

클라미디아

최 태 열

한양대학교 의과대학 임상병리학교실

Chlamydia

Tae Yeal Choi, M.D.

Department of Clinical Pathology, Hanyang University College of Medicine
Seoul, Korea

클라미디아는 비운동성의 그람 음성 세균으로 살아 있는 세포 내에서만 살수 있다. 독특한 생활사를 가지고 있으며 세포질 내 봉입체를 형성하며 증식한다. 바이러스와 다른 점은 DNA, RNA를 함께 가지고 있고 그람음성세균의 세포막 구조를 가지고 있어 세균으로 분류되었다. 뿐만 아니라 광범위 항생제에 감수성이 있으며, 균체에 필요한 에너지는 숙주 세포로부터 획득하여 살아가는 세균이다.

세균학적 특성

분 류 : *Chlamydiales* order, *Chlamydiaceae* family, *Chlamydia* genus로 분류되며, *Chlamydia trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *C. pecorum*의 4가지 종이 있다. *C. trachomatis*는 형 별로 A, B, Ba, C-K, L1-L3가 있어 15가지의 type이 있으며, 면역 반응에 따라 B complex(B, Ba, D, E, L1, L2), C complex(A, C, H, I, J), intermediate group(F, G, K, L3)의 subspecies로 분류할 수가 있다. *C. trachomatis*는 sulfonamide에 민감하고, 봉입체 내에 glycogen like 물질이 있어 iodine 염색으로 암갈색의 봉입체를 관찰할 수가 있다. *C. psittaci*에는 몇 종의 아종이 있으며 앵무병(psittacosis), 조류병(ornithosis) 등을 일으키며, 사람에서는 이차 감염을 일으켜 폐렴, 및 심내막염 등의 전신 질환을 일으키는 수가 있다. *C. psittaci*는 sulfonamide에 내성이고, 봉입체를 형성하나 iodine에는 염색이 안 된다. *C. pneumoniae*는 1 종밖에 없으며, 기본체(elementary body)가 서양배

모양(pear-shaped)으로 주로 사람에 병원성을 나타낸다 [1]. *C. trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae*의 DNA는 10% 미만의 상동성을 나타낸다[2].

생활사 : *C. trachomatis*는 감수성이 있는 세포의 표면에 heparan sulfate-like molecule에 붙는다. 이 것은 기본체(elementary body: EB)의 receptor와 세포의 특수 receptor 사이의 가교 역할을 한다. *Chlamydiae*가 세포에 부착 된 후 어떻게 세포 내로 들어가는 지는 정확하게 밝혀지지 않았으나 receptor-mediated endocytosis에 의하여 이루어지는 것으로 알려져 있다. 세포 내에 들어간 EB는 endosome내에 들어가 망상체(reticulate body: RB)로 변하여 대사 작용이 활발히 이루어져 감염 8 시간부터는 이분열하기 시작한다. 감염 18-24 시간부터는 RB가 다시 EB로 변하여 새로운 감염형이 된다. EB는 감염력이 있으며 DNA양이 많으나, RB는 대사 작용이 활발하고 RNA 함량이 높다.

항원성 : *Chlamydiae*는 group-(or genus-specific), species-specific, 그리고 type-specific 항원을 갖고 있다. Group complement fixation (CF) antigen은 genus의 모든 종에 분포하고 있으며 lipopolysaccharide (LPS)이다. 이 LPS는 다른 그람음성세균의 LPS와 비슷하여 일부 세균과 교차반응이 있을 수 있으나 혈청학적 진단에 영향을 미치지 않는다. 주외막단백(major outer membrane protein: MOMP)은 42 kDa 단백질로 species specific, 및 type-specific 항원을 갖고 있다. MOMP에는 미세면역현광 (micro-immuno-fluorescence: m-IF) 검사법으로 15가지 이상의 type-specific한 항원이 존재함이 밝혀졌고, MOMP gene의 DNA 염기서열 분석으로 4개의 variable domain에 type-specific한 epitope이 존재함이 밝혀졌다. 그 외에 60kDa heat shock protein은 cysteine-rich structural protein으로 면역학적으로 species-specific

원 본 접수 : 2000년 1월 8일

교신저자 : 최 태 열

(471-701) 경기도 구리시 교문동 249-1

한양대학교 구리병원 임상병리과

TEL : 0346) 560-2572 FAX : 0346) 560-2585

E-mail : jokang@email.hanyang.ac.kr

epitope를 가지고 있고 immunopathology에 중요한 역할을 한다. *C. psittaci*는 m-IF 법이나 중화시험으로 여러 가지의 혈청형이 있음이 증명되었으며, *C. pneumoniae*는 아직까지 1가지의 혈청형이 있는 것으로 되어있다.

