

중합효소연쇄반응을 이용한 *Mycoplasma pneumoniae*의 검출

영남대학교 의과대학 소아과학교실, 생화학교실*

신손문 · 이영환 · 문한구 · 박용훈 · 하정옥 · 김재룡*

= Abstract =

Detection of *Mycoplasma Pneumoniae* in Clinical Samples by Polymerase Chain Reaction (PCR)

Son Moon Shin, M.D., Young Hwan Lee, M.D., Han Ku Moon, M.D.
Yong Hoon Park, M.D., Jeong Ok Hah, M.D. and Jae Ryong Kim, M.D.*

Department of Pediatrics, Department of Biochemistry*, College of Medicine,
Yeungnam University Taegu, Korea

Background : Since culturing *Mycoplasma pneumoniae* (*M. pneumoniae*) is time-consuming and laborious, serological tests are widely used for the diagnosis. However, it takes time for a sufficient titer accumulation to take place for the serological tests to work. In addition, the accuracy of the serological tests is questionable since it is often difficult to distinguish current infection from the prior ones. Thus, we investigated the efficacy of PCR which amplified *M. pneumoniae* DNA as an alternative diagnostic test with greater accuracy and convenience.

Methods : For seventeen patients with possible mycoplasma pneumonia, who came to the department of Pediatrics, Yeungnam University Hospital between May and September of 1995, serological tests and PCR are simultaneously carried out. Sputum, pleural effusion and nasal secretion are collected from the patients for PCR with two sets of primers from P1 attachment-protein gene of *M. pneumoniae*.

Results : Of total 17 patients, 11 patients were PCR positive, and 6 patients are PCR negative. All of 11 PCR-positive patients showed high titers (1:320-1:5,120) of anti-mycoplasma antibody test. Two out of 6 PCR-negative patients had positive results in anti-mycoplasma antibody test, which were 1:1,280 and 1:2,560, respectively. Further workups for these patients revealed tuberculosis and infective mononeucleosis, respectively. The results of the first PCR test are identical to that of the second PCR test with a different primer.

Conclusion : Compared to the serological tests, PCR is more sensitive and accurate in diagnosing mycoplasma pneumonia. Further research is warranted to facilitate the method of clinical sample collection as well as to determine the optimal timing for the sample collection.

Key Words : *Mycoplasma pneumoniae*, Polymerase Chain Reaction

* 본 논문은 1995년도 재단법인 천마의학연구재단 연구비의 보조로 이루어졌음.

서 론

Mycoplasma pneumoniae(*M. pneumoniae*)는 학동기 또는 청소년기 호흡기 감염의 주원인균으로서 영아기 또는 유아기에서도 호흡기 감염을 일으키는 빈도가 점차 증가하고 있다. *M. pneumoniae*에 의해 발생하는 폐렴은 그 임상적 양상이 다른 세균이나 바이러스 폐렴의 양상과는 다른 비정형성 폐렴이며¹⁻³⁾, 호흡기 증상 이외에도 신경계, 순환계, 혈액계, 근골격계 등의 타 기관에 잘 침범하는 것으로 알려져 있다⁴⁻⁷⁾.

*M. pneumoniae*에 의한 폐렴으로 진단하기 위해서는 임상적 특성에 의존하는 수동적인 방법 외에도 객담에서의 원인균 배양 및 혈청학적 검사 방법이 있다. 배양 검사는 확진에 좋으나 배양을 위한 조건이 까다로와 특수 배지를 이용해야 하고, 균체가 자라는데 일정한 기간이 소요된다. 그래서 현재는 일반적으로 혈청학적 검사법인 냉응집소검사(cold agglutinin test) 혹은 *M. pneumoniae* 특이 항체 역가 측정법이 널리 이용되고 있지만, 특이적이지 못하거나 항체 역가가 의미있게 증가하기까지는 일정한 기간이 필요하여 급성기에는 위음성의 가능성이 높다^{8,9)}. 이외에도 특이도가 비교적 높은 항원검출법¹⁰⁾과 핵산(Deoxyribonucleic acid, DNA) 표지자(probes)를 이용한 보합결합(molecular hybridization)법¹¹⁻¹⁴⁾이 있으나, 특이도는 높은 반면 민감도는 떨어진다.

