

Evaluation of EuDx™-PN MLC Detection Kit for Detection of *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, and *Legionella pneumophila* in Respiratory Specimens

Mi-Kyung Lee¹, Heungsup Sung², Ah Ra Cho³, Hyun Young Chi⁴

¹Department of Laboratory Medicine, Chung-Ang University College of Medicine,

²Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul,

³Seoul Clinical Laboratories (SCL), Yongin, ⁴Samkwang Medical Laboratories, Seoul, Korea

Background: Infection by the intracellular bacteria *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, and *Legionella pneumophila* are common causes of community-acquired pneumonia (CAP). This study describes the evaluation of a new multiplex real-time PCR test, EuDx™-PN MLC Detection Kit (EUDIPIA), which allows the simultaneous detection of *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, and *L. pneumophila* in respiratory samples.

Methods: A total of 353 samples were tested using three PCR kits: multiplex PCR (Seeplex PneumoBacter ACE Detection Kit) and two multiplex real-time PCR (EuDx™-PN MLC Detection Kit and Anyplex™ II RB5 Detection Kit). The results were considered true positives (expanded standard) for *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, and *L. pneumophila* if they were positive according to any of the three tests.

Results: The sensitivity and specificity of EuDx™-PN

MLC Detection Kit were 93.3-100% and 100%, respectively. The agreement rate and Cohen's kappa coefficient (value) between EuDx™-PN MLC Detection Kit and Anyplex™ II RB5 Detection Kit for *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, and *L. pneumophila* were 70-100% and 0.82-1, respectively.

Conclusion: These results demonstrate that the EuDx™-PN MLC Detection Kit is a sensitive, specific, and useful screening tool for the detection of atypical pathogens in respiratory samples and can be helpful in selecting appropriate antimicrobial therapy for patients with respiratory infection. (Ann Clin Microbiol 2017;20:97-102)

Key Words: *Chlamydomphila pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, Real-time polymerase chain reaction, *Mycoplasma pneumoniae*, Respiratory tract infection

INTRODUCTION

폐렴은 전세계적으로 입원과 사망의 주요 원인이 되는 질환이며, 의료비용의 많은 부분을 차지하고 있다[1]. 지역사회 획득 폐렴(community-acquired pneumonia, CAP)은 전 세계적으로 높은 이환율(morbidity) 및 사망률(mortality)과 관련되어 있으며, 개발 도상국에서는 성인 1,000명당 2-11명, 유럽에서는 1.5-1.7명의 빈도로 발생하는 것으로 추정된다[1-3]. 최근 노령 사회에 직면하면서 노인 인구와 면역 체계에 손상을 주는 요인들의 증가, 병원체의 속성 변화 및 항균제 내성의 증가 등으로 인해 CAP의 진단과 치료는 더욱 중요해지고 있다. CAP의 치료는 병원체가 확인되기 전에 일단 광범위 항균요법을 시작하

고 그 다음으로 병원체 확인 후 좁은 범위의 항균요법으로 단계적 축소를 시행하는 것이 적절하지만[2,4], 현재의 진단 방법으로는 CAP 환자의 약 30%-40%에서만 병원체가 동정될 수 있기 때문에 실제 임상에서는 단계적으로 축소하는 항균요법이 흔하지 않은 실정이다[1,2,5].

지금까지 CAP의 주요 원인이 되는 세균은 *Streptococcus pneumoniae*와 *Haemophilus influenzae*이지만, 최근 *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, 그리고 *Legionella pneumophila*와 같은 비정형 세균이 CAP의 흔한 원인이 되고 있으며 점차 증가하고 있다[1-3]. 국내에서도 생활환경의 개선과 예방접종의 활성화 등으로 *S. pneumoniae* 등에 의한 폐렴은 줄어든 반면, *M. pneumoniae*나 *C. pneumoniae*와 같은 비정형

Received 19 July, 2017, Revised 26 August, 2017, Accepted 2 September, 2017

Correspondence: Mi-Kyung Lee, Department of Laboratory Medicine, Chung-Ang University Hospital, 102 Heukseok-ro, Dongjak-gu, Seoul 06973, Korea. (Tel) 82-2-6299-2719, (Fax) 82-2-6298-8630, (E-mail) cpworld@cau.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.

