

마이코플라즈마 폐렴에서 중합 효소 연쇄반응과 효소면역측정법의 진단적 유용성

포천중문의과대학교 소아과학교실, 국립보건원 세균부 리케치아과*,
연세대학교 의과대학 소아과학교실 및 알레르기 연구소, 두뇌한국21 의과학사업단†

신윤호·이병철*·송태원†·김경원†·이경은†·김은수†
박미연*·류정우†·장 욱·손명현†·김규언†

=Abstract=

Diagnostic Availability of PCR and ELISA in *Mycoplasma pneumoniae* Pneumonia

Youn Ho Shin, M.D., Byung Chul Lee*, Tae Won Song, M.D.†
Kyung Won Kim, M.D.†, Kyung Eun Lee†, Eun Soo Kim, M.D.†
Mi Yeoun Park, Ph.D.*, Jung Woo Leu, M.D.†, Wook Chang, M.D.
Myung Hyun Sohn, M.D.† and Kyu-Earn Kim, M.D.†

Department of Pediatrics, Pochon CHA University, College of Medicine,
National Institute of Health, Department of Microbiology,
Division of Rickettsial and Zoonotic Diseases*,
Department of Pediatrics and Institute of Allergy, BK21 Project for Medical Science†,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose : *Mycoplasma pneumoniae* is a common respiratory pathogen responsible for acute respiratory infections in young children. The standard laboratory methods for the specific diagnosis of *M. pneumoniae* infection have been isolation in culture and serological methods. The objective of this study was to compare the performance of enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) for the detection of *M. pneumoniae* specific IgG and IgM antibodies and polymerase chain reaction (PCR) in diagnosis of *M. pneumoniae* pneumonia.

Methods : For a 1-year period, 111 patients admitted to Severance Hospital and Yongsong Severance Hospital with clinical features of pneumonia and radiographically defined pneumonia were included. Serum specimens and throat swab specimens were obtained at the time of admission. Patients who showed *M. pneumoniae* antibody titer 1 : 320 or greater or a fourfold increase in *M. pneumoniae* antibody titer between acute and convalescent sera obtained 5 days to 3 weeks after the onset of illness were diagnosed as having *M. pneumoniae* pneumonia. PCR and ELISA were also performed.

Results : The sensitivity, specificity, false positivity, and false negativity of PCR were 40.6 percent, 63.3 percent, 69.1 percent, and 27.5 percent, respectively. The sensitivity, specificity, false positivity, and false negativity of ELISA IgM were 9.4 percent, 100 percent, 0 percent, and 26.9 percent, respectively. The sensitivity, specificity, false positivity, and false negativity of the use of PCR and ELISA in combination were 46.9 percent, 63.3 percent, 65.9 percent, and 25.4 percent, respectively.

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(01-PJ10-PG6-01GM03-0002).

접수 : 2005년 12월 13일, 승인 : 2006년 1월 16일

책임저자 : 김규언 서울시 강남구 도곡동 146-92 연세의대 영동세브란스병원 소아과

Tel : (02)2019-3353 Fax : (02)3461-9473 E-mail : kekim@yumc.yonsei.ac.kr

Conclusion : These observations suggest that the use of PCR and ELISA in addition to the detection of serum antibody to *Mycoplasma pneumoniae* using microparticle agglutination would allow the maximal number of diagnoses to be made at a very early phase of infection. [Pediatr Allergy Respir Dis(Korea) 2006;16:47-56]

Key Words : *Mycoplasma pneumoniae*, Polymerase chain reaction, Enzyme linked immunosorbent assays

서 론

Mycoplasma pneumoniae 폐렴은 전세계적으로 발생하나 한국과 일본 등지의 아시아권에서 그 문헌 보고가 많으며 한국에서의 유행 양상은 주로 3-4년마다 반복되며 한 번 유행시 1-2년간 지속되는 양상을 보인다.¹⁾ *M. pneumoniae*는 성인보다는 주로 학동기 소아와 청소년에서 폐렴의 중요한 원인균으로 알려져 있는데^{2, 3)} 호흡기 외에도 신경계, 피부, 근골격계, 심혈관계, 혈액계, 위장관계에 합병증을 일으키는 경우가 보고되었고, 그 임상 양상은 매우 다양하고 비전형적이라서 이에 의한 폐렴을 비전형성 폐렴이라고도 한다.^{3, 4)} *M. pneumoniae*는 세포벽을 가지고 있지 않기 때문에 beta-lactam계 항생제에 반응을 하지 않고 따라서 병을 초기에 치료하지 못하는 경우가 많다.⁵⁾ 이런 이유 때문에 초기에 이를 진단하는 방법을 개발하기 위한 많은 노력이 있었다. 현재 *M. pneumoniae*를 진단하는데 이용되고 있는 방법에는 배양법(culture), 혈청학적 검사법, 중합 효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)의 세 가지가 있다. 배양법은 의심되는 환자의 인두를 면봉으로 긁거나(swab) 가래를 배지에 배양시켜서 균이 분리 배양되었을 때 확진할 수 있으나 민감도가 떨어지고, 배양조건이 까다롭고 균이 동정되기까지 4주 이상의 시간이 필요하기 때문에 임상적으로 상용화되기에는 어려움이 많다.⁶⁻⁸⁾ 혈청학적 검사는 냉응집소 검사와 마이코플라즈마 특이 항체 검사가 있다. 냉응집소 검사는 임상에서 많이 사용되는 방법이지만 민감도가 낮고,⁶⁾ 다른