이를 보완하기 위해 최근에 개발된 극미량의 DNA를 시편관에서 증폭하는 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)법은 그 민감도와 특이도에 있어서 타검사법에 비해 뛰어나다고 알려져 있다^{15,16)}. 이에 저자들은 중합효소연쇄반응을 이용한 *M. pneumoniae* DNA 검출법이 실제 임상에서 비교적 빠르고 정확한 mycoplasma 폐렴의 진단법으로 활용 가능한지를 알아보고자 본 연구를 시도하였다.

대상 및 방법

1. 대상 및 검체 추출

1995년 5월부터 9월까지 영남대학교 의과대학 부속병원 소아과에 폐렴으로 입원한 환자 중 진찰 소견과 방사선학적 소견이 일치하지 않아 임상적으로 mycoplasma 폐렴이 강하게 의심되는 6개월에서 14

세 사이의 환자 17명을 대상으로 입원 당일과 1주일 후 2회에 걸쳐 환자의 혈청을 이용한 mycoplasma 특이 항체 검사를 시행하였고, 입원시의 가래, 늑막 삼출액 혹은 비강내 분비물을 채취하여 PCR을 시행하였다. 환자의 가검물로 객담을 우선적으로 채취하였으나, 늑막 삼출물이 있는 경우에는 천자한 늑막 삼출물을 이용하였다. 이를 추출할 수 없을 때에는 진공 흡입기로 비인두강을 흡입하여 4℃에 냉장 보관하였다. 혈청학적 검사에 의한 진단 기준은 mycoplasma 특이 항체 역가가 1:80 이상이거나, 추적 검사에서 역가가 4배 이상 의미있게 증가한 경우로 하였다. PCR은 환자로 부터 채취한 검체를 4℃에 냉장 보관한 후 DNA를 추출하여 특이 band 유무를 알아보았다. 양성 대조로는 미국의 ATCC 표준균주 29085를 구입하여 사용하였고, 음성 대조로는 생리식염수를 사용하였다.

2. 검체로 부터 DNA 추출

환아의 검체 1mL 정도를 microcentrifuge tube에 넣고 4℃ 12,000 rpm에서 5분간 원심하여 상층액을 버리고 찬 생리식염수 0.5mL를 넣어 다시 4℃ 12,000 rpm으로 원심시켜서 상층액은 버렸다. 남은 침전물은 30초간 vortex하여 잘 부유시켜 DNA extraction buffer (10mM Tris/Cl (pH 8.3), 0.1M EDTA, 20 ug/mL pancreatic RNAase, 0.5% SDS)를 0.5mL 넣어 tube를 위아래로 흔들어 잘 섞은 후 37℃ 항온 수조에 30분간 넣어 두었다가, Tris-saturated phenol을 같은 부피 (0.5mL) 넣고 30초간 vortex해서 4℃ 12,000 rpm에서 5분간 원심했다. 이 상층 수용액을 중간의 단백질을 침전시켜 버리고 새 tube로 옮겨서 같은 부피의 Phenol/CIA (0.25mL/0.25mL)를 섞어 vortex하고, 4℃ 12,000 rpm에서 5분간 원심한 상층액을 새 tube로 옮겼다. 0.1 부피의 3M sodium acetate (pH 4.8)를 넣고 tube를 잘 흔들어 섞은 후 2 부피의 cold ethanol (-20℃)을 넣어 얼음 속에 15분간 넣어 뒀다가, 4℃ 12,000 rpm에서 5분간 원심했다. 상층액을 조심스럽게 aspiration한 후 70% ethanol을 1mL 넣고 4℃ 12,000 rpm에서 2분간 원심했다. 상층액은 조심스럽게 aspiration하여 버린 후 남은 DNA 침전물을 잘 말렸다. 이렇게 추출된 DNA에 멸균된 증류수를 50mL를 넣고 녹여서 spectrophotometer(Shimadzu UV-1201[®])를 이용하여

