

인천지역의 로타바이러스 감염실태 및 유전자형 분포조사

인천보건환경연구원¹, 질병관리본부 국립보건연구원²

이제만¹ · 김혜영¹ · 이미연* · 이강범² · 천두성² · 지영미²

The prevalence and genotypic distribution of group A rotavirus detected from patients with acute gastroenteritis patients in Incheon

Jea-Mann Lee¹, Hye-young Kim¹, Mi-yeon Lee*, Kang-bum Lee²
Doo-Sung Cheon² and Young-mee Jee²

¹Incheon Institute of Health & Environment: 18-4, Sinheung-dong 2-ga, Jung-gu, Incheon 400-102, Korea

²Korea Center for Disease Control & Prevention: 194, Tongil-Lo, Eunpyung-Gu, Seoul, 122-701, Korea

Received : November 15, 2006

Accepted : February 6, 2007

This study has focused on genetical patterns of rotavirus positives on diarrhea patients in Incheon. Fecal specimens collected from January 2002 to December 2004 from patients with diarrhea in seven localities in Incheon were screened for group A rotavirus by RT-PCR. To survey the prevalence of group A rotavirus infection and distribution of P (VP4) and G (VP7) genotypes of rotaviruses in Incheon, we performed the nested RT-PCR using rotavirus ELISA positive samples. Among a total of 4,865 samples investigated, 1,100 samples (22.6%) were positive. The predominant genotypes of 293 RT-PCR positive samples were confirmed as G4P[6] (101 samples, 34.5%) followed by G2P[4] (73 samples, 24.9%), G1P[8] (38 samples, 13.0%), G3P[8] (28 samples, 9.6%), G3P[10] (14 samples, 4.8%), G4P[8] (6 samples, 2.0%) and G9P[8] (6 samples, 2.0%). Mixed types and untypable types were 3.8% and 5.1%, respectively. The most prevalent types in 2002, 2003 and 2004(삭제요망) were G4P[6] (71 samples, 40.3%), G4P[6] (22 samples, 40.7%) and G2P[4] (15 samples, 22.2%)(삭제요망) respectively. This is the first nationwide genoepidemiological study for determining the prevailing of genotypes of rotaviruses in Incheon. The genetic analysis for investigating sequence variations among group A rotavirus strains in this study would provide the useful information to establish the preventing strategy of human rotaviruses and of developing vaccines which will be used in Korea.

Key Words: Rotavirus, ELISA, RT-PCR, Genotypes

서 론

로타바이러스는 전 세계적으로 매년 소아나 영아에 탈수를 동반하는 심한 설사질환을 유발하는 바이러스성 위장질환의 주요병원체로 알려져 있으며 (9), 5세 이하 영·유아 중 로타바이러스에 의한 설사로 2,500만 명이 내원, 200만 명이 입원을 하며, 60만 명을 사망에 이르게 한다 (22,23). 설사의

원인체로서 바이러스의 최초 보고는 1970년 성인에게 식중독 증세를 일으키는 Norwalk-like virus와 1972년 영·유아에 설사를 일으키는 로타바이러스가 전자현미경 (EM)과 면역전자현미경 (IEM)을 통해 확인되었다 (19). 특히 영·유아 급성설사병으로 주목 받기 시작한 로타바이러스는 설사로 입원하는 영·유아 환자의 35~50%의 원인이 되며 (18), 구토, 발열 및 지속적인 묽은 설사로 인한 탈수증을 유발시켜 결국엔 탈수에 의한 사망까지 이르게 할 수 있다 (8). 로타바이러스는 *Reoviridae*과에 속하는 dsRNA 바이러스로 입자의 직경은 70 nm이고, 3층의 20면체의 외각을 가지며 전체 genome 크기는 18,550 bp로 11개의 이중가닥 RNA로 분절

*교신저자: 이미연. 400-102 인천광역시 중구 신흥동 2가 18-4
보건환경연구원 질병조사과
Phone: 032-440-5584, Fax: 032-440-5589,
e-mail: kite1014@nate.com

