

비뇨생식기로 부터 *Chlamydia trachomatis*의 세포배양 및 효소면역학적 동정

단국대학교 이공대학 미생물학과

이 재 상 · 이 연 태

—Abstract—

Identification of *Chlamydia trachomatis* from the Urethral Specimens by McCoy Cell Culture and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Jae-Sang Lee and Yun-Tai Lee

Department of microbiogy, College of Sciences and Engineering, Dan-Kook University, Seoul, Korea

A total of 339 urethral, vaginal swab and eye discharge materials from the out-patients in the hospitals of Seoul area was microbiologically collected for the detection of *Chlamydia trachomatis* infection during May through August, 1985. McCoy cell culture system (MCC) and enzyme-linked immunosorbent assay (EIA) methods were employed in this study as the tools for the detection of *C. trachomatis*, and the detectabilities of two methods were compared.

The results obtained in this study are summarized as follows:

1. The positive rate of *C. trachomatis* in 339 swab specimens was 18.6%, and the rate in females (20.1%) was much higher than that in males (7.1%).
2. The positive rate of *C. trachomatis* infection the prostitutes was the highest (24.2%), and the rate in the eye discharge specimens obtained from the new borns was 12.8%.
3. The positive rates of *C. trachomatis* infection detected in the specimens from the patients with vaginitis and leucorrhoea, with infertility, with cystitis and with nongonococcal urethritis were 17.2%, 21.9%, 18.0% and 7.1%, respectively.
4. The positive rate of *C. trachomatis* infection in 20-25 age group was 30.5%. This rate was the highest among the other age groups.
5. The positive rate of *C. trachomatis* infection in the randomly screened 89 swab specimens by EIA (30.3%) was much higher than the rate detected by MCC (18.6%).
6. The positive rate of *C. trachomatis* infection in females detected by EIA was also much higher than in males, and the 20-25 age group showed the highest positive rate as compared to the other age groups.
7. Sensitivity and specificity of EIA for the detection on *C. trachomatis* were 100% and 88.6%, respectively, in case that MCC was regarded as perfect method.

In summarizing the above results, it is known that considerable cases with genital diseases and with eye discharges were associated with *C. trachomatis*, and that EIA method is recommendable for the detection of *C. trachomatis* especially in the specimens swabbed from the genital tracts.

Key Words: *Chlamydia trachomatis*, EIA, McCoy cells culture, Genital infection.

서 론

성균과 유사한 미생물 (obligate intracellular microorganism)로서 과거에는 바이러스로 취급되었으나 최근에 와서 세균의 특성과 비슷하다고 하여 *Chlamydia* 속에 소속시키고 있다¹⁾.

*Chlamydia trachomatis*는 세포내 기생성 그람음

본 연구는 제 56차 대한미생물학회 추계학술대회 (1985. 10. 11) 석상에서 발표되었음.

*C. trachomatis*는 과거에 세계적으로 유행하였던 전염성 결막염인 트라코마(trachoma) 및 수염장 결막염의 원인균으로만 알려져 있었으나 진단 방법의 개발 및 개선으로 인체의 각 장기 및 부위에서 여러가지 질환을 일으키는 원인균으로 확인되었다.^{1, 13, 20} 또한 근래에는 남녀 비뇨 생식기 감염의 주요 원인균으로 부각되어 성교에 의한 전염성 질환 (sexually transmitted disease) 중에서 가장 문제시 되는 것 중의 하나가 되었다.^{4, 13, 16, 24, 25, 26} 그 가운데 남성의 비 임균성 요도염은 점차 증가하는 경향이 있으며 비 임균성 요도염 가운데 40~60%가 이 *C. trachomatis*에 의한 경우로 보고 되고 있고 만성 전립선염의 상당수가 이와 관련이 있는 것으로 추정되고 있다.^{13, 20} 또한 여성에 있어서는 자궁 경관염, 난관염, 골반염을 일으키며 때로는 불임의 원인이 되기도 한다.^{13, 24, 26}

*C. trachomatis*의 감염 진단은 본 균이 독자적으로 생존 증식하지 못하고 숙주 세포내에서만 그 배양이 가능한 생물학적 특성을 갖고 있기 때문에 어려움이 많았다. 그러나 Tang 등²⁰ 과 Collier 등²¹ 이 유행성 결막염 환자의 가검물을 난황에 접종시켜 본 균을 배양 분리한 것을 시발로 하여 McCoy, HeLa 및 Lister가 세포와 같은 eukaryotic cell line을 매체로 하는 조직 배양법이 개발 되기에 이르렀다.^{5, 7, 10, 17, 20} 실제로 McCoy 세포의 조직 배양법이 *C. trachomatis*의 검출에 가장 많이 애용되고 있고 배양을 용이하게 하기 위해 cyostatic와 같은 세포 안정제의 처리나 방사선 조사를 함으로서 배양 성적이 향상되고 있다.^{5, 11, 14, 16, 22}

이와 같이 세계적으로 *C. trachomatis* 감염에 대한 보고가 활발하고 감염의 중요성을 재인식하면서도 우리나라에서 그 연구가 부진하였던 것은 세포배양 기법이 일반 검사실에서는 적용하기가 용이하지 않았기 때문이라고 사료된다.