790 800 810 820 830 840
 TTCAACCA ATCTGGATCTGGCCAATCCACCCAACGTGGGGGTTTCGTCAGGG
 850 860 870 880 890
 GACACCAAAGTCAAGGCTTTAAAAATAGAGGTGAAAAAGAAATCGGACTC
 900 910 920 930 940
 GGAGGACAATGGTCAGCTGCAGTTAGAAAAAATGATCTCGCCAACGCTCC
 950 960 970 980 990
 CATTAAGCGGAGCGAGGAGTCGCGTCAGTCCGTCCTCAAGGCGGACGAT
 1000 1010 1020 1030 1040
 TTTGGTACTGCCCTTTCCAGTTCGGGATCAGGCGGCAACTCCAATCCCGGTT
 1050 1060 1070 1080 1090
 CCCCCACCCCTGAAGGCCGTGGCTTGGGACTGAGCAAATTCACAAGGACCTC

Fig. 1. Partial nucleotide sequences of the P1 attachment-protein gene from the *Mycoplasma pneumoniae*.

여 DNA의 농도를 측정하였다.

3. PCR primer의 sequence

Inamine 등¹⁷⁾에 의해 밝혀진 *Mycoplasma pneumoniae* P1 attachment-protein gene의 염기서열 (Fig. 1) 중 P1, 790번부터 1087번 염기까지 총 298 bp의 염기서열을 이용하였으며, 이것을 증폭하기 위해 이에 대응하는 5'-end의 20개의 염기서열을 MP1이라 정하였고, 3'-end의 20개의 염기서열을 MP3로 정했다. 또 재확인을 위한 2차 PCR에 이용한 196bp 크기의 염기서열은 P1, 790번부터 985번까지의 염기서열로 5'-end의 primer는 1차에서 사용한 MP1을, 3'-end의 20개 염기서열은 MP2로 정하였다 (Fig. 2). 1차적으로 MP1과 MP3를 이용하여 크기가 298bp인 DNA band를 확인하였고, 정확도를 높이기 위해서 2차적으로 MP1과 MP2를 이용하여 크기가 194bp인 band 유무를 다시 확인하였다.

4. PCR

1차 PCR을 위한 PCR mix 용액은 10×PCR buffer 5μL, 10mM dNTP mix 4μL, 20μM MP1 (5'-primer) 1.25μL, 20μM MP3 (3'-primer) 1.25μL, AmpliTag[®] DNA polymerase (PERKIN ELMER) (5U/μL) 0.25μL를 포함한 총 49μL의 반응용액을 사전에 제조하여 두었다가, PCR 용 tube에 PCR mix를 49μL 씩 넣고 DNA용액을

5' 3'
 MP1 (P1, 790-809) : TCAACCACATCTGGATCTGG
 MP2 (P1, 985-966) : CCTTGAGTTGGACGGACTGA
 MP3 (P1, 1087-1068) : GAATTTGCTCAGTCGCAAGC

Fig. 2. The sequences of the primers used for PCR.

1μL 넣어 잘 섞은 후 원심분리하였다. 그리고 mineral oil을 두방울 넣고 다시 원침시킨 후 PCR machine (Perkin-Elmer Thermal Cycler 480[®])에 넣고 denaturation을 95℃에서 1분간, annealing은 57℃에서 1분간, extension은 72℃에서 1분간으로 하여 40 cycles 돌린 후 최종 extension은 72℃에서 10분간으로 하였다.

2차 PCR은 1차 PCR 용액 1μL에 10×PCR buffer 5μL, 10mM dNTP mix 4μL 20μM MP1 (5'-primer) 1.25μL, 20μM MP2 (3'-primer) 1.25μL, AmpliTag[®] DNA polymerase (5U/μL) 0.25μL를 포함한 전체 50μL의 반응 용액으로 하여, 1차에서와 같은 방법으로 PCR을 시행하였다.

5. Agarose gel 전기영동

Paraffin film 위에서 1차 및 2차 PCR 반응 용액 각각 10μL와 sample loading buffer 2μL를 잘 섞은 후 2% agarose에 ethidium bromide(10mg/mL)를 2μL 넣고 섞어서 만든 agarose gel의 well에 넣

Table 1. Comparison between *Mycoplasma pneumoniae* DNA Amplification by Polymerase Chain Reaction(PCR) and Mycoplasma Antibody

No. of samples		mycoplasma antibody	
		positive	negative
PCR	positive	11	0
	negative	2	4
Total		13	4

어서 75volt 에서 1시간 전기영동한 후 1차 및 2차 PCR 반응에서 기대되는 각각 298, 196bp의 band를 확인하였다.

