

Comparison of Nasopharyngeal Aspirates and Nasopharyngeal Flocked Swabs for Respiratory Virus Detection

Heungsup Sung¹, Jung Oak Kang², Nam Yong Lee³, Chang Kyu Lee⁴,
Han-Sung Kim⁵, Kyu Man Lee⁵, Eui Chong Kim⁶

Department of Laboratory Medicine, ¹Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine,

²Hanyang University College of Medicine, ³Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine,

⁴Korea University College of Medicine, Seoul, ⁵Hallym University College of Medicine, Chuncheon,

⁶Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Nasopharyngeal aspirate (NPA) is known as the best specimen for accurate diagnosis of viral respiratory infections in pediatric patients, but the procedure is very annoying. Recently introduced flocked swabs have been reported to be easy to obtain a good quality specimen and comfortable to patients. The purpose of this study was to compare the sensitivities between NPA and nasopharyngeal flocked swabs (NPFS) for detection of respiratory viruses in children.

Methods: For this study, 111 hospitalized children with acute respiratory tract infections were recruited. NPA and NPFS were performed in parallel from each patient. NPFS were always collected after NPA. Specimens were tested for six common respiratory viruses in triplicate using indirect immunofluorescence (IIF), viral cultures, and multiplex reverse transcription PCR (RT-PCR).

Results: The proportion of specimens inadequate for

IIF was higher in NPA (23.4%) than NPFS (5.4%). According to the consensus positive, the positive rates of NPFS were higher than those of NPA when using IIF (45.7% and 30.6%, $P=0.048$) and culture (38.7% and 27.9%, $P=0.004$). However, the false-positive rates of NPFS were higher than those of NPA when using IIF (12.4% and 1.2%, $P=0.004$). The positive rates of NPFS and those of NPA were not different in multiplex RT-PCR (67.6% and 55.9%, $P=0.055$).

Conclusion: The higher sensitivity of IIF for NPFS specimens and of culture for respiratory viruses and the similar sensitivities in multiplex PCR could make them an alternative to NPA samples, especially in physician clinics or emergency rooms. (*Ann Clin Microbiol* 2015; 18:119-125)

Key Words: Nasopharynx, Specimen collection, Respiratory tract infections, Virus

INTRODUCTION

급성 호흡기 감염은 모든 연령층에서 가장 흔한 질병의 하나이며, 특히 소아에서 외래 방문 및 입원의 주요 원인이다[1,2]. 호흡기 감염의 원인으로 세균, 바이러스, *Mycoplasma*, *Chlamydia* 등이 있으며, 이 중 바이러스가 차지하는 비율이 소아에서는 60% 이상이다[3]. 바이러스성 호흡기 감염은 세균성 감염과의 감별이 필요하고, 원인 바이러스가 다르더라도 유사한 증상과 징후를 보여 임상 증상만으로 원인 바이러스를 구분하기 어렵기 때문에 검사실적 진단이 필요하다[4,5]. 바이러스성 호흡기 감염의 신속하고 정확한 진단을 위해서 검체 채취의 시기

및 채취 방법이 매우 중요하다[6,7]. 특히 면역형광법(immunofluorescent method, IF)으로 호흡기 바이러스를 검체에서 직접 검출하는 경우에는 적절한 호흡기 상피세포가 많아야 된다. 전통적으로 호흡기 바이러스 검출을 위해 코인두 흡인물(nasopharyngeal aspirates, NPA)이 가장 좋은 검체로 알려져 왔으나, 음압 장치와 훈련된 시술자가 필요하기 때문에 외래 환자에게 적용하기 어렵고, 입원 환자에서도 검체 채취가 고통스러워 적절한 검체를 얻기가 쉽지 않았다[8-10]. 레이온 재질의 코인두 면봉 검체가 사용되기도 했으나 코인두 흡인물보다 민감도가 낮다는 단점이 있었다[11,12]. 따라서 바이러스성 호흡기 감염을 진단하기 위해 검출 민감도가 높으면서 환자에게 고통을 주

Received 10 August, 2015, Revised 22 October, 2015, Accepted 23 October, 2015

Correspondence: Jung Oak Kang, Department of Laboratory Medicine, Hanyang University Guri Hospital, 153 Gyeongchun-ro, Guri 11923, Korea. (Tel) 82-31-560-2572, (Fax) 82-31-560-2585, (E-mail) jokang@hanyang.ac.kr

© The Korean Society of Clinical Microbiology.

© 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>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

지 않고 손쉽게 좋은 검체를 얻을 수 있는 검체 채취방법이 필요하였다.

