

# 기계환기폐렴의 원인균 진단에서 인공기도 흡인액을 이용한 Multiplex PCR과 세균배양 결과의 비교

중앙대학교 의과대학 <sup>1</sup>내과학교실, <sup>2</sup>비뇨기과학교실, <sup>3</sup>Cell Genomics

송주한<sup>1</sup>, 명순철<sup>2</sup>, 최송호<sup>3</sup>, 전은주<sup>1</sup>, 강형구<sup>1</sup>, 이해민<sup>1</sup>, 조성근<sup>1</sup>, 최재철<sup>1</sup>, 신종욱<sup>1</sup>, 박인원<sup>1</sup>, 최병휘<sup>1</sup>, 김재열<sup>1</sup>

## Multiplex PCR of Endotracheal Aspirate for the Detection of Pathogens in Ventilator Associated Pneumonia

Ju Han Song, M.D.<sup>1</sup>, Soon Chul Myung, M.D.<sup>2</sup>, Song Ho Choi<sup>3</sup>, Eun Ju Jeon, M.D.<sup>1</sup>, Hyung Gu Kang, M.D.<sup>1</sup>, Hye Min Lee, M.D.<sup>1</sup>, Sung Keun Cho, M.D.<sup>1</sup>, Jae Chol Choi, M.D.<sup>1</sup>, Jong Wook Shin, M.D.<sup>1</sup>, In Won Park, M.D.<sup>1</sup>, Byoung Whui Choi, M.D.<sup>1</sup>, Jae Yeol Kim, M.D.<sup>1</sup>

Departments of <sup>1</sup>Internal Medicine and <sup>2</sup>Urology, <sup>3</sup>Cell Genomics, College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul, Korea

**Background:** Early identification of pathogens can improve the prognosis of patients with ventilator associated pneumonia (VAP). In the present study, we evaluated the feasibility of performing multiplex PCR for endotracheal aspirates to detect three important pathogens (*P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* and MRSA) in patients with VAP.

**Methods:** The endotracheal aspirates of 24 patients were collected within 24 hours of the diagnosis of VAP for performing multiplex PCR. Forward and reverse primers were designed to target the specific site of each pathogen (the oprL gene for *P. aeruginosa*, 16S rRNA for *K. pneumoniae* and the mec gene for MRSA). We analyzed the clinical data of the VAP patients, including the culture reports for the endotracheal aspirates.

**Results:** Twenty-four patients (M:F=18:6, mean age=70±11) with VAP were enrolled. Pathogens were isolated from 11 patients (*P. aeruginosa* in 2, *K. pneumoniae* in 1, MRSA in 2, other enteric Gram negative bacilli in 3, *S. pneumoniae* in 2 and mixed infection in 1). Multiplex PCR detected three cases of *P. aeruginosa* (2 cases coincided with the culture reports) and four cases of *K. pneumoniae* (1 matched with the culture report). PCR detected two MRSA cases, which did not coincide with the culture reports.

**Conclusion:** Multiplex PCR of the endotracheal aspirate showed some ability to detect Gram negative bacilli, although caution is required when interpreting the results. (*Tuberc Respir Dis* 2008;64:194-199)

**Key Words:** Multiplex PCR, Ventilator associated pneumonia, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, MRSA

## 서 론

원내폐렴(hospital acquired pneumonia)은 요로감염에 이어 두 번째로 높은 빈도를 보이는 병원감염으로, 입원기간의 연장을 초래하며, 20~50%의 높은 사망률을 보인다<sup>1,3</sup>. 기계환기폐렴(ventilator-associated pneumonia)은 원내 폐렴의 일종으로 중환자실에서 기계환기치료를 시작한

후 48시간 이후에 발생하는 폐렴으로 정의된다. 기계환기 폐렴의 원인균들은 항생제에 높은 내성을 보이며, 따라서 기계환기폐렴에 이환된 경우에는 예후가 특히 불량하다<sup>4</sup>.

