



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

제주지역 노로바이러스의
발생 특성

濟州大學校 産業大學院

建設環境工學科

金彦周

2011 年 7 月

碩士學位論文

제주지역 노로바이러스의
발생 특성

濟州大學校 産業大學院

建設環境工學科

金彦周

2011 年 7 月

제주지역 노로바이러스의 발생 특성

指導教授 甘 相 奎

이 論文을 工學 碩士學位 論文으로 提出함.

2011 年 7 月

濟州大學校 産業大學院

建設環境工學科

環境工學專攻

金 彦 周

金 彦 周의 工學 碩士學位 論文을 認准함.

2011 年 7 月

審査委員長	吳 德 鐵 印
委 員	金 鎭 瑾 印
委 員	甘 相 奎 印

목 차

I. 서론	1
II. 이론적 배경	4
1. 노로바이러스의 특성	4
2. 노로바이러스의 감염 및 치료	6
3. 지하수 노로바이러스의 오염 및 소독 처리	7
4. 노로바이러스의 진단	9
III. 재료 및 방법	11
1. 시료채취 및 처리	11
2. RT(reverse transcription) - PCR(polymerase chain reaction, 중합효소 연쇄반응법) 및 전기영동	15
3. 노로바이러스의 유전자형 분석	17
IV. 결과 및 고찰	19
1. 노로바이러스에 의한 위장염환자의 발생 및 분자역학적 특성	19
1) 노로바이러스의 위장염환자 발생 특성	19
2) 노로바이러스의 분자유전학적 특성	28
2. 지하수의 노로바이러스 오염 실태조사 및 특성	34
V. 결론	40
VI. 참고문헌	42

List of Figures

Fig. 1. Locations of groundwater sampling	12
Fig. 2. Incidence rate of the diarrhea patients caused by sum of major viruses and norovirus gastroenteritis in Jeju from 2008 to 2010	20
Fig. 3. Monthly variation of norovirus gastroenteritis incidence in Jeju from 2008 to 2010	23
Fig. 4. Comparison of incidence rate of norovirus gastroenteritis patients with sex in Jeju from 2008 to 2010	25
Fig. 5. Incident rate of norovirus gastroenteritis patients with age in Jeju from 2008 to 2010	27
Fig. 6. Incidence frequency of genogroup(GI and GII) of norovirus gastroenteritis patients in Jeju from 2008 to 2010	31
Fig. 7. Number of incidence of major genotypes of norovirus gastroenteritis patients in Jeju from 2008 to 2010	31
Fig. 8. Phylogenetic tree generated using norovirus GI sequences detected from gastroenteritis patients in Jeju from 2008 to 2010. In sample name, JJ means Jeju province	32
Fig. 9. Phylogenetic tree generated using norovirus GII sequences detected from gastroenteritis patients in Jeju from 2008 to 2010. In sample name, JJ means Jeju province	33

List of Tables

Table 1. Locations of groundwater sampling	13
Table 2. The sequence of oligonucleotides used for the detection of RNA of norovirus	16
Table 3. Norovirus reference strains used for sequence analysis	18
Table 4. Incident numbers of norovirus gastroenteritis patients in Jeju from 2008 to 2010	23
Table 5. Comparison of incident numbers of norovirus gastroenteritis patients with sex in Jeju from 2008 to 2010	25
Table 6. Incident numbers of norovirus gastroenteritis patients with age in Jeju from 2008 to 2010	27
Table 7. Genotypes of norovirus gastroenteritis patients in Jeju from 2008 to 2010	30
Table 8. Physicochemical properties of the groundwater sampled in this study	35
Table 9. Facility feature of the groundwater wells in this study	35
Table 10. physicochemical properties of the groundwater samples at site A in Table 9	36

Characteristics of Norovirus Incidence in Jeju

Yun-Joo Kim

Department of Construction and Environmental Engineering

Graduate School Industry

Jeju National University

Supervised by Professor Sang-Kyu Kam

Summary

The incidences of noroviruses and their molecular genetic characteristics from gastroenteritis patients and contamination and characteristics of noroviruses in groundwaters in Jeju from 2008 to 2010 were examined and the results obtained were summarized as follows:

1. The norovirus incidences from viral gastroenteritis patients were 9.2% in 2008, 10.3% in 2009 and 12.8% in 2010, showing a yearly increasing trend.
2. The norovirus incidences occurred in entire months and their rate with month increased from November (25 cases, 6.8%), was higher from December to February with the values from 68 cases (18.5%) to 88 cases (23.95), decreased from March (42 cases, 11.4%) and was lower from June to September with the values from 1 case (0.3%) to 8 cases (2.2%).

3. The norovirus incidences with sex were 212 cases (59.7%) in male and 143 cases (40.3%) in female, showing higher incidences in male. The norovirus incidences occurred in entire age and their rate with age was 266 cases (77.3%) in the age of 0~5 years, 25 cases (7.3%) in the age above 60 years, 16 cases (4.7%) in the age of 6~9 years and in the range of 5~8 cases (1.5~2.3%) in the age from teens to forties, indicating that the infants below 5 years were the most susceptible to norovirus infection and the men or women in the age from teens to forties were the most insensitive to norovirus infection.
4. The norovirus incidences were caused by total 18 genotypes with 8 among genogroup I (GI) and 10 among genogroup II (GII) and their rate by GI and GII was 30 cases (11.5%) and 231 cases (88.5%), respectively, indicating that they were mainly caused by GII. Among GII, GII-4 was the most predominant genotype with 70.5% and was the major genotype giving rise to norovirus incidences in Jeju, together with GII-3 (6.1%) and GI-4 (4.1%).
5. From 20 groundwaters sampled at 9 wells (4 non-drinking water wells and 5 drinking water wells), norovirus was detected from 2 groundwaters sampled at one non-drinking water well and its genotype was GI-5 and GI-8.

From this study, it could be found that it is necessary to control sanitary management thoroughly and to strengthen the management of contamination sources for the groundwater facilities, such as the continuous monitoring of norovirus in groundwaters and a thorough disinfection of groundwaters, the use of groundwater suitable to management service, and the change and repairing of old groundwater well facilities, in order to protect norovirus infection.

I. 서론

바이러스성 설사질환의 주요 병원체로 norovirus(노로바이러스), sapovirus를 포함한 calicivirus, rotavirus, adenovirus, astrovirus 등이 있다(Ando 등, 1994). 이 중 노로바이러스는 영·유아뿐만 아니라 성인층에도 감염이 높고 집단식중독을 일으키는 주요한 원인 병원체로 알려져 있다(Chikhi-Brachet 등, 2002; Guntapong 등, 2004).

노로바이러스 감염에 의해서 유발되는 위장염(gastroenteritis)은 1929년 세균성 원인이 아닌 원인불명의 질환으로 최초 보고되었으며 그 당시에는 원인 병원체를 알 수 없어 그 증상 및 역학적 특성에 근거하여 winter vomiting disease로 불리어졌다(Zahorsky, 1929). 그 후 1968년 Kapikian 등(1972)이 면역전자현미경(IEM, immuno electron microscope)을 이용하여 그 원인체를 최초 확인함으로써 그 원인 바이러스를 Norwalk virus로 명명하였다. 그 후 이와 유사한 바이러스들이 비세균성 설사환자에서 분리되었으며 이들 원인 바이러스는 형태학적 성상에 근거하여 소형 구형바이러스(SRSV, small round structured viruses)라는 총체적인 명칭 및 Norwalk-like virus로 불리다가(Alder, 1969; Kapikian 등, 1972), 2002년에 국제바이러스분류위원회(ICTV, International Committee on Taxonomy of Viruses)에서 norovirus로 명명되어 사용되고 있다(Mayo, 2002).

노로바이러스는 *Caliciviridae*에 속하는 약 7.5 KB의 단일사슬(single stranded) RNA 바이러스로 5가지의 genogroup GI형~GV형이 존재하며 이 중 genogroup GI형, GII형이 인체에서 급성 위장염을 일으키는 병원성 바이러스로 알려져 있다(Vinje 등, 2003; Wang 등, 2005; Zheng 등, 2006). 노로바이러스의 GI형과 GII형은 분자생물학적, 역학적, 계통학적으로 매우 상이하며 capsid 유전자의 염기서열에 따라 GI형은 14종, GII형은 17종 등 31종의 유전자형(genotype)으로 분류되고 있다(Kageyama 등, 2004). 이렇게 다양한 노로바이러스의 유전자형 종류에 따라 인체의 면역학적 저항성도 다르게 나타남으로써 일반적으로 노로바이러스에 대한 항체는 인체에서 흔히 발견되지만 노로바이러스에 대한 면역학적 저항성은 나타나지 않는 것으로 알려져 있다(Atmar, 2001).

노로바이러스에 의한 위장염의 집단발생은 학교, 양로원, 캠프, 순항선, 요양원, 가정, 레스토랑 등 다양한 여러사회 집단에서 발생하고 있으며 노로바이러스의 전파는 분변으로 오염된 음식물이나 식수, 비말, 개인적인 접촉, 환경오염을 통해 일어나며 사람에서 사람으로의 감염 즉 2차 감염도 흔히 일어난다(LeBaron 등, 1990; Glass 등, 2000).

노로바이러스는 전 세계적으로 성인 및 유아에서 비세균성 급성 위장염을 일으키는 가장 흔한 원인 바이러스로서(Glass 등, 2000), 세균성식중독과는 달리 선진국에서 오히려 더 많이 보고되고 있다. 미국의 경우 식품매개성 및 수인성으로 인한 집단 발병 중 약 70% 이상이 노로바이러스에 의해 발병되는 것으로 밝혀졌으며(Blackburn 등, 2004; Widdowson 등, 2005) 지하수가 노로바이러스를 포함한 일반적인 수인성 질병의 전파경로로 알려져 있다(Mark 등, 2003). 국내에서는 노로바이러스에 의한 집단 식중독 사례가 Jee 등(1999)에 의해 보고된 이후 특히 학교 급식 및 수학여행객에게서 대형 식중독 사례들이 보고되고 있으며 주요 오염원 중의 하나로 오염된 지하수가 추정되면서 공중보건학적으로 큰 관심 집중의 대상이 되고 있다. 제주도의 경우는 2004년 노로바이러스에 의한 식중독 원인이 오염된 지하수로 밝혀진(Kim 등, 2005) 이후 지속적으로 노로바이러스에 의한 식중독이 발생하고 있다(식품의약품안전청, 식중독통계시스템, 2011).

일반적으로 환자의 분변으로 배출된 노로바이러스는 지하수를 오염시키고 오염된 지하수를 식수로 사용하거나 식품을 세척하는 경우 대규모 집단식중독이 일어나는 것으로 알려져 있다. 환경부에서는 지하수에 의한 노로바이러스 식중독사고 예방을 위해 노로바이러스 검출이 우려되는 지하수 이용시설을 중심으로 지하수 원수 중 노로바이러스 오염실태를 조사한 결과, 2008년 1차 조사 총 300개의 지점 중 104개 지점(34.7%)에서 노로바이러스가 검출되었으며 제주지역의 지하수도 4개 조사 지점 중 1개 지점에서 노로바이러스가 검출된 것으로 확인됨으로써 이로 인한 노로바이러스 질병 발생이 우려되고 있다(방 등, 2008; 환경부, 2008).

이와 같이 노로바이러스에 의한 질병 발생은 공중보건학적으로 관심 집중의 대상이 되고 있으나 노로바이러스는 배양방법 및 동물모델이 개발되어 있지 않아 인체 내 병인기전 및 면역기전을 이해하고자 하는 연구는 매우 제한되어 있으며 노로바이러스 오염원과 이로 인한 노로바이러스 감염 및 질병 발생 간의 관련성에 대한 연구

는 미흡한 실정이다. 또한 분자생물학적 진단기술 등의 발전으로 인하여 과거 원인 불명으로 알려졌던 위장염 환자의 원인 병원체가 노로바이러스로 밝혀지고 있으나 노로바이러스의 유전자 진단법은 사용하는 primer나 probe의 종류 및 조성, 유전자의 추출, 증폭 및 검출조건에 따라서 상당한 민감도의 차이가 발생하며 조기탐지 측면에서는 한계가 뒤따름에 따라 노로바이러스를 검출하기 위한 보편적이고 표준화되어 있는 신속한 면역진단법의 개발이 요구되고 있다.

본 연구에서는 2008년부터 2010년까지 제주지역의 위장관염 환자 검체를 대상으로 노로바이러스를 검출하여 발생경향, 성별, 연령별 분포, 계절적 증감 등을 파악하여 노로바이러스가 차지하는 역할 및 중요성을 살펴보고 제주지역에서 유행하고 있는 노로바이러스의 유행주 확보 및 유전학적 특성을 비교 분석함으로써 신속하고 표준화된 진단체계 개발을 위한 자료를 제공하고자 한다. 또한 2004년 노로바이러스에 오염된 지하수가 원인이 되어 식중독이 발생되었던 장소의 주변 지하수 및 집단급식소 중 식품용수로 사용하는 지하수에 대한 노로바이러스 오염 여부를 조사하고 오염 원인을 파악함으로써 지하수 관련 집단식중독 발생 예방을 위한 기틀을 마련하고자 한다.

II. 이론적 배경

1. 노로바이러스의 특성

노로바이러스는 1968년 Kapikian 등(1972)이 면역전자현미경(IEM)을 이용하여 미국 오하이오주 Norwalk 초등학교에서 발생한 집단식중독 환자의 분변에서 감염력 있는 27 nm 크기의 바이러스 입자를 처음 발견하여 Norwalk virus로 불리었다. 그 후 유사한 식중독환자에서 Norwalk virus와 비슷한 바이러스가 계속 발견되었으며 Montgomery county(1977), Hawaii(1977) 및 Snow Mountain virus(1982)가 순차적으로 발견되어 보고되었다(Thornhill 등, 1977; Dolin 등, 1982). 이 바이러스들은 원형의 작은 바이러스이고 서로 동일한 유전자 구조를 갖고 있기 때문에 small round structured virus(SRSV)라고도 하였으며 Norwalk-like virus라고도 불리다가 2002년에 국제바이러스명명위원회(ICTV)에서 바이러스의 유전체 염기서열, 유전자의 구성, 숙주동물의 특성 분석을 통한 분류법에 의하여 Norwalk-like virus는 norovirus로 Sapporo-like virus는 sapovirus로 명명되어 사용되고 있다(Mayo, 2002).