미국 Copan사가 출시한 flocked swab은 봉 내에 수직으로 촘촘히 박힌 나일론 섬유가 솔처럼 작용하여 기존의 면봉보다 많은 수의 상피세포를 채취할 수 있으며 채취 방법도 기존의 NPA법보다 용이하여 호흡기 바이러스 검출률을 높일 수 있을 것으로 기대할 수 있다[9,13]. 대한임상미생물학회 바이러스연구회에서는 대표적인 호흡기 바이러스 진단법인 간접면역형광법(indirect immunofluorescent method, IIF)을 이용한 직접항원 검사, 배양법, 핵산증폭법 각각에 대하여 코인두 flocked swab (nasopharyngeal flocked swab, NPFS)으로 채취한 검체와 NPA법으로 채취한 검체의 검체 적절성과 바이러스 검출률을 비교하고자 하였다.

MATERIALS AND METHODS

1. 대상 및 검체 채취

2008년 12월부터 2009년 2월까지 하기도 감염을 주소로 일개 대학병원에 입원한 소아 환자 111명을 대상으로 하였다. 검체 채취 전 보호자의 동의를 받아 검체를 채취하였으며 기관윤리위원회의 승인을 얻은 후 실험을 진행하였다. 입원 당일 환자의 우측 콧구멍에서 NPA를 먼저 채취하였고, 좌측 콧구멍을 통하여 NPFS 검체를 채취하였다. NPA 검체 채취는 음압장치와 양방향 카테터를 사용하였다. 1세 미만의 경우 6 French 카테터를 사용하여 80-100 mmHg의 압력으로 흡인하였고, 1세 이상에서는 8 French 카테터를 사용하여 100-120 mmHg의 압력으로 흡인하였다. NPFS 검체는 제조사(Copan Diagnostics Inc., Murrieta, CA, USA)의 지시대로 콧구멍 입구에서 이주(tragus)까지의 직선 거리를 재어 면봉이 들어갈 길이를 대략 정하였다. 환자의 목을 제쳐서 면봉을 코로 천천히 넣은 후 저항이 느껴지면 3-4회 돌려 분비물 및 상피세포를 충분히 문혔다. 채취된 NPFS은 3 mL의 Universal Transport Medium (UTM, Copan Diagnostics Inc., catalog number 306C)이 든 운반용 튜브에 넣어서 검사실로 운반하였다[9,14]. 검사실에 도착한 NPFS 검체는 30초 동안 vortex한 후 flocked swab을 제거하였다. 검사실에 도착한 NPA 검체는 점액질을 균질화하기 위해 30초 동안 vortex하였다. NPA 및 NPFS 검체 중 바이러스 배양과 다중 reverse transcription (RT)-PCR 검사용 검체는 즉시 소분(aliquot)하여 -70°C 에 보관하였으며, 다중 RT-PCR은 1주 이내에, 바이러스 배양검사는 1개월 이내에 실시하였다.

2. IIF를 이용한 호흡기 바이러스 항원검사

동일 환자에서 두 가지 방법으로 채취한 검체는 인산염완충 생리식염수에 3회 세척한 후 형광현미경 검사용 슬라이드의 각 well에 약 20-30 μL 씩 떨어뜨린 후 건조시켰다. Respiratory

syncytial virus (RSV), influenza A virus (Flu A), influenza B virus (Flu B), parainfluenza virus (PIV)-1, -2, -3, adenovirus (ADV)의 7가지 호흡기 바이러스에 대한 특이 항혈청(Chemicon, Temecula, CA, USA)을 사용하여 IIF로 염색하였고 형광현미경으로 관찰하였다. 현미경의 100배 배율당 20개 미만의 상피세포가 관찰되고 면역형광염색 양성 세포가 없을 때 부적합 검체로 판정하였다[9,15]. 현미경의 400배 배율에서 바이러스 양성 세포 수는 다음과 같이 반정량하였다. 평균 한 개 미만의 양성 상피세포가 관찰되면 1+, 1-10개의 양성 상피세포가 관찰되면 2+, 10-20개의 양성 상피세포가 관찰되면 3+, >20개의 양성 상피세포가 관찰되면 4+로 판독하였다[9].

