

Polymerase chain reaction 양성 소아 마이코플라스마 폐렴에서 혈청 IgM enzyme-linked immunosorbent assays의 진단적 가치

이혜진, 이윤태, 김경훈, 양은애, 김환수, 전윤희, 윤종서, 김현희, 김진택

가톨릭대학교 의과대학 소아과학교실

Diagnostic value of serum IgM enzyme-linked immunosorbent assays in polymerase chain reaction-positive *Mycoplasma pneumoniae* in children

Hye Jin Lee, Yoon Tae Lee, Kyung Hoon Kim, Eun Ae Yang, Hwan Soo Kim, Yoon Hong Chun, Jong-Seo Yoon, Hyun Hee Kim, Jin Tack Kim

Department of Pediatrics, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Purpose: *Mycoplasma pneumoniae* (MP) is a common cause of community-acquired pneumonia (CAP) in children. MP serum IgM and polymerase chain reaction (PCR) are the methods that enable early diagnosis in patients with MP pneumonia. The objective of this study was to investigate the clinical value of serum MP-specific IgM antibodies in PCR-positive MP pneumonia for the early diagnosis of MP pneumonia in children with CAP.

Methods: Out of 129 patients with lower respiratory tract infection aged over 3 years, 90 CAP children were enrolled in the study. Throat swab MP real-time PCR and serum enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) IgM antibodies were performed. A positive rate of MP PCR and serum IgM, the level of IgM index, clinical features, and laboratory findings were analyzed.

Results: MP PCR was positive in 57 cases. Longer fever duration before admission ($P < 0.001$), higher rates of lobar or segmental pneumonia ($P = 0.048$), unilateral infiltration ($P = 0.038$), and extrapulmonary symptoms ($P = 0.049$) were associated with MP PCR-positive pneumonia. Serum IgM index was significantly higher in MP PCR-positive pneumonia than in MP PCR-negative pneumonia (3.9 ± 3.0 vs. 0.8 ± 1.3 , $P < 0.001$). Using MP PCR as a gold standard, the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of serum IgM were 85.5%, 82.1%, 91.4%, and 71.9%, respectively. The area under the curves for serum IgM index was 0.892, and the ROC analysis indicated that an optimal cutoff value of 1.05 for serum IgM provided the highest sensitivity and specificity interestingly (83.9% vs. 85.7%, $P < 0.001$).

Conclusion: Serum IgM ELISA has useful diagnostic value in PCR-positive MP pneumonia. Applying an IgM index cutoff of 1.05 improves diagnostic accuracy. (*Allergy Asthma Respir Dis* 2018;6:248-254)


Keywords: *Mycoplasma pneumoniae*, Diagnosis, Polymerase chain reaction, Immunoglobulin M, Pediatrics

서론

마이코플라스마는 전 세계적으로 지역사회 획득 폐렴의 10%~40%를 차지하며,^{1,2} 특히 3~15세 사이 소아의 지역사회획득 폐렴의 중요한 원인균으로 최근에는 발병주기가 4~7년에서 3년 정도로 단

축되고 있고,³ 단체 생활 등으로 인하여 발병 연령도 학동기에서 4~6세로 점차 낮아지고 있는 추세이다.³⁻⁵

대부분 양성 경과를 취하며 자연 치유되는 경향을 보이지만 일부에서는 생명을 위협하는 전격성 혹은 괴사성폐렴으로 진행하거나 폐 출혈을 동반한 급성호흡곤란증후군의 원인이 되기도 한다.⁶⁻⁹

Correspondence to: Jong-Seo Yoon  <https://orcid.org/0000-0002-5782-6175>
Department of Pediatrics, Seoul St. Mary's Hospital, College of Medicine, The Catholic University of Korea,
222 Banpo-daero, Seocho-gu, Seoul 06591, Korea
Tel: +82-2-2258-7612, Fax: +82-2-537-4544, E-mail: pedjsoon@catholic.ac.kr
Received: March 14, 2018 Revised: August 28, 2018 Accepted: September 12, 2018

© 2018 The Korean Academy of Pediatric Allergy and Respiratory Disease
The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

또한 광범위한 면역반응에 의하여 피부, 신경학적, 혈액학적, 근골격계질환 등 심각한 폐 외 증상을 동반할 수 있으며,^{10,11} 최근 연구 결과에 따르면 집중치료를 요하는 중등도 이상의 마이코플라스마 폐렴 환자가 증가하고 있다.^{12,13}

전 세계적으로 마크로라이드 항생제 내성 폐렴 마이코플라스마가 증가하고 있으며,¹⁴ 우리나라의 경우에도 2011년 국내 다기관 연구에서 62.9%로 발표된 이후에도 꾸준히 증가하여 2017년 한 단일 기관 연구에서는 87.2%까지 보고되었다.¹⁵ 중등도 이상의 마이코플라스마 폐렴에서 초기에 스테로이드 치료를 하는 경우 치료 효과를 보이는 경우도 있지만,^{16,17} 숙주의 과도한 세포 면역반응과 기도 섬모 기능 장애를 유발하여 발열 기간이 길고, 병의 경과가 심한 스테로이드 저항성 마이코플라스마 폐렴도 보고되고 있다.¹⁸

위와 같은 이유로 마이코플라스마 폐렴은 지역사회획득 폐렴에서 바이러스 혹은 일반 세균성폐렴과는 차별적으로 초기에 의심하고 진단하는 것이 중요하지만, 현실적으로 마이코플라스마를 초기에 확인할 수 있는 단일 검사법은 존재하지 않기 때문에 임상에서 어려움을 겪는 경우가 많다.

