

ORIGINAL ARTICLE

신생아 호흡기 바이러스 검출법(R-mix Virus Culture법과 Multiplex Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction)의 비교

김동현¹, 송준환¹, 김승수¹, 유경희¹, 이현정², 김 호¹

순천향대학교 의과대학 ¹소아과학교실, ²응급의학교실

Comparison of R-mix Virus Culture and Multiplex Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction for Assessment of Neonatal Respiratory Viral Infection

Dong Hyun Kim¹, Jun Hwan Song¹, Seung Soo Kim¹, Gyeong Hee Yoo¹, Hyun Jung Lee², Ho Kim¹

Departments of ¹Pediatrics and ²Emergency Medicine, Soonchunhyang University College of Medicine, Cheonan, Korea

Objective: Respiratory viral infection of the neonatal period is highly contagious. Rapid and accurate diagnosis is important for proper treatment and prevention. However, the existing diagnostic method, respiratory virus cell culture, takes a long time to diagnose. Recent development of rapid diagnostic methods such as multiplex reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) enable early detection and effective treatment of respiratory viral infections. We compared the efficiency of multiplex RT-PCR and R-mix virus culture for rapid detection of respiratory viruses.

Methods: We retrospectively analyzed the clinical features and results of R-mix virus culture and multiplex RT-PCR with nasopharyngeal aspiration specimens in 117 newborns admitted to neonatal intensive care unit suspected of infectious diseases.

Results: R-mix virus culture was positive in 29 cases (24.8%) and RT-PCR in 86 cases (73.5%). R-mix virus culture and multiplex RT-PCR were identical in 54 cases (positive 26 cases, negative 28 cases). Among 75 cases that showed different results, 60 showed negative result in R-mix virus culture and positive result in multiplex RT-PCR, and three showed positive result in R-mix virus culture and negative result in multiplex RT-PCR. Different viruses were detected in the remaining 12 cases by both methods.

Conclusion: Multiplex RT-PCR is faster than R-mix virus culture and has the advantage of identifying new respiratory viruses. On the other hand, Multiplex RT-PCR is more susceptible to false positives and mixed infections than R-mix virus culture, so more attention is required when interpreting test results.

Keywords: Newborn infant; Viruses; Infection; Culture; Reverse transcriptase polymerase chain reaction

서 론

신생아는 다른 연령에 비하여 세균감염에 취약하고 세균과 바이러스 감염질환을 임상양상만으로 구분하는 것이 어려워 감염질환이 의심되는 경우 입원하여 항생제 치료를 우선 시작하게 된다. 그러나 신생아일지라도 감염질환의 상당 부분이 세균감염이 아닌 바이러스 감염으로 인해 발생하므로 항생제 치료 못지않게 증상에 맞는 보존적 치료와 신속한 진단을 통한 질병 전파의 차단 또한 중

환이 의심되는 경우 입원하여 항생제 치료를 우선 시작하게 된다. 그러나 신생아일지라도 감염질환의 상당 부분이 세균감염이 아닌 바이러스 감염으로 인해 발생하므로 항생제 치료 못지않게 증상에 맞는 보존적 치료와 신속한 진단을 통한 질병 전파의 차단 또한 중

Correspondence to: Ho Kim

Department of Pediatrics, Soonchunhyang University Cheonan Hospital, 31 Suncheonhyang 6-gil, Dongnam-gu, Cheonan 31151, Korea

Tel: +82-41-570-2651, Fax: +82-41-572-4996, E-mail: c78141@schmc.ac.kr

Received: Sep. 5, 2018 / Accepted after revision: Oct. 24, 2018

© 2018 Soonchunhyang Medical Research Institute

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/>).

