J. Exp. Biomed. Sci. 2011, 17(4): 355~361

Evaluation of Urinary Antigen Test for Rapid Diagnosis of *Streptococcus pneumoniae* in Community-Acquired Pneumonia Patients

Mi Young Yu[1], In Sik Kim[2], Sang Sun Kang[3], Beong Hun Cha[4] and Sung-hee Hyun[2,†]

[1]Department of Laboratory Medicine, Eulji University Hospital, Daejeon 302-799, Korea
[2]Department of Biomedical Laboratory Science, School of Medicine, Eulji University, Daejeon 301-746, Korea
[3]Department of Biology Education, Chungbuk National University, 410 Seongbong Road, Heungdok-gu, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea
[4]Department of Biomedical Laboratory Science, College of Health Sciences, Eulji University, Seongnam, Gyeonggi-do 461-713, Korea

We evaluated the performance of the NOW *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test, standard culture and polymerase chain reaction for detecting *S. pneumoniae*. The urinary antigen test of pneumonia patients represented sensitivity at 72% and specificity at 79%. The results of PCR were targeting for autolysin (*lyt*A), pneumolysin (*ply*), and *spn*9828. The *lyt*A sensitivity and specificity stood at 56% and 87% respectively while *ply* sensitivity reported 83% and specificity was 47%, sensitivity and specificity of *spn*9828 stood at 83% and 73% respectively. The results of urinary antigen test and three genes were all statistically meaningful within $P<0.05$. When the urinary antigen test of *S. pneumoniae* was positive, the three kinds of genes were also likely to be positive. According to the result of urinary antigen test, the results of PCR presented a meaningful difference ($P<0.05$). Especially, the urinary antigen test of *S. pneumoniae* was likely to be positive ($P<0.05$) when more than two genes were positive in PCR results.

Key Words: Pneumonia, *Streptococcus pneumoniae*, Urinary antigen, *lyt*A, *ply*, *spn*9828

서 론

폐렴사슬알균 (*Streptococcus pneumoniae*)은 지역사회 획득폐렴 (Community-Acquired Pneumonia, CAP)의 가장 흔한 원인균으로 1881년 사람의 타액에서 Sternberg와 Pasteur에 의해 분리되었다. Frunkel에 의해서 대엽성 폐렴의 원인균이며 특히 중이염, 수막염, 패혈증 등의 증상을 일으키고 인간의 전 연령층에서 이환 및 사망의 원인이 되고 있다 (Jaffar et al., 1999). 폐렴사슬알균은 쌍알균의 배열을 하고 있으며 특징적으로 란셋모양을 하고 있고 특이한 협막 항원을 가지고 있다. 협막은 복잡한 다당체로 구성되어 있고 다당체는 항원성이 있으며 폐렴사슬알균을 혈청형으로 분류하는 기준이 되고 있다 (Bruny et al., 1992). 세포벽은 펩티도글리칸 (peptidoglycan), 테이코산 (teichoic acid)으로 구성되어 있으며, 테이코산은 2가지 형태로 존재하며 한 개는 세포 표면에 노출되어 있고 다른 한 개는 세포막 지질에 공유결합 되어 있다. 노출된 테이코산은 펩티도글리칸 층에 연결되어 바깥쪽의 협막을 통과해서 뻗어 있으며 이 구조의 화학적 성분은 종특이적이고, C-다당체 (C-polysaccharide)라고 불린다. 그러나 Lancefied가 β-용혈 폐렴사슬알균에서 분류한 군 특이 다당체 (group specific polysaccharide)와는 연관이 없다 (Bruny et al., 1992).

정상인의 40~60%는 폐렴사슬알균 보균자로서 대부분의 세균은 병원성이 약하며 보균상태도 영구적이 아니라 산발적이며 간헐적인 것이 특징이다. 또한 폐렴사슬알균은 호흡기를 통하거나 맥관 계통에 의해서 확산되며 신체의 다른 부위로 이동하여 노약자 또는 면역저하 환자에서 폐렴, 이하선염, 결막염, 복막염, 중이염, 부비동염, 심내막염, 패혈증 및 뇌막염 등을 일으킨다고 알려져 있다 (Health, 2000). 그러므로 적절한 치료를 신속히 수행하

*접수일: 2011년 12월 9일 / 수정일: 2011년 12월 31일
채택일: 2011년 12월 31일
†Corresponding author: Sung-hee Hyun, Department of Biomedical Laboratory Science Eulji University, School of Medicine #143-5, Yongdu-dong, Jung-gu, Daejeon 301-746, Korea.
Tel: +82-42-259-1751, Fax: +82-42-259-1759
e-mail: hyunsh@eulji.ac.kr

는 것이 중요하고 이를 위해서는 빠른 시간 내에 원인균을 동정하는 것이 필요하다.