*C. trachomatis*의 진단에는 배양법에만 의존한 것은 아니다. 고전적 방법으로서 비뇨 생식기로부터의 가검물을 채취하여 염색한 후 세포내에서 inclusion body를 관찰하는 세포학적 방법이 있었다. 그러나 민감도(sensitivity)가 약하여서 집단 진단 따위의 역학적 방법에는 이용이 될 수 있으나 임상에서 권장할 만한 방법이 되지 못했었다.²⁰

면역학적 진단 방법으로는 보체 결합 반응 (complement fixation test)과 미세 면역 형광 항체법 (micro-immunofluorescence test)이 널리 응용되어 왔다. 그러나 모두 진단상의 특이성 (specificity)에 약점이 있고 치료 후 과거의 감염에 의한 반응을 감별하기 어려운 단점이 있었다.^{23, 26} 그러다가 근래에

와서 민감도와 특이도가 우수한 효소 면역법 (enzyme-linked immunosorbent assay; EIA)이 소개 되고 있으나 우리나라에서는 아직 이 방법의 의한 *C. trachomatis* 감염의 진단과 임상적 평가가 보고된 바 없다.

이에 본 연구는 환자로 부터 채취한 가검물을 McCoy cell line에 접종하는 세포 배양법과 EIA를 동시에 시행하여 *C. trachomatis*의 감염율과 양점사법에 대한 특이도를 비교 관찰하고자 시도된 것이다.

재료 및 방법

1. 실험 대상 및 가검물 채취 방법

1985년 5월부터 8월말까지 4개월 동안 서울 시내 은성의원 및 병원 외래환자 339명 (남 14명, 여 278명, 신생아 47명)을 대상으로 직업 및 임상 소견별로 분류하였고 성인인 경우에는 비뇨 생식기에서, 신생아인 경우에는 안 점막에서 각각 가검물을 채취하였다. 가검물 채취 방법은 chlamydiagyme diagnostic kit (Abbott Laboratories, North Chicago, IL, U.S.A.)에서 추천한 방법을 취하였으며 대상 환자의 직업 및 임상 소견별 구성 인원은 다음과 같다.

1). 세포 배양법에 의한 *C. trachomatis*의 검출 대상

질염 및 냉증 환자 (vaginitis and leucorrhea cases) 87명, 접대부 (prostitute) 66명, 불임증 환자 (infertility cases) 64명, 복통 및 방광염 환자 (patients with abdominal pain and cystitis) 61명, 신생아 안염 환자 (new borne infants with eye diseases) 47명, 비 임균성 요도염 환자 (nongonococcal urethritis cases) 14명으로 총 339명이었다.

2). 효소 면역법 (EIA)에 의한 *C. trachomatis*의 검출 대상

세포 배양법에 의한 검출 대상으로 되었던 339명의 환자중 접대부 66명과 비 임균성 요도염 환자 14명 그리고 질염 및 냉증 환자 9명은 다시 가검물을 채취하여 효소 면역법으로 *C. trachomatis* 감염 여부를 확인하여 그 민감도 (sensitivity)와 특이도 (specificity)를 세포 배양법에 의한 검출 효과를 비교하였다.

2. 세포 배양법에 의한 *C. trachomatis*의 검출

1). McCoy 세포 배양 배지의 조성

McCoy 세포의 유지 배지 (maintenance medium)와 가검물의 수송 배지 (transport medium)는 아래

의 medium I, II, III을 만들어 medium I, II는 유지 배지로, medium III은 수송 배지로 각각 사용하였다.

(1), **Medium I** : minimal essential medium (MEM) 90ml내에 gentamycin 0.25ml, fungizon 1ml, 비동화된 우태아 혈청 (fetal calf serum) 10ml를 가하였다.

(2), **Medium II** : Medium I 100ml당 세포 안정제 (cytostatics)의 일종인 5-iodo-2-deoxyuridine (Sigma Co., Ltd, U.S.A) 0.25ml를 가하였다.

(3), **Medium III (CMDC medium)** : Medium III 100ml당 vancomycin 0.25ml를 가하였다.

2. McCoy 세포의 monolayer 형성

직경 15mm의 flat bottom의 원통형 vial에 직경 13mm의 round coverslip을 넣고 ml당 1×10^5 /ml의 McCoy 세포가 들어 있는 3.5ml의 세포 유지 배양액을 vial에 넣는다. 이 vial을 37°C의 CO₂ 배양기에 넣고 24시간 배양하여 coverslip위에 McCoy 세포의 monolayer를 만든다. monolayer 상태는 역상 현미경 (inverted microscope)으로 관찰한다.

3. 가검물의 배양

Centrifuge tube에 CMDC medium을 각각 3ml씩 넣은 것을 운송 배지로 하여 가검물이 묻은 면봉을 담고 voltex mixer로 잘 흔들어서 면봉에 묻은 가검물이 배지내로 혼합되도록 한다. 면봉을 제거한 다음 각 시료를 1,000 rpm에서 약 5분간 원심 분리하여 상층액에 *C. trachomatis*의 균체만이 부유되도록 한다.

Incubation 중인 McCoy 단층 세포 배지에서 각 vial 당 2ml씩의 배양액을 제거한 다음 여기에 원심 분리된 시료의 상층액 1ml씩을 각 vial에 조심스럽게 넣는다. 이때 vial 바닥의 round coverslip이 뒤집히지 않도록 주의한다.

배양액중의 균체가 침전되도록 각 vial을 3,000

rpm에서 1시간 동안 원침한 후 CMDC medium을 1ml 첨가하고 37°C의 CO₂ 배양기에서 48시간 배양한다.

4. 분리 확인

48시간 동안 배양했던 각 vial에서 배양액을 조심스럽게 제거한 후 3~4ml의 멸균된 Hank's PBS (Phosphate Buffer Saline)로 1~2회 세척한다. 세척된 배양세포에 50%, 70%, 95%의 ethyl alcohol로 각각 15분씩 고정하였고 최종 단계로 무수 알콜에서 30분간 고정하였다.

Vial속의 round coverslip을 꺼내어 여과지 위에 놓고 말린 다음 Jone's iodine staining solution 한 방울을 떨어뜨려 400배의 광학 현미경 하에서 검경한다.