노로바이러스는 형태학적으로 27~40 nm 크기의 구형 바이러스이며 분자학적으로 sapovirus, lagovirus, vesivirus 등과 함께 *Caliciviridae*에 속하는 약 7.5 KB의 단일 사슬 RNA 바이러스로서 유전자는 3개의 단백질(ORF, open reading frame)을 코딩하는 것으로 알려져 있다(Dingle 등, 1995). ORF1은 바이러스의 3C like protease에 의하여 RNA dependent RNA polymerase(RdRp)를 포함하여 6개의 단백질로 분리되는 비구조 단백질(nonstructural protein)을 생산하며(Belliot 등, 2003) ORF2와 ORF3은 60 kDa의 capsid 단백질 VP1과 VP1의 발현과 안전성에 필요한 20 kDa의 VP2 단백질을 만들어낸다. VP1 단백질은 P(protruding, P1과 P2)와 S(shell)의 두 개의 구조로 구성되었는데 S 도메인은 바이러스 외부형태 유지에 관여하고 P 도메인은 세포 수용체 결합부위를 가지고 세포간의 상호작용과 면역인지의 역할을 수행한다(Bertolotti-Ciarlet 등, 2003; Nilsson 등, 2003; Tan 등, 2004; Chakravarty 등, 2005).

노로바이러스는 유전학적 또는 면역학적으로 매우 다양한 바이러스로 알려져 있다. 일반적으로 노로바이러스에 대한 항체는 인체에서 흔히 발견되지만 노로바이러스에 대한 면역학적 저항성은 나타나지 않는 것으로 알려져 있는데(Atmar, 2001) 그 이유는 노로바이러스에 대한 인체의 면역학적 저항성은 바이러스의 유전자형에 따라 다르고 바이러스의 genotype 종류는 매우 다양하기 때문이다. 노로바이러스는 RNA dependent RNA polymerase(RdRp, ORF1)와 capsid protein VP1(ORF2)의 서열에 따라 크게 5개의 genogroup(GI-GV)으로 분류되며 사람에게서는 주로 GI, GII, GIV가 소와 쥐에게서 GIII, GV가 검출되었다고 보고되고 있다(Belliot 등, 2003). 이 중 인체의 급성 위장염을 일으키는 주요 유전자형인 GI, GII는 분자생물학적, 역학적 및 계통학적으로 매우 상이하며(Vinje 등, 2003; Wang 등, 2005; Zheng 등, 2006) 현재까지 노로바이러스 capsid 유전자의 염기서열에 따라 모두 31종의 유전자형으로 분류되고 있다(Kageyama 등, 2004). 노로바이러스의 분자계통학적 분석(Phylogenetic analysis)은 주로 바이러스의 RdRp 또는 capsid 유전자의 염기서열 분석을 이용하여 수행하여 왔다. RdRp는 노로바이러스 유전자형에 상관 없이 유전자 염기서열이 잘 보존되어 있고 capsid 유전자 염기서열은 바이러스 항원과 밀접한 관계를 가지고 있어 분자계통학적 분류방식의 대상으로 많이 사용되고 있다.

2. 노로바이러스의 감염 및 치료

1) 노로바이러스의 감염원 및 전파경로

노로바이러스 주요 감염원은 인간의 위장으로 알려져 있으며, 감염된 사람의 분변을 통해 토양과 물이 오염되며 오염된 물, 오염된 패류, 그리고 오염된 물로 세척한 식품(채소류, 과일류 등)의 섭취 및 오염된 환경에 의하여 인체에 질병을 유발하며 노로바이러스 감염 회복 후 최소 3일까지는 전염성을 가지고 있고 일부는 회복 후 2주간 전염력을 갖는 경우도 있어 2차감염의 우려가 높다

전파경로는 주로 오염된 음용수 및 섭취에 의하여 전이되며 노로바이러스에 오염된 물건을 만진 손으로 입을 만졌을 때, 질병이 있는 사람을 간호할 때, 직·간접적으로 구토물에 노출되었을 때, 공기 중에 오염되어 있는 경우, 환자와 식품, 기구 등을 함께 사용하였을 경우 등 다양하며 특히 유아원이나 양로원에서 일하는 사람은 노로바이러스에 걸린 어린이나 주민에 대해 특별한 주의가 필요하다(Woo 등, 2004).

노로바이러스는 전염력이 매우 강하여 10-100개 미만의 적은 입자수로도 감염이 성립되며 일반적으로 40일 정도 활성을 유지하는 것으로 알려져 있다. 60℃ 가열 등에서도 활성 유지가 가능하며 냉동·냉장 온도에서도 수개월에서 수년까지 그 감염력이 유지되는 특성을 가지고 있다. 실온에서 pH 2.7에 3시간 동안 노출시키거나 20%의 에테르로 4℃에서 18시간 처리 후에도 그 감염력이 유지된다. 특히 바이러스에 의한 지하수오염은 토양이나 지하수를 통하여 장거리 이동이 가능하므로 그 위험성이 높다(Thornton 등, 2004).

2) 노로바이러스의 감염증상 및 치료

노로바이러스에 오염된 음식을 먹거나 물을 마시면 구토, 수양성설사, 오심, 메스꺼움, 발열증상을 유발하며 일반적으로 24-48시간 후 증상이 나타나기 시작하며 보통 1~2일 정도 지속되다가 자연 치유된다. 그러나 어린이, 노인 등 면역력이 약한 환자의 경우 구토와 설사로 인한 심한 탈수 증세가 나타나 사망하는 경우도 있다. 현재 노로바이러스에 대한 항바이러스제는 없는 상태이며 주로 충분한 수분과 영양을 공급하며 탈수증상이 심한 경우에는 병원에서 수액치료를 하고 있다.

3. 지하수 노로바이러스의 오염 및 소독 처리

1) 지하수 노로바이러스의 오염

산업의 발달, 생활수준 향상과 더불어 오염물질의 발생이 증가하고 있고, 특히 수인성 병원미생물 오염은 그 주요 발생원이 사람을 위주로 한 동물의 분변이기 때문에 인축 분변 배설물의 수질오염은 인간으로 하여금 수인성질환 병원체의 폭로기회를 증가시켜주고 있다.

지하수내에서 엔테로바이러스(enterovirus)의 존재가 보고됨에 따라(Marzouk 등, 2005) 많은 국가에서 전염성을 가진 수인성 바이러스로 인한 위장염의 일반적인 원인으로 엔테로바이러스(enterovirus)나 노로바이러스(norovirus)같은 잠재적인 병원성 장관계 바이러스들을 들고 있다.

수인성질환의 80% 이상은 오염된 음용수가 감염매개체로 작용하여 발생한 것으로 보고되고 있으며 특히 노로바이러스의 경우 지하수와 관련된 집단발병을 일으키는 주요 바이러스감염매개체 중의 하나로 알려져 있다(Mark 등, 2003). 미국에서는 1997년과 1998년 동안 발생한 바이러스성 병원체와 관련된 수인성 질병의 80%가 오염된 샘플로 인한 것이었으나(Barwick 등, 2000) 대체적으로 1971년부터 2002년에 이르기까지 위장염을 유발하는 수인성 질병의 1/3이 지하수 수계로부터 발생하는 것으로 보고되어 있다(Reynolds 등, 2008). 제주도의 경우는 2004년 비슷한 시기에 근접한 숙박업소를 이용했던 수학여행객에서 연이어 노로바이러스 식중독이 발생했는데 그 원인은 비음용인 오염된 지하수를 주방에서 식품 조리용으로 사용한 것으로 밝혀졌으며(Kim 등, 2005) 환경부의 2008년 지하수의 노로바이러스 오염실태 조사 결과에서도 4개 조사 지점 중 1개 지점에서 노로바이러스가 검출됨으로써(방 등, 2008) 지하수 소독처리 및 관리 용도에 적합한 지하수 사용, 노후된 지하수관정의 시설 개·보수 등 지하수 이용시설에 대한 오염원 관리 강화가 필요하다.

또한 제주지역의 수원은 대부분 지하수에 의존하고 있는 상황으로써 노로바이러스 질병 발생 예방을 위하여 지하수의 노로바이러스 오염실태 파악 및 개선대책이 필요하다.

2) 지하수 노로바이러스 소독 처리

국립환경과학원에서 소독되지 않은 지하수에서 노로바이러스를 제거하기 위해 다양한 제거방법을 연구한 결과에 따르면 염소, 자외선, 오존 등 다양한 제거기술로 노로바이러스 유전자 및 감염성 제거가 가능하다고 밝혔으며 특히, 정수장 소독제로 널리 사용되는 염소를 물속에 0.2 ~ 0.5 ppm 정도만 잔류시켜도 노로바이러스 제거가 가능하다고 하였다.

정수장에서 사용하는 소독제인 염소의 경우 잔류염소 0.2~0.5 ppm 정도에서 뮤린노로바이러스가 99.99%(4 log) 제거되었고 유전물질도 평균 97.2% 제거되는 것으로 나타났으며, 양전하를 띠고 있는 바이러스필터는 폴리오바이러스와 대장균을 모두 99.9%(3 log) 이상 제거하는 것으로 조사되었다. 또한 뮤린노로바이러스와 폴리오바이러스에 자외선을 18.8 mJ/cm²과 112.5 mJ/cm²로 처리할 경우 유전물질은 검출되었으나, 바이러스는 각각 99.98%(3.7 log)와 99.99997%(6.5 log) 이상 제거되는 것으로 조사되었다.

사람 노로바이러스는 세포배양이 불가능하기 때문에 감염성 분석을 위해 세포배양이 가능하면서 사람 노로바이러스와 형태가 유사한 뮤린노로바이러스와 폴리오바이러스로 대신하여 실험하였다.

국립환경과학원은 지하수 중 노로바이러스를 수돗물 정수처리기준(바이러스 제거율 99.99% 4 log) 이상으로 안전하게 제거하고, 염소냄새를 최소화하여 거부감 없는 맛있는 먹는 물을 만들기 위해서는 각각의 개별방법을 조합한 복합처리기술이 필요하다고 설명하였는데 복합처리기술이란 염소, 자외선, 바이러스필터, 오존, 활성탄 등 개별방법을 지하수 수질특성에 적합하도록 2개 이상 조합하는 처리방법을 말하며, 복합처리기술을 현장에 설치하여 적용성을 평가 한 후 소규모 수도시설이나 다중이용시설 등의 지하수에 대해 보급될 수 있도록 추진할 예정이라고 밝혔다.

우리나라와 미국의 수돗물 바이러스기준은 정수처리기술(TT, treatment technique)기준에 따라 99.99%(4 log) 이상 제거하도록 규정되어 있다.

4. 노로바이러스의 진단

일반적으로 노로바이러스 진단은 전자현미경 이용 방법(EM, electron microscope), 면역학적 방법(EIA, enzyme immunoassay), 분자생물학적 방법(Nucleic acid detection)을 이용하여 검출하고 있으나 세포배양이 불가능하여 세계적으로 환경 중 감염성 있는 노로바이러스 분석 방법은 없다. 각 검출 방법의 특성은 다음과 같다.

1) 전자현미경 이용 방법(EM) : 바이러스의 형태학적 특성으로 노로바이러스를 확인하기 위한 방법으로 분변 등에서 노로바이러스를 검경하기 위해서는 10^6 particles/mL 정도의 농도가 되어야 한다. 그러나 많은 숙련도를 요구하며 아주 초기 단계에서의 검출에 효과가 있다(Atmar, 2001)

2) 면역학적 방법(EIA) : 면역반응을 이용한 노로바이러스 검출방법으로 $10^4 \sim 10^6$ viral particles/mL 의 상대적으로 적은 바이러스 농도에서 검출이 가능하나 노로바이러스 특이항체를 이용한 면역진단법은 일부 대형 진단제 생산회사에서 개발되어 있지만 현재 노로바이러스 검출에 효율적인 항체의 개발이 미흡하고 항원성의 심한 변이에 의해 낮은 민감도를 보여 보편적으로 사용되지 못하고 있으며 유전자 검출법에 비해 민감도가 낮다

3) 분자생물학적 방법(Nucleic acid detection) : 유전자 증폭에 의한 진단법은 seminested RT PCR 등 conventional RT PCR법과 형광이 표지된 probe를 사용한 realtime RT PCR법이 개발되어 사용되고 있으며 현재까지 노로바이러스의 진단을 위해 가장 보편적이고 표준화되어 사용되고 있는 방법이다.

이와 같은 노로바이러스 진단 방법들 중 국내에서는 1990년대에 이르러 분자생물학적 진단기술 등의 발전에 따라 과거 원인 불명으로 알려졌던 위장염 환자의 원인 병원체가 분자생물학적 방법에 의해 노로바이러스로 밝혀지기 시작한 이후 식중독 주요 원인 식품 및 물을 중심으로 검사법 연구가 진행되어 오고 있다. 질병관리본부

에서는 2006년 6월 노로바이러스를 법정전염병 [병원체감시대상(실험실감시대상전염병)] 으로 지정하여 관리하면서 환자에 대한 연구, 식품의약품안전청에서는 식품 및 식품용수의 노로바이러스 검출법에 관한 연구, 환경부에서는 지하수에서 노로바이러스 검출 및 관리를 위한 연구 등 노로바이러스의 효율적인 관리를 기하고자 여러기관에서 다각적으로 노력하고 있다. 그러나 환자의 경우 장(腸)에서 증식하여 배출되기 때문에 노로바이러스 검출이 쉬우나 식품과 환경시료는 낮은 농도로 바이러스가 존재하고 저해물질이 존재하기 때문에 많은 양의 시료를 필요로 하며 시료채취와 농축 과정이 필요하여 검출에 어려움이 뒤따르고 있음에 따라 저농도로 존재하는 바이러스 검출법의 개발이 공중보건학적으로 필요하다.