폐렴사슬알균의 동정은 배양법에 기초한 생화학적 검사와 혈청학적 시험으로 수행되어 왔다. 하지만 폐렴사슬알균은 까다로운 영양 요구 조건을 가지며 오염된 구강 세균에 의해 신속하게 웃자람을 당하기 때문에 폐렴 환자의 50%에서만 분리되고, 단 1회 항생제를 투여 받은 감염 환자의 50%에서 배양소견이 음성으로 나온다는 보고들이 있다. 그러므로 이와 같은 전통적인 진단 검사법으로 폐렴의 원인균을 정확히 검출하는 것은 쉽지 않다 (Murdoch, 2004). 또한 optochin 감수성 검사, 담즙용해능 시험 (bile solubility), 공동응집시험 (coagglutination) 등의 검사 방법이 사용되어 왔으나 많은 환자에서 분리되는 폐렴사슬알균은 한 종류 이상의 진단 검사법에 대해 비정형 반응을 보이며 *S. mitis*와 *S. oralis* 등의 구강사슬알균 (oral *Streptococcus*)도 이러한 시험에서 유사한 결과를 보이므로 정확한 동정에 어려움이 있다 (Philips et al., 1988).

폐렴사슬알균의 검출을 위한 다른 방법으로는 분자생물학적 진단 검사법인 중합효소연쇄반응 (polymerase chain reaction, PCR)이 이용되고 있다. 중합효소연쇄반응을 이용한 폐렴연쇄구균의 검출과 관련된 많은 연구들이 진행되어 다양한 분자진단방법이 발달되어 왔고 최근 임상 검체에서 직접 폐렴사슬알균을 검출할 수 있는 DNA 탐침법 (DNA probe test), 고리매개등온증폭법과 (loop mediated isothermal amplication method), 실시간 중합효소연쇄반응 (real time PCR)을 포함한 여러 분자분석 방법이 개발되었다 (Suzuki et al., 2006). 중합효소연쇄반응은 높은 민감성과 특이성으로 원인균을 검출할 수 있어 폐렴알균성 폐렴 (pneumococcal pneumonia) 진단에 이용이 가능하지만 검사가 복잡하며 숙련된 검사자가 검사해야 한다는 단점이 있다. 또한 검사실에서 일상적으로 사용하기에는 아직까지 비용이 많이 들기 때문에 기존의 진단 방법을 대체하기 보다는 추가 혹은 보조 검사로서 주로 이용되고 있다. 폐렴사슬알균은 지역사회획득폐렴의 중요한 원인균임에도 불구하고 진단검사 방법이 확실하게 정립되지 않아 폐렴알균성 폐렴의 진단이 불확실하여 적절한 치료를 신속히 수행하고 항생제 투여 여부를 결정하는데 어려움이 있다 (David et al., 2001).

최근에는 채취하기 쉬운 소변으로 검사가 가능하고 검사 과정이 간편하며 15분 안에 결과가 제공되는 검사가 실시되고 있다. 면역 크로마토그래피 시험인, NOW *S. pneumoniae* urinary antigen test (Binax, Inc., Portland, Maine, USA)는 폐렴사슬알균이 폐에서 파괴되어 C-다당체 세포벽 항원이 혈액을 통하여 신장에서 농축되고 소변으로 배출되는데 이 때 배출되는 C-다당체 세포벽 항원을 검출하는 방법이다. 이 검사법은 모든 폐렴사슬알균의 C-다당체 세포벽 항원을 검색할 수 있고 검사 전 항생제 치료에도 영향을 받지 않는다 (David et al., 2001). 국내에서는 현재까지 폐렴의 원인균을 대부분 배양 등의 전통적인 방법으로 밝혀왔으며 다른 검사법을 이용한 연구가 많지 않아 본 연구에서는 폐렴연쇄구균 소변항원검사에서 항원이 검출되는 사례에 대한 의의를 알아보고자 전통적 진단 검사 방법인 배양법과 최근 이용되고 있는 중합효소연쇄반응법을 비교분석하였다.

대상 및 방법

연구대상

2008년 1월부터 2009년 4월까지 호흡기 관련 질환으로 대전시의 대학병원을 내원한 1,792명 중 폐렴사슬알균 소변항원검사와 동시에 객담배양검사를 수행한 1,147명을 대상으로 실시하였다. 그 중 폐렴사슬알균 소변항원검사가 양성인 환자 15명, 음성인 환자 18명의 객담을 채취해 중합효소연쇄반응을 실시하였다.

