

남아프리카 지역내 한타바이러스 존재에 관한 혈청 역학적 증거

고려대학교 의과대학 미생물학교실, 고려대학교 바이러스병 연구소, Department of Virology,
University of Cape Town¹, Department of Virology, University of Stellenbosch²,
Department of Virology, MRC/UCT Liver Research Center, University of Cape Town³,
Department of Virology, University of Free State, Bloemfontein, South Africa⁴

이평우 · 박만성 · G. Anthony Keen¹ · Z. Noveljic² · Tim J. Tucker³
Elna van der Ryst⁴ · Johannes I. Viljoen⁴ · Anne-Marie Pretorius⁴
Mike Oelofsen⁴

=Abstract=

Seroepidemiologic Evidence for the Presence of Hantavirus in South Africa

Pyung-Woo Lee*, Man-Seong Park, G. Anthony Keen¹, Z. Noveljic², Tim J. Tucker³,
Elna van der Ryst⁴, Johannes I. Viljoen⁴, Anne-Marie Pretorius⁴ and Mike Oelofsen⁴

*Department of Microbiology, College of Medicine, The Institute for Viral Diseases,
Korea University, Seoul 136-705, Korea, Department of Virology, University of
Cape Town¹, Department of Virology, University of Stellenbosch²,
Department of Virology, MRC/UCT Liver Research Center, University of Cape Town³,
Department of Virology, University of Free State, Bloemfontein, South Africa⁴*

Sero-epidemiologic survey has been carried out to establish serologically the presence of hantavirus in areas of South Africa. The survey was oriented to search natural infection in both of humans and wild rodents and involvement of human disease. The normal human sera were collected from the residents in urban and rural areas of Western Cape, and rural area of Eastern Cape province. The rodent sera came from various species of rodents trapped in Northern Cape and Western Free provinces. The patient sera were selected from the patients of renal failure, pulmonary syndrome and pyrexia of unknown origin (PUO) according to diagnostic chart among the patients hospitalized in major hospitals of Cape Town area. The sera were screened and titrated by IFA test using antigens of Hantaan (HTN), Seoul (SEO), Puumala (PUU), and Prospect Hill (PH) viruses primarily. Positive cases were subjected to differential IFA test using HTN, PUU and PH antigens and plaque reduction neutralization test for further confirmation. Anti-hantavirus antibodies were detected from 2 of 352 rural, 1 of 172 urban residents of E. Cape, and 5 of 118 rural, 5 of 368 urban residents of W. Cape. The antibody was also demonstrated from 5 of 221 wild rodents, and it was appeared that 2 different species, *Aethomys namaquensis* and *Tatera leucogaster*, are involved. Among 318 patients tested, 3 who were diagnosed as

접수 : 1999년 3월 9일

* Corresponding author: Pyung-Woo Lee, Department of Microbiology, College of Medicine, The Institute for Viral Diseases, Korea University, Seoul 136-705, Korea. Tel: (02) 920-6166, Fax: (02) 925-2676, E-mail: bayon@kucncx.korea.ac.kr
본 논문은 1997년도 학술진흥재단의 대학교수 해외파견 연구지원에 의하여 연구되었음.

chronic renal failure, acute respiratory distress syndrome (ARDS) and glomerulonephritis were proved to be positive. The reaction patterns obtained from all of these positive sera were distinct from hantaviral sero-patterns ever established. This result suggests that new viruses may exist in this area and play a possible etiologic role in human disease. The feature of serologic survey on anti-hantavirus antibody demonstrable newly from African wild rodents which are different from reservoir species in other continents elicits a conjecture that the virus may be different from known hantaviruses ever found. This fact also suggests that an expanded role in etiologic involvement with other unknown human diseases by newly emerging hantaviruses may be possible in this areas.

Key Words: Hantavirus, Reservoir, South Africa, Seroepidemiology, Sero-pattern

서 론

반세기여 동안 의문의 장막에 가려져 왔던 유행성 출혈열 (한국형 출혈열)의 원인체로서의 한탄 바이러스 (Hantaan virus)의 존재가 밝혀지면서 [8, 14] 우리나라에서 발생하는 소위 한국형 출혈열 (Korean hemorrhagic fever)과 과거 오랜 세월동안 중국, 만주와 북구지역을 포함하는 세계의 여러 지역에서 풍토병적으로 발생해 온 유사 질환들 간의 병인적 연관성 (etiologic relation) [12, 13, 16]과 자연계 숙주 (natural host) [2, 9, 19, 20], 그리고 전파경로 (mode of transmission) 등에 관한 그동안의 수다한 의문점들을 해결함에 있어서 괄목할만한 도약이 이루어졌다. 또한 한탄 바이러스의 동정 및 분리기법이 확립됨으로서 세계 각처에서 다양한 쥐과 (family Muridae) 설치류로부터 바이러스학적 성상이 유사한 여러 종류의 바이러스들이 속속 분리되는 계기를 제공하였으며 [2, 7, 14], 나아가 번야바이러스로서의 일반적 특성을 갖는 것으로 밝혀진 이들 일단의 바이러스들을 하나로 묶어 그 성상을 바탕으로 번야바이러스과 (family Bunyaviridae) 내에 새로운 속 (genus)으로 설정, 그 속명을 한타바이러스 (Hantavirus)라 명명함으로써 오늘날 한타바이러스학 (hantavirology)이 성립되는 발판이 마련되었다 [4, 21, 22, 24].

한타바이러스 속의 여러 유사한 바이러스들은 항원성 및 핵산 염기서열 분석 [25]을 통해 주요 바이러스의 종 (species) 또는 혈청형 (serotype)으로 구분될 수 있으며, 이 중에는 원형 (prototype)이 되는 Hantaan virus를 위시해서 Seoul, Puumala 및 Prospect Hill virus와 Dobrova, Thotapalyam, Thailand, Maaji virus [15]들이 있다. 근년에는 미국 남

서부의 Four corners 지역에서 기존의 구대륙 한타바이러스들에 의해 일어나는 신증후출혈열과는 전혀 다른 증상인 소위 한타바이러스 폐증후군 (Hantavirus pulmonary syndrome, HPS)을 일으키는 Sin Nombre virus가 분리된 [5] 이후 미주 지역에서 이와 유사한 일단의 바이러스들이 계속 발견되면서 한타바이러스 종의 다양성을 더해가고 있다.

