

## 서울지역 레지오넬라증 환자의 레지오넬라종 분포

면역진단팀

박호연 · 김은정 · 김민정 · 박인숙 · 목은경 · 공예지 · 조석주 · 오영희 · 정 권

### Distribution of *Legionella* Species Isolated from Legionellosis Patients

*Immuno-Diagnosis Team*

Ho-yeun Park\*, Eun-jeung Kim, Min-jung Kim,  
In-sook Park, Eun-kyung Mok, Ye-ji Gong,  
Suk-ju Jo, Young-hee Oh and Kweon Jung

#### Abstract

Serological diagnosis of *Legionella* species in 2,307 serum samples, collected in Seoul, was conducted by an indirect fluorescent antibody assay(IFA). With an antibody titer of  $\geq 1:128$  determined to be positive, 19(0.8%) of these samples were positive and 4(21.1%) positive serum samples were cross-reactive between *Legionella* species. The number of samples with antibody titers  $\geq 1:128$  to *Legionella pneumophila* sg 1, *L. pneumophila* sg 2, *L. pneumophila* sg 4, *L. pneumophila* sg 5, *L. pneumophila* sg 6, *Legionella longbeachae* sg 1, *Legionella feeleeii* sg 2, *Legionella busanensis*, *Legionella anisa* were 3(12.5%), 1(4.2%), 5(20.8%), 5(20.8%), 2(8.3%), 1(4.2%), 1(4.2%), 1(4.2%), and 5(20.8%) respectively. Among 19 positive serum samples, 11(57.9%) were from males and 8(41.2%) from females. Except for two samples(twenty), 17 positive samples were from those older than 50 years of age.

**Key words** : *Legionella* species, Indirect fluorescent antibody assay(IFA)

#### 서 론

레지오넬라증(Legionellosis)은 *Legionella* 속의 세균에 의한 감염증으로서, 1976년 여름 미국 필라델피아의 재향군인 총회에 참가한 회원들과

인근 지역 주민들을 중심으로 221명의 집단 폐렴 환자가 발생하고 이중 34명(15%)이 사망하면서 처음으로 알려진 질환이다(1~2). 레지오넬라균은 주로 대형건물의 냉각탑수, 에어컨, 건물의 수계시설(샤워기, 수도꼭지), 가습기, 호흡기 치료기, 온천

등의 오염된 물속의 균이 비말 형태로 인체에 흡입 돼서 전파된다(3). 임상적 특성은 치명률이 높은 폐렴을 동반하는 레지오넬라 폐렴(Legionnaire's disease)과, 상대적으로 경미한 감염으로 특별한 치료 없이 호전되는 폰티악 열(Pontiac fever)의 2가지 증상유형으로 나뉜다(1~2). 레지오넬라증의 주요 원인균은 *L. pneumophila* spp.로 알려져 있으며, 이외에도 *L. gormanii*, *L. longbeachae* sg 1, *L. bozemanii*, *L. busanensis*, *L. anisa* 등 20여종의 레지오넬라균이 사람에게 감염을 일으키는 것으로 알려져 있다(4~5).

우리나라에서는 1984년 처음으로 폰티악 열(Pontiac fever)에 의한 레지오넬라증 발생이 보고되었고(6), 지역사회 획득 폐렴의 0~2.3%를 차지하며(7), 2000년 8월 제3군 법정 감염병으로 지정되었다. 질병관리본부의 전염병 통계에 의하면 2001년 2명, 2006년 20명, 2011년 28명, 2014년 30명 등으로 신고된 환자의 수가 점차 증가하는 추세이다.

진단방법으로 균배양 검사, 혈청학적 진단, 항원 검출, 유전자 검사 등이 있다(8). 균배양 검사는 민감도가 20~95%로 다양하고(2), 배양에 10일 이상의 시간이 소요되는 단점이 있으며, 요 중의 항원 검사는 특이도가 99% 이상으로 높고 신속하게 진단할 수 있으나 *pneumophila* serogroup 1의 검사에 한정되어 있다(10). 유전자 검사는 소량의 레지오넬라 유전자도 짧은 시간에 증폭할 수 있고 특히 하부 호흡기 분비물에서 민감도가 높다는 장점이 있으나 위양성 등의 문제가 있다(11). 혈청학적 진단에 사용되는 가장 일반적인 방법은 간접형광항체법(Indirect Fluorescent Antibody Assay, IFA)으로 급성환자에 있어서 항체 형성 지연 등의 단점이 있으나(9), 민감도와 특이도가 좋아 우리나라에서는 질병관리본부와 일부 보건환경연구원 등 공공기관에서 레지오넬라증의 진단에 사용하고 있다.

본 연구는 서울지역 병원에서 레지오넬라증 의심환자의 확인진단을 위하여 우리원에 검사 의뢰된 혈청을 간접형광항체법으로 항체를 조사하여, 서울지역에서 발생하는 레지오넬라증의 역학적 특성을 파악하고 레지오넬라증의 확산방지 및

조기퇴치를 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구대상

2012년 1월부터 2015년 6월까지 서울지역 병원 에서 우리원에 레지오넬라 항체가 검사 의뢰된 혈청 2,307건에 대해 간접형광항체법(Indirect Fluorescent Antibody Assay, IFA)을 실시하였다. 모든 검체에 대한 정보는 성별 및 나이만을 사용하였다.