노로바이러스는 높은 감염성과 환경매체에서 다양한 물리화학적 요인들에 대하여 저항성이 매우 큰 바이러스로서 신속하고 민감한 진단방법은 노로바이러스에 의한 질병의 예방에 있어서 매우 중요하다. 노로바이러스 집단환자 발생의 대형화 추세에 따라 원인규명 및 확산 방지를 위하여 신속하고 정밀한 검출 및 진단법 개발이 요구되고 있으며 이를 위하여 국내 유행하는 노로바이러스의 유전자 염기서열 축적을 통한 분자유전학적인 자료 확보가 필수적이다.

III. 재료 및 방법

1. 시료채취 및 처리

1) 위장염환자 검체 수집 및 처리

가. 시료채취

제주지역 관내 병원을 통해 2008년 1,104건, 2009년 1,184건, 2010년 1,131건 등 총 3,419건의 수집된 설사 분변 가검물을 사용하였다. 분변 1 g을 멸균된 0.1 M PBS(phosphate buffered saline) 9 mL에 넣어 3분간 vortex한 후 4°C에서 3,000 rpm에서 30분간 원심분리(Hanil, Union 32R plus, Korea)하여 상층액 500 μ L를 취해 새로운 튜브에 옮겨 소분한 뒤 -70°C에 보관하였다가 노로바이러스 검출에 사용하였다.

μ

나. 핵산(RNA) 추출

분변 부유액 150 μ L에 Trizol(Invitrogen, USA) 450 μ L를 첨가하고 30초간 vortex한 후 5분간 실온에서 방치한 다음 chloroform 150 μ L를 첨가하고 30초간 vortex하였다. 10분간 실온에 방치한 다음 7,500 rpm으로 4°C에서 15분간 원심분리하였다. 상층액을 취하여 동량의 isopropyl alcohol을 넣고 혼합한 후 -20°C에서 24시간 방치하였다. 그 후 14,000 rpm, 4°C에서 30분간 원심분리하여 상층액을 제거한 다음 70% 에탄올 800 μ L를 첨가하여 14,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리하여 세척하였다. 상층액을 제거하고 20분간 실온에서 건조시킨 후 DEPC(diethyl pyrocarbonate) 처리된 멸균 증류수 30 μ L 첨가하여 RNA를 용출시키고 이를 RT(reverse transcription)-PCR (polymerase chain reaction, 중합효소연쇄반응법)을 위한 주형으로 사용하였다.

μ

μ

2) 지하수 시료채취 및 처리

가. 지하수 채수 지점

지하수 시료채취 지점은 Fig. 1 및 Table 1과 같으며 2008년 채수지점은 2004년 노로바이러스에 오염된 지하수가 원인이 되어 식중독이 발생했던 장소 및 주변 지역 4개 지점(A~D)을 대상으로 6월부터 12월까지 채수하였으며 2010년은 집단급식 시설 중 식품제조용수로 사용하는 지하수 5개 지점(E~I)에 대해 10월에 각 1회 채수하였다.

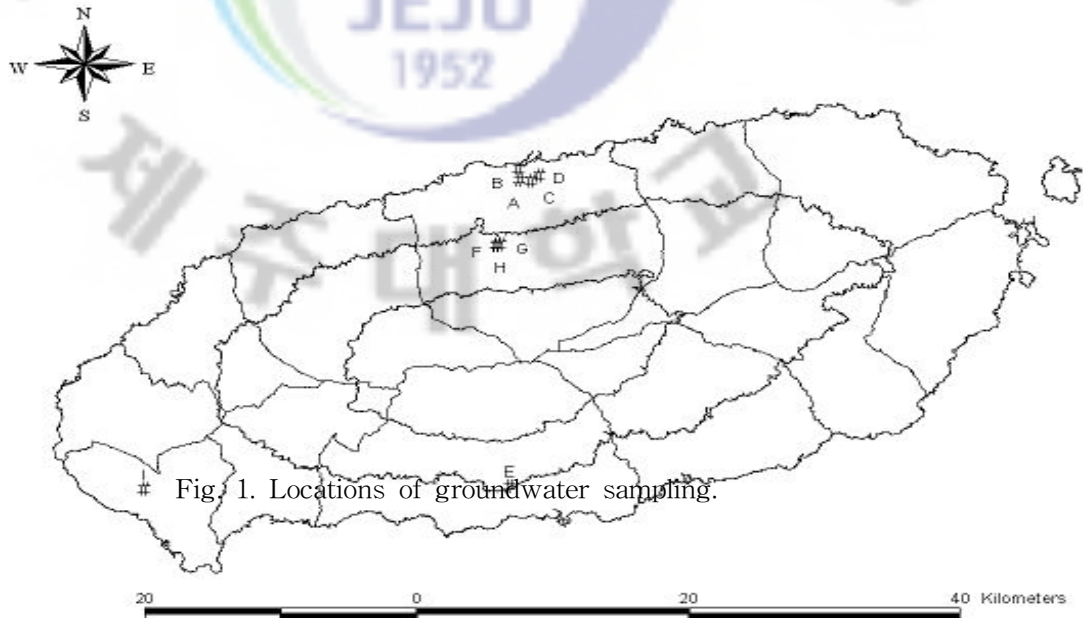


Fig. 1. Locations of groundwater sampling.

Table 1. Locations of groundwater sampling

Year	Point	Location	Well depth(m)	Altitude (m)	Sampling period
2008	A	Ildodong, Jeju City	93	56	June, July, Aug., Oct., Nov., Dec.
	B	Ildodong, Jeju City	30	14	June, July, Aug., Oct., Nov., Dec.
	C	Ildodong, Jeju City	105	61	June, July
	D	Ildodong, Jeju City	110	67	June
	E	Serhodong, Seoguipo City	170	215	Oct.
2010	F	Oradong, Jeju City	237	253	Oct.
	G	Oradong, Jeju City	237	253	Oct.
	H	Oradong, Jeju City	237	253	Oct.
	I	Daejungeup, Ilgwari Seoguipo City	100	37	Oct.

나. 채수한 지하수의 물리화학적 특성 분석

채수된 지하수는 현장에서 잔류염소, 탁도, 수온 및 pH 등의 물리화학적 특성을 분석하였으며 잔류염소(ppm)는 DPD 비색법, 탁도(NTU)는 Multiparameter(Hanna Instruments, USA)로, 수온(°C)과 pH는 Orion 4-Star(Thermo Fisher Scientific, USA)를 이용하여 측정하였다.

다. 지하수 채수 및 노로바이러스 탈리, 농축

노로바이러스 검출을 위한 시료 채수에 탈리와 농축과정은 국립환경과학원의 지하수 중 노로바이러스 분석지침(환경부 2007) 및 식품의약품안전청 식품제조용수에 대한 노로바이러스 검출(식품의약품안전청, 2007)의 실험법에 준하여 수행하였으며 이를 간단히 살펴 보면 다음과 같다. 지하수 500~600 L를 양전하로 하진된 1MDS 필터(CUNO, Meriden, USA)에 분당 10 L의 속도로 통과시켜 바이러스를 흡착시킨 후 냉장상태를 유지하여 실험실로 옮긴 후 72시간 이내에 탈리과정을 실시하였다. 흡착된 바이러스를 1.5% beef extract가 함유된 pH 9.5, 0.05 M glycine buffer를 이용해 탈리하였다. 탈리한 후 용액을 1 M HCl을 이용하여 pH 3.4~3.6으로 맞추는 후 30분간 응집시키고 2500×g, 4°C에서 15분간 원심분리하였다. 얻어진 응집물(pellets)을 0.15 M sodium phosphate(pH 9.0~9.5) 20~30 mL을 이용하여 재부유 시키고 9,000×g, 4°C에서 10분간 원심분리한 상등액을 취하여 1 M NaOH를 이용하여 pH 7.0~7.5로 맞추었다. 미생물의 오염을 방지하기 위해 농축액을 0.2 μm pore size의 필터(Pall Gelman Laboratory, Ann Arbor, Mich.)를 통과시킨 후 노로바이러스 검출에 사용하였다.

11

라. 노로바이러스 핵산(RNA) 추출

RNA 추출은 상용화된 QiAamp microspin columns(viral RNA mini kit, Qiagen, USA)을 이용하여 kit에 포함된 방법에 따라 추출하였다.

2. RT(reverse transcription) - PCR(polymerase chain reaction, 중합효소 연쇄반응법) 및 전기영동

노로바이러스 유전자 검출을 위하여 Table 2의 Primer를 이용하여 2× RT-PCR master mix 12.5 μ L, 10 pM sense primer 와 antisense primer 각각 2 μ L, 멸균증류수 6 μ L, 시료에서 추출된 RNA 2.5 μ L를 포함한 25 μ L 반응액을 사용하였다. 유전자 증폭을 위해 thermocycler(Perkin-Elmer, GeneAmp PCR system 2700, USA)를 이용하여 48°C에서 40분간 reverse transcription을 수행하고 94°C에서 3분 동안 reverse transcriptase를 불활성화 시킨 뒤 94°C에서 30초, 54°C에서 30초, 72°C에서 45초로 35 cycle를 반복한 후 72°C에서 7분간 확장(extention)하였다. 양성대조군으로 노로바이러스 RNA를 사용하고 음성대조군으로 멸균증류수를 사용하였다.

1차 PCR product를 주형으로 특이도와 민감도를 높이기 위해 semi-nested PCR 방법으로 2차 PCR 증폭단계를 수행하였다. 1차 PCR product 2 μ L를 이용하여 10× PCR reaction buffer, 2.5 mM dNTP, 20 pM primer, 1 U taq polymerase(Bioneer, Korea)를 넣어서 50 μ L 반응액을 제조한 후 실험에 사용하였다. 반응조건은 94°C 30초, 56°C 30초, 72°C 45초로 25 cycle를 반복한 후 72°C에서 7분간 extention하였다.

얻어진 PCR 산물은 1.5% LE agarose gel(Gibco, USA)에 전기영동한 후 ethidium bromide(Bioneer, Korea)에 염색하여 UV 하에서 관찰하였고 GI 313bp, GII 310bp의 특이적인 크기의 유전자 산물을 확인하였다.

Table 2. The sequence of oligonucleotides used for the detection of RNA of norovirus

Geno types	Primers	Sequences(5'→3')	Size (bp)	Application
	GI-FIM	CTGCCCGAATTYGTAAATGATGAT		Onestep RT-PCR
GI	GI-RIM	CCAACCCARCCATTRTACATYTG	313	Onestep RT-PCR/ Seminested PCR
	GI-F2	ATGATGATGGCGTCTAAGGACGC		Seminested PCR
	GII-FIM	GGGAGGGCGATCGCAATCT		Onestep RT-PCR
GII	GII-RIM	CCRCCTGCATRICCRTTRTACAT	310	Onestep RT-PCR/ Seminested PCR
				Seminested PCR
	GII-F3	TTGTGAATGAAGATGGCGTCGART		Seminested PCR

3. 노로바이러스 유전자형 분석

1) PCR 산물의 정제

증폭된 PCR 산물을 1.5% agarose gel로부터 전기영동하여 확인된 DNA 절편을 절단한 후 QIAquick Gel Extraction kit(Qiagen, Germany)를 사용하여 정제하였다. 절단된 젤의 3배 부피의 젤 용해액 완충용액(Buffer QC)을 첨가하고 50℃에서 젤을 용해시킨 뒤 QIAquick spin column으로 옮겨 14,000 rpm, 1시간 원심분리한 후 세척용 완충용액(Buffer PE)을 750 L을 첨가하고 14,000 rpm, 1분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 잔여 세척용 완충용액을 제거하고 50 L의 멸균증류수로 DNA를 회수하여 노로바이러스의 유전자형과 계통학적 분석을 수행하였다.

2) Sequencing analysis

염기서열 분석을 위해 정제된 DNA를 주형으로 하여 각각의 유전자형에 특이적인 프라이머를 사용하여 양쪽 방향으로 dideoxynucleotide chain termination 기법을 이용하는 Bigdye sequencing kit(ABI prism Applied Biosystems, Perkin Elmer, USA)을 사용하여 sequencing reaction을 하였다. 얻어진 산물을 Bigdye removal kit(Amersham Pharmacia, England)로 정제한 뒤 automated DNA sequencer(model 377, Applied Biosystems, USA)을 이용하여 염기서열을 분석하였다.

3). 계통발생학적(Phylogenetic) 분석

분석된 염기서열은 DNASTAR(Madison, USA) 프로그램을 통해 염기서열의 결정 및 비교분석을 수행하였고 Table 3의 기준에 보고된 노로바이러스주를 이용하여 Clustal method로 계통유전학적인 계통도를 그려 계통학적 모식도를 완성하였다.

Table 3. Norovirus reference strains used for sequence analysis

Strain name	GenBank accession No.	Geno types	Strain name	GenBank accession No.	Geno types
Norwalk	M87661	GI-1	Hawaii	U07611	GII-1
Southampton	L07418	GI-2	Snow mountain agent	U70059	GII-2
Desertshield	U04469	GI-3	Toronto	U02030	GII-3
Chiba	AB022679	GI-4	Grimsby	AJ04864	GII-4
Musgrove	AJ277614	GI-5	Hillingdon	AJ277607	GII-5
Sindlesham	AJ277615	GI-6	Seacroft	AJ277620	GII-6
Winchester	AJ277609	GI-7	Leeds	AJ277608	GII-7
BS5-98DE	AF093797	GI-8	Wortley	AJ277618	GII-8
SaitamaSzUG1	AB039774	GI-9	Alphatron	AF195847	GII-9
Boxer	AF538679	GI-10	Amsterdam	AF195848	GII-10
SaitamaKU8	AB058547	GI-11	VA97207-US	AY038599	GII-11
SaitamaKU19a	AB058525	GI-12	M7-US	AY130761	GII-12
SaitamaT35a	AB112132	GI-13	Erfurt546	AF427118	GII-13
SaitamaT25	AB097911	GI-14	Fayetteville-US	AY113106	GII-14
			SaitamaKU80a	AB058585	GII-15
			SaitamaT53	AB112260	GII-16
			SaitamaT27	AY502009	GII-17

IV. 결과 및 고찰

바이러스성 위장염의 주요 원인 병원체인 노로바이러스는 위생과 의료시스템의 미비로 전염되는 후진국형 질병이 아니라 미국, 일본, 유럽 등 위생 선진국 뿐만 아니라 국내에서도 식중독 발생의 주된 원인 바이러스로 밝혀지면서 식품위생 및 사람의 건강에 매우 중요한 요소로 작용하고 있다.

