11개의 분절로 된 이중가닥 RNA(18,550 bp)를 가지고 있다. 로타바이러스의 진단에 사용되는 혈청형 결정에 관여하는 두 가지 구조단백질(VP4, VP7)이 있는데, VP4 유전자형은 7가지 유전자형 중 P8과 P4형이 흔히 검출되며, 10가지 VP7 유전자형 가운데 주로 검출되는 네가지형은 G1-4의 로타바이러스 혈청형이다. Inner capsid를 구성하는 VP6 부위가 로타바이러스의 주요 항원검출진단 부위로 사용된다(5).

장염을 유발하는 바이러스로 1973년 호주에서 급성 설사증으로 입원한 어린이의 십이지장에서 처음 발견되었으며, 전자현미경으로 보면 수레바퀴모양이기 때문에 “로타”라는 이름이 붙게 되었고, 현재 로타바이러스 장염은 신생아 및 영유아의 급성 설사의 주요한 원인으로 잘 알려져 있다(6). 이 바이러스는 국내 법정 전염병은 아니지만 전 세계적으로 매년 약 1억3800만 건의 소아 위장염의 원인이 되고 있으며, 약 1,200여명의 개발도상국 어린이들이 매일 로타바이러스 질병으로 사망하고 있다고 한다. 또한 성인까지 포함할 경우 이 바이러스로 인한 전 세계 사망자수는 매년 약 60만8000명에 이르는 것으로 보고되고 있다(7-9). 임상 증상으로는 무증상 감염에서 심한 탈수까지 다양하게 나타나는 것으로 되어 있다(10).

V. 간염 A 바이러스의 특징

간염 A 바이러스는 Picornavirus로 분류되며 직경은 약

27 nm이고, 막이 없으며, 네 개의 capsid 단백질로 구성되고, 7.5 kb의 single-stranded RNA 바이러스이다. 유전자 구조는 VP1, VP2, VP3, putative VP4로 구성된 P1 region이 있고, 복제와 관련된 P2와 P3 region, 그리고 noncoding region(NCR)으로 구성된다(11).

간염을 일으키는 바이러스에는 A형, B형, C형, D형(delta), E형 등 여러 종류가 있으며, 이들은 크게 오염된 물이나 음식을 섭취함으로써 전파되는 A형, E형 간염 바이러스와 혈액을 매개로 전파되는 B형, C형 및 D형 바이러스로 구분할 수 있다. A형 간염은 대개 1개월 정도의 잠복기를 거쳐 갑자기 발병하여 급성 간염을 일으키며 만성 간염을 유발하거나 보균자로 되는 일은 없다. 감염되는 연령에 따라 임상적 증세에 차이를 보여 감염 연령이 높아질수록 심한 증세를 보이게 된다. 주요 임상 증상을 나열하면 피로감, 식욕부진, 진한 소변색, 두통, 무력감, 근육통, 복통 등이 있으며, 소아에서는 설사와 구토가 주 증상으로 나타난다.

VI. 식중독 바이러스 검출법

현재까지 개발된 식중독 바이러스의 진단법으로는 전자현미경법이 표준 진단방법이나 현실적으로 유용성이 떨어져 사용하기 힘든 면이 있어, 단클론 또는 다클론 항체를 이용한 효소면역법, latex agglutinin 검사를 주로 임상에서 많이 이용하고 있다. 간염 A 바이러스나 로타바이러스 진단을 위해서 상용화된 Kit가 개발되어 있어 latex agglutination이나 ELISA법이 널리 사용되며, 간염 A 바이러스나 로타바이러스의 VP 유전자에 특이적인 primer를 사용한 PCR과 genotyping에 의해 바이러스 형을 결정하여 진단에 이용하고 있다. 노로바이러스의 진단을 위해, Dako사에서 genogroup I과 II를 검색할 수 있는 EIA Kit가 개발되어 사용되고 있으나 RT-PCR에 비해 민감도가 떨어지는 단점이 있어 환자의 분변으로부터 바이러스 유전자를 직접 증폭하여 진단하는 RT-PCR법이 널리 사용되고 있다(5).

그러나 RT-PCR을 이용한다 하더라도 식품 중의 바이러스 검출은 쉽지 않은데 이는 1) 일반적으로 식품 중에는 오염된 바이러스의 양이 극미량이므로 많은 양의 식품을 사용해서 분석할 수 있는 기술이 요구되는데 이를 위한 식품 추출물의 농축기술이 미비하고, 2) 식품 중에는

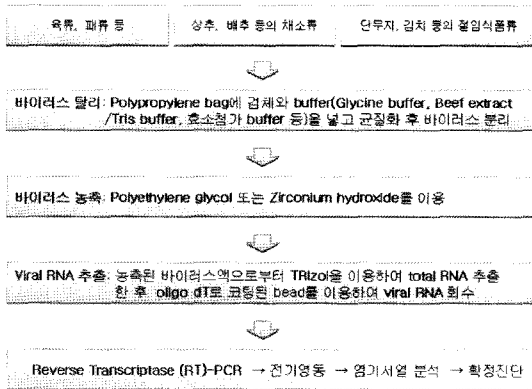


그림 3. 식중독 유발 바이러스의 검출방법 개념도.

다양한 물질이 존재하고 이들 중 일부는 RT-PCR을 위한 증합효소의 방해물질로 작용하므로 실제로 바이러스가 존재함에도 불구하고 유전자 증폭을 방해하여 바이러스가 오염되지 않은 것으로 잘못 판정하는 경우가 많을 수 있으므로 RT-PCR을 하기 전에 식품 중의 PCR 방해물질을 제거해야 하는데 이들의 제거가 용이하지 않으며, 간염 A 바이러스의 배양 기술이 요구되고 있다.