임상적 특징

*C. trachomatis*의 혈청형 A, B, Ba는 트라코마를 일으켜 실명의 원인이 된다. 혈청형 C-K는 성매개성 질환을 일으키며 혈청형 D 또는 E가 제일 많이 발견된다. 남자에게는 비임균성 요도염, 부고환염 등을 일으키고, 여자에서는 요도염, 자궁 경관염, 자궁 내막염, 경관염 등을 일으켜 불임의 원인이 되기도 한다. 소아에서는 감염된 산모의 산도를 통하여 영유아성 폐렴, 봉입체성 결막염 등을 일으킨다. 혈청형 L1-L3는 성병성 림프육아종 (lymphogranuloma venereum: LGV)을 일으킨다. *C. psittaci*는 주로 조류에 감염을 일으켜 유산을 일으키나, 사람에서는 주로 감염된 조류의 배설물(분변)에 접촉함으로써 감기 몸살 정도의 호흡기 감염을 일으킨다. *C. pneumoniae*는 사람에게 주로 감염을 일으킨다. 학동기 전후(5-6세)에 초감염을 일으키기 시작하여 30-40대에는 50-60%의 감염이 혈청학적으로 증명된다[3]. 주로 사람이 많이 모이는 학교, 신병 훈련소 등에서 유행을 일으킨다. 감염 경로는 호흡기를 통하여 이루어지며 인후염, 기관지염 및 폐렴 등을 일으킨다. 최근에는 *C. pneumoniae*의 항원이 죽상경화증 환자의 죽종에서 발견되고 있어 이 방면에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다[4].

검체 채취

*C. trachomatis*는 검체를 채취한후 적절한 수송배지를 사용하여 수송 및 보관만 잘하면 배양이 그렇게 어려운 것은 아니다. 수송배지는 주로 2SP (sucrose phosphate), SPG (sucrose phosphate glutamate)에 항생제, 항진균제, bovine serum을 첨가하여 사용한다. 항생제는 주로 aminoglycoside 계통을 사용하고, tetracyclines, macrolides, penicillin 및 광범위 항생제는 사용하지 않는다. 보관은 검체채취 24시간 이내는 4℃에 보관 할 수 있으나, 그 이상은 -60℃이하에 보관하여야 한다. *C. psittaci*는 감염력이 강하여 몇 달 동안 주위를 오염시킬 수 있으므로 검체 채취 후 즉시 분리 수거하여 냉동 보관하여야 한다. *C. pneumoniae*는 4℃에서 24시간 보관 후 70%정도의 생존율을 나타내나, 검체 채취 후 즉시 배양을 하던가 -60℃ 이하에 보관한다. 검체로 효소면역 검사나 직접 면역형광염색을 실시할 경우는 반드시 제조회사의 지시에 따라야 하며 면봉 및 수송배지도 제조회사가 공급한 상품화된 것을 사용하여야 한다. 세포학적 검사를 실시할 경우는 검체를 슬라이드