따라서 제주지역 노로바이러스의 역학적 특성, 유행주 확보 및 유전학적 특성을 비교 분석함으로써 신속하고 표준화된 진단체계 개발을 위한 자료를 제공하고자 한다.

또한 2004년 노로바이러스 식중독이 발생되었던 장소 주변 지하수 및 식품용수로 사용하는 지하수에 대한 노로바이러스 오염 여부를 파악하고 오염 원인을 파악함으로써 지하수 관련 집단식중독 발생 예방을 위한 기틀을 마련하고자 한다.

1. 노로바이러스에 의한 위장염환자의 발생 및 분자역학적 특성

① 제주지역 노로바이러스의 발생

2008년부터 2010년까지 norovirus를 포함하여 rotavirus, enteric adenovirus, astrovirus 등의 위장염 유발 주요 바이러스의 제주지역 발생율을 Fig. 2에 도시하였다. 그림에서 보여지는 바와 같이 바이러스에 의한 발생율은 2008년 1,104건 중 262건(23.7%), 2009년 1,184건 중 348건(29.4%), 2010년 1,131건 중 403건(35.6%)이 발생되었는데(질병관리본부, 2008~2010), 이것은 강원도 12.8%(임 등, 2005), 광주 15.8%(정 등 2006), 전국의 2006년 21.1%, 2007년 21.8%, 2008년 23.2%의 발생율(질병관리본부, 2006~2008)보다 다소 높은 발생이었고, 경기도의 2002년 발생율 34.0%(허 등, 2002)은 제주지역 2010년 발생율과 비슷하였다.

또한 전국적으로 바이러스성 위장염 원인 병원체는 증가하는 경향을 보였음을 알 수 있었다.

제주지역의 바이러스에 의한 위장염환자의 발생을 중 2008년 9.2%, 2009년 10.3%, 2010년 12.8%로 강원도 2001년 0.1%, 2003년 1.3%, 2004년 7.0%(임 등, 2005), 인천 2005년 3.6%, 2006년 9.9%, 2007년 17.8%(Gong 등, 2008)의 발생율과 마찬가지로 비교 대상 연도가 상이하긴 하지만 점차 증가하는 추세를 보였다.

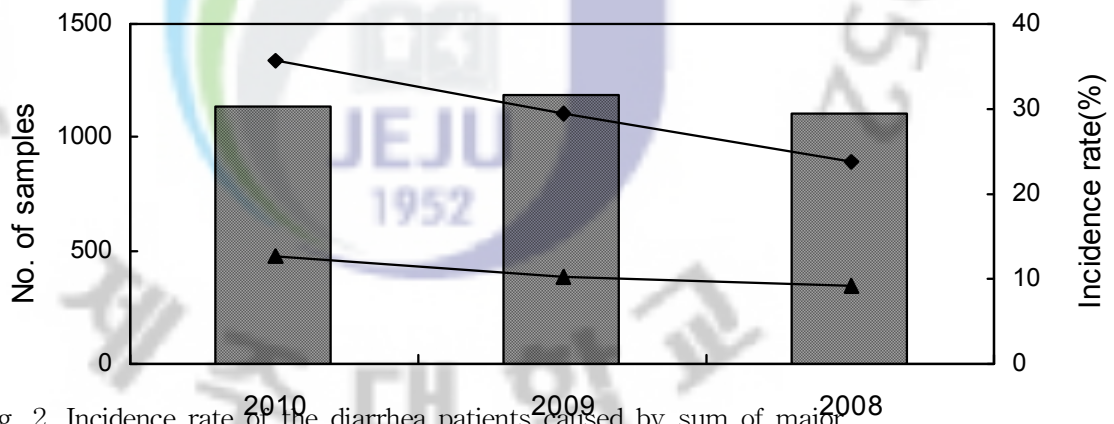


Fig. 2. Incidence rate of the diarrhea patients caused by sum of major viruses and norovirus gastroenteritis in Jeju from 2008 to 2010.

노로바이러스의 발생은 주로 학교, 가족, 공동체 등 공공시설에 폭발적으로 발생하는 비세균성 위장관염의 주요한 단일 원인체로(Greenberg 등, 1979) 국내에서 1995년 Jee 등(1999)에 의해 최초 보고된 이래 집단식중독의 원인병원체로 2003년 이후 점차 증가추세에 있으며, 집단화, 대형화 경향을 보이고 있고, 2006년 6월 학교 급식대란은 노로바이러스 식중독의 폭발적 발생의 위험성을 경험하게 하였다(방 등, 2008).

외국의 경우 영국, 네덜란드, 일본 등 선진국에서도 집단설사 또는 집단 식중독이 발생하는 등(Davidson 등, 1975; Lewis 등, 1979) 급성위장염의 주원인 병원체로 부각되고 있다.

제주지역에서도 2004년 오염된 지하수 사용과 관련하여 3회의 집단 식중독이 발생된 이후 2005년, 2006년, 2007년, 2009년 각 1회, 2008년 4회, 2010년 3회 등 노로바이러스 집단 발병 사례가 끊임없이 발생되고 있다(식품의약품안전청, 식중독통계시스템, 2011).

노로바이러스는 환경적요인에 저항성이 매우 큰 바이러스로 전파력이 높고 오염된 식품, 물 또는 사람을 통해서 전파될 수 있으므로 청결한 위생상태 유지를 위한 지속적인 관리가 요구된다.

② 노로바이러스의 월별 발생 특성

2008년부터 2010년까지 노로바이러스에 의한 위장염환자의 월별 발생 특성은 Table 4 및 Fig. 3에 나타내었다. Table 4 및 Fig. 3에서 보여지는 바와 같이 2008년부터 2010년까지 총 발생율은 11월(25건, 6.8%) 부터 노로바이러스 발생이 증가하기 시작하여 12월(69건, 18.8%), 1월(88건, 23.9%), 2월(68건, 18.5%)을 중심으로 높은 발생을 보인 후 3월(42건, 11.4%), 4월(30건, 8.2%)에 점차 감소하다가 6월에서 9월 사이 0.3%에서 2.2%의 낮은 발생율을 보였다.

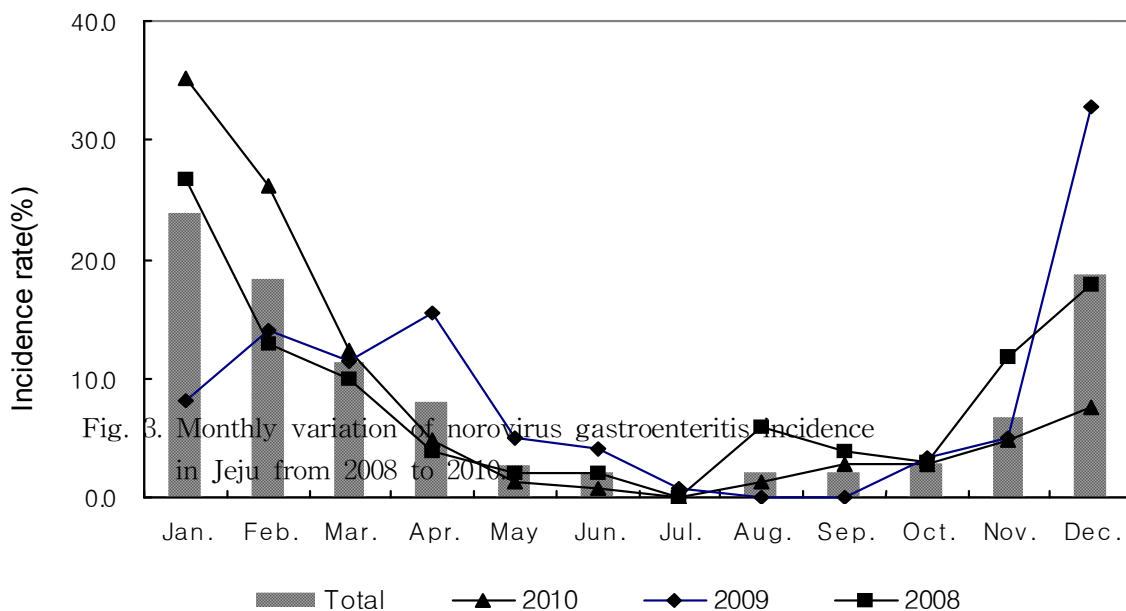
연도에 따른 월별 특성을 살펴보면 2008년의 경우 11월에서 3월 사이(80건, 79.2%), 2009년은 12월에서 4월 사이 (100건, 82.0%), 2010년은 12월에서 3월 사이(118건, 81.3%)가 노로바이러스가 유행했던 시기로 확인되었으며 2008년과 2010년은 1월이 각각 26.7%, 35.2%로 가장 높은 발생을 보인 반면 2009년은 12월이 32.8%로 가장 높은 발생을 보였고 2008년과 2010년에 가장 많은 발생을 보인 1월에는 8.2%로 감소하였다가 2월부터 13.9%로 다시 증가하기 시작하여 3월 11.5%, 4월 15.6%의 발생율을 보임으로써 다른 해보다 늦은 시기까지 유행하였다.

일반적인 노로바이러스의 발생은 연중 발생이 가능하나 동절기인 11월에서 3월까지 유행시기를 보이다가 하절기에 감소하는 감염 양상(Mounts 등, 2000; Okada 등, 2005; Jee 등, 2006) 및 Dedman 등(1998)과 Koopmans 등(2000)에 의한 10월이나 11월에 증가하기 시작해서 다음해 1월에 최고 정점에 이르고 5월~6월 경에 발생이 감소한다는 보고와 유사했다.

그러나 집단식중독 발생은 국외 홍콩의 경우 2006년 5월 (Ho 등, 2007), 국내에서는 2004년 5월(Kim 등, 2005), 2006년 급식과 관련된 수도권지역의 집단식중독은 6월에 발생하여 계절적으로 비전형적인 사례도 보여줌으로서 지속적인 관리 강화 필요성을 보여 주었다.

Table 4. Incident numbers of norovirus gastroenteritis patients in Jeju from 2008 to 2010

Month	Year			Total
	2008	2009	2010	
Jan.	27	10	51	88
Feb.	13	17	38	68
Mar.	10	14	18	42
Apr.	4	19	7	30
May	2	6	2	10
Jun.	2	5	1	8
Jul.	-	1	-	1
Aug.	6	-	2	8
Sep.	4	-	4	8
Oct.	3	4	4	11
Nov.	12	6	7	25
Dec.	18	40	11	69
Total	101	122	145	368



③ 노로바이러스의 성별 발생 특성

2008년부터 2010년까지 제주지역에서 노로바이러스에 의한 위장염환자의 성별 발생 특성을 Table 5 및 Fig. 4에 나타내었다. 표 및 그림에서 보여지는 바와 같이 성별은 확인된 355건 중 남자 212건(59.7%), 여자 143건(40.3%)으로 남자가 높은 발생을 보였고 연도별로도 2008년 남자 59건(64.1%), 여자 33건(35.9%), 2009년 남자 75건(63.0%), 여자 45건(38.0%), 2010년 남자 78건(54.6%), 여자 65건(45.5%)으로 남자가 다소 높게 발생하였다.

강원도의 남자 49.0%, 여자 37.9%(임 등, 2005)의 발생은 본 연구와 비슷한 발생이었고, 광주의 남자 49.3%, 여자 50.7%(정 등, 2006)의 발생은 여자가 높게 발생됨으로써 본 연구와 상이한 결과를 보여 지역별로 차이가 있음을 알 수 있었다.

Table 5. Comparison of incident numbers of norovirus gastroenteritis patients with sex in Jeju from 2008 to 2010

Sex	Year			Total
	2008	2009	2010	
M	59	75	78	212
F	33	45	65	143
Total	92	120	143	355

M : Male; F : Female

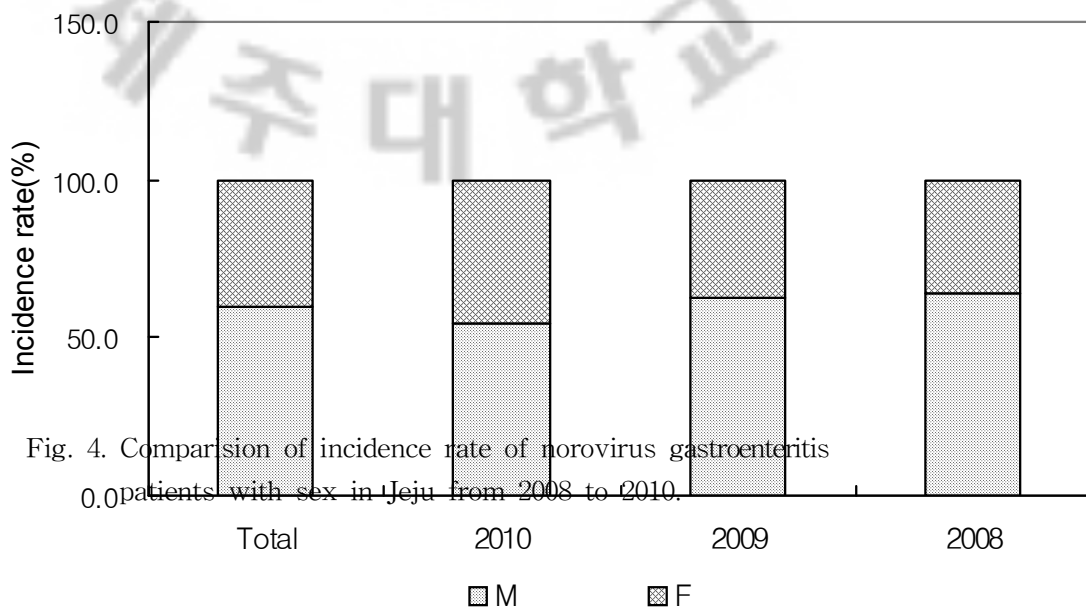


Fig. 4. Comparison of incidence rate of norovirus gastroenteritis patients with sex in Jeju from 2008 to 2010.

