

면역능력이 저하된 소아에서 Multiplex RT-PCR에 의한 비인두 상주균 검출의 의의

충남대학교 의과대학 소아과학교실

김경희 · 신지혜 · 김선영

The Clinical Significance of Nasopharyngeal Carriages in Immunocompromised Children as Assessed

Kyung Hee Kim, M.D., Ji Hye Shin M.D. and Sun Young Kim, M.D.

Department of Pediatrics, School of Medicine, Chungnam National University, Daejeon, Korea

Background: The aim of this study was to determine the prevalence of asymptomatic nasopharyngeal carriages in immunocompromised children by using a multiplex reverse transcriptase-polymerase chain reaction (mRT-PCR) assay kit.

Methods: We obtained clinical samples by nasopharyngeal swabs from 42 patients with underlying immune deficiency from May 20, 2008 to May 22, 2008. The children were free from signs of respiratory tract infections at the time of sampling. Isolated cDNA was extracted and after this the DNA was examined using a multiplex primer set for pneumonial bacteria detection (Seeplex[®] PneumoBacter ACE Detection, Seegene, Seoul, Korea). The amplified PCR products were separated on 2% agarose gels and stained with ethidium bromide and a screentape system (Lab901, Scotland, UK) and then they were compared. The nasopharyngeal swab culture was done simultaneously and this was compared with the results of mRT-PCR.

Results: A total of 42 patients (males: 24, females: 18) aged between 1.2 and 16.3 years (median: 9.2 years) were included in this study. The mRT-PCR detected bacteria (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydia pneumoniae*, and *Bordetella pertussis*) in 28 patients (66.6%). Of these 28 patients, 4 patients (14.3%) showed more than 2 bacteria: 2 patients were positive for two bacteria (*S. pneumoniae* and *H. influenzae*, *H. influenzae* and *B. pertussis*) and 2 patients were positive for three bacteria (*S. pneumoniae*, *B. pertussis* and *C. pneumoniae*, *C. Pneumoniae*, *H. influenzae* and *B. pertussis*). *S. pneumoniae* was cultured in one patient (2.4%).

Conclusions: The mRT-PCR is a sensitive tool for the detection of the asymptomatic nasopharyngeal carriages. The clinical significance of the bacteria detected in immunocompromised patients by mRT-PCR will need further evaluation. (*Korean J Hematol* 2009;44:220-226)

Key Words: Nasopharynx, Immunocompromized patients, Reverse transcriptase polymerase chain reaction

접수 : 2009년 11월 4일, 수정 : 2009년 12월 1일

승인 : 2009년 12월 4일

교신저자 : 김선영, 대전광역시 중구 문화로 33

☎ 301-721, 충남대학교 의과대학 소아과학교실

Tel: 042-280-7252, Fax: 042-255-3158

E-mail: nel1205@hanmail.net, sunyoung@cnuh.co.kr

본 연구는 보건복지가족부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(과제고유번호: A080588-18).

Correspondence to : Sun Young Kim, M.D.

Department of Pediatrics, School of Medicine, Chungnam National University

33, Munhwaro, Jung-gu, Daejeon 301-721, Korea

Tel: +82-42-280-7252, Fax: +82-42-255-3158

E-mail: nel1205@hanmail.net, sunyoung@cnuh.co.kr

This study was supported by a grant of the Korea Healthcare technology R&D Project, Ministry for Health, Welfare and Family Affairs, Republic of Korea (A080588-18).

서 론

비인두 부위는 여러 가지 잠재적 호흡기 감염균의 상주 장소로 대표적인 세균으로는 *Streptococcus pneumoniae*와 *Haemophilus influenzae* 등이 있다.^{1,2)} 상주균에 의한 증상은 대부분의 경우 미미하지만 간혹 주위 조직으로 침범하여 중이염 및 폐렴 등을 유발할 수 있고 드물게는 패혈증이나 수막염 같은 침습적 감염을 일으킬 수도 있다.^{1,2)} 특히 면역능력이 저하된 환자들에서는 피부와 점막의 방어벽이 약하여 상주균이 병원균이 될 수 있는 가능성이 더 높아지며, 단시간에 심각한 폐렴 및 패혈증으로 진행할 수 있어 주의를 요하게 된다.³⁾