되어 있으며, 이 분절은 양쪽 염기서열 말단에 비단백질 암호화 부위 (noncoding region)가 존재하는 하나의 open reading frame (ORF)을 갖는다 (14). 감염력을 지닌 로타바이러스 입자는 세 개의 동심층 (concentric layers), 한 개의 단백질 핵 (protein core), 내·외부 단백질 캡시드 (inner and outer capsid)로 구성되어 있다 (25). 외부 단백질 층은 VP4 단백질과 VP7 단백질로 구성되어 있으며, 이들은 바이러스의 중요한 면역원성에 관계하며, 26개의 P형 (protease sensitive protein)과 15개의 G형 (glyco- protein)이 현재까지 확인되었다 (20,26). 현재 세계 각국에서는 백신개발을 위한 기초 연구로서 자국에서 분리되는 로타바이러스의 유전자 염기서열 분석을 수행하고 있으며 이를 기초로 백신을 생산하여 자국에서 유행하는 질병을 예방하기 위해 노력한다. 최초의 로타바이러스 백신은 미국에서 개발되었으나, 장 중첩 증과의 연관성으로 이의 사용이 금지된 상태이다. 그러나, 개발도상국의 경우 장 중첩 증에 의한 위험보다 로타바이러스 증에 의한 위험이 더 크므로 로타바이러스 증에 의한 사망을 예방하기 위해 백신은 꼭 필요하며 이를 개발하기 위해 노력하고 있다 (16). 임상적으로 로타바이러스는 탈수증을 유발하여 생명을 위협하는 영·유아 장염의 중요한 원인체이다. 현재 우리나라 실사환자의 원인병원체는 세균성, 바이러스성, 원충성 등 다양하지만 병·의원에서는 가볍게 취급하여 법정전염병인지 아닌지 구분하여 관리하고 있지 않은 실정이며 역학적 기초 자료가 아직은 미약하다.

이에 2000년 이후부터 국립보건연구원을 중심으로 민간 병·의원, 임상검사센터를 연결하는 감시체계를 확립하여 주요 설사원인 병원체에 의한 설사질환 발생을 지속적으로 감시함으로써 이들 병원체에 의한 설사환자의 집단 발생을 초기에 차단할 수 있는 체계를 갖추고자 전국적인 급성설사질환감시사업이 진행되고 있다. 설사를 동반한 위장관염을 조절하고 예방대책을 수립하기 위해서는 그 질병의 발생률, 질병에 대한 경제적 부담, 전파경로 및 병원체의 원인에 대한 평가는 절대적으로 필요하다 (21). 또한 최근 로타바이러스의 생독백신이 개발되어 국내 시판을 앞둔 시점에서 로타바이러스의 감염실태조사 및 유전자형 분포조사에 관한 연구는 매우 중요하며 이에 본 연구는 인천지역에서 발생하고 있는 로타바이러스의 감염실태 및 수집된 가검물로부터 분리된 로타바이러스에 대한 유전자형을 결정하고 유전자형의 분포를 조사함으로써 지역사회에서의 로타바이러스의 감염 및 예방대책 수립을 위한 기초 역학 자료로 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

2002년부터 2004년까지 3년간 인천지역 7개 종합 병·의원 임상병리과 및 소아과에서 설사증상으로 입원 또는 내원한 환자의 대변을 수집하여 2002년 1,538건, 2003년 1,291건, 2004년 2,036건을 로타바이러스 검사에 이용하였다.

2. 가검물 전처리

대변 1 g에 9 ml PBS (Phosphate buffered saline 7.2, Sigma)에 3~4개의 glass beads를 넣고 5분간 진탕하여 부유된 가검물을 4℃에서 20분간 3,000 rpm으로 원심분리하여 상층액을 취하여 ELISA와 PCR 검사를 하였다.

3. 로타바이러스 항원검사

로타바이러스 검사를 위해 바이러스 항원검출을 위한 상업용 ELISA 키트 (Bioincell, Houston, USA)를 사용하여 로타바이러스 항체가 코팅된 well에 대변 상층액 100 µl와 HRP conjugated anti rotavirus 항체를 넣은 후 37℃에서 60분간 반응시켰다. 반응시킨 well을 세척액으로 5회 세척 후 기질액을 첨가하고 실온 암실에서 15분간 반응시킨 다음 반응정지액 50 µl를 가한 후 450 nm에서 판독 (ELISA Processor II, Behring, Germany) 하였다.