배양 및 동정

혈액한천배지 (blood agar plate) (Asan, Seoul, Korea)에 객담의 농성부분을 선택하여 접종하고 37℃, 5~10%의 CO_2 배양기에서 48시간 동안 배양하였다. 특징적인 집락이 관찰되면 그람 염색과 optochin 감수성 검사, 카탈라제 시험 등을 시행하여 확인하였고 최종적으로 Vitek II ID-GP Card (Biomerieux, Durhan, NC, USA)를 이용하여 균주를 동정하였다.

폐렴사슬알균 소변항원검사

뇨 검체 중 가용성 폐렴알균성 항원은 폐렴사슬알균 소변항원검사 (NOW *S. pneumoniae* urinary antigen test) (Binax Inc., Maine, USA)법을 이용하였다. 뇨 검체에 폐렴알균성 항원이 존재하면 항-폐렴사슬알균 항체와 반응하여 결합하고 항원 결합 복합체는 항-폐렴사슬알균 항체를 포획하여 양성의 검사선을 형성한다. 시험결과는 15분 이내에 관찰하였으며, 양성결과는 검사선과 대조선 모두에서 양성으로 관찰된다. 대조선이 음성으로 검출되는 경

Table 1. Design of primer sequences for PCR

Gene	Primer sequence
*lyt*A forward	5'-CAA CCG TAC AGA ATG AAG CGC-3'
*lyt*A reverse	5'-AGC CTG TAG CCA TTT CGC CTG AG-3'
ply forward	5'-CAG CCT CTA CTT CAT CAC TCT TAC-3'
ply reverse	5'-CTG TAA CAG CTA CCA ACG ACA GTC-3'
*spn*9828 forward	5'-GGT ATC TTC TAA GTA TGC TGC AAG-3'
*spn*9828 reverse	5'-TCA TGT GCA TCC CAA ACA-3'

우는 재검을 실시하였다.

중합효소연쇄반응

객담 검체에 동량의 4% NaOH를 첨가하고 5~20초 진탕하여 액화시켰다. 15분간 실온에 방치한 후 13,000 rpm으로 10분간 원침하여 상층액을 제거하였다. 핵산추출은 genomic DNA extraction kit (Real Biotech Corporation, Banqiao, Taiwan)를 이용하여 시행하였다. 추출한 DNA는 1.5 ml 튜브에 넣어 실험기간 동안 -20℃에서 보관하면서 사용하였다. Primer는 (주)제노텍 (Daejeon, Korea)에 의뢰하여 폐렴사슬알균의 특이적인 유전체 부위로 알려진 autolysin (*lyt*A), pneumolysin (*ply*), *spn*9828 유전자를 표적으로 제작하였다. 제작한 primer는 5 pmol의 농도로 사용하였고 각 primer의 염기서열은 Table 1과 같다 (Suzuki et al., 2006). 검체로부터 추출한 DNA 3 μl, PCR premix (Elpisbiotech, Taejeon, Korea) 4 μl, primer 각 2 μl, D.W. 11 μl를 혼합하여 Mastercycler Gradient 5331 (Eppendorf, Hamburg, Germany)을 사용하여 폐렴사슬알균 특이 유전자 부위를 증폭하였다. 중합효소연쇄반응 조건은 94℃에서 1분간 1회 변성시키고, 94℃에서 1분, 57.5℃에서 1분, 72℃에서 1분간의 반응을 35회 반복하여 증폭한 후 최종적으로 72℃에서 5분간 반응하여 증폭하였다. 전기영동은 전자동 시스템인 screen tape system (Lab901 Ltd., Edinburgh, UK)으로 110 V의 조건에서 16분 동안 전기영동하여 증폭 유무 및 크기를 관찰하였다. *lyt*A는 640 bp, *ply*는 610 bp, *spn*9828은 230 bp에서 밴드가 확인되면 양성으로 판정하였다 (Fig. 1).

통계처리

모든 자료는 Window용 SPSS Ver.11.5 통계프로그램을 이용하여 정리하였고 연속변수의 비교는 *T*-test, 명목변수의 비교는 카이제곱 검정 (Pearson's chi-square test)을 이용하였다. 모든 통계처리의 유의도는 $P<0.05$ 수준에서 검정하였다.