기계환기치료를 받는 환자에서 흉부 X선 검사에서 새로운 침윤이 발생하면서, 발열, 화농성 객담 및 백혈구증 다중이 동반되는 경우에 기계환기폐렴의 발생을 의심하게 되며, 원인균을 밝혀내기 위한 진단적 검사가 시행된다<sup>5</sup>. 하지만 다양한 질환들, 예를 들어 위액 흡인에 의한 화학적 폐장염, 폐부종, 폐허탈, 폐동맥혈전색전증, 급성호흡곤란증후군, 폐포출혈증후군 등의 질환들은 기계 환기폐렴과 유사한 방사선학적, 임상적, 검사실적 소견을 나타낼 수 있기 때문에 종종 기계환기폐렴으로 오인될 수 있다<sup>6</sup>.

기계환기폐렴의 원인균을 밝혀내기 위한 방법으로 혈액배양, 기관내 튜브 흡인액의 배양검사 등이 이용되지만,

이 논문은 2007년도 중앙대학교 학술연구비(일반연구비) 지원에 의한 것임.

Address for correspondence: Jae Yeol Kim, M.D.  
Department of Internal Medicine, Chung-Ang University Hospital, 224-1, Heukseok-dong, Dongjak-gu, Seoul 156-070, Korea  
Phone: 82-2-6299-1396, Fax: 82-2-825-7571  
E-mail: jykimmd@cau.ac.kr

Received: Dec. 24, 2007

Accepted: Feb. 4, 2008

혈액배양은 원인균이 배양되는 경우가 드물며, 기관내 튜브 흡인액은 튜브 안 쪽에 상존하는 균에 의한 오염의 가능성이 있다는 한계가 있다. 이런 오염 가능성을 줄이기 위해서 기관지 내시경을 통해서 기관지솔질(protected specimen brushing)<sup>7</sup> 또는 기관지폐포세척술(protected bronchoalveolar lavage)<sup>8,9</sup> 등의 방법이 동원되기도 하지만 중환자에게 기관지내시경을 시행하여야 한다는 위험성의 부담이 있으며, 정량적 배양을 따로 해야 하는 번거로움 때문에 아직까지는 널리 이용되지 못하는 실정이다.

기계환기폐렴도 다른 폐렴과 마찬가지로 원인균에 감수성이 있는 항생제의 조기투여가 예후를 결정한다<sup>10</sup>. 따라서 기계환기폐렴의 원인균을 신속하게 확인, 동정하는 것은 기계환기폐렴의 예후 개선에 있어서 가장 중요한 과제라고 할 수 있다. 본 연구에서는 기계환기폐렴에서 기관내튜브 흡인액을 이용하여 기계환기폐렴의 중요 원인균인 녹농균(*P. aeruginosa*), 폐렴막대균(*K. pneumoniae*) 그리고 메치실린내성 포도알균(MRSA)에 대한 multiplex PCR을 시행하였을 때 동정된 균을 세균 배양검사서 동정된 균과 비교하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상 환자

2005년 9월부터 2006년 8월까지 중앙대학교병원 내과 계중환자실에 입원하여 기계환기 치료를 받고 있는 환자들을 대상으로 전향적으로 연구를 진행하였다. 기계환기 치료를 받는 환자들의 흉부 X선 소견을 매일 오전에 확인하여, 흉부 X선에서 새로운 침윤이 관찰되면서 다음의 세 가지 기준들 즉, 1) 농성 객담의 발생, 2) 38°C 이상의 발열이나 36°C 이하의 저체온, 3) 백혈구증가증(>12,000/mm<sup>3</sup>) 또는 백혈구감소증(<4,000/mm<sup>3</sup>) 중에서 두 가지 이상의 조건을 만족하면 기계환기폐렴이 발생한 것으로 판단하였다. 기계환기폐렴이 발생한 것으로 판단되면 기관내튜브의 흡인액을 2회 채취하여 하나는 multiplex PCR 용으로 -20°C 냉동실에 보관하고, 나머지는 그람염색과 배양검사를 의뢰하였다. 이후에 해당 환자의 담당의에게 통보하여, 담당의의 판단에 따라 치료를 진행하도록 하였다. 대상 환자로 선택되면 폐렴이 발생한 당시의 인구학적 정보, 검사실 소견을 수집하였으며, 폐렴의 중증도를 APACHE III score를 통하여 계산하였다. 나중에 원인균이 배양되면, 초기에 사용된 항생제에 감수성이 있는 균인지를 확인하였으며, 대상환자의 최종 치료 성적을 확인하

였다.