4. Primer 제작

Genotyping을 위하여 VP4와 VP7 gene에 특이한 Primer는 Gouvea et al, 1990 (11)과 Gentsch et al, 1992 (10)의 방법에 따라 Table 1과 같이 제작하였다 (Bioneer, Korea).

5. 바이러스 RNA추출

원심분리한 대변 상층액 200 µl에 Tri reagent (Molecular Research Center, Inc., USA) 600 µl를 잘 섞은 후 10분간 상온에서 방치한 다음 chloroform (Sigma, St. Louis, USA) 200 µl를 첨가하여 혼합하고 15분간 상온에 방치하였다. 13,000 rpm/4℃에서 15분간 원심분리 후 450 µl 상층액을 취하여, 동량의 isopropanol (Sigma, St. Louis, USA)을 넣고 혼합한 후 -20℃에서 하룻밤 동안 방치시켰다. 다음날 13,000 rpm/4℃에서 30분간 원심한 후 상층액을 버리고 1,000 µl의 cold 70% ethanol (Sigma, St. Louis, USA)을 넣고 13,000 rpm/4℃에서 10분간 원심하였다. 상층액을 제거한 후 무균작업대에서 15~20분간 건조시킨 후 DEPC로 처리한 증류수와 DMSO (dimethyl sulfoxide)를 8:2로 섞은 용출액 30 µl에 녹인 후 실험에 사용하였다.

6. 로타바이러스의 유전자형 분석

1) 역전사 반응 (Reverse transcription)

추출한 RNA를 95℃에서 5분간 정제시킨 후 냉각시켰다.

Table 1. The nucleotide sequences of primers used for genotyping of group A Rotaviruses

Target Gene	Primers	Sequences (5' → 3')
VP4 (P Genotyping)	con2	ATTTCGGACCATTTATAACC
	con3	TGGCTTCGCCATTTTATAGACA
	1T-1	TCTACTTGGATAACGTGC
	2T-2	CTATTGTTAGAGGTTAGAGTC
	3T-1	TGTTGATTAGTTGGATTCAA
	4T-1	TGAGACATGCAATTGGAC
	5T-1	ATCATAGTTAGTAGTCGG
VP7 (G Genotyping)	Beg9	GGCTTTAAAAGAGAGAATTTCCGTCTGG
	End9	GGTCACATCATACAATTCTAATCTAAG
	aBT1	CAAGTACTCAAATCAATGATGG
	aCT2	CAATGATATTAACACATTTTCTGTG
	aET3	CGTTTGAAGAAGTTGCAACAG
	aDT4	CGTTTCTGGTGAGGAGTTG
	aFT9	CTAGATGTAAC TACA ACTAC

추출된 RNA 10 µl를 1× RT buffer, 2.5 mM dNTP, 6 mM MgCl₂, MuLV reverse transcriptase (Invitrogen, USA) 100 U이 혼합된 반응액에 첨가하고 VP4 유전자에 특이적으로 반응하는 primer인 Con2, Con3와 VP7 유전자에 특이적으로 반응하는 primer인 Beg9, End9을 PCR System 2700 (Applied Biosystems)을 사용하여 20℃ 10분, 42℃ 1시간, 95℃에서 5분간 1회 반응시킴으로써 reverse transcription을 수행하여 cDNA를 합성하였다.

2) 1st PCR

합성된 cDNA template 2.5 µl에 1× PCR buffer, 2.5 mM dNTP, 1.5 mM MgCl₂, VP4의 primer인 con2, con3와 VP7의 primer인 Beg9, End9을 각각 10 pmol, Tag polymerase 1 U (Invitrogen, USA)를 포함하는 25 µl의 반응액을 혼합한 후 PCR System 2700 (Applied Biosystems)을 사용하여 PCR을 수행하였다. VP4의 PCR을 위해서는 94℃에서 2분 denaturation 시킨 후, 94℃ 60초, 50℃ 60초, 72℃에서 60초, 35회 실시하고 마지막으로 72℃에서 7분간 extension 시켰고, VP7의 경우 94℃에서 2분간 denaturation 시킨 후, 94℃ 60초, 52℃ 60초, 72℃에서 60초, 35회 실시하고 마지막으로 72℃에서 7분간 extension 시켰다. 반응이 종료된 반응액은 type specific multiplex PCR의 주형으로 이용하였다.

