

국내 *Bordetella pertussis* 분리군주에서 Agglutinogen과 Fimbriae 혈청형 변이 분석

정상운 · 문유미 · 성화영 · 강연호 · 유재연*

질병관리본부 국립보건연구원 감염병센터 결핵호흡기세균팀

*Bordetella pertussis*는 유아의 호흡기감염질환인 백일해의 원인균으로 백신도입에 의해 발생률이 크게 낮아졌다. 그러나 최근에 일부 백신접종률이 높은 국가에서 증가된 백일해 발생건수가 보고되고 있으며, 그 추정 원인 중에 하나는 백신주와 유행주 사이의 유전형 혹은 혈청형 변이이다. 따라서 분리주에 대한 변이 현황을 유전형 혹은 혈청형 분석을 통하여 확인하는 것이 필요하고 국내에서 백일해 발병증가에 대한 가능성을 추정해야 한다. 이에 본 연구에서는 1999~2006년 사이에 분리된 국내 백일해 분리군주의 변이양상을 agglutinogen과 fimbriae에 대한 혈청형 조사를 통해 확인하였다. 그 결과 agg 1과 fim 2가 국내 분리주에서 가장 많이 발견되는 혈청형이었고, 두 항원 모두 시대에 따른 혈청형 변이현상이 확인되었으며, 특히 agglutinogen의 경우는 백신군주(agg 1,2)와는 다른 유형(agg 1)이 증가되는 것으로 나타났다. 그러나 fimbriae의 경우는 백신군주(fim 2)와 동일한 유형이 증가되어 차이를 나타내었다. 이러한 결과는 백일해 발병증가가 나타나는 국가들에서도 확인되는 현상으로 국내에서의 백일해 발병증가에 대한 보다 정확한 예측을 위해서는 항원결정기 유전자에 대한 변이정도 및 정상인에서의 항체가 분포양상 등에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Key words □ agglutinogen, *Bordetella pertussis*, fimbriae, serotype variation

Bordetella pertussis (*B. pertussis*)는 유아의 호흡기 감염증인 백일해의 병원균이다. 백일해의 발병은 주로 6개월 미만의 기본 접종이 완료되지 않은 유아에서 감염을 통해 발생한다. 주된 전파경로는 백일해 환자간의 직접 접촉이나 호흡기비말 흡입을 통해 이루어지지만, 백신접종에 의해 발병이 억제되는 것으로 알려져 있다(26, 27).

그러나 현재 국외에서의 백일해 발병양상을 분석하면, 백신접종률 80% 이상의 선진 국가들에서 지속적인 백일해 발병증가 양상이 보고되고 있는데, 특히 미국과 일본은 대표적인 예로서 미국은 2000년도에 7,867건에서 2004년과 2005년에는 25,000건 이상으로 증가하였다가 2006년도에는 15,632건으로 약간 감소되는 경향을 나타내었고(6), 일본은 2001년도에 1,760건으로 감소된 발병건수가 2004년도에 2,189건으로 일시적으로 증가하였고 이후 2007년도에는 2,926건으로 다시 증가하여 2008년도 20주까지 지속적으로 발생이 증가하는 것으로 보고되고 있다(15). 이들 두 국가는 모두 백신접종률이 1990년도 이후 85% 이상이었고, 2001년 이후부터는 98% 이상을 유지하고 있어 이러한 발병증가의 원인 규명에 많은 관심이 집중되고 있다(WHO, Data and Statistics, Immunization coverage).

현재까지 알려진 백일해의 국지적 발병증가의 추정원인으로서 는 원인균인 *B. pertussis*의 항원결정기 유전자에 유전형변이가

발생하여 백신에 의한 방어영역을 회피한다는 것과(5, 13, 14) 백신에 의해 획득된 면역력이 연령증가에 따라 약화됨으로서 청소년과 성인에서 성인백일해가 유행한다는 것이다(3, 7, 25). 그러나 이러한 추정원인들도 몇몇 국가에서의 연구보고를 통해 그 상관성만이 확인되었을 뿐 직접적인 원인으로 규명되지는 못하고 있다. 따라서 이외에도 *B. pertussis*의 감염과정에 관여하는 독성인자들의 숙주에 대한 면역에 미치는 영향에 대한 연구도 수행되어지고 있다(4, 11).

국내의 경우, 백일해의 발생건수는 2000년 이후 평균 11.5건으로 비교적 낮게 유지되고 있으며, 백신접종률 또한 95% 이상으로 국내에서 대규모 발병증가에 대한 위험성은 낮은 것으로 추정되고 있다(1). 그러나 국내유행군주 특성분석에 대한 체계적인 연구결과가 없고, 우리나라와 같은 시기에 백신이 도입된 일본에서의 백일해 발병증가, 우리나라와 인접한 북한에서의 백일해 발병증가 등을 고려할 때 국내에서의 백일해 발병증가 가능성도 배제할 수 없는 상황이다.