에 부착시키고 적절한 고정액(직접 면역형광염색은 cold acetone or methanol, Giemsa염색은 methanol)을 사용하여야 한다. 검체 채취는 농성의 물질은 일반 세균 배양에 사용하고, 요도나 경관 내 면봉을 깊숙이 넣고 상피세포(원주세포)가 떨어져 나오게끔 강하게 검체를 채취하여야 한다. 검체 채취 시 wooden stick을 사용하면 *Chlamydia*에 독작용이 있으므로 cotton, dacron, calcium alginate swab의 사용이 권장되고 있다. Cytobrush가 자궁경부 검체 채취에 사용되어 좋은 결과를 나타내나 임신부에서는 사용하지해서는 안 된다. *Chlamydia* 검출에서 무엇보다 중요한 것은 검체 채취자가 얼마나 정성과 목적의식을 갖고 검체를 잘 채취하느냐에 달려있다. 나팔관에서 검체 채취는 주사기로 검체를 흡입하고, 폐렴이 있는 환자는 비인강에서 검체를 흡입하거나 인후에서 면봉으로 검체를 채취한다. LGV는 bubo의 농을 주사기로 채취하여 멸균된 생리식염수로 희석하고 항생제 처리를 한 후에 세포 배양을 한다. 배양이 아닌 경우(효소면역검사, nucleic acid amplification)는 소변으로도 진단이 가능하나 소변을 2시간 정도 참았다가 처음 나오는 소변 4-5 mL를 받아서 검사한다. 소변을 2,000 g 이상으로 원심하여 침사를 완충액에 넣고 설명서에 따라 검사를 실시한다. *C. pneumoniae*는 객담이나 비인강 및 인후에서 검체를 채취한다. *C. psittaci*는 모든 검체에서 균 검출이 가능하나 대부분의 검체가 일반 세균에 오염되어 있으므로 적절한 항생제가 첨가된 배지로 배양하여야 한다.

배양 분리

안 전 : *C. trachomatis*는 검사실에서 취급하기에 그렇게 위험한 세균은 아니다 그러나 간혹 검사자에서 결막염 등이 생길 수 있으므로 검사자는 손씻기를 잘 하여야 한다. LGV는 검사자에게 폐렴이나 전신 질환을 일으킬 수가 있다. *C. psittaci*는 검사자에게 감염이 쉽게 일어나기 때문에 주위로의 오염에 상당히 조심하여야 한다. *C. pneumoniae*에 의한 검사실 오염도 보고된 바가 있다.

배 양 : *Chlamydiae*는 embryonated hen egg yolk sac에서 잘 자란다. 그러나 원심분리를 사용하면 여러 종류의 세포에 감염시킬 수가 있다. 일반적으로 monkey kidney, McCoy, HeLa cell 등을 사용한다. *C. pneumoniae*는 HeLa 또는 HEp-2 cell이 더 많이 이용된다. 특히 HEp-2 cell은 봉입체가 다소 작기는 하나 많은 양의 봉입체가 포도송이 모양을 하고 자라 균 증폭에 많은 수확을 할 수가 있다. 검체를 diethylaminoethyl-dextran (DEAE-D, 20-30ug/mL)으로 처리한 단층세포에 접종(2,000 g에서 1시간 동안 원심분리)한 후 cycloheximide (0.5-2 ug/mL)가 함유된 유지배지(maintenance medium)를 넣고, 5% CO₂, 35℃ 배양기에

서, 48-72 시간 동안 배양하여 염색(monoclonal antibodies/iodine/Giemsa)한다. 이때 *C. psittaci*와 *C. pneumoniae*는 iodine에 염색되지 않는 것이 특징이다.

직접 검경법

*C. trachomatis*의 cytologic examination은 세포 내 봉입체를 여러 가지 염색 방법을 이용하여 진단할 수 있으나 민감도 및 특이도가 낮아 최근에는 monoclonal antibody로 대체 사용하고 있다.

Fluorescent Antibody Technique : 직접 면역형광염색법으로 검체 내 EB를 염색하여 진단하는 것으로 75-85% 민감도, 98-99%의 특이도를 나타낸다. Monoclonal antibody는 *Staphylococcus aureus*와 교차 반응이 있을 수 있으나 EB의 크기로 구분할 수가 있다. 진단용으로는 LPS에 대한 monoclonal antibody가 사용된다. *C. trachomatis* 만 진단할 경우는 MOMP에 대한 monoclonal antibody를 사용하여 진단한다.

Giemsa Staining Technique : 봉입체성 결막염의 경우는 monoclonal antibody가 없는 기관은 Giemsa 염색을 사용 할 수가 있다. 비교적 민감도도 높고 붉은 자색의 봉입체를 쉽게 발견 할 수가 있다. 슬라이드에 검체를 펼쳐 바르고 공기 중에서 말린 후 즉시 순수 methanol에 5분간 고정하고 당일 새로 만든 Giemsa시약으로 충분히 염색하고 95% ethanol로 살짝 과염색을 제거하고 검경한다. 염색 시간은 1 시간이면 충분하나 세포배양의 염색은 1-5 시간 연장하여 염색하여야 세포 내 핵과 쉽게 구별이 된다.