결 과

1. 연령, 가검물의 채취 시기 및 종류

대상환아 17명의 연령은 6개월에서 14세까지로 다양하였으며, PCR을 위한 가검물의 채취 시기는 환자의 증상 발현 이후 7일째에서 22일째로 평균 12.3일째였다. 가검물은 객담이 10예로 가장 많았고, 늑막강 내 삼출물 6예, 비강내 분비물이 1예였다.

2. Mycoplasma 특이 항체와 PCR 결과

Mycoplasma 특이 항체는 입원 당시와 입원 후 일주일째에 실시한 검사 중 13례에서 1:320 이상, 최고 1:5,120의 양성반응을 보였고, 4예에서는 음성반응을 보였다. PCR을 통한 *M. pneumoniae* DNA band는 11예에서 확인되었으며, 6예에서는 관찰되지 않았다(Table 1). PCR의 결과와 특이 항체 검사가 일치되지 않은 경우가 2예 있었는데, 혈청검사에서는 항체가가 회복기에 1:1,280으로 양성의 결과를 보였으나 PCR에서는 *M. pneumoniae* DNA band가 관찰되지 않았던 1예는 늑막강내 삼출물에서 결핵균이 확인되었으며, 회복기에 mycoplasma 항체가가 1:2,560이었으나 PCR에서는 음성으로 나타난 1예에서는 전염성 단핵구증으로 확인되었다. 1차 PCR에서 *M. pneumoniae* DNA band가 관찰된 경우에는 (Fig. 3), 2차 PCR에서도 일치된 결과를 보였으며 (Fig. 4), 1차 PCR에서 관찰되지 않은 경우에는 2차 PCR에서도 음성으로 나타나 두차례의 PCR 결과는 완전한 일치를 보였다.

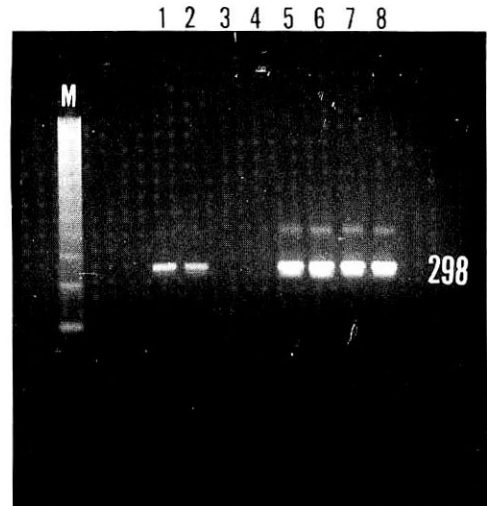


Fig. 3. Electrophoretic analysis of the 1st PCR products obtained from patient specimens with positive and negative control; ethidium bromide-stained 2% agarose gel.

- * M : molecular weight marker
- * Lane 1, 2 : positive control
- * Lane 3, 4 : negative control
- * Lane 5 - 8 : patient specimens

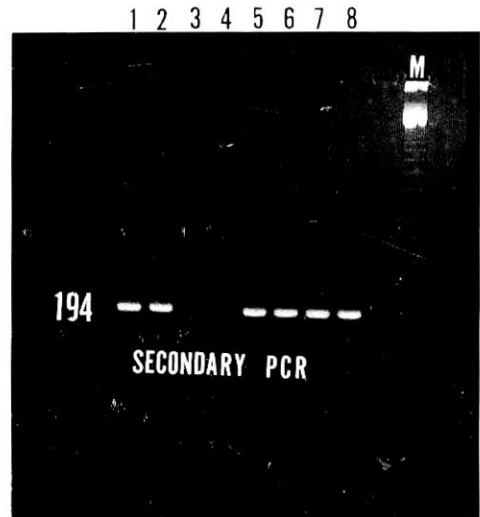


Fig. 4. Electrophoretic analysis of the 2nd PCR products obtained from patient specimens with positive and negative control; ethidium bromide-stained 2% agarose gel.