따라서 국내에서도 백일해의 국지적 발병증가에 대한 가능성을 추정하기 위해서는 국내 분포하는 임상군주의 특성분석과 정상인에서 백신에 의한 면역도의 유지여부에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

임상군주의 특성을 분석하는 방법으로는 혈청형분석방법과 (22) DNA를 기반으로 하는 pulsed-field gel electrophoresis (2), multilocus sequence typing (24) 등의 유전형분석방법이 존재한다. 각 군주에 대한 변별력과 민감도에 있어서는 DNA를 기반으

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 82-2-380-2134, Fax: 82-2-385-8043
E-mail: mryu59@nih.go.kr

로 하는 유전형 분석방법이 더 효과적인 것으로 알려져 있으나 (22), 백신에 의한 면역도는 혈청형과 더 높은 관련성이 있는 것으로 보고되고 있다(18). 특히 *B. pertussis*의 경우에는 agglutinin과 fimbriae에 대한 혈청형이 보고되어져 있으며(22) 이에 따른 균집 분석연구가 수행되어져 왔다(10, 18).

Agglutinin은 표면단백질로서 세균의 응집반응을 유도하는 항체를 생성한다(12). 초기에 14종의 agglutinin들이 *Bordetella* species에서 보고되었으며 이중 *B. pertussis*에 특이적인 것은 Agg 1~Agg 6의 6종으로 확인되었다(19). 이중 Agg 1, 2, 3가 주된 성분으로 현재의 균주의 혈청형을 구분하는데 활용되고 있다. 특히 agglutinin은 백신의 방어효율과 관련성이 있으며, 유행균주와 백신균주가 서로 다른 혈청형을 가지고 있다는 것이 보고되어져 있는바(17) 국내 분리주에서도 이에 대한 확인이 중요할 것으로 사료된다.

Fimbriae 역시 사상형의 중합 단백질로 구성된 세포표면 구조물로서 Fim 2와 Fim 3의 주된 혈청형이 보고되어져 있다(19). 세포내 주된 기능은 filamentous hemagglutinin, pertactin처럼 adhesin으로 작용한다고 알려져 있으며, *Bordetella pertussis*와 *Bordetella* 속의 근연종들(*Bordetella parapertussis*, *Bordetella bronchiseptica*)에서도 발견된다(16). 그러나, fimbriae의 경우 현재의 정제백신의 구성성분이기는 하지만 agglutinin과는 달리 혈청형에 따른 백신의 방어효율간의 관련성에 대한 보고는 없다.

이에 본 연구에서는 1999년 이후부터 2006년까지의 국내 분리균주의 특성분석을 위하여 agglutinin과 fimbriae에 대한 혈청형을 분석하였고, 시대에 따른 혈청형 변이양상과 백신균주와의 혈청형 차이에 대한 결과를 확인함으로써 국내에서의 백일해 발병증가 위험성 추정에 대한 기반 자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

시험균주

본 연구에서 사용된 임상분리균주는 국립보건연구원 결핵호흡기세균팀에서 분리된 균주로서 1999년 이후부터 2006년까지 분리된 균주와, 참조를 위해 1968년, 1972년에 분리된 임상균주, 그리고 표준균주로서 Tohama I과 ATCC 9797 strain을 포함하였다(Table 1).

시약 및 재료

표준항혈청인 anti-agglutinin 1, 2, 3와 anti-fimbriae 2, 3는 National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)로부터 구입하였다. 균주배양을 위한 배지는 Oxoid 사의 charcoal blood medium을 이용하였고, 혈청은 Oxoid 사의 horse blood를 10% 되도록 첨가하였다. Fimbriae의 혈청형확인을 위해서는 Corning 사의 96-well plate (V-bottom)를 사용하였다.

균주부유액

시험 균주는 charcoal blood agar plate에 접종하여 37°C에서 5일간 배양하였고, 생성된 colony를 멸균된 면봉을 이용하여 새로

Table 1. The clinical isolates of *Bordetella pertussis* tested in this study

Year isolated	Tested strains	Number of tested strains
1968	K23	1
1972	K1, K2, K3, K5	4
1999	KNT1, KNT2	2
2000	KNT3 - KNT20, KNT22	19
2001	KNT23 - KNT25	3
2002	KNT26, KNT28 - KNT31, KNT35	6
2003	KNT36 - KNT40	5
2004	KNT41, KNT42, KNT45 - KNT47	5
2005	KNT48 - KNT51, KNT53 - KNT58	10
2006	KNT59-KNT63	5
Reference strains	Tohama I, ATCC9797	2
Total		62

운 plate에 전체 도말하여 37°C에서 5일간 배양하였다. 배양된 균주는 백금이를 이용하여 1 ml의 멸균된 phosphate buffered saline (PBS)에 현탁하였고, 600 nm에서 흡광도가 1이 되도록 조정하여 응집반응에 사용하였다.