3) Type specific multiplex PCR

1st PCR product 2 µl에 1× PCR buffer, 2.5 mM dNTP, 1.5 mM MgCl₂, 6종의 유전자형 특이 primer (VP4)와 8종의 유전자형 특이 primer (VP7)를 각각 10 pmol (Table 1), Red Tag

polymerase 1 U (Genedepot, USA)를 포함하는 총 25 µl의 반응액을 혼합한 후 PCR System 2700 (Applied Biosystems)을 사용하여 반응하였다. VP4의 PCR 과정은 94℃에서 4분 denaturation 시킨 후, 94℃ 60초, 45℃ 120초, 72℃에서 60초, 30회 실시하고 마지막으로 72℃에서 7분간 extension 시켰고, VP7의 PCR 과정은 94℃에서 4분간 denaturation 시킨 후, 94℃ 60초, 42℃ 120초, 72℃에서 60초, 30회 실시하고 마지막으로 72℃에서 7분간 extension 시켰다. PCR 산물에 SYBR safe (invitrogen, USA)를 넣어 1.5% agarose gel (Cambrex, Bio Science Rockland, Inc., USA)로 전기영동한 후 증폭된 유전자 산물을 Gel Documentation System (Bio-Rad, Geldoc 2000, USA)으로 확인하여 확인된 밴드의 크기에 따라 유전자형을 결정하였다. 유전자형의 특이적인 밴드 크기는 P형의 경우 P[8] 345 bp, P[4] 483 bp, P[6] 267 bp, P[10] 583 bp, G형의 경우 G1은 749 bp, G2 652 bp, G3 374 bp, 그리고 G9의 경우 306 bp의 증폭산물로 확인하였다.

결 과

1. 로타바이러스 감염실태조사

2002년에서 2004년까지 3년간 인천지역에서 발생한 급성 위장관염 환자를 대상으로 로타바이러스 항원 양성율을 조사한 결과 전체 검사건수 4,865건 중 로타바이러스가 1,100건으로 22.6%가 양성으로 확인되었다. 2002년 1월부터 2004년 12월까지 로타바이러스 항원 양성율의 변화추이를 살펴

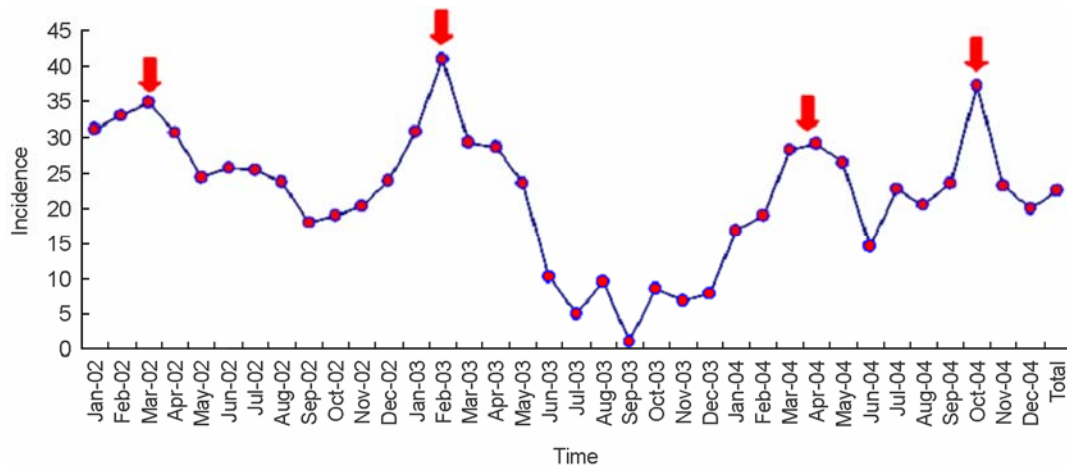


Figure 1. The seasonal incidence of group A Rotavirus infections in Incheon during 2002~2004.