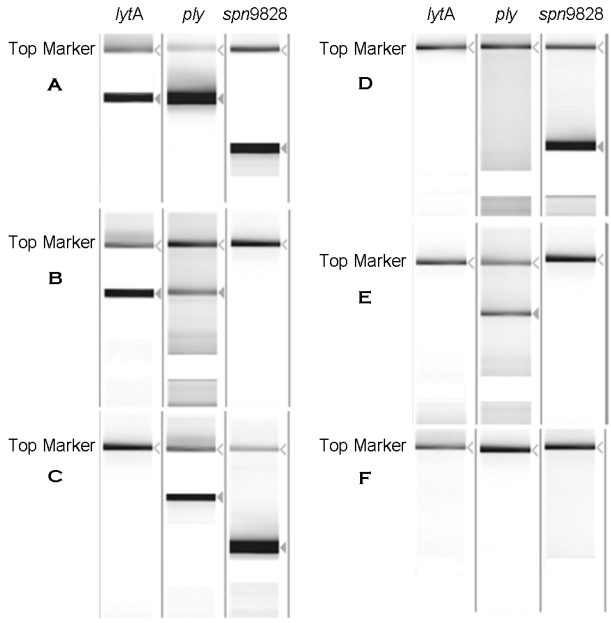

Fig. 1. PCR results of *S. pneumoniae lyt*A (640 bp), *ply* (610 bp), *spn*9828 (230 bp) gene in sputum on screen tape system.
A; *lytA/ply/spn*9828 (+/+/+), B; *lytA/ply/spn*9828 (−/−/+), C; *lytA/ply/spn*9828 (+/+/−), D; *lytA/ply/spn*9828 (−/+/−), E; *lytA/ply/spn*9828 (−/+/+), F; *lytA/ply/spn*9828 (−/−/−)

Table 2. Presentations of patients

Presentations	No. of patients (%)
Total	1,792
Urinary antigen tests and sputum culture performed	1,147
Patients with positive urinary antigen test result	69
Pneumonia	56 (81%)
Others	13 (19%)
Patients with negative urinary antigen test result	69
Pneumonia	22 (32%)
Others	47 (68%)

결 과

폐렴사슬알균 객담배양검사와 소변항원검사의 비교

1,147명의 객담 검체 중 5검체에서 폐렴사슬알균이 배양되었으며, 1,142검체에서는 폐렴사슬알균이 배양되지 않았다. 소변항원검사에서는 1,147명의 검체 중 69검체는

양성, 1,078검체는 음성으로 검사되었다 (Table 2). 소변항원검사가 양성인 69명 중 폐렴 환자는 56명, 만성 폐쇄성 폐질환 7명, 결핵 2명, 그 외의 질병은 4명이었다. 소변항원검사가 음성인 환자 978명 중 무작위 69명에서 폐렴 환자는 22명, 결핵 8명, 폐암 8명, 폐렴알균성 폐렴이 아닌 세균성 폐렴 7명 등 이였다 (Table 3). 폐렴사슬알균 소변항원검사 음성 1,078검체 중 1,075검체는 폐렴사슬알균 배양검사에서도 음성, 소변항원검사 양성 69검체 중 2검체는 폐렴사슬알균 배양검사에서 양성으로 판정되었다 (Table 4).

폐렴사슬알균 소변항원검사와 중합효소연쇄반응의 비교

소변항원검사가 양성인 환자 15명, 음성인 환자 18명의 객담 검체에서 중합효소연쇄반응을 시행한 결과 소변항원검사가 양성인 검체 15건에서 *lyt*A/*ply*/*spn*9828가 모두 양성 (+/+/+)인 것은 10건, −/+/+은 5건이었다. 소변항원검사가 음성인 검체 18건에서 *lyt*A/*ply*/*spn*9828가 모두 양성 (+/+/+)인 것은 1건, +/+/−은 1건, −/−/+은 1건, −/+/+은 2건, −/+/−은 4건, 모두 음성 (−/−/−)인 것은 9건이었다. 폐렴 환자 18명 중에서 *lyt*A가 양성인 경우는 10건, *ply*가 양성인 경우는 15건, *spn*9828이 양성인 경우는 19건이였다. 폐렴 환자가 아닌 15명 중에서 *lyt*A가 음성인 경우는 13건, *ply*가 음성인 경우는 7건, *spn*9828이 음성인 경우는 11건이였다 (Table 5). 소변항원검사가 음성인 18검체 중 *lyt*A가 음성인 경우는 16건, *ply*가 음성인 경우는 10건, *spn*9828이 음성인 경우는 14건이였다. 소변항원검사가 양성인 15검체 중 *lyt*A가 양성인 경우는 10건, *ply*가 양성인 경우는 15건, *spn*9828이 양성인 경우는 15건이였다 (Table 6).