3. 호흡기 바이러스 배양

호흡기 바이러스 IIF 검사와 다중 RT-PCR 검사는 동일 검사실에서 이루어졌으며, 호흡기 바이러스 배양검사는 위의 두 검사 결과를 모르는 다른 병원 검사실에서 시행되었다. -70°C 에 보관된 R-Mix Too 세포(Diagnostic Hybrids Inc., Athens, OH, USA)를 해동 및 세척하여 48개 shell vial에 분주한 후 35°C 에서 48시간 배양하였다. 배양된 shell vial에 검체 200 μL 를 접종한 후 700 $\times\text{g}$ 에서 60분간 냉장 원심분리한 후 35°C 에서 48시간 배양하였다. RSV, Flu A, Flu B, PIV-1, -2, -3, ADV 동정을 위해 D3 Ultra DFA Respiratory Virus Screening & ID 키트(Diagnostic Hybrids Inc.)를, human metapneumovirus (hMPV) 동정을 위해 D3 DFA metapneumovirus identification 키트(Diagnostic Hybrids Inc.)를 이용하여 직접면역형광 염색 후 형광현미경으로 판독하였다.

4. 호흡기 바이러스 다중 RT-PCR 검사

Prepito Viral NA/gDNA 키트(Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)를 사용하였으며 자동화된 핵산추출기인 Chemagic Prepito-D (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)를 이용하여 제조사의 지침대로 200 μL 검체에서 30 μL 의 바이러스 핵산을 추출하였다. 추출한 RNA 8 μL 를 RevertAid First Strand cDNA Synthesis 키트(Fermentas, Ontario, Canada)로 역전사(reverse transcription, RT)하여 cDNA를 합성하였다. Seeplex RV Detection 키트(Seegene, Seoul, Korea) 내의 ADV, hMPV, coronavirus (HCoV) 229E/NL63, PIV-1, -2, -3형 검출을 위한 A세트와 Flu A, Flu B, RSV A, RSV B, rhinovirus (HRV), HCoV OC43 검출을 위한 B세트 각각에 대한 PCR 반응액을 제조하였다[16]. 제조사의 지침대로 PCR을 시행하였으며 증폭된 반응 산물은 ethidium bromide 0.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 가 포함된 2% agarose gel에서 전기영동하여 키트에 포함된 marker DNA와 비교하여 각 증폭산물의 유무를 판독하였다.

5. 진단 기준 및 통계 분석

쌍으로 채취된 NPA와 NPFS 검체에서 IIF 검사, 다중 RT-PCR, 배양검사 결과를 종합하여 양성으로 판정하였다. 배양의 경우 하나의 검체만 양성인 경우에도 양성으로 판정하였고, NPA 검체와 NPFS 검체에서 동일한 결과이거나 IIF 검사와 다중 RT-PCR 검사에서 동일한 결과일 때 ‘합의 양성’으로 판정하였다. 각 방법의 검출 대상 바이러스 범주가 다르므로, 세 가지 방법 모두에 공통적으로 있는 RSV, Flu A, Flu B, PIV-1, -2, -3 및 ADV만 비교 판정에 사용하였다.

두 채취 방법으로 얻은 양성 세포수 등급의 순서 척도 일치율은 Cohen’s weighted kappa 방법을 이용하였다. IIF 검사의 결과는 짝지어지지 않은 범주형 자료로 chi-square test 또는 Fischer’s exact test를 이용하여 비교하였으며, 바이러스 배양검사와 다중 RT-PCR 검사 결과는 쌍으로 된 자료로 결과를 분석할 때 McNemar’s test를 이용하였다. 모든 P 값은 양방향으로 분석하였으며, $P < 0.05$ 인 경우 통계학적으로 유의하다고 판정하였다. 통계 패키지는 MedCalc 15.8 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium)을 사용하였다.

RESULTS

1. IIF를 위한 NPA와 NPFS 검체 채취법의 검체 적합성

RSV, Flu A, Flu B, PIV, ADV에 대한 IIF 결과 호흡기 상피 세포수가 적으면서 IIF에서 양성 세포가 관찰되지 않았던 부적합 검체 비율은 NPA 검체 23.4% (26/111), NPFS 검체 5.4% (6/111)로 NPA 검체의 부적합 비율이 통계적으로 유의하게 높았다($P < 0.001$).

2. 호흡기 바이러스의 분포

합의 양성을 기준으로 1명의 중복감염을 포함하여 79명(71.2%)에서 총 80개 바이러스가 검출되었다(Fig. 1). RSV가 38개(47.5%)로 가장 많이 분리되었고, Flu A 27개(33.8%), ADV 8개(10.0%), PIV 5개(6.3%), Flu B 2개(2.0%) 순으로 분리되었다

(Fig. 1).