요하다. 호흡기 바이러스 감염의 경우 기침, 콧물 등 가벼운 상기도 감염의 증상만 보이기도 하고, 경우에 따라 호흡곤란으로 기계호흡을 요하는 심각한 증상을 거쳐 사망에 이르는 중증 호흡기 감염을 일으키는 경우도 있다[1-3]. 이러한 호흡기 감염의 주요 바이러스로 influenza virus, respiratory syncytial virus (RSV), parainfluenza virus, adenovirus 등이 있다[2,4,5]. 호흡기 바이러스 감염의 진단방법으로는 신속항원비면역형광검사법(rapid antigen non-immunofluorescence tests), 신속항원면역형광검사법(rapid antigen immunofluorescence based tests), 전통세포배양법(conventional culture), 신속세포배양법(rapid cell culture), 분자진단법(molecular methods) 등이 있다[6]. 호흡기 바이러스 감염의 진단 방법으로 세포배양법을 표준검사로 사용하고 있으나 검사결과를 확인하는 데에 7일 이상의 시간이 소요되어 조기진단과 치료에 어려움을 주고 있다[7-9]. 최근에는 세포배양법의 단점을 보완하고 2-3일 이내에 결과를 확인할 수 있는 R-mix virus culture 방법이 개발되어 시행되고 있다. 또한 세포배양법에 비해 더욱 신속히 결과를 얻을 수 있는 multiplex reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR)과 같은 높은 민감도를 가진 분자진단법이 개발되어 진단과 치료에 사용되고 있다[10,11].

신생아의 호흡기 바이러스 감염은 신속한 진단이 중요하다. 그 이유는 호흡기 바이러스 감염은 전염력이 강해 쉽게 질병이 확산될 수 있으므로 신속한 진단을 통해 적절한 치료를 제공하고 질병 확산을 조기에 예방할 수 있기 때문이다. 이에 저자들은 감염질환의 의심되어 순천향대학교 천안병원 신생아집중치료실에 입원한 신생아의 임상양상을 분석하고, 감염의 원인에 대한 검사로 시행하는 호흡기 바이러스 검사법인 바이러스 배양법(R-mix virus culture)과 다중 역전사효소 연쇄반응법(multiplex RT-PCR)에 의한 호흡기 바이러스 진단법의 결과를 비교해보고자 하였다.

대상 및 방법

본 연구는 순천향대학교 천안병원 연구윤리심의위원회의 심의를 거쳐 대상자의 의무기록을 후향적으로 조사하였다(IRB approval no., 2018-06-042).

1. 연구대상

2010년 12월 1일부터 2013년 12월 31일까지 순천향대학교 천안병원 신생아집중치료실에 출생 후 30일 이내에 감염질환이 의심되어 입원한 환자들 중 호흡기 바이러스 검사를 시행하였던 117명의 환자의 의무기록을 후향적으로 분석하였다. 신생아들은 입원 당시 증상과 진찰소견, 흉부 방사선 소견을 근거로 하여 호흡기 감염질환으로 정의하였다. 흉부 방사선검사상 폐 침윤을 보이거나 청진 시 수포음이 들리는 경우는 폐렴으로, 청진 시 호기성 천명이 주로 들

리고 흉부 방사선 소견이 정상이거나 과팽창을 보이며 빈호흡이 있는 경우는 세기관지염으로, 청진 및 흉부 방사선검사서 특이점이 없고 비점막 충혈과 점액성 비루, 수유곤란이 있는 경우는 비염으로 진단하였다[2,12]. 신생아 패혈증은 세균감염으로 인한 심한 전신성 염증반응 증후군(systemic inflammatory response syndrome)의 한 형태로, 38°C 이상의 열이나 저체온, 빈맥, 빈호흡, 말초혈액 백혈구 수의 증가 또는 감소 중 2가지 이상이 환자에게 나타날 때 진단할 수 있다[13]. 본 연구에서도 38°C 이상의 발열 또는 저체온, 빈맥 또는 빈호흡이 있었던 신생아는 패혈증의 가능성을 고려하여 일반혈액검사와 혈액화학검사, 혈액배양검사, 소변검사, 소변배양검사를 시행하였으며, 패혈증에 동반된 뇌수막염에 대하여 요추천자검사를 시행하였다. 전신성 염증반응 증후군에 해당하고, 혈액배양검사서 양성을 보인 경우 신생아 패혈증으로 진단하였다[14]. 대상군의 모든 신생아는 로타바이러스 항원검사를 시행하였다.