④ 노로바이러스의 연령별 발생 특성

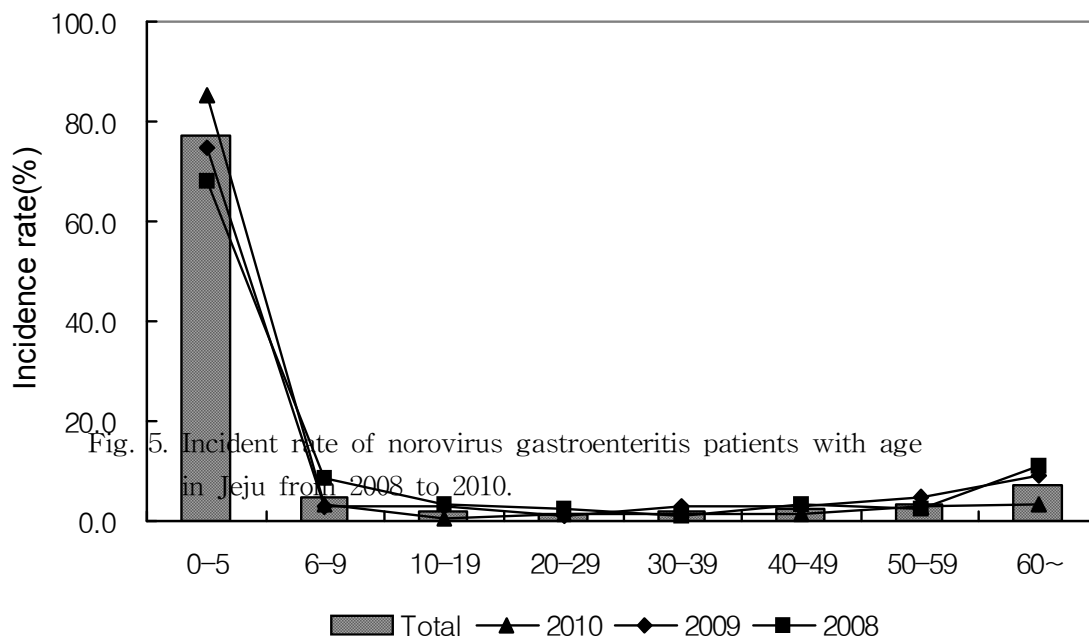
2008년부터 2010년까지 노로바이러스에 의한 위장염환자의 연령별 발생 특성은 Table 6 및 Fig. 5에 나타내었다. 표 및 그림에서 보여지는 바와 같이 연령별 발생은 확인된 344건 중 전 연령층에서 나타났으나 0~5세가 266건(77.3%), 60세 이상 25건(7.3%), 6세~9세 16건(4.7%)순으로 나타났으며 주로 5세미만의 영·유아에게서 가장 많은 감염을 일으켰고 10대에서 40대까지의 연령층에서는 1.5%에서 2.3%까지 비교적 차이가 없이 낮은 발생을 보였다. 본 연구결과는 인천지역의 1세 미만 10.1%를 비롯해 1~4세 36.7%로 가장 높았고 학령기인 5~19세 15.8%, 장년층인 20~59세 11.6%, 60세 이상의 고령층에서 4.2%의 발생율(Gong 등, 2008)과 비교하였을 때 연령대별 발생율과는 다소 차이가 있었으나 영·유아에게 높은 빈도로 발생한다는 경향은 비슷하였다.

노로바이러스의 일반적 발생인 5세 이하 영·유아 연령층이 가장 취약한 계층으로 나타나기는 하나 전 연령층에서의 감염이 확인되고 있다는 보고(Atmar 등, 2001; 김 등, 2008)를 뒷받침해 주었다. 영유아뿐만 아니라 성인층에서도 감염이 높은 집단식중독의 주요한 원인체로 알려져 있는 것처럼(Chikhi-Brachet 등, 2002; Guntapong 등, 2004) 제주지역에서도 전 연령층에서 노로바이러스 집단발병이 일어날 수 있는 개연성을 보여 주었다.

일반적으로 노로바이러스에 노출된 사람의 80% 정도가 질병을 앓는 것으로 보고되고 있으며 노로바이러스에 의한 질병은 건강상의 심각한 위해는 없으나 때로 어린이와 노인과 같이 면역력이 약한 사람은 탈수증상과 함께 사망에 이르기까지 하므로 취약계층에 대한 주의가 필요하며 특히 바이러스성 설사질환은 위생수준과 음용수, 음식, 물 또는 위생시설의 질, 생활양식의 형태에 관계없이 전 세계의 모든 어린이들에게 영향을 미치는 효과가 크므로(Glass 등, 2001) 각별한 주의가 필요하다.

Table 6. Incident numbers of norovirus gastroenteritis patients with age in Jeju from 2008 to 2010

Age	Year			Total
	2008	2009	2010	
0-5	62	82	122	266
6-9	8	3	5	16
10-19	3	3	1	7
20-29	2	1	2	5
30-39	1	3	2	6
40-49	3	3	2	8
50-59	2	5	4	11
60~	10	10	5	25
Total	91	110	143	344



2) 노로바이러스의 분자유전학적 특성

2008년부터 2010년까지 제주지역에서 발생한 노로바이러스의 유전자형을 파악하기 위해 III. 재료 및 방법의 염기서열 분석을 통하여 분자유전학적 특성을 검토한 결과를 Table 7, Fig. 6 및 Fig. 7에 나타내었다. Table 7, Fig. 6 및 Fig. 7에서와 같이 유전자형이 확인된 280건을 대상으로 노로바이러스 유전자형별 표준주와의 계통유전학적 분석 결과 다양한 유전자형이 유행하고 있음을 확인하였다. 유전자형별로 발생하는 빈도를 살펴보면 GI형의 경우 8종에 의해 30건(11.5%), GII형의 경우 10종에 의해 231건(88.5%)의 감염이 확인됨으로써 총 18종의 노로바이러스가 확인되었으며 GII형에 의한 노로바이러스 발생율이 월등히 높음을 알 수 있었다. 이는 인천지역 GI형 0.6%, GII형 99.4%(Gong 등, 2008)의 연구에서처럼 GII형의 발생이 월등히 높은 것과 GI형은 낮은 발생율을 보이는 것은 일치하였으나 발생율은 다소 차이를 보였다.

그 중 GII-4형이 184건(70.5%)으로 가장 많이 유행하는 유전자형으로 확인되었고 다음은 GII-3형 16건(6.1%), GI-4형 11건(4.2%)으로 제주지역 내 가장 흔하게 유행하는 유전자형으로 나타났다. 또한 GII-6형, GII-8형, GII-16형 모두 2.7%의 빈도로 발생하는 것을 확인하였고 그 외 유전자형의 경우 빈도가 매우 낮거나 발생되지 않는 것으로 확인되었다. 인천지역 GII-4형 69.7%, GII-3형 17.2%, GII-12형 4.4%, GII-1형 2.2%(Gong 등, 2008)의 발생과 비교해 보면 가장 많은 발생율을 보인 유전자형은 GII-4형으로 발생율도 비슷하게 나타나면서 본 연구와 일치하였으나 GII-3형은 인천지역이 다소 높은 발생율을 보였으며 그 외 발생한 유전자형은 지역에 따른 차이를 보였다.

연도별 추이를 보면 2008년에 검출된 13종 중 GII-4형 58.3%, GI-4형 9.5%, 2009년 9종 중 GII-4형 77.0%, GII-8형 9.5%, 2010년 10종 중 GII-4형 75.7%, GII-3형 9.7%로 해마다 GII-4형의 발생율이 가장 높았으나 발생 빈도 및 비중은 해마다 변화되었다.

주요 노로바이러스 유전자형인 GII-4형, GII-3형의 발생 추이를 살펴보면 GII-4형은 2008년 58.3%에서 2009년 77.0%로 18.7% 정도 그 빈도가 증가하다가 2010년에 75.7%로 약 1.3% 정도 감소하였다. GII-3형은 2008년 4.8%에서 2009년 2.7% 감소하다가 2010년 9.7%로 크게 증가하는 양상을 확인하였다.

인천지역의 유전자형 발생 빈도는 2005년 GII-3형, GII-4형, GII-5형 등 3가지 유전자형 순으로, 2006년과 2007년은 각 10가지 유형, 12가지 유형 중 GII-4형, GII-3형, GII-12형 순으로 발생함으로써 2005년 GII-3형이 GII-4형보다 우세하게 나타난 결과는 본 연구의 해마다 GII-4형이 우세하게 발생한 결과와 상이하게 나타났다. 서울지역의 2004년부터 2007년까지 해마다 GII-4형(76.7%)이 가장 우세한 결과와는 일치하였고 유전자형 발생은 GII-3형, GII-2형, GII-12형 순으로 발생함으로써(김 등, 2008) 노로바이러스 유전자형 발생은 지역마다 상이한 발생빈도를 보였다.

국내에서도 2004년 하반기부터 2005년 상반기에는 GII-4형, 2005년 하반기에는 GII-3형, 2006년과 2007년에 다시 GII-4형이 우세하게 나타남에 따라(Jee 등, 2006) 국내뿐만 아니라 제주도내에서 유행하는 유전자형은 GII-4형으로 밝혀졌다.

그러나 2004년 제주지역에서 발생한 지하수 음용과 관련된 집단식중독 주요 발생 원인 유전자형인 GI-3형(Kim 등, 2005)은 3년간 위장염환자에서는 1건(0.4%)만 발생하였고, 2006년 급식과 관련된 수도권지역의 집단식중독 사례에서는 GI-11형이 검출됨으로서 산발적인 위장염 환자 유행 유전자형과 집단식중독 발생 원인 유전자형과 차이를 보였다(Jee 등, 2006).

노로바이러스의 매우 심한 유전자 다양성으로 인해 다양한 유전자형의 노로바이러스가 동시에 유행하면서 유전자재조합이 일어난 노로바이러스가 각국에서 보고되고 있고 2002년 이후 유럽을 중심으로 유행한 GII-4형 변이주는 임상적으로 더 심한 증상을 일으키고 전파력이 높으며 환경에 대한 저항성이 높아 문제가 된 바 있다(Widdowson 2004; Jee, 2006). 국내에서는 유럽과 같이 대유행을 일으키지는 않았으나 2004년 검출된 바 있으며(Jee, 2006) 제주지역에서는 검출되지 않았으나 이에 대비해 노로바이러스의 새로운 유전자형 및 변이주 발생 여부를 지속적으로 확인함으로써 유행을 조기에 탐지하여야 할 것이다.

Fig. 8 및 Fig. 9는 제주지역에서 발생한 노로바이러스 capsid 유전자에 대한 각 유전자형 내에서 표준주와의 염기서열 상동성을 분석한 결과로써 노로바이러스 감염의 주요 유전자형인 GII-4형은 Grimsby 주와 87.5%에서 95.6%의 유사성을 나타냈으며 GII-3형은 Toronto 주와 88.7%에서 91.0%의 유사성을 보이는 유행주로 확인되었다

Table 7. Genotypes of norovirus gastroenteritis patients in Jeju from 2008 to 2010

GI	Year			Total	GII	Year			Total
	2008	2009	2010			2008	2009	2010	
1	-	-	1	1	1	-	-	-	-
2	1	-	3	4	2	-	1	-	1
3	-	-	1	1	3	4	2	10	16
4	8	1	2	11	4	49	57	78	184
5	2	-	-	2	5	-	-	-	-
6	3	-	1	4	6	2	2	3	7
7	-	2	3	5	7	2	1	1	4
8	-	-	-	-	8	-	7	-	7
9	-	-	-	-	9	-	-	-	-
10	-	-	-	-	10	-	-	-	-
11	-	-	-	-	11	-	-	-	-
12	-	-	-	-	12	1	1	-	2
13	-	-	-	-	13	1	-	-	1
14	2	-	-	2	14	-	-	-	-
					15	-	-	-	-
					16	7	-	-	7
					17	2	-	-	2
Total	16	3	11	30	Total	68	71	92	231

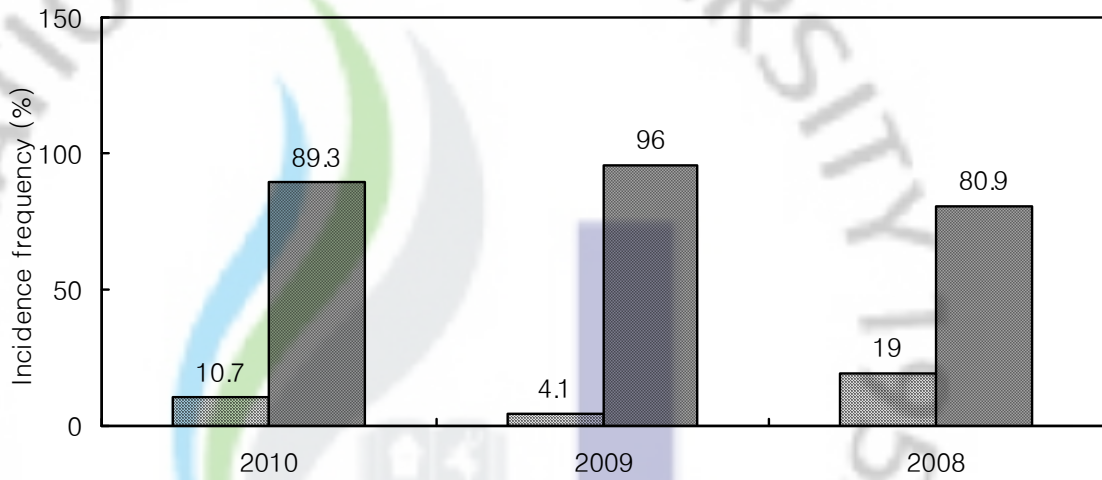


Fig. 6. Incidence frequency of genogroup(GI and GII) of norovirus gastroenteritis patients in Jeju from 2008 to 2010.