세균에 의한 CAP의 발생률이 높아지고 있다[6].

병원 검사실에서 *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* 그리고 *L. pneumophila*를 진단하는 검사에는 배양, 항원 검출, 항체 검사 및 핵산 검출 등의 방법이 있다. 그러나 이들 세균들은 병원의 미생물 검사실에서 일상적인 검사과정으로 배양과 분리가 어렵고, 항원 검사는 소변 내 *L. pneumophila* 항원 검출만 사용되고 있으며, 항체 검사는 다른 미생물과의 교차 반응 가능성으로 인한 낮은 특이도와 역가 상승 확인을 위한 급성기와 회복기 혈청이 동시에 필요한 문제점 등으로 사용이 제한적이다 [2,3,6]. 현재 이들 세균을 검출하기 위하여 가장 널리 사용되고 있는 방법은 PCR 또는 실시간(real-time) PCR과 같은 분자유전학적 기법으로 핵산을 검출하는 것이다.

이 연구는 CAP의 중요 원인균인 *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* 그리고 *L. pneumophila*를 검출하기 위하여 개발된 다중(multiplex) 실시간 PCR 진단 시약인 EuDx™-PN MLC Detection Kit (EUDIPIA, Seoul, Korea)를 평가하기 위하여, 현재 시판되어 사용 중인 다중 PCR 키트 및 다중 실시간 PCR 키트와 비교하였다.

MATERIALS AND METHODS

1. 대상

중앙대학교병원에 내원한 폐렴 의심 환자의 원인균 검출을 위하여 호흡기 검체로부터 분자진단이 의뢰되어 다중 PCR 방법인 Seeplex PneumoBacter ACE Detection Kit (Seegene, Seoul, Korea)로 검사한 결과, *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *L. pneumophila* 중 하나 이상의 양성 또는 음성으로 확인되어 -20°C 이하 냉동고에 보관 중인 353 검체(미생물 핵산)를 대상으로 하였다. 양성 검체 확보를 위하여 각 원인균별 양성 검체는 2013년 9월부터 2016년 9월까지 검사 후 보관된 검체를 대상으로 하였으며, 음성 검체는 2016년 9월과 10월 사이의 검체를 대상으로 하였다. 이 연구는 중앙대학교병원 생명윤리위원회의 승인을 받았다.

2. 방법

다중 PCR (Seeplex PneumoBacter ACE Detection Kit) 검사 후 -20°C 이하 냉동고에 보관된 미생물 핵산을 대상으로, 다중 실시간 PCR 시약인 EuDx™-PN MLC Detection Kit (EUDIPIA)와 Anyplex™ II RB5 Detection Kit (Seegene)를 사용하여 ABI 7500 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)으로 각각 제조사의 지침에 따라 검사하였다. 추가 확인이 필요할 경우 시행한 *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *L. pneumophila*에 대한 단일 실시간 PCR은 16S rRNA와 macrophage infectivity potentiator (mip) 유전자에 대한 시발체를 제작하여 ABI 7500 (Applied Biosystems)으로 검사하였다[7]. 검사법 평

가는 기준결과(Extended standard)와 비교였으며, 기준결과는 3 종류의 검사 키트(Seeplex PneumoBacter ACE Detection Kit, EuDx™-PN MLC Detection Kit, Anyplex™II RB5 Detection Kit) 결과 중 2개 이상 일치한 결과, 또는 추가 확인이 필요할 경우 시행한 *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *L. pneumophila*에 대한 단일 실시간 PCR 결과로 정의하였다.

3. 통계분석

이 연구에 사용된 3종류의 검사 키트의 기준결과에 대한 민감도와 특이도 계산은 MedCalc 15.8 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium) 프로그램을 사용하였다. 또한 2종류의 다중 실시간 PCR 방법 간의 비교를 위하여 각 병원체 별로 양성 일치도, 음성일치도 및 Cohen's kappa coefficient (value)를 구하였다.