Table 2. The distribution of genotypes of group A Rotaviruses in Incheon (2002~2004)

		G-genotype							Total
		G1	G2	G3	G4	G9	Mixed	Other	
P-genotype	P[8] (%)	38 (13.0)	1 (0.3)	28 (9.6)	6 (2.0)	6 (2.0)	6 (2.0)	4 (1.4)	89 (30.4)
	P[4] (%)	1 (0.3)	73 (24.9)	0 (0.0)	1 (0.3)	0 (0.0)	2 (0.7)	0 (0.0)	77 (26.3)
	P[6] (%)	2 (0.7)	1 (0.3)	3 (1.0)	101 (34.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	107 (36.5)
	P[10] (%)	0 (0)	1 (0.3)	15 (5.1)	0 (0)	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)	17 (5.8)
	Mixed (%)	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)	1 (0.3)	3 (1.0)
	Other	0	0	0	0	0	0	0	0
		42 (14.3)	76 (25.9)	46 (15.7)	108 (36.9)	7 (2.4)	9 (3.1)	5 (1.7)	293 (100.0)

보면 2~3월 사이에 감염률이 가장 높은 것으로 확인되었으며, 특히 2004년의 경우 3~4월에 높은 양성율을 보이고 예년과는 다르게 10월에 가장 높은 양성율을 보인 것으로 확인되었다 (Fig. 1).

2. 로타바이러스 유전자형 분포

효소면역법 (ELISA)에서 판독된 양성 검체중 흡광도가 높은 검체를 대상으로 하여 RT-PCR을 통해 P와 G 유전자형을 결정하였다. 실험을 통해서 총 293건에 대한 유전자형을 결정하였으며 실험결과 G4P[6] 34.5% (n=101)로 가장 높은 빈도로 확인되었고 G2P[4]형이 24.9% (n=73), G1P[8]형이 13.0% (n=38), G3P[8]형이 9.6% (n=28)로 인천지역에서 유행하는 주요한 유전자형으로 확인되었으며 그 외 G3P[10]형이 4.8% (n=14), G4P[8]형이 2.0% (n=6), G9P[8]형이 2.0% (n=6)로 확인되었다. Type specific PCR에 의해 유전자형을 결정할 수 없는 로타바이러스 양성 검체는 5.1% (n=15)였다 (Table 2).

연도별로 분포하는 유전자형의 분포를 살펴보면 2002년에는 G4P[6]형이 71건 (40.3%)으로 가장 많은 빈도를 차지하였으며, G2P[4]형이 48건 (27.3%), G1P[8]형이 31건 (17.6%)으로 주요한 유전자형으로 확인되었고, 2003년의 경우 2003년에는 G4P[6]형이 22건 (40.7%), G3P[8]형이 12건 (22.2%), G2P[4]형이 10건 (18.5%) 및 G1P[8]형이 3건 (5.6%)으로 확인되었고 G9P[8]의 경우도 3건으로 5.6%의 발생빈도를 차지하는 것으로 조사되었다. 2004년에는 G2P[4]형이 15건 (23.8%), G3P[10]형이 14건 (22.2%), G3P[8]형이 12건 (19.0%), G4P[6]형이 8건 (12.7%), 그리고 G1P[8]형이 4건 (6.3%)으로 조사되었다 (Fig. 2).

고 찰

로타바이러스는 영·유아 급성 위장관염의 주요한 원인 바이러스로 공중보건학적인 중요성이 어느 병원체보다 높은 것으로 보고되어 있다. 로타바이러스가 1970년 급성 위장관

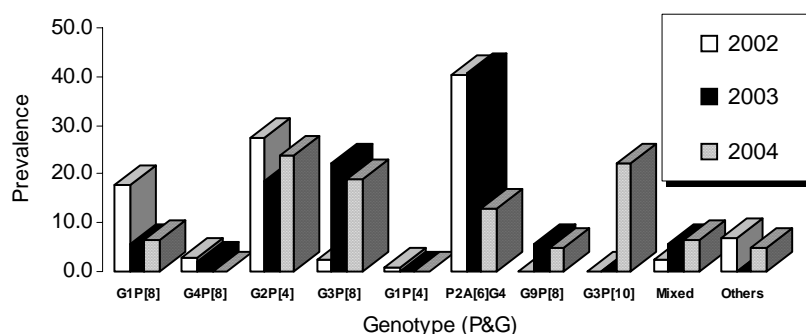


Figure 2. The distribution of P & G genotypes of group A Rotaviruses (2002~2004).