전통적으로 마이코플라스마 폐렴의 진단은 인후 면봉 또는 객담 검체에서 균의 배양 또는 혈청 특이 IgG 항체의 4배 이상 증가로 확인할 수 있다. 그러나 배양법은 마이코플라스마 균의 배양 조건이 까다롭기 때문에 민감도가 23%–64% 정도로 낮고,¹⁹ 시간이 오래 걸리며, 혈청 IgG 항체 검사법은 역가의 상승을 확인하기 위한 반복적 채혈이 필요하고 수주 이상 시간이 소요된다는 단점이 있어 두 진단 방법 모두 임상에서 활용하기에 제한점이 있다. 혈청 IgM 진단 kit, 리보솜 단백질(ribosomal protein) 신속항원검사(rapid antigen kit), 고해상도산화 단층촬영(high resolution computerized tomography) 등 마이코플라스마 조기 진단을 위한 다양한 연구들이 보고되었다.^{20,21}

따라서 이 연구에서는, 소아의 마이코플라스마 폐렴 환자에서 초기에 결과를 얻을 수 있는 검사 방법인 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)과 혈청 IgM 검사를 비교 분석하고, PCR 양성 마이코플라스마 폐렴 환자를 대상으로 혈청 IgM 검사의 진단적 유용성을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2014년 8월 1일부터 2017년 7월 31일까지 서울성모병원 소아청소년과 호흡기분과에 입원한 만 36개월 이상의 폐렴 환자들을 대상으로 의무기록과 방사선검사 소견을 후향적으로 검토하였다. 폐렴의 임상적 진단 기준은 38°C 이상 발열, 급성호흡기 증상, 기타 원인으로 설명되지 않는 단순 흉부사진에서 음영 증가로 하였다.²² 기저질환으로 만성폐질환, 혹은 악성혈액종양 등의 전신 질환이 있는

경우는 대상에서 제외하였다. 총 129명의 3세 이상 폐렴 입원 환자 중 혈청 마이코플라스마 IgM 검사와 구인후 면봉(throat swab) 실시간 중합효소연쇄반응(real-time PCR) 검사를 모두 시행한 환자, 총 90명을 연구 대상으로 하였다. 대상 환자들의 임상 양상, 방사선 검사 결과, 혈액검사 결과를 비교하고 혈청 마이코플라스마 IgM과 인후 면봉 PCR 검사 결과를 조사하였다.

2. 방법

대상 환자들의 의무기록을 검토하여 효소면역측정법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)으로 측정된 혈청 마이코플라스마 IgM index 수치와 인후 면봉 PCR 검사 결과를 분석하였다. 바이러스 폐렴의 감별 진단을 위하여 비인두 면봉 검체로 시행한 다중 역전사 중합효소연쇄반응(multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 결과를 조사하였다. 대상 환자를 마이코플라스마 IgM과 PCR 양성 여부에 따라 두 그룹으로 분류하여 임상 양상, 검사실 검사 결과, 방사선검사 결과, 치료 반응 등을 비교하였다. PCR 양성 마이코플라스마 폐렴에서 혈청 IgM 검사의 민감도, 특이도와 양성예측도, 음성예측도, cutoff 값을 분석하였다.

1) 혈청 마이코플라스마 IgM 검사

마이코플라스마 IgM 측정은 Chorus Trio 장비(DIESSE diagnostic, Monteriggioni, Italy)의 Chorus M. pneumonia IgM 시약을 이용하여 실시하였다. 폐렴 마이코플라스마의 항원 P1 cytoadhesin, 결합체(conjugate), 희석액, tetramethylbenzidine (TMB) substrate 등의 기질이 담겨있는 카트리지 형식의 시약에 혈청 50 µL를 분주하고 장비에 장착하여 항체가를 측정하였다. IgM 항체가는 검체의 450 nm에서 흡광도를 측정하여 보정물질의 흡광도로 나눈 index 수치로 표기하였으며, index 0.9 미만은 음성, 0.9 이상은 양성으로 판정하였다.²³

2) 중합효소연쇄반응

구인후 면봉법으로 검체를 채취하여 2 mL 생리식염수 배지가 담긴 falcon tube에 넣고 흔든 후 실시간 중합효소연쇄반응(*M. pneumoniae* Real-Time PCR Kit, Slan; Biocore, Seoul, Korea)을 이용하여 ATPase operon을 정성 검출하였고, 검사방법은 다음과 같다.

- (1) Real-time PCR Reaction mixture 10 µL 당 Primer/Probe mixture 5 µL를 혼합하여 필요한 만큼의 real-time PCR Master mixture를 제조한다.
- (2) Real-time PCR Master mixture 15 µL를 각각의 tube에 분주하고 시료의 추출한 DNA 5 µL를 pipetting하여 잘 섞는다.
- (3) Real-time PCR machine에 넣어 반응시킨다.
- (4) CT (threshold cycle) 값을 40으로 설정 후 양성 또는 음성 결

과를 확인한다.

3. 마이코플라스마 폐렴의 진단 및 정의

모든 대상 환자를 대상으로 입원 1병일에 시행한 마이코플라스마 중합효소연쇄반응과 혈청 IgM 검사 결과를 분석하였다. 진단적 편의를 위하여 중합효소연쇄반응 양성군과 음성군으로 분류하였으며, 이 중 중합효소연쇄반응 양성인 경우를 마이코플라스마 폐렴으로 정의하였다.²⁴ 환자들의 발열 및 기침 기간, 폐 외 동반 증상 및 산소 요구도 등의 임상 양상, 일반 혈액검사, 염증 반응 지표, 간기능 검사, 방사선검사 결과를 분석하였다.