3. IIF를 이용한 호흡기 바이러스 항원검사 양성률

판독이 가능하였던 NPA 85검체 중 호흡기바이러스 양성률은 31.8% (27/85)였으며, NPFS 105개 중 호흡기바이러스 양성률은 58.1% (61/105)이었다. ‘합의 양성’을 기준으로 위양성 검체를 제외하면 NPA검체의 양성률은 30.6% (26/85), NPFS 검체의 양성률은 45.7% (48/105)로 NPFS 검체의 양성률이 통계적으로 유의하게 높았다($P=0.048$) (Table 1).

NPA 검체에서는 PIV2 양성인 1예(1.2%)가 위양성으로 판단되었으며, Flu A 7예, RSV 4예, PIV 2예, ADV 1예 등 총 14예는 위음성으로 판단되었다(Table 2). NPFS 검체에서는 13예가 위양성(12.4%)으로 판단되었으며, PIV가 8검체로 위양성 결과의 61.5%를 차지하였고, 기타 Flu B 2예, RSV 2예, Flu A 1예의 위양성 결과가 있었다(Table 2). NPFS 검체는 NPA 검체에 비해 위양성률이 유의하게 높았다($P=0.004$).

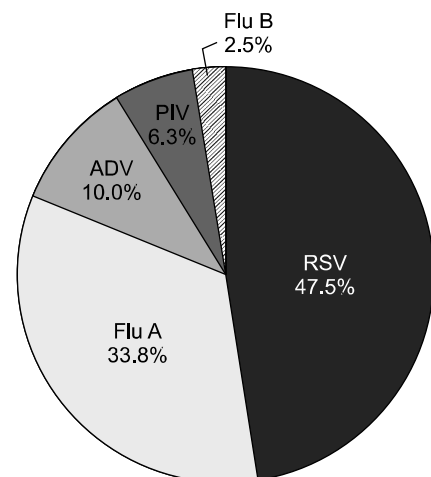


Fig. 1. Distribution of 80 respiratory viruses from 79 patients. Respiratory syncytial viruses (RSV), influenza viruses (Flu), adenoviruses (ADV), and parainfluenza viruses (PIV) were counted for the prevalence in this study.

Table 1. Consensus positive results of the triplicate examination of the nasopharyngeal aspirates (NPA) and nasopharyngeal flocked swab (NPFS) specimens for the detection of respiratory syncytial virus (RSV), influenza A virus (Flu A), influenza B virus (Flu B), parainfluenza virus (PIV)-1, -2, -3, and adenovirus (ADV)

Interpretation	IIF*		Culture [†]		Multiplex RT-PCR [‡]	
	NPA	NPFS	NPA	NPFS	NPA	NPFS
Positive	30.6% (26/85)	45.7% (48/105)	27.9% (31/111)	38.7% (43/111)	55.9% (62/111)	67.6% (75/111)
Negative	69.4% (59/85)	54.3% (57/105)	72.2% (80/111)	61.3% (68/111)	44.1% (49/111)	32.4% (36/111)

* $P=0.048$ by Chi-square test. [†] $P=0.004$ by McNemar’s test. [‡] $P=0.055$ by McNemar’s test.

Abbreviation: IIF, indirect immunofluorescent test.

Table 2. Summary of 28 discrepant results between specimens and/or detection methods according to the ‘consensus positive’

Specimen No.	Indirect fluorescent test		Virus culture		Multiplex RT-PCR	
	NPA	NPFS	NPA	NPFS	NPA	NPFS
3	N	Flu B	N	N	N	N
5	N	PIV	Flu A	Flu A	Flu A	Flu A
7	N	PIV	N	N	N	N
8	N	PIV	N	N	N	N
10	N	PIV	N	N	RSV	RSV
12	RSV	RSV, PIV	N	RSV	RSV, PIV	RSV, PIV
13	N	PIV	N	N	N	N
15	N	PIV	PIV	PIV	PIV	PIV
16	N	PIV	N	N	N	N
19	N	PIV	N	Flu A	N	N
20	RSV	N	N	N	RSV	RSV
25	N	RSV	RSV	RSV	RSV	RSV
32	N	RSV	N	N	N	N
44	PIV2	N	N	N	N	N
45	N	Flu A	N	N	Flu A	Flu A
47	N	Flu A	Flu A	Flu A	Flu A	Flu A
68	N	Flu B	N	N	N	ADV, RSV
70	N	Flu A	N	N	Flu A	Flu A, RSV
71	N	RSV	N	N	Flu A	PIV
75	N	RSV	RSV	RSV	N	N
78	N	Flu A	N	N	ADV	ADV
79	N	Flu A	Flu A	Flu A	Flu A	N
80	N	Flu A	N	N	N	Flu A
90	N	Flu A	Flu A	Flu A	Flu A	ADV
91	N	PIV	N	N	N	N
94	N	RSV	N	RSV	N	ADV
99	RSV	N	RSV	RSV	N	N
104	RSV	N	N	N	RSV	N

Shaded boxes denote false positives.