염색 세포내에 붉은 갈색의 봉입체 (inclusion body)가 관찰되면 양성으로 판정한다 (Fig. 1과 Fig. 2 참조).

3. 효소 면역법 (enzyme-linked immunosorbent assay; EIA)

가검물에서 *C. trachomatis* 감염 여부를 가려내기 위하여, 항원 항체 반응체에 특수 효소를 붙이고 기질에 작용시켜 발색시키는 방법으로 그 민감도가 높은 것으로 알려진 효소 면역법을 적용시켰다. 일체의 시료와 방법은 Chlamydionyme[®] Diagnostic Kit (Lot* 76373 SO, Abbott Laboratories, North Chicago, IL, U.S.A)에 의하였다¹⁾.

1. 조작 방법

(1) 운반용 튜브에 가검물을 담아온 다음 1ml의 완충 용액 (specimen dilution buffer solution)을 주입하고 voltex mixer로 수초간 진탕한 후 면봉을 제거하고 진탕액 200 μ l를 20wells짜리 reaction tray내에 pipetting하였다. bead한개씩을 각 well에 가한 다음 덮개를 하고 tray를 가볍게 두드려 각 bead

Fig. 1. Monolayer of McCoy cell before inoculating the specimens.

Fig. 2. Monolayer of McCoy cell with inclusion bodies of *Chlamydia trachomatis*.

가 검체에 완전히 쌓이고 기포가 제거되도록 하였다. 이때 음성 및 양성 대조 200 μ 씩 따로 두었다.

(2) 이를 37°C에서 약 60분간 incubation 한 다음 덮개를 제거하고 액체를 흡출시킨 bead에 다시 4~5ml의 증류수로 (penta wash)를 이용하여 세척한다.

(3) 각 well에 *C. trachomatis* 항체 (rabbit, 0.1 μ g/ml)를 각 200 μ 씩 pipetting하고 cover seal로 덮개를 한 다음 가볍게 두드려 기포를 제거하고 37°C에서 약 60분간 다시 incubation한다.

(4) 덮개를 제거한 후 ②와 같은 방법으로 세척하고 각 well에 peroxidase가 붙어 있는 conjugate (anti-rabbit IgG (goat); peroxidase(horseradish)) 200 μ 씩 첨가한다.

(5) 새 cover seal로 덮개를 하고 tray를 가볍게 두드려 기포를 제거한 다음 약 60분 동안 37°C에서 incubation한다. Incubation 후 덮개를 제거하고 ②와 같은 방법으로 세척하고 모든 액체를 완전히 흡출한다.

(6) 즉시 bead들을 발색용 tubes에 옮기고 O.P.D. tablet (O-phenylenediamine 2HCl; 12.8mg O.P.D / tablet) 한개씩을 넣은 다음 O.P.D 기질액 (citrate-phosphate buffer + 0.02% H₂O₂)을 총 300 μ 가 되도록 pipetting한다. 이때 2개의 빈 시험관에 O.P.D 기질액 300 μ 만을 넣어 맹검용 시료 (substrate blank)로 하였다.

(7) 각 시험관에 덮개를 하여 실온(15°C~30°C)에서 약 30분간 incubation하여 발색시킨 후 각 시험관에 IN-H₂SO₄ 용액을 1ml씩 가하여 발색을 중지시켰다.

2). 발색액의 흡광도 측정

모든 시료는 조작 완료 2시간 이내에 흡광도를 측정하였으며 음성대조, 양성대조 및 미지 가검물의 흡광도 (optical density)는 분광 광도계 (Dual Wave-

length Analyzer, Quantum II, Abbott Laboratories, U.S.A)의 파장을 492nm에 맞추고 기질대조 시험관의 흡광도를 0으로 하여 측정하였다.

3). 측정 결과의 판정

본 실험에서 양성 대조는 하나만 그리고 음성 대조는 3개의 시료를 만들어 평균치를 내도록 하였다. 미지 가검 시료의 흡광도치를 기준치와 비교하여 기준치와 같거나 크게 되면 *C. trachomatis* 양성 반응으로 판정하였다 (Fig. 3 참조).

기준치 (cut-off value)는 음성 대조의 평균 흡광도치에 교정 상수 0.100을 더한 것으로 하였으며 (NC_x + 0.100) 본 실험에서는 NC_x 치가 0.131이하였고 양성 대조의 흡광도치와 NC_x의 차이는 0.698이상이었다. (NC_x = $\frac{x' + x'' + \dots + x^n}{n}$ x; 흡광도치, n; 측정횟수)

성 적

1. 세포 배양법에 의한 *C. trachomatis* 검출

총 339명의 외래 환자로 부터 가검물을 채취하여 McCoy cell line에 혼합 배양하여 *C. trachomatis*의 감염 여부를 판정하여 보았던 바 제 1표와 같다.

Table 1. Positive rates of *Chlamydia trachomatis* infection in 339 swab specimens, assayed by McCoy cell culture system

| Sex | No. of test | Positive cases | Positive rates (%) |
|----------|-------------|----------------|--------------------|
| Male | 14 | 1 | 7.1 |
| Female | 278 | 56 | 20.1 |
| New born | 47 | 6 | 12.8 |
| Total | 339 | 63 | 18.6 |

Table 2. Positive rates of *Chlamydia trachomatis* infection in 339 swab specimens according to clinical symptoms, assayed by McCoy cell culture system

| Subject and symptoms | specimens | Positive cases | Positive rates (%) |
|-----------------------------|-----------|----------------|--------------------|
| Prostitute | 66 | 16 | 24.2 |
| Vaginitis and leucorrhoea | 87 | 15 | 17.2 |
| Infertility | 64 | 14 | 21.9 |
| Cystitis and abdominal pain | 61 | 11 | 18.0 |
| Eye discharge | 47 | 6 | 12.8 |
| Nongonococcal urethritis | 14 | 1 | 7.1 |
| Total | 339 | 63 | 18.6 |

Fig. 3. Positive and negative reactions of enzyme-linked immunosorbent assay (EIA) for the diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection.