소아에서 *S. pneumoniae*는 중이와 부비강 감염의 가장 흔한 원인균으로, 4세 미만의 영유아, 또는 면역능력이 저하된 환자들에서는 패혈증과 수막염 같은 감염을 유발할 위험성이 높는데, 정상 영유아에서의 보균율은 약 52~72%로 알려져 있다.^{4,6)} *H. influenzae*는 1세 이상의 건강한 사람들의 비인두내 정상 세균총으로 존재할 수 있는데 이 중 b 아형은 침습적 감염을 일으킬 수 있으며 정상 소아에서는 3~16%까지 검출이 된다.^{7,8)}

기존에는 병원균의 검출을 위해 세균 배양법이나 혈청학적 방법을 사용하였으나, 시간이 오래 걸리고 정확성이 떨어진다는 단점이 있었다. 이에 비해 한번에 여러 병원균을 동시에 검사할 수 있는 다중 역전사 중합효소연쇄반응법(multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction, mRT-PCR)이 최근 소개되어 호흡기 바이러스에 대한 연구들이 진행되어 왔으며 빠르고 간편할 뿐 아니라 민감도와 특이도가 높아 효과적인 방법으로 인정받고 있지만 호흡기 병원균에 대한 연구는 드물다.⁹⁻¹¹⁾

저자들은 항암화학요법이나 조혈모세포이식을 시행 받고 추적 관찰 중인 면역능력이 저하된 환자들을 대상으로 비인두 분비물을 채취하여 6가지 호흡기 병원균에 대한 mRT-PCR을 시행하고 검출된 병원균들의 임상적 의의를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환자

충남대학교 병원 소아청소년과에서 혈액종양 질환으로 진단받고 항암화학요법을 받았거나 조혈모세포

이식을 시행 후 추적 관찰 중인 환아들과 그 외 면역능력 저하가 의심되는 환자 42명을 대상으로 하였으며, 모두 비인두 분비물 채취 당시 발열은 없었고 심각한 호흡기 감염의 증상도 없었다(Table 1).

2. 방법

1) Deoxyribonucleic acid (DNA) 분리

2008년 5월 20일부터 22일까지 외래로 내원한 환아들에서 멸균 면봉을 사용하여 비점막에서 비인두 분비물을 채취한 후 검체의 1.2 mL를 1.5 mL microcentrifuge tube에 옮겨 13,000 rpm에서 2~5분 동안 원심 분리한 후 침전물을 포함한 300 μL를 Viral DNA/RNA Extraction Kit (Intron, Seoul, Korea)를 사용하여 Ribo-Nucleic Acid (RNA)를 분리한 후 역전사 방법으로 complementary DNA (cDNA)를 얻었다.

2) mRT-PCR

추출한 cDNA를 사용하여 호흡기 병원균을 검사할 수 있는 multiplex primer set (Seeplex® PneumoBacter ACE Detection, Seegene, Seoul, Korea)로 PCR을 진행하였다. PneumoBacter ACE Detection은 6종의 폐렴균 (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Chlam-*

Table 1. Classification of the patients

Classification	No (%)
1. Chemotherapy	
Acute lymphoblastic leukemia	14 (33.3%)
Lymphoma	9 (14.2%)
Wilms tumor	2 (4.8%)
Neuroblastoma	1 (2.4%)
Pilocytic astrocytoma	1 (2.4%)
Ganglioneuroblastoma	1 (2.4%)
Langerhans cell histiocytosis	1 (2.4%)
Hemophagocytic lymphohistiocytosis	1 (2.4%)
2. Post-SCT	
Acute myeloid leukemia	1 (2.4%)
Chronic myeloid leukemia	1 (2.4%)
Fanconi anemia	2 (4.8%)
Wiskott-Aldrich syndrome	1 (2.4%)
Pure red cell anemia	1 (2.4%)
Osteopetrosis	1 (2.4%)
Chronic EBV infection	1 (2.4%)
3. Others	
Cyclic neutropenia	1 (2.4%)
Spleen infarction	1 (2.4%)
Total	42 (100%)

Abbreviations: SCT, stem cell transplantation; EBV, Epstein Barr virus.