4. 통계

연령은 평균연령 \pm 표준편차로 측정값을 표시하였다. 통계분석

은 IBM SPSS Statistics ver. 24.0 (IBM Co., Armonk, NY, USA)을 이용하였으며, 연속 변수의 비교에는 Student *t*-test를, 빈도 변수의 비교에는 chi-square test를 이용하였고, 마이코플라스마 폐렴과 관련된 독립적 연관인자들의 분석에는 단변량 분석에서 유의한 차이를 보인 변수들에 대하여 다변량 로지스틱 회귀분석(multiple logistic regression analysis)의 후진형 축차변수선택법(backward stepwise regression method)과 그룹 간 성향점수 매칭(propensity score matching) 분석을 시행하였다. Receiver operating characteristics (ROC) curves를 이용하여 PCR 양성 마이코플라스마 폐렴 진단에 있어 혈청 IgM index의 유용성을 평가하였으며, 상관분석은 Pearson 상관계수(Pearson correlation coefficient)를 이용하여 분석하였다. 모든 분석에서 *P* 값이 0.05 미만인 경우를 유의한 것으로 판단하였다.

Table 1. Demographic and clinical features and laboratory findings of study subjects

Variable	All patients (n=90)	<i>M. pneumoniae</i> PCR		<i>P</i> -value	<i>M. pneumoniae</i> IgM		<i>P</i> -value
		Positive (n=62)	Negative (n=28)		Positive (n=58)	Negative (n=32)	
Age (yr)	5.7 \pm 3.7	6.4 \pm 3.6	4.2 \pm 3.5	0.080	6.0 \pm 3.5	5.1 \pm 4.0	0.261
Male sex	37 (41.1)	25 (67.6)	12 (32.4)	0.172	22 (37.9)	15 (46.9)	0.503
Hospital days	5.5 \pm 4.0	6.0 \pm 4.7	4.5 \pm 1.3	0.137	6.2 \pm 4.9	4.2 \pm 1.0	0.003
Symptoms							
Fever before admission (day)	4.9 \pm 2.3	5.6 \pm 2.1	3.4 \pm 2.1	<0.001	5.5 \pm 2.2	3.8 \pm 2.1	0.001
Fever after admission (day)	1.9 \pm 2.7	2.2 \pm 3.1	1.4 \pm 1.3	0.068	2.3 \pm 3.2	1.3 \pm 1.1	0.082
Total fever duration (day)	6.9 \pm 3.7	7.7 \pm 3.7	4.7 \pm 2.5	<0.001	7.8 \pm 3.8	5.1 \pm 2.6	0.001
Cough before admission (day)	5.4 \pm 3.0	5.9 \pm 2.7	4.3 \pm 3.3	0.001	5.9 \pm 2.8	4.6 \pm 3.2	0.046
Peak temperature ($^{\circ}$ C)	38.6 \pm 0.8	38.7 \pm 0.7	38.5 \pm 1.0	0.413	38.5 \pm 1.5	38.6 \pm 0.9	0.413
Lobar/segmental pneumonia	46 (51.1)	36 (58.1)	10 (35.7)	0.048	33 (56.9)	13 (40.6)	0.139
Unilateral infiltration	47 (52.2)	37 (59.7)	10 (35.7)	0.038	33 (56.9)	14 (43.8)	0.232
Extra-pulmonary symptoms	13 (14.4)	12 (19.4)	1 (3.6)	0.049	2 (6.3)	11 (19)	0.100
Pleural effusion	11 (12.2)	9 (14.5)	2 (7.1)	0.492	9 (15.5)	2 (6.3)	0.199
Steroid use	61 (67.8)	47 (75.8)	14 (50.0)	0.015	46 (79.3)	15 (46.9)	0.002
O ₂ need	12 (13.3)	5 (8.1)	7 (25.0)	0.029	6 (10.3)	6 (18.8)	0.262
Positive RV PCR	36 (40.0)	19 (30.6)	17 (60.7)	0.013	21 (36.2)	15 (46.9)	0.248
Laboratory findings							
WBC (10/ μ L)	9.5 \pm 4.9	9.8 \pm 5.3	9.0 \pm 4.0	0.788	10.1 \pm 5.3	8.6 \pm 4.1	0.179
Neutrophils (%)	64.1 \pm 14.4	66.6 \pm 12.5	58.5 \pm 17.0	0.056	66.3 \pm 12.8	60.0 \pm 16.5	0.047
Lymphocyte (%)	25.4 \pm 12.1	23.0 \pm 9.6	30.8 \pm 15.1	0.027	23.4 \pm 10.2	29.0 \pm 14.4	0.058
Monocyte (%)	8.4 \pm 3.2	7.9 \pm 3.0	9.6 \pm 3.4	0.052	8.0 \pm 2.9	9.3 \pm 3.6	0.068
Eosinophil (%)	2.0 \pm 3.7	2.4 \pm 4.2	0.9 \pm 1.5	0.003	2.6 \pm 4.4	0.7 \pm 1.1	0.002
ESR (mm/hr)	37.9 \pm 19.2	39.1 \pm 20.3	35.3 \pm 16.5	0.599	39.4 \pm 20.7	35.3 \pm 16.3	0.333
CRP (mg/dL)	4.5 \pm 4.9	4.8 \pm 5.2	3.9 \pm 4.1	0.705	4.7 \pm 5.2	4.2 \pm 4.2	0.664
AST (IU/L)	36.2 \pm 17.7	35.8 \pm 19.4	37.1 \pm 13.6	0.621	36.8 \pm 19.7	35.0 \pm 13.5	0.644
ALT (IU/L)	26.9 \pm 34.7	25.0 \pm 25.7	31.1 \pm 49.5	0.960	26.3 \pm 26.6	28.0 \pm 46.5	0.826
Serum MP IgM (index)	2.9 \pm 3.0	3.9 \pm 3.0	0.8 \pm 1.3	<0.001	4.3 \pm 2.8	0.4 \pm 0.2	<0.001

Values are presented as mean \pm standard deviation or number (%).