### 2. Multiplex PCR

기계환기폐렴의 주요 원인균인 녹농균, 폐렴막대균 그리고 메치실린내성 포도알균의 세 균에 대하여 동시에 multiplex PCR을 시행하였다. 녹농균의 세포벽의 지질단백 부위인 oprL는 녹농균에 특이적이면서도 항생제 내성에 중요한 역할을 수행하여 이 부위에 대하여 primer를 선정하였으며<sup>11</sup>, 그 구조는 다음과 같다. Forward primer: 5'-ATGGAATGCTGAAATTCGGC-3', Reverse primer: 5'-CTTCTCAGCTCGACGCGACG-3'. 폐렴막대균에 특이적인 16S rRNA 부위에 대하여 primer 선정하였으며<sup>12</sup> 그 구조는 다음과 같다. Forward primer: 5'-AGCACAGAGAGCTTGC-3', Reverse primer: 5'-TGCGACGTTATCGGT-3'. 포도알균의 메치실린에 대한 내성은 페니실린결합 단백질의 PBP 2a에 의하여 주로 발생하며, *mec* gene complex는 PBP 2a의 합성에 중요하다<sup>13</sup>. 이 부위에 대한 primer를 제작하였으며, 그 구조는 다음과 같다. Forward primer: 5'-AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC-3', Reverse primer: 5'-AGTTCGAGTACCGGATTTGC-3'. PCR 과정은 94°C에서 5분간 배양한 후에 94°C, 30초(denaturing), 54°C, 30초(annealing), 72°C, 30초(extension)하였고, 총 35 cycle을 시행한 뒤 72°C에서 5분간 숙성하였다.

### 3. 통계 분석

생존군과 사망군 사이의 APACHE III score 차이는 독립적 T 검사로 검증하였고, 양군 간의 초기 항생제 사용 적절성에 따른 예후의 차이는 카이제곱검정을 이용하여 분석하였다. 통계프로그램은 SPSS 11.0을 이용하였으며, p value가 0.05 미만인 경우 통계적으로 의미가 있다고 판단하였다.

## 결 과

### 1. 대상 환자의 인구학적 및 검사실 소견

기계환기폐렴 환자는 총 24명으로 남자는 18명, 여자는 6명이었다. 나이는 70±11세였다. 모든 환자에서 기존질환을 하나 이상 가지고 있었으며 뇌질환이 7명, 만성폐쇄성폐질환이 3명, 악성종양이 3명, 심혈관질환이 3명, 당뇨가 3명, 기타가 7명이었다(Table 1). 폐렴이 발생할 당시 심박동수는 109±32/분으로 증가되어 있었으며, 혈액의

**Table 1. Demographic data and comorbidities of patients with ventilator-associated pneumonia**

M : F=18 : 6
Age=70±11
Comorbidities
CNS diseases: 7
COPD: 3
Malignancy: 3
Cardiovascular diseases: 3
DM: 3
Others: 7

CNS: central nervous system; COPD: chronic obstructive pulmonary disease; DM: diabetes mellitus.