ydophila pneumoniae, *Bordetella pertussis*)을 동시에 검출할 수 있는 제품이다. PCR 반응액은 3 μ L의 cDNA, 4 μ L의 5 \times PB ACE PM, 3 μ L의 8-MOP solution, 10 μ L의 2 Multiplex Master Mix로 총 20 μ L가 되도록 하였다. PCR은 94 $^{\circ}$ C에서 15분 반응 후, 94 $^{\circ}$ C 30초, 60 $^{\circ}$ C 1.5분, and 72 $^{\circ}$ C 1.5분의 반응을 40회 반복하였고, 최종적인 연장 반응을 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 실시하였다. 증폭된 반응산물은 재현성을 위해 2% agarose gel과 8개의 검체를 동시에 전기 영동 할 수 있으며 10분 안에 결과를 컴퓨터 화면에 보여 줄 수 있는 전기영동 자동화 시스템인 Screentape system (Lab901, Scotland, UK)에 전기 영동하여 확인하고 두 결과를 비교하였다.

3) 균 배양 검사

대상 환자들에서 멸균 면봉으로 비인두 분비물을 채취하여 이를 Stuart 수송 배지에 넣어 검사실로 운반 후 잠재적 병원균을 검출하기 위하여 균 배양 검사를 시행하였다.

결 과

1. 대상 환자들의 특성

대상 환자들의 연령 중앙값은 9.2세(1.2~16.3)로 남아가 24명(57.2%), 여아가 18명(42.8%)이었으며 이들 중 9명(21.4%)이 조혈모세포이식을 받았다. 이들 중 4명(9.5%)만이 간헐적 기침이 있었던 것 이외에 발열이나 다른 호흡기 감염의 증상은 없었다. 검체 채취 당시 혈액검사를 시행하였으며, 혈색소의 중앙값은 11.4 g/dL (6.6~15.7), 백혈구는 3,955/ μ L (600~12,370), 호중구는 2,015/ μ L (100~8,120), 혈소판은 215,000/

Table 2. Characteristics of the patients

Characteristics	
Age, years, median (min-max)	9.0 (1.0~16.0)
Sex (M/F)	24/18
Laboratory findings	
Hb (g/dL)	11.4 (6.6~15.7)
WBC (/ μ L)	3,955 (600~12,370)
ANC (/ μ L)	2,015 (100~8,120)
Platelet (/ μ L)	215,000 (18,000~610,000)
Symptoms	
Cough, n (%)	4 (9.5%)

Abbreviations: min, minimum; max, maximum; Hb, hemoglobin; WBC, white blood cell; ANC, absolute neutrophil count.

μ L (18,000~610,000)이었다. 검사를 시행하기 한 달 전 항생제를 투여 받은 기왕력이 있는 환아들은 32명(76.2%)이었다(Table 2).

2. mRT-PCR

한 가지 이상의 균이 검출된 환아는 28명으로 66.6%(28/42)의 양성률을 보였으며, *S. pneumoniae*가 9명(21.4%), *H. influenzae*가 10명(23.8%), *C. pneumoniae*가 3명(7.1%)에서 검출되었고 6명(14.3%)에서 *B. pertussis*가 확인되었다. 이들 중 2명(4.8%)에서 두 가지 균이 동시에 검출되었는데 *S. pneumoniae*와 *H. influenzae*가 검출된 환아가 한 명(2.4%)있었고(No 20), *H. influenzae*와 *B. pertussis*가 검출된 환아도 한 명 있었다(No 40). 세 가지 균이 동시에 확인된 환아도 2명(4.8%) 있었는데 *S. pneumoniae*, *H. influenzae*와 *B. pertussis*가 동시에 검출된 환아가 한 명(2.4%)(No 23), *H. influenzae*, *C. pneumoniae*와 *B. pertussis*가 동시에 확인된 환아도 한 명(2.4%) 있었다(No 37)(Fig. 1). *B. pertussis*가 확인된 6명 중 2명에서는 발작적인 기침을 주소로 입원한 병력이 있었으며 이들의 나이는 각각 11세와 15세였다. 결과의 재현성을 위해 screentape system 결과를 2% agarose gel에서 다시 확인하였는데 2명(No. 4, 20)에서는 검체 양이 부족하여 screentape system에서만 검사하고 2% agarose gel에서는 검사를 시행하지 못하였다. 이들 2명을 제외한 40명의 환아들 중 39 (97.5%)명에서는 screentape system과 agarose gel에서의 결과가 일치되었으나, 한 명(2.5%)에서는 screentape system에서 *B. pertussis*가 검출되었으나 agarose gel에서는 확인되지 않았다(No 33)(Fig. 2).