폐렴사슬알균 소변항원검사 결과에 따른 중합효소연쇄반응 결과의 변화

폐렴사슬알균 소변항원검사 결과에 따라 중합효소연쇄반응의 결과는 유의한 차이가 있었으며 (P<0.05) 중합효소연쇄반응에서 2가지 유전자 이상 양성일 때 폐렴사

Table 3. Chi-Square test of clinical presentation and *S. pneumoniae* urinary antigen test

		Clinical presentation		Total
		Pneumonia	Others	
Urinary antigen tset	Negative	22	47	69
	Positive	57	12	69
Total		79	59	138

Table 4. Chi-Square test of the sputum culture and *S. pneumoniae* urinary antigen test

		No growth	Growth	Total
Urinary antigen test	Negative	1,075	3	1,078
	Positive	67	2	69
Total		1,142	5	1,147

Table 5. Chi-Square test of the clinical presentation and sputum PCR

Clinical presentation	PCR					
	*lyt*A*		*ply*		*spn*9828*	
	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive
Pneumonia	8	10	3	15	3	15
Others	13	2	7	8	11	4
Total	21	12	10	23	14	19

*, P<0.05.

Table 6. Chi-Square test of the sputum PCR and *S. pneumoniae* urinary antigen test

Urinary antigen test	PCR					
	*lyt*A		*ply*		*spn*9828	
	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive
Negative	16	2	10	8	14	4
Positive	5	10	0	15	0	15
Total	21	12	10	23	14	19

Table 7. Variation of PCR results by *S. pneumoniae* urinary antigen test

		Number (%) of the genetic type positive				
		0	1	2	3	Total
Urinary antigen test	Negative	9 (50)	5 (28)	3 (17)	1 (6)	18
	Positive	0	0	5 (33)	10 (67)	15

슬알균 소변항원검사가 양성일 확률이 높았다 (P<0.05) (Table 7).

고 찰

폐렴사슬알균 (*S. pneumoniae*)은 지역사회획득폐렴의 가장 흔한 원인균으로 세균성 감염증에 대한 다양한 항균제의 개발에도 불구하고 감염 시에 치사율이 높은 중요한 병원체로 최근에는 penicillin 약제에 내성을 나타내어 문제가 되고 있는 균이다 (Cheong et al., 2001). 폐렴사슬알균은 감염되었을 때 적절한 진단과 치료가 이루어지지 않으면 폐렴, 균혈증, 복막염 및 뇌수막염 등의 침습성 질환과 중이염 등의 국소 감염 등으로 이어질 수 있다 (Park et al., 1994). 이런 폐렴알균성 폐렴의 임상 미생물학적 진단은 기관지 폐포 세척액, 기관지경 검사에 의한 검체, 흉강 세침 흡입에서 얻는 침습적 호흡기 가검물에서 폐렴균을 배양하여 분리하는 것이 가장 좋은 방법이다. 그러나 침습적 호흡기 가검물을 얻기 위해서는 전문적인 교육훈련을 받은 전문가가 필요하고 부작용이 일어날 수 있기 때문에 자주 사용되지 않고 비교적 채취가 간편한 객담이 주로 사용된다 (Ruiz-Gonazalez et al., 1997). 그러나 배양검사의 정확한 결과를 얻기 위해서는 하기도 객담을 사용해야 하지만 환자의 증상이 객담을 동반하지 않을 경우에는 객담의 채취가 어려워진다.

폐렴사슬알균의 배양검사는 24~48시간이 소요되며, 배양된 세균의 동정은 optochin 감수성 검사, 담즙용해능 시험 (bile solubility), 공동응집반응 검사 (coagglutination) 등의 상품화된 면역학적 방법이 필요하며 마지막 세균의 동정까지 총 48~72시간이 소요된다 (David et al., 1992). 그럼에도 불구하고 세균배양검사는 양성률이 낮으며 특히 혈액 (blood)이나 흉수액 (pleural fluid)에서 분리할 경우 양성률이 15~30%이고, 검사가 용이한 객담검사는 구강 정상균의 오염으로 특이도가 더욱 낮아진다 (Burman et al., 1991). 또한 지역사회획득폐렴 환자의 30% 정도가 입원 전에 항생제 치료를 받기 때문에 일반적인 검사 방법의 민감도는 더욱 낮아진다 (Fine et al., 1991).