Table 3. Positive rates of *Chlamydia trachomatis* infection in 339 swab specimens according to age and sex, assayed by McCoy cell culture system

| Age group | Sex | No. of specimens | Positive cases | Positive rates (%) |
|-----------|-----|------------------|----------------|--------------------|
| 20~25 | M | 1 | 0 | 0 |
| | F | 71 (72)* | 22 (22) | 31.0 (30.5) |
| 26~30 | M | 1 | 0 | 0 |
| | F | 64 (65) | 9 (9) | 14.1 (13.8) |
| 31~35 | M | 7 | 0 | 0 |
| | F | 44 (51) | 5 (5) | 11.4 (9.8) |
| 36~40 | M | 1 | 0 | 0 |
| | F | 33 (34) | 9 (9) | 27.3 (26.5) |
| 41~45 | M | 0 | 0 | 0 |
| | F | 28 (28) | 4 (4) | 14.3 (14.3) |
| 46~ | M | 4 | 1 | 25.0 |
| | F | 38 (42) | 7 (8) | 18.4 (19.0) |
| New born | | 47 | 6 | 12.8 |
| Total | | 339 | 63 | 18.6 |

* () = in total

즉, 339명 중 63명이 양성으로 판정되어 18.6%의 감염율을 나타내었으며, 성별 양성율은 남성에서 7.1%, 여성에서 20.1%, 신생아에서 12.8%여서 여성 환자에서 가장 높은 양성율을 보였다.

직업 및 임상 증상별로 구분해 본바 제 2표와 같이 접대부가 24.2%의 가장 높은 양성율을 보였으며 질염 및 냉증 환자 17.2%, 불임증 환자 21.9%, 방광염 및 복통 환자 18.0%, 신생아 안염 환자 12.8%, 비 임균성 요도염 환자에서 7.1%의 양성율을 각각 보였다.

양성예의 연령별 분포를 보면 제 3표와 그림 4와 같다. 즉, 20~25세군 30.5%, 26~30세군 13.8%, 31~35세군 9.8%, 36~40세군 26.5%, 41~45세군 14.3%, 46세 이상에서 19.0%, 신생아 군에서 12.8%여서 20~25세 군에서 가장 높은 양성율을 31~35세군에서 가장 낮은 양성율을 나타내었다.

2. 효소 면역법(EIA)에 의한 *C. trachomatis* 검출

총 339건의 가검물 중 89건을 임의로 선정하여 효소 면역법에 의한 *C. trachomatis* 감염 여부를 알아보고자 실험하였다. 89명 중 27명으로부터 얻은

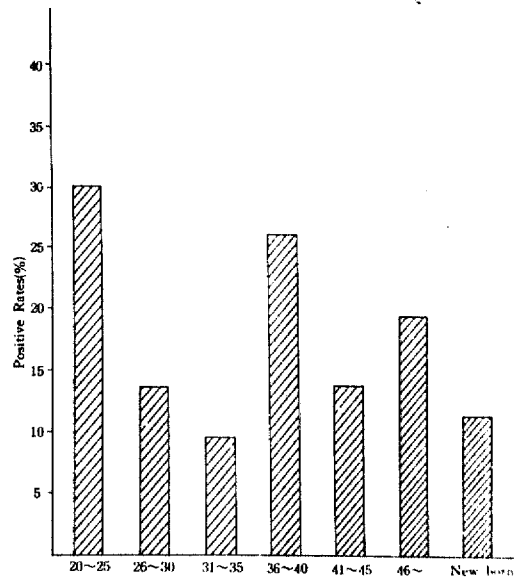


Fig. 4. Age distribution of positive rates of *Chlamydia trachomatis* infection by McCoy cell culture system.

Table 4. Positive rates of *Chlamydia trachomatis* in 89 swab specimens, assayed by enzyme-linked immunosorbent assay

| Sex | No. of specimens | Positive cases | Positive rates (%) |
|--------|------------------|----------------|--------------------|
| Male | 14 | 1 | 7.1 |
| Female | 75 | 26 | 34.7 |
| Total | 89 | 27 | 30.3 |

가검물에서 양성 반응을 보여 그 양성율은 30.3%였고 성별로는 남성에게서 7.1%, 여성에게서 34.7%의 양성율을 나타내어 남성보다는 여성에게서 감염율이 월등히 높았다 ($P < 0.05$).

양성예의 연령별 분포와 본 군의 감염율을 보면 20~25세군 40.7%, 26~30세군 8.3%, 31~35세군에서 0%, 36~40세군에서 33.3%, 41세 이상 20.0%이어서 20~25세군에서 가장 높은 양성율을 나타내었다 (Table 5).

가검물 89예에 대한 EIA optical density치의 분포는 Fig. 5에 표시되었다. 즉 양성 27예 중 17예에서 optical density치가 2.0을 기록하였다.