3. 균배양 검사 결과

전체 환아들 중 한 명(2.4%)에서만 *S. pneumoniae*가 확인되었는데 이 환아는 간헐적 기침 외에 다른 호흡기 감염의 증상은 없었다(No. 7).

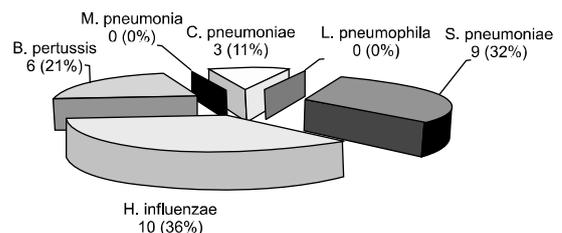


Fig. 1. Detection rate.

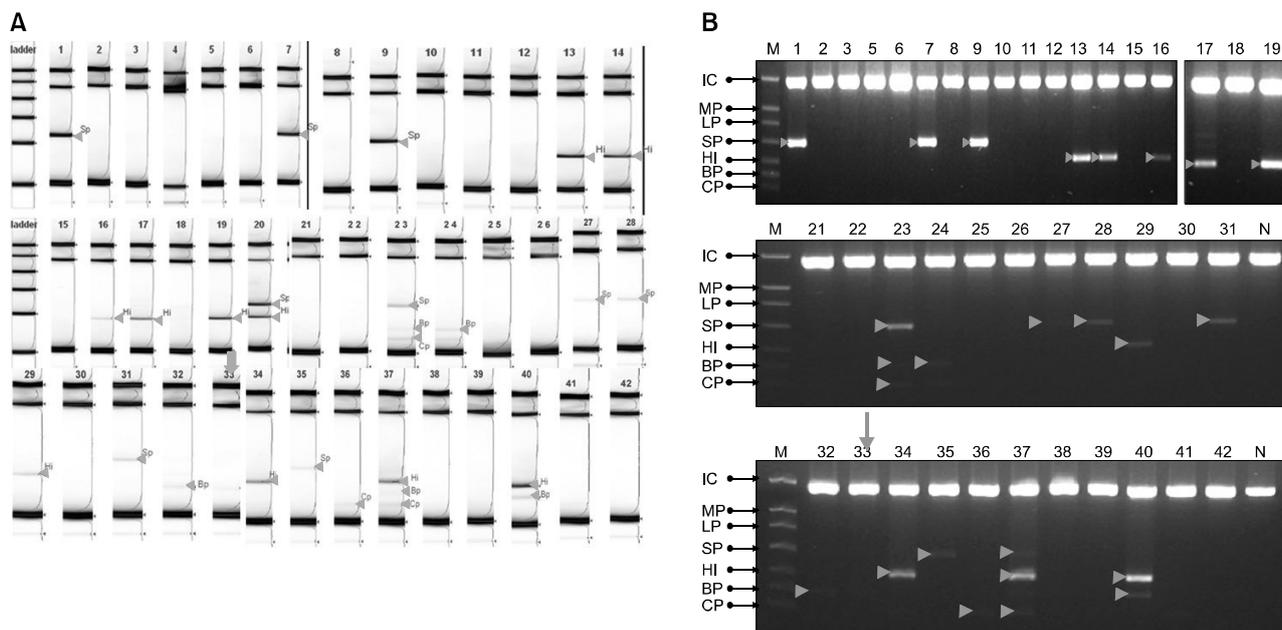


Fig. 2. The results of screentape system (A) and 2% agarose gel (B) by mRT-PCR. The mRT-PCR detected bacteria in 28 (66.6%) patients. 4 (14.3%) patients showed more than 2 bacteria: 2 patients were positive for two bacteria (*S. pneumoniae* and *H. influenzae*, *H. influenzae* and *B. pertussis*) and two patients were positive for three bacteria (*S. pneumoniae*, *B. pertussis* and *C. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *H. influenzae* and *B. pertussis*). In one child (No 33), *B. pertussis* was not demarcated on the 2% agarose gel in contrast to the screentape system (arrow).