염의 원인체로 보고된 이 후 1990년대 로타바이러스 생독백신이 개발되어 상업화된 사례가 있으며 그 후 장 중첩 증이 유발되는 부작용으로 시장에서 철수되었지만 최근 2개의 백신회사에서 로타 백신이 새롭게 개발되어 국내 임상을 눈앞에 둔 가운데 로타바이러스에 대한 감염실태조사 및 지역사회에서 유행하는 로타바이러스의 유전자형의 분포양상에 관한 조사는 로타바이러스의 백신도입에 맞추어 중요한 자료가 될 수 있다 (13,12,15,24,28).

본 연구는 인천지역에서의 로타바이러스 감염실태 및 지역에서 유행하는 유전자형의 분포양상을 조사하기 위해 수행하였으며 본 연구를 위해 2002년부터 2004년까지 3년 동안 인천지역 7개 병·의원에 내원한 급성 위장관염 환자를 대상으로 로타바이러스의 항원 양성율을 조사하였으며 로타바이러스 항원 양성으로 확인된 검체를 대상으로 유전자형을 결정하였다.

실험결과 2002년부터 2004년까지 3년간 인천지역 내에서 로타바이러스의 감염양상은 일반적인 로타바이러스 감염양상처럼 늦겨울에서 초봄 사이에 높은 감염율을 보이는 것으로 확인되었으나 2003년 여름을 제외하고 2002년과 2004년의 경우 여름에도 15% 이상의 높은 양성율을 보여 연중 로타바이러스가 유행하는 것으로 확인되었다.

인천지역에서 유행하는 로타바이러스의 유전자형의 분포양상을 조사하기 위해 실시한 로타바이러스 Type specific multiplex PCR 수행결과 총 293건에 대한 로타바이러스 양성 검체에 대해 바이러스의 유전자형을 결정할 수 있었다. 조사결과 3년 기간 중 G4P[6], G2P[4], G1P[8] 및 G3P[8]가 인천지역에서 유행하는 주요한 유전자형임을 확인하였으며, 유전자형의 연도별 분포 변화를 살펴보면 G4P[6]의 경우 2002년과 2003년에 약 40%대의 높은 검출을 보이다가 2004년에는 12.7%로 다소 감소하여 2002~3년 기간 중 크게 유행하였음을 알 수 있었다. G2P[4]형은 3년간 지속적으로 유행하였으며 G1P[8]의 경우 2002년에는 높은 검출빈도를 나타냈으나 2003년과 2004년에는 현격히 감소하였다. 반면 G3P[8]의 경

우 2002년에는 낮은 검출빈도를 보였으나 2003년과 2004년에는 높은 검출빈도를 보였으며 G3P[10]의 경우 2002년과 2003년에는 전혀 검출되지 않은 유전자형이지만 2004년에는 22.2%의 검출을 보여 새롭게 유행하고 있는 로타바이러스 유전자형으로 확인되었다.