최근 들어 신생 전염병 (emerging infectious diseases)으로서 크게 주목받고 있는 설치류 매개 출혈열 (rodent-borne hemorrhagic fever)은 한타바이러스 (hantaviruses)와 그리고 또 다른 종류의 negative-strand RNA 바이러스인 아레나바이러스 (arenaviruses) (family *Arenaviridae*)에 의해 일어나는데, 몇몇 바이러스 종에서 예외는 있지만 이들의 거의 모두가 자연계 숙주로서 단일 종류의 쥐과 설치류 (rodent)와 관련되어 있다. 예를 들어 아레나바이러스 중에서 Argentine hemorrhagic fever를 일으키는 Junin 바이러스의 숙주는 *Calomys musculus* (corn mouse)이며 [1] Tamiami 바이러스는 *Sigmodon hispidus* (cotton rats) [3]이다. 한타바이러스의 경우 또한 Hantaan, Seoul, Puumala, Prospect Hill virus 및 Sin Nombre virus의 자연계 숙주는 각각 *Apodemus agrarius*, *Rattus norvegicus*, *Clethrionomys glareolus*, *Microtus pennsylvanicus*와 *Peromyscus maniculatus*이다 [2, 8, 9, 20].

이 바이러스들은 이런 특정 숙주에서 불현성 지속감염 (persistent infection)을 일으키고, 제한된 특정 지역에 서식하는 감염 숙주동물들은 배설물 및 분비물을 통해 서식처 주변에 바이러스를 지속적으로 배출 [6, 10, 23]함으로써 서식처를 공유하는 동종의 다른 설치류에 전파되는 방식으로 자연계에서 생활환 (life cycle)을 이룬다. 이 바이

러스들의 사람에로의 전파는 비정상적으로 사람이 바이러스 오염지역에 침입하여 감염소 (infectious foci)에서 비말화 (aerosolized)된 바이러스의 흡입함으로써 일어난다. 이런 전파방식 (mode of transmission)을 통해서 한정된 지역에서 특정 바이러스성 출혈열이 풍토병적 양상으로 발생하였으며, 현재에도 지속적으로 발생하고 있는 것이다. 이처럼 어떤 지역 내에 어떤 바이러스의 숙주로 밝혀진 특정 야생 설치류의 존재는 그 바이러스가 공존하고 있을 가능성을 시사하고 나아가 그 지역에서 그 바이러스의 감염에 기인하는 환자 발생의 가능성에 관한 지표로 인식될 수 있다.

한타바이러스학에서 특정 종의 한타바이러스가 한 종의 특정 설치류와 관련되어 있다는 것은 바이러스학 및 역학적 차원에서 매우 흥미 있는 현상이다. 이 사실을 연역하여 현재까지 알려진 한타바이러스와 관련된 각종 설치류들의 세계적 분포를 고찰해 봄으로써 한타바이러스 질환 (hantavirus diseases)의 세계적 기발생 지역과 더불어

발생 가능지역 또한 추정해 볼 수 있다 (Figure 1). 한타바이러스 숙주동물 (natural host) 혹은 보유동물 (reservoir)의 지리적 분포는 혈청 역학적 조사를 통한 현재까지의 한타바이러스 질환의 세계적 발생지역 및 분포와 일치하며 나아가 발생 가능지역의 예측을 가능하게 해준다.

숙주동물의 분포는 아시아 (특히 동북아시아)와 유럽 (특히 북유럽) 그리고 북남미 대륙 (특히 북미)에서 각각 달리 나타나고 있으며, 이들과 공존하는 바이러스와 이에 기인하여 한타바이러스 질환 (hantavirus diseases)이 범세계적인 양상으로 발생하고 있고 그 증상은 바이러스에 따라 다르게 나타날 수 있다. 이러한 관점에서 볼 때 현재까지 환자 발생과 바이러스의 존재 및 숙주동물에 관한 정보가 전무한 아프리카 및 호주 대륙의 이에 관한 양상을 조사하는 일은 매우 흥미로운 일임과 동시에 한타바이러스학의 발전에 있어서 중요한 일이다. 특히 아프리카 지역은 여러 종류의 바이러스성 출혈열이 발생하고 있는 지역적 특



Figure 1. Geographic distribution of muridae wild rodents which are known reservoirs of hantaviruses. Apodemus mice (*A. agrarius*¹ and *A. flavicollis*²) are distributed in Northern Asia and Balkans including Yugoslavia, respectively. They are natural reservoirs of Hantaan and Dobrova viruses which cause severe hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in such regions. Clethrionomys mice (*C. glareolus*³) are distributed in Northern Europe and reservoir of Puumala virus which causes nephropathia epidemica. In new world, *Microtus* (*M. pennsylvanicus*⁴) and *Peromyscus*⁵ mice are natural reservoirs of Prospect Hill and Sin Nombre viruses, respectively. Sin Nombre virus has been known to cause hantavirus pulmonary syndrome which is different from HFRS in clinical symptom. Meanwhile, two continents -Africa and Australia- have been not yet known either for the presence of hantaviruses or possible role of wild rodents as natural host in these geographic regions.

성상 보다 흥미를 끄는 지역이다.

이러한 이유로 해서 아프리카 대륙에서도 유럽과는 멀리 떨어져 있는 남아프리카 지역, 그 중에서도 Cape Town을 중심으로 하여 Western Cape 및 Eastern Cape 지역 주민들과 또한 Northern Cape 및 Free State 지역 일대에서 포획한 야생 들쥐들을 대상으로 혈청 역학적 조사를 통하여 먼저 이 지역 일대에서 한타바이러스의 존재 여부를 파악하고자 하였다. 그 결과 바이러스의 존재가 입증되면 기존의 한타바이러스들과 항원적 관련성은 어떠한지, 나아가서 입원환자를 대상으로 하는 혈청학적 조사를 통하여 사람의 어떤 질병과 관련이 있는지를 규명하고 더 나아가서는 이 지역 고유의 한타바이러스를 분리하기 위한 장래의 연구 기반을 마련하기 위해 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 바이러스

본 연구에 사용된 바이러스들은 4종류의 주요 한타바이러스의 혈청형으로서 한국산 등줄쥐 (*Apodemus agrarius coreae*)에서 분리된 한탄 (Hantaan) 바이러스 (HTN/76-118) [8, 11]와 한국산 집쥐 (*Rattus norvegicus*)에서 분리된 서울 (Seoul) 바이러스 (SEO/80-39) [7], 그리고 핀란드산 bank vole (*Clethrionomys glareolus*)로부터 분리된 푸말라 (Puumala) 바이러스 (PUU/Sotkamo) [2]와 미국의 Frederick (Maryland)에서 채집한 갈밭쥐 (*Microtus pennsylvanicus*)에서 분리한 프로스펙트힐 (Prospect Hill) 바이러스 (PH/PH-1) [14]를 사용하였다. 모든 바이러스는 -70℃에 보관 중이던 seed virus들을 Vero-E6 세포에 감염시켜 2~3대 계대 배양한 것으로 사용하였다.