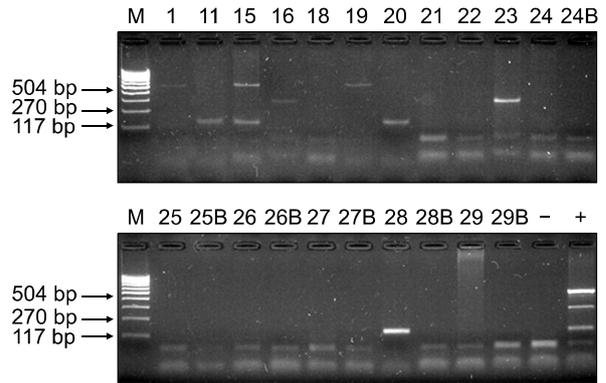
**Table 2. Microbiologic data of endotracheal aspirate fluid**

Gram stain	Culture
No bacteria: 6	No growth: 13
Single organism: 4	Pathogen cultured: 11
Gram positive cocci: 3	MRSA: 2
Gram negative rod: 1	<i>P. aeruginosa</i> : 2
Multiple organism: 14	<i>K. pneumoniae</i> : 1
	<i>S. pneumoniae</i> : 2
	<i>A. baumannii</i> : 1
	<i>E. coli</i> : 1
	<i>S. Maltophilia</i> : 1
	MSSA+ <i>S. agalctiae</i> : 1

백혈구수는 16,305±9,467/mm<sup>3</sup>으로 증가되었다. 폐렴 발생 당시의 APACHE III 점수는 62.9±25.2점이었다.

**2. 미생물학적 소견**

기관내튜브 혹은 기관절개술 튜브의 흡인액에 대한 그람염색에서 세균이 관찰되지 않은 경우는 6명이었고, 단일 균이 확인된 경우는 4예로 각각 그람양성구균 3예, 그람음성간균 1예였다. 그람양성구균과 그람음성간균이 복합적으로 확인된 경우는 14예였다. 흡인액의 세균배양검사에서 균이 배양되지 않은 경우는 13예였고, 원인균이 확인된 경우는 11예(45.8%)였다. 각 원인균을 살펴보면 녹농균 2예, 폐렴막대균 1예, 메치실린내성 포도알균 2예, 폐렴알균 2예, 아시네토박터 바우마니 1예, 대장균 1예, 스테노트로포모나스 말토펠라 1예였으며, 메치실린감수성 포도알균과 B군 시슬알균(*Streptococcus agalctiae*)가 동시에 배양된 경우가 1예였다(Table 2).



**Figure 1.** Multiplex PCR for MRSA, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*. Within 24 hours of the diagnosis of VAP, endotracheal aspirate was collected for multiplex PCR. Forward and reverse primers were designed to target the specific site of each pathogen (oprL gene for *P. aeruginosa*, 16S rRNA for *K. pneumoniae* and *mec* gene for MRSA). 504bp: *Pseudomonas aeruginosa*; 270bp: *Staphylococcus aureus* (MRSA); 117bp: *K. Pneumoniae*; M: 100bp marker; -: negative control; +: positive control.

**Table 3. Culture vs multiplex PCR**

	Culture positive (case number)	Multiplex PCR positive (case number)
MRSA	10, 17	16, 23
<i>P. aeruginosa</i>	1, 15	1, 15, 19
<i>K. pneumoniae</i>	28	11, 15, 20, 28

**3. Multiplex PCR**

폐렴막대균, 녹농균, 그리고 메치실린내성 포도알균에 대해서 multiplex PCR을 시행하였을 때, 폐렴막대균이 확인된 경우가 4예, 녹농균이 확인된 경우가 3예, 그리고 메치실린내성 포도알균이 확인된 경우가 2예였다(Figure 1). 배양검사와 multiplex PCR의 일치율을 확인해보면, 폐렴막대균이 배양된 1예는 multiplex PCR에서도 양성으로 나왔으나, multiplex PCR에서 배양에서 확인되지 않은 3예에서 양성으로 나타났다. 녹농균은 2예에서 배양이 되었으며 multiplex PCR에서는 3예가 양성으로 나타났다. 이 중에서 2예는 일치하였으나, 나머지 1예는 일치하지 않았다. 메치실린내성 포도알균은 배양에서 2예가 확인되었고, multiplex PCR에서 2예가 양성으로 나왔으나 서로 간에 모두 일치하지 않았다(Table 3).