### 2. 간접형광항체법(Indirect Fluorescent Antibody Assay, IFA)

간접형광항체법에 사용한 항원은 *L. pneumophila* serogroup(sg) 1(ATCC 33152), *L. pneumophila* sg 2(ATCC 33154), *L. pneumophila* sg 3(ATCC 33155), *L. pneumophila* sg 4(ATCC 33156), *L. pneumophila* sg 5(ATCC 33216), *L. pneumophila* sg 6(ATCC33215), *L. bozemanii* (ATCC 33217), *L. gormanii*(ATCC 33297), *L. micdadei*(ATCC 33218), *L. longbeachae* sg 1(ATCC 33462), *L. feeleeii* sg 2(ATCC 33849), *L. dumoffii*(ATCC 33279), *L. busanensis* (BAA-518), *L. anisa*(isolate)를 사용하였다. 14개의 *Legionella* spp. 항원이 고정된 슬라이드는 질병관리본부로부터 제공받아 사용하였다.

혈청을 멸균된 0.01 M phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.6)을 사용하여 1:32부터 1:128으로 2배 단계 희석하였다. 서로 다른 레지오넬라균 항원이 고정된 슬라이드의 각 well에 2  $\mu$ l씩 희석한 혈청을 떨어뜨린 후, moist chamber에 넣고 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이때 양성 대조구는 질병관리본부에서 제공한 토끼 항혈청을 사용하였다. 멸균 0.01M PBS(pH 7.6)로 3회 세척하여 항원에 부착되지 않은 잔여 혈청을 제거하고 공기 중에서 살짝 건조시켰다. 멸균 0.01M PBS(pH 7.6)를 이용하여 1:400으로 희석한 goat FITC-conjugate anti-human IgGMA(Cappel, #55156)를 각 well 당 2  $\mu$ l씩 떨어뜨린 후, moist chamber

**Table 1.** Number of serums used in this study by sex and age

Age	0~9	10~19	20~29	30~39	40~49	50~59	60~69	70~79	80~89	over 90	Total
Male	2	21	79	115	100	179	256	368	182	29	1,331
Female	0	12	91	99	99	129	164	198	150	34	976
Total	2	33	170	214	199	308	420	566	332	63	2,307
(Ratio,%)	0.1	1.4	7.4	9.3	8.6	13.4	18.2	24.5	14.4	2.7	100

에 넣고 37°C에서 30분간 반응시켰다. 양성대조군인 토끼 항혈청에는 1:400으로 희석한 FITC-conjugate anti-rabbit IgG(Cappel, #55646)를 사용하였다. PBS(pH 7.6)로 슬라이드를 2회 세척, 멸균 증류수로 1회 세척하여 반응하지 않은 잔여 conjugater를 제거하고 공기 중에서 살짝 건조시켰다. FA mounting fluid(pH 9.0)를 well에 떨어뜨리고 cover glass를 덮었다. 레지오넬라증에 대한 실험실 진단기준은 간접형광항체법으로 레지오넬라균에 대한 항체가 급성기와 회복기 혈청에서 4배 이상 증가 또는 단일 항체가 1:128인 경우이다(3). 본 연구에서는 현미경(Zeiss HBO100, German)으로 400배 비율로 검경하여 1:128 이상에서 end point 2+ 이상일 경우(전체적으로 일정하나 희미하게 균이 염색된 경우, 균체수가 50% 보이는 경우) 양성으로 판독하였다. IgGMA에서 1:128 이상(양성)으로 판독된 혈청은 해당 항원에 대하여 goat FITC-conjugate anti-human IgG(Cappel, #55144)와 goat FITC-conjugate anti-human IgM(Cappel, #55153)을 이용하여 IgG와 IgM에 대한 항체를 추가로 측정하였다.

## 결과 및 고찰

2012년 1월부터 2015년 6월까지 의뢰된 혈청 2,307건은 남성이 1,331건(57.7%), 여성이 976건(42.3%)으로 남성의 비율이 높았다. 검사한 혈청의 성별, 연령별 분포는 표 1과 같으며, 70대 환자의 비율이 566건(24.5%)으로 가장 높았고, 60대 이상이 1,381건으로 전체의 59.8%를 차지하였다.

레지오넬라증의 혈청학적 진단 결과는 표 2와 같으며, 14개의 레지오넬라균 항원에 대한 항체가 1:32미만은 88.1%이며, 1:32 이상은 11.9%였다. 이 중 항체가 1:128 이상 양성으로 판정된 혈청은 19건(0.8%)이었다.