세균성 폐렴, 전염성 단핵구증, 풍진, 아테노바이러스 감염증에서도 양성 반응이 나타날 수 있는 단점이 있다. 마이코플라즈마 특이 항체 검사는 민감도와 특이도가 각각 92%, 98%까지 보고될 정도로 신뢰도가 높으나, *Mycoplasma genitalium*과의 교차 반응이 있을 수 있으며,^{9, 10)} 급성기에 위음성이 많고 단일 항체가로는 과거의 감염을 배제할 수 없어 확진을 위해서는 5일-3주 후 항체검사의 추적관찰이 필요하다는 단점이 있다.^{11, 12)} 최근에는 중합 효소 연쇄반응과 효소면역측정법 같은 분자생물학적 기법을 이용하여 *M. pneumoniae* 폐렴을 진단하는 방법이 개발되었다.

본 연구는 2004년 5월부터 2005년 4월까지 연세대학교 의과대학 부속 세브란스병원과 영동세브란스병원 소아과에 내원한 환자 중 입원 당시 시행한 흉부 X-선 검사 및 흉부 청진상 폐렴 소견을 보인 환자 111명의 임상 검체를 대상으로 *M. pneumoniae*를 분리, 동정하였고 혈청학적 진단인 미세 입자 응집법(Microparticle agglutination assay, MAA)을 시행하였고 동시에 효소면역측정법과 중합 효소 연쇄반응을 시행하여 임상 진단에 있어서 이들 진단방법의 유용성을 비교하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

2004년 5월부터 2005년 4월까지 연세대학교 의과대학 부속 세브란스병원과 영동세브란스병원 소아과에 이학적 소견과 흉부 X-선 검사상

폐렴으로 진단되어 입원한 1개월에서 15세까지의 환자 111명을 연구 대상으로 하였다. 대상 환자 전원에게서 입원 당일 마이코플라즈마 특이 항체 역가를 측정하여 1회 측정시 1:320 이상 혹은 5일 이상 간격으로 추적 관찰 시 역가가 4배 이상 증가한 경우를 *M. pneumoniae* 폐렴으로 진단하였다. 또한 입원 당일 대상 환자의 상기도로부터 *M. pneumoniae*를 분리, 동정하였고 이들 환자의 혈청을 이용해서 효소면역 측정법을 시행하여 IgG와 IgM을 측정하였고 중합 효소 연쇄 반응을 시행하였다.

2. 방 법

1) 마이코플라즈마 특이 항체 검사

마이코플라즈마 특이 항체 측정 방법은 일본의 Fujirebio사의 Serodia-MYCO II gelatin particle agglutinin test kit를 이용하였다. 과정을 간단히 살펴보면 다음과 같다. 혈청을 혈청 희석용액으로 1:100 희석하여 100 µL와 대조샘플(양성, cut off, 음성)의 100 µL를 well에 적용하였다. 이들을 1시간 동안 실온에 반응시키고 세척한 후 30분 동안 실온에서 enzyme conjugate 100 µL와 반응시킨 후 세척하였다. 그 후 20분 동안 실온에서 Chromogen/substrate solution 100 µL와 반응시켰다. Stop solution 100 µL를 더한 후 450 nm에서 측정하였다. 판정은 대조 샘플과 대조하여 흡광도를 비교하여 cut off치 이상이면 양성으로 판정하였다.

2) 중합 효소 연쇄반응

(1) 검체 채취

검체 채취는 멸균 설압자를 이용한 인후 면봉법(throat swab)을 이용해서 시행하였다. 총 111명을 대상으로 멸균된 면봉을 이용해서 상기도로부터 인후도찰물(throat swab) 검체를 채취하여 2 mL의 Chanock's glucose 배지가 담긴 시험관에 잘 흔든 후 면봉을 시험관 벽을 이용하여 째고 이를 검체 원액으로 사용하였다.