Table 4. Pathogens, initial antibiotics, adequacy of antibiotics and final outcome

Pathogen	Initial antibiotics	Adequacy	Outcome
<i>P. aeruginosa</i>	Ceftazidime+amikin	Adequate	Improved
<i>P. aeruginosa</i>	Ceftriaxone+iseipacin	Inadequate	Improved
MRSA	Cravit	Inadequate	Died
MRSA	Vanco+imipenem	Adequate	Improved
<i>K. pneumoniae</i>	Cefotetan+clinda	Adequate	Improved
<i>E. coli</i>	Ciprofloxacin	Adequate	Improved
<i>S. pneumoniae</i>	Ceftriaxone+roxythromycin	Adequate	Improved
<i>S. pneumoniae</i>	Cdftriaxone+clindamycin	Adequate	Improved
<i>A. baumannii</i>	Ceftazidime+cravit	Inadequate	Died
<i>S. maltophilia</i>	Ceftriaxone+roxythromycin	Inadequate	Died
MSSA+ <i>S. agalactiae</i>	Ceftazidime+imipenem	Inadequate	Died

#### 4. 치료 결과

총 24명의 환자 중에 13명은 회복하였으나 11명은 사망하였다(사망률 45.8%). 회복한 환자와 사망한 환자의 APACHE III score는 각각  $41.7 \pm 17.1$ 과  $78.8 \pm 17.2$ 로 사망한 군에서 의미있게 높았다( $p < 0.05$ ). 기계환기폐렴의 원인균이 확인된 11예의 경우 중에서 초기에 투여된 항생제가 원인균에 감수성이 있었던 6명은 모두 회복하였으나, 초기에 투여된 항생제가 부적절하였던 5명 중에서 4명이 사망하였다( $p < 0.05$ )(Table 4).

#### 고 찰

기계환기폐렴은 중환자 치료 중에 발생하는 가장 심각한 합병증 중의 하나이다. 기계환기폐렴의 예후는 매우 불량하여, Ranes 등<sup>14</sup>에 의하면 1994년부터 2000년까지 기계환기폐렴으로 치료 받은 671명의 환자들을 분석한 결과 사망률이 42.3%였으며, 특히 균혈증이 동반된 경우에는 사망률이 거의 60%에 달하였다. 기계환기폐렴의 예후가 불량한 이유는 환자 대부분이 기존질환을 가지고 있으며, 중환자실 내에서 기계환기폐렴을 일으키는 원인 균주들이 항생제 내성을 보이는 경우가 많기 때문이다. 기계환기폐렴의 예후를 개선시킬 수 있는 가장 중요한 방법은 기계환기폐렴을 유발한 원인균이 감수성을 보이는 항생제를 초기에 투여하는 것이다. 실례로 Luna 등<sup>15</sup>에 의하면 기계환기폐렴 환자에게 초기에 적절한 항생제가 투여된 경우에는 사망률이 29.2%였으나, 적절한 항생제라도 투여 시기가 폐렴 발병 3일 후에 투여된 경우에는 사망률이 58.3%로 증가하였고, 초기 치료에 선택된 항생제가 부적절한 경우에는 사망률이 75%에 달하였다. 하지만 임상적

으로 폐렴의 원인균 및 항생제 감수성을 확인하는 전통적 방법인 배양법으로는 원인균이 확인되지 않는 경우가 많으며, 원인균이 확인된다 하여도 그 결과는 며칠이 지난 뒤에야 보고된다. 따라서 기계환기폐렴의 원인균을 신속히 동정하고, 원인균의 항생제 감수성을 일찍 확인할 수 있는 방법이 있다면 기계환기폐렴의 예후는 획기적으로 개선될 수 있을 것이다.