고 찰

동일 미생물일지라도 독성과 비독성 균주로 구분하는데, 이들은 1차적으로 인체 점막 세포막에 분포한 구조물과의 친화력 유무에 의해 구별된다. 즉 미생물 막 구조물이 인체 점막 세포막 구조물과 친화력이 없으면 인체에 침입할 수 없는 비독성 균주로 분류하고 친화력이 있으면 결합 후 침입하는 독성 균주로 분류한다. 그러나 인체의 피부와 점막이 외상으로 인해 결손이 생기면 미생물은 결손부위를 통해 직접 침입할 수 있다. 특히 면역능력이 저하된 환자들에서는 피부와 점막의 방어벽이 약하여 상주균이 병원균이 될 수 있는 가능성이 높아진다.^{12,13)}

세균성 호흡기 감염은 면역능력이 저하된 환자들에서 단시간에 심각한 폐렴으로 진행할 수 있으므로 매우 중요하다. 항암화학요법 또는 조혈모세포이식을 받은 환자들이나 비장 절제를 받은 경우 체액성 면역반응이 저하되므로 *S. pneumoniae*와 *H. influenzae*와 같은 피막화된 병원체에 대한 항체 형성에 장애가 초래되어 이들 세균들은 폐렴을 비롯한 호흡기 감염의 주된 원인균이 되고 있다¹⁴⁾. 혈액 종양 질환으로 치료 받

고 있는 환자들에서 대부분의 *S. pneumoniae* 혈행성 감염은 지역사회로부터 온 것으로 추정되며 병원 내 감염은 매우 드물지만 병원 내 감염 대부분은 호중구 감소증이 동반된 환자에서 발생한다고 한다.¹⁵⁾ Yousef 등¹⁶⁾은 조혈모세포이식을 받은 소아와 성인 환자들 7,888명을 대상으로 한 연구에서 침습성 *S. pneumoniae*의 발생율이 약 1,000명당 7명(0.7%)으로 그 감염율이 정상인들보다 낮음을 발견하였는데 그 이유는 미리 예방적 광범위 항생제를 사용하는 경우가 많고 *S. pneumoniae*에 대한 감염이 의심되는 경우 광범위 경험적 항생제 사용이 빈번하기 때문으로 생각된다고 하였다. 또한 동종 조혈모세포이식을 받은 경우(0.9%), 자가 조혈모세포이식을 받은 경우(0.5%) 보다 의미 있게 발생율이 높음을 발견하였는데($P < 0.012$) 이는 이식편 대숙주병의 발생율과 연관이 있었다. 항암화학요법이나 조혈모세포이식을 받은 환자들의 경우 페니실린 감수성인 *S. pneumoniae*에 의한 감염보다 페니실린 내성인 *S. pneumoniae*에 의한 감염에서 치사율이 높을 것이라 생각할 수 있으나 실제로는 큰 차이가 없다고 보고되고 있으며, 예후에 영향을 미친다고 생각되었던 호중구감소증, 조혈모세포이식, 스테로이드 사용, 당뇨, 등도 *S. pneumoniae* 감염에 의한 치사율에 크게 영향을

미치지 않는다. 하지만 적절한 항생제의 치료가 시작되는 시기가 가장 중요하며 빠르면 빠를수록 예후에 영향을 미치는 인자로 가장 중요하게 작용할 수 있다.¹⁷⁻¹⁹⁾

본 연구에서 *S. pneumoniae*의 보균율은 21.4%로 이전의 정상 소아를 대상으로 한 연구들에서 52~72%로 보고한 결과 보다 낮으며 또한 같은 방법으로 저자들이 호흡기 감염의 증상이 없는 소아들에서 시행한 결과인 39.4% 보다 낮았다.^{4,6)} 이는 아마도 본 연구에 포함된 환자들의 대부분이 항암화학요법을 받고 있거나 조혈모세포이식 후의 상태였으므로 검사가 시행되기 한 달 전 항생제를 복용했었던 환자들이 대부분이었기 때문으로 추정된다.