Abbreviations: NPA, nasopharyngeal aspirate; NPFS, nasopharyngeal flocked swab; Flu, influenza virus; PIV, parainfluenza virus; RSV, respiratory syncytial virus; ADV, adenovirus.

NPA와 NPFS 검체 모두 적합하였던 79검체만을 따로 분석한 결과 NPA의 양성률은 30.4% (24/79)였으며, NPFS의 양성률은 44.3% (35/79)로 NPFS의 양성률이 유의하게 높았다($P=0.019$).

IIF 양성이었던 NPA 26검체의 양성 세포수 등급은 1+ 12개 (46.2%), 2+ 8개(30.8%), 3+ 3개(11.5%), 4+ 3개(11.5%)였다. IIF 양성이었던 NPFS 48검체의 양성 세포수 분포는 1+ 22개 (45.8%), 2+ 12개(25.0%), 3+ 6개(12.5%), 4+ 8개(16.7%)였다. 두 검체 모두 양성이었던 19개의 검체 중 10개 검체(52.6%)가 양성 세포수 등급이 일치하였으며, linear-weighted Cohen’s kappa 값은 0.368 (95% confidence interval, 0.039-0.697)로 ‘보통 (fair)’ 정도의 일치율을 보였다.

4. 호흡기 바이러스 배양 양성률

호흡기 바이러스 배양검사 결과, NPA는 27.9% (31/111),

NPFS는 38.7% (43/111)가 양성이었다(Table 1). NPFS 검체의 배양 양성률이 NPA 검체의 배양 양성률보다 유의하게 높았다($P=0.004$).

5. 다중 RT-PCR 검사 양성률

다중 RT-PCR 검사 결과 NPA는 56.8% (63/111)가 양성, NPFS는 71.2% (79/111)가 양성이었다, ‘합의 양성’을 기준으로 다중 RT-PCR 검사에서 NPA 검체의 위양성은 1검체, NPFS 검체의 위양성은 5검체였으며, 위양성 검체를 제외한 양성률은 각각 55.9% (62/111)와 67.6% (75/111)로 통계적으로 유의하지 않았다($P=0.055$) (Table 1).

DISCUSSION

RSV, Flu A, Flu B, PIV, ADV를 대상으로 IIF를 위한 검체

채취법의 적합성을 평가한 결과, 호흡기 상피세포수가 적으면 IIF에서 양성 세포가 관찰되지 않아 부적합하였던 검체의 비율이 NPA에서 통계적으로 유의하게 높았다. 그러나 Abu-Diab 등[9]은 직접면역형광검사를 위하여 NPA와 NPFS 검체 채취법을 비교한 결과 둘 사이에 차이가 없었다고 보고하였고, Chan 등[13]은 RT-PCR과 간접면역형광검사 모두에서 NPA법이 NPFS법보다 RSV를 더 많이 검출하였다고 보고하였다. 다른 연구 보고에서는 NPA가 NPFS 검체 또는 비강 면봉 검체보다 RT-PCR 검사에서 호흡기 바이러스 검출률이 높거나 유사하다고 보고하였다[8,17]. 또한 NPA 검체가 NPFS 검체보다 면역형광검사 양성 세포 수도 유의하게 많았다고 보고하였으나, 우리 연구에서는 두 검체 사이에 양성 세포수는 유사하였다[9,13]. 이번 연구에서는 IIF에서 명확한 푸른 사과빛의 형광 양성 세포가 있는 경우, 관찰되는 전체 세포수에 상관없이 적합한 검체로 보였다. NPFS 검체에서 양성률과 위양성률이 높았던 것이 NPFS 검체의 부적합 비율을 실제보다 낮게 판독하는데 영향을 주었을 것으로 판단하였다.

Debye 등[8]의 연구에서는 NPA 채취를 숙련된 전담 채취자가 시행하였으며, NPA를 채취한 후 하루 이내에 NPFS 검체를 채취한 경우도 있었다. 우리 연구에서는 NPA 채취와 NPFS 검체 채취를 소아청소년과 인턴이 시행하였으며 인턴이 바뀌는 월초에 NPA 검체의 질이 떨어지는 경향이 있었으나, 상대적으로 손쉽게 채취할 수 있는 NPFS 검체의 질은 인턴 순환과 큰 상관없이 없었다(data not shown). 우리 연구에서는 모든 환자에서 NPA와 NPFS 검체를 같은 날 순차적으로 채취하였다. 두 검체를 순차적으로 채취할 경우 NPA 검체를 먼저 채취하였으므로 NPFS 검체의 적합성이 조금이나마 낮아질 가능성을 추정해 볼 수도 있으나, 연구 결과 오히려 NPFS 검체의 검출률이 IIF 검사와 배양검사에서 통계적으로 유의하게 높았다. NPFS에 비해 NPA는 숙련된 전담자가 채취하는 것이 바람직한데 우리 연구에서는 인턴이 NPA를 채취함으로써 NPA의 질이 나빠진 것으로 판단하였다. 한편 검사자의 숙련도에 상관없이 쉽게 좋은 검체를 채취할 수 있는 점이 NPFS 채취법의 장점이기도 하다.