Fimbriae serotype

Fimbriae에 대한 serotype는 WHO의 laboratory manual에 따라 수행하였다(27). 요약하면, 준비된 균주부유액 혹은 1/2균주 희석액 50 µl와 anti-fimbriae 2 혹은 anti-fimbriae 3용액 50 µl를 96-well plate에서 섞은 후 실온에서 2시간 동안 정치하여 결과를 확인하였다.

Slide 응집반응

균주부유액 50 µl를 slide glass에 떨어뜨린 후 준비된 agglutinin 1 혹은 2 혹은 3을 각각 동량으로 하여 섞은 후 2~3분 후 응집여부를 확인하였다. 양성대조군으로서는 Difco 사의 *Bordetella pertussis* antiserum 용액(Ref. 223901)을 사용하여 균주응집을 확인하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서 사용된 *B. pertussis* 임상균주는 주로 2000년도부터 본원에 실험실진단이 의뢰된 검체에서 분리된 균주이다. 분리원의 대부분은 1세 미만 유아의 검체이었으며(72%), 20세 이상의 성인에서 분리된 균주는 5%를 나타내었다(Fig. 1A). 이러한 결과는 백일해 발병증가가 나타나는 미국과 일본에서 보고되는 성인백일해 증가양상과는 다른 양상으로 아직 국내에서는 성인층에서의 집중적인 백일해 발병증가는 나타나지 않는 것을 의미하게 된다. 하지만 성인층에서 발생하는 백일해는 유아에서 발생

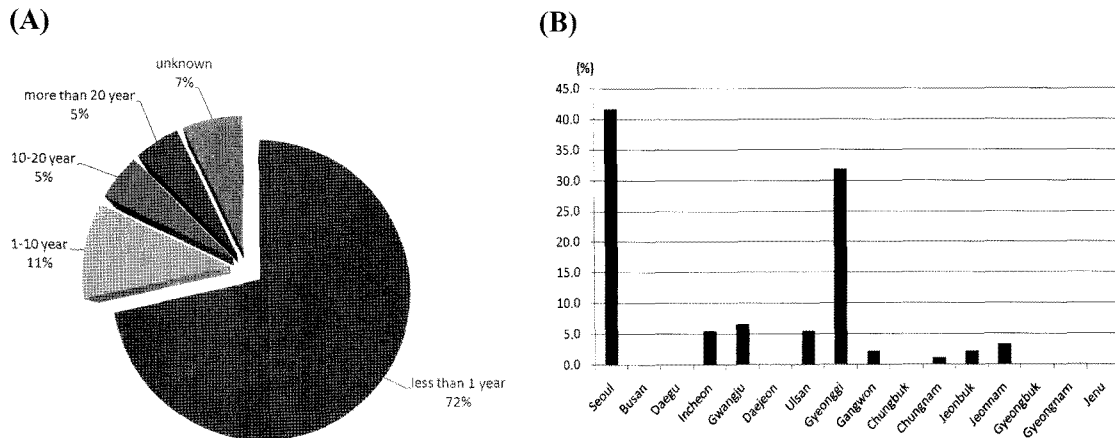


Fig. 1. Summary of pertussis cases from 2000~2006 in Korea. The data for incidence cases reported in 2000~2006 was cited from Disease Web statistics system of Korea CDC (<http://stat.cdc.go.kr/>). (A) Age distribution of pertussis cases (B) Local distribution of pertussis cases

되는 백일해와 비교할 때 임상증상이 경미하고 백일해에 특징적인 발작성기침이 나타나지 않아서 진단에 많은 어려움이 있는 것으로 알려져 있다(20). 그러나 증상이 경미하더라도 백신 미접종의 감수성 유아로의 전파 위험성은 여전히 높으므로 성인백일해의 유행률 조사와 효과적인 진단방법의 개발은 감수성개체의 전파차단을 위해 연구가 필요할 것으로 사료된다.

또한 국내 백일해 발병양상에 대한 지역적인 분포를 살펴보면 서울과 경기지역이 약 74%, 그 외 지역이 26%로(Fig. 1B), 지역적으로 서울과 경기도에 편중된 백일해 양성 환자 발생을 의미하게 된다. 하지만 이러한 지역 편중현상은 여러 가지 원인이 있을 것으로 추정된다. 우선 이는 진단업무가 본원에서 이루어지던 2000~2006년 사이의 결과로서 지리적으로 가까운 서울, 경기 지역에서 민원의뢰가 많았던 점, 지방에서 본원까지의 검체수송에 걸리는 시간과 수송조건에 의한 영향, 그리고 수도권에 집중된 2~3차 의료기관의 수 등의 영향이 있었을 것으로 생각된다.