2. 배양세포 및 바이러스 배양

바이러스의 배양용 세포로 Vero-E6 세포 (CRL 1586) (ATCC, Rockville, MD.)를 사용하였다. 세포 배양액은 5%의 heat-inactivated fetal bovine serum (FBS)이 첨가된 DMEM (Dulbecco's modified essential medium) (Biowhittaker, Walkersville, Maryland.)을 사용하여 5% CO₂가 공급되는 37℃ 배양기에서 단층 배양하였다. 바이러스의 배양은 배양액을 제거한 단층세포에 바이러스 접종 후 37℃에서 1시간 흡착시킨 후 다시 새로운 배양액을 가

하여 바이러스에 따라 7~12일간 배양하였다.

3. 항원 제조

위에서처럼 한탄 및 서울 바이러스는 7일 간 그리고 푸말라 및 프로스펙트힐 바이러스는 12일 간 배양시킨 다음, 세포들은 트립신 처리하여 인산완충식염수 (phosphate buffered saline, PBS)로 한번 세척한 후에 원침관에 침전시켰다. 침전세포에 적정량 ($\leq 0.1 \text{ ml/T-25 cm}^2$ 배양세포)의 배양액을 가하여 재현탁시킨 다음 형광항체 검사용 spot 슬라이드에 도말, 건조시켜 사용 시까지 -70℃에 보관하였다.

4. 검사 혈청

1) 정상인 혈청

남아프리카 공화국의 Western Cape의 도시 및 농촌 지역 그리고 South Eastern Cape의 도시 및 농촌 지역에 거주하는 주민 980명으로부터 혈청을 채취하였다. 채취 대상자는 해당지역에 5년 이상 거주한 18세 이상의 주민이었고 대상자 거의 모두는 극빈층에 속하는 사람들이었다.

(1) Western Cape

① 도시 지역 - Cape Town 근교의 저개발 빈민 지역인 소위 squatter communities (무단 거주민촌의 판자집과 formal housing에 거주하는 주민 226명과 시내 Hanover Park (Cape plate 지역)에 거주하는 주민 142명으로 모두 368명.

② 농촌 지역 - Ceres와 Worcester 및 Aurora 지역 농촌 촌락의 formal housing communities에 거주하는 주민 118명.

(2) South Eastern Cape

① 도시 지역 - East London 근교 Cecilia 지역에 거주하는 주민 172명.

② 농촌 지역 - Keiskammaheek와 Peddi 지역의 고립된 지구의 전통적인 토막집 (traditional mud house)에 거주하는 자경자급 농장 근로자 352명.

2) 들쥐 혈청

Northern Cape의 Preezfontein 지역과 Western Free State의 Vogelfontein, Bloemfontein (Bainsvlei) 지역의 야지에서 포획한 *Aethomys namaquensis*, *Saccostomus campestris* 및 *Tatera leucogaster*를 포함한 221마리의 각종 야생 들쥐로부터 채취한 혈청.

3) 환자 혈청

Cape Town 지역의 여러 병원에 입원한 환자들 중에서 신부전증 (renal failure), 폐부종 (pulmonary edema) 및 원인불명열 (pyrexia of unknown origin, PUO) 그리고 사구체신염 (glomerulonephritis)으로 진단된 환자 318명으로부터 혈청을 수집하였다. 이 중 여아 사구체신염 환자는 신증후 출혈열 유사 환자로 의심되어 Dr. Noveljic (Department of Virology, University of Stellenbosch)으로부터 검사 의뢰된 것이었다 (Table 3, 4).

5. 간접 면역형광항체법

항체 검출은 간접 면역형광항체법 (immunofluorescent antibody, IFA)법 [17]으로 하였다. 즉 -70℃에 보관 중이던 한탄 및 프로스펙트힐 바이러스 항원 슬라이드를 꺼내 실온에서 말린 다음 아세트론으로 10분간 고정시키고 인산완충식염수 (phosphate buffered saline, PBS, pH 7.4)로 10분간 세척, 건조시켰다. 이처럼 고정시킨 각각의 도말 세포상에 PBS로 16배 희석시킨 검사 혈청을 가하고 37℃에서 30분간 반응시켰다. 반응을 마친 세포는 PBS로 10분간 세척, 건조 후 FITC-conjugated goat anti-human IgG (Cappel, USA) (1:500) (들쥐 혈청의 경우 anti-mouse IgG)를 가하여 일차 반응과 동일한 방법으로 반응시키고 세척, 건조시킨 다음 형광현미경 (50 W, Zeiss Co, Germany) (400배) 세포내의 특이 점상 형광의 유무를 관찰하였다. 특이형광이 관찰되면 양성으로 판정하고 이들 양성혈청에 대해서는 추가로 감별 및 확정시험을 실시하였다.

6. 양성혈청의 감별 및 확정시험

1) 감별면역형광항체법 (differential immunofluorescent antibody, DIFA) [18]. 위의 IFA 검사결과 양성인 혈청은 1:16부터 2단계 희석법으로 희석한 후에 HTN, PUU 및 PH의 세 종류의 항원을 사용하여 동시 역가 측정을 실시하였으며, 각 항원에 대한 역가로서 반응 패턴 (pattern)을 구하고 이를 기존의 확립된 한타바이러스의 패턴들과 비교, 그 차이를 감별하고자 하였다.

2) 플라크 감소 중화시험 (plaque reduction neutralization test, PRNT) [17]. 위의 IFA 검사결과 양성으로 판명된 혈청은 HTN, SEO 및 PH 바이러스의 중화 여부 및 항체가를 조사하였다. 즉 바이러스의 플라크 산정시험을 통해 약 100 플라크로

Table 1. Positive cases of anti-hantavirus antibody detected from normal population resided in urban and rural areas of Western and South Eastern Cape, South Africa

Province	Area	No. positive*/no. tested
Western Cape	Urban ^a	5/368
	Rural ^b	5/118
South Eastern Cape	Urban ^c	1/172
	Rural ^d	2/352

^a Squatter communities, Hanover park (Cape plat) in Cape Town, ^b Ceres, Worcester areas, ^c Cecilia area in East London, and ^d Keiskammaheok, Peddi areas. *The dilutions (1;16) of sera were tested against Hantaan and Prospect Hill viral antigens by IFA. The test showing typical cytoplasmic fluorescence was considered as positive