본 연구를 통해 2002년에서 2004년까지 3년에 걸쳐 인천지역에서 조사한 로타바이러스 유전자형 분포양상을 국내 및 국외의 사례와 비교 분석하였다. 기존 국내 보고에서는 로타바이러스의 P형과 G형에 유행양상을 RT-PCR과 ELISA를 방법을 사용하여 분석하였는데 G1~G4가 대부분으로 G1이 가장 많이 검출되었다 (1~3,5,7). 본 연구에서는 G1의 경우 2002년 약 19.3%를 차지하였고 그 이후 점차 감소하는 것으로 확인되었고 G2의 경우 지속적으로 주요한 유전자형으로 검출되었으며 G3는 2004년에, G4는 2002년과 2003년에 40% 이상의 높은 검출율을 보이는 것으로 확인되었다. 2000년 보고에 의하면 G1 (24%), G2 (13%), G3 (0%), G4 (58%), mixed (3%), untypable (2%)로 G4 유전형이 58%로 가장 높게 차지하여 G형중형의 유행형이 G1에서 G4로 변화되었다고 보고하였는데 (27) 인천지역에서도 유사한 결과를 보였다. 한편 미국 등지에서 최근 2~3년간 새롭게 유행하는 것으로 알려진 G9형의 경우 2003년 서울지역에서 약 11% 정도의 검출빈도를 보였으며 2000~1년 전북지역을 대상으로 한 조사에서도 약 40% 정도를 차지하는 것으로 보고되었으나, 금번 인천지역 조사에서는 2002년에는 검출되지 않았으며 2003년과 2004년에 각각 5.6%와 6.4%의 검출빈도를 보이는 것으로 확인되었다 (17,4). 또 하나 주목할 만한 유전자형인 G4P[6]는 2002년과 2003년에 걸쳐 서울, 경기 등 수도권지역에서 대규모의 유행이 확인된 바 있는 유전자형으로 본 연구에서도 이 시기 동안 크게 유행하였으며 다른 유전자형에 비해 월등하게 높은 분포양상을 보이는 것으로 확인되었다 (5,6). 또한 2004년에는 인천 및 국내 타 지역에서 검출되지 않았던 G3P[10]의 새로운 유전자형이 인천지역에서 높은 빈도로 검출됨으로서 새로운 유전자형의 출현

및 향후 로타바이러스의 유행에 많은 영향을 줄 것으로 사료된다.

2002년부터 2004년까지 인천지역에서 유행하는 로타바이러스의 유전자형에 대한 분포양상을 종합적으로 살펴보면 예전부터 우세하게 분포하는 것으로 알려진 G2P[4], G1P[8] 및 G4P[6]의 경우 주요한 분포양상을 보이는 것으로 확인하였지만 시기에 따라서 그 발생빈도는 현격하게 변화하고 있음을 확인할 수 있어 신규 백신의 도입 및 로타바이러스의 유행양상을 파악하기 위해 지속적인 모니터링이 필요한 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 국립보건연구원 급성설사질환 실험실감시에 의한 사업이었으며, 참여해주신 병·의원에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 1) 김경희, 양재명, 주세익, 조영걸, Glass RI, 조양자: Importance of rotavirus and adenovirus types 40 and 41 in acute gastroenteritis in Korean children. *J Clin Microbiol* **28**: 2279-2284, 1990.
- 2) 김동수, 박범수, 정동혁, 안재문, 김철중, 강신영: 국내 일부지역 설사환자의 로타바이러스 감염실태 및 분리 동정. *대한소아과학회지* **42**: 501-509, 1999.
- 3) 김운호: 국내에서 유행하는 A군 로타바이러스의 유전자형 분포 및 염기서열 분석. 중앙대학교 석사논문, 2002.
- 4) 김효현, 강성훈, 김원용: 서울지역 영아 설사환자로부터 분리한 로타바이러스 유전자형 및 G9 VP7 유전자 염기서열. *J Bacteriol Virol* **35**: 67-74, 2005.
- 5) 박선경: 대전지역 설사환자의 병원미생물학적 요인과 Rotavirus 유전자분석에 관한 연구 충남대학교 대학원. 박사학위논문, 2004.
- 6) 장지민, 김미정, 정혜원, 박대원, 손장욱, 손창성, 이승은, 김민자: 신생아실 로타바이러스 유행의 역학적 특성과 효과적인 조절 대책에 관한 연구. *감염과 화학요법* **37**: 311-318, 2005.
- 7) 정재근: 광주지역에서 발생한 감염성 설사질환의 병원체 검출 및 분석 전남대학교 대학원. 박사학위논문, 2003.
- 8) Beards G, Desselberger U, Flewett TH: Temporal and geographical distributions of human rotavirus serotypes, 1983 to 1988. *J Clin Microbiol* **27**: 2827-2833, 1989.
- 9) Bern C, Martinez J, Zoysa I, Glass RI: The magnitude of the global problem of diarrheal disease: a ten-year up-date. *Bull WHO* **70**: 705-714, 1992.
- 10) Gentsch JR, Glass RI, Woods P, Gouvea V, Gorziglia M, Flores J, Das BK, Bhan MK: Identification of group A rotavirus gene 4 types by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* **30**: 1365-1373, 1992.
- 11) Gouvea V, Glass RI, Woods P, Taniguchi K, Clark HF, Forrester B, Fang YZ: Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J Clin Microbiol* **28**: 276-282, 1990.
- 12) Guillermo M, Ruiz-Palacios, et al: Safety and Efficacy of an Attenuated Vaccine against Severe Rotavirus Gastroenteritis. *the New England Journal of Medicine* **354**: 11-22, 2006.
- 13) Hwa-Gan H. Chang, Perry F. Smith, Joel Ackelsberg, MPH, Dale L. Morse, RPGER I. Glass: Intussusception, Rotavirus Diarrhea, and Rotavirus vaccine Use Among Children in New York State. *PEDIATRICS* **108**: 54-60, 2001.
- 14) Hoshino Y, Sereno MM, Midthum K: Independent segregation of two antigenic specificities (VP4 and VP7) involved in neutralization of rotavirus infectivity. *Proc Natl Acad Sci USA* **82**: 8701-8704, 1985.
- 15) Irene Pérez-Schael, María J. Guntiñas, Mireya Pérez, Vito Pagone, Ana M. Rojas, Rosabel González, Walter Cunto, Yasutaka Hoshino, Albert Z. Kapikian: Efficacy of the Rhesus: Efficacy of the Rhesus Rotavirus-based Quadrivalent Vaccine in Infants and Young children in Venezuela. *N Engl J Med* **337**: 1181-1187, 1997.
- 16) Kang G: Rotavirus vaccines. *Indian J Med Microbiol* **24**(4): 252-257, 2006.
- 17) Kang JO, Kim CR, Kilgore PE, Choi TY: G and p genotyping of human rotavirus isolated in a University hospital in Korea: implications for nosocomial infections. *Korean Med Sci* **21**(6): 983-988, 2006.
- 18) Kapikian AZ, Flores J, Hoshino Y: Rotavirus: The Major etiologic agent of severe infantile diarrhea may be controllable by a "Jennerian" approach to vaccination. *J Infect Dis* **153**: 815-822, 1986.
- 19) Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R: Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* **10**: 1075-1081, 1972.
- 20) Martella V, Ciarlet M, Camarda A, Pratelli A, Tempesta M, Greco G, Cavalli A, Elia G, Decaro N, Terio V, Bozzo G, Camero M, Buonavoglia C: Molecular characterization