RESULTS

총 353개의 검체는 2 종류의 검사 키트에서 동일한 결과를 보였거나 추가로 시행한 단일 실시간 PCR 결과를 기준으로 하였을 때, 병원체 별로 각각 *M. pneumoniae* 양성 123개와 음성 230개, *C. pneumoniae* 양성 21개와 음성 332개, *L. pneumophila* 양성 15개와 음성 338개였다.

M. pneumoniae 검출에 있어서 기준결과에 대한 각 검사 키트의 민감도와 특이도는 Seeplex PneumoBacter ACE Detection Kit에서는 85.4%와 100%였고, EuDx™-PN MLC Detection Kit에서는 97.6%와 100%였으며, Anyplex™II RB5 Detection Kit에서는 95.9%와 95.7%였다(Table 1). *C. pneumoniae* 검출에 있어서 기준결과에 대한 각 검사 키트의 민감도와 특이도는 Seeplex PneumoBacter ACE Detection Kit에서는 95.2%와

Table 1. Sensitivity and specificity of the tests for *Mycoplasma pneumoniae* to extended standard

Test	Extended standard		Sensitivity (%) (95% CI)	Specificity (%) (95% CI)
	Positive	Negative		
SeePlex				
Positive	105	0	85.4	100
Negative	18	230	(77.9-91.1)	(98.4-100.0)
EuDx				
Positive	120	0	97.6	100
Negative	3	230	(93.0-99.5)	(98.4-100.0)
Anyplex				
Positive	118	10	95.9	95.7
Negative	5	220	(90.8-98.7)	(92.2-97.9)

Abbreviations: SeePlex, Seeplex PneumoBacter ACE Detection Kit; EuDx, EuDx™-PN MLC Detection Kit; Anyplex, Anyplex™II RB5 Detection Kit.

95.5%였고, EuDx™-PN MLC Detection Kit에서는 95.2%와 100%였으며, Anyplex™II RB5 Detection Kit에서는 95.2%와 100%였다(Table 2). *L. pneumophila* 검출에 있어서 기준결과에 대한 각 검사 키트의 민감도와 특이도는 Seeplex PneumoBacter ACE Detection Kit에서는 86.7%와 100%였고, EuDx™-PN MLC Detection Kit에서는 99.3%와 100%였으며, Anyplex™II RB5 Detection Kit에서는 100%와 98.5%였다(Table 3).

또한 다중 실시간 PCR 방법인 EuDx™-PN MLC Detection Kit와 Anyplex™II RB5 Detection Kit의 각 병원체에 따른 양성 일치도, 음성일치도 및 Cohen's kappa coefficient (value)는 *M. pneumoniae* 검출에서는 91.4%, 98.7%, 0.91이었고, *C. pneumoniae* 검출에서는 100%, 100%, 1.0이었으며, *L. pneumophila* 검출에서는 70.0%, 100%, 0.82였다(Table 4).

Table 2. Sensitivity and specificity of the tests for *Chamydophila pneumoniae* to extended standard

Test	Extended standard		Sensitivity (%) (95% CI)	Specificity (%) (95% CI)
	Positive	Negative		
SeePlex				
Positive	20	15	95.2	95.5
Negative	1	317	(76.2-99.9)	(92.7-97.5)
EuDx				
Positive	20	0	95.2	100
Negative	1	332	(76.2-99.9)	(98.9-100.0)
Anyplex				
Positive	20	0	95.2	100
Negative	1	332	(76.2-99.9)	(98.9-100.0)

Abbreviations: SeePlex, Seeplex PneumoBacter ACE Detection Kit; EuDx, EuDx™-PN MLC Detection Kit; Anyplex, Anyplex™II RB5 Detection Kit.