폐렴 환자의 소변에서의 폐렴알균 항원의 검사는 1917년 최초로 기술되었다 (Dochez and Avery, 1917). 소변에서의 폐렴알균 항원 (capsular polysaccharides)의 탐지는 교차면역전기영동법 (counter immunoelectrophoresis), 라텍스 응집, 공동응집, 효소면역측정법 (enzyme-linked immunosorbent assay)을 포함한 여러 가지 기술을 사용해 광범위하게 연구되었다 (Boersma et al, 1991; Rosario et al., 1991). 하지만 체액에만 국한되어 있거나 단일 혈청형만 검출하기 때문에 진단 검사로 사용되기에 유용하지 못하였다. 그러나 최근 실시되고 있는 면역크로마토그래피 검사인, 폐렴사슬알균 소변항원검사는 폐알균성 감염의 90% 이상을 차지하는 23개 혈청형을 포함한 모든 폐렴알균의 C-다당체 세포벽 항원을 검출할 수 있고 이전의 항생제 처방에도 영향을 받지 않는다고 하였다 (Dominguez et al., 2001). 또한 교차반응에 의한 위양성은 아직 보고되지 않았고 C-다당체는 종 특이적이므로 *S. mitis*, *S. oralis* 등의 구강사슬알균 (oral *Streptococcus*)과 구분될 수 있으며 (Sorensen and Henrichsen, 1987) C-다당체를 가지고 있는 것으로 알려진 *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*의 감염은 폐렴 환자와 구분된다 (Gutierrez et al., 2003). 본 연구에서 1,147건의 검체로부터 객담배양검사와 폐렴사슬알균 소변항원검사 비교결과 P<0.05으로 통계적으로 유의하였다 (Table 2).

Ercis 등 (2006)의 연구에 의하면 혈액배양검사를 기준으로 소변배양검사의 민감도는 72.7%, 특이도는 97.6%라고 하였다. Murdoch (2004)의 연구에서도 민감도는 80%, 특이도는 97%라고 하였다. 본 연구에서는 객담배양검사를 기준으로 특이도는 94%, 민감도는 40%이였다. 민감도가 다른 연구에 비해 낮은 이유는 대상 검체가 혈액이 아닌 객담이었고 폐렴사슬알균의 배양 조건이 까다롭고 다른 상재균이 많이 존재할 경우 검출하지 못했을 가능성이 있으므로 객담배양검사의 양성률이 적다. 이러한 이유로 이전 연구들이 후향적 연구인 점에 비해 본 연구는 전향적 연구가 될 수 있다. 폐렴 환자에서의 소변항원검사의 민감도는 72%, 특이도는 79%이였고 통계적으로도 유의하였다 (P<0.05) (Table 3, 4). Gutierrez (2003)와 Erics

등 (2006)의 연구에 의하면 소변항원검사의 민감도는 64~86%, 특이도는 95~98.8%라고 하여 본 연구는 다른 연구들에 비해 특이도가 낮게 나타났다. 폐렴사슬알균을 검출하기 위한 분자진단방법은 autolysin, pneumolysin, 폐렴알균 표면 항원 A (surface antigen A), 망간 의존 과산화억제효소 (manganese-dependent superoxide dismutase), 페니실린 결합 단백질 (penicillin-binding protein)을 포함한 폐렴알균성 독성인자를 주요 표적으로 한다 (McAvin et al., 2001; Corless et al., 2001). 그 중 autolysin, pneumolysin은 폐렴사슬알균의 선별에 이용되어 왔지만 폐렴사슬알균의 독성인자인 autolysin, pneumolysin을 암호화하는 유전자가 *S. mitis*, *S. oralis* 등의 구강사슬알균 (oral *Streptococcus*)과 유사하다는 연구가 있다 (Whatmore et al., 2000).

