

급성호흡기 환자에서 신종호흡기바이러스 분리 및 특성

조경순[†] · 조현철 · 민상기 · 김성준 · 빈재훈 · 박호국
역학조사과

Characterization of Newly Emerging Respiratory Virus Isolated from Acute Respiratory Patients

Kyung-Soon Cho[†], Hyeon-Cheol Joe, Sang-Kee Min, Seong-Joon Kim, Jae-Hun Bin and Ho-Kuk Park
Epidemiology Division

Abstract

The specimens used for this study were collected from 3,015 patients hospitalized for an acute respiratory infection between September 2005 and September 2007 in Busan, Korea. The extracted DNA or RNA from the specimen were identified with the RT-PCR method with each specific primer. The newly emerging respiratory viruses detected were HRV (48.0%), HCoV (20.6%), RSV (10.9%), INF (10.9%), and enterovirus (0.4%) in order. The ratio of infected male to female patients was 1.8:1. The incidence rate under the five years old was the highest among the infected patients, showing 65%. In the aspect of seasonal distribution, it showed a higher number of infected patients in late autumn and early winter from 2005-2006 and 2006-2007.

Key Words : HRV, HCoV, RSV, INF, Newly emerging respiratory virus.

서 론

급성호흡기 감염증은 의료기관을 방문하는 내원 환자 중 가장 보편적인 원인이 되는 질환이다. 특히 5세 이하의 유아에서 호흡기 질환은 주요한 사망 원인 중 하나로 심각한 문제가 된다.

어린 영아의 경우는 폐렴 또는 세기관지염과 같은 하기도 감염의 위험이 크고 미숙아에서는 무호흡으로 나타나는 반면, 2세 이상의 소아에서는 상기도 감염에 의한 이환이 높으며 무증상인 경우도 있다. 하기도 감염을 일으키는 주요 원인에는 세균, 마이코플라스마, 클라미디아, respiratory syncytial virus(RSV), 인플루엔자바이러스, 파라인플루엔자바이러스, 아데노바이러스 등이 있지만, 아직 상당수 그 정확한 감염 원인이 알려지지 않아 다른 병원체가 존재할 수 있다는 가능성이 있다^{1,2)}.

2001년 6월 네덜란드의 Van den Hoogen 등은 20년 이상 보관되어 있던 호흡기 검체 중 28개의 검체로부터 배양중인 세포에 병변효과를 일으키는 새로운 병원체를 분리하여 보고하였다³⁾. 이후 신종바이러스에 의한 급성호흡기 감염에 대하여 북미, 호주, 중국, 일본 및 유럽 등 전 세계에서 보고되고 있으며⁴⁾, 국내에서도 질병관리본부와 함께 의과대학에서 human metapneumovirus (HMPV)를 확인하였지만, 감염

의 정확한 역학조사와 치료 및 예방대책을 수립하기 위한 많은 연구가 요구된다. 또한 2005년 8월, 스웨덴 Karolinska대학 연구소의 Allander 등이 급성 호흡기 감염으로 입원한 소아의 비인두 흡입물을 조사하여 새로운 DNA 바이러스를 발견하였고 human Bocavirus (HBoV)라 명명하였으며⁵⁾, 계통발생학적으로 Parvoviridae과의 Parvovirinae아과의 Bocavirus 속에 속하며 아미노산 배열은 bovine parvovirus, canine minute virus와 유사하다고 발표하였다^{4,5)}. 이후 호주, 미국, 캐나다, 독일, 한국, 일본 등지에서 HBoV와 관련된 급성 호흡기 감염에 대한 연구들이 발표되었다⁶⁾. 하지만 국내에선 인제대의 첫 보고 이후 아직까지 호흡기 감염에 대한 HBoV의 의의와 임상적 특징 및 중요성에 대해 언급한 보고는 많지 않다.

따라서 본 연구에서는 부산지역을 대상으로 2005년 9월부터 2007년 9월까지 급성호흡기 환자를 대상으로 역전사연쇄 증합반응(RT-PCR)을 시행하여 이들 신종바이러스의 출현을 확인하고 임상양상을 조사 연구하고자 한다.