DISCUSSION

비정형 병원체인 *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* 그리고 *L. pneumophila*는 폐렴, 특히 CAP의 흔한 원인균으로 알려져 있지만 그 분리빈도는 지역과 시기에 따라 다양하게 보고되고 있으며[1-3,8-10], 그 원인으로는 진단을 위한 표준화된 미생물학적 검사법의 부족 때문으로 생각되고 있다[3]. 즉, 배양은 *M. pneumoniae*에 대한 표준 진단법이지만 비용과 시간이 많이 들고 특수한 배지가 필요하며 기술적인 숙련이 요구되는 등 병원의 일반 검사실에서 사용하기에는 어려움이 있어 거의 시행되지 않고 있다. 항원 검출은 소변 내 *Legionella* 항원 검출을 통한 *L. pneumophila* 진단에 널리 사용되고 있으나, *L. pneumophila* serogroup 1만을 검출할 수 있으며 감염 후 수 주에서 수 개월 동안 소변에서 검출될 수 있는 문제점이 있다[3,11]. *M.*

Table 3. Sensitivity and specificity of the tests for *Legionella pneumophila* to extended standard

Test	Extended standard		Sensitivity (%) (95% CI)	Specificity (%) (95% CI)
	Positive	Negative		
SeePlex				
Positive	13	0	86.7	100
Negative	2	338	(59.5-98.3)	(98.9-100.0)
EuDx				
Positive	14	0	93.3	100
Negative	1	338	(68.1-99.8)	(98.9-100.0)
Anyplex				
Positive	15	5	100	98.5
Negative	0	333	(78.2-100.0)	(96.6-99.5)

Abbreviations: SeePlex, Seeplex PneumoBacter ACE Detection Kit; EuDx, EuDx™-PN MLC Detection Kit; Anyplex, Anyplex™II RB5 Detection Kit.

Table 4. Comparison of EuDx™-PN MLC Detection Kit and Anyplex™II RB5 Detection Kit for the detection of *Mycoplasma pneumoniae*, *Chamydophila pneumoniae*, and *Legionella pneumophila*

EuDx	Anyplex		Agreement for positive (%) (95% CI)	Agreement for negative (%) (95% CI)	kappa (95% CI)
	Positive	Negative			
MP					
Positive	117	3	91.4	98.7	0.91
Negative	11	222	(85.1-95.6)	(96.2-99.7)	(0.87-0.96)
CP					
Positive	20	0	100	100	1
Negative	0	333	(83.2-100.0)	(98.9-100.0)	(1-1)
LP					
Positive	14	0	70.0	100	0.82
Negative	6	333	(45.7-88.1)	(98.9-100.0)	(0.67-0.96)

Abbreviations: EuDx, EuDx™-PN MLC Detection Kit; Anyplex, Anyplex™II RB5 Detection Kit; kappa, Cohen's kappa coefficient (value); MP, *M. pneumoniae*; CP, *C. pneumoniae*; LP, *L. pneumophila*.

*pneumoniae*와 *C. pneumoniae*에 대한 주요 진단 검사법으로 항체 검출이 있지만, 다른 미생물과의 교차반응이나 자가면역질환에 의한 위양성 가능성과 IgM과 IgG가 6-8주에 검출될 수 있으며 급성기와 회복기 혈청이 모두 필요한 제한점이 있다 [3,10,12,13]. 그러므로 현재 대부분의 검사실에서는 일반 검사실에서의 배양이 어려운 세균을 검출하기 위한 방법으로 PCR이나 실시간 PCR을 사용하고 있다.

현재 사용되고 있는 PCR 기반 검사들은 배양이나 혈청학적 검사보다 더 민감하고 특이하면서 신속한 방법으로 간주되고 있으며, 대부분의 검사실에서는 상품화된 키트들을 사용하고 있는 실정이다 [13-15]. 그러나 PCR 기반 검사들도 호흡기 상피에 있는 *M. pneumoniae*와 *C. pneumoniae*의 무증상 보균 가능성과 이전 감염 후의 이들 세균 또는 핵산의 지속에 의한 PCR 양성 결과를 보일 수 있으며 [16-18], 이전 항균제 치료, 수송배지에 의한 검체 희석, 검체 보관 과정에서 DNA 분해, 인체 세포나 다른 미생물의 간섭 등에 의한 위음성 가능성을 고려하여야 한다 [13]. 최근 감염질환에서의 원인균 검출을 위한 검사법은, 단일 PCR에 비하여 다중 PCR의 민감도가 낮음에도 불구하고 동시에 여러 원인균을 검출할 수 있는 다중 PCR의 간편성, 신속함, 경제적 측면 등의 장점으로 인해 다중 PCR 키트들이 계속 개발되고 있다 [2,3,13-15,19,20].