MP, *Mycoplasma pneumoniae*; PCR, polymerase chain reaction; RV, respiratory virus; WBC, white blood cells; ESR, erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase.

결 과

1. 환자의 특성

총 대상 환자 90명의 연령 분포는 3세부터 15세까지로, 평균연령은 5.7세였고, 남아가 37명으로 41.1%를 차지하였다(Table 1). 평균 입원 기간은 5.5일, 평균 입원 전 발열 기간은 4.9일이었다. 방사선검사 결과, 대엽성(lobar) 및 분절성(segmental) 폐렴 환자가 46명(51.1%), 한쪽 폐만을 침범한 폐렴 환자가 47명(52.2%)이었다. 입원 기간 중 시행한 마이코플라스마 중합효소연쇄반응 양성군은 62명(68.9%)으로, 호흡기 바이러스 중합효소연쇄반응 양성군은 36명(40%)에 비하여 높은 비율을 보였다. 마이코플라스마 중합효소연쇄반응 음성군에서 호흡기 바이러스 양성률은 60.7%로 전체에 비하여 높은 비율을 보였고, 검출된 바이러스는 human rhinovirus, respiratory syncytial virus, parainfluenzavirus, adenovirus 순이었다.

2. 마이코플라스마 PCR, 혈청 IgM 양성군의 임상 양상

1) 중합효소연쇄반응 양성군

총 90명의 대상 환자 중 62명의 마이코플라스마 중합효소연쇄반응 양성 폐렴 환자에서 입원 전 발열 기간(5.6 ± 2.1 days vs. 3.4 ± 2.1 days, $P < 0.001$) 및 총 발열 기간(7.7 ± 3.7 days vs. 4.7 ± 2.5 days, $P < 0.001$), 대엽성 및 분절성 폐렴(58.1% vs. 35.7%, $P = 0.048$), 한쪽 폐를 침범한 경우(59.7% vs. 35.7%, $P = 0.038$), 그리고 발진, 복통, 두통 등의 폐 외 동반 증상(19.4% vs. 3.6%, $P = 0.049$) 비율이 음성군에 비하여 높았다. 중합효소연쇄반응 양성군에서 음성군에 비하여 혈청 마이코플라스마 IgM의 평균값이 통계적으로 유의하게 높은 것으로 나타났다(3.9 ± 3.0 vs. 0.8 ± 1.3 , $P < 0.001$).

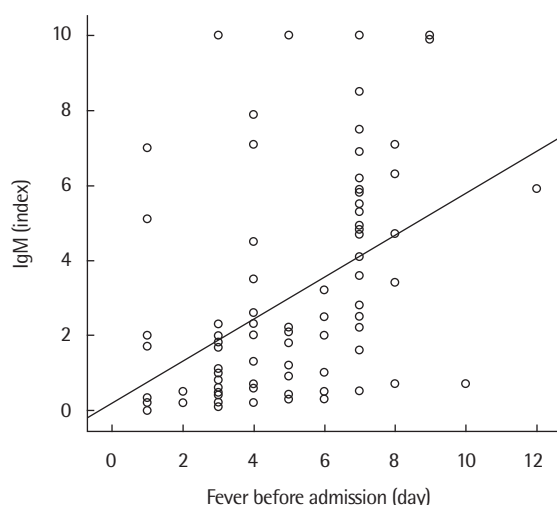


Fig. 1. Correlation of the fever duration before admission with serum *Mycoplasma pneumoniae* IgM index in all patients (Pearson correlation coefficient $r = 0.438$, $P < 0.001$).

2) 혈청 마이코플라스마 IgM 양성군

총 58명의 혈청 IgM 양성 환자에서 항체 음성 환자군에 비하여 평균 입원 기간(6.2 ± 4.9 days vs. 4.2 ± 1.0 days, $P = 0.003$), 입원 전(5.5 ± 2.2 vs. 3.8 ± 2.1 , $P = 0.001$) 및 총 발열 기간(7.8 ± 3.8 days vs. 5.1 ± 2.6 days, $P = 0.001$)이 길었으며, 입원 당일 말초혈액검사상 호산구 비율이 IgM 양성군 환자에서 유의하게 높았다($2.6\% \pm 4.4\%$ vs. $0.7\% \pm 1.1\%$, $P = 0.002$). 입원 전 발열 기간과 혈청 IgM index 수치와의 연관성 분석을 위하여 Pearson correlation coefficients로 상관관계를 분석하였으며, 입원 전 발열 기간이 길수록 IgM index 값이 증가하였다($r = 0.438$, $P < 0.001$) (Fig. 1).

3) 혈청 마이코플라스마 IgM index의 ROC 분석

ROC 분석을 이용하여 PCR 양성 마이코플라스마 폐렴에 대한 혈청 IgM index 분석 결과, AUC 0.892로 혈청 IgM은 통계적으로 유의한 진단적 예측 인자였으며, 혈청 IgM index cutoff 값은 1.05일 때 가장 높은 민감도(83.9%)와 특이도(85.7%)를 보였다($P < 0.001$) (Fig. 2).