비배양 검사

Enzyme Immunoassay : *C. trachomatis* 항원을 찾기 위하여 여러 종류의 효소면역검사가 상품화 되어 있으나 민감도 면에서 세포배양법 보다 낮고 감염률이 낮은 집단에서는 특이도 또한 낮다. LPS에 대한 monoclonal 또는 polyclonal antibody를 사용하고 있다. 일반적으로 특이도는 97% 정도 되나 확인검사를 함께 실시하면 특이도를 99.5%까지 향상시킬 수 있다. 확인 검사는 blocking antibody를 사용하거나 전혀 다른 원리의 검사(직접 면역형광염색법 등)를 사용하여 진단한다.

Nucleic Acid Probes : 많은 종류의 nucleic acid probe이 개발되어 사용되고 있으나 현재 국내에 소개된 probe test (PACE 2; Gene-Probe, Inc., San Diego, Calif)는 DNA-RNA hybridization으로 *Chlamydia* RNA를 검출하는 것으로 민감도가 효소면역법이나 세포배양법 보다 좋은 편이다. 그러나 상품화된 kit이 고가인 것이 문제이다.

Amplified Nucleic Acid Tests : *C. trachomatis*

를 검출을 위하여 개발된 핵산 증폭은 PCR (Amplicor *C. trachomatis* assay; Roche molecular Systems, Branchburg, N.J.), ligase chain reaction (LCx *C. trachomatis* assay; Abbott Laboratories, Abbott Park, Ill), transcription-mediated amplification (TMA) (Gen-Probe Amplified *C. trachomatis* [AMP-CT] assay; Gen-Probe, Inc) 등이 개발되어 국내에 소개되고 있다. PCR과 LCR은 cryptic plasmid의 nucleic acid를 증폭하는 것이고, TMA는 rRNA를 직접적으로 증폭하는 것이다. 이들 방법은 이론적으로 1 copy까지 증폭할 수 있을 정도로 예민하나, 검체 채취 방법 및 방해 물질 등의 영향으로 실질적인 민감도는 다소 떨어지는 것 같다. 핵산 증폭 방법은 현재까지 개발된 다른 방법보다 예민하고 사용하기 편리하나 항시 오염에 대한 주의를 기울여야 한다. 또한 이 방법들은 첫 소변으로도 검사를 실시할 수가 있어 검체 채취에 따른 어려움도 극복할 수가 있으나 아직까지는 요도에서 직접 검체를 채취하는 것보다는 민감도가 낮다.

Rapid TEST : Point of care test (POCT)의 일환으로 많은 rapid test가 개발되어 국내에 소개되고 있으나 대부분 민감도(75-85%)가 기존의 방법 보다 떨어진다. 그러나 검사 방법이 간단하고 신속하여 임상에 소개될 수는 있으나 기존 검사실에서는 진단용으로 대체하여 사용되어서는 안된다.

혈청학적 검사

*Chlamydia*의 혈청학적으로 많이 사용하는 검사는 보체결합반응(complement fixation: CF)으로 *C. psittacosis*의 진단에 사용된다. 일정 기간을 두고 검사하여 항체가가 4배이상 증가할 때 현증으로 진단한다. *C. pneumoniae*에도 적용할 수 있으나 혈청 반전이 24주 이상이나 되므로 임상에 적용하기가 어렵다. LGV에서는 첫 번 검사 항체가가 1:64 이상이면 임상 증상을 가지고 있는 환자의 경우는 현증으로 진단할 수가 있다. 1:16이상은 *Chlamydia*에 과거 노출된 경험이 있는 것으로 간주하여도 무방하다. Micro-IF 검사는 *Chlamydia* 감염의 혈청학적 진단에 매우 예민한 검사이다. IgG 항체 역가의 증가뿐만 아니라 IgM 항체를 증명하여 최근 감염을 진단할 수가 있다. 트라코마, 봉입체성 결막염 및 요도염에서도 진단 가치가 있으나 성적으로 활발한 연령에서는 기본 항체 역가가 높아(>60%) 결과 해석에 어려움이 있다[5]. 영유아의 폐렴은 IgM 항체의 역가가 1:32 이상이면 진단 가치가 있으나 IgG 항체는 생후 9개월까지는 산모의 IgG 항체를 반영하므로 진단에 어려움이 있다. Micro-IF를 이용한 *C. pneumoniae* 감염 진단은 항체가가 4배 이상 상승하거나, IgG 항체가가 1:512 이상, IgM 항체 역가가 >1:16 이상인 경우 현증으로 진단할 수 있다. IgG 항체