Abu-Diab 등[9]의 연구에서 검체 채취에 참여하였던 40명의 간호사 중 39명이 NPFS 검체를 채취하는 것이 신속하고 환자에게 덜 침습적이며 훈련이 필요하지 않아 NPA 채취보다 더 선호하였다고 하였다. 같은 연구에서 NPFS 채취 시에는 45%의 소아가 울음을 터뜨렸지만, NPA 채취 시에는 90%의 소아가 울음을 터뜨렸다고 한다[9]. 또한 flocked swab 검체는 돌려받는 뚜껑이 있는 전용 UTM 용기에 담아 검사실로 운송하기 때문에, 양방향 NPA 튜브를 검사실로 운송할 때 발생할 수 있는 용기 파손 및 검체 누출을 방지할 수 있었다. Flocked swab을 이용한 NPFS 검체는 부가적인 장비가 필요하지 않고, NPA보다 환자의 불쾌감이 덜하며[18], 호흡기 바이러스 검출률 또

한 높기 때문에 외래 또는 응급실에서 손쉽게 적용할 수 있을 것으로 판단되었다.

세 가지 검사법의 호흡기 바이러스 검출률을 평가한 결과, NPFS 검체가 NPA 검체보다 IIF 검사와 배양검사에서 통계적으로 유의하게 높은 양성률을 보였다. 그러나 NPFS 검체는 IIF 검사에서 위양성률이 높았으며, 특히 PIV는 위양성이 8건이나 있었고, 그 외에도 Flu A, Flu B, RSV 등에서 위양성이 관찰되었다(Table 2). UTM과 IIF 시약 항체 간의 비특이적인 반응을 의심해 볼 수도 있으나, 이 연구에 사용한 재료 및 시약인 Copan flocked swab과 Chemicon사(현재는 Merck Millipore사)의 Light Diagnostics 호흡기 바이러스 면역형광항체를 사용한 다른 보고에서 RSV, Flu, PIV, ADV에 대한 특이도는 모두 100%였다[9]. Copan사의 flocked swab과 IMAGEN respiratory screen and typing 시약(Oxoid Ely Ltd., Cambridge, UK) 또는 D3 Ultra DFA Respiratory Virus Screening and ID 키트(Diagnostic Hybrids, Inc.)를 사용한 연구에서도 위양성이 관찰되지는 않았다[13,19]. 이 점을 고려할 때 우리 연구에서 NPFS 검체에서 위양성률이 높았던 것은 해당 시약 lot의 무작위적 오류의 가능성이 있다. 실험 기간 중 초기 검체에서 위양성 검체가 많았던 점은 실험 기간 초기에 염색 과정 중 세척의 부적합 가능성도 있다. 그러나 향후 UTM이 특정 면역형광항체 시약 또는 특정 lot의 시약과 상호작용으로 위양성을 나타낼 수 있는지에 대해서는 추가 연구가 필요하다.

호흡기 바이러스 검출을 위해서 IIF 검사, 바이러스 배양검사 및 다중 RT-PCR 검사가 주로 사용된다. 이번 연구 결과, IIF 검사와 바이러스 배양검사에서 NPFS 검체가 NPA보다 호흡기 바이러스 검출률이 통계적으로 유의하게 높았으나 다중 RT-PCR법의 경우 두 가지 검체 채취법의 검출률 차이가 없었다. 이번 연구에서 특이한 점은 호흡기 바이러스 배양검사의 양성률이 상대적으로 낮았다는 점이다. 이는 호흡기 바이러스 배양검사는 다른 병원 검사실로 운송하여 운송 과정 중에 바이러스 역가가 감소했을 가능성과 함께 해당 기간 동안 유행하였던 바이러스 종이 바이러스 생존력 감소가 심한 RSV였기 때문인 것으로 판단하였다[20,21].