2. 검사방법

입원 당일 또는 입원한 다음날 비인두 흡인(nasopharyngeal aspiration)을 통한 검체로 호흡기 바이러스 검사를 시행하였다. 검체의 채취는 무균 카테터를 점액 추출기에 연결시킨 후 환자의 콧구멍을 통해 약 2-3 cm 정도 삽입한 후 음압 60 mm Hg하에 흡입하여 비인두액을 채취하였다. 검체는 4°C에 보관되어 검사실로 수송되었으며 parainfluenza virus, RSV, influenza virus type A, B, rhinovirus, adenovirus에 대해 R-mix virus culture (Diagnostics Hybrids Inc., Athens, OH, USA)를 시행하였고, adenovirus, rhinovirus, parainfluenza virus type 1, 2, 3, influenza virus type A, B, RSV type A, B, human metapneumovirus, human coronavirus 229E, OC43에 대해 multiplex RT-PCR (Seeplex RV detection kit; Seegene, Seoul, Korea)을 시행하였다.

3. 통계 분석

R-mix virus culture와 multiplex RT-PCR에 대한 민감도와 특이도, 양성 및 음성 예측도를 산정하여 95% 신뢰구간(confidence interval)으로 표시하였다. 통계분석은 IBM SPSS ver. 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA)을 이용하였고, 두 진단검사 간의 민감도와 특이도 비교는 McNemar 검정법을 사용하였으며 분석결과 유의수준은 P-value < 0.05로 하였다.

결 과

1. 대상 신생아의 임상적 특성

2010년 12월 1일부터 2013년 12월 31일까지 순천향대학교 천안병원에 신생아집중치료실에 감염질환이 의심되어 입원한 신생아 중 호흡기 감염이 의심되어 호흡기 바이러스 검사를 시행한 환자는

총 117명이었다. 대상 신생아는 남녀 75:42명이었고 출생 후 10일 이내에 증상이 발생하여 입원하였던 신생아는 9명(7.7%)이었고, 11일에서 20일 사이 신생아는 51명(43.6%), 21일에서 30일 사이 신생아는 57명(48.7%)으로 대부분 출생 10일 이후 증상이 발생하여 입원한 신생아였다. 신생아 중 21명(17.9%)은 산후조리원에서 증상이 발생한 경우였다. 주 진단으로는 폐렴이 48명(41.0%), 모세기관지염이 49명(41.9%), 패혈증 16명(13.7%), 뇌수막염 11명(9.4%), 위장관 감염 3명(2.6%), 상기도 감염 3명(2.6%), 기타질환 3명(2.6%)이었다. 증상으로는 발열 41명(35.0%), 기침 92명(78.6%), 천명 24명(20.5%), 빈호흡 53명(45.3%), 콧물 87명(74.4%)으로 대부분 기침과 콧물이 주 증상이었다(Table 1).

Table 1. Clinical characteristics of patients

Characteristic	No. of patients (%)	No. of positive result (%)	
		R-mix virus culture	Multiplex reverse transcriptase polymerase chain reaction
Total no. of patients	117	29 (24.8)	86 (73.5)
Sex			
Male	75 (64.1)	6 (20.7)	54 (62.8)
Female	42 (35.9)	23 (79.3)	32 (37.2)
Age (day)			
1-10	9 (7.7)	1 (3.4)	2 (2.3)
11-20	51 (43.6)	15 (51.7)	41 (47.7)
21-30	57 (48.7)	13 (44.8)	43 (50.0)
Diagnosis			
Pneumonia	48 (41.0)	16 (55.2)	37 (43.0)
Acute bronchiolitis	49 (41.9)	10 (34.5)	43 (50.0)
Rhinitis	0	0	0
Sepsis	16 (13.7)	2 (6.9)	6 (7.0)
Meningitis ^{a)}	11 (9.4)	0	1 (1.2)
Acute gastroenteritis	3 (2.6)	1 (3.4)	1 (1.2)
Upper respiratory infection	3 (2.6)	0	1 (1.2)
Others ^{b)}	3 (2.6)	0	0
Symptom			
Fever	41 (35.0)	7 (24.1)	22 (25.6)
Cough	92 (78.6)	24 (82.8)	78 (90.7)
Wheezy respiration	24 (20.5)	6 (20.7)	21 (24.4)
Tachypnea	53 (45.3)	11 (37.9)	44 (51.2)
Apnea	7 (6.0)	2 (6.9)	6 (7.0)
Rhinorrhea	87 (74.4)	21 (72.4)	71 (82.6)
Poor feeding	20 (17.1)	6 (20.7)	16 (18.6)
Vomiting	0	0	0
Diarrhea	4 (3.4)	1 (3.4)	1 (1.2)
History			
Postnatal care center	21 (17.9)	7 (24.1)	17 (19.8)

^{a)}Asseptic meningitis due to rotavirus gastroenteritis, 1; enteroviral meningitis, 3; group B *Streptococcus* meningitis, 1; *Escherichia coli* meningitis, 1. ^{b)}Enteroviral myocarditis, 1; *Streptococcus pneumoniae*, 1; staphylococcal scalded skin syndrome, 1.