최근 연구에 의하면 폐렴사슬알균에 더욱 특이적인 유전자인 *spn*9808, *spn*9828은 *lyt*A, *ply* 등을 함께 검출하면 유용하다는 연구보고가 있으며 (Suzuki et al., 2005) 본 연구에서는 *lyt*A, *ply*, *spn*9828을 표적으로 중합효소연쇄반응을 실시하였다. 그 결과 폐렴 환자에서의 *lyt*A의 민감도는 56%, 특이도는 87%, *ply*의 민감도는 83%, 특이도는 47%, *spn*9828의 민감도는 83%, 특이도는 73%였다. *ply*의 민감도가 낮은 이유는 다른 구강사슬알균까지 검출되었기 때문으로 사료된다. 폐렴사슬알균 소변항원검사와 *lyt*A, *ply*, *spn*9828 유전자는 모두에서 $P<0.05$ (Table 4)로 통계적으로 유의하여 폐렴사슬알균 소변항원검사가 양성일 때 *lyt*A, *ply*, *spn*9828 유전자가 각각 양성일 확률이 높았다. 또한 *lyt*A, *ply*, *spn*9828 유전자가 2가지 이상 양성일 때 폐렴사슬알균 소변항원검사가 양성일 확률이 높았다 (Table 5). Nao Suzuki 등 (2006)의 연구에 의하면 폐렴 환자에서 *lyt*A, *ply*, *spn*9828이 +/+/+이거나 *lyt*A, *ply*, *spn*9828이 +/+/−일 확률이 높았다고 하여 본 연구의 결과와 일치하였다 (Table 6, 7). 그러므로 폐렴이 의심되는 환자에서 분자진단방법을 사용할 경우는 *lyt*A, *ply*, *spn*9828 중 두 가지 이상의 유전자 검사를 실시하는 것이 유용할 것으로 사료된다.

분자진단방법은 배양법에 비해 민감도가 높고 신속한 진단이 가능하며 항생제 사용에도 영향을 적게 받고 적은 양으로도 검출이 가능하다. 항생제 내성균이 증가하고 있는 현재 상황에서 원인균을 조기에 검출할 수 있어 진단에 많은 도움이 될 것이다 (Klugman et al., 2008). 그러나 결과가 음성인 경우 폐렴사슬알균 감염을 배제할 수 있지만 양성인 경우 위양성의 가능성을 고려하여야 한다. 배양법에서는 살아있는 세균만이 배양되지만 중합효소연쇄반응은 특정 미생물의 핵산이 존재하는지를 확인하는 방법이기 때문에 현재감염과 최근감염을 구분할 수 없고 폐렴사슬알균은 호흡기에서 무증상 보균이 가능하므로 해석에 더욱 주의하여야 한다. 이를 극복하기 위해서는 정량 중합효소연쇄반응 검사에 대한 개발 및 평가가 더욱 더 필요할 것이다.

폐렴사슬알균 소변항원검사는 배양검사나 분자진단법의 결과가 나오기 전까지 항생제 치료를 배제할 수 있고 항생제 치료를 배제함으로 항생제 내성 환자를 줄일 수 있을 것으로 사료된다. 또한 배양검사에서 배양되지 않는 환자들의 진단에 도움을 줄 수 있을 것이다. 그러나 소변항원검사의 음성결과가 폐렴사슬알균의 감염을 완전히 배제할 수 없으므로 배양검사나 분자진단법과 함께 사용하여 폐렴알균성 폐렴 진단 시 보조적 목적으로 사용하는 것이 바람직할 것이다.

REFERENCES

Boersma WG, Löwenberg A, Holloway Y, Kuttschrütter H, Snijder JA, Koëter GH. Pneumococcal capsular antigen detection and pneumococcal serology in patients with community acquired pneumonia. Thorax. 1991. 46: 902-906.

Bruyn GA, Zegers BJ, van Furth R. Mechanisms of host defense against infection with *Streptococcus pneumoniae*. Clin Infect Dis. 1992. 14: 251-262.

Burman LA, Trollfors B, Andersson B, Henrichsen J, Juto P, Kallings I, Lagergård T, Möllby R, Norrby R. Diagnosis of pneumonia by cultures, bacterial and viral antigen detection tests, and serology with special reference to antibodies against pneumococcal antigens. J Infect Dis. 1991. 163: 1087-1093.

Cheong HJ, Hwang BY, Park CW, Kim WJ, Kim MJ. Clinical and Genetic Characteristics of Infection by Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* from Community and Hospital. Korean J Infect Dis. 2001. 33: 112-122.

Corless CE, Guiver M, Borrow R, Edwards-Jones V, Fox AJ, Kaczmarski EB. Simultaneous detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, and *Streptococcus pneumoniae* in suspected cases of meningitis and septicemia using real-time PCR. J Clin Microbiol. 2001. 39: 1553-1558.

Davis TE, Fuller DA, Aeschleman EC. Rapid, direct identification of *Staphylococcus aureus* and *Strptococcus pneumonniae* from blood culture using commercial immunologic kits and modified conventional tests. Diagn Microbiol Infect Dis.

1992. 15: 295-300.

Domínguez J, Galí N, Blanco S, Pedroso P, Prat C, Matas L, Ausina V. Detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen by a rapid immunochromatographic assay in urine samples. Chest. 2001. 119: 243-249.