(2) 사용 균주

M. pneumoniae(ATCC29342) 표준 균주를 배양 및 중합 효소 연쇄반응 양성 대조균으로 사용하였다.

(3) DNA 추출

인후도찰물 검체 1 mL를 19,000 g로 30분간 원심 후 침전물을 PBS로 세척한 후 QiaAmp Blood mini kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)를 이용하여 Bacteria 법으로 추출하였다.

(4) 중합 효소 연쇄반응의 시행

총 대상 환자 111명의 인후도찰물 검체는 이중 중합 효소 연쇄반응(nested polymerase chain reaction, nested PCR)으로 P1 유전자(401 bp, 297 bp)와 16S rRNA 유전자(277 bp, 141 bp)를 검출하였으며 조건은 Table 1과 같다.

(5) 중합 효소 연쇄반응의 판독

중합 효소 연쇄반응이 끝난 후 각 시료 6 µL를 2% agarose gel 상에서 120 V로 30분간

Table 1. Sequences of Primers Used for Detection of Target DNA

Primer	DNA sequence	Function	Product
P1-F	5'-caacgccgcaaatgaatg-3'	sense primer for primary PCR	401 base pairs
P2-R	5'-tggaggccgtaacagtggta-3'	antisense primer for primary PCR	401 base pairs
nP3-F	5'-ctgaactgttagatggggaagga-3'	sense primer for secondary PCR	297 base pairs
nP4-R	5'-cgttggtgtttggttggtatct-3'	antisense primer for secondary PCR	297 base pairs
16S-F	5'-aaggacctgcaagggttcgt-3'	sense primer for primary PCR	277 base pairs
16S-R	5'-ctctagccattacctgctaa-3'	antisense primer for primary PCR	141 base pairs
n16S-F	5'-actctacgggaggcagcagta-3'	sense primer for secondary PCR	277 base pairs
n16S-R	5'-ctctagccattacctgctaa-3'	antisense primer for secondary PCR	141 base pairs

전기 영동하여 ethium bromide로 염색한 후 DNA band를 관찰하였다. *M. pneumoniae* (ATCC29342) 표준 균주를 중합 효소 연쇄반응 양성 대조로 사용하였고, 증류수를 넣고 시행한 중합 효소 연쇄반응 산물을 음성 대조로 사용하였다.

(6) 이중 중합 효소 연쇄반응의 민감도와 특이도

M. pneumoniae 폐렴의 진단은 마이코플라즈마 특이 항체가가 1:320 이상이거나 혹은 5일 이상 간격으로 추적 관찰 시 역가가 4배 이상 상승할 경우로 하였으며, 이를 기준으로 이중 중합 효소 연쇄반응의 민감도와 특이도를 평가하였다.

3) *M. pneumoniae*의 분리 배양 및 동정

검체 원액 20 μ L를 취해 2 mL의 Chanock's glucose 배지가 들어 있는 24 well plate에서 10^{-1} - 10^{-6} 배까지 계단 희석하여 37°C에서 4주간 배양하였다. 매일 배지의 색깔 변화를 확인하였고 맑고 투명한 황색으로 변하면 *M. pneumoniae*로 의심하고 색깔이 변한 최대 희석 배수의 역지수를 색깔변화 단위(color change unit, CCU)로 하였다. *M. pneumoniae*가 배양된 것으로 의심된 균액을 다시 24 well plate에서 10^{-1} - 10^{-6} 배까지 계단 희석하고, 이 각각의 희석액을 10 μ L을 취해 Chanock's glucose 배지에 접종하여 습윤 상자에 넣어 37°C에서 3주간 배양하면서 집락의 형성 유무를 현미경(100 \times)으로 확인하였다. 형성된 집락은 Hela cell 부유한 액을 이용하여 37°C에서 30분간 흡착시험 양성과 arginine 이용 시험이 음성인 경우 *M. pneumoniae*로 동정하였다.^{13, 14)}

4) 효소면역측정법(Enzyme linked immunosorbent assays)

M. pneumoniae ELISA kit(Zeus Scientific, Raritan, NJ, USA)를 이용하여 IgG와 IgM을 각각 측정하였다. IgM의 경우 Rheumatoid factor의 간섭을 막기 위해서 RF absorbent(Zeus

Scientific, Raritan, NJ, USA)를 혈청에 처리한 후 설명서에 따라 시행하였다. 그 후 ELISA 판독기(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 sheet에 표기된 index value치를 구해 cut off치와 비교하였고 cut off치 이상이면 양성, 이하이면 음성으로 판독하였다.^{15, 16)}