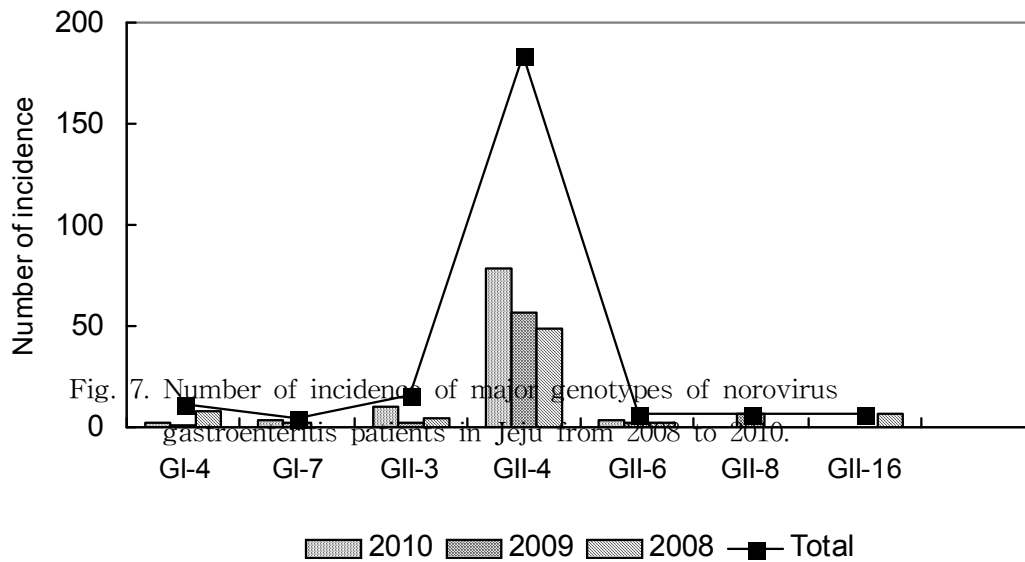


Fig. 7. Number of incidence of major genotypes of norovirus gastroenteritis patients in Jeju from 2008 to 2010.

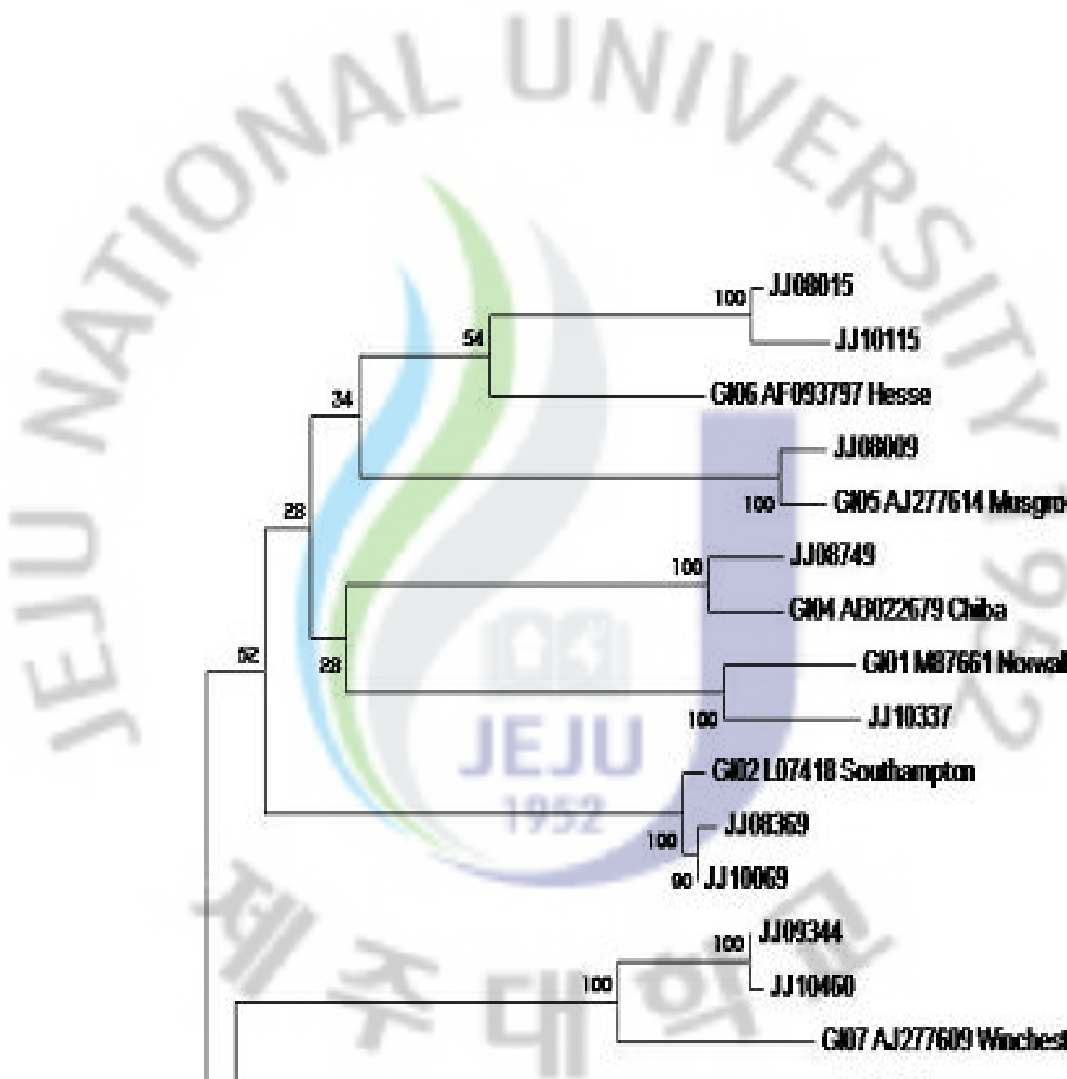


Fig. 8. Phylogenetic tree generated using norovirus GI sequences detected from gastroenteritis patients in Jeju from 2008 to 2010. In sample name, JJ means Jeju province.

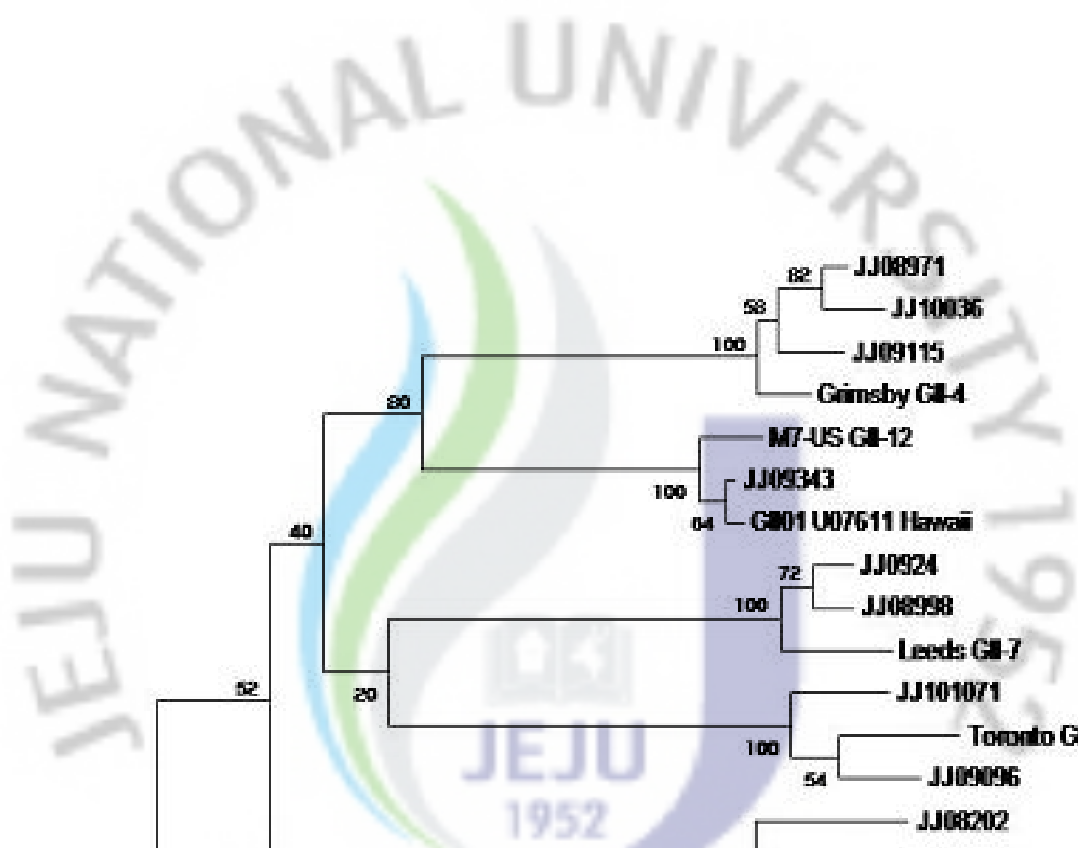


Fig. 9. Phylogenetic tree generated using norovirus GI sequences detected in gastroenteritis patients in Jeju from 2008 to 2010. Sample name, JJ means Jeju province.

0.02

2. 지하수의 노로바이러스 오염 실태조사 및 특성

최근 수련원, 집단급식소 등에서 빈발하고 있는 식중독의 주요 발병원인이 지하수로 추정된다는 보건당국의 보고가 이어지고 있고 본 도의 경우도 2004년 노로바이러스에 의한 식중독 원인이 오염된 지하수로 밝혀진 이후 노로 바이러스에 의한 식중독이 발생하고 있으나 오염원이 여러 정황상 오염된 지하수로 추정만하고 있을 뿐 원인 규명은 미흡한 상황이다.

따라서 제주지역 지하수의 노로바이러스 오염여부 및 오염원인을 파악하기 위해 2004년 지하수가 원인이 되어 노로바이러스 식중독을 야기시켰던 장소 및 주변 비음용 지하수 4개 지점(A~D), 2010년은 음용으로 이용되는 지하수 5개 지점(E~I)에 대해 노로바이러스 오염 여부 및 물리화학적 특성을 분석하여 그 결과를 Table 8에 나타내었다.

수온은 1~12℃까지 계절에 따른 변화를 보였고 pH는 7.1~7.9까지 채수지점에 따라 변화 분포를 보였으며 탁도는 0.12~47.90 NTU까지 큰 변화를 보임으로서 채취 지점, 채취 시기, 기후변화, 지하수 이용용도에 따라 오염 정도의 차이를 보였으며 특히 탁도가 큰 변화의 차이를 보였다.

노로바이러스는 A지점에서만 검출되었는데 수온은 6.83 ± 3.71 , pH 7.33 ± 0.11 , 탁도 16.45 ± 17.40 의 변화 폭을 보인 지점으로 탁도의 경우 다른 비음용 지하수보다 심각한 오염상태를 나타냈으며 변화폭도 큰 차이를 보였다.

또한 본 연구에서 조사 대상 지하수 관정의 깊이에 대한 자료를 확인한 결과는 Table 9 에서처럼 9개소 중 7개소 관정이 100 m가 넘는 관정으로 조사되었고 그 외 한 곳은 93 m, 다른 한 곳은 30 m였다. 지하수 이용용도는 음용수 5개소, 비음용으로 이용되는 곳이 4개소로 확인되었다.

Table 8. Physicochemical properties of the groundwaters sampled in this study

Site	Sampling number	Temperature (°C)	pH	Turbidity (NTU)	Residual chlorine (ppm)	Norovirus detection
A	6	6.83±3.71	7.33±0.11	16.45±17.40	0	Yes (2 times)
B	6	8.17±4.45	7.32±0.10	0.95±0.81	0	No
C	2	4.50±3.54	7.16±0.22	1.24±0.47	0	No
D	1	4.0	7.9	0.70	0	No
E	1	4.0	7.4	0.12	0	No
F	1	5.0	7.9	0.23	0	No
G	1	4.0	7.2	0.18	0	No
H	1	6.0	7.6	0.20	0	No
I	1	1.0	7.1	0.41	2.0	No

Table 9. Facility feature of the groundwater wells in this study

Site	Usage	Well depth(m)	Altitude(m)
A	Non-Drinking water	93	56
B	Non-Drinking water	30	14
C	Non-Drinking water	105	61
D	Non-Drinking water	110	67
E	Drinking water	170	215
F	Drinking water	237	253
G	Drinking water	237	253
H	Drinking water	237	253
I	Drinking water	100	37

Table 10은 노로바이러스가 검출된 지하수의 채수 시점에 따른 물리화학적 특성 및 날씨 등 환경 조건을 나타내었다. 그 중 노로바이러스가 검출된 시기인 6월의 탁도는 3.3 NTU, 8월의 탁도는 24.00 NTU였고 기후상태는 채수하기 전 계속 비가 내린 상태로 강우가 집중된 시기였다. 따라서 본 연구에서 노로바이러스의 검출은 탁도와 무관하고 주변으로부터 노로바이러스를 함유한 물질이 강우현상에 의해 지하수로 침투되어 검출된 것으로 추정되었으며 검출된 유전자형은 같은 지점에서 채취되었는데도 채취시기에 따라 6월은 GI- 8형, 8월은 GI- 5형 등의 다른 type이 검출되었다.

정 등(2011)의 처리되지 않은 지하수에서 노로바이러스는 39건 중 7건(18%)에서 검출되었으며 6건(86%)이 가을에서 겨울로 넘어가는 환절기인 10월과 11월에 채취한 시료로서 본 연구의 6월, 8월에 노로바이러스가 검출된 시기와는 상이한 결과를 보여 주었으며 유전자형은 GI형 5건(71%), GII형 2건(29%)으로 본 연구의 GI형 2건(100%) 검출로 GI형이 우세하게 검출된 양상은 비슷하였다. 일반적인 위장염환자의 노로바이러스 검출에 있어서 GII의 검출이 우세하게 나타나는 양상과는 다른 결과였다.