이번 연구에서는 국내에서 *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* 그리고 *L. pneumophila*를 검출하기 위하여 개발된 다중 실시간 PCR 진단 시약인 EuDx™-PN MLC Detection Kit (EUDIPIA)를 평가하기 위하여 검사 후 보관 중인 미생물 핵산을 대상으로 하여 이미 사용 중이거나 시판 중인 다중 PCR 키트 및 다중 실시간 PCR 키트와 비교하였으며, 결과 분석은 2종류의 검사 키트에서 동일한 결과를 보였거나 추가로 시행한 단일 실시간 PCR 결과를 기준으로 평가하였다. *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* 그리고 *L. pneumophila* 검출에서 기준결과에 대한 EuDx™-PN MLC Detection Kit (EUDIPIA)의 민감도와 특이도는 3군 중 모두에서 다중 PCR (Anyplex™II RB5 Detection Kit)과 동일하거나 높았으며, 특히 *M. pneumoniae*와 *L. pneumophila* 검출에 대한 민감도와 *C. pneumoniae* 검출에 대한 특이도는 통계적으로 유의하게 높았다 ($P < 0.05$). 또한 시판 중인 다중 실시간 PCR 키트인 Anyplex™II RB5 Detection Kit에 비해 기준결과에 대한 EuDx™-PN MLC Detection Kit (EUDIPIA)의 민감도와 특이도는 *M. pneumoniae* 검출에서 모두 높았고, *C. pneumoniae* 검출에서는 동일하였으며, *L. pneumophila* 검출 시에는 민감도는 낮고 특이도는 높았다. 특히 EuDx™-PN MLC Detection Kit (EUDIPIA)는 *M. pneumoniae* 검출에서의 민감도는 높았지만 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았고 ($P = 0.22$), *M. pneumoniae*와 *L. pneumophila* 검출에서의 특이도는 통계적으로 유의하게 높았다 ($P < 0.05$).

특히 다중 PCR은 다중 실시간 PCR에 비해 *C. pneumoniae*

검출 시 기준결과에 대한 위양성이 많았고 ($P < 0.05$) *M. pneumoniae* 검출에서는 위음성이 많은 결과를 보였으나 ($P < 0.05$), 본 연구에서 평가한 2종류의 다중 실시간 PCR 키트는 모두 *C. pneumoniae* 검출 시의 위양성이 없었고 *M. pneumoniae* 검출 시의 위음성도 적었다. 그러나 Anyplex™II RB5 Detection Kit에서는 다중 PCR 키트에서 없었던 *M. pneumoniae*와 *L. pneumophila* 검출 시의 위양성이 나타났다. 또한 2종류의 다중 실시간 PCR 키트 간의 양성일치도와 음성일치도는 *L. pneumophila*에 대한 양성일치도(70.0%)를 제외하고는 91.4%-100%로 모두 높은 일치도를 보였고, Cohen's kappa coefficient (value)도 0.82-1로 높았다. 이번 연구에서 나타난 다중 실시간 PCR 키트 간의 일부 불일치 결과는 증폭하는 표적 유전자가 다르거나 또는 동일 유전자 내 증폭부위가 다른 경우, PCR 조건의 차이에 따른 검출 한계의 차이, cutoff 값의 차이 등의 가능성을 고려할 수 있다. 또한 이 연구는 각 병원체별 양성 검체 확보를 위하여 양성 검체와 음성 검체의 수집 기간이 동일하지 않았고, 일정 기간 내 검사가 의뢰된 모든 검체를 대상으로 하지 못하였으며, 배양이나 염기서열분석 등의 표준검사를 시행하지 못하고 2종류의 검사 키트에서 동일한 결과를 보였거나 추가로 시행한 단일 실시간 PCR 결과를 기준결과(Extended standard)로 분석한 제한점이 있었다.