2. R-mix virus culture와 multiplex reverse transcriptase polymerase chain reaction 결과

1) R-mix virus culture

R-mix virus culture는 117개의 검체 중에서 29개(24.8%)가 양성이었다. Rhinovirus가 19예(63.3%)로 가장 많았으며 RSV 6예(20.0%), adenovirus 3예(10.0%), influenza type A 1예(3.3%), parainfluenza virus 1예(3.3%)였다. 1개의 검체에서는 adenovirus와 rhinovirus가 동시에 검출되었다. 총 29개의 검체에서 30예의 바이러스가 검출되었다(Table 2).

2) Multiplex reverse transcriptase polymerase chain reaction

Multiplex RT-PCR은 117개의 검체 중에서 86개(73.5%)가 양성 이었고, 그중 8개(6.8%)의 검체에서 2가지의 바이러스가 동시에 검출되었다. 검출된 바이러스에서 RSV 73예(77.7%), rhinovirus 12예(12.8%) 순으로 가장 많았으며 이외에 influenza virus type A 2예(2.1%), parainfluenza virus 5예(5.3%), human coronavirus 229E 2

Table 2. R-mix virus culture and multiplex RT-PCR results of respiratory viruses

Respiratory viruses	No. of positive results (%)	
	R-mix virus culture	Multiplex RT-PCR
Influenza virus A	1 (33.0)	2 (2.1)
RSV	6 (20.0)	73 ^{a)} (77.7)
Parainfluenza virus	1 (3.3)	5 ^{b)} (5.3)
Adenovirus	3 (10.0)	0
Rhinovirus	19 (63.3)	12 (12.8)
Coronavirus 229E	-	2 (2.1)
Coronavirus OC43	-	0
Metapneumovirus	-	0
Total	30 ^{c)} (100.0)	94 ^{d)} (100.0)

RT-PCR, reverse transcriptase polymerase chain reaction; RSV, respiratory syncytial virus.

^{a)}RSV A, 48 cases; RSV B, 25 cases; co-infection of RSV A and B, 1 case. ^{b)}Parainfluenza virus 1, 1 case; parainfluenza virus 3, 1 case; parainfluenza virus 4, 3 cases.

^{c)}Cases with co-infection are separately included in the total number of cases. R-mix virus culture, 1 positive case (rhinovirus and adenovirus); multiplex RT-PCR, 8 positive cases (rhinovirus and RSV A, 3 cases; rhinovirus and RSV B, 2 cases; RSV A and RSV B, 1 case; influenza virus A+RSV A, 1 case; parainfluenza virus and RSV A, 1 case).

Table 3. Co-infection with respiratory viruses detected by multiplex reverse transcriptase polymerase chain reaction

Respiratory virus	No. of patients
Rhinovirus and RSV A	3
Rhinovirus and RSV B	2
RSV A and B	1
Influenza virus A and RSV A	1
Parainfluenza virus and RSV A	1

RSV, respiratory syncytial virus.

예(2.1%)가 검출되어 86개의 검체에서 94예의 바이러스가 검출되었다(Table 2). Rhinovirus와 RSV type A 3예, rhinovirus와 RSV type B 2예, RSV type A와 RSV type B 1예, influenza virus type A와 RSV type A 1예, parainfluenza virus type 4와 RSV type A 1예에서 2가지의 바이러스가 동시에 검출되었다(Table 3).

3) R-mix virus culture와 multiplex reverse transcriptase polymerase chain reaction 비교

R-mix virus culture와 multiplex RT-PCR을 비교하면 총 54예(양성 26예, 음성 28예)에서 두 결과가 일치하였다. 두 검사에서 모두 양성을 보인 26예 중 12예에서 서로 다른 종류의 바이러스가 검출되었다. R-mix virus culture에서 음성이었으나 multiplex RT-PCR에서 양성되었던 60예 중 R-mix virus culture에서 검출 가능한 호흡기 바이러스(influenza virus type A와 B, parainfluenza virus type 1, 2, 3, rhinovirus, RSV type A와 B, adenovirus)에 양성을 보인 것은 58예였으며, multiplex RT-PCR에서 추가로 확인할 수 있는 바이러스(human metapneumovirus, human coronavirus 229E와 OC43)가 검출된 예는 2예(human coronavirus 229E)였다(Table 4).