H. influenzae 보균율은 23.8%로 가장 많은 빈도를 차지하는 인후부 상주균으로 나타났는데 *H. influenzae*의 보균율을 조사한 최근의 한 연구결과 전체적으로는 32.4%, b 아형이 7.2%, 다른 피막화된 또는 피막화되지 않은 형태는 7.6%이며, 6~7세 사이의 소아에서는 36.2%로 가장 보균율이 높다고 보고한 바 있다.²⁰⁾ 본 연구 결과 *H. influenzae* 양성율이 연구 대상 환아들 중 가장 높게 나타났는데 *S. pneumoniae*와 함께 *H. influenzae*는 항암화학요법이나 조혈모세포이식을 받은 환자들의 침습성 폐렴과 연관된 세균으로 간과할 수 없는 세균으로 이들에 대한 인지는 중요하다고 하겠다.

*C. pneumoniae*는 비말 감염으로 전염되는데 기관지염, 폐렴 등을 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있다.²¹⁾ *C. pneumoniae*의 보균율에 대해서는 드물기 때문에 정확히 알려진 바가 없으나 본 연구에서는 3명(7.1%)에서 양성으로 나타났으며 임상적으로 특이한 소견은 없었다.

*B. pertussis*의 전형적 증상은 감염되고 나서 3주 이후에 시작되므로 조기 진단이 어렵고 모든 증례에서 *B. pertussis*의 특이적인 증상이 나타나는 것은 아니므로 진단이 어렵다.²²⁾ 확진을 위한 검사법 중 배양 검사는 특이도가 높은 반면 적어도 약 3~6일의 시간이 필요하고 질병 초기에 검체를 채취하기가 어려우며 항생제 치료를 한 경우에는 배양률이 저하되어 민감도가 낮다는 단점도 있다.^{23,24)} 이에 반해 PCR 검사법은 비특이적 양상을 보이는 무증상 환자의 조기 발견을 통한 균의 확산방지, 역학조사, 백신 효율의 평가에 유용하다.^{23,24)} *B. pertussis*의 배양 검사와 PCR의 결과를 비교한 연구 결과에 의하면 PCR의 민감도는 97%인 반면 배양 검사는 58%에 불과했고 특이도는 PCR이 93%, 배양 검사는 100%로 보고된 바 있다.²⁵⁾ 본 연구에서 *B.*

*pertussis*가 검출된 6명의 소아들 중 두 명은 최근 한 달 이내에 밤에 심해지는 기침을 주소로 입원한 병력이 있었으며 4명은 무증상 감염자로 생각되는데 민감도가 높은 PCR 방법을 이용하였으므로 검출이 가능하였다고 생각된다.

본 연구에서 사용한 multiplex primer set는 단시간에 소량의 검체를 이용하여 동시에 6가지 세균을 검사할 수 있고, 민감도와 특이도가 높으며, 결과 해석이 용이하다는 장점이 있으나 단점으로는 항생제 내성 검사를 시행할 수 없고, 10¹/mL도 검사 가능하기 때문에 10³/mL 미만에서 검출되는 균에 대한 임상적 의미를 분석하기 어렵다는 단점이 있다. mRT-PCR 검사는 가래, 기관지 세척액, 비인두 흡인물 등을 모두 검체로 사용할 수 있고, 매우 적은 양으로도 검사가 가능하다. 핀란드에서 검체간의 비교를 한 결과 가래에서 100%의 검출율을 보였다면, 비인두 흡인물에서는 73%의 양성율을 보여 가래를 정확하게 얻어낼 수 없는 소아의 경우 비인두 흡인물도 좋은 검체가 될 수 있을 것이다.²⁵⁾

Screen tape system은 간편하고, 빠르며 정확하게 DNA 전기 영동을 하기 위해 고안된 장치로 젤의 농도에 따른 결과의 상이함 등을 최소화 시킴과 동시에 컴퓨터를 통한 파일 관리를 통해 정도 관리에도 유용함을 제공하고 있으며 8개의 검체를 한 번에 검사하여 10분 만에 컴퓨터를 통해 결과값을 보여주기 때문에 간편하고 결과도 2% agarose gel과 비교 시 별 차이가 없어 향후 편리하게 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서 검출된 균들은 각각의 아형에 대한 검사가 포함되어 있지 않으므로 병원균으로 해석해야 하는지에 대해 재고의 여지가 있을 수 있으며 감염 발생 후 항생제 선택에 있어서도 내성 검사 결과가 포함되어 있지 않으므로 임상적으로 결과를 이용하는 데에도 제한이 있을 것으로 생각된다.