조정된 바이러스 용액에 동량의 1:10에서 시작하여 4배수 희석한 양성 혈청을 넣고 37℃에서 1시간동안 중화시켰다. 그 다음 이 바이러스-혈청 혼합물 (virus-serum mixture)을 6 well plate에 배양한 Vero 단층세포에 감염시킨 후 0.6% seakem agar-DMEM (10% FCS, L-glutamine, nonessential amino acid 포함)를 첨가, 37℃에서 일주일간 배양하였다. 그 후 이 단층배양 세포에 바이러스의 항혈청과 peroxidase 표지 항혈청으로 반응시킨 다음 diaminobenzidine을 가하여 발색되어 나타난 플라크의 수를 계수, 플라크의 감소 여부를 관찰하였다. PRN 역가는 플라크의 수가 정상 대조군 (정상인 혈청 및 혈청 미첨가 시험군)에 비해 80% 이상 감소를 나타낸 혈청의 최고 희석배수의 역수로 표시하였다.

결 과

1. 한타바이러스 항체의 검출

1) 정상인 혈청

Western Cape의 도시 지역 (urban area)인 Cape Town 근교 (squatter communities) 및 시가지 (Hanover park) 주민 368명으로부터 5명 그리고 농촌 지역 (rural area)인 Ceres와 Worcester 지역의 주민 118명 중에서 5명의 항체 양성자가 발견되었다. South Eastern Cape의 도시 지역으로는 East London의 Cecilia 지역에 거주하는 주민 172명으로부터 1명 그리고 시골 농촌 지역인 Keiskammaheok

Table 2. The detection of antibody against hantavirus in sera of wild rodents captured in South Africa

Species	Reciprocal IFA titer* against hantaviruses				Captured area
	Hantaan	Seoul	Puumala	Prospect Hill	
<i>Aethomys namaquensis</i>	64	32	<16	<16	Preezfontein, Western Free State
<i>Aethomys namaquensis</i>	64	64	<16	16	Preezfontein, Western Free State
<i>Aethomys namaquensis</i>	32	32	<16	<16	Vogelfontein, Northern Cape
<i>Aethomys namaquensis</i>	64	16	<16	<16	Vogelfontein, Northern Cape
<i>Tatera leucogaster</i>	128	32	<16	<16	Bainsvlei, Bloemfontein Free State

*Titers were expressed as reciprocal of the highest dilution of serum resulting in specific fluorescence

Table 3. Personal data of the hospitalized patients of which anti-hantavirus antibody was detected in sera

Patient	Gender	Age	Occupation	Area	Diagnosis	Date hospitalized
1	F	24	Farm laborer	Ceres	Chronic renal failure	7 July, '97
2	F	26	.	Cape Town (Grassy Park)	ARDS	.
3	F	7	.	Piketberg	Glomerulonephritis	25, Oct., '97

Table 4. Clinical history of the patient from Piketberg area

◆ 3 weeks prior to tonsillitis, fine macular rash starting on the back, spreading to the limbs and face; duration \pm 4 days, no other symptoms.
◆ Tonsillitis, seen by a doctor, given antibiotics.
◆ 3 days later, seen by the same doctor now with a swollen face.
◆ 4 days later, seen by another doctor, hematuria; diagnosed to glomerulonephritis, admitted to Piketberg hospital.
◆ Spiking fever: 37.5~39.0°C, BP: 130/90, oliguria, hematuria, back & abdominal pain.
◆ 4 days later, transferred to Paarl hospital followed shortly Tygerberg hospital admission. (Oct. 25, fever, fine rash, abdominal pain; Oct. 30, Tygerberg hospital for management of renal failure).

와 Peddi 지역에 거주하는 주민 352명으로부터는 2명의 항체 양성자가 발견되었다 (Table 1).

2) 들쥐 혈청

Western Free State와 Northern Cape 일대에서 채집한 221마리의 들쥐 중에서 5마리가 양성이었다. 종류로는 *Aethomys namaquensis*가 4마리 그리고 *Tatera leucogaster*가 1마리였으며 *Aethomys* 쥐에서 보다 항체 양성율이 높게 나타났다 (Table 2).

3) 환자 혈청

검사한 318명의 환자 중 3명에서 항체가 발견되었는데, 임상 진단은 각각 만성신부전증과 급성호흡곤란증후군 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 그리고 사구체신염 (glomerulonephritis)으로 나타났다 (Table 3, 4). 세 환자의 각각은 한타바이러스 각 혈청형에 대한 반응성에서 차이가 있었다. 즉 만성신부전증 환자의 항체는 한타 바이러스 항원에 대해 가장 높았으며 다

Table 5. Presence of anti-hantavirus antibodies in sera from hospitalized patients in south Western Cape area, South Africa

Patient	Serial bloods	Reciprocal IFA titer against hantaviruses				Diagnosis & remarks
		Hantaan	Seoul	Puumala	Prospect Hill	
1	R-1	16	<16	<16	<16	Urgent hemodialysis for acute volume overload.
	R-2 ^a	128	32	<16	16	Chronic renal failure
2	A-1	<16	<16	<16	32	Severe pneumonia bilateral, acute respiratory distress syndrome (ARDS)
	A-2 ^b	<16	<16	<16	128	
3	G-1	256	<16	<16	<16	Fever, fine rash, abdominal pain, glomerulonephritis
	G-3 ^c	512	<16	<16	<16	
	G-5 ^d	1.024	<16	<16	<16	

^a The 2nd bleeding was done at a month later from 1st bleeding. ^b The 2nd bleeding was done at 5 days later from 1st bleeding. ^c The 3rd bleeding was done at 8 days later from 1st bleeding, then ^d the 5th bleeding was done at 18 days later from 1st bleeding, respectively

Table 6. The antibody titers against hantaviruses of positive sera from normal residents of urban and rural areas in Western and Eastern Cape, South Africa

Area	Province	Reciprocal IFA titer against hantaviruses				Place of residence
		Hantaan	Seoul	Puumala	Prospect Hill	
Urban	Western Cape	<16	<16	<16	128	Cape Town (squatter communities & formal housing)
		<16	<16	<16	512	
		<16	<16	<16	512	
		<16	<16	<16	128	
	Eastern Cape	512	128	<16	<16	Cape Town (Hanover park)
Rural	Western Cape	1.024	64	<16	<16	Cecilia, East London
		128	16	<16	<16	
		128	32	<16	<16	
		64	16	<16	<16	
		256	64	<16	16	
	64	128	<16	<16		
	Eastern Cape	128	16	<16	<16	Peddie, Keiskammahoek (traditional mud house)
		2.048	2.048	<16	<16	

음으로 서울, 프로스펙트힐 바이러스의 순서였다. ARDS 환자의 경우는 프로스펙트힐 항원에 가장 높은 반응성을 보였으며, 사구체신염 환자는 한탄 바이러스 항원에 대해서만 상당히 높은 항체가를 나타내었다. 그리고 세 환자 모두에서 paired sera 의 후기 혈청 sample에서 항체가의 상승이 입증되었다 (Table 5).