Agglutinin에 대한 혈청형

국내 분리균주에서 agglutinin (Agg)에 대한 혈청형은 다양한 것으로 확인되었다(Fig. 2). 가장 많은 빈도를 나타낸 혈청형은 Agg 1으로서 40%를 차지하고, Agg 1,2 그리고 Agg 1,3가 각각 28%와 25%의 빈도를 나타내었다. 그 외 Agg 3와 Agg 1,2,3가 각각 5% 미만의 빈도를 나타내어 국내 분리주들에서는 발견빈도가 낮은 혈청형이었다. 특히 본 연구에서 국내분리주의 참조균주로 사용된 1968년도와 1972년도에 분리된 5주의 경우는 모두 Agg 1,3의 혈청형을 나타내어 단일유형의 균주가 유행한 것으로 추정되지만, 이에 비해 1999년도 이후의 분리균주들은 위에 언급한 5가지의 다양한 혈청형을 나타내어 과거의 유행균주보다는 좀 더 다양한 균주들이 유행하는 것으로 생각할 수 있다. 또한 백신균주로 알려진 Tohama I 균주는 본 연구에서도 확인된 것처럼 Agg 1,2로 알려져 있는데, 1999년 이후 분리된 균주들에서는 백신균주와는 다른 혈청형의 균주비율이 72%를 차

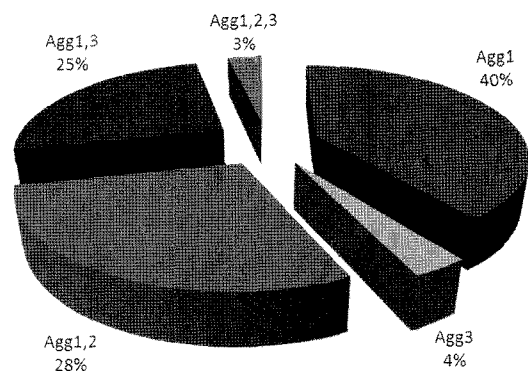


Fig. 2. Distribution of agglutinin serotypes in the Korean isolates (1999~2006). Serotypes of the Korean isolates were determined by slide agglutination method. Total 62 strains (60 isolates and 2 reference strains) were examined and their proportions of each serotype were presented.

지하여 백신균주와 다른 혈청형을 지니는 임상균주들이 유행한다는 국외 결과(17)와 유사한 국내결과가 확인되었다.

1999년 이후 분리균주에서 시대에 따른 agglutinin 혈청형의 변화를 발생건수와 비교하여 고려하면(Fig. 3), 시기 I(1999~2001년)에서의 발생증가 시에는 Agg 1,3 유형이 약 40%의 비율로 가장 높은 빈도를 차지하였고, 시기 II(2001~2003년)에서는 Agg 1,2 유형이 약 55% 정도로 증가하여 가장 높은 빈도를 나타냈으며, 시기 III(2004~2006년)에서는 Agg 1 유형이 주된 혈청형으로 약 70%를 차지하였다. 특히 Agg 2와 Agg 3는 균주 특이적 항원으로 알려져 있는데(19), 조사된 전체 국내 임상분리균주에서 Agg 1의 빈도가 가장 높고 2004년 이후부터 지속적으로 Agg 1 혈청형의 균주가 높은 빈도로 분리되는 것은 백신균주와 관련된 특정 혈청형의 균주들이 선택적으로 배제되는 현상이라고 추정할 수 있다.

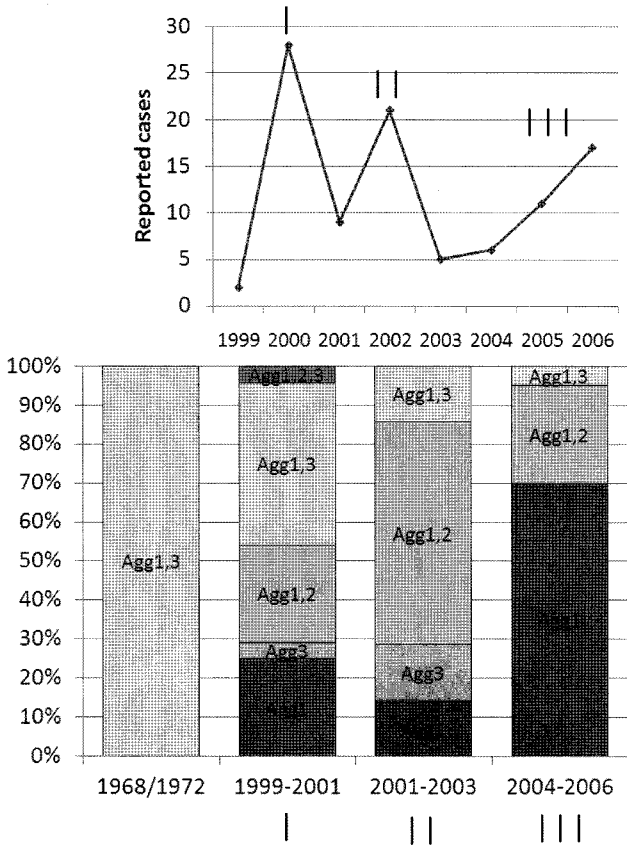


Fig. 3. Transition pattern of agglutinin serotypes in the Korean isolates (1999~2006). Distribution patterns of agglutinin serotypes were analyzed according to the variation of incidence cases (I, 1999~2001; II, 2001~2003; III, 2004~2006).