결 과

1. 연구 대상의 성별 및 연령 분포

총 대상 환자 111명의 연령 분포는 1개월부터 15세까지로 평균 연령은 3.6세였고, 남녀비는 1.27:1로 유의한 차이는 없었다. 0-4세 연령이 전체 폐렴 환자의 75.7%를 차지하였다.(Table 2) 마이코플라즈마 특이 항체 검사에서 *M. pneumoniae* 폐렴으로 진단된 환자는 32명이었다. *M. pneumoniae* 폐렴으로 진단된 환자의 연령 분포는 1세에서 15세까지로 평균 연령은 5.1세였으며 전체 폐렴환자의 28.8%를 차지하였다. *M. pneumoniae* 폐렴 환자들에서 남녀비는 1.29:1로 유의한 차이는 없었고 0-4세가 18명(56.3%)으로 가장 많았다.(Table 3)

2. 배 양

총 대상 환자 111명의 인후 도찰물 검체에서 배양을 시도한 결과 모두 배양되지 않았다.

3. 마이코플라즈마 특이 항체 검사에 대한

Table 2. Distribution of Age and Sex in Total Pneumonia Patients

Age(yr)	Sex		Total(%)
	Male	Female	
0-4	47	37	84(75.7)
5-9	8	11	19(17.1)
10-14	5	1	6(5.4)
15-19	2	0	2(1.8)
Total(%)	62(55.9)	49(44.1)	111(100.0)

중합 효소 연쇄반응의 민감도, 특이도와 위양성률, 위음성률

P1 adhesion 및 16S rRNA 유전자는 이중 중합 효소 연쇄반응 결과 37.8%(42/111)가 검출되었다. 혈청 특이 항체가에 따른 이중 중합 효소 연쇄반응의 검출은 1:40 이하에서 31.0%(13/111)로 가장 높은 수치를 나타내었고, 1:320-1:1,280에서 31.0%(13/111)를 차지하였다. (Table 4) 총 대상 환자 111명 중 32명(28.8%)에서 마이코플라즈마 항체가가 1:320 이상이거나 추적 검사에서 항체가가 4배 이상 상승하였고 이들 중 이중 중합 효소 연쇄반응 양성인 13명, 음성은 19명이었다. 마이코플라즈마 특이 항체 측정에서 음성 반응을 나타낸 79명의 환자 중 중합 효소 연쇄반응 양성이 29명, 음성이 50명이었다. 따라서 민감도는 40.6%, 특이도는 63.3

%로 나타났다.(Table 5) 중합 효소 연쇄반응에서 양성을 나타낸 42명의 환자 중 29명이 혈청 특이 항체 음성을 보였으며, 음성 반응을 나타낸 69명의 환자 중 19명이 혈청 특이 항체 양성 반응을 보여 위양성률과 위음성률은 각각 69.1%, 27.5%로 나타났다.(Table 5)

4. 마이코플라즈마 특이 항체 검사에 대한 효소면역측정법의 민감도, 특이도와 위양성률, 위음성률

효소면역측정법 결과에서 IgG는 마이코플라즈마 항체가가 1:160 이상에서 나타났고 IgM은 1:640 이상에서 나타났다. IgG와 IgM 모두 양성인 환자는 없었다. 효소면역측정법의 양성률은 IgG는 7.2%, IgM은 2.7%였다. 마이코플라즈마 항체가가 1:320 이상이었을 때 IgG 항체가는 민감도 21.9%, 특이도 98.7%, 위양성률 12.5%, 위음성률 24.3%를 나타냈고 IgM 항체가는 민감도 9.4%, 특이도 100%, 위양성률 0%, 위음성률 26.9%를 나타냈다.(Table 6) 연령별로 살펴보면 0-4세 군이 전체의 75.7%(84/111)를 차지하며 마이코플라즈마 특이 항체 검사와 효소면역측정법에서 각각 21%, 8.3%의 양성률을 나타냈다. 5-9세 군은 17.1%(19/111)를 차지하며, 마이코플라즈마 특이 항체 검사와 효소면역측정법에서 각각 42.1%, 15.8%의 양성률을 나타냈다. 10-14

Table 3. Distribution of Age and Sex in Patients with Positive Mycoplasma Specific Antibody Test

Age(yr)	Sex		Total(%)
	Male	Female	
0-4	11	7	18(56.3)
5-9	2	6	8(25.0)
10-14	3	1	4(12.5)
15-19	2	0	2(6.3)
Total(%)	18(56.3)	14(43.8)	32(100.0)

Table 4. Comparison of PCR Results Obtained by Throat Swab Specimens in Patients Diagnosed as Having *Mycoplasma pneumoniae* Pneumonia with Serum Antibody Titers and ELISA IgG and IgM