2. 감별 면역형광항체법 (DIFA)에 의한 혈청형 분석

한탄 (HTN), 서울 (SEO), 푸말라 (PUU) 그리고 프로스펙트힐 (PH) 바이러스 항원을 이용, 동시 역가측정을 실시하여 그 반응 패턴에 따라 원인 항원의 혈청형을 기존의 것들과 관련지어 추정하고자 하였다. 그 결과 기존의 혈청 패턴과는 다른 3가지 종류의 다른 패턴으로 구분할 수 있었다.

농촌형: 정상인의 경우 Table 6에서 보여진 바

Table 7. Demographic data of anti-hantavirus positive normal residents

Age	65	53	60	53	49	31
Gender	F	F	F	F	F	F
Employed	No	No	No	Yes	No	Yes
Scarification	Yes	Yes	Yes	No	No	Yes

Table 8. The plaque reduction neutralization (PRN) titers against hantaviruses of the selected IFA positive sera from patients and normal residents of urban and rural areas in Western and Eastern Cape, South Africa

Sera from	IFA titer* to hantaviruses			PRN titer* to hantaviruses			Diagnosis
	Hataan	Seoul	Prospect Hill	Hataan	Seoul	Prospect Hill	
Normal resident	64	128	<16	20	<20	<20	
Patients	128	32	16	20	<20	<20	Chronic renal failure
	<16	<16	128	<20	<20	<20	
	1.024	<16	<16	320	<20	<20	

*IFA and PRN titers were expressed as the reciprocal of the highest dilution of serum resulting in specific fluorescence or in reduction of the number of virus plaques by 80% or more, respectively

처럼 농촌 주민 (rural residents)의 경우는 Western Cape와 Eastern Cape 주민 모두에서 HTN 항원에 가장 높은 반응 역가를 나타내었으며 다음으로 SEO 항원이었으나 반응성은 보다 낮게 나타났고 PH 및 PUU 항원들과는 16 이하 (<16)로서 매우 미약한 반응을 보였다. 이와 같은 반응 패턴은 한탄 바이러스의 항혈청이 나타내는 소위 seropattern I [18]과 비슷하지만 주된 차이점은 한탄 및 서울 항원에 대한 반응성이 항상 낮은 것으로 관찰되었다. Hanover park와 Cecilia의 도시 주민의 경우는 농촌 주민의 것과 동일한 패턴을 나타냈다 (Table 6). 들쥐의 경우 (Table 2)는 그 패턴이 농촌 주민의 것과 같은 농촌형을 나타내었으며, 환자에서도 만성신부전증 환자 (Table 5)도 농촌형을 보였다.

도시형: Cape Town의 squatter 지역 주민과 같은 도시 외곽의 특정 지역민의 경우에서는 PH 항원과 보다 높은 반응성이 관찰되었고 HTN 항원과는 매우 미약한 반응을 나타내어 (Table 6) 위의 농촌형과는 다르다. ARDS 환자의 경우 (Table 5) 또한 프로스펙트힐 항원에 가장 높은 반응성을 보여 이 형에 속했다.

제 3형: 사구체신염 환자는 한탄 바이러스 항원에 대해서만 높은 항체가 (1:1.024)를 나타냄으로서 (Table 5) 위의 두 형과는 구분되는 또 다른 형

이었다.

3. 한타바이러스 중화항체

면역형광항체 양성 혈청들에 의한 한탄, 서울 및 프로스펙트힐 바이러스의 중화 결과는 Table 8에 기술하였다. 먼저 정상 주민 혈청의 경우 한탄 바이러스에 대한 PRN 역가는 20으로서 미약한 중화반응을 나타내었으며 다른 두 바이러스들에 대해서는 <20으로서 음성으로 판정하였다.

세 환자의 경우, 만성신부전증 환자 혈청의 중화항체는 한탄 바이러스에 대해서만 PRN 역가 20으로서 미약한 양성반응을 보였으며, ARDS 환자는 세 바이러스 모두에 대해 음성이었다. 이에 반해서 사구체신염 환자 혈청의 한탄 바이러스에 대한 PRN 역가는 320으로서 상당히 높은 중화항체를 나타냈으나 다른 두 바이러스에 대해서는 음성이었다.

고 찰

이상의 결과에서 나타난 바와 같이 검사 대상의 시료가 지역적 및 수적으로 매우 한정적이었음에도 불구하고 조사 대상 지역인 남아프리카의 Western Cape 및 South Eastern Cape의 일부 도시 및 농촌 주민 (urban and rural group)으로부터 한타

바이러스 항체의 존재를 입증할 수 있었다. 항체 검출을 위한 일차 검색 (screening) 시험은 한탄 및 프로스펙트힐 바이러스 항원을 동시에 사용하여 하였다. 이는 현재까지 알려진 모든 한타바이러스들의 항체가 이 두 항원에 선별적으로 모두 잘 반응하기 때문에 미지의 한타바이러스에 대한 항체도 일단은 그러할 것으로 생각하여 이같은 복수항원 시험계 (multiple antigen testing system)를 이용하였다. 그 결과 대부분의 양성 검체들은 한탄 바이러스 항원에 보다 잘 반응하였으나, Cape Town 근교 squatter communities의 주민들 중에는 프로스펙트힐 바이러스 항원에만 반응하는 검체들이 확인되었다. 이런 부류의 흥미 있는 혈청들은 항체의 일차 검색을 위해서 오직 한탄 항원 한 종류만을 사용한다면 간과될 수 있는 것들로서 항체 검색계 (antibody screening system)에서의 항원 선정의 중요성을 일깨워 주는 사례라 할 수 있다. 일차 검색시험 결과 양성으로 판명된 검체는 서울 및 푸말라 바이러스 항원을 추가, 4종류의 항원에 대한 동시 역가 측정을 실시하여 각 항원에 대한 반응 역가로서 반응 패턴 (reaction pattern)을 설정하여 기존의 패턴과 비교함으로써 원인 항원 (causative antigen)과 기존 한타바이러스 항원들 간의 관련성을 추정해 보고자 하였다. 그 결과 기존의 것들과는 다른 3종류의 반응 패턴으로 구분될 수 있었다.