Fimbriae에 대한 혈청형

Fimbriae (Fim) 혈청형에 대한 국내 분리주 분석 결과는 Fig. 4에 나타난 바와 같이 Fim 2가 72%로 가장 높은 빈도를 나타내는 혈청형이었으며, Fim 3과 Fim 2,3는 각각 13%와 15%로 낮은 빈도로 존재하였다. 시대적 변이 추세로서는 1968/1975년도에 분리된 균주의 경우는 Fim 2,3의 혈청형이 우세하게 존재하였으나 1999년 이후부터 점차 Fim 2 혈청형이 높은 빈도로 확인되었고, 시기 III(2004~2006년)에는 Fim 2 혈청형을 가지는 임상균주만이 분리되어졌다(Fig. 5).

Fimbriae 혈청형의 경우는 agglutinin과는 달리 백신균주와 같은 혈청형인 Fim 2 혈청형을(21) 나타내는 균주가 지속적으로 증가되어 차이를 나타내었다. 이는 유행균주는 백신균주와는 다른 혈청형을 가진다는 이전의 보고와 차이를 나타낸다. 그럼에도 불구하고, 1999년 이후부터 지속적으로 혈청형이 Fim 2 단일 혈청형으로 변화되는 양상이 확인되어짐에 따라 백신의 면역력과의 관계에 대한 고찰이 필요할 것으로 사료된다.

이상과 같은 결과를 통하여 국내의 백일해 분리주에 대한 시대에 따른 혈청형 변이현상을 anti-agglutinin과 anti-fimbriae에 대해서 확인하였다. Agglutinin에 대한 국내의 결과는 매우 제

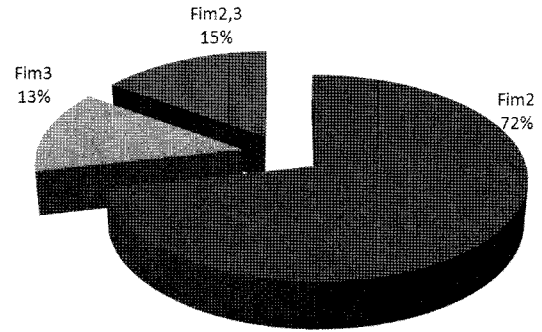


Fig. 4. Distribution of fimbriae serotypes in the Korean isolates (1999~2006). Fimbriae serotypes of the Korean isolates were determined by micro-agglutination method of WHO manual. Total 62 strains (60 isolates and 2 reference strains) were examined and the proportions of each serotype were presented.

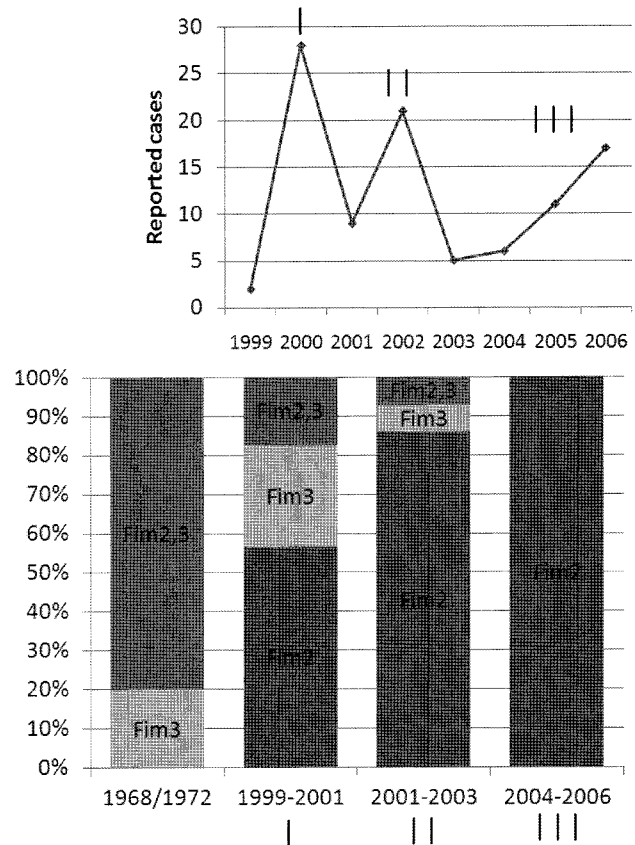


Fig. 5. Transition pattern of fimbriae serotypes in the Korean isolates (1999~2006). Distribution patterns of fimbriae serotypes were analyzed according to the variations of incidence cases (I, 1999~2001; II, 2001~2003; III, 2004~2006).