역가가 1:16 ~ <1:512는 과거 감염으로 진단한다. *C. trachomatis*와 *C. pneumoniae* 감염의 혈청학적 진단으로 효소면역법이 각기 개발되어 상품화되었으나 진단적 효용성은 아직 불확실하다.

어떤 방법이 제일 좋은가?

세포 배양법이 가장 좋은 방법으로 되어 있으나 실질적으로 여러 가지 방법을 전부 동원하면 75-85%의 민감도를 나타낸다. 효소면역법은 다량의 검체를 처리할 수 있는 장점이 있으나 배양법에 비하면 80-90%의 민감도를 나타낸다. 뿐만 아니라 간혹 위양성을 나타내어 특이도가 배양법에 비하여 떨어진다. 최근 들어 핵산증폭법이 가장 예민한 방법으로 소개되고 있으며 배양보다 20-30% 더 민감한 것으로 나타났다. PCR법도 100%의 민감도를 나타내지 못하는 것은 검체 내에 방해 물질이 존재할 수 있기 때문이다. 그러나 99.7% 이상의 특이도를 나타내기 때문에 따로 확인 검사가 필요 없다. 단점은 다른 방법에 비하여 검사 당 단가가 비싼 것이다. 그러나 법적인 문제나 sexual abuser에서는 반드시 배양법을 실시하여 검사하는 것이 중요하다. *C. pneumoniae* 감염의 진단은 상품화된 방법이 없어 배양법으로 진단할 수밖에 없으나 양성률이 낮아서 진단에 직접 사용하기에는 어려움이 있다. 혈청학적으로 m-IF법이 사용되고 있으나 다량의 항원을 정제하여야 하는 어려움이 있어 특수연구 기관에서나 사용이 가능하다. 핵산 증폭 방법이 현재 많은 검사실에서 이용되고 있으나 객담의 경우 위양성이 많이 관찰되어 탐지자(probe)를 이용한 교잡법(hybridization)을 겸용하여야 한다[6].

항생제 감수성

항생제 감수성검사법은 아직 표준화 된 방법이 없으나 일반적으로 shell vial에서 항생제가 단계적으로 희석된 배지에서 *Chlamydia*를 배양하면서 최소억제농도를 결정한다. *Chlamydia*에는 tetracycline, doxycycline, erythromycin, azithromycin, rifampin, ofloxacin, clindamycin 등이 검사 상 유효한 항생제이다[7].

참 고 문 헌

1. 이소라, 금동국, 최태열. *Chlamydia pneumoniae*의 전자현미경적 관찰. 대한임상병리학회지 1997;17:147-54.
2. 최태열, 김덕언, 금동국. *Chlamydia pneumoniae*의 *omp1* 유전자 염기서열 분석. 대한임상병리학회지 1999;19:529-34.
3. Choi TY, Kim DU, Kim SK, Kang JO. Prevalence of specific antibodies to *Chlamydia pneumoniae* in Korea. *Am J Clin Microbiol* 1998;36:3426-8.
4. 이세, 김정현, 최태열. 관상동맥질환과 만성 클라미디아 페렴균 감염과의 관계. 순환기 1999;10:1076-81.
5. 김선의, 최태열, 김신경, 김경숙. *Chlamydia trachomatis* 감염의 혈청학적 진단. 대한임상병리학회지 1999;19:522-28.
6. 최태열, 김덕언, 최미연. Touch down PCR을 이용한 *Chlamydia pneumoniae* 검출. 대한임상병리학회지 1998;18:570-76.
7. Schachter J, Stamm WE. *Chlamydia*. In: Murry PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, White