다양한 식품 matrix 상에서 바이러스의 효율적인 검출을 위한 전체적인 개념은 다음과 같다(그림 3). 분석시료에 부착된 바이러스를 효율적으로 탈리하는 방법을 확립한 후 다량의 탈리액에서 농축용액을 이용하여 검출하고자 하는 대상 바이러스를 최소한의 짧은 시간 내에 최대한 농축할 수 있는 방법을 이용하여 농축하고, 농축된 용액에서 PCR 반응저해제를 제거하여 동시에 핵산을 추출하고 PCR을 통하여 특정 유전자 증폭산물의 크기 및 증폭산물의 염기서열 분석을 통하여 분석시료 내 바이러스를 최종 진단한다.

VII. 맺음말

지구온난화에 의한 해수면 온도의 상승과, 인구 증가에 따른 해양환경오염의 증가로 인하여 해양생물은 바이러스성 구토 설사병의 주요 인자인 노로바이러스와 간염 A 바이러스와 같은 장내바이러스에 대한 노출이 증가하게 되어, 결국 비세균성 식중독 발생빈도가 계속 증가하고 있

는 추세이다. 식품안전성에 대한 국민적 관심의 증가와 함께 장내바이러스의 다양한 검출방법에 관한 연구는 사회적으로 큰 관심의 대상이 되고 있다(12-15). 식품의약품안전청 등에서 지속적인 식중독 관련 연구지원이 이루어져 왔으나, 현재 패류 및 식육가공품에 대한 노로 및 간염 A 바이러스의 조기검출법을 제외한 다양한 식품에 대한 바이러스 검출방법이 확립되지 못하여 원인체 규명에 어려움이 있다. 그러므로 다양한 식품 matrix 상에서 식중독 유발 바이러스의 효율적인 검출을 위해서는 각 식품조각별로 바이러스가 부착하는 기작에 관한 연구를 통해 효율적으로 바이러스를 탈리하는 조건을 확립하여 시료에서 바이러스 회수율을 높여야 하며, 바이러스의 조기 검출과정에서 장시간 실험분석시간이 소요되는 농축과정을 단축하기 위해 바이러스의 외막단백질에 따른 적절한 농축액의 선택이 필요하고, 핵산분리 및 유전자 증폭에 대한 실용적인 protocol이 실험실 간에 검증을 통하여 확립되어야 한다. 현재 국내외 보건관련 정부기관에는 간염 A 바이러스 등 일부 바이러스에 국한된 protocol만이 확립되어 있어서 식품 matrix 별로 다양한 식중독 원인 바이러스에 대한 민감도가 높은 검출법 연구가 지속적으로 요구되어진다.

참고문헌

1. 권기성. 식중독의 발생동향 및 관리체계. 보건복지포럼. p.17-25 (2006)
2. 지영미. 노로바이러스 식중독의 국내발생 및 실험실 감시 현황. 보건복지포럼. p.26-34 (2006)
3. Vinje J, Green J, Lewis DC, Gallimore CI, Brown DW, Koopmans MP. Genetic polymorphism across regions of the three open reading frames of “-like viruses”. Arch. Virol. 145: 223-241 (2000)
4. Kageyama T, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, Kojima S, Takai R, Oka T, Takeda N, Katayama K. Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan. J. Clin. Microbiol. 42: 2988-2995 (2004)
5. 지영미, 안정배, 천두성, 최우영, 김운호, 이정수, 이강별, 이희규, 윤재득. 국내 유행 바이러스성 장염의 역학. 소아감염 11: 7-20 (2004)
6. Bishop PF, Davidson GP, Homes IH, Ruck BJ. Virus particle in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. Lancet 2: 1281-1283 (1973)
7. Flewett TH, Bryden AS, Davies H. Virus particles in gastroenteritis. Lancet 2: 1497 (1973)
8. Bass DM. Rotavirus other agents of viral gastroenteritis. In: Nel-

- son textbook of pediatrics. 17th ed. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. (eds.). Philadelphia: WB Saunders Co. p.1081-1083 (2002)
9. Chrysite IL, Totterdell BM, Banatvala BM. Rotavirus infection in a maternity unit. *Arch. Dis. Child.* 51: 924-928 (1976)
 10. Banatvala JE, Chrysite IL, Totterdell BM. Rotavirus infection in Human neonates. *JAMA* 173: 527-530 (1978)
 11. Costafreda M, Bosch A, Pinto R. Development, evaluation, and standardization of a real-time TaqMan reverse transcription-PCR assay for quantification of Hepatitis A virus in clinical and shellfish samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 3846-3855 (2006)
 12. www.the-aps.org/press/conference/vabeach/9.htm
 13. Okumus I, Bascinar N, Ozkan M. The effects of phytoplankton concentration, size of mussel and water temperature on feed consumption and filtration rate of the mediterranean mussel. *Turk. J. Zool.* 26: 167-172 (2002)
 14. Cheney D, Dewey B. Shellfish and climate change ecological and economical effects. Washington State Climate Conference (2006)
 15. Kim SR, Kim DW, Kwon KS, Hwang IG, Oh MJ. Detection of norovirus in contaminated ham by reverse transcription-PCR and nested PCR. *Food Sci. Biotechnol.* 17: 651-654 (2008)