4) 혈청 마이코플라스마 IgM의 민감도, 특이도와 양성예측도, 음성예측도

마이코플라스마 PCR 양성 환자군 분석 결과, 총 62명 중 53명에서 혈청 IgM 검사 양성이었으며, PCR 음성 환자 28명 중 23명에서 혈청 IgM 검사가 음성으로 나타났다(Table 2). 마이코플라스마 PCR 양성을 기준으로 한 혈청 IgM 검사의 민감도, 특이도, 양성 예측도, 음성 예측도는 각각 85.5%, 82.1%, 91.4%, 71.9%였으며, 양성 검정우도비(positive likelihood ratio)는 4.79였다(Table 3).

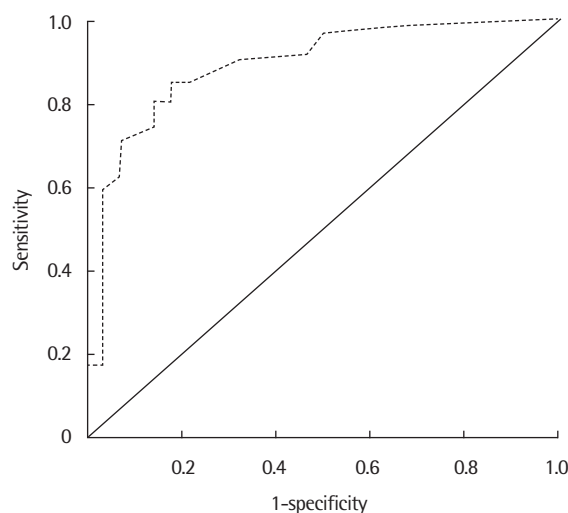


Fig. 2. Receiver operating characteristic curve for serum *M. pneumoniae* (MP) IgM index in the diagnosis of MP pneumonia. The optimal cutoff values for serum MP IgM index were 1.05 (area under the curve, 0.892; sensitivity 83.9%, specificity 85.7%; $P < 0.001$).

Table 2. Relationship between serum *Mycoplasma pneumoniae* (MP) PCR and IgM antibodies of all study subjects (n=90, $P<0.01$)

MP IgM antibodies	MP PCR		Total
	Positive	Negative	
Positive	53 (58.9)	5 (5.6)	58 (64.4)
Negative	9 (10.0)	23 (25.6)	32 (35.6)
Total (n=90)	62 (68.9)	28 (31.1)	90 (100)

Values are presented as number (%).
PCR, polymerase chain reaction.

Table 3. Diagnostic values of serum *Mycoplasma pneumoniae* (MP) IgM antibodies with a MP PCR as the gold standard

	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	PLR
MP IgM antibodies	85.5	82.1	91.4	71.9	4.79

PCR, polymerase chain reaction; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; PLR, positive likely hood ratio.

5) 마이코플라스마 PCR, 혈청 IgM 양성 폐렴의 임상적 예측 인자

마이코플라스마 PCR 및 혈청 IgM 검사의 단변량 분석에서 확인된 유의한 개별 임상 양상들을 동시에 변량으로 적용하여, 단계별로 마이코플라스마 검사 양성 폐렴 예측에 기여 정도가 낮은 임상적 인자를 제거하는 후진식 다변량 회귀분석을 실시하였다. 분석 결과, 마이코플라스마 PCR과 혈청 IgM 양성군에서 공통적으로 입원 전 발열 기간이 통계적으로 유의한 예측 인자로 추정되었다 (odds ratio [OR], 1.60; 95% confidence interval [CI], 1.11–2.31; $P=0.013$; OR, 1.42; 95% CI, 1.11–1.82; $P=0.005$). 마이코플라스마 PCR 음성군과 양성 두 그룹 간 유의한 차이를 보이는 입원 전 발열 기간 등을 성향점수 매칭한 후 IgM 양성 OR 값을 비교하였으며, 그 결과 매칭 전과 후 IgM 양성 확률이 모두 유의한 것으로 나타났다 (Table 4). 이 외에 PCR 양성군에서 폐 외 동반 증상(OR, 11.40; 95% CI, 1.07–121.10; $P=0.044$)과 IgM index 수치(OR, 2.61; 95% CI, 1.44–4.73; $P=0.002$)가 유의한 예측 인자로 나타났다.

고 찰

이번 연구의 목적은 소아의 마이코플라스마 폐렴 환자에서 초기에 결과를 얻을 수 있는 검사 방법인 중합효소연쇄반응과 혈청 IgM 검사를 비교 분석하고, PCR 양성 마이코플라스마 폐렴 환자를 대상으로 혈청 IgM 검사의 진단적 유용성을 평가하고자 하였다.

혈청 IgM 검사에 관한 연구들에서 초회 검사의 민감도는 46%–78%, 특이도는 80%–98%로 보고되며,^{25,26} 이 연구에서 혈청 IgM 검사의 민감도와 특이도는 각각 85.5%, 82.1%로 기존 연구들에 비하여 높은 것으로 나타났으나, 혈청 IgM 검사법과 gold standard에 연구들마다 차이가 있어 명확한 비교에는 제한점이 있다. 혈청

Table 4. Propensity score matching and multivariable Analysis of clinical features and laboratory findings of *Mycoplasma pneumoniae* PCR positive pneumonia

Characteristic	Adjusted odds ratio	95% CI	P-value
Crude analysis			
IgM positivity	27.09	8.80–99.34	<0.001
Matched analysis*			
IgM positivity	13.50	3.69–60.68	<0.001
Multivariable analysis†			
Fever duration before admission	1.60	1.11–2.31	0.013
Unilateral infiltration	3.50	0.90–13.57	0.070
Extrapulmonary symptoms	11.40	1.07–121.10	0.044
O ₂ need	0.12	0.01–1.12	0.062
Eosinophil (%)	1.25	0.93–1.67	0.140
IgM titer (index)	2.61	1.44–4.73	0.002

PCR, polymerase chain reaction; CI, confidence interval.