- * M : molecular weight marker
- * Lane 1, 2 : positive control
- * Lane 3, 4 : negative control
- * Lane 5 - 8 : patient specimens

고 찰

*M. pneumoniae*는 1994년 Eatons 등¹⁸⁾이 비정형성 폐렴 환자의 객담에서 분리하여 바이러스의 일종으로 생각하여 Eaton 인자라고 불리웠으며, 1961년 Marmion 등¹⁹⁾은 pleuropneumonia-like organisms (PPLO)으로 불리기도 했다. 1962년에 이르러서는 Chanock 등²⁰⁾이 처음으로 무생물 인공배지에서 균배양에 성공하였다. *M. pneumoniae*는 인간을 포함한 많은 동물에서 총 50여개 이상의 종이 분리되었으나, 이 중에서 약 11개 정도가 사람에게서 병을 유발할 수 있다고 알려져 있다²¹⁾.

*M. pneumoniae*에 의한 폐렴은 5-9세에 가장 높은 빈도를 나타내고 10-14세에 두 번째로 잦은 빈도를 보여 왔으나, 영유아기에도 점차 그 빈도가 증가하고 있다. 약 10-14일의 잠복기를 가진 후 권태감, 발열, 기침 및 두통 등의 일반적인 증상으로 시작되어 기침이 점차 심해져 때로는 발작적으로 진행하기도 한다. 대부분이 불현성 감염으로 남고 폐렴으로 진행되는 경우는 감염 환자의 3-10% 정도이며, 흉부 방사선학적 소견은 매우 다양하고 약 20%에서 늑막강내 삼출물이 관찰된다. 이 폐렴은 환자의 증상과 임상적 양상이 진찰소견이나 흉부 방사선학적 소견과 잘 일치하지 않는다는 점이 특징적이며³⁾, 호흡기 외의 타기관에 잘 침범하여 심각한 후유증을 유발하기도 한다^{4, 7)}.

*M. pneumoniae*에 의한 폐렴의 진단은 임상적 양상, 혈청을 이용한 냉응집소검사 및 mycoplasma 특이 항체 역가 측정 그리고 균배양 등으로 이루어져 왔다. 균배양법은 가장 확실한 진단법이지만^{22, 23)}, 배양을 위한 조건이 매우 까다롭고 보통 2-3주 이상의 기간이 필요하므로 임상에서 효율적으로 적용하기는 어렵다. 혈청을 이용한 방법 중 냉응집소반응은 비교적 흔히 사용하는 방법으로²⁴⁾, 발병 7일째부터 나타나기 시작하여 4주경까지 급격히 역가가 증가하며 그 이후 감소하기 시작하여 약 3개월 후에는 사라진다. 이것은 그 역가가 1:64 이상이거나 추적 검사에서 처음의 4배 이상 역가가 증가할 때 *M. pneumoniae*의 감염으로 추정할 수 있다. 그러나 이것은 비특이적인 검사로 infectious mononucleosis, rubella, influenza, adenovirus infection, malaria, psittacosis 등의 다른 질환에서도 역가가 증가할 수 있어³⁾ 확진을 위해

서는 적합하지가 않다. Mycoplasma 특이 항체 역가를 측정하는 방법은 보체 고정(complement fixation), 면역형광 (immunofluorescence), 대사 억제 (metabolic inhibition), 방사면역침착 (radioimmunoprecipitation), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 및 간접 혈구응집 반응 (indirect hemagglutination test) 등이 있다. 이중에서 간접 혈구응집 반응이 가장 흔히 사용되고 있어 본 연구에서도 이 방법을 사용한 mycoplasma 특이 항체 역가를 측정하였으며, 항체가가 1:80 이상이거나 추적검사에서 역가가 4배 이상 증가하는 경우를 *M. pneumoniae*에 의한 폐렴으로 진단하였다. 이처럼 혈청을 이용한 두 가지 방법은 임상에서 비교적 쉽게 이용할 수는 있지만, 다른 균종과의 교차반응이 일어날 수 있을 뿐만 아니라²⁵⁾ 역가가 의미있게 증가하기까지는 일정 기간의 시간이 요구되므로, 균배양 검사와 마찬가지로 조기 진단에는 적합하지가 않다. 이외에도 특이도가 비교적 높은 항원검출법¹⁰⁾과 핵산 표지자 (DNA probes)를 이용한 보합결합 (molecular hybridization)법¹¹⁻¹³⁾이 있으나, 특이도는 높은 반면 민감도는 떨어진다.