Table 10. physicochemical properties of the groundwater samples at site A in Table 9

Date	Weather	Temperature (°C)	pH	Turbidity (NTU)	Geno-type
June	rain	3.0	7.4	3.30	GI-8
July	serenity	12.0	7.4	1.14	
Aug.	rain	9.0	7.4	24.00	GI-5
Oct.	serenity	9.0	7.3	47.90	
Nov.	serenity	5.0	7.3	12.80	
Dec.	serenity	3.0	7.1	9.54	

환경부의 지하수 중 노로바이러스 관리대책의 일환으로 노로바이러스 오염 실태를 조사한 결과 2008년 1차 조사 총 300개의 지점 중 104개 지점(34.7%)에서 노로바이러스가 검출되었으며 음용수 176개 지점 중 64개 지점(36.4%), 비음용수 124개 중 40개 지점(32.3%)에서 노로바이러스가 검출되었고 제주지역의 지하수도 비음용수이긴 하지만 2008년 4개 조사 지점 중 1개 지점에서 노로바이러스가 검출되었다(환경부, 2008). 2009년은 206개 지점 중 39개 지점에서 노로바이러스가 18.9% 검출되었다. 특히 음용수로 이용되고 있는 지하수의 노로바이러스 오염으로 질병발생이 우려되고 있으며 이 결과는 국내의 지하수 중 일부가 이미 노로바이러스로 오염되어 있음을 시사하고 있다고 하므로(방 등, 2008; 환경부, 2010) 각별한 주의가 필요하다.

식품의약품안전청(2011)의 지하수를 식품용수로 사용하는 집단급식소의 노로바이러스 검사 결과는 2009년 3.1%(62건 검출, 2,032건 검사) 검출되었는데 그 중 제주지역은 2건 검사한 결과 노로바이러스가 검출되지 않는 것으로 조사되었다. 검출된 노로바이러스 중 확인된 유전자형은 47건으로 GI형 7건(14.9%), GII형 40(85.1%)건으로 GII형이 우세하게 검출되었고 그 중 GII-4형 24건(51.1%), GII-3형(14.9%), GII-7형 4건(8.5%) 순으로 검출됨으로써(식품의약품안전청, 2009) 본 연구의 위장염환자 뿐만 아니라 전국적으로도 가장 많은 감염을 일으키는 유전자형 발생 경향과는 일치하였으나 지하수에서 검출된 제주지역의 유전자형 및 정 등(2011)의 연구에서 검출된 지하수의 노로바이러스 유전자형과는 다르게 나타났다.

본 연구 결과 및 위의 결과로써 제주지역의 지하수 중 음용으로 이용되는 지하수에서 노로바이러스가 검출되지 않았으나 비음용으로 이용되는 지하수에서는 노로바이러스 오염이 확인됨으로써 노로바이러스 오염 예방을 위한 오염원 규명 및 관리대책이 필요하다.

방 등(2008)은 노로바이러스를 포함한 생물오염원이 지하수로 침투되는 경로로는 삼출작용에 의한 경우, 밀봉되지 않은 우물케이싱에 의한 경우, 오래된 우물의 케이싱이 녹슬거나 파손되는 경우 등으로 매우 다양하며 지하수의 특성 상 지표오염과 연관성이 높다고 하였다.

환경부(2011)에 의하면 특히 노로바이러스는 감염된 사람의 분변으로부터 전파되므로 분변처리시설의 관리소홀 또는 부주의 등으로 인하여 분변물이 지하수층으로 들어가서 오염시킬 수 있다. 환경적 측면에서의 노로바이러스 주요 오염원은 정화조,

간이 및 재래식화장실, 방치된 불용공, 도시하수의 유출 등 사람의 분변과 연관된 시설물이며 오염경로는 감염된 환자의 분변 및 구토물에 포함된 노로바이러스가 다시 환경으로 배출되어 하천 및 지하수가 오염되는 경우, 비가 올 때 땅위의 오염물질이 지하수 배관 등을 타고 스며드는 경우, 주변 정화조나 간이화장실에 균열이 생겨 오염물질이 새어나온 경우, 주변의 하수관이나 오수관이 파손되어 오염물질이 지하로 스며드는 경우, 지하수 깊이가 너무 낮아 지상의 오염물질에 쉽게 노출되는 경우 등 이런 시설들의 적절한 관리소홀 또는 부주의로 인하여 노로바이러스가 분변과 함께 침투하여 지하수내의 노로바이러스 오염을 야기시킨다고 하였다.

국내의 경우 지하수를 음용수로 사용하여 야기된 노로바이러스 질병발생의 원인으로는 음용수 사용시설의 인근에 위치한 정화조의 균열과 파손, 하수처리시스템 펌프의 결함 및 기능정지, 농업 지표유출수의 유입 그리고 하수의 토양 살포행위 등인 것으로 나타났다(방 등, 2008).

본 연구에서도 노로바이러스가 검출된 지하수의 오염 원인을 살펴 보면 지하수 관정의 노후화 및 관리 소홀과 집중된 강우에 의해 지표수의 오염물질이 지하수에 다량 흘러들어감으로써 노로바이러스가 오염된 것으로 추정되었다.

이와 같은 상황임을 고려 할때 특히 제주지역의 수원은 대부분 지하수에 의존하고 있는 상황임에도 불구하고 2004년 지하수에 의한 노로바이러스 식중독 발생은 제주 지하수에 대한 불신을 초래하였을 뿐만 아니라 국제적 관광지로서의 이미지를 실추시켰으며 이후에도 노로바이러스에 의한 위장염 환자 발생이 도민 뿐만 아니라 관광객에게도 발생되고 있으므로 이에 대한 대책 마련이 요구되는 상황이다.

따라서 본 연구는 이러한 상황을 극복하기 위하여 수행하였으나 일률적이지 못한 검체 채취, 불충분한 시료수와 미진한 지질학적 자료 등으로 인하여 정확한 오염원을 규명하고 노로바이러스 질병 예방대책을 마련하는데는 한계가 뒤따랐다. 그러나 이와 같은 한계에도 불구하고 지속적인 지하수의 노로바이러스 오염실태 조사의 필요성, 철저한 소독처리 및 관리 용도에 적합한 지하수 사용, 노후된 지하수관정의 시설 개·보수 또는 폐쇄 등 지하수 이용시설에 대한 오염원 관리 강화를 위한 중요성과 필요성을 일깨워 주는 계기가 되었다고 본다.

위와 같이 끊임 없이 발생하는 노로바이러스 질병 및 지하수에 의한 노로바이러스 집단 발생 예방을 위하여 여러 관련 기관들의 노력 및 다양한 사업들 중 지하수 이

용시설에 대한 노로바이러스 오염실태 조사가 진행되었다. 그 결과 지하수의 주기적인 소독관리, 검출시설의 개·보수 등 전국적으로 지하수 관리를 추진함으로써 식품의약품안전청(2011)의 식품용수로 사용하는 지하수의 노로바이러스 검출율은 2009년 3.1%(62건 검출, 2,032건 검사)에서 2010년은 0.7%(15건 검출, 2,293건 검사)로 감소되었으며 국내 노로바이러스 식중독 발생 건수도 2008년 69건, 2009년 32건, 2010년 30건으로 꾸준히 발생하고 있으나 줄어드는 추세를 보이고 있다.

제주지역 노로바이러스 식중독 발생 건수는 2004년 3회, 2005년, 2006년, 2007년 각 1회, 2008년 4회, 2009년 각 1회, 2010년 3회 등(식품의약품안전청, 식중독통계시스템, 2011) 노로바이러스 집단 발병사례가 끊임없이 발생되고 있지만 앞으로도 지속적인 예방 대책 및 관리 강화로 노로바이러스에 의한 질병 발생 감소를 기대해 볼 수 있으리라 사료된다.

그러나 지하수내에서 엔테로바이러스의 존재가 보고(Marzouk 등, 1979)되고 있고 많은 국가에서 전염성을 가진 수인성 바이러스로 인한 위장염의 일반적인 원인으로 엔테로바이러스나 노로바이러스 같은 병원성 장관계 바이러스들을 들고 있으며 이에 대한 체계적인 조사를 제안(Abbaszadegan 등, 1999; Dahling 2002; Carducci 등, 2003; Fout 등, 2003; Powell 등, 2003; Borchardt 등, 2004; Vanzyl 등 2004)한 것처럼 앞으로 바이러스성 수인성질환 예방을 위하여 노로바이러스 뿐만 아니라 엔테로바이러스의 실태조사도 이루어져야 할 것이라 사료된다.

V. 결 론

2008년부터 2010년까지 제주지역 위장염 환자의 노로바이러스 발생 및 분자유전학적 특성과 지하수의 노로바이러스 오염여부 및 특성을 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 제주지역 바이러스성 위장염 환자 중 노로바이러스 발생 비중은 2008년 9.2%, 2009년 10.3%, 2010년 12.8%로 해마다 증가하는 추세를 보였다
2. 월별 발생은 전기간에 걸쳐 발생하였으나 11월(25건, 6.8%) 부터 노로바이러스 발생이 증가하기 시작하여 12월(69건, 18.8%), 1월 (88건, 23.9%), 2월(68건, 18.5%)을 중심으로 높은 발생을 보인 후 3월(42건, 11.4%), 4월(30건, 8.2%)에 점차 감소하다가 6월에서 9월 사이 0.3%에서 2.2%의 낮은 발생율을 보였다.
3. 성별 발생은 남자 212건(60.0%), 여자 143건(40.3%)로 나타나 남자가 다소 높은 발생을 보였으며 연령별 발생은 전 연령층에서 나타났으나 0~5세 266건(77.3%), 60세 이상 25건(7.3%), 6세~9세 16건(4.7%)순으로 나타남으로써 5세 미만의 영·유아가 노로바이러스 감염에 가장 취약한 연령층이었고 10대에서 40대 연령층은 1.5%에서 2.3%까지 비교적 차이가 없이 낮은 발생율을 보였다.
4. 노로바이러스 감염을 일으킨 유전자형은 GI형 8종, GII형 10종 등 총 18종으로 다양한 유전자형이 발생되었고 GII형의 발생율은 88.5%로 GI형의 11.5% 보다 월등히 높게 감염되는 것으로 확인되었다. 그 중 GII-4형에 의한 발생율이 70.5%로 노로바이러스 감염을 가장 많이 일으키는 유전자형으로 나타났고, GII-3형(6.1%), GI-4형(4.1%)과 함께 제주지역 노로바이러스 발생의 주요 유전자형으로 나타났다.

5. 지하수 9개 지점 중 비음용 지하수 4개소, 음용 지하수 5개소를 대상으로 20회 노로바이러스 오염여부를 조사한 결과 비음용 지하수에서 2건이 검출되었으며 지하수에서 검출된 노로바이러스 유전자형은 GI-5형, GI-8형이었다.

본 연구로부터 노로바이러스 질병 예방을 위해서는 위생관리를 철저히 하고 지속적인 지하수의 노로바이러스 오염실태 조사 및 철저한 소독처리, 관리 용도에 적합한 지하수 사용, 노후된 지하수관정의 시설 개·보수 등 지하수 이용시설에 대한 오염원 관리 강화가 필요하다.

VII. 참고문헌

- 김은정, 박상훈, 송미옥, 김무상, 김민영, 천두성, 정혜숙, 김철중, 2008, 서울지역 급성 위장관염 환자에서 검출된 노로바이러스의 유전자형 분포, J. Microbiol., 44, 135-139.
- 방상원, 조미경, 2008, 지하수관리 관점에서의 노로바이러스 질병발생에 관한 고찰, 한국환경정책·평가연구원, 113pp.
- 식품의약품안전청, 2011, 겨울철 노로바이러스 식중독, 철저한 예방이 최우선, 보도자료(2011. 01. 13.)
- 식품의약품안전청, 2007, 식품제조용수에 대한 노로바이러스 검출(식품의약품안전청 고시 제2007-68호).
- 식품의약품안전청, 2009, 지하수 이용시설, 노로바이러스 주의, 보도자료(2009. 09. 02).
- 식품의약품안전청, 2009, 지하수 노로바이러스 주의!, 보도자료(2009. 12. 30).
- 식품의약품안전청 식중독 통계시스템, 2011, <http://e-star.kfda.go.kr>.
- 임은주, 석원석, 김영수, 이순원, 김영근, 이택수, 2005, 강원지역 바이러스성 설사질환 발생에 대한 역학적 고찰(2001~2004), 강원도보건환경연구원보, 16, 7-14.
- 정재근, 강경리, 김종필, 김찬중, 김은선, 하동룡, 2006, 광주지역에서 발생한 감염성 설사질환의 병원체 검출 및 분석, J. Virol., 36, 115-203.
- 질병관리본부, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 병원체실험실감시정보.
- 정지희, 2011, 처리되지 않은 지하수 내 노로바이러스 및 장관계 바이러스의 오염분포실태에 관한 연구, 경희대학교 대학원 생물학과 석사학위논문.
- 허정원, 김윤성, 김기유, 김상훈, 박포현, 이정복, 고환욱, 2002, 경기도내 설사질환 원인체 분석 및 분포도 조사, 경기도보건환경연구원보, 16, 10-25.
- 환경부, 2007, 지하수 중 노로바이러스 분석지침.
- 환경부, 2008, '08년 지하수 중 노로바이러스 오염실태 중간조사 결과, 보도자료 (2008. 09. 30).
- 환경부, 2010, 지하수 염소소독만 잘해도 노로바이러스 제거 가능, 보도자료(2010. 03. 03).

환경부, 2010, 지하수 중 노로바이러스 관리 매뉴얼, 111pp.

Abbaszadegan, M., P. Stewart and M. LeChevallier, 1999, A strategy for detection of viruses in groundwater by PCR, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 444-449.

Atmar, R. L and M. K. Estes, 2001, Dignosis of noncultivable gastroenteritis virusesm the human caliciviruses, *Clin. Microbiol. Rev.*, 14, 15-37.

Alder, J. L and R. Zickl, 1969, Winter vomiting disease, *J. Infect. Dis.*, 119, 668-673.