MAG*	No. of patients(%)	No. of throat swab specimens positive by PCR(%)	No. of sera positive by ELISA IgG(%)	No. of sera positive by ELISA IgM(%)
<1:40	28(25.2)	13(31.0)	0(0.0)	0(0.0)
1:40	18(16.2)	6(14.3)	0(0.0)	0(0.0)
1:80	12(10.8)	3(7.1)	0(0.0)	0(0.0)
1:160	21(18.9)	7(16.7)	1(12.5)	0(0.0)
1:320	13(11.7)	7(16.7)	2(25.0)	0(0.0)
1:640	10(9.0)	3(7.1)	3(37.5)	1(33.3)
1:1,280	9(8.1)	3(7.1)	2(25.0)	2(66.7)
Total(%)	111(100.0)	42(100.0)	8(100.0)	3(100.0)

*Microparticle agglutination assay

Table 5. Relationship between Mycoplasma Specific Antibody and *Mycoplasma pneumoniae* PCR

	Mycoplasma Ab(+)	Mycoplasma Ab(-)	Total
Mycoplasma PCR(+)	13	29	42
Mycoplasma PCR(-)	19	50	69
Total	32	79	111

Table 6. Comparison of Mycoplasma Specific Antibody with ELISA IgG and IgM

MAG [†]	ELISA IgG*		ELISA IgM*	
	No. of sera positive by IgG	No. of sera negative by IgG	No. of sera positive by IgM	No. of sera negative by IgM
>1 : 320	7	25	3	29
<1 : 320	1	78	0	79

* Single serum dilution was tested. A visible color change in the test well to purple was considered positive according to the manufacture's instructions

[†]Microparticle agglutination assay

세 군은 5.4%(6/111)를 차지하며 마이코플라즈마 특이 항체 검사와 효소면역측정법에서 각각 66.7%, 16.7%의 양성률을 나타냈다. 15-19세 군은 1.8%(2/111)를 차지하며, 마이코플라즈마 특이 항체 검사와 효소면역측정법에서 각각 100%, 0%의 양성률을 나타냈다.(Table 7)

5. 마이코플라즈마 특이 항체 검사에 대한 중합 효소 연쇄반응과 효소면역측정법의 결합의 민감도, 특이도와 위양성률, 위음성률

총 대상 환자 111명 중 마이코플라즈마 항체가 1 : 320 이상이거나 추적 검사에서 항체가 4배 이상 상승한 경우는 32명(28.8%)이었고, 중합 효소 연쇄반응 또는 *M. pneumoniae* 특이 IgM이 양성인 경우는 44명, 모두 음성인 경우는 67명이었다. 마이코플라즈마 특이 항체 반응 음성을 나타낸 79명의 환자 중 중합 효소 연쇄반응 또는 *M. pneumoniae* 특이 IgM이 양성인 경우는 29명, 모두 음성인 경우는 50명이었다. 따라서 민감도는 46.9%, 특이도는 63.3%로 나타났다. 중합 효소 연쇄반응 또는 *M. pneumoniae* 특이 IgM에 양성 반응을 나타낸 44명의 환자 중 29명이 마이코플라즈마 특이 항체 음성

Table 7. Comparison of Mycoplasma Specific Antibody and ELISA IgM and IgG Antibodies According to Age

Age(n)	ELISA*		MAG [†]
	IgM	IgG	
0-4(n=84)	2	5	18
5-9(n=19)	1	2	8
10-14(n=6)	0	1	4
15-19(n=2)	0	0	2
Total(n=111)	3	8	32

*Number of sera positive by ELISA IgM or IgG

[†]Number of sera positive by Microparticle agglutination assay

을 보였으며, 중합 효소 연쇄반응과 *M. pneumoniae* 특이 IgM에 모두 음성 반응을 나타낸 67명의 환자 중 17명이 마이코플라즈마 특이 항체 양성 반응을 보여 위양성률과 위음성률은 각각 65.9%, 25.4%로 나타났다.

고 찰

M. pneumoniae 폐렴을 진단하기 위해서 배양 검사법, 혈청학적 진단법, 중합 효소 연쇄반응 등이 이용되고 있다. 하지만 급성기의 감염을 초

기에 진단할 수 있는 표준화된 방법은 없는 실정이다.¹⁵⁾ 배양검사법이 100%의 특이도를 나타내지만 이 방법은 진단 시까지 시간이 오래 걸리고 민감도가 낮아서 임상에서 사용하기에는 단점이 많다. 따라서 현재 빠르고 진단 방법이 간단한 마이코플라즈마 특이 항체 검사법이 가장 많이 이용되고 있다. 하지만 이 방법도 급성기에 위음성률이 높고 단일 항체 역가로는 확진할 수 없어 추적 검사가 필요하다는 문제점이 있다.^{11, 12)}