첫 번째 것은 모든 농촌 주민과 만성신부전증 환자에서 볼 수 있는 것으로서 항체 역가가 전반적으로 낮다는 것을 제외하고는 기존의 한탄 (혹은 서울) 바이러스의 그 것과 매우 유사한 것이다. 즉 한탄 바이러스 항원에 대해 가장 높은 반응성을 나타내며, 서울 바이러스와는 보다 낮은 반응성을 그리고 푸말라와 프로스펙트힐 바이러스 항원과는 거의 반응성을 보이지 않는다. 그러나 이런 양성의 반응성은 신증후출혈열 환자와 같은 즉 전형적인 한탄 및 서울 바이러스 항혈청이 나타내는 것과 같은 높은 역가의 반응 [17, 18]은 아니었다 (Table 6). 이와 같은 패턴의 차이는 남아프리카 농촌 지역에 존재하는 한타바이러스는 아마도 한탄 바이러스와 항원적으로 유사하지만 차이가 있으리라는 것을 시사한다. 이같은 결론은 이 그룹의 혈청들이 한탄 바이러스에 대해 약한 중화반응을 나타낸 플라크감소 중화시험의 결과로서도 확인될 수 있다.

두 번째 것은 위에서 언급한 squatter communi-

ties의 주민들과 ARDS 환자에서 나타난 것으로서 오직 프로스펙트힐 바이러스 항원에만 양성인 새로운 패턴의 것이었다. 이는 이제까지 관찰된 패턴들 [18]과는 다른 전혀 다른 새로운 것이어서 이 지역 내에 새로운 항원을 보유한 새로운 한타바이러스의 존재하리라는 추론의 근거를 제공한다.

끝으로 세 번째 것은 현재까지 정상인 그룹에서는 발견되지 않았고 단지 한 건의 신증후출혈열 유사환자 (Table 3, 4)에서만 나타난 것으로서 한탄 항원에만 1:2,000 정도로 높은 반응을 보이면서 다른 항원들에는 1:16 이하의 낮은 반응을 보이는 패턴이다. 이것이 만약 한탄 및 서울 바이러스 항혈청의 패턴이라면 서울 항원과도 잘 반응하며 또한 보다 낮지만 푸말라 및 프로스펙트힐 항원과도 반응할 것이다. 중화시험의 결과 또한 IFA 시험의 결과에 상응하여 한탄 바이러스에 대해서는 상당히 높은 중화반응을 보인 반면 서울 및 프로스펙트힐 바이러스에 대해서는 음성이었다. 이런 결과들로 분석해 볼 때 이 또한 앞의 것들과는 다른, 새로운 제3의 패턴인 것으로 여겨진다.

이상의 패턴 분석의 결과로서 남아프리카 지역에는 기존의 한타바이러스들과는 항원적으로 차이가 있는 적어도 3종류의 한타바이러스가 존재하는 것으로 추정해 볼 수 있다.

도시 주민 (urban group)의 경우 Cape Town (Hanover park 지역)과 East London (Cecilia 지역) 시내 주민들은 농촌 주민과 동일한 소위 "농촌 패턴"이었으나, 흥미 있는 사실은 위에서 언급한 Cape Town 시내 외곽의 squatter 지역 주민들은 이와는 다른 반응 패턴, 즉 프로스펙트힐 바이러스 항원에 가장 높은 반응을 나타내는 반응 패턴 (도시 패턴)이 관찰된다는 것이다 (Table 6). 같은 도시 지역이면서도 차이가 있는 것은 시내 주민들은 도시 외곽의 극빈 저개발 지역 주민들과는 주거 환경과 생활 양식이 다르고, 생활 반경이 넓으며 또한 이들 중에는 상당수가 농촌 지역으로 농사일을 다닌다는 점을 감안할 때 그 차이를 이해할 수 있다.

Free State의 Preezfontein과 Bloemfontein 그리고 Northern Cape의 Vogelfontein 지역에서 포획한 야생 들쥐들로부터 한타바이러스 항체가 발견되었는데, 항체를 보유하는 종류는 *Aethomys* 쥐 (*Aethomys namaquensis*)와 *Tatera* 쥐 (*Tatera leucogaster*)

의 2종인 것으로 나타났고 그 중에서 *Aethomys* 쥐가 항체 보유율이 더 높았다. 항체가는 대체로 낮았으며 한탄 바이러스 항원에 대하여 가장 높은 역가를 보이는 소위 농촌 패턴을 보였다 (Table 2). 이처럼 농촌 주민과 농촌의 야지에 서식하는 야생 들쥐들 간에 동일한 반응 패턴이 관찰된다는 사실은 항원적으로 한탄 바이러스에 보다 가까운 모종의 한타바이러스가 자연계에서 야생 들쥐에서 생활환 (life cycle)을 이루고 있으며, 농촌 주민들이 자연에서 농사 등의 야외 활동을 통해 이 감염 들쥐들과 직간접적인 접촉을 통해서 이 바이러스에 감염되는 것으로 추정해 볼 수 있다. 사실상 조사 대상 농촌 주민들의 대다수가 농장 근로자였으며 따라서 이들이 일터에서 야생 들쥐들과의 빈번하고도 밀접한 접촉이 있었을 가능성은 매우 높다. 항체 양성자의 평균 연령은 51.5세였으며 모두 여성 근로자라는 점 또한 가사 일이나 농장 일이 바이러스의 감염과 밀접하게 관련되어 있음을 시사하고 있다 (Table 7).

한타바이러스 항체는 만성신부전증 및 급성호흡곤란증후군 (ARDS)의 젊은 여성 환자와 사구체신염의 어린 여자 환자에서 입증되었는데 (Table 3, 4), 이 중 만성신부전증 환자는 한탄 바이러스 항원에 대해 가장 높은 항체가를 나타냈으며 1차 혈청과 1차 채혈 30일 후에 채혈한 2차 혈청간에는 분명한 역가 상승 (sero-conversion)을 관찰할 수 있었다 (Table 5). 그러나 항체가는 그리 높지 않았으며, 한탄 바이러스에 대한 중화항체는 낮아 전형적인 농촌 패턴을 나타내었다. 이 결과는 야생 들쥐가 보유한 바이러스가 사람에게 감염되어 신부전증 같은 신장관련 질병을 일으키는 것으로 유추해 볼 수 있다.