Dochez AR, Avery OT. The elaboration of specific soluble substance by pneumococcus during growth. J Exp Med. 1917. 26: 477-493.

Ercis S, Ergin A, Sahin GO, Hasçelik G, Uzun O. Validation of urinary antigen test for *Streptococcus pneumoniae* in patients with pneumococcal pneumonia. Jpn J Infect Dis. 2006. 59: 388-390.

Fine MJ, Orloff JJ, Rihs JD, Vickers RM, Kominos S, Kapoor WN, Arena VC, Yu VL. Evaluation of house-staff physicians preparation and interpretation of sputum gram strains for community-acquired pneumonia. J Gen Intern Med. 1991. 6: 189-198.

Gutiérrez F, Masiá M, Rodríguez JC, Ayelo A, Soldán B, Cebrián L, Mirete C, Royo G, Hidalgo AM. Evaluation of the Immunochromatographic Binax NOW Assay for Detection of *Streptococcus pneumoniae* Urinary Antigen in a Prospective Study of Community-Acquired Pneumonia in Spain. Clinical Infect Dis. 2003. 36: 286-292.

Health PT. Epidemiology and bacteriology of bacterial pneumonias. Paediatr Respir Rev. 2000. 1: 4-7.

Jaffar S, Leach A, Hall AJ, Obaro S, McAdam KP. Preparation for a pneumococcal vaccine trial in The Gambia. individual or community randomisation. Vaccine. 1999. 18: 633-640.

Klugman KP, Madhi SA, Albrich WC. Novel approaches to the identification of *Streptococcus pneumoniae* as the cause of community-acquired pneumonia. Clin Infect Dis. 2008. 47: 202-206.

McAvin JC, Reilly PA, Roudabush RM, Barnes WJ, Salmen A, Jackson GW, Beninga KK, Astorga A, McCleskey FK, Huff WB, Niemeyer D, Lohman KL. Sensitive and specific method for rapid identifenition of *Streptococcus pneumoniae* using real-time fluorescence PCR. J Clin Microbiol. 2001. 39: 3446 -3451.

Murdoch DR, Laing RT, Mills GD, Karalus NC, Town GI, Mirrett S, Reller LB. Evaluation of a Rapid Immunochromato graphic Test for Detection of *Streptococcus pneumoniae* Antigen in Urine Samples from Adults with Community-Acquired Pneumonia. J Clin Microbiol. 2001. 39: 3495-3498.

Murdoch DR. Molecular genetic methods in the diagnosis lower respiratory tract infections. APMIS. 2004. 112: 713-727.

Park JY, Kim MR, Jang SH, Lee HJ, Choi KW. Serotypes and Animicrobial Susceptibilities of *Streptococcus pneumoniae* Isolated from the Clinical Specimen. Korean J Infect Dis 1994. 26: 9-19.

Philips G, Barker R, Brogan O. Optochin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. Lancet II 1988. 332: 281.

Ruiz-Gonzalez A, Nogues A, Falguera M, Porcel JM, Huelin E. Rapid detection of pneumococcal antigen in lung aspirates: comparison with culture and PCR technique. Respir Med 1997. 91: 201-206.

Rosario M, Capeding Z, Nohynek H, Ruutu P, Leinonen M. Evaluation of a new tube latex agglutination test for detection of type-specific pneumococcal antigens in urine. J Clin Microbiol. 1991. 29: 1818-1821.

Sorensen UB, Henrichsen J. Cross-reactions between pneumococci and other streptococci due to C polysaccharide and F antigen. J Clin Microbiol. 1987. 25: 1854-1859.

Suzuki N, Seki M, Nakano Y, Kiyoura Y, Maeno M, Yamashita Y. Discrimination of *Streptococcus pneumoniae* from viridans group streptococci by genomic subtractive hybridization. J Clin Microbiol. 2005. 43: 4528-4534.

Suzuki N, Yuyama M, Maeda S, Ogawa H, Mashiko K, Kiyoura Y. Genotypic identification of presumptive *Streptococcus pneumoniae* by PCR using four genes highly specific for *S. pneumoniae*. J Med Microbiol. 2006. 55: 709-714.

Whatmore AM, Efstratiou A, Pickerill AP, Broughton K, Woodard G. Genetic relationships between clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus oralis*, and *Streptococcus mitis*: characterization of "typical" pneumococci and organisms allied to *S. mitis* harboring *S. pneumoniae* virulence factor-encoding genes. Infect Immun. 2000. 68: 1374-1382.