재료 및 방법

공시재료

2005년 9월부터 2007년 9월까지 부산지역 10개 지정 병원에

[†] Corresponding author. E-Mail: viruscho@busan.go.kr
Phone: 051-757-6936, Fax: 051-757-2879



Fig. 1. Detection of various influenza virus by multiplex RT-RCR.

100bp: Molecular weigh markers (100bp ladder),
H1N1: INF A/H1N1 (837bp), M-gene(358bp)
H3N2: INF A/H3N2 (658bp), M-gene(358bp)
B: INF B (1017bp)

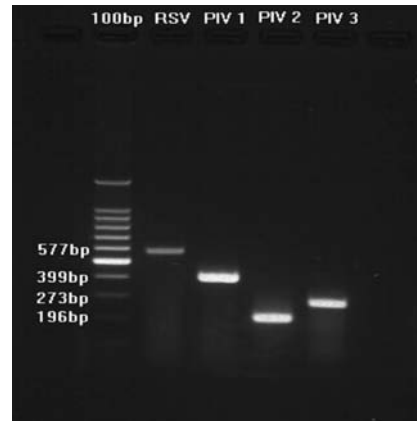


Fig. 2. Detection of various Respiratory syncytial virus and parainfluenza by multiplex RT-RCR.

100bp : Molecular weigh markers (100bp ladder),
RSV: Respiratory syncytial virus (577bp)
PIV 1: parainfluenza 1type (399bp),
PIV 2: parainfluenza 2type(196bp)
PIV 3: parainfluenza 3type(273bp)

내원한 3,015명의 급성호흡기환자로부터 콧물 및 인후도찰물을 채취하여 바이러스 수송배지에 넣은 후 냉장 상태를 유지하면서 실험실로 운반, 바이러스 분리를 위한 검체로 사용하였다.

실험방법

RNA분리

바이러스 배양액을 QIAamp Viral RNA Kit (QIAGEN GmbH, Germany)를 이용하여 RNA를 분리하였다.

Influenza cDNA 합성 및 RT-PCR

분리된 RNA는 RT pre-mix kit for influenza(Cat. No. CDM1005, COSMO, Korea)를 이용하여 인플루엔자 A/H1, A/H3, A/H5 및 B형을 동시에 검출하고자 하였다. 즉, RNA 10 μ l를 RT-PCR pre-mix에 혼합하여 42에서 1시간 반응시켜 cDNA를 합성시킨 후 95 $^{\circ}$ C, 3분간 변성시켜 94 $^{\circ}$ C 1분, 61 $^{\circ}$ C 1분, 72 $^{\circ}$ C 1분 35 cycle, 72 $^{\circ}$ C 5분 1 cycle로 반응시켰다. 증폭된 PCR 산물은 1.5% agarose gel (0.5x TAE buffer)에서 전기영동하여 확인하였다.

급성호흡기바이러스 (Respiratory syncytial virus, Parainfluenza 1,2,3, Enterovirus, Rhinovirus, Human Corona virus) cDNA 합성 및 RT-PCR

분리된 RNA는 RT pre-mix kit for RSV, PIV1,2,3 (Cat. No. CDM1001, COSMO, Korea), RT pre-mix kit for Rhinovirus (Cat. No. CDM1007, COSMO, Korea), RT pre-mix kit for Enterovirus (Cat. No. CDM1008, COSMO, Korea), RT premix kit for Human Corona

Virus (Cat. No. CDM1002, COSMO, Korea)를 이용하여 급성호흡기 바이러스 (RSV, PIV1,2,3, EV, RV, HCoV)을 검출하고자 하였다. 즉, RNA 10 μ l를 RT-PCR premix에 혼합하여 42 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응시켜 cDNA를 합성시킨 후, 94 $^{\circ}$ C 3분간 변성시켜 94 $^{\circ}$ C 1분, 54 $^{\circ}$ C 1분, 72 $^{\circ}$ C 1분 35 cycle, 72 $^{\circ}$ C 7분 1 cycle로 반응시켰다. 증폭된 PCR 산물은 1.5% agarose gel (0.5x TAE buffer)에서 전기영동하여 확인하였다.