동일한 패러다임의 연장선상에서 추론해 볼 때 급성호흡곤란증후군에 관련된 한타바이러스는 신부전증 관련 바이러스와는 항원적으로 다른 바이러스인 것으로 여겨진다. 즉 급성호흡곤란증후군 환자의 항체는 프로스펙트힐 바이러스 항원과 가장 높은 반응성을 나타내는 것으로 보아 (Table 5) 급성호흡곤란증후군 관련 바이러스는 항원적으로 한탄 바이러스보다는 프로스펙트힐 바이러스에 보다 가까운 또 다른 한타바이러스의 존재를 의미한다. 또한 본 환자의 반응 패턴은 Cape Town 근교의 squatter communities 주민의 그것 (Table 6)과 동일한 것이어서 이 바이러스는 도시 지역 근교의 열악하며 비위생적인 거주

집단 내에서 사람에게 병을 일으킬 수 있을 것으로 생각될 수 있다.

또한 사구체신염 환자는 fine rash, oligourea, abdominal pain 등 임상기록 (clinical history)이 전형적인 신증후출혈열의 그것과 매우 유사하였으며 (Table 4) 결국에는 신부전증으로 입원치료 중 사망한 경우이다. 이 환자의 거주지는 Cape Town 북부의 Piketberg 근교의 광활한 밀 경작지에 위치한 열악한 농촌 빈민 지역이었으며, 주거지 환경은 야생 들쥐와의 접촉 또한 용이한 주변환경이었다. 이 환자의 한타바이러스에 대한 항체는 한탄 바이러스 항원에서만 1.024 정도의 높은 형광 항체가와 320 정도의 비교적 높은 중화항체가를 나타내었으며, 이는 앞서 언급한 다른 두 종류와는 반응 패턴으로서, 전형적인 한탄 바이러스 항체의 반응 패턴 [17, 18]과도 다르다. 따라서 이런 차이는 전형적인 한탄 바이러스의 항체 반응성과는 차이가 있으므로 한탄 바이러스와 보다 유사하지만 차이가 있으며, 또한 만성신부전증 및 ARDS와 관련된 바이러스들과도 다른 모종의 한타바이러스가 이 지역에서 치명적인 사구체신염의 발생과 관련되어 있을 것으로 강하게 추정된다.

이상의 모든 실험 결과를 종합해 추론해 볼 때 남아프리카 지역에는 기존의 한타바이러스들과는 다른 적어도 3종 이상의 한타바이러스가 존재할 수 있으며, 농촌 및 도시 지역에서 적어도 2종의 들쥐들과의 접촉을 통해서 바이러스들에 감염됨으로서 만성신부전증, ARDS 및 신증후출혈열 유사 질환이 발생할 것으로 생각된다.

새로운 바이러스의 존재 및 질병과의 관련성에 관한 이상과 같은 추론은 혈청역학적 결과의 논리적 분석을 바탕으로 하여 추정한 것으로서, 이는 항체 양성 초기 환자 및 항체 양성 지역에 서식하는 야생 들쥐의 시료로부터 직접 바이러스의 분리가 성공적으로 이뤄짐으로서의 비로소 확증될 수 있을 것이며, 나아가 분리된 바이러스에 의한 제반 바이러스학적 연구와 병행하여 보다 광범위한 혈청 역학적 조사를 통해 아프리카 지역에 존재하는 새로운 한타바이러스들의 분포 및 성상, 병원성 등이 보다 자세히 규명될 수 있을 것으로 믿는다.

결 론

1. Western Cape의 도시 지역인 Cape Town 근

교 (squatter communities)와 시가지 (Hanover park) 거주 정상인 주민 368명으로부터 5명 그리고 농촌 지역 (rural area)인 Ceres와 Worcester 지역의 주민 118명중에서 5명의 항체 양성자가 발견되었다. 또한 South Eastern Cape의 도시 지역인 East London의 Cecilia 지역에 거주하는 주민 172명으로부터 1명 그리고 농촌 지역인 Keiskammahcok와 Peddi 지역 주민 352명으로부터 2명의 항체 양성자가 발견되었다. 농촌과 도시간의 양성율에서 유의할만한 차이는 없다.

2. Free State와 Northern Cape 일대에서 채집한 221마리의 들쥐 중에서 5마리가 한타바이러스 항체 양성이었는데, 종류로는 *Aethomys namaquensis* 가 4마리 그리고 *Tatera leucogaster*가 1마리로서 *Aethomys* 쥐가 더 높은 항체 양성율을 나타내었다.

3. 환자 318명 중 3명에서 항체가 발견되었으며 임상 진단은 각각 만성신부전증과 급성호흡곤란 증후군 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 그리고 사구체신염 (glomerulonephritis)이었다. 세 환자 모두에서 후기 혈청 (late sera)에서 항체가의 상승을 입증할 수 있었다.

4. 한탄 (HTN), 서울 (SEO) 그리고 프로스펙트 힐 (PH) 바이러스 항원을 이용, 동시 역가측정을 실시하여 그 반응 패턴을 조사한 결과, 농촌 거주민 모두에서 HTN 항원에 가장 높은 반응 역가를 나타내었으며 다음으로는 SEO 항원이었고 PH 항원에는 음성이었다. 그러나 HTN과 SEO항원에 대한 반응 역가는 일반적으로 낮은 것이 특징이었다 (농촌형). 이런 기준에서 들쥐의 경우 또한 농촌형으로 볼 수 있었다. 도시 주민의 경우, Hanover park와 Cecilia 주민 같은 시내 거주자의 경우는 농촌형이었으나 Cape Town 외곽 squatter 지역 주민에서는 PH 항원에만 반응하는 또 다른 반응 패턴이 관찰되었다 (도시형). 환자에서는 만성신부전증 환자의 경우는 농촌형을 그리고 ARDS 환자는 도시형을 나타냈다. 사구체신염 환자는 한탄 바이러스 항원에 대해서만 상당히 높은 형광항체가 (1:1.024)를 나타내었으며, 이 점에서 앞의 두 형과는 또 다른 제3의 형으로 분류할 수 있었다.

5. 형광항체 양성인 정상인 및 환자 혈청의 한탄, 서울 및 프로스펙트힐 바이러스 중화능을 조사한 결과 농촌 주민과 만성신부전증 환자 혈청, 즉 농촌형 혈청은 한탄 바이러스에 대해서만 약

한 (1:20) 중화반응을 나타냈으며, ARDS 환자는 세 바이러스 모두에 대해 음성이었다. 사구체신염 환자 (신증후출혈열 유사 환자)는 한탄 바이러스에 대해 상당히 높은 (1:320) 중화항체가를 나타내었다.