결론적으로 실시간 다중 PCR 검사인 EuDx™-PN MLC Detection Kit (EUDIPIA)는 호흡기 검체에서 CAP의 주요 원인이 되고 있는 *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* 그리고 *L. pneumophila* 동시 검출을 위한 선별검사로 유용할 것으로 판단되며, 호흡기 환자 치료 시 적절한 항균요법의 선택에 도움이 될 것으로 생각된다.

ACKNOWLEDGMENTS

이 연구는 (주)유디피아의 연구비 지원을 받아 수행되었으며, 연구 수행에 많은 도움을 주신 박성수, 이지홍 선생님께 감사드립니다.

REFERENCES

- Jain S, Self WH, Wunderink RG; CDC EPIC Study Team. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization. *N Engl J Med* 2015;373:2382.
- Gadsby NJ, Russell CD, McHugh MP, Mark H, Conway Morris A, Laurenson IF, et al. Comprehensive molecular testing for respiratory pathogens in community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis* 2016;62:817-23.
- Cillóniz C, Torres A, Niederman M, van der Eerden M, Chalmers J, Welte T, et al. Community-acquired pneumonia related to intracellular pathogens. *Intensive Care Med* 2016;42:1374-86.
- Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Bartlett JG, Campbell GD, Dean NC, et al. Infectious diseases society of America/

- American thoracic society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2007;44 Suppl 2:S27-72.
- Musher DM, Roig IL, Cazares G, Stager CE, Logan N, Safar H. Can an etiologic agent be identified in adults who are hospitalized for community-acquired pneumonia: results of a one-year study. *J Infect* 2013;67:11-8.
 - Kim KW and Kim KE. Mycoplasma and chlamydia infection in Korea. *Korean J Pediatr* 2009;52:277-82.
 - Al-Marzooq F, Imad MA, How SH, Kuan YC. Development of multiplex real-time PCR for the rapid detection of five bacterial causes of community-acquired pneumonia. *Trop Biomed* 2011; 28:545-56.
 - Marston BJ, Plouffe JF, File TM Jr, Hackman BA, Salstrom SJ, Lipman HB, et al. Incidence of community-acquired pneumonia requiring hospitalization. Results of a population-based active surveillance study in Ohio. The Community-Based Pneumonia Incidence Study Group. *Arch Intern Med* 1997;157:1709-18.
 - Park S, Oh KC, Kim KS, Song KT, Yoo KH, Shim YS, et al. Role of atypical pathogens and the antibiotic prescription pattern in acute bronchitis: a multicenter study in Korea. *J Korean Med Sci* 2015;30:1446-52.
 - Yu Y and Fei A. Atypical pathogen infection in community-acquired pneumonia. *Biosci Trends* 2016;10:7-13.
 - Shimada T, Noguchi Y, Jackson JL, Miyashita J, Hayashino Y, Kamiya T, et al. Systematic review and metaanalysis: urinary antigen tests for Legionellosis. *Chest* 2009;136:1576-85.
 - Villegas E, Sorlózano A, Gutiérrez J. Serological diagnosis of *Chlamydia pneumoniae* infection: limitations and perspectives. *J Med Microbiol* 2010;59:1267-74.
 - Herrera M, Aguilar YA, Rueda ZV, Muskus C, Vélez LA. Comparison of serological methods with PCR-based methods for the diagnosis of community-acquired pneumonia caused by atypical bacteria. *J Negat Results Biomed* 2016;15:3.
 - Cho MC, Kim H, An D, Lee M, Noh SA, Kim MN, et al. Comparison of sputum and nasopharyngeal swab specimens for molecular diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, and *Legionella pneumophila*. *Ann Lab Med* 2012;32: 133-8.
 - Higgins RR, Lombos E, Tang P, Rohoman K, Maki A, Brown S, et al. Verification of the ProPneumo-1 assay for the simultaneous detection of *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in clinical respiratory specimens. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2009;8:10.
 - Hyman CL, Roblin PM, Gaydos CA, Quinn TC, Schachter J, Hammerschlag MR. Prevalence of asymptomatic nasopharyngeal carriage of *Chlamydia pneumoniae* in subjectively healthy adults: assessment by polymerase chain reaction-enzyme immunoassay and culture. *Clin Infect Dis* 1995;20:1174-8.
 - Schmidt SM, Müller CE, Krechting M, Wiersbitzky H, Gürtler L, Wiersbitzky SK. *Chlamydia pneumoniae* carriage and infection in hospitalized children with respiratory tract diseases. *Infection* 2003;31:410-6.
 - Spuesens EB, Fraaij PL, Visser EG, Hoogenboezem T, Hop WC, van Adrichem LN, et al. Carriage of *Mycoplasma pneumoniae* in the upper respiratory tract of symptomatic and asymptomatic children: an observational study. *PLoS Med* 2013;10:e1001444.
 - Welti M, Jatón K, Altwegg M, Sahli R, Wenger A, Bille J. Development of a multiplex real-time quantitative PCR assay to detect *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila* and *Mycoplasma pneumoniae* in respiratory tract secretions. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003;45:85-95.
 - Loens K, Beck T, Ursi D, Overdijk M, Sillekens P, Goossens H, et al. Development of real-time multiplex nucleic acid sequence-based amplification for detection of *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, and *Legionella* spp. in respiratory specimens. *J Clin Microbiol* 2008;46:185-91.