호흡기 바이러스 질환의 진단을 위한 R-mix virus culture의 민감도와 특이도는 29.2%, 89.3%, 양성예측도와 음성예측도는 89.7%, 31.8%였다. 그리고 multiplex RT-PCR의 민감도와 특이도는 88.4%, 58.1%, 양성예측도와 음성예측도는 85.4%, 64.3%였다. 호흡기 바이러스 감염에 의한 질환에 대해 R-mix virus culture는 특이

도가 통계적으로 유의하게 높았고(P = 0.016), multiplex RT-PCR은 민감도가 통계적으로 유의하게 높았다(P = 0.000) (Table 5).

고 찰

본 연구는 순천향대학교 천안병원 신생아집중치료실에 감염질환이 의심되어 입원한 생후 30일 미만의 신생아에게서 호흡기 바이러스 감염을 진단하기 위한 진단법인 R-mix virus culture와 multiplex RT-PCR의 결과를 비교하였다. 소아의 호흡기 바이러스 감염에 대한 연구는 다수 보고되었으나 신생아를 대상으로 한 연구는 그 사례가 적으며 대부분 신생아집중치료실에 입원한 미숙아를 대상으로 한 연구였다[1,2,15]. 반면 본 연구는 건강하게 출생하여 임상적으로 안정된 신생아에게서 감염질환이 의심되어 입원한 신생아를 대상으로 한 지역사회 획득 호흡기 바이러스 감염의 진단방법에 대한 연구로 그 의미가 있다. 신생아의 호흡기 바이러스 감염의 경우 전염력이 매우 높기 때문에 단기간에 대유행을 일으킬 수 있으므로 입원 환자의 신속한 진단이 전파의 차단에 상당히 중요하다. 또한 무호흡, 경련, 기면, 의식저하 등의 이차적 합병증이 나타나는 경우가 드물지 않아 신속한 진단을 통해 적절한 처치가 우선되어야 한다[16]. 본 연구에서는 호흡기 바이러스 감염의 조기 진단을 위한 진단법인 R-mix virus culture와 multiplex RT-PCR을 비교하여 실제 임상에서 적용되는 특징을 알아보려고 하였다.

주요 호흡기 감염 바이러스에는 RSV type A와 B, rhinovirus, influenza virus type A와 B, parainfluenza virus, adenovirus 등이 있으며, 하기도 감염으로 입원한 소아의 40% 이상에서 이들 바이러스가 검출된다. 특히 90일 이하의 어린 영아에게서는 rhinovirus와 RSV의 검출률이 높게 보였다[17]. 본 연구에서도 두 가지 진단법 모두에서 rhinovirus와 RSV가 가장 많이 검출되었다. 신생아 RSV 감염의 경우 발열이 없는 기침, 콧물의 가벼운 호흡기 증상으로 시작하여 빈호흡, 호흡곤란으로 증상이 악화되어 기계호흡을 요하는 중증 호흡기 증상으로 진행되는 위중한 경과를 보이기도 한다[1,3]. 본 연구에서도 발열에 비하여 기침, 천명이 동반된 빈호흡의 증상이 더 많이 나타났으며 모세기관지염으로 진단된 환자에게서 RSV 양성률이 높았다. 신생아에게서 RSV 감염이 발생하여 초기 비특이적 증상으로 진단이 늦어질 경우 집단 감염으로 진행하기 쉽다[16,18]. 최근 국내에서 산후조리원의 집단시설의 이용이 증가

Table 4. Comparison between the results of R-mix virus culture and multiplex RT-PCR

Multiplex RT-PCR	R-mix virus culture		Total (%)
	Positive (%)	Negative (%)	
Positive ^{a)}	26 ^{b)} (22.2)	58 ^{c)} (49.6) 2 ^{d)} (1.7)	86 (73.5)
Negative	3 (2.6)	28 (23.9)	31 (26.5)
Total	29 (24.8)	88 (75.2)	117 (100)

RT-PCR, reverse transcriptase polymerase chain reaction.
^{a)}Multiplex RT-PCR result suggested that 8 patients were co-infected. ^{b)}R-mix virus culture and multiplex RT-PCR showed different results in 12 cases. ^{c)}Multiplex RT-PCR analysis was positive for 7 respiratory viruses (influenza virus A/B, parainfluenza virus, rhinovirus, respiratory syncytial virus A/B, adenovirus) and other respiratory viruses (human metapneumovirus, coronavirus 229E/OC43). ^{d)}Multiplex RT-PCR analysis was positive for only 1 extra respiratory virus (coronavirus 229E: 2 cases).