Ando, T., M. N. Mulders, D. C. Lewis, M. K. Estes, S. S. Monroe, and R. I. Glass, 1994, Comparison of the polymerase region of small round structured virus strains previously classified in three antigenic types by solid-phase immune electron microscopy, *Arch. Virol.*, 135, 217-226.

Barwick, R. S., D. A. Levy, G. F. Craun, M. J. Beach, and R. L. Calderon, 2000, Surveillance for waterborne-disease outbreaks-United States 1997-1998, *MMWR Surveil.*, 49, 1-21.

Blackburn, B. G., G. F. Craun, J. S. Yoder, V. Hil, R. L. Alderson, N. Chen, S. H. Lee, D. A. Levy and M. J. Beach, 2004, Surveillance for waterborn-disease outbreaks associated with drinking water United States 2001-2002, *MMWR Surveil.*, 53, 22-45.

Belliot, G., S. V. Sosnovtsev, T. Mitra, C. Hammer, M. Garfield, and K. Y. Green, 2003, In vitro proteolytic processing of the MD145 norovirus ORF1 nonstructural polyprotein yields stable precursors and products sililar to those detected in Calicivirus-infected cells, *J. Virol.*, 77, 10957-10974.

Bertolotti-Ciarlet, A., S. E. Crawford, A. M. Hutson, and M. K. Estes, 2003, The 3'end of Norwalk virus mRNA contains determinants that regulate the expression and stability of the capsid protein VP1: a novel function for the VP2 protein, *J. Virol.*, 77, 11603-11615.

Borchardt, M. A., N. L. Haas and R. J. Hunt, 2004, Vulnerability of drinking-water wells in La Crosse, Wisconsin, to enteric-virus contamination from surface water contributions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 5937-5946.

- Carducci, A., B. Casini, A. Bani, E. Rovini, M. Verani, F. Mazzoni and A. Giuntini, 2003, Virological control of groundwater quality using biomolecular tests, *Water Sci. Technol.*, 47, 261– 266.
- Chakravarty, S., A. M. Hutson, M. K. Estes and B. V. V. Prasad, 2005, Evolutionary trace residues in Noroviruses: importance in receptor binding, antigenicity, virion assembly, and strain diversity, *J. Virol.*, 79, 554–568.
- Chikhi-Brachet, R., F. Bon, L. Toubiana, P. Pothier, J. C. Nicolas, A. Flahaut and E. Kohil, 2002, Virus Diversity in a Winter Epidemic of Acute Diarrhea in France, *J. Clin. Microbiol.*, 40, 4266–4272.
- Dahling, D. R., 2002, An improved filter elution and cell culture assay procedure for evaluating public groundwater systems for culturable enteroviruses, *Water Environ. Res.*, 74, 564–568.
- Davidson, G. P., R. F. Bishop, P. R. Towmley and I. H. Holmes, 1975, Importance of a new virus in acute sporadic enteritis in children, *Lancet.*, 1, 242–246.
- Dedma, D., H. Laurichesse and E. O. Caul, 1998, Wall PG. Surveillance of small round structured virus (SRSV) infection in England and Wales 1990–1995, *Epidemiol. Infect.*, 121, 139–149.
- Dingle, K. E., P. R. Lambden, E. O. Caul and I. N. Clarke, 1995. Human enteric Caliciviridae: the complete genome sequence and expression of virus-like particle from a genetic group II small round structured virus, *J. Gen. Virol.*, 76, 2349–2355.
- Dolin, R., R. C. Reichman and K. D. Roessner, 1982, Detection by immun electron microscopy of the Snow Mountain agent of acute viral gastroenteritis, *J. Infect. Dis.*, 146, 184–189.
- Fout, G. S., B. C. Martinson, M. W. N Moyer and D. R. Dahling, 2003, A multiplex reverse transcription-PCR method for detection of human enteric viruses in groundwater, *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 3158–3164.

- Glass, R. I., J. Noel and T. Ando, 2000, The epidemiology of enteric caliciviruses from humans; A reassessment using new diagnostics, *J. Infect. Dis.*, 181, 254-261.
- Glass, R. I., J. Bresee, B. Jiang, J. Gentsch, T. Ando, R. Frankhauser, J. Noel, U. Parashar, B. Rosen and S. S. Monroe, 2001, Gastroenteritis Viruses, an Overview, *Novartis Found Sym.*, 238, 5-19.
- Greenberg, H. B., J. Valdesuso and R. H. Yolken, 1979, Role of Norwalk virus in outbreaks of nonbacterial gastroenteritis, *J. Infect. Dis.*, 139, 564-568
- Guntapong, R., G. S. Hansman, T. Oka, S. Ogawa, T. Kageyama, Y. Pongsuwanna and K. Katayama, 2004, Norovirus and sapovirus infections in Thailand, *Jpn. J. Infect. Dis.*, 57, 276-278.
- Gong, Y. W., B. Y. OH, H. Y. Kim, M. Y. Lee, Y. H. Kim, J. M. Go, J. M Lee, H. S. Jeong and D. S. Cheon, 2008, Molecular Epidemiologic Investigation of Norovirus Infections in Incheon City, Korea, from 2005 to 2007, *J. Virol.*, 38, 249-257.
- Ho, E. C., P. K. Cheng, A. W. Lau, A. H. Wong and W. W. Lim, 2007, Atypical norovirus epidemic in hong kong during summer of 2006 caused by a new genogroup II/4 variant, *J. Clin. Microbiol.*, 45(7), 2205-2211.
- Jee, Y. M., K. S. Kim, D. S. Cheon, J. K. Park, Y. H. Kang, Y. S. Chung, U. Go, Y. H. Shin and J. D. Yoon, 1999, Sequence analysis of small round structured viruses(SRSV) isolated from a diarrheal patient in Wonju, *J. Korean Soc. Virol.*, 29, 247-259.
- Jee, Y. M., 2006, Norovirus food poisoning and laboratory surveillance for viral gastroenteritis in Korea, *Health and Welfare Policy Forum*, pp. 26-34.
- Kageyama, T., M. Shinohara, K. Uchida, S. Fukushi, F. B. Hoshino, S. Kojima, R. Takai, T. Oka, N. Takeda and K. Katayama, 2004, Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan, *J. Clin. Microbiol.*, 42, 2988-2995.

- Kapikian, A. Z., R. G. Wyatt, R. Dolin, T. S. Thornhill, A. R. Kalica, and R. M. Chanock, 1972, Visualization by immunoelectron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infection nonbacterial gastroenteritis, *J. Virol.*, 10, 1075-1081.
- Kim, S. H., D. S. Cheon, J. H. Kim, D. H. Lee, W. H. Jheong, Y. J. Heo, H. M. Chung, Y. M. Jee and J. S. Lee, 2005, Outbreaks of gastroenteritis that occurred during school excursions in Korea were associated with several waterborne strains of norovirus, *J. Clin. Microbiol.*, 43, 4836-4839.
- Koopmans, M., M. Vinje, I. Leenen, P. W. Vander and Y. Van Duynhoven, 2000, Molecular epidemiology of human enteric caliciviruses in the Netherlands, *J Infect. Dis.*, 181, 262-269.
- LeBaron, C. W., N. P. Furutan, J. F. Lew, J. R. Allen, V. Gouvea, C. Moe and S. S. Monroe, 1990, Viral agents of gastroenteritis public health importance and outbreak management, *MMWR*, 39(RR-5), 1-24.
- Lewis, J. F., M. Petric, A. Z. Kapikian, X. Jiang, M. K. Estes and K. Y. Green, 1994, Identification of minireovirus as a Norwalk-like viruses in pediatric patients with gastroenteritis, *J. Virol.*, 68, 3391-3396.
- Mark, A. B. et al. 2003, "Incidence of enteric viruses in groundwater from household wells in Wisconsin" *Applied Environ. Microbiol.*, 69(2), 1172-1180.
- Marzouk, Y., S. M. Goyal and C. H. Bonsdorff, 2005, Norovirus genotypes causing gastroenteritis outbreaks in Finland 1998-2002, *J. Clin. Virol*, 34, 186-194.
- Mayo, M. A., 2002, A summary of taxonomic changes recently approved by ICTV, *Arch. Virol.*, 147, 1655-1663.
- Mounts, A. W., T. Ando, M. Koopmans, J. S. Bresee, J. Noel and R. I. Glass, 2000, Cold weather Seasonality of Gastroenteritis Associated with Norwalk-like Viruses, *J. Infect. Dis.*, 181(S2), 284-287.

- Nilsson, M., K. O. Hedlund, M. Thorhagen, G. Larson, K. Johansen, A. Ekspong, and Svensson, 2003, L. Evolution of human Calicivirus RNA in vivo: accumulation of mutation in the protruding P2 domain of the capsid leads to structural changes and possibly a new phenotype, *J. Virol.*, 77, 13117–13124.
- Okada, M., T. Ogawa, I. Kaiho, and K. Shinozaki, 2005, Genetic analysis of noroviruses in Chiba Prefecture, Japan between 1999 and 2004, *J. Clin. Microbiol.*, 43, 4391–4401.
- Powell, K. L., R. G. Taylor, A. A. Cronin, M. H. Barrett, S. Pedley, J. Sellwood, S. A. Trowsdale and D. N. Lerner, 2003, Microbial contamination of two urban sandstone aquifers in the UK, *Water Res.*, 37, 339–352.
- Reynolds, K. A., L. D. Mena and C. P. Gerba, 2008, Risk of waterborne illness via drinking water in the United States, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 192, 117–158.
- Tan, M., R. S. Heegde and X. Jiang, 2004, The P domain of norovirus capsid protein forms dimer and binds to histo-bliid group antigen receptor, *J. Virol.*, 78, 6233–6242.
- Thornhill, T. S., R. R. Wyatt, A. R. Kalica, R. Dolin, R. M. Chanock and A. Z. Kapikian, 1977, Detection by immune electron microscopy of 26–27nm virus-like particles associated with two family outbreaks of gastroenteritis, *J. Infec. Dis.*, 135, 20–27.
- Thornton, A. C., K. S. Jennings-Conklin, M and I. McCormick, 2004, Noroviruses: Agents in outbreaks of acute gastroenteritis, *Disaster Manage. Response*, 2, 4–9.
- VanZyl, W. B., P. J. Williams, W. O. Grabow and M. B. Taylor, 2004, Application of a molecular method for the detection of group A rotavirus in raw and treated water, *Water Sci. Technol.*, 50, 223–228.

- Vinje, J., H. Nennema, L. Maunula, C. H. Bonsdorff, M. Hoehne, E. Schreier, A. Richard, J. Green, D. Brown, S. S. Beard, S. S. Monroe, E. Bruin, L. Svensson, and M. P. G. Koopmans, 2003, International collaborative study to compare reverse transcriptase PCR assays for the detection and genotyping of noroviruses, *J. Clin. Microbiol.*, 41, 1423-1433.
- Wang, Q. H., M. G. Han, S. Cheethan, M. Souza, J. A. Funk, and L. J. Saif, 2005, Porcine noroviruses related to human norovirus, *Emerg. Infect. Dis.*, 11, 1874-1881.
- Widdowson, M. A., A. Sulka, S. N. Bulens, R. S. Beard, S. S. Chaves, R. Hammond, E. D. O. Salehi, J. Totaro, R. Woron, P. S. Mead, J. S. Bresee, S. S. Monroe and R. I. Glass, 2005, Norovirus and foodborne disease, United States, 1991-2000, *Emerg. Infect. Dis.*, 11, 95-102.
- Woo, G. J., I. G. Hwang, H. S. Kwak, M. G. Kim, J. S. Park, G. Y. Lee and Y. H. Koh, 2004, Application of detection method and evaluation for foodborne virus, *Ann. Rep. KFDA*, 8, 569-575.
- Zheng, D. P., T. Ando, R. L. Fankhauser, R. S. Beard, R. I. Glass and S. S. Monroe, 2006, Norovirus classification and proposed strain nomenclature, *Virology*, 346, 312-323.
- Zahorsky, J., 1929 Hyperemesis hiemis or the winter vomiting disease, *Arch. Pediatr.*, 46, 391-395.

감사의 글

“시작이반이다” 라는 말을 위안 삼아 뒤늦게나마 용기를 내어 대학원생활을 시작하고 멀고도 오랜 시간의 흐름을 넘어 여기 작은 결실을 맺었습니다.

먼저 부족한 저에게 열정적인 가르침과 깊은 깨달음을 주시고 이끌어 주신 감사유 교수님께 존경의 마음으로 깊은 감사를 드립니다.

항상 바쁘신 와중에도 유익한 지도와 조언을 해주신 오덕철 교수님, 김진근 교수님에게도 진심으로 감사의 마음을 전하고 싶습니다.

많은 가르침과 관심을 가져주신 허목 교수님, 허철구 교수님, 이기호 교수님, 조은일 교수님께도 진심으로 감사드립니다.

그리고 저에게 큰 발전의 기회가 될 수 있도록 배려해 주시고 격려해주신 보건환경연구원 김영주 원장님, 조인숙 과장님, 김수정 과장님, 양철신 과장님, 이창환 과장님, 송상택 과장님, 오상실 과장님, 현근락 과장님을 비롯한 모든 직원분들에게 감사드립니다.

또한 하나보다 둘이 좋다는 말이 있듯이 같이 논문을 쓰며 큰 힘이 되어 주고 위로가 되어 준 오승태 선생님, 대학원 동기 오재영 선생님, 고창성 선생님, 장희영 선생님, 김옥연 선생님, 장동민 선생님께도 고마움을 전하고 싶습니다.

무엇보다도 오늘이 있기까지 크고 작은 모든 일에 도움을 아끼지 않았던 가족들, 뒤늦게 공부 하는 저에게 할 수 있다는 믿음과 에너지의 원천이 되어 준 남편, 다원이, 다인이에게 사랑과 고마움을 표합니다.

최선을 다하지 못한 아쉬움으로 송구스러운 마음 그지없지만 다시 한번 부족한 저에게 많은 도움을 주신 고마운 분들께 깊은 감사를 드리며 또 다른 새로운 시작을 위하여 앞으로 더 나은 발걸음을 내딛도록 하겠습니다.

2011년 7월