결론적으로 flocked swab을 이용한 NPFS 검체는 IIF 검사와 바이러스 배양을 위해 민감도가 높은 검체를 제공하였으며, 다중 RT-PCR 검사에서도 검출률에 차이가 없었으므로 전통적인 NPA 검체를 대신할 수 있을 것이다. 그러나 NPFS 검체는 NPA 검체보다 IIF법에서 위양성률이 높았으므로 IIF법을 일상적으로 사용하는 검사실에서는 NPFS법을 도입하기 전에 IIF 위양성 여부를 평가해야 할 필요가 있다. NPFS 방법은 음압 장치 등의 특별한 시설이 필요하지 않고, 전문적인 훈련이 필요한 NPA에 비해 상대적으로 쉽게 적절한 검체를 얻을 수 있어 외래 및 응급실에서 임상이가 직접 호흡기 검체를 채취할 때 유용할 것이다.

ACKNOWLEDGMENTS

본 연구는 2008년 대한임상미생물학회 연구비 지원을 받아 수행되었음.

REFERENCES

1. Monto AS. Epidemiology of viral respiratory infections. *Am J Med* 2002;112 Suppl 6A:4S-12S.
2. Bourgeois FT, Valim C, Wei JC, McAdam AJ, Mandl KD. Influenza and other respiratory virus-related emergency department visits among young children. *Pediatrics* 2006;118:e1-8.
3. Park JS. Acute viral lower respiratory tract infections in children. *Korean J Pediatr* 2009;52:269-76.
4. Li H, McCormac MA, Estes RW, Sefers SE, Dare RK, Chappell JD, et al. Simultaneous detection and high-throughput identification of a panel of RNA viruses causing respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 2007;45:2105-9.
5. Vega R. Rapid viral testing in the evaluation of the febrile infant and child. *Curr Opin Pediatr* 2005;17:363-7.
6. Meerhoff TJ, Houben ML, Coenjaerts FE, Kimpen JL, Hofland RW, Schellevis F, et al. Detection of multiple respiratory pathogens during primary respiratory infection: nasal swab versus nasopharyngeal aspirate using real-time polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29:365-71.
7. Moore C, Corden S, Sinha J, Jones R. Dry cotton or flocked respiratory swabs as a simple collection technique for the molecular detection of respiratory viruses using real-time NASBA. *J Virol Methods* 2008;153:84-9.
8. Debyle C, Bulkow L, Miernyk K, Chikoyak L, Hummel KB, Hennessy T, et al. Comparison of nasopharyngeal flocked swabs and nasopharyngeal wash collection methods for respiratory virus detection in hospitalized children using real-time polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 2012;185:89-93.
9. Abu-Diab A, Azzeh M, Ghneim R, Ghneim R, Zoughbi M, Turkuman S, et al. Comparison between pernasal flocked swabs and nasopharyngeal aspirates for detection of common respiratory viruses in samples from children. *J Clin Microbiol* 2008;46:2414-7.
10. Esposito S, Molteni CG, Daleno C, Valzano A, Cesati L, Gualtieri L, et al. Comparison of nasopharyngeal nylon flocked swabs with universal transport medium and rayon-bud swabs with a sponge reservoir of viral transport medium in the diagnosis of paediatric influenza. *J Med Microbiol* 2010;59:96-9.
11. Spyridaki IS, Christodoulou I, de Beer L, Hovland V, Kurowski M, Olszewska-Ziaber A, et al. Comparison of four nasal sampling methods for the detection of viral pathogens by RT-PCR-A GA(2)LEN project. *J Virol Methods* 2009;156:102-6.
12. Macfarlane P, Denham J, Assous J, Hughes C. RSV testing in bronchiolitis: which nasal sampling method is best? *Arch Dis Child* 2005;90:634-5.
13. Chan KH, Peiris JS, Lim W, Nicholls JM, Chiu SS. Comparison of nasopharyngeal flocked swabs and aspirates for rapid diagnosis of respiratory viruses in children. *J Clin Virol* 2008;42:65-9.
14. NEJM Procedure: Collection of Nasopharyngeal Specimens with the Swab Technique. <http://www.youtube.com/watch?v=DVJNWefmHjE> [Online] (last visited on 16 July 2014).
15. Landry ML and Ferguson D. SimulFluor respiratory screen for rapid detection of multiple respiratory viruses in clinical specimens by immunofluorescence staining. *J Clin Microbiol* 2000;38:708-11.
16. Sung H, Park SJ, Woo YD, Choi BH, Kim MN. Evaluation of Seeplex RV detection kit for detecting rhinovirus, human metapneumovirus, and coronavirus. *Korean J Lab Med* 2008;28:109-17.
17. Ohrmalm L, Wong M, Rotzén-Östlund M, Norbeck O, Broliden K, Tolfvenstam T. Flocked nasal swab versus nasopharyngeal aspirate for detection of respiratory tract viruses in immunocompromised adults: a matched comparative study. *BMC Infect Dis* 2010;10:340.
18. Walsh P, Nguyen TA, Higashida K, Michaelson S, Pham K, Nguyen P, et al. Do infants and toddlers prefer nasal swabs or washes for specimen collection? *Pediatr Infect Dis J* 2010;29:1156-7.
19. Faden H. Comparison of midturbinate flocked-swab specimens with nasopharyngeal aspirates for detection of respiratory viruses in children by the direct fluorescent antibody technique. *J Clin Microbiol* 2010;48:3742-3.
20. Fernie BF and Gerin JL. The stabilization and purification of respiratory syncytial virus using MgSO₄. *Virology* 1980;106:141-4.
21. Collins PL and Karron RA. Respiratory syncytial virus and metapneumovirus. In: Knipe DM and Howley PM, eds. *Fields Virology*. 6th ed, Philadelphia; Lippincott Williams & Wilkins, 2013: 1087.