Table 5. Comparison of R-mix virus culture and multiplex RT-PCR to detect respiratory viruses

	Sensitivity ^{a)} (%)		Specificity ^{b)} (%)		Positive predictive value (%)		Negative predictive value (%)	
	% (no./total no.)	95% CI						
R-mix virus culture	29.2 (26/86)	24.2–31.7	89.3 (25/31)	73.3–97.1	89.7 (26/29)	74.2–97.2	28.4 (25/88)	26.7–34.3
Multiplex RT-PCR	88.4 (76/86)	82.9–92.9	58.1 (18/31)	42.8–70.6	85.4 (76/89)	80.1–89.8	64.3 (18/28)	47.4–78.2

RT-PCR, reverse transcriptase polymerase chain reaction; CI, confidence interval.
 P-value by McNemar test: ^{a)}P = 0.000, ^{b)}P = 0.016.

하면서 RSV 집단감염 사례가 증가되고 있다[18]. 본 연구에서도 전체 117명의 환자 중 21명(17.9%)은 산후조리원에서 지냈던 신생아였으며 대부분이 RSV가 검출되었고 대부분 모세기관지염으로 진단되었다.

본 연구에서 R-mix virus culture에 비하여 multiplex RT-PCR에서 양성률이 높았다. R-mix virus culture에서의 양성률은 24.8%로 이전 연구된 보고와 유사한 양성률을 보였다[19,20]. Multiplex RT-PCR에서는 R-mix virus culture에서 음성이었던 검체에서도 바이러스가 검출되어 73.5%의 양성률을 보였으며 이 결과 역시 이전 연구된 보고와 유사하였다[17,21]. 이처럼 multiplex RT-PCR에서 양성률이 높은 이유는 검체의 보존 및 검체량 등에 의한 제약을 적게 받으면서 대상 핵산을 효율적으로 증폭할 수 있다는 장점이 있기 때문으로 여긴다[22]. 또한 multiplex RT-PCR에서는 human metapneumovirus와 human coronavirus 229E 및 OC43이 추가로 확인되어 양성률을 증가시켰을 것으로 생각되었다.

2가지 이상의 바이러스가 검출된 것은 R-mix virus culture에서는 1예(3.4%)에서 RSV type A와 B가 중복감염으로 나타났고, multiplex RT-PCR에서는 8예(9.3%)에서 나타나 multiplex RT-PCR에서 중복감염의 빈도가 높았다. Woo 등[23]의 연구에서 호흡기 바이러스 multiplex RT-PCR 결과 중복감염이 36.4%였고, 그중 rhinovirus의 중복감염이 53.8%로 가장 많았고, RSV type A의 중복감염이 47.5%로 나타났으며, 중복감염의 가장 흔한 조합은 rhinovirus와 RSV type A의 감염으로 17.5%로 나타났다. 본 연구에서도 rhinovirus와 RSV type A의 중복감염 3예, rhinovirus와 RSV type B의 중복감염 2예, RSV type A와 B 1예, influenza virus type A와 RSV type A 1예, parainfluenza virus와 RSV type A 1예로 rhinovirus와 RSV의 중복감염 빈도가 가장 높았다. Multiplex RT-PCR에서 중복감염의 빈도가 더 높았던 것은 R-mix virus culture에 비하여 민감도가 더 높아서일 것으로 여긴다[11].