=국문초록=

호흡기 검체에서 *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Legionella pneumophila* 검출을 위한 EuDx™-PN MLC Detection 키트의 평가

¹중앙대학교 의과대학 진단검사의학교실, ²울산대학교 의과대학 서울아산병원 진단검사의학교실,
³(재)서울의과학연구소, ⁴삼광의료재단
이미경¹, 성흥섭², 조아라³, 지현영⁴

배경: 세포 내 세균인 *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, 그리고 *Legionella pneumophila*는 지역사회획득 폐렴의 흔한 원인균이다. 본 연구는 호흡기 검체에서 *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* 그리고 *L. pneumophila*를 동시에 검출할 수 있는 새로운 다중 실시간 PCR 검사인 EuDx™-PN MLC Detection Kit (EUDIPIA)를 평가하고자 하였다.

방법: 총 353 검체를 대상으로 다중 PCR (Seeplex PneumoBacter ACE Detection Kit) 검사와 두 종류의 다중 실시간 PCR 검사(EuDx™-PN MLC Detection Kit와 Anyplex™ II RB5 Detection Kit)로 검사하였다. *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* 그리고 *L. pneumophila*에 대한 검사결과는 3종류의 검사 결과 중 2개 이상 일치한 결과 또는 단일 실시간 PCR을 결과를 기준 (Extended standard)으로 분석하였다.

결과: EuDx™-PN MLC Detection Kit의 민감도와 특이도는 각각 93.3-100%와 100%였다. *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* 그리고 *L. pneumophila*에 대한 EuDx™-PN MLC Detection Kit와 Anyplex™ II RB5 Detection Kit 간 일치도와 kappa 값은 각각 70.0-100%와 0.82-1였다.

결론: 이러한 결과들은 EuDx™-PN MLC Detection Kit가 호흡기 검체에서의 비정형 병원균 검출 시 민감하고 특이하여 선별검사로 유용할 것으로 판단되며, 호흡기 감염 환자를 위한 적절한 항균요법의 선택에 도움이 될 것으로 생각된다.

[Ann Clin Microbiol 2017;20:97-102]

교신저자 : 이미경, 06973, 서울시 동작구 흑석로 102
중앙대학교병원 진단검사의학과
Tel: 02-6299-2719, Fax: 02-6298-8630
E-mail: cpworld@cau.ac.kr