*Matched on age, fever before admission, cough before admission, lobar/segmental pneumonia, unilateral infiltration, O₂ need, extrapulmonary symptoms, Lymphocyte, eosinophil. †Adjusted for fever before admission, cough before admission, lobar/segmental pneumonia, unilateral infiltration, O₂ need, extrapulmonary symptoms, Lymphocyte, eosinophil.

마이코플라스마 IgM은 발병 기간에 따라 혈청 역가가 증가하며 감염 일주일 이후부터 의미 있게 증가하는 것으로 알려져 있는데,²⁶ 이 연구에서 혈청 IgM 양성군의 평균 발열 기간은 5.5일, 평균 기침 기간 수는 5.9일로 증상 발생 후 수일이 경과한 이후에 혈청 IgM의 측정이 이루어졌기 때문으로 추측할 수 있으며, 전체 환자군을 대상으로 한 혈청 IgM과 발열 기간 간의 Pearson 상관관계 분석에서도 의미 있는 양의 상관관계를 나타냈다(Fig. 2).

급성 감염의 지표로 이용되는 혈청 IgM은 감염 초기에는 나타나지 않을 수 있고, 재감염의 경우 20%까지 위음성이 보고되며, 다른 종과의 교차반응에 의한 위양성이 있을 수 있고 현성 감염 이후 1년까지도 혈청 내에 존재할 수 있어 특이도가 낮다고 알려져 있다.^{27,28} 수년에 걸쳐 마이코플라스마 감염이 반복적으로 이루어진 성인 환자의 경우, 최근 현성 감염에도 혈청 IgM의 상승이 없을 수 있으나, 소아의 경우 재감염의 빈도가 낮아 성인에 비하여 IgM 증가가 특징적이라고 알려져 있고,²⁹ 이 연구에서도 중합효소연쇄반응과 혈청 IgM 검사의 일치 백분율이 84.4%로 높았으며 80% 이상의 높은 민감도와 특이도를 보였다. 또한 마이코플라스마 중합효소연쇄반응을 gold standard로 한 ROC 분석에서 혈청 IgM index 값은 1.05에서 가장 높은 민감도(83.9%)와 특이도(85.7%)를 보여 현재 ELISA의 양성 판정 기준인 index 0.9보다 다소 높은 수치를 적용하는 것이 혈청학적 진단에 효과적이라고 할 수 있다.

마이코플라스마 중합효소연쇄반응은 특정 유전자를 검출하여 균의 존재를 확인할 수 있고, ATPase, P1 adhesin, 16S rRNA region 등이 primer로 사용되며^{19,29} 이 연구에서는 ATPase 유전자를 이용하였다. 급성 감염 후 수년까지 위 양성을 보일 수 있으며 감염

과 보균 상태를 감별할 수 없다는 단점이 있으나,²⁹ 한 번의 검체 채취를 통하여 비교적 높은 민감도와 특이도를 가지며, 항체 형성 이전 시기부터 검출 가능하므로 혈청학적 검사보다 조기 진단이 가능하다는 장점이 있다.

중합효소연쇄반응 검사는 구인후 면봉 검체, 비인후 흡인액, 객담 등 검체의 종류에 따라 민감도가 78%–92%까지 다양하게 보고되었다.^{25,30} 이 연구에서 이용한 구인후 면봉 검체의 경우, 소아 환자에서는 기타 검사 방법에 비하여 비교적 쉽게 검체를 얻을 수 있다는 장점이 있고, 객담 검체에 비하여 더 높은 민감도를 보이기도 하였다.³¹ 또한 비인후 검체와의 비교에서는, 구인후 면봉 검체가 하기도 검체에 가깝고 균의 집락율이 높으며, PCR 저해(inhibition)를 일으킬 수 있는 기타 물질의 함량이 적어 비인후 검체에 비하여 민감도가 높다고 보고되었다.^{32,33} 이번 연구에서도 58명의 IgM 양성 환자 중 PCR 음성 결과를 보인 환자는 단 5명(8.6%)이었고, 이 중 한 명의 환자를 제외하면 IgM index 값이 1.1–2.2 사이로 낮았으며 3명의 환자에서 바이러스가 검출되었으므로, 혈청 IgM의 위양성 가능성을 배제할 수 없다.

비전형폐렴의 임상 양상을 토대로 마이코플라스마 폐렴을 조기 진단하기 위한 연구들이 이루어졌다. Japanese Respiratory Society scoring system에 관한 연구에는 환자의 연령, 동반 질환, 기침 양상, 청진 소견, 세균감염의 증거, 일반 혈액검사 등과 같은 6개의 임상 지표를 중합하여 마이코플라스마 폐렴을 세균성 또는 기타 바이러스 폐렴과 조기에 감별할 수 있다고 보고하였다.²¹ 이번 연구에서 살펴본 바에 의하면, 마이코플라스마 중합효소연쇄반응 양성 폐렴 환자에서 입원 전 및 총 발열 기간, 대엽성 및 분절성폐렴, 한 쪽 폐엽의 침범, 폐 외 동반 증상, 말초 혈액 호산구 분율 등이 통계적으로 의미 있는 임상적 특징이었으며, 다변량 회귀분석 결과 입원 전 발열 기간은 중합효소연쇄반응과 혈청 IgM 양성을 기준으로 하였을 때 두 경우 모두 마이코플라스마 폐렴에서 유의하게 긴 것으로 나타났다. 이를 토대로 60.7%에서 바이러스가 검출된 마이코플라스마 음성 폐렴군에 비하여, 마이코플라스마 양성 폐렴군에서 특징적 임상 양상이 존재함을 알 수 있었다. 입원 당시 마이코플라스마 폐렴이 의심되고 발열 기간이 긴 환자들을 대상으로 선택적으로 스테로이드를 투여하였으며, 중합효소연쇄반응 양성군과 IgM 양성군의 경우 스테로이드를 사용한 환자가 각각 75.8%, 79.3%로 음성군 50.0%, 46.9%에 비하여 높았다.