Adeno, Human Boca Virus cDNA 합성 및 RT-PCR

분리된 RNA는 RT pre-mix kit for Adeno, Human Boca Virus (Cat. No. CDM1006, COSMO, Korea)를 이용하여 Adeno, Human Boca Virus를 동시에 검출하고자 하였다. 즉 RNA 10 μ l를 RT-PCR premix에 혼합하여 95 $^{\circ}$ C에 3분간 변성시켜 95 $^{\circ}$ C 1분, 54 $^{\circ}$ C 1분, 72 $^{\circ}$ C 1분 35 cycle, 72 $^{\circ}$ C 5분 1 cycle로 반응시켰다. 증폭된 PCR 산물은 1.5% agarose gel(0.5x TAE buffer)에서 전기영동하여 확인하였다.

결과 및 고찰

2005년 9월부터 2007년 9월까지 부산지역 10개 지정병원에 내원한 환자 3,015명으로부터 채취한 인후도찰물로부터 258건이 양성으로 확인되었으며, 이들을 역전사연쇄증합반응을 시행한 결과는 다음과 같다(Fig. 1 ~ Fig. 5).

Influenza virus (INF)는 모두 27건이 검출되었으며 이 중 INF A/H1N1과 INF B는 각각 1건씩 확인되었다(Fig. 1). Respiratory syncytial virus (RSV)는 27건에서 검출되었으며 577bp의 PCR 산물로 확인할 수 있었다. Parainfluenza

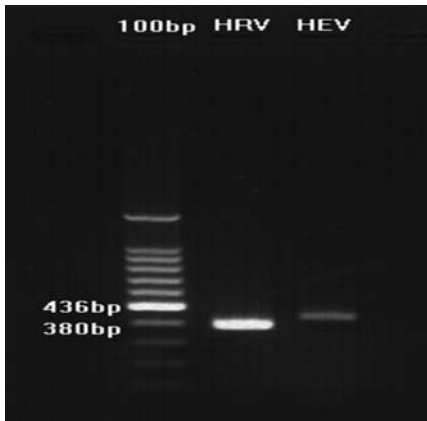


Fig. 3. Human Rhino virus and Human Entero virus detected by multiplex RT-RCR.
100bp: Molecular weigh markers (100bp ladder),
HRV: Human Rhino virus (380bp)
HEV: Human Entero virus (436bp)

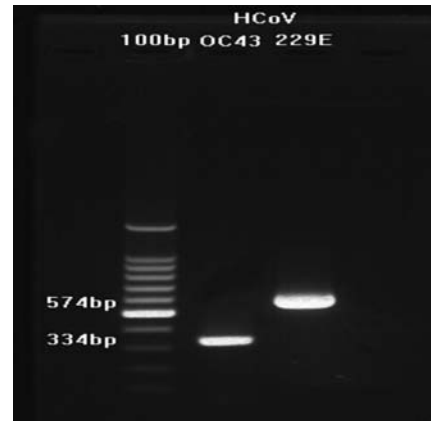


Fig. 4. Detection of various Human Corona virus (OC43, 229E) by multiplex RT-RCR.
100bp: Molecular weigh markers (100bp ladder)
OC43: Human Corona virus OC43 (334bp)
229E : Human Corona virus 229E (574bp)