세균마다 그 균주에 고유한 부위가 존재하며, 이 부위에 대해 PCR을 시행하면 균주를 동정할 수 있다. 특히 PCR 법은 객담 내에 균이 소량이어서 배양이 되지 않는 경우에도 DNA 증폭을 통하여 균주를 동정할 수 있는 장점이 있다. 실례로 Stralin 등<sup>16</sup>에 의하면 지역사회폐렴 환자 235명의 객담 또는 비강 흡인물 등의 호흡기 검체에 대하여 폐렴알균, 인플루엔자폐렴균(*H. influenzae*), 폐렴미코플라스마균(*M. pneumoniae*) 그리고 클라미디아 폐렴균(*C. pneumoniae*)에 대하여 multiplex PCR을 시행한 결과 배양결과와 만족할 만한 일치를 보였다. 기계환기폐렴의 원인균을 살펴보면 보고에 따라 약간의 차이를 보이지만 녹농균 및 기타 그람음성간균(*Gram negative bacilli*) 그리고 메치실린내성 포도알균이 가장 중요한 원인균이라는 점에서 일치를 보인다<sup>17</sup>. 본 연구에서도 기관내투브의 흡인액에서 배양이 확인된 11명의 증례에서 녹농균이 2예, 기타 그람음성간균이 3예, 그리고 메치실린내성 포도알균이 2예로 기존의 보고와 비슷한 분포를 보였다(Table 2). 원인균 분포에서 특기할 점은 세 종류의 원인균은 각각 다른 조합의 항생제 치료가 필요하다는 점이다. 그람음성간균은 ceftazidime 또는 fluoro-quinolone 계통의 항생제를 투여하며, 녹농균은 ceftazidime, aminoglycoside, 또는 imipenem 계통의 항생제가 필요하다. 메

치실린내성 포도알균은 vancomycin 또는 teicoplanin 등의 항생제를 투여하여야 한다. 따라서 기계환기폐렴이 발생하였을 때 세 가지 중 어떤 것이 원인균인지를 조기에 파악하는 것은 임상적으로 매우 중요하다. 본 연구에서는 기계환기폐렴 환자의 기관내튜브 흡인액을 이용하여 위의 세가지 균에 대한 multiplex PCR을 시행함으로써 기계환기폐렴의 원인균을 조기에 동정하고자 하였다. 전통적인 배양법과 multiplex PCR의 결과를 비교해보면, 녹농균에 대해서 multiplex PCR은 배양법에서 확인된 2예와 합치되는 결과를 보였으며, 추가로 다른 1예에서도 양성으로 나타났다(multiplex PCR 민감도: 100%, 특이도: 67%). 폐렴막대균은 배양법에서는 1예가 검출되었으며, multiplex PCR에서는 배양에서 검출된 1예를 포함하여 총 4예에서 양성소견을 보였다(multiplex PCR 민감도: 100%, 특이도: 25%). 메치실린내성 포도알균에 대해서는 배양법과 multiplex PCR에서 일치되는 경우가 없었다(multiplex PCR 민감도: 0%, 특이도: 0%)(Table 3). 이상의 결과를 살펴보면 multiplex PCR은 메치실린내성 포도알균을 검출하는데에는 유용도가 떨어지나 녹농균이나 폐렴막대균 같은 그람음성간균의 검출에는 유용할 가능성이 있다. 다만 두 종류의 균 모두에서 배양 음성이었으나 multiplex PCR에서 양성으로 나온 경우가 있었다. 본 연구에서는 배양 결과를 기준으로 삼았기 때문에 multiplex PCR에서만 양성으로 나온 경우를 위양성으로 처리하였지만, 이 경우가 실제로 배양에서 실패한 원인균을 multiplex PCR에서 확인해낸 것인지 아니면 단순히 기관내튜브에 상존하는 균에 대해서 multiplex PCR이 양성을 나타낸 것인지는 결론을 내릴 수는 없다. 이 부분에 대한 연구는 기관지솔질(protected specimen brushing) 또는 기관지폐포세척술(protected BAL) 등의 방법을 통해 추후에 연구를 진행해야 결론을 내릴 수 있을 것으로 판단된다. 본 연구에서의 multiplex PCR의 성적을 살펴볼 때 multiplex PCR이 기계환기폐렴의 원인균 감별에 도움이 될 가능성은 있으나, 특이도면에서는 기대에 미치지 못하기 때문에 아직까지는 실제로 임상에서 이용하기는 부족하다고 판단된다.