전통적으로는 기관지 폐렴 또는 간질성, 망상 소견이 마이코플라스마에서 특징적이라고 알려져 있으나^{29,34} 소아의 세균성폐렴의 빈도가 감소함에 따라 대엽성폐렴에서 마이코플라스마가 차지하는 비율이 증가하고 있으며, 국내 연구에 따르면 2015년 대유행에서는 마이코플라스마 폐렴 환자 중 대엽성폐렴의 비율이 73.4%까지 보고된 바 있다.³⁵ 따라서 이 연구 결과는 마이코플라스마 폐렴에서 대엽성, 분절성폐렴의 경우 긴 발열 기간, 폐 외 증상 등 합병증을

동반한 심한 임상 경과를 보인다는 기존 연구 결과들과 일치한다고 볼 수 있다.^{3,36}

이번 연구는 단일 기관에서 시행한 연구로, 마이코플라스마 중합효소연쇄반응을 gold standard로 하였으며 배양법과 같은 확진 검사를 시행하지 않았으므로 중합효소연쇄반응의 위음성 가능성을 배제할 수 없다는 한계점이 있다. 현재까지 존재하는 마이코플라스마의 다양한 진단 방법 중 어느 한 가지로 모든 위양성과 위음성을 배제하기는 어렵기 때문에, 많은 연구들에서 두 가지 이상 검사의 조합을 통하여 진단하기를 권고하고 있으며,^{25,37,38} 한 연구에서는 비인후 흡인액 PCR과 혈청 IgM capture immunoassay 검사의 조합을 통하여 진단적 민감도가 95%까지 증가한다고 보고하였다.³⁷ 이 연구에서는 구인후 면봉 PCR 양성 마이코플라스마 폐렴 환자를 대상으로 혈청 IgM ELISA 검사의 진단적 유용성을 확인하였고, index titer (>1.05)를 적용하는 것이 효과적임을 확인하였다. 중합효소연쇄반응은 혈청 IgM이 나타나기 전 시기의 PCR 양성 환자들을 조기에 진단 가능하다는 장점이 있고, IgM index titer를 적용하면 PCR 음성이면서 위양성인 환자를 배제할 수 있으므로, 혈청 IgM과 PCR 두 가지 검사 결과를 모두 고려하여 진단할 경우, 단일 결과를 기준으로 하는 것에 비하여 보다 많은 수의 환자를, 효과적으로 진단 가능하다고 할 수 있다. 기존 연구에 비하여 인후 면봉 검체 PCR을 시행하여 IgM 검사의 진단적 가치를 알아보았다는 점, 혈청 ELISA IgM index cutoff를 제시하였다는 점 등은 이 연구의 차별점이라고 할 수 있다.

따라서 이번 연구를 통하여, 혈청 IgM ELISA index 검사는 PCR 양성 마이코플라스마 폐렴의 진단에 매우 민감하고 신속한 검사 방법이며, 임상적으로 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각한다.

REFERENCES

1. Liu WK, Liu Q, Chen DH, Liang HX, Chen XK, Chen MX, et al. Epidemiology of acute respiratory infections in children in Guangzhou: a three-year study. *PLoS One* 2014;9:e96674.
2. He XY, Wang XB, Zhang R, Yuan ZJ, Tan JJ, Peng B, et al. Investigation of *Mycoplasma pneumoniae* infection in pediatric population from 12,025 cases with respiratory infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;75:22-7.
3. Yang EA, Gang MH, You SY, Kim JH, Lee JH. Clinical characteristics of children with lobar pneumonia caused by *Mycoplasma pneumoniae*. *Pediatr Allergy Respir Dis* 2012;22:256-64.
4. Park GY, Lee YI, Shin M, Park JO, Kim CH. Clinical differences according to radiological patterns in childhood *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *Allergy Asthma Respir Dis* 2013;1:362-9.
5. Kim KW, Kim KE. *Mycoplasma* and *chlamydia* infection in Korea. *Korean J Pediatr* 2009;52:277-82.
6. Izumikawa K, Izumikawa K, Takazono T, Kosai K, Morinaga Y, Nakamura S, et al. Clinical features, risk factors and treatment of fulminant *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia: a review of the Japanese literature. *J Infect Chemother* 2014;20:181-5.
7. Pellán M, Bastian C, Gaudelus J, Delacourt C, de Pontual L. Pulmonary