6. 이상의 결과로 추론해 볼 때 아프리카 지역에는 기존의 한타바이러스들과는 항원성이 다른 도시형과 농촌형 그리고 제 3의 형의 혈청 패턴을 유발하는 적어도 3종의 한타바이러스가 존재하는 듯하다. 또한 적어도 2종류의 들쥐가 바이러스 보유동물로서 역할을 하며, 그 중 *Aethomys* 쥐가 농촌형 바이러스의 자연계 숙주로서 보다 중요한 역할을 하는 듯하다. 또한 이 지역의 한타바이러스들은 대부분 경증 감염을 일으키지만, 어떤 경우에는 중증의 HFRS 유사질환, 신부전증 및 ARDS를 일으키는 것으로 추정된다.

참 고 문 헌

- 1) **Arribalzaga RA:** Una nueva enfermedad epidemica a germen desconocido: hipertermia nefrotoxica, leucopenica y enantemica. *Dia Mexico* **27:** 1204-1210, 1955.
- 2) **Burmmmer-Korvenkontio, Vaheri A, Hovi T, Von Bonsdorff CH, Vuorimies J, Manni T, Penttinen K, Dker-Blom N, Laehdevirta J:** Nephropathia epidemica: Detection of antigen in bank voles and serologic diagnosis of human infection. *J Infect Dis* **141:** 131-134, 1980.
- 3) **Calisher CH, Tzianabos T, Load RD and Coleman PH:** Tamiami virus, a new member of the Tacaribe group. *Am J Tro Med Hyg* **19:** 520-526, 1970.
- 4) **Elliott LH, Kiley MP and McCormick JB:** Hantaan virus : Identification of virion proteins. *J Gen Virol* **65:** 1285-1293, 1984.
- 5) **Hughes JM, Peters CJ, Cohen ML and Mahy BWJ:** Hantavirus pulmonary syndrome: An emerging infectious disease. *Science* **262:** 850-851, 1993.
- 6) **Hutchinson KL, Rollin PH and Peters CJ:** Pathogenesis of North American hantavirus, Black Creek Canal virus, in experimentally infected *Sigmodon hispidus*. *Am J Tro Med Hyg* **59:** 58-65, 1998.

- 7) Lee HW, Baek LJ and Johnson KM: Isolation of Hantaan virus, the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever from wild urban rats. *J Infect Dis* **146**: 638-644, 1982.
- 8) Lee HW and Lee PW: Korean hemorrhagic fever. Demonstration of causative antigen and antibodies. *Kor J Intern Med* **19**: 371-383, 1976.
- 9) Lee HW and Lee PW: Korean hemorrhagic fever: III. Natural reservoir. *Korean J Virol* **7**: 31-39, 1977.
- 10) Lee HW, Lee PW, Baek LJ, Song CK and Seong IW: Intraspecific transmission of Hantaan virus, etiologic agent of Korean hemorrhagic fever, in the rodent *Apodemus agrarius*. *Am J Tro Med Hyg* **30**: 1106-1112, 1981.
- 11) Lee HW and Lee PW and Johnson KM: Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J Infect Dis* **137**: 298-308, 1978.
- 12) Lee HW, Lee PW and Laehdevirta J: Etiological relation between Korean hemorrhagic fever and nephropathia epidemica. *The Lancet* **1**(Jan. 27): 186, 1979.
- 13) Lee HW, Lee PW, Tamura M, Tamura T and Okuno Y: Etiological relation between Korean hemorrhagic fever and epidemic hemorrhagic fever in Japan. *Biken J* **22**: 41-45, 1979.
- 14) Lee PW, Amyx HL, Gajdusek DC, Yanagihara R, Goldgaber D and Gibbs CJ Jr: New hemorrhagic fever with renal syndrome related virus in indigenous wild rodents in United States. *Lancet* **2**(Dec.18): 1405, 1982.
- 15) Lee PW, Chung DH and Kim YC: Maaji Virus: I. Identification and antigenic characterization of a new hantavirus isolated from *Apodemus* mice (*Apodemus agrarius coreae*) in Korea. *Korean J Virol* **22**: 187-196, 1992.
- 16) Lee PW, Gajdusek DC, Gibbs CJ Jr and Xu ZY: Etiological relation between Korean hemorrhagic fever and epidemic hemorrhagic fever with renal syndrome in People's Republic of China. *The Lancet* **1**(April 12): 819-820, 1980.
- 17) Lee PW, Gibbs CJ Jr, Gajdusek DC and Yanagihara R: Serotypic Differentiation of Hantaviruses by the Indirect Immunofluorescent Antibody and Plaque Reduction Neutralization Tests. *J Clinical Microbiol* **22**: 940-944, 1985.
- 18) Lee PW and Lee HW: Serotypic Differentiation of Hantaviruses by the Indirect Immunofluorescent Antibody and Plaque Reduction Neutralization Tests. *Korean J Virol* **16**: 29-37, 1986.
- 19) Lee PW, Svedmyr A, Amyx HL, Gajdusek DC, Gibbs CJ Jr, Lofgren O and Nystroem K: HFRS antigen and antibody in two species of Swedish voles. *Scand J Infect Dis* (Stockholm) **14**: 315-316, 1982.
- 20) Lee PW, Yanagihara R, Franko MC, Amyx HL, Gibbs CJ Jr and Gajdusek DC: Preliminary evidence that Hantaan or a closely related virus is enzootic in domestic rodents. *New Eng J Med* **307**: 10, 624-625, 1982.
- 21) McCormick JB, Sasso DR, Palmer EL and Kiley MP: Morphological identification of the agent of Korean hemorrhagic fever (Hantaan virus) as a member of the *Bunyaviridae*. *Lancet* **1**: 765-786, 1982.
- 22) Schmaljohn CS and Dalrymple JM: Analysis of Hantaan virus RNA: Evidence for a new genus of *Bunyaviridae*. *Virology* **131**: 482-491, 1983.
- 23) Vitullo AD, Hodara VL and Merani MS: Effect of persistent infection with Junin virus on growth and reproduction of its natural reservoir, *Calomys musculus*. *Am J Tro Med Hyg* **37**: 663-669, 1987.
- 24) White JD, Shirey FG, French GR, Huggins JW, Brand OM and Lee HW: Hantaan virus, a etiologic agent of Korean hemorrhagic fever has *Bunyaviridae*-like morphology. *Lancet* **1**: 768-771, 1982.
- 25) Xiao SY, LeDuc JW, Chu YK and Schmaljohn CS: Phylogenetic analysis of virus isolates in the genus hantavirus, family *Bunyaviridae*. *Virology* **198**: 205-217, 1994.