중합 효소 연쇄반응은 병원체의 특정 DNA 염기 서열을 증폭하여 검출해내는 방법으로 1989년 이후부터 *M. pneumoniae* 폐렴을 진단하는데에 이용되어 왔다. 중합 효소 연쇄반응은 민감도와 특이도가 높고 짧은 시간에 진단이 가능하기 때문에 활발한 연구가 이루어져왔다.^{6-9, 11, 12)} 하지만 본 연구에서 중합 효소 연쇄반응은 낮은 민감도(40.6%)와 높은 위양성률(69.0%)이 문제점으로 나타났다. 이는 기존의 연구들과 비교하였을 때 비교적 낮은 수치인데 그 이유는 세 가지로 생각할 수 있다. 첫째, 객담이 아닌 인후도말을 통해서 검체를 채취하였기 때문에 검체 내에 균의 수가 충분하지 않았기 때문일 것으로 생각된다.^{17, 18)} 둘째, 대상 환자 전원에게서 입원 당일 마이코플라즈마 특이 항체 검사를 시행하였고 이 항체가 1 : 320 이상 혹은 5일 이상 간격으로 추적 관찰 시 역가가 4배 이상 증가한 경우를 마이코플라즈마 폐렴으로 진단하였는데 실제로 다시 채혈해야 하는 불편함 때문에 입원 5일 후에 항체를 다시 측정할 환자는 없었다. 따라서 입원 5일 후에 다시 항체를 측정해서 역가가 4배 이상 증가한 경우를 확인할 수 있었으면 조금 더 정확한 중합 효소 연쇄반응과 효소면역측정법의 민감도와 특이도를 측정할 수 있었을 것으로 사료된다. 셋째, 중합 효소 연쇄반응의 결과는 혈청학적 검사를 기준으로 판단하였는데, 증상이 발생한 후 비교적 일찍 마이코플라즈마 특이 항체를 채취한 경우 혈청학적 반응이 나타나기 전에 채취했을 가능성이 있다. 이 경우

혈청학적 검사는 음성으로 나오지만 중합 효소 연쇄반응 결과는 양성으로 판독될 수 있기 때문에 중합 효소 연쇄반응의 높은 위양성률에 영향을 미쳤을 수 있었을 것으로 생각된다. 한편 *M. pneumoniae*와 연관이 없는 DNA sequence의 증폭에 의한 위양성 가능성은 적는데, 이는 실험에 사용되는 primer가 세균 균주로부터 생긴 DNA를 증폭하지는 않는 것으로 알려져 있기 때문이다.¹⁹⁾ 또한 본 연구에서는 중합 효소 연쇄반응의 위음성률이 27.5%로 나타났는데 Skakni 등⁷⁾은 중합 효소 연쇄반응이 위음성을 나타내는 이유로 2가지를 제시하고 있다. 첫째는 검체 내의 균주 수가 중합 효소 연쇄반응으로 검출할 수 있는 양보다 적기 때문이고, 둘째는 마이코플라즈마 균주가 다양하기 때문에 검사에 사용한 primer가 마이코플라즈마 DNA의 sequence를 인식하지 못하는 경우가 있을 수 있기 때문이라고 주장하였다.⁷⁾ Reznikov 등은 이런 경우 한 쌍 이상의 primer pair를 사용하면 위음성의 가능성을 낮출 수 있다고 제시하였다.²⁰⁾

효소면역측정법은 *M. pneumoniae*에 대한 특이 IgM과 IgG를 각각 측정해서 *M. pneumoniae* 폐렴을 초기에 진단할 수 있는 방법인데 마이코플라즈마 특이 항체 검사법보다 더 정확하고 빠르기 때문에 최근 이에 대한 보고가 많이 있다.^{15, 16)} Petitjean 등은 각각 다른 회사에서 생산한 *M. pneumoniae* ELISA kit 4개의 민감도와 특이도를 비교한 논문을 발표하였는데 *M. pneumoniae*에 대한 중합 효소 연쇄반응 양성을 기준으로 했을 때 이들 4개의 kit의 Mycoplasma 특이 IgM의 민감도는 82%, 77%, 69%, 66%, 특이도는 100%, 90%, 65%, 25%를 나타냈다고 보고하며 ELISA가 *M. pneumoniae* 폐렴을 진단하는데 매우 유용하게 사용될 수 있을 것으로 주장하였다.¹⁵⁾ 이번 연구에서 Mycoplasma 특이 IgM의 항체가는 민감도 9.4%, 특이도 100%, IgG 항체가는 민감도 21.9%, 특이도 98.7%로 민감도는 낮지만 특이도는 매우 높

은 수치를 나타냈다. 그 이유는 효소면역측정법은 *M. pneumoniae*의 표면에 있는 단백 성분에 대한 특이 IgM과 IgG를 측정하기 때문에 더 특이적인 반응을 나타내기 때문으로 사료된다.²¹⁾