R-mix virus culture에서는 rhinovirus가 19검체(63.3%)에서 확인되어 가장 우위를 차지하였으며 multiplex RT-PCR에서는 RSV가 73검체(77.7%)에서 확인되어 가장 우위를 차지하였다. R-mix virus culture에서 rhinovirus 양성을 보였던 19검체의 multiplex RT-PCR 결과에서는 6검체에서 RSV가 확인되어 서로 다른 결과를 보여 해석에 어려움이 있었다. 신생아에게서는 rhinovirus와 RSV의 중복감염이 많으나 검체의 채취 및 수송과 취급의 문제로 R-mix virus culture와 multiplex RT-PCR의 결과가 다르게 보였을 수도 있을 것으로 여기며 신생아에게서의 rhinovirus와 RSV 감염에 대한 후속연구가 필요할 것으로 생각되었다.

R-mix virus culture의 민감도는 29.2% (24.2%–31.7%), 특이도는 89.3% (73.3%–97.1%)로 다른 연구에서 민감도 95%–100%, 특이도 97%–100%이었던 것에 비해 민감도가 낮았다[24,25]. Multiplex RT-PCR에서의 민감도는 88.4% (82.9%–92.9%), 특이도는 58.1%

(42.8%–70.6%)로 다른 연구에서 민감도 94%–100%, 특이도 92%–98%이었던 것에 비해 특이도가 낮았다[26,27]. 반면 다른 연구에서와 비슷하게 본 연구에서도 multiplex RT-PCR에서 민감도가, R-mix virus culture에서는 특이도가 통계적으로 유의하게 높았다[28,29]. 이처럼 다른 연구들과 민감도 특이도가 차이가 나는 것은 대상 집단의 호흡기 바이러스 질환의 유병률이 다르기 때문일 수 있고, 대상수가 적은 것도 원인일 수 있다고 여긴다.

R-mix virus culture의 경우 검사결과를 확인하는 데까지 5–7일의 시간이 소요되었으며, multiplex RT-PCR의 경우 2–3일의 시간이 소요되어 바이러스 감염의 전파에 대한 보다 신속한 대처를 할 수 있었다.

이번 연구의 한계점으로는, 첫째, 입원 환자를 대상으로 했기에 경미한 감염을 가진 환자가 누락되었고, 둘째, 바이러스 감염에 영향을 줄 수 있는 모유수유 여부, 간접흡연, 형제 수 등 환경적 요인과 혈액검사결과, 입원기간, 치료방법 등 다양한 임상양상과 비교하지 못하여 중복감염과 서로 다른 결과를 보인 경우에 대한 해석에 어려움이 있었다.

결론적으로, 신생아 호흡기 바이러스 감염질환의 진단에 있어 민감도가 보다 높으며 보다 신속하게 진단하여 질병의 전파를 막기 위한 방법으로는 multiplex RT-PCR이 유리할 것으로 생각되지만, 위양성률이 R-mix virus culture에 비하여 높아 실제 호흡기 바이러스 감염이 아닌 경우가 있을 수 있으므로 주의를 요하며, 여러 가지 바이러스에 대하여 양성 반응을 보일 경우 중복감염과 위양성을 감별하여 결과 해석에 주의하여야 할 것이다.

REFERENCES

- Barford G, Rentz AC, Faix RG. Viral infection and antiviral therapy in the neonatal intensive care unit. *J Perinat Neonatal Nurs* 2004;18:259-74.
- Denny FW, Clyde WA Jr. Acute lower respiratory tract infections in non-hospitalized children. *J Pediatr* 1986;108(5 Pt 1):635-46.
- Ronchi A, Michelow IC, Chapin KC, Bliss JM, Pugni L, Mosca F et al. Viral respiratory tract infections in the neonatal intensive care unit: the VIRIoNI study. *J Pediatr* 2014;165:690-6.
- Jennings LC, Anderson TP, Werno AM, Beynon KA, Murdoch DR. Viral etiology of acute respiratory tract infections in children presenting to hospital: role of polymerase chain reaction and demonstration of multiple infections. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:1003-7.
- Tregoning JS, Schwarze J. Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23:74-98.
- Lim G, Park TS, Suh JT, Lee HJ. Comparison of R-mix virus culture and multiplex reverse transcriptase-PCR for the rapid detection of respiratory viruses. *Korean J Lab Med* 2010;30:289-94.
- Barenfanger J, Drake C, Mueller T, Trout T, O'Brien J, Guttman K. R-Mix cells are faster, at least as sensitive and marginally more costly than conventional cell lines for the detection of respiratory viruses. *J Clin Virol* 2001;22:101-10.
- Leland DS, Ginocchio CC. Role of cell culture for virus detection in the