=국문초록=

호흡기 바이러스 검출을 위한 코인두 흡인액 검체와 코인두 Flocked Swab 검체의 비교

¹울산대학교 의과대학 서울아산병원, ²한양대학교 의과대학, ³성균관대학교 의과대학 삼성서울병원,
⁴고려대학교 의과대학, ⁵한림대학교 의과대학, ⁶서울대학교 의과대학 진단검사의학교실

성흥섭¹, 강정옥², 이남용³, 이창규⁴, 김한성⁵, 이규만⁵, 김의종⁶

배경: 바이러스성 호흡기 감염의 정확한 진단을 위해서 검체 채취 시기 및 채취 방법이 매우 중요하다. 코인두 흡인물(nasopharyngeal aspirate, NPA)이 호흡기 바이러스 검출을 위해 가장 좋은 검체로 알려져 왔으나, 소아 환자에서 코인두 흡인물 채취하기가 용이하지 않다. Flocked swab은 기존의 면봉보다 많은 수의 상피세포를 채취할 수 있어 호흡기 바이러스 검출률을 높일 수 있다는 연구 보고가 있으나 국내에서는 아직 이에 관한 평가 보고가 없다. 이에 연구자들은 flocked swab을 이용한 코인두 면봉(nasopharyngeal flocked swab, NPFS) 검체 채취법의 유용성을 평가하고자 하였다.

방법: 하기도 감염을 주소로 입원하였던 소아 환자 111명을 대상으로, 입원 당일 환자의 우측 콧구멍에서 NPA 검체를 먼저 채취하였고, 좌측 콧구멍을 통하여 NPFS 검체를 채취하였다. 두 가지 방법으로 채취한 검체를 간접면역형광법(indirect immunofluorescent method, IIF), 배양법 및 다중 역전사 PCR(reverse transcription PCR, RT-PCR)법으로 검사하여 그 결과를 비교하였다.

결과: 호흡기 상피세포수가 적으면서 IIF에서 양성 세포가 관찰되지 않았던 부적합 검체의 비율은 NPA법에서 23.4%, NPFS법에서 5.4%로 NPA법으로 채취한 검체에서 현저하게 부적합 검체가 많았다. 합의 양성을 기준으로 IIF 검사에서 NPA 검체의 양성률은 30.6%, NPFS 검체의 양성률은 45.7%로 NPFS에서 유의하게 높았다($P=0.048$). 그러나 NPFS 검체는 NPA 검체에 비해 위양성률이 높았다(12.4% vs. 1.2%, $P<0.004$). 배양에서도 NPA법의 양성률은 27.9%, NPFS법의 양성률은 38.7%로 NPFS에서 유의하게 높았다($P=0.004$). 다중 RT-PCR법에서 NPA법의 양성률은 55.9%, NPFS는 67.6%로 둘 사이에 유의한 차이는 없었다($P=0.055$).

결론: NPFS 방법은 기존의 표준법인 NPA 방법보다 호흡기 바이러스 검출률이 통계적으로 유의하게 높거나 동등하여 외래 및 응급실에서 임상이가 직접 호흡기 검체를 채취할 때 유용할 것이다. [Ann Clin Microbiol 2015;18:119-125]

교신저자 : 강정옥, 11923, 경기도 구리시 경춘로 153
한양대학교 구리병원 진단검사의학과
Tel: 031-560-2572, Fax: 031-560-2585
E-mail: jokang@hanyang.ac.kr