결론적으로 면역능력이 저하된 환아들에서 mRT-PCR은 비인두 상주균의 동정에 있어서 균 배양 검사보다 민감도가 높은 방법으로 생각되며 *S. pneumoniae*와 *H. influenzae*는 가장 빈도가 높은 상주균이었다. 그러나 비인두 상주균 mRT-PCR 결과와 임상적 의미와의 연관성에 대해서는 좀더 많은 연구와 추적 관찰이 필요할 것으로 생각된다.

요 약

배경: 호흡기 감염의 증상이 없는 면역능력이 저하된 환아들을 대상으로 다중 역전사중합효소연쇄반응

법(multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction; mRT-PCR)을 이용하여 비인두 상주균의 이환율을 알아보려고 하였다.

방법: 2008년 5월 22일부터 25일까지 33명의 소아들을 대상으로 비강 면봉채취법으로 검체를 채취하였으며, 이들은 검체 채취 당시 심각한 호흡기 감염의 증상이 없었다. 모아진 검체에서 cDNA를 추출한 후 multiplex primer set (Seplex[®] PneumoBacter ACE Detection, Seegene, Seoul, Korea)로 PCR을 진행하였다. 증폭된 반응산물은 2% agarose gel과 전기 영동 자동화 시스템인 screentape system (Lab901, Scotland, UK)에 각각 전기 영동하여 확인하였다.

결과: 전체 42명의 환아들 중 남아는 24명 여아는 18명이었으며, 나이는 1.2세에서 16.3세로 중앙값은 9.2세였다. mRT-PCR 결과 28명(66.6%)의 소아들에서 양성을 보였으며(*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *C. pneumoniae*, *B. pertussis*), 이들 중 4명(14.3%)에서 2가지 이상의 균이 검출되었다. 균의 종류로는 2명에서는 두 가지 세균이(*S. pneumoniae*와 *H. influenzae*, *H. influenzae*와 *B. pertussis*) 두 명에서는 세 가지 세균이(*S. pneumoniae*, *B. pertussis*와 *C. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *H. influenzae*와 *B. pertussis*) 동시에 검출되었다.

결론: mRT-PCR은 비인두 상주균의 동정에 있어서 균 배양 검사보다 민감도가 높은 방법으로 생각된다. 하지만 비인두 상주균에 대한 PCR 결과가 면역능력이 저하된 소아들의 임상 양상과 어느 정도 일치할지에 대해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Neto AS, Lavado P, Flores P, et al. Risk factors for the nasopharyngeal carriage of respiratory pathogens by Portuguese children: phenotype and antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae*. *Microb Drug Resist* 2003;9:99-108.
- 2) Marchisio P, Esposito S, Schito GC, et al; Hercules Project Collaborative Group. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in healthy children: implications for the use of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine. *Emerg Infect Dis* 2002;8:479-84.
- 3) Ljungman P, Engelhard D, de la Cámara R, et al. Vaccination of stem cell transplant recipients: recommendations of the Infectious Diseases Working Party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant* 2005;35:737-46.
- 4) Woolfson A, Huebner R, Wasas A, Chola S, Godfrey-Faussett P, Klugman K. Nasopharyngeal carriage of community-acquired, antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in a Zambian paediatric population. *Bull World Health Organ* 1997;75:453-62.
- 5) Yagupsky P, Porat N, Fraser D, et al. Acquisition, carriage, and transmission of pneumococci with decreased antibiotic susceptibility in young children attending a day care facility in southern Israel. *J Infect Dis* 1998;177:1003-12.
- 6) Boken DJ, Chartrand SA, Goering RV, Kruger R, Harrison CJ. Colonization with penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in a child-care center. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:879-84.
- 7) Sekhar S, Chakraborti A, Kumar R. *Haemophilus influenzae* colonization and its risk factors in children aged <2 years in northern India. *Epidemiol Infect* 2009;137:156-60.
- 8) Gómez E, Moore A, Sánchez J, et al. The epidemiology of *Haemophilus influenzae* type b carriage among infants and young children in Santo Domingo, Dominican Republic. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:782-6.
- 9) Gruteke P, Glas AS, Dierdorp M, Vreede WB, Pilon JW, Bruisten SM. Practical implementation of a multiplex PCR for acute respiratory tract infections in children. *J Clin Microbiol* 2004;42:5596-603.
- 10) Freymuth F, Vabret A, Cuvillon-Nimal D, et al. Comparison of multiplex PCR assays and conventional techniques for the diagnostic of respiratory virus infections in children admitted to hospital with an acute respiratory illness. *J Med Virol* 2006;78:1498-504.
- 11) Mahony J, Chong S, Merante F, et al. Development of a respiratory virus panel test for detection of twenty human respiratory viruses by use of multiplex PCR and a fluid microbead-based assay. *J Clin Microbiol* 2007;45:2965-70.
- 12) Obaro S, Adegbola R. The pneumococcus: carriage, disease and conjugate vaccines. *J Med Microbiol* 2002;51:98-104.
- 13) Bruyn GA, Zegers BJ, van Furth R. Mechanisms of host defense against infection with *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 1992;14:251-62.
- 14) Kim KH, Lee JE, Whang IT, et al. Serogroup and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolated from oropharynx in children attending day care center. *J Korean Pediatr Soc* 2002;45:346-53.