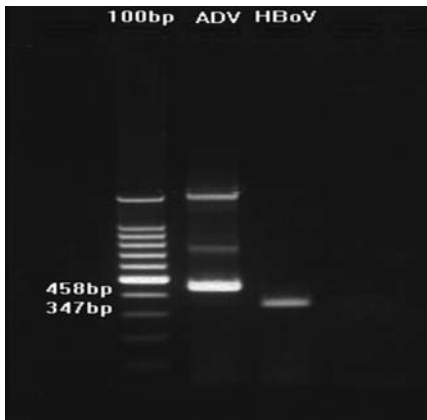


Fig. 5. Adenovirus and Human bocavirus detected by multiplex RT-RCR.
100bp: Molecular weigh markers (100bp ladder)
ADV: Adenovirus (458bp)
HBoV: Human bocavirus (347bp)

virus는 2006년 5월과 7월에 각각 1건씩 양성반응이 나타났으며, 이들의 PCR산물은 size가 273 bp로 나타나 type 3형으로 확인되었다(Fig. 2). Human rhinovirus (HRV)는 119명의 검체에서 양성반응을 나타내었으며 그 PCR 산물 크기는 380 bp로 확인할수 있었다. Entero virus는 1명에서 검출되었고, 436 bp의 product size로서 확인할수 있었다(Fig. 3). Human corona virus (HCoV)는 51명의 검체에서 3종류의 혈청형이 발견되었는데, 229E는 15건, OC43은 36건으로 확인되었다(Fig. 4). Human boca virus (HBoV)는 23명의 검체에서 양성을 나타내었으며, 347 bp의 product size로 확인하였다(Fig. 5).

성별 발생양상은 남아의 경우 248명 중 160명(64.5%)이 검출되었고, 여아는 88명(35.5%)으로 남아에서 여아보다 검출

률이 1.8:1로 높게 나타났다(Fig. 6).

각각의 바이러스에 대한 양성률은 HRV가 119명(48.0%)으로 가장 높았고, HCoV가 51명(20.6%)으로 다음 순으로 나타났다. 이어서 RSV(27명, 10.9%), INF(27명, 10.9%) 그리고 HBoV(23명, 9.3%)로 비슷한 양성율을 나타내었다. 반면 entero virus는 1명(0.4%)에서만 양성으로 확인되었다(Fig. 6).

연령별 발생양상은 1세에서 5세까지는 161명(65.0%)으로 가장 높은 발생율을 나타내었으며, 6세에서 10세 미만은 54명(21.8%)으로 나타났다. 그리고 10세 이상의 전체 연령대에서도 다소 낮은 발생율을 나타내었다(Fig. 7).

이러한 결과는 2005년 한 등의 급성호흡기성 하기도 감염의 역학과 중증 감염에 대한 위험인자의 분석 결과 1세 미만의 영아가 전체 67%를 차지하고 남녀가 1.7:1의 비로 남아에서 발병율이 높기 나타난 결과와 유사하였을 뿐 아니라, 국내의 소아를 대상으로 한 이전의 연구 결과와도 비슷한 양상을 나타내었다^{7,9}.

계절별 발생양상은 2005년 10월의 경우 아주 낮은 발생율을 나타내었지만, 9월에서 12월 사이를 비롯하여, 2006년 1월까지 집중적으로 높은 발생율을 나타내었다. 2006년 2월부터 10월까지의 연중 낮은 발생율을 나타내다가, 11월부터 점차 높아져 2007년 4월까지 다시 집중적으로 높은 발생율을 나타내었다. 이와 같이 급성호흡기바이러스는 늦가을에서 한겨울까지 절정을 이루나 연중 관찰됨을 알 수 있었다(Fig. 8, Table 1).

각 바이러스별 월별 발생양상은 인플루엔자바이러스의 경우 2005년과 2006년 사이, 2006년과 2007년 사이의 한겨울 동안 2~3개월 정도 낮은 발생율을 나타내기는 하지만 절정을 이루었으며, HCoV의 경우 2005년 10월부터 2006년 1월까지 절정을 나타내었지만 대체로 발생율은 저조하였다. HBoV의 경우 2006년 6월부터 10월까지 절정을 이루었으며, 이 후에

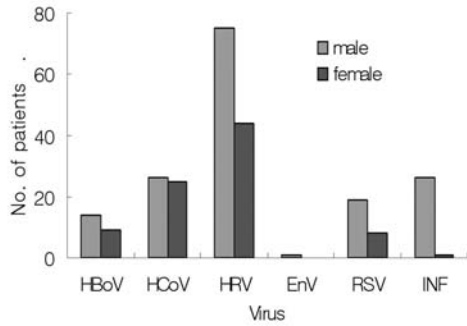


Fig. 6. Distribution of isolated viruses by sexual diversity.