of the VP4, VP6, VP7, and NSP4 genes of lapine rotaviruses identified in Italy emergence of a novel VP4 genotype. *Virology* **314**: 358-370, 2003.

- 21) **Matty AS, Marion PG, Koopmans M, Laetitia M, Kortbeek, Leeuwen NJ, Bartelds AIM, Yvonne THP, van Duynhoven:** Gastroenteritis in sentinel general practices, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* **1**: 82-91, 2001.
- 22) **Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI:** Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* **9**: 565-572, 2003.
- 23) **Parashar U. Session 1:** Epidemiology and disease burden. In: Proceedings of the Sixth International Rotavirus Symposium, *Mexico City*, **6**: 7-9, 2004.
- 24) **Penina Haber, Robert T. Chen, MA, Lynn R. Zanardi, Gina T. Mootrey, DO, Roseanne English, M. Miles Braun:** An Analysis of Rotavirus Vaccine Reports to the Vaccine Adverse Event Reporting System. *PEDIATRICS* **113**: 353-359, 2004.
- 25) **Prasad BV, Wang GJ, Clerx JP, Chiu W:** Three-dimensional structure of rotavirus. *J Mol Biol* **199**: 269-275, 1988.
- 26) **Rahman M, Matthijnssens J, Nahar S, Podder G, Sack DA, Azim T, Van Ranst M:** Characterization of a novel P[25], G11 human group A rotavirus. *J Clin Microbiol* **43**: 3208-3212, 2005.
- 27) **Seo JK, Sim JK:** Overview of rotavirus infections in Korea. *Pediatr Int* **42**: 406-410, 2000.
- 28) **Timo Veskiari, David O, et al:** Safety and Efficacy of a pentavalent Human-Bovine (WC3) Reassortant Rotavirus Vaccine. *the New England Journal of Medicine* **354**: 23-33, 2006.