3. 세포 배양법(MCC)과 효소 면역법(EIA)에 의한 *C. trachomatis*의 양성 판정 비교

임의로 선정된 89예의 가검물은 *C. trachomatis*의 양성율을 비교하기 위하여 MCC와 EIA를 동

Table 5. Positive rates of *Chlamydia trachomatis* infection in 89 swab specimens according to age and sex, assayed by enzyme-linked immunosorbent assay

| Age group | Sex | No. of specimens | Positive cases | Positive rates (%) |
|-----------|-----|------------------|----------------|--------------------|
| 20~25 | M | 1 | 0 | 0 |
| | F | 58 (59)* | 24 (24) | 41.4 (40.7) |
| 26~30 | M | 1 | 0 | 0 |
| | F | 11 (12) | 1 (1) | 9.1 (8.3) |
| 31~35 | M | 7 | 0 | 0 |
| | F | 3 (10) | 0 (0) | 0 (0) |
| 36~40 | M | 1 | 0 | 0 |
| | F | 2 (3) | 1 (1) | 50.0 (33.3) |
| 41~ | M | 4 | 1 | 25.0 |
| | F | 1 (5) | 0 (1) | 0 (20.0) |
| Total | M | 14 | 1 | 7.1 |
| | F | 75 (89) | 26 (27) | 34.7 (30.3) |

* () = in total

Table 6. Comparison of positive rates of *Chlamydia trachomatis* infection in 89 swab specimens, assayed by MCC and EIA

| Age group | Sex | No. of | MCC | | EIA | |
|-----------|-----|-------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| | | | No. of positive | % | No. of positive | % |
| 20~25 | M | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | F | 58 (59)* | 17 (17) | 29.3 (28.8) | 24 (24) | 41.4 (40.7) |
| 26~30 | M | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | F | 11 (12) | 0 (0) | 0 (0) | 1 (1) | 9.1 (8.3) |
| 31~35 | M | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | F | 3 (10) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| 36~40 | M | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | F | 2 (3) | 1 (1) | 50.0 (33.3) | 1 (1) | 50.0 (33.3) |
| 41 ≤ | M | 4 | 1 | 25.0 | 1 | 25.0 |
| | F | 1 (5) | 0 (1) | 0 (20.0) | 0 (1) | 0 (20.0) |
| Total | M | 14 | 1 | 7.1 | 1 | 7.1 |
| | F | 75 (89) | 18 (19) | 24.0 (21.3) | 26 (27) | 34.1 (30.3) |

* () = in total

시에 적용하였다. 세포 배양법에서는 89예중 19명이 양성이어서 21.3%의 양성율을 보였고 효소 면역법은 27명이 양성이어서 그 양성율은 30.3%였

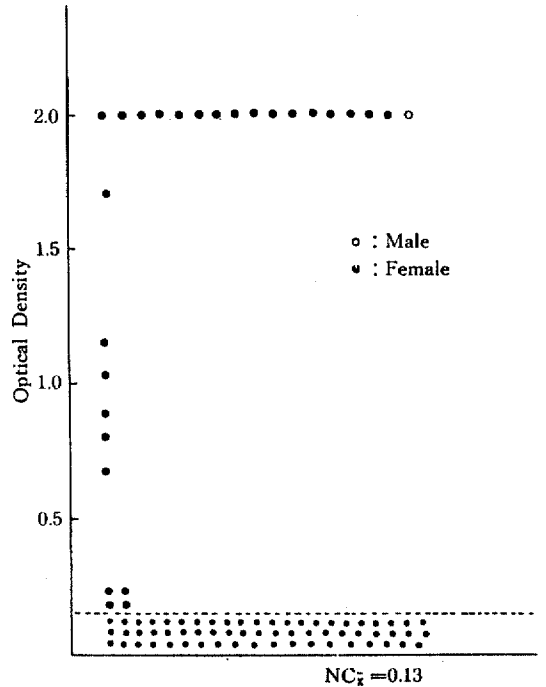


Fig. 5. EIA value (O.D.) distribution of 89 examinees.

다. 결국 양 검사 방법에서 동시에 양성 반응을 보이는 경우는 21.3% (19/89)였고 MCC에서 음성 반응을 보였으나 EIA에서 양성 반응을 보인 예는 89

Table 7. Sensitivity and specificity of EIA for the detection of *Chlamydia trachomatis* from 89 specimens, based on McCoy cell culture method

| MCC EIA | Positive | Negative | Total |
|------------|----------|----------|-------|
| Positive | 19 | 8 | 27 |
| Negative | 0 | 62 | 62 |
| Total | 19 | 70 | 89 |

sensitivity=100%
specificity=88.6%

에 중 8에이어서 9.0%의 차이를 보였다. MCC에서 음성 반응을 나타내었던 8예가 실제로 *C. trachomatis*에 감염된 예였다면 이는 위음성(false negative)을 나타낸 것으로 EIA의 검출율(detectability)이 MCC의 검출율 보다 우수 하다 할 수 있다. 반면 MCC에서의 음성 반응 8예가 실제로 *C. trachomatis* 감염과 무관한 음성 예였다면 EIA에서의 양성 반응은 위양성(false positive)이어서 그 특이도(specificity)는 저하될 것이다. MCC에서의 검출율이 정확한 것으로 간주될 때 EIA의 특이도는 88.6%이다 (Table 6, Table 7).

고 찰

*Chlamydia trachomatis*가 성병(sexually transmitted disease)의 한 원인균으로서 주목되기 시작 한 것은 최근 수년간의 일이다. 현재는 적어도 남성에서는 비임균성 요도염, 부고환염의 원인균이 되고 여성에서도 화농성 질염, 자궁내막염등을 일으켜 남녀 모두에서 불임의 중요한 원인이 되고 있다. 또 최근에는 본 균의 감염으로 자궁경부암의 발생과도 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다^{3,6,21}.