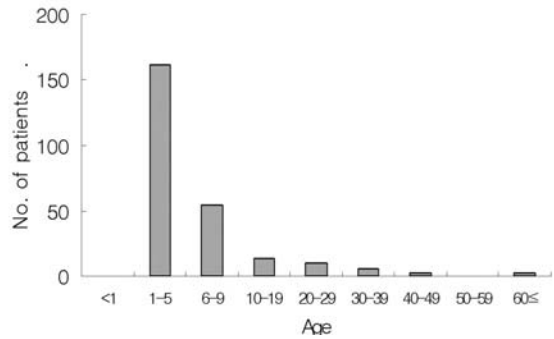


Fig. 7. Age distribution of acute respiratory viruses during the 2005.9 - 2007.9 in Busan.

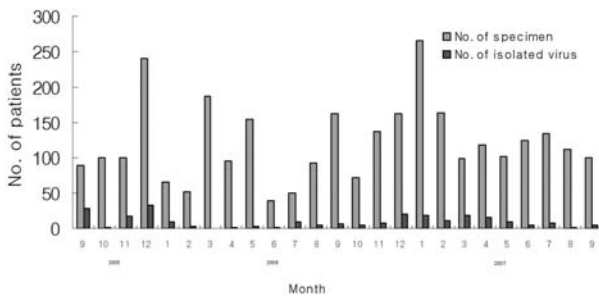


Fig. 8. Monthly distribution of acute respiratory viruses during the 2005.9 - 2007.9 in Busan.

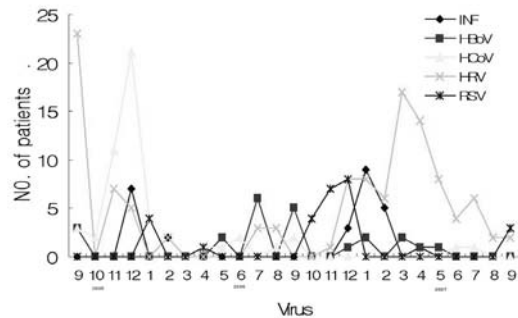


Fig. 9. Monthly distribution of respiratory tract infection during the 2005.9 - 2007.9 in Busan.

도 발생율이 낮기는 하지만 꾸준히 관찰되었다. Arnold의 보고에 따르면 HBoV는 주로 늦가을에서 겨울에 발생하며 12개월 이하에서 63% 정도로 나타나며, 주로 여아에서 보다 남아에서 높은 발생양상을 나타내었다¹⁰⁾. HRV의 경우는 2005년 9월부터 2006년 1월까지, 2006년 10월부터 2007년 7월까지 가장 높은 발생율을 나타내었다. 그리고 RSV의 경우 2006년 겨울에 짧은 시기동안 낮은 발생율을 나타내었다. 미국의 질병관리센터(CDC)의 보고에 따르면 1998년에서 1999년까지는 11월에서 4월까지 지속되었으며, 1999년 늦가을부터 2000년 봄까지 2~5개월간 지속되었다¹¹⁾. 한 등이 1995년부터 2004년까지 10년 동안 조사한 결과 연중 관찰되었으나 늦은 가을에서 늦은 겨울까지 가장 높은 비율로 나타났다.

부산지역 한 산부인과 병원 신생아실에서 독감증상과 폐렴 증상의 신생아들이 증가하여 인근 종합병원 신생아 집중치료실로 옮기는 등 신생아실을 비우고 다른 병실로 옮겨놓고 소독을 하는 등 소동이 일어난 사례가 2007년 가을에 있었는데 의사, 간호사, 신생아들의 호흡기 검체를 채취하여 실험한 결과 20건 검체에서 3건의 신생아들에게 RSV A type이 규명되었다. 부산지역에서 발생한 동일한 시기에 충북과 강원도 각 지역에서 RSV 양성 검체가 각 1건씩 검출되어 RSV G gene 염

기서열에 대하여 국내에서 보고한 사례 그리고 외국의 사례를 함께 비교한 결과 부산지역 신생아로부터 검출되었던 3건의 RSV의 G gene 염기서열은 서로 상동성이 있으며, 충북과 강원지역에서 검출된 RSV와는 다른 cluster를 이루는 것을 확인하였다. 급성호흡기 환자들 중에서 HRV가 가장 높은 발생율을 나타내었으며 연중 관찰되었다(Fig. 9).