한적인데, 미국의 경우는 1938~1968년 사이에 분리된 균주의 분석결과 1950년대부터 Agg 1,3의 혈청형이 90%이상으로 크게 증가한 것이 보고되었고(8), 영국에서는 1998년과 1999년에 pertactin (pm)의 유전형이 pm A (1)과 pm A (2)인 임상균주에서 Agg

1,2 및 Agg 1,3의 혈청형이 크게 유행한 것으로 보고되어 있다 (9). Fimbria에 대한 혈청형 분석결과는 비교적 최근에까지 보고 되고 있는데, 유럽의 핀란드, 스웨덴, 독일, 네덜란드, 프랑스에서 1998~2001년 사이에 분리된 균주들에서의 fimbriae 혈청형에 대한 분석 결과, 핀란드(90%)와 스웨덴(64%)에서는 Fim 2 혈청형이 우세하게 존재하였고 독일(94%), 네덜란드(85%), 프랑스(90%)에서는 Fim 3의 혈청형이 우세한 것으로 보고되었다(23). 이러한 국외의 보고내용에 따르면, 유행균주의 혈청형 변이에 대한 원인은 명확하게 제시되어지지 않았으며, 여기에는 각국의 백신도입 시기 및 백신정책에 따른 변수가 있을 것으로 추정된다. 따라서

국내에서도 이러한 혈청형 변이에 대한 경향 분석은 장기간의 축적된 분석 자료를 기반으로 하여야 할 것으로 보이며, 이를 위한 지속적이고 장기적인 감시체계의 구축이 필요할 것으로 생각 된다.

또한 최근에는 *B. pertussis*의 감염으로부터 병증발현과정에 관여하는 pertussis toxin (PT), filamentous hemagglutinin (FHA), adenyl cyclase (ACT) 등의 독성인자들에 대한 특성연구가 수행 되었다(4, 11). 특히 FHA는 binding domain을 통해 병원균의 호흡기도 내 흡착 및 군집화과정과 숙주 특이성을 결정하는데 중요한 역할을 수행함은 물론 neutrophil에 의한 식작용을 회피하

Table 2. Serotype determination of anti-agglutinin and anti-fimbriae from Korean isolates (1999~2006)

Isolation time	Strain name	Anti-agglutininogen			Anti-fimbriae			Isolation time	Strain name	Anti-agglutininogen			Anti-fimbriae		
		1	2	3	2	3	1			2	3	2	3		
1968	K23	+	-	+	+	+	2002	KNT29	+	+	-	+	-		
1972	K1	+	-	+	+	+		KNT30	+	+	-	+	-		
	K2	+	-	+	-	+		KNT31	+	-	-	+	-		
	K3	+	-	+	+	+		KNT35	+	+	-	+	-		
	K5	+	-	+	+	+	2003	KNT36	+	-	-	+	-		
1999	KNT1	+	+	+	-	+		KNT37	+	-	-	+	-		
	KNT2	+	-	+	+	+		KNT38	+	+	-	+	-		
2000	KNT3	+	-	-	+	-		KNT39	+	+	-	+	-		
	KNT4	+	-	+	-	+		KNT40	-	-	+	-	+		
	KNT5	+	-	+	+	+	2004	KNT41	+	+	+	+	-		
	KNT6	+	-	+	-	+		KNT42	+	-	-	+	-		
	KNT7	-	-	+	-	+		KNT45	+	-	-	+	-		
	KNT8	+	-	-	+	-		KNT46	+	-	-	+	-		
	KNT9	+	-	-	+	-		KNT47	+	-	-	+	-		
	KNT10	+	-	+	-	+	2005	KNT48	+	-	-	+	-		
	KNT11	+	-	+	+	+		KNT49	+	+	-	+	-		
	KNT12	+	+	-	+	-		KNT50	+	-	-	+	-		
	KNT13	+	+	-	+	-		KNT51	+	-	-	+	-		
	KNT14	+	-	-	+	-		KNT53	+	-	-	+	-		
	KNT15	+	-	-	+	-		KNT54	+	-	-	+	-		
	KNT16	+	+	-	+	-		KNT55	+	-	-	+	-		
	KNT17	+	-	-	+	-		KNT56	+	-	-	+	-		
	KNT18	+	-	+	-	+		KNT57	+	-	+	+	-		
	KNT19	+	+	-	+	-		KNT58	+	-	+	+	-		
	KNT20	+	+	-	+	-	2006	KNT59	+	-	-	+	-		
KNT22	+	-	+	+	+		KNT60	+	+	-	+	-			
2001	KNT23	+	-	+	+	+		KNT61	+	-	-	+	-		
	KNT24	+	-	+	+	-		KNT62	+	+	-	+	-		
	KNT25	+	+	-	+	-		KNT63	+	-	-	+	-		
2002	KNT26	+	+	-	+	-	Ref1	Tohama I	+	+	-	+	-		
	KNT28	+	+	-	+	-	Ref2	ATCC 9797	+	-	-	+	-		