- 15) Chou MY, Brown AE, Blevins A, Armstrong D. Severe pneumococcal infection in patients with neoplastic disease. *Cancer* 1983;51:1546-50.
- 16) Youssef S, Rodriguez G, Rolston KV, Champlin RE, Raad II, Safdar A. *Streptococcus pneumoniae* infections in 47 hematopoietic stem cell transplantation recipients: clinical characteristics of infections and vaccine-breakthrough infections, 1989-2005. *Medicine (Baltimore)* 2007;86:69-77.
- 17) Kim BN, Bae LG, Kim MN, et al. Risk factors for penicillin resistance and mortality in Korean adults with *Streptococcus pneumoniae* bacteremia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:35-42.
- 18) Watanabe H, Sato S, Kawakami K, et al. A comparative clinical study of pneumonia by penicillin-resistant and -sensitive *Streptococcus pneumoniae* in a community hospital. *Respirology*. 2000;5:59-64.
- 19) Kumashi P, Girgawy E, Tarrand JJ, Rolston KV, Raad II, Safdar A. *Streptococcus pneumoniae* bacteremia in patients with cancer: disease characteristics and outcomes in the era of escalating drug resistance (1998-2002). *Medicine (Baltimore)* 2005;84:303-12.
- 20) Torun MM, Namal N, Demirci M, Bahar H. Nasopharyngeal carriage and antibiotic resistance of *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* and *Moraxella catarrhalis* in healthy school children in Turkey. *Indian J Med Microbiol* 2009;27:86-8.
- 21) Kim KW, Kim KE. Mycoplasma and chlamydia infection in Korea. *Korean J Pediatr* 2009;52:277-82.
- 22) Cagney M, MacIntyre CR, McIntyre P, Torvaldsen S, Melot V. Cough symptoms in children aged 5-14 years in Sydney, Australia: non-specific cough or unrecognized pertussis? *Respirology* 2005;10:359-64.
- 23) Dragsted DM, Dohn B, Madsen J, Jensen JS. Comparison of culture and PCR for detection of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* under routine laboratory conditions. *J Med Microbiol* 2004;53:749-54.
- 24) André P, Caro V, Njamkepo E, Wendelboe AM, Van Rie A, Guiso N. Comparison of serological and real-time PCR assays to diagnose *Bordetella pertussis* infection in 2007. *J Clin Microbiol* 2008;46:1672-7.
- 25) Saukkoriipi A, Leskelä K, Herva E, Leinonen M. *Streptococcus pneumoniae* in nasopharyngeal secretions of healthy children: comparison of real-time PCR and culture from STGG-transport medium. *Mol Cell Probes* 2004;18:147-53.