본 연구에서는 기존의 보고에서와 마찬가지로 기계환기폐렴 초기에 선택된 항생제의 적절성이 환자의 예후를 좌우하였다. 적절한 항생제가 투여된 환자 6명은 모두 생존하였으나, 부적절한 항생제가 투여된 환자는 5명 중에 1명만이 생존하였다(Table 4). 이상의 결과를 살펴보면 기계환기폐렴의 치료 성적을 좌우하는 가장 중요한 요소는 역시 적절한 항생제의 투여여부라고 판단할 수 있다.

본 연구에서는 기관내튜브 흡인액을 모아서 한꺼번에 multiplex PCR을 시행했기 때문에, PCR 결과가 치료제의 선택에 대한 정보를 제공하지는 못하였다. 이 방법의 정확성이 높아진다면 multiplex PCR법의 시행이 실제 기계환기폐렴의 예후를 개선하는지 여부에 대한 추후 연구가 필요할 것으로 사료된다.

APACHE score법은 환자의 나이, 이학적검사 소견, 의식수준, 검사실 소견, 기존질환 등에 점수를 부여하여 총점으로 질병의 중증도를 평가하는 방법이다<sup>18,19</sup>. APACHE III score는 기존의 APACHE II score 법의 단점을 보완하여 원인질환과 치료 장소를 포함하여 총점을 산출한다<sup>20</sup>. 기계환기폐렴 발생 당시의 APACHE III score를 살펴보면 사망군은 78.8±17.2, 생존군은 41.7±17.1로 사망군에서 의미있게 높은 수치를 나타내었다. 따라서 기계환기폐렴의 예후는 진단 당시의 중증도에 의해 결정된다는 사실을 본 연구에서 다시 한 번 확인할 수 있었다.

본 연구에서 시도된 multiplex PCR은 특이도면에서 제한점을 보였으나 기계환기폐렴의 원인균을 조기에 검출할 수 있는 드문 수단으로서 그 가능성에 대한 연구는 향후에도 계속 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## 요 약

**연구배경:** 기계환기폐렴의 원인균을 조기에 진단하면 이 질환의 예후를 개선할 수 있다. 본 연구에서는 기관내튜브 흡인액을 이용하여 기계환기폐렴의 주된 원인균인 녹농균, 폐렴막대균 그리고 메치실린내성 포도알균에 대한 multiplex PCR법을 시행하여 기계환기폐렴의 원인균을 조기에 진단할 수 있는지 살펴보았다.

**방 법:** 기계환기폐렴으로 진단된 환자에서 24시간 이내에 기관내튜브 흡인액을 채취하여 -20°C 냉동실에 보관하였고, 추후에 multiplex PCR을 시행하였다. Forward & reverse primer는 각각의 원인균에 특이한 부위에 맞춰서 제작하였다(녹농균의 *oprL* gene, 폐렴막대균의 16S rRNA, 메치실린내성 포도알균의 *mec* gene). 기관내튜브 흡인액의 배양검사를 포함한 기계환기폐렴 환자의 임상적 및 검사실 소견을 함께 분석하였다.

**결 과:** 총 24명(남자 18명, 여자 6명)의 기계환기폐렴 환자가 연구에 포함되었다. 나이(평균±표준편차)는 70±11세였다. 모든 환자는 기저질환을 가지고 있었다. 기관내튜브 흡인액의 배양에서 11명에서 원인균이 검출되었다(녹농균 2예, 폐렴막대균 1예, 메치실린내성 포도알

균 2예, 기타 그람음성간균 3예, 폐렴알균 2예, 복합감염 1예). 녹농균에 대한 multiplex PCR은 3예에서 양성인 나왔으며, 2예가 배양결과와 일치하였다. 폐렴막대균에 대해서는 4예에서 양성이었으며, 1예가 배양결과와 일치하였다. 메치실린내성 포도알균은 2예에서 양성이었으나, 모두 배양결과와 일치하지 않았다. 기계환기폐렴의 예후는 적절한 항생제의 사용 여부와 폐렴 발생 당시의 APACHE III score에 영향을 받았다.