고 Th1 반응을 억제하는 등 숙주의 면역체계에에도 영향을 미치는 것으로 확인되었다(4, 11). PT와 ACT의 경우도 숙주의 방어 기작을 저해하는데, PT는 기도 내 macrophage의 항균기능을 저해하거나 감염초기 neutrophil의 기도 내 유입을 억제하는 것으로 알려져 있으며(4), ACT는 neutrophil의 식작용 및 dendritic cell의 성숙과 림프절로의 이동을 억제하는 것으로 알려져 있다(4). 특히 이러한 독성인자들은 백신구성성분일 뿐만 아니라 유행 균주에서 백신주와는 다른 유전형 변이가 보고되어져 있기 때문에(5, 13, 14), 숙주 면역체계에 대한 변이형 독성인자들의 영향에 대한 연구가 백신의 효용성 및 신백신 개발분야에서 필요할 것으로 보인다.

결론

이처럼 본 연구에서는 agglutinin과 fimbriae의 혈청형 분석 결과 1999년 이후부터 시간의 경과에 따라 변화되는 양상을 나타내었고, 백신의 방어효율과 관련이 있는 것으로 알려져 있는 agglutinin의 경우는 백신의 유형과는 다른 형태로 변화되어 현재 유행주와 백신주가 각기 다른 혈청형을 가지는 것이 확인되었다. 이에 따라 국외의 경우와 같은 지역적 발병증가 가능성에 대한 위험성을 예측하기 위해서는 지속적인 백일해 임상분리주들의 특성을 주시하는 감시업무와 혈청형 변이 및 항원결정기 유전자에 대한 유전형변이 조사, 정상인의 항체가 분포 조사 등과 같은 연구업무가 확대되어 수행되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 말

본 연구는 질병관리본부 국립보건연구원 내부연구과제에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

1. 질병관리본부. 2007. 실험실 진단을 중심으로 살펴 본 최근 국내 백일해 발생 동향. 감염병발생정보(CDMR) 18, 2-8.
2. Advani, A., D. Donnelly, and H. Hallander. 2004. Reference system for characterization of *Bordetella pertussis* pulsed-field gel electrophoresis profiles. *J. Clin. Microbiol.* 42, 2890-2897.
3. Campos-Outcalt, D. 2005. Pertussis: A disease re-emerges. *J. Fam. Pract.* 54, 699-703.
4. Carbonetti, N.H. 2007. Immunomodulation in the pathogenesis of *Bordetella pertussis* infection and disease. *Curr. Opin. Pharmacol.* 7, 272-278.
5. Cassidy, P., G. Sanden, K. Heuvelman, F. Mooi, K.M. Bisgard, and T. Popovic. 2000. Polymorphism in *Bordetella pertussis* pertactin and pertussis toxin virulence factors in the United States, 1935-1999. *J. Infect. Dis.* 182, 1402-1408.
6. Centers for Disease Control and Prevention. 2008. Summary of notifiable diseases-United States, 2006. *MMWR* 55, 53.
7. De Serres, G., R. Shadmani, B. Duval, N. Boulianne, P. Dery, F.M. Douville, L. Rochette, and S.A. Halperin. 2000. Morbidity of pertussis in adolescents and adults. *J. Infect. Dis.* 182, 174-179.
8. Eldering, G., J. Holwerda, A. Davis, and J. Baker. 1969. *Bordetella pertussis* serotypes in the United States. *Appl. Microbiol.* 18, 618-621.
9. Fry, N.K., S. Neal, T.G. Harrison, E. Miller, R. Matthews, and R.C. George. 2001. Genotypic variation in the *Bordetella pertussis* virulence factors pertactin and pertussis toxin in historical and recent clinical isolates in the United Kingdom. *Infect. Immun.* 69, 5520-5528.
10. Guiso, N., C.H.W. Von Konig, C. Becker, and H. Hallander. 2001. Fimbrial typing of *Bordetella pertussis* isolates: Agglutination with polyclonal and monoclonal antisera. *J. Clin. Microbiol.* 39, 1684-1685.
11. Inatsuka, C.S., S.M. Julio, and P.A. Cotter. 2005. *Bordetella* filamentous hemagglutinin plays a critical role in immunomodulation, suggesting a mechanism for host specificity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 18578-18583.
12. Mattoo, S. and J.D. Cherry. 2005. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. *Clin. Microbiol. Rev.* 18, 326-382.
13. Mooi, F.R., Q. He, H. Van Oirschot, and J. Mertsola. 1999. Variation in the *Bordetella pertussis* virulence factors pertussis toxin and pertactin in vaccine strains and clinical isolates in Finland. *Infect. Immun.* 67, 3133-3134.
14. Mooi, F.R., I.H. Van Loo, and A.J. King. 2001. Adaptation of *Bordetella pertussis* to vaccination: a cause for its reemergence? *Emerg. Infect. Dis.* 7, 526-528.
15. National Institute of Infectious Diseases. 2008. Pertussis, Japan, 2005-2007. *ISAR* 29, 65-66.
16. Preson, A. 2005. *Bordetella pertussis*: the intersection of genomics and pathobiology. *CMAJ* 173, 55-62.
17. Preston, N.W. and P. Evans. 1963. Type-specific immunity against intracerebral pertussis infection in mice. *Nature* 197, 508-509.
18. Preston, N.W. and E.J. Carter. 1992. Serotype specificity of vaccine-induced immunity to pertussis. *Commun. Dis. Rep. Rev.* 2, R155-R156.
19. Robinson, A., L.A. Ashworth, and L.I. Irons. 1989. Serotyping *Bordetella pertussis* strains. *Vaccine* 7, 491-494.
20. Rothstein, E. and K. Edwards. 2005. Health burden of pertussis in adolescents and adults. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 24, S44-S47.
21. Tsang, R.S.W., A.K.H. Lau, M.L. Sill, S.A. Halperin, P. Van Caeseels, F. Jamieson, and I.E. Martin. 2004. Polymorphism of the fimbria fim3 gene of *Bordetella pertussis* strains isolated in Canada. *J. Clin. Microbiol.* 42, 5364-5367.
22. Tsang, R.S.W., M.L. Sill, A. Advani, D. King, P. Newland, and H. Hallander. 2005. Use of monoclonal antibodies to serotype *Bordetella pertussis* isolates: Comparison of results obtained by indirect whole-cell enzyme-linked immunosorbent assay and bacterial microagglutination methods. *J. Clin. Microbiol.* 43, 2449-2451.
23. Van Amersfoort, S.C.M., L.M. Schouls, H.G.J. Van Der Heide, A. Advani, H.O. Hallander, K. Bondeson, C.H.W. Von Konig, M. Riffelmann, C. Vahrenholz, N. Guiso, V. Caro, E. Njamkepo, Q. He, J. Mertsola, and F.R. Mooi. 2005. Analysis of *Bordetella pertussis* populations in European countries with different vaccination policies. *J. Clin. Microbiol.* 43, 2837-2843.
24. Van Loo, I.H.M., K.J. Heuvelman, A.J. King, and F.R. Mooi. 2002. Multilocus sequence typing of *Bordetella pertussis* based on surface protein genes. *J. Clin. Microbiol.* 40, 1994-2001.
25. Von Konig, C.H., S. Halperin, M. Riffelmann, and N. Guiso. 2002. Pertussis of adults and infants. *Lancet Infect. Dis.* 2, 744-750.