본 연구에서는 연령이 낮은 0-4세 군이 전체 폐렴 환자의 75.7%를 차지하였다.(Table 2) 또한 *M. pneumoniae* 폐렴으로 진단된 환자의 연령 분포에서도 0-4세가 18명(56.3%)으로 가장 많았다.(Table 3) 이와 같이 비교적 연령이 낮은 소아가 *M. pneumoniae* 폐렴으로 진단된 환자의 다수를 차지하는 것은 기존에 *M. pneumoniae*가 학동기 소아와 젊은 성인의 폐렴의 주요 병원체로 알려져 있는 것과 다른 사실이다.^{2, 22)} 그 이유는 본 연구가 호흡기 증상이 심한 입원 환자를 대상으로 했기 때문일 것으로 사료된다. *M. pneumoniae* 폐렴은 주로 학동기 소아와 젊은 성인에서 폐렴을 일으키지만 연령이 4세 미만으로 어릴수록 더 심한 경과를 나타내는 특징을 가지고 있기^{23, 24)} 때문에 본 연구에서 연령이 낮은 소아가 *M. pneumoniae* 폐렴으로 진단된 환자의 다수를 차지했다고 사료된다.

Waris 등은 중합 효소 연쇄반응 결과와 *M. pneumoniae* 특이 IgM 결과를 종합한 경우 각각을 따로 진단에 이용한 경우보다 *M. pneumoniae* 폐렴을 더 정확하게 진단할 수 있다고 보고하였다.²³⁾ 본 연구에서도 효소면역측정법을 이용한 *M. pneumoniae* 특이 IgM은 중합 효소 연쇄 반응이 진단하지 못한 3례를 진단하였다. 이는 중합 효소 연쇄반응과 효소면역측정법을 동시에 시행해서 *M. pneumoniae* 폐렴의 감염 여부를 판단하는 것이 좀 더 정확하다는 것을 의미한다.

결론적으로 *M. pneumoniae* 폐렴의 진단에 있어서 미세입자 응집법을 이용한 마이코플라즈마 특이 항체 검사와 더불어 중합 효소 연쇄반응과 효소면역측정법을 시행함으로써 보다 정확한 진단을 할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

목 적 : *Mycoplasma pneumoniae* 폐렴은 소아 및 청소년기에 주로 호흡기 질환을 일으키는 주요 원인이다. *M. pneumoniae* 폐렴을 진단하기 위해서는 한랭응집소 검출반응, 마이코플라즈마 특이 항체 측정법, 배양 검사 등의 방법이 이용되고 있으나 초기 진단에는 효용성이 떨어진다. 본 연구는 중합 효소 연쇄반응과 효소면역측정법을 이용한 *M. pneumoniae* 폐렴의 진단적 유용성에 대해 평가하고자 하였다.

방 법 : 연세대학교 의과대학 부속 세브란스병원 및 영동세브란스병원 소아과에 입원한 환자 중 입원 당시 시행한 흉부 X-선 검사 및 흉부 청진상 폐렴 소견을 보인 환자 111명의 임상 검체를 대상으로 *M. pneumoniae*를 분리, 동정하였다. 마이코플라즈마 특이항체가 1 : 320 이상이거나 추적 관찰 시 4배 이상 역가가 증가하는 경우를 *M. pneumoniae* 폐렴으로 진단하였고 이를 기준으로 중합 효소 연쇄반응과 효소면역측정법을 수행하였다.

결 과 : 중합 효소 연쇄반응의 민감도는 40.6%, 특이도 63.3%, 위양성률 69.1%, 위음성률 27.5%로 나타났고, 효소면역측정법에서 *M. pneumoniae* 특이 IgM은 민감도 9.4%, 특이도 100%, 위양성률 0%, 위음성률 26.9%를 나타내었다. 중합 효소 연쇄반응과 효소면역측정법을 조합한 결과는 민감도 46.9%, 특이도 63.3%, 위양성률 65.9%, 위음성률 25.4%로 나타났다.