**결 론:** 기관내튜브 흡인액을 이용한 multiplex PCR법은 기계환기폐렴에서 그람음성균의 진단에는 가능성을 보였으나, 향후 실제 유용성에 대해서는 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Craven DE, Palladino R, McQuillen DP. Healthcare-associated pneumonia in adults: management principles to improve outcomes. *Infect Dis Clin North Am* 2004; 18:939-62.
- American Thoracic Society; Infectious Disease Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:388-416.
- Rosenthal VD, Guzman S, Migone O, Safdar N. The attributable cost and length of hospital stay because of nosocomial pneumonia in intensive care units in 3 hospitals in Argentina: a prospective, matched analysis. *Am J Infect Control* 2005;33:157-61.
- Craven DE, Steger KA. Epidemiology of nosocomial pneumonia. New perspectives on an old disease. *Chest* 1995;108:1S-16S.
- Meduri GU. Diagnosis and differential diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Clin Chest Med* 1995;16: 61-93.
- Andrews CP, Coalson JJ, Smith JD, Johanson WG Jr. Diagnosis of nosocomial bacterial pneumonia in acute, diffuse lung injury. *Chest* 1981;80:254-8.
- Meduri GU, Chastre J. The standardization of bronchoscopic techniques for ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1992;102:557S-64S.
- Baselski VS, el-Torky M, Coalson JJ, Griffin JP. The standardization of criteria for processing and interpreting laboratory specimens in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1992;102:571S- 9S.
- Moon DS, Lim CM, Pai CH, Kim MN, Chin JY, Shim TS, et al. Study for diagnostic efficacy of mini-bronchoalveolar lavage in the detection of etiologic agents of ventilator-associated pneumonia in patients receiving antibiotics. *Tuberc Respir Dis* 1999;47:321-30.
- Porzecanski I, Bowton DL. Diagnosis and treatment of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2006;130:597-604.
- Duan K, Lafontaine ER, Majumdar S, Sokol PA, RegA, iron, and growth phase regulate expression of the *Pseudomonas aeruginosa* tol-oprL gene cluster. *J Bacteriol* 2000;182:2077-87.
- Pingle MR, Granger K, Feinberg P, Shatsky R, Sterling B, Rundell M, et al. Multiplexed identification of blood-borne bacterial pathogens by use of a novel 16S rRNA gene PCR-ligase detection reaction-capillary electrophoresis assay. *J Clin Microbiol* 2007;45:1927-35.
- Ito T, Kuwahara K, Hiramatsu K. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCC mec) analysis of MRSA. *Methods Mol Biol* 2007;391:87-102.
- Ranes JL, Gordon SM, Chen P, Fatica C, Hammel J, Gonzales JP, et al. Predictors of long-term mortality in patients with ventilator-associated pneumonia. *Am J Med* 2006;119:897.e13-9.
- Luna CM, Aruj P, Niederman MS, Garzon J, Violi D, Prignoni A, et al. Appropriateness and delay to initiate therapy in ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J* 2006;27:158-64.
- Stralin K, Tornqvist E, Kaltoft MS, Olcen P, Holmberg H. Etiologic diagnosis of adult bacterial pneumonia by culture and PCR applied to respiratory tract samples. *J Clin Microbiol* 2006;44:643-5.
- Rello J, Lorente C, Diaz E, Bodi M, Boque C, Sandiumenge A, et al. Incidence, etiology, and outcome of nosocomial pneumonia in ICU patients requiring percutaneous tracheotomy for mechanical ventilation. *Chest* 2003;124:2239-43.
- Cowen JS, Kelley MA. Errors and bias in using predictive scoring systems. *Crit Care Clin* 1994;10:53-72.
- Escarce JJ, Kelley MA. Admission source to the medical intensive care unit predicts hospital death independent of APACHE II score. *JAMA* 1990;124:2389-94.
- Knaus WA, Wagner DP, Draper EA, Zimmerman JE, Bergner M, Bastos PG, et al. The APACHE III prognostic system: risk prediction of hospital mortality for critically ill hospitalized adults. *Chest* 1991;100:1619-36.