26. World Health Organization. 2001. WHO-recommended standards for surveillance of selected vaccine-preventable disease (WHO/EPI/GEN/98.01Rev.2). Geneva, Switzerland.
27. World Health Organization. 2004. Laboratory manual for the diagnosis of whooping cough caused by *Bordetella pertussis*-*Bordetella parapertussis* (WHO/IVB/04.14). Geneva, Switzerland.

(Received August 19, 2008/Accepted September 18, 2008)

ABSTRACT : Serotype Variations of Agglutinin and Fimbriae in the Korean Isolates of *Bordetella pertussis*

Sang-Oun Jung, Yu-Mi Moon, Hwa Young Sung, Yeon Ho Kang, and Jae-Yon Yu*

(Division of Bacterial Respiratory Infections, Center for Infectious Diseases, National Institute of Health, Centers for Disease Control and Prevention, Seoul 122-701, Republic of Korea)

Bordetella pertussis is pathogenic bacteria causing pertussis, a infectious respiratory disease for the infants. The incidence rate of pertussis was significantly decreased after introduction of vaccine. However, increased pertussis cases are recently reported in several countries with high vaccine coverage. One of the inferred reasons is genotype or serotype variation between circulating strains and vaccine strains. Therefore, it is required to confirm the variation status of the isolates by genotype or serotype analysis and the possibility of pertussis outbreak in Korea should be estimated. For this, the serotype variations of the isolates from 1999~2006 were investigated in agglutinin and fimbriae. As the result, the most frequent serotype in the isolated strains was agglutinin 1 and fimbriae 2 serotypes. Moreover, serotype transition from vaccine serotypes to non-vaccine serotypes was observed. Especially, the transition pattern of agglutinin serotype was directed to increase a different type (agg 1) from the vaccine type (agg 1,2). However, in case of fimbriae, the same type (fim 2) with vaccine strain was increased. These results were also observed in other countries with increasing incidence of pertussis. For more predictable results to know increasing possibility of pertussis incidence in Korea, the studies on genetic variations of antigenic determinant genes and prevalence of antibody titer in normal population should be performed in the further.