비 임균성 요도염에서 *C. trachomatis*의 조직 배양 분리율은 연령이나 사회적 경제적 수준, 성행위 방법의 기호에 따라 상당히 차이를 보여서 동성애 남자의 요도에서 5%, 이성애 남자의 요도에서 14%의 분리율을 보인다는 보고가 있으나 대체적으로 비 임균성 요도염 환자의 40~50%가 *C. trachomatis*에 의해 발생하며 임균성 요도염의 약 50~60%에서 *C. trachomatis* 감염을 동반한다고 한다. 비 임균성 요도염 환자의 37.7%로부터 *C. trachomatis*를 분리할 수 있었다고 한다^{1,3,14,22,23}. 본 연구에서 비 임균성 요도염 환자 14명중 1명에게서 채취한 가검물이 양성 이어서 7.1%의 양성율을 보였고 기타 비노기과 질환자 및 안질이 있는 신생아로부터 채취한 가검물 339예에서 18.6%의 양성 반응을 보인 것은 지금까지의 보고 결과들에 비하여 다소 낮은

차를 나타내었다.

그러나 한국내에서 항생제가 자유 판매되고 현종이 있는 환자의 경우 항생제의 남용이 가능한 집과 대상 환자군의 사회 경제적 수준이 한국의 평균이라고 볼수 없는 점을 고려할 때 그 감염율은 본 연구의 결과보다 높게 나타날 수 있을 것으로 사료된다.

비 임균성 요도염인 경우 상당수가 *C. trachomatis*에 감염되어 있음은 인정된 사실이나 기타 비노기과 질환에서의 본 균의 감염 여부는 그 논란이다 양함을 알 수 있다. 만성 전립선염의 경우 Mardh 등^{20,21}은 환자의 13%에서 전립선액과 혈청으로부터 *C. trachomatis*에 대한 항체를 분리했으나 조직 배양 분리에서는 실패하여 조직 배양의 신빙성을 의심하였다. 그러나 Nilsson 등²²은 만성 전립선염 환자 26명에게서 전립선액을 채취하여 본 균을 배양 분리함으로써 Mardh의 실험 결과를 반박한 바 있다. 김등²³은 만성 전립선염 환자의 전립선액으로부터 *C. trachomatis*를 다수 분리해 낸 것은 Nilsson 등²²의 보고를 뒷받침 하는 것으로 여겨진다. 본 연구에서는 질병별로 본 균의 검출 사항을 검토한 것이 아니고 본 균 검출에 있어 조작상의 번거로움과 임상응용의 애로가 있는 세포 배양법을 대체할 수 있는 방법으로 효소 면역법이 가능한지의 여부를 검토하는데 주안점을 두었다.

C. trachomatis 감염 진단은 원칙적으로 다른 미생물 감염 진단의 원리와 일치하는 것이라 할수 있다²⁴. 본 균의 감염 진단의 경우도 대략 세 분류로 나누어 볼수 있을 것이다. 즉 환자의 검사물로부터 세포학적 방법으로 진단하는 경우와 chlamydia 항원에 대한 환자의 항체를 결정하는 면역학적 방법, 그리고 배양 분리법등인 것이다.

*C. trachomatis*는 세포내에 기생하면서 감염초기에는 망상체(reticulate body)로 존재하다가 시간이 지남에 따라 기본체(elementary body) 및 봉입체(inclusion body)로 발육하는 특이성이 있기 때문에 세포학적 검사 방법이 불가피 하였다. 그러므로 배양법이 개발되기 전에는 환자의 생식기로부터 채취한 가검물을 주로 geimsa 염색하여 세포내에 봉입체 유무를 관찰하였다. 이 방법은 역학적 조사에 좋은 방법이 되었으며 아직도 시설이 미비한 임상에서 환자 진단에 이용되고 있다. 그러나 신생아의 결막염등의 검사에는 유효한 방법이 될수 있으나 자궁경부등의 생식기 감염여부를 진단하는데는 이 방법의 민감도가 낮은 것으로 되어 있다²⁵.

*C. trachomatis*에 감염되었을 경우에는 여러가지 면역 항체가 형성되며 세포 매개 면역성이 인정되

고 있음에도^{13,14)} 생식기 감염 여부를 진단하는데는 혈청학적 방법이 그리 유효하지 않은 것으로 알려져 있다¹⁵⁾. 그 이유는 본 균 감염의 현증이 만성 이어서 최고 항체가를 보이는 시기를 찾을 수 없다는 점이 될 것이다. 혈청학적인 방법으로는 주로 보체 결합 반응 (complement fixation test)과 미세 면역형광법 (microimmunofluorescence test)이 통용되어 왔다. 보체 결합 반응은 임파종 (lymphogranuloma venereum; LGV) 환자에서의 본 균을 검출하는데 유효한 방법으로 쓰여져 왔고 미세 면역형광법은 항체의 immunoglobulin (IG) class를 결정하는데 이용되면서 각종 *C. trachomatis* 감염 진단에 가장 우수한 민감도를 갖는 방법으로 여겨져 왔다. 그러나 각종 교차 반응과 환자의 치료후에도 상당 기간 동안 본 균에 대한 항체를 유지하고 있다는 단점들이 있다.