- age of technology. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:49-78.
9. Renshaw A. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. *Adv Anat Pathol* 2007;14:147.
 10. Mahony JB. Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:716-47.
 11. Yoo SJ, Kuak EY, Shin BM. Detection of 12 respiratory viruses with two-set multiplex reverse transcriptase-PCR assay using a dual priming oligonucleotide system. *Korean J Lab Med* 2007;27:420-7.
 12. Nathan CO, Seid AB. Neonatal rhinitis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1997;39:59-65.
 13. Lee WR. Neonatal sepsis. *Korean J Pediatr* 2002;45:289-94.
 14. Vergnano S, Sharland M, Kazembe P, Mwansambo C, Heath PT. Neonatal sepsis: an international perspective. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005;90:F220-4.
 15. Chung JY, Han TH, Kim SW, Hwang ES. Respiratory picornavirus infections in Korean children with lower respiratory tract infections. *Scand J Infect Dis* 2007;39:250-4.
 16. Eisenhut M. Extrapulmonary manifestations of severe respiratory syncytial virus infection: a systematic review. *Crit Care* 2006;10:R107.
 17. Eem YJ, Bae EY, Lee JH, Jeong DC. Risk factors associated with respiratory virus detection in infants younger than 90 days of age. *Korean J Pediatr Infect Dis* 2014;21:22-8.
 18. Hong SJ, Kim DK, Lee DS, Cho SM, Choi SM. RSV outbreak at a single postpartum care center in Gyeongsangbukdo. *Korean J Perinatol* 2016;27:60-6.
 19. Kang JO, Kim EC, Lee KM, Lee NY, Lee CK. Surveillance for respiratory virus testing situation in Korea and epidemiology for the respiratory viruses detected in 5 university hospitals: report from virus study group. *Korean J Clin Microbiol* 2007;10:102-8.
 20. LaSala PR, Bufton KK, Ismail N, Smith MB. Prospective comparison of R-mix shell vial system with direct antigen tests and conventional cell culture for respiratory virus detection. *J Clin Virol* 2007;38:210-6.
 21. Bag N, Jung JA, Kwon KA. Clinical considerations of febrile infants with respiratory symptoms according to the respiratory viral detection. *Allergy Asthma Respir Dis* 2016;4:38-43.
 22. Yoon KH, Cho JH. Detection of respiratory viruses in children by multiplex reverse transcriptase PCR, direct immunofluorescence assay, and shell vial culture. *Korean J Clin Microbiol* 2009;12:110-5.
 23. Woo YR, Kim HJ, Kim MS, Koh HJ, Lee SG, Ahn YH. Clinical difference between single infection and coinfection with respiratory virus: the 2014 single-center study. *Allergy Asthma Respir Dis* 2016;4:360-8.
 24. Dunn JJ, Woolstenhulme RD, Langer J, Carroll KC. Sensitivity of respiratory virus culture when screening with R-mix fresh cells. *J Clin Microbiol* 2004;42:79-82.
 25. St George K, Patel NM, Hartwig RA, Scholl DR, Jollick JA Jr, Kauffmann LM, et al. Rapid and sensitive detection of respiratory virus infections for directed antiviral treatment using R-mix cultures. *J Clin Virol* 2002;24:107-15.
 26. Kim H, Hur M, Moon HW, Yun YM, Cho HC. Comparison of two multiplex PCR assays for the detection of respiratory viral infections. *Clin Respir J* 2014;8:391-6.
 27. Kim HK, Oh SH, Yun KA, Sung H, Kim MN. Comparison of Anyplex II RV16 with the xTAG respiratory viral panel and Seeplex RV15 for detection of respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 2013;51:1137-41.
 28. Falsey AR, Formica MA, Walsh EE. Diagnosis of respiratory syncytial virus infection: comparison of reverse transcription-PCR to viral culture and serology in adults with respiratory illness. *J Clin Microbiol* 2002;40:817-20.
 29. Liolios L, Jenney A, Spelman D, Kotsimbos T, Catton M, Wesselingh S. Comparison of a multiplex reverse transcription-PCR-enzyme hybridization assay with conventional viral culture and immunofluorescence techniques for the detection of seven viral respiratory pathogens. *J Clin Microbiol* 2001;39:2779-83.