따라서 분자 생물학의 발달과 함께 최근에 개발된 중합효소연쇄반응법은 DNA 중합효소의 연속적인 반응을 이용하여 단기간에 극미량의 DNA를 대량으로 증폭하는 방법으로 1985년 Saiki 등^{26, 27)}에 의해 처음으로 고안되었다. 이 중합효소연쇄반응법은 만족한 결과를 얻기 위해서 각 단계별로 몇 가지 고려해야 할 사항이 있기는 하지만, 그 민감도와 특이도가 뛰어나서 감염성 질환의 빠르고 정확한 진단에 유용하게 사용되고 있다. 이후로 몇몇 팀에 의해서 PCR을 이용한 *M. pneumoniae*의 검출법^{15, 16)}이 시도되었으며, 국내에서도 은 등²⁸⁾에 의해 73.3%의 민감도와 100%의 특이도를 보였다고 발표한 바 있다. 특히 P1 attachment-protein gene은 Hu 등²⁹⁾이 밝힌 바 있는 *M. pneumoniae*가 호흡기의 섬모상피에 attachment 하는데 특이적으로 관여하는 surface protein을 Inamine 등¹⁷⁾이 sequencing한 것으로 교차반응이 적어서 높은 특이도와 민감도를 보인다고 한다. 본 연구에서도 이 P1 attachment-protein gene을 이용하여 PCR을 하였다. 그 결과 mycoplasma 특이 항체 역가가 음성인 경우에는 PCR에서도 전부 음성으로 나와서 100%의 일치율을 보였으며, mycoplasma 특이

항체 역가와 PCR 결과가 일치하여 양성으로 나타난 경우는 85% 일치도를 보였다. 그러나 mycoplasma 특이 항체의 역가는 의미있게 양성의 결과를 보였으나, PCR에서는 음성으로 나온 경우가 2예 있었다. 이것은 PCR의 위음성을 의미하거나 mycoplasma 특이 항체 검사의 위양성을 의미한다. 이 2예 중 1예는 결핵균을 찾아내는 PCR과 결핵균 배양검사서 양성을 보였으며, 다른 1예는 Paul-Bunnell test를 통한 heterophil antibody가 양성으로 나와서 각각 결핵과 전염성 단핵구증으로 확인되어 그 특이도와 민감도는 mycoplasma 특이 항체 검사법 보다 뛰어난 것으로 나타났다. PCR을 이용한 균체의 검출은 이론적으로는 1 분자의 DNA만 있어도 검출이 가능하지만, 실제로는 이에 제한이 있어 PCR에 의해 만족할 만한 결과를 얻기 위해서는 균체의 DNA를 효과적으로 얻기 위해 균체가 적당히 포함된 가검물을 사용해야 한다는 주장도 있다³⁰⁾. 또 검체의 보관에 있어서도 은 등²⁸⁾은 가검물을 영하 70℃에서 냉동 보관하였는데, 본 연구에서는 가검물을 채취하는 장소가 특수 냉동기가 설치되어 있지 않은 외래나 일반 병동이기 때문에 흔히 사용할 수 있는 냉장고를 이용하여 4℃에서 냉장 보관하였다가 DNA를 추출하여 보았다. 결과는 만족할 만한 하였으므로, 검체의 보관은 오염만 방지하여 냉장 보관하여도 무방할 것으로 생각된다.

결론적으로 중합효소연쇄반응을 이용한 *M. pneumoniae* DNA의 검출은, 높은 민감도와 특이도를 가지므로, 현재 사용하고 있는 혈청학적 검사와 배양검사의 문제점을 보완한 확진법으로 자리잡아 임상에서 큰 어려움없이 늘어나는 mycoplasma 폐렴 환자의 조기 진단에 적극적으로 활용할 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 이 방법에도 몇가지 제한점은 있다. 이 방법은 매우 민감한 검사이므로 비교적 숙달된 사람이 시행하여야만 검체간의 오염으로 인한 위양성율을 줄일 수 있으며, 특히 영유아에서는 환자의 불편을 최소화하며 적절한 균체를 얻어내는 방법을 개발하여야 할 것으로 생각된다.