결 론 : *M. pneumoniae* 폐렴의 진단에 있어서 미세입자 응집법을 이용한 특이항체 검사와 더불어 중합 효소 연쇄반응과 효소면역측정법을 시행함으로써 보다 정확한 진단을 할 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Kim CK, Koh YY. Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children. *Pediatr Allergy Respir Dis(Korea)* 2004;14:196-8.
- 2) Foy HM, Kenny GE, McMahan R, Kaiser G, Grayston JT. Mycoplasma pneumoniae in the community. *Am J Epidemiol* 1971;93:55-67.
- 3) Cassell GH, Cole BC. Mycoplasmas as agents of human disease. *N Engl J Med* 1981;304:80-9.
- 4) Taylor-Robinson D. Infections due to species of Mycoplasma and Urea plasma : an update. *Clin Infect Dis* 1996;23:671-82.
- 5) Lee HJ, Kim ES, Jeong HJ, Rha YH, Chung SJ, Cha SH. Diagnostic availability of PCR in the Mycoplasma pneumoniae pneumonia of children. *Pediatr Allergy Respir Dis(Korea)* 2005;14:358-65.
- 6) Bernet C, Garret M, de Barbeyrac B, Bebear C, Bonnet J. Detection of Mycoplasma pneumoniae by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1989;27:2492-6.
- 7) Skakni L, Sardet A, Just J, Landman-Parker J, Costil J, Moniot-Ville N, et al. Detection of Mycoplasma pneumoniae in clinical samples from pediatric patients by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992;30:2638-43.
- 8) Nadala D, Bossart W, Zucol F, Steiner F, Berger C, Lips U, et al. Community-acquired pneumonia in children due to Mycoplasma pneumoniae : diagnostic performance of a seminested 16S rDNA-PCR. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001;39:15-9.
- 9) Razin S, Hyman HC, Nur I, Yogev D. DNA probes for detection and identification of mycoplasmas(Mollicutes). *Isr J Med Sci* 1987;23:735-41.
- 10) Lind K, Lindhardt BO, Schutten HJ, Blom J, Christiansen C. Serological cross-reactions between Mycoplasma genitalium and Mycoplasma pneumoniae. *J Clin Microbiol* 1984;20:1036-43.
- 11) Williamson J, Marmion BP, Worswick DA, Kok TW, Tannock G, Herd R, et al. Laboratory diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection. 4. Antigen capture and PCR-gene amplification for detection of the Mycoplasma : problems of clinical correlation. *Epidemiol Infect* 1992;109:519-37.
- 12) van Kuppeveld FJ, Johansson KE, Galama JM, Kissing J, Bolske G, Hjelm E, et al. 16S rRNA based polymerase chain reaction compared with culture and serological methods for diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;13:401-5.
- 13) Jang MU, Kim KH, Park ID, Joh MH. Detection of Mycoplasma pneumoniae in clinical specimens of patients by polymerase chain reaction and culture method. *J Bacteriol Virology(Korea)* 1995;30:517-25.
- 14) Jang MU, Kim GH, Park ID, Kang GH, Gong EH, Jeong MH, et al. Rapid Detection of Mycoplasma pneumoniae and antimicrobial susceptibilities of the M. pneumoniae isolates. *J Bacteriol Virology(Korea)* 2003;33:183-91.
- 15) Petitjean J, Vabret A, Gouarin S, Freymuth F. Evaluation of four commercial immunoglobulin G(IgG)- and IgM-specific enzyme immunoassays for diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infections. *J Clin Microbiol* 2002;40:165-71.
- 16) Narita M, Togashi T. Evaluation of a rapid IgM antibody detection kit for diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection during childhood. *Kansenshogaku Zasshi* 2003;77:310-5.
- 17) Yoon KN, Park SW, Lee EH, Lee WB, Hwang KT, Lee HJ. Clinical utility of the sputum polymerase chain reaction obtained by nebulizer in the diagnosis of Mycoplasma pneumoniae pneumonia. *J Korean Pediatr Soc (Korea)* 1999;42:348-54.
- 18) Blackmore TK, Reznikov M, Gordon DL. Clinical utility of the polymerase chain reaction to diagnose Mycoplasma pneumoniae infection. *Pathology* 1995;27:177-81.
- 19) Clewley JP. The polymerase chain reaction, a review of the practical limitations for human immunodeficiency virus diagnosis. *J Virol Methods* 1989;25:179-87.

- 20) Reznikov M, Blackmore TK, Finlay-Jones JJ, Gordon DL. Comparison of nasopharyngeal aspirates and throat swab specimens in a polymerase chain reaction-based test for *Mycoplasma pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14:58-61.
- 21) Dussaix E, Slim A, Tournier P. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and complement fixation test for detection of *Mycoplasma pneumoniae* antibodies. *J Clin Pathol* 1983;36(2):228-32.
- 22) Foy HM. *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia : current perspectives. *Clin Infect Dis* 1999;28:237.
- 23) Waris ME, Toikka P, Saarinen T, Nikkari S, Meurman O, Vainionpaa R, et al. Diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children. *J Clin Microbiol* 1998;36:3155-9.
- 24) Ferwerda A, Moll HA, de Groot R. Respiratory tract infections by *Mycoplasma pneumoniae* in children : a review of diagnostic and therapeutic measures. *Eur J Pediatr* 2001;160:483-91.