세포 배양법으로는 McCoy cell line에 세포안정제 (cytostatics)로서 5-iodo-2-deoxyuridine과 cyclohexamide를 처리한 culture system을 이용하고 있다^{16,17)}. 이 McCoy cell culture system에 가검물을 처리하여 일정 기간 항온 처리한 다음 세포내에 형성된 봉입체를 iodine이나 geimsa 염색하여 관찰하게 되는데 본 실험에서는 세포 안정제로 5-iodo-2-deoxyuridine을 썼고 염색액으로는 iodine을 사용하였다. 안정제로서 cyclohexamide가 보다 값이 싸고 민감하다는 보고는 있으나 앞으로 더욱 검토하여 보아야 할 것이고¹⁸⁾ 염색액으로서 geimsa 염색 대신 iodine을 쓴 이유는 *C. trachomatis*의 망상체나 기본체가 다당류인 glycogen에 쌓여 있기 때문에 그 반응에 있어 iodine이 보다 우수 하리라는 고려에 따른 것이다. Schachter 및 Grossman¹⁹⁾은 비 임균성 요도염과 질염 환자에서 채취한 가검물을 처리한 McCoy cell culture system에서 그 민감도는 70~80%였다고 보고하고 있고 아직까지는 이 방법이 가장 우수한 것으로 간주되고 있다. 그러나 조작상의 기술과 장비문제 그리고 배양기간의 문제 등이 있어 일반 임상에서 응용하는데는 많은 애로가 있다.

본 연구에서는 세포 배양법을 대체할 수 있는 방법으로서 효소 면역법을 시도하여 그 민감도와 특이도를 비교하여 보았다. 환자의 혈청으로 부터의 *C. trachomatis* 항체를 분리 지정하는 것이 아니고 전 조작이 가검물로부터 항원을 검출하는 방법임으로 보다 신빙성이 있을 것으로 사료된다. 본 연구에서 McCoy세포 배양법의 검출율 (detectability)이 가장 우수하고 완전한 것으로 간주되었을 때 효소 면역법의 민감도는 100%였고 특이도는 88.6%

였다. 표본수는 89에 불과하였으나 효소 면역법 이역학 조사 및 일반 임상에서도 널리 사용될 수 있는 방법임이 확실하다. 더욱이 시간적인 절약과 비용의 절감 및 조작의 용이성등을 미루어 앞으로 널리 응용될 수 있는 방법으로 추천될 수 있을 것이다. *C. trachomatis*의 감별 진단에 이 효소 면역법이 적용되기는 근래의 일이나 한국에서 시도되기는 본 연구가 처음인 것을 감안할 때 앞으로 이 방면의 연구가 더욱 활발해 질 것이 분명하다.

결 론

1985년 5월 부터 동년 8월 말까지 4개월 동안 서울 시내 종합병원에 내원한 339명의 비노기과 및 안과 환자로 부터 가검물을 채취하여 현재까지 널리 이용되고 있는 McCoy 세포 배양법 (McCoy cell culture system)과 근래에 개발된 효소 면역법 (enzyme-linked immunosorbent assay; EIA)을 적용하여 EIA법이 세포 배양법을 대체할 수 있는지의 여부를 그 민감도와 특이도를 비교하여 검토하였던 바 아래와 같은 결론을 얻었다.

1. McCoy 세포 배양법에 의한 *C. trachomatis*의 양성율은 총 339 가검물중 63례가 양성 이어서 18.6%였으며 성별로는 남자 7.1%, 여자 20.1%로서 여성에게서의 검출율이 월등히 높았다.

2. 집대부에서 24.2%의 양성율을 기록하여 가장 높은 양성 반응을 보였으며 신생아의 eye discharge로부터의 양성율은 12.8%였다.

3. 임상증상별로 질염 및 냉증환자에서 17.2%, 불임증 환자에서 21.9%, 방광염 18.0%, 비 임균성 요도염 환자에서 7.1%의 양성율을 나타내었다.

4. 연령별로 20~25세군에서 30.5%의 양성율을 보여 타 연령군에 비하여 월등히 높은 양성율을 보였다.

5. 효소 면역법으로 검사한 89예의 가검물 중에서 양성 반응을 보인 예는 27예에서 30.3%의 양성율을 보였으며 이는 McCoy세포 배양법에 의한 양성율 18.6% 보다 월등히 높았다.

6. 효소 면역법에 의하여서도 여성의 양성율이 남성의 양성율보다 월등히 높았으며 20~25세 연령군에서 최고의 양성율을 나타내었다.

7. McCoy 세포 배양법에 의한 *C. trachomatis*의 검출율이 우수한 것으로 간주할 때 효소 면역법의 민감도는 100% 특이도는 88.6%였다.

이상의 결과로 보아 한국인의 비노 생식기 질염 및 신생아의 안질로부터의 가검물에서 상당수의 *C. trachomatis* 감염을 인정할 수 있었고 *C. tra-*

chomatis 감염 진단을 위한 효소 면역법의 응용이 추천될만한 것으로 판정되었다.