- necrotizing cavity caused by *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Arch Pediatr* 2013;20:1158-9.
8. Mishra R, Cano E, Venkatram S, Diaz-Fuentes G. An interesting case of mycoplasma pneumonia associated multisystem involvement and diffuse alveolar hemorrhage. *Respir Med Case Rep* 2017;21:78-81.
9. Izumikawa K. Clinical features of severe or fatal *Mycoplasma pneumoniae* Pneumonia. *Front Microbiol* 2016;7:800.
10. Narita M. Classification of extrapulmonary manifestations due to *Mycoplasma pneumoniae* Infection on the basis of possible pathogenesis. *Front Microbiol* 2016;7:23.
11. Topcu Y, Bayram E, Karaoglu P, Yis U, Guleryuz H, Kurul SH. Coexistence of myositis, transverse myelitis, and Guillain Barré syndrome following *Mycoplasma pneumoniae* infection in an adolescent. *J Pediatr Neurosci* 2013;8:59-63.
12. Khoury T, Svirri S, Rmeileh AA, Nubani A, Abutbul A, Hoss S, et al. Increased rates of intensive care unit admission in patients with *Mycoplasma pneumoniae*: a retrospective study. *Clin Microbiol Infect* 2016;22:711-4.
13. Hon KL, Leung AS, Cheung KL, Fu AC, Chu WC, Ip M, et al. Typical or atypical pneumonia and severe acute respiratory symptoms in PICU. *Clin Respir J* 2015;9:366-71.
14. Morozumi M, Takahashi T, Ubukata K. Macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*: characteristics of isolates and clinical aspects of community-acquired pneumonia. *J Infect Chemother* 2010;16:78-86.
15. Lee E, Cho HJ, Hong SJ, Lee J, Sung H, Yu J. Prevalence and clinical manifestations of macrolide resistant *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in Korean children. *Korean J Pediatr* 2017;60:151-7.
16. Youn YS, Lee SC, Rhim JW, Shin MS, Kang JH, Lee KY. Early additional immune-modulators for *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children: an observation study. *Infect Chemother* 2014;46:239-47.
17. Tamura A, Matsubara K, Tanaka T, Nigami H, Yura K, Fukaya T. Methylprednisolone pulse therapy for refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children. *J Infect* 2008;57:223-8.
18. Yan Y, Wei Y, Jiang W, Hao C. The clinical characteristics of corticosteroid-resistant refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children. *Sci Rep* 2016;6:39929.
19. Qasem JA, Khan ZU, Shiji G, Mustafa AS. Polymerase chain reaction as a sensitive and rapid method for specific detection of *Mycoplasma pneumoniae* in clinical samples. *Microbiol Res* 2002;157:77-82.
20. Miyashita N, Kawai Y, Kato T, Tanaka T, Akaike H, Teranishi H, et al. Rapid diagnostic method for the identification of *Mycoplasma pneumoniae* respiratory tract infection. *J Infect Chemother* 2016;22:327-30.
21. Yin YD, Zhao F, Ren LL, Song SF, Liu YM, Zhang JZ, et al. Evaluation of the Japanese Respiratory Society guidelines for the identification of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *Respirology* 2012;17:1131-6.
22. McIntosh K. Community-acquired pneumonia in children. *N Engl J Med* 2002;346:429-37.
23. Lee K, Kim WJ, Kim DL, Kim JH, Chong MS. Seroprevalences of *Mycoplasma pneumoniae* IgM antibodies among children living in Jeju island, Korea. *Lab Med Online* 2014;4:146-51.
24. Miyashita N, Kawai Y, Tanaka T, Akaike H, Teranishi H, Wakabayashi T, et al. Diagnostic sensitivity of a rapid antigen test for the detection of *Mycoplasma pneumoniae*: comparison with real-time PCR. *J Infect Chemother* 2015;21:473-5.
25. 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.
26. Liu FC, Chen PY, Huang FL, Tsai CR, Lee CY, Lin CF. Do serological tests provide adequate rapid diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection? *Jpn J Infect Dis* 2008;61:397-9.
27. Sillis M. The limitations of IgM assays in the serological diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *J Med Microbiol* 1990;33:253-8.
28. Talkington DF, Shott S, Fallon MT, Schwartz SB, Thacker WL. Analysis of eight commercial enzyme immunoassay tests for detection of antibodies to *Mycoplasma pneumoniae* in human serum. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004;11:862-7.
29. Waites KB, Talkington DF. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:697-728.
30. Nadal 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.
31. Honda J, Yano T, Kusaba M, Yonemitsu J, Kitajima H, Masuoka M, et al. Clinical use of capillary PCR to diagnose *Mycoplasma pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 2000;38:1382-4.
32. Kakuya F, Kinebuchi T, Okubo H, Matsuo K. Comparison of oropharyngeal and nasopharyngeal swab specimens for the detection of *Mycoplasma pneumoniae* in children with lower respiratory tract infection. *J Pediatr* 2017;189:218-21.
33. 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.
34. Hsieh SC, Kuo YT, Chern MS, Chen CY, Chan WP, Yu C. *Mycoplasma pneumoniae*: clinical and radiographic features in 39 children. *Pediatr Int* 2007;49:363-7.
35. Wy HH, Min DH, Kim DS, Park MS, Shim JW, Jung HL, et al. Clinical characteristics of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in Korean children during the recent 3 epidemics. *Allergy Asthma Respir Dis* 2017;5:8-14.
36. Gao J, Yue B, Li H, Chen R, Wu C, Xiao M. Epidemiology and clinical features of segmental/lobar pattern *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia: a ten-year retrospective clinical study. *Exp Ther Med* 2015;10:2337-44.
37. Waris ME, Toikka P, Saarinen T, Nikkari S, Meurman O, Vainionpää R, et al. Diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children. *J Clin Microbiol* 1998;36:3155-9.
38. Thurman KA, Walter ND, Schwartz SB, Mitchell SL, Dillon MT, Baughman AL, et al. Comparison of laboratory diagnostic procedures for detection of *Mycoplasma pneumoniae* in community outbreaks. *Clin Infect Dis* 2009;48:1244-9.