요 약

배 경 : Mycoplasma 폐렴의 진단법으로 사용되는 혈청학적 검사법과 배양검사법은 몇가지 제한이 있어 신속성과 정확성을 충족하지 못한다. 이를 보완한 중

합효소연쇄반응법은 그 민감도와 특이도가 뛰어난 것으로 알려져 있어, 중합효소연쇄반응법을 이용한 *M. pneumoniae* DNA 검출이 실제 임상에서 신속하고 정확한 검사법으로 유용한 지를 알아보았다.

방 법 : 1995년 5월부터 9월까지 영남대학교 의과대학 부속병원 소아과에 폐렴으로 입원한 환자 중 mycoplasma 폐렴이 의심되는 17명의 환아를 대상으로 급성기와 회복기의 혈청을 이용한 mycoplasma 특이 항체 검사와 급성기의 가검물을 이용한 PCR을 실시하였다. 환아의 가검물로는 가래, 늑막강 삼출물 및 비인두강내 분비물을 이용하였다.

결 과 : Mycoplasma 특이 항체 역가가 음성인 경우에는 PCR에서도 전부 음성으로 나와서 100% (4예)의 일치를 보였으나, mycoplasma 특이 항체 역가와 PCR 결과가 동시에 양성으로 나타난 경우는 85% (11예)였다. 그러나 Mycoplasma 특이 항체 역가는 의미있었으나 (각각 1:1,280, 1:2,560) PCR에서는 음성으로 나온 경우가 2예 있었는데, 이들은 각각 결핵과 전염성 단핵구증으로 확인되어 그 특이도와 민감도는 mycoplasma 특이 항체 검사법 보다 뛰어난 것으로 생각된다.

결 론 : PCR을 이용한 *M. pneumoniae* DNA의 검출은 높은 민감도와 특이도를 가지므로, 현재 흔히 사용하는 혈청학적 검사와 배양검사의 문제점을 보완한 확진법으로 임상에서 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구의 실험 검체 추출 및 자료정리에 참여한 의학과 임용찬, 전환진 군에게 감사한다.

참 고 문 헌

- 1) Broughton RA: *Infections due to Mycoplasma pneumoniae in childhood. Pediatr Infect Dis* 5:71-85, 1986
- 2) Fernald GW, Collier AM, Clyde WA: *Respiratory infections due to Mycoplasma pneumoniae in infants and children. Pediatrics* 55:327-335, 1975
- 3) Hailen M: *Mycoplasma pneumoniae infections. In: Hilman BC, eds. Pediatric respiratory disease: Diagnosis and treatment. 1st ed. pp282-285, Philadelphia, WB Saunders Co, 1993*