참 고 문 헌

- 1) 김성진, 이무상, 이진무: 비 임균성 요도염과 만성 전립선염에서 *Chlamydia trachomatis*의 분리 및 항생제 효과에 관한 연구, 대한 비뇨기 과학회지, 25(6): 746-752, 1984.
- 2) 이연태: 현대 미생물학, 탐구당, 355-360, 1984.
- 3) Alani MD, Darougar S, Burns DC, Thin RN and Dunn H: Isolation of *Chlamydia trachomatis* from the male urethra. *Br. J. Vener. Dis.* 58: 88-92, 1977. *Br. J. Vener. Dis.*
- 4) Bruce AW, Chadwick P, Willett WS and C' Shaughnessy M: The role of *Chlamydia* in genitourinary disease. *J. Urol.* 126: 625-629, 1981.
- 5) Blyth WA, Taverne J: Cultivation of TRIC agents: A comparison between the use of BH-K-21 and irradiated McCoy cells. *Am. J. Hyg.* 72: 121-128, 1974.
- 6) Bowie WR, Wang, SP, Alexander ER, Flypyed J, Forsyth PS, Pollock HM, Juey SL, Buchanan TM and Holmes KK: Etiology of nongonococcal urethritis. *J. Clin. Investigation*, 59: 735-742, 1977.
- 7) Collier LH and Sowa J: Isolation of *trachoma* virus in embryonated eggs. *Lancet*, 1: 993-996, 1958.
- 8) Darougar S, Jones BR and Kinnison JR: Advanced diagnostic isolation of *Chlamydia* including TRIC agents from eye, genital tract and rectum, *Br. J. Vener. Dis.*, 48: 416-430, 1972.
- 9) Diagnostic Division: Enzyme immunoassay for the detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital swab specimens, *Chlamydiazyme* diagnostic Kit, *Abbott Laboratories*, 83:0862/13, 1985.
- 10) Gordon FB, Harper AL and Guan AL: Detection of *Chlamydia* (Bedsonia) in certain infections of man. I. Laboratory procedures: Comparison of yolk sac and cell culture for detection isolation. *J. Infect, Dis.*, 120: 451-462, 1969.
- 11) Gordon FB and Guan AL: Isolation of the *trachoma* agent in cell culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 118: 354, 1965.
- 12) Grayston JT, Wang SP: New Knowledge of *Chlamydia*s and the diseases they cause. *J. Infect, Dis.*, 132: 412, 1975.
- 13) Hunter JM, Smith IW, Peutherer JF and Mac Aulay AJ: *Chlamydia trachomatis*, infection of the cervix: the need for a diagnostic service. *Scott. Med. J.* 27: 147-151, 1982.
- 14) Hobson D, Johnson FW and Rigby RE: Growth of *Chlamydia trachomatis* in cell culture. *Lancet*, 1: 1025-1026, 1976.
- 15) Hanna L, Schmidt L, Sharp M, Stes D, Jazewicz E: Human cell-mediated immune response to *Chlamydial* antigens. *Infect. Immun.* 23: 412, 1979.
- 16) Johnson FW and Hobson D: Factors affecting the sensitivity of replicating McCoy cells in the isolation and growth of *Chlamydia*. *Am. J. Hyg.*, 76: 441-451, 1976.
- 17) Kuo CC, Wang SP and Wentworth BB: Primary isolation of TRIC organisms in HeLa 229 cells treated with DEAE-dextran. *J. Infect. Dis.*, 125: 665-668, 1972. *J. Infect.*
- 18) Lassus A, Paavonen J, Kousa M and Saikku P: Erythromycin and lymecycline treatment in *Chlamydia-positive* and *Chlamydia-negative* nongonococcal urethritis - a partner-controlled study. *Acta. Dermatovener.* 59: 278-281, 1978.
- 19) Mundel G, Katz I, Eshel G and Super infection of *Chlamydia trachomatis* pneumonia by staphylococcus aureus. *Clin. Pediatr. (Phila)* 21: 499-400, 1982.
- 20) Mardh PA, Ripa KT and Colleen S: Role of *Chlamydia trachomatis* in non-acute prostatitis. *Br. J. Vener. Dis.*, 54: 330-334, 1978.
- 21) Mardh PA, Colleen S. and Holmquist B: *Chlamydia* in prostatitis. *Br. Med. J.*, 2: 361, 1972.
- 22) Nilsson S, Johannisson G, Sycke E: Isolation of *Chlamydia trachomatis* from the urethra and from prostatic fluid in men with signs and symptoms of acute urethritis in studies on *C. trachomatis* as a cause of lower urogenital tract infections. Thesis. *Acta Dermatovener. suppl.*, 93: 1981.
- 23) Perroud HM and Miedzybrodzka: *Chlamydia* infection of the urethral in man. *Br. J. Vener.*

- Dis.*, **54**: 45-49, 1978.
- 24) Ridgway GL, Moss V, Muntaz G, AtiaW, Em-
merson AM and Oriel JD: provision of a *Ch-*
lamydia culture service to a sexually trans-
mitted diseases. *Clinic. Br. J Vener. Dis.*, **58**:
236-238, 1982.
 - 25) Ripa KT, Mardh PA: Cultivation of *Chlamy-*
dia trachomatis in cycloheximide treated Mc-
Coy cells, *J. Clin. Microbiol.*, **6**: 328, 1977.
 - 26) Sweet RL, Schochter J and Landers DV: *Ch-*
lamydia infections in obstetrics and gynecol-
ogy. *Clin. Obstet. Gynecol.*, **26**: 143-164, 1983.
 - 27) Segyra JW, Smith TE, weed LA and petter-
sen GR: *Chlamydia* and non-specific urethri-
tis. *J. Urol.*, **720**-721, 1977.
 - 28) Schachter J, Grossman M : Chlamydia infec-
tions. *Ann. Rev. Med.*, **32**: 45, 1981.
 - 28) Thelin I: Diagnosis and treatment of chlamy-
dial venereal disease. *Infection. Suppl.*, **1**: 53-
56, 1982.
 - 30) Tang FF, Chang HL and Huang YT: Studies
on the etiology of trachoma *Med. J.*, **75**: 429-
446, 1957.
 - 31) Terho P: *Chlamydia trachomatis* in non-speci-
fic urethritis. *Br. J. Vener. Dis.*, **54**: 251-256,
1978.
 - 32) Wentworth BB, Alexander ER : Isolation of
Chlamydia trachomatis by uze of 5-iodo-2-de-
oxyuridine-treated cells. *APD. Microbiol.*, **27**:
912-916, 1974.
 - 33) Wang SP, Grayston JT: Immunologic relation-
ship between genital TRIC, lymphogranuloma
venereum and related organisms in a new mi-
crotiter ihdirect immunofluorescence test. *Am.*
J. Ophthalmal., **70**: 367, 1970.
 - 34) Wentworth BB, Alexander ER : Isolation of
Chlamydia trachomatis by use of 5-iodo-2-de-
oxyuridine treated cells. *Appl. Microbiol.*, **6**:
328, 1981.