요 약

2005년 9월부터 2007년 9월까지 최근 2년간 부산지역 10개 지정병원에 내원한 환자 3,015명으로부터 채취한 인후도찰물로부터 급성호흡기바이러스 258건을 분리 확인하였으며, 각각의 바이러스에 대한 양성률은 HRV 119명(48.0%), HcoV 51명(20.6%), RSV 27명(10.9%), INF 27명(10.9%) 그리고 HBoV 23명(9.3%)을 나타내었다. 반면 entero 바이러스는 단 1명(0.4%)만 양성으로 확인되었다.

성별 발생양상은 남아의 경우 248명 중 160명(64.5%), 여아는 88명(35.5%)으로 남아에서 여아보다 1.8:1로 높게 나타났다. 연령별 발생양상은 1세에서 5세까지는 161명(65.0%)으로 가장 높은 발생율을 나타내었다. 계절별 발생양상은 2005년 9

월에서 12월 사이를 비롯하여, 2006년 1월까지, 2006년 11월부터 2007년 4월까지 늦은 가을에서 한겨울동안 집중적으로 높은 발생율을 나타내었다.

참 고 문 헌

1. Denny F. W., W. A. Clyde, Acute lower respiratory tract infections in nonhospitalized children. *J. Pediatr*, 108, pp635-646(1986)
2. Han M. Y., B. L. Lee, W. H. Seo, S. H. Ahn, S. J. Kim, S. J. Hwang, H. Y. Park, K. M. Ahn, S. I. Lee, Epidemiology of respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection and analysis of risk factors in severe infections from 1995 to 2004. *소아 알레르기 및 호흡기*, 15, pp150-159(2005)
3. John C. Arnold, Kumud K. Singh, Stephen A. Spector, Mark H. Sawyer. Human bocavirus: prevalence and clinical spectrum at a children's hospital. *C.I.D.*, 43, pp283-288(2006)
4. Lancet. Acute respiratory infections in under-five. 15 million death a year(editorial). 2, 699-701(1985)
5. Lee J. S., Y. M. Son, The clinical study of the lower respiratory tract infections by respiratory syncytial virus on children under 2 year of age. *Kor. J. Pediatr. Infect. Dis.* 7, pp193-200(2000)
6. Mohammadreza N, Luis E. Cuevas, Tahereh Bakhshinejad, Winifres Dove, C. Anthony Hart. Human bocavirus in iranian children with acute respiratory infections. *J. Med. Virol.* 79, pp539-543(2007)
7. Staat M. A. Respiratory syncytial virus infections in children. *Semin. Respir. Infect.* 17, pp15-20(2002)
8. Yeom H. H., J. S. Park, D. J. Jeong, C. J. Kim, Y. B. Kim, D. H. Lee, K. J. Kim, J. Y. Chun, C. Kang, Y. S. Chung, H. M. Cheong, Human metapneumovirus infection in Korea children. *K. J. Pediatr.* 49, pp401-409(2006)
9. Van den Hoogen B. G., J. C. de Jong, J. Groen, T. Kuiken, R. de Groot, R. A. Fouchier, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat. Med.* 7, pp719-724(2001)
10. Welliver R. C., Review of epidemiology and clinical risk factors for severe respiratory syncytial virus(RSV) infection. *J. Pediatr.* 143, pp112-121(2003)
11. Williams J. V., P. A. Harris, S. J. Tollefson, L. L. Halburnt-Rush, J. M. Pingsthaus, K. M. Edwards, et al., Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. *N Engl J Med.* 350, pp443-450(2004)