- 4) Welch KJ, Burke WA, Irons TG: *Recurrent erythema multiforme due to Mycoplasma pneumoniae*. *J Am Acad Dermatol* 17:839-840, 1975
- 5) Lambert HP: *Syndrome with joint manifestations in association with Mycoplasma pneumoniae infection*. *Br Med J* 3:156-157, 1968
- 6) Behan PO, Feldman RG, Segarra JM: *Neurological aspects of mycoplasma infection*. *Acta Neurol Scand* 74:314-322, 1986
- 7) Griffin JP, Klein EW: *Role of sinusitis in primary atypical pneumonia*. *Clin Med* 78:23-27, 1971
- 8) Couch RB: *Diagnosis and treatment of Mycoplasma pneumoniae disease in man*. In Hayflick L.(ed.): *The mycoplasmatales and the L-phase of bacteria*. New York, Appleton-Century-Crofts, pp683-695, 1969
- 9) Hirschberg L, Kook A, Petterson CA, Vikerforts T: *Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Mycoplasma pneumoniae specific immunoglobulin M*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 7:420-423, 1988
- 10) Kok TW, Varkanis G, Marmion BP, Martin J, Esterman A: *Laboratory diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection. I. Direct detection of antigen in respiratory exudates by enzyme immunoassay*. *Epidem Inf* 101:669-684, 1988
- 11) Marjaana Kleemola SR, Karjalainen JE, Rätty KH: *Rapid diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection: Clinical evaluation of a commercial probe test*. *J Infect Dis* 162:70-75, 1990
- 12) Tilton RC, Dias F, Kidd H, Ryan RW: *DNA probe versus culture for detection of Mycoplasma pneumoniae in clinical specimens*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 10:109-112, 1988
- 13) Dular R, Kajioka R, Kasatiya S: *Comparison of gen-Probe commercial kit and culture technique for the diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection*. *J Clin Microbiol* 26:1068-1069, 1988
- 14) Göbel UB, Geiser A, Stanbridge EJ: *Oligonucleotide probes complementary to variable regions of ribosomal RNA discriminate between Mycoplasma species*. *J Gen Microbiol* 133:1969-1974, 1987
- 15) Bernet C, Garret M, Barbeyrac B, Bebear C, Bonnet J: *Detection of Mycoplasma pneumoniae by using the polymerase chain reaction*. *J Clin Microbiol* 27:2492-2496, 1989
- 16) Jensen JS, Søndergård-Andersen J, Uldum SA, Lind K: *Detection of Mycoplasma pneumoniae in simulated clinical samples by polymerase chain reaction*. *APMIS* 97:1046-1048, 1989
- 17) Inamine JM, Denny TP, Loechel S, Schaper U, Huang C-h, Bott KF, Hu P-c: *Nucleotide sequence of the P1 attachment-protein gene of Mycoplasma pneumoniae*. *Gene* 64:217-229, 1988
- 18) Eaton MD, Meiklejohn G, van Herick W: *Studies on the etiology of primary atypical pneumonia: A filterable agent transmissible to cotton rats, hamsters, and chicken embryos*. *J Exp Med* 79:649-668, 1944
- 19) Marmion BP, Goodburn GM: *Effect of an organic gold salt on Eaton's primary atypical pneumonia agent and other observation*. *Nature* 189:247-248, 1961
- 20) Chanock RM, Hayflick L, Barile MF: *Growth on artificial medium of an agent associated with atypical pneumonia and its identification as a PPLO*. *Proc Natl Acad Sci* 48:41-49, 1962
- 21) Cassell GH, Cole BC: *Mycoplasmas as agents of human disease*. *N Engl J Med* 304:80-89, 1981
- 22) Allen V, Sueltmann S, Lawson C: *Laboratory diagnosis of Mycoplasma pneumoniae in a public health laboratory*. *Health Lab Sci* 4:90-95, 1967
- 23) Tully JG, Rose DL, Whitcomb RF: *Enhanced isolation of mycoplasma pneumoniae from throat washings with a newly modified culture medium*. *J Infect dis* 139:478-482, 1979
- 24) Griffin JP: *Rapid screening for cold agglutinins in pneumonia*. *Ann Intern Med* 70:701-705, 1969
- 25) Lind K, Lindhardt BØ, Schutten HJ, Blom J, Christiansen C: *Serological cross-reactions between Mycoplasma genitalium and Mycoplasma pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 20: 1036-1043, 1984
- 26) Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA: *Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase*. *Science* 239:487-491, 1988
- 27) Schochetman G, Ou C-Y, Jones WK: *Polymerase chain reaction*. *J Infect Dis* 158:1154-1157, 1988
- 28) Hu P-c, Huang C-h, Collier AM, Clyde Jr. WA: *Demonstration of antibodies to Mycoplasma pneumoniae attachment protein in human sera and respiratory secretions*. *Infect Immun* 41:437-439, 1983
- 29) 은백린, 박상희, 독고영창, 성상철: *중합효소연쇄반응을 이용한 Mycoplasma pneumoniae 폐렴의 진단에 관한 연구*. *소아과* 38(8):1077-1085, 1995
- 30) Skakni L, Sardet A, Just J, Parker JL, Costil J, Ville NM, Bricout F, Chenon AG: *Detection of Mycoplasma pneumoniae in clinical samples from pediatric patients by polymerase chain reaction*. *J Clin Microbiol* 30:2638-2643, 1992