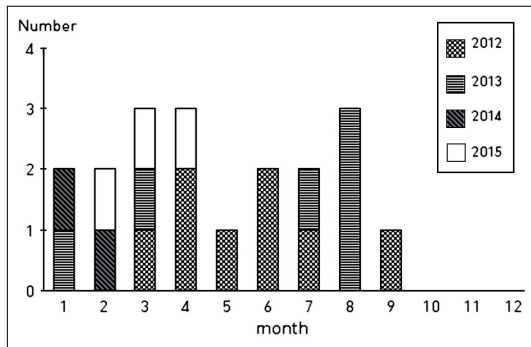
**Table 2.** Results of Legionellosis on serological diagnosis

	under 1:32	1:32	1:64	over 1:128*	Total
Number	2,033	204	51	19	2,307
Ratio(%)	88.1	8.8	2.2	0.8	100

\* Positive results were determined by over 1:128 titer.

연구기간 동안의 월별 양성자 발생현황은 그림 1과 같으며, 월별 발생의 특이성은 보이지 않으나 기간 내 10, 11, 12월에는 양성으로 판정되는 환자가 나타나지 않았다. 이는 레지오넬라증 월별 발생현황에 대한 기존의 연구결과와 유사하다(11, 13).

연령에 따른 양성 혈청은 70대가 7건(36.8%)으로 가장 많았으며 50대 4건(21.1%), 80대 3건(15.8%), 20대와 60대 2건(10.5%), 90대 1건(5.3%)의 순으로 나타났다(표 3). Ngeow 등(9)에 의하면 비정형 폐렴이 기저질환자와 고령층에서 심각한 증상을 보인다고 하였고, 전국에서 발생한 환자의 연령별 분포에서도 연령이 높아질수록 인구 100만명당 환자 발생률이 뚜렷이 증가하며(15), 본 연구에서도 20대 환자 2명을 제외한 17건(89.5%)이 50대 이상에서 발생하고 있으므로 고령층의 감염에 대한 주의가 필요할 것으로



**Fig. 1.** Number of Legionellosis cases by month in Seoul (Jan. 2012 ~ Jun. 2015).

보인다. 성별로는 남성 11건(57.9%), 여성 8건(42.1%)으로 전국에서 발생한 레지오넬라증 환자 중 남성의 비율인 69.1%(13)보다는 낮았으나 공통적으로 남성의 비율이 높았다(표 4).

항체가 1:128 이상인 레지오넬라균 분포는 *L. pneumophila* sg 4, *L. pneumophila* sg 5, *L. anisa*이 각각 5건(20.8%), *L. pneumophila* sg 1이 3건(12.5%), *L. pneumophila* sg 6이 2건(8.3%), *L. pneumophila* sg 2, *L. longbeachae* sg 1, *L. feeleii* sg 2, *L. busanensis*이 각각 1건(4.2%)로, *L. pneumophila*가 16건(66.7%)을 차지하였다(표 3). 이는 레지오넬라 감염 중 *L.*

**Table 3.** Serums of indirect fluorescent antibody titers  $\geq 1:128$  in responses to *Legionella* species

Age (Ratio)*	Sex	Number	Species	Antibody titers
20~29 (11%)	Female	1	<i>L. anisa</i>	IgG 1:128, IgM<1:32
		2	<i>L. anisa</i>	IgG 1:128, IgM<1:32
50~59 (21%)	Male	1	<i>L. pneumophila</i> sg 1	IgG 1:128, IgM<1:32
		2	<i>L. anisa</i>	IgG 1:128, IgM 1:64
	Female	1	<i>L. pneumophila</i> sg 1	IgG 1:128, IgM 1:64
		2	<i>L. pneumophila</i> sg 5	IgG 1:128, IgM<1:32
60~69 (11%)	Female	1	<i>L. pneumophila</i> sg 4	IgG 1:128, IgM<1:32
		2	<i>L. anisa</i>	IgG 1:128, IgM<1:32
70~79 (37%)	Male	1	<i>L. pneumophila</i> sg 1	IgG 1:128, IgM<1:32
		2	<i>L. pneumophila</i> sg 4	IgG 1:128, IgM<1:32
		3	<i>L. pneumophila</i> sg 4	IgG 1:128, IgM<1:32
			<i>L. pneumophila</i> sg 5	
		4	<i>L. pneumophila</i> sg 4	IgG 1:128, IgM<1:32
		5	<i>L. pneumophila</i> sg 5	
		6	<i>L. pneumophila</i> sg 6	IgG 1:128, IgM<1:32
7	<i>L. anisa</i>	IgG 1:128, IgM 1:64		
80~89 (16%)	Male	1	<i>L. pneumophila</i> sg 2	IgG 1:128, IgM<1:32
		2	<i>L. pneumophila</i> sg 5	
	Female	1	<i>L. pneumophila</i> sg 5 <i>L. busanensis</i>	IgG 1:128, IgM<1:32
90~99 (5%)	Female	1	<i>L. longbeachae</i> sg 1	IgG 1:128, IgM<1:32
Total		19		

\* Age-specific positive ratio of Legionellosis

**Table 4.** Prevalence of IFA antibody titers  $\geq 1:128$  in responses to *Legionella* species

	Lp1	Lp2	Lp4	Lp5	Lp6	Ll	Lf	Lb	La	Total
Male	2	1	4	3	2	0	1	0	2	15
Female	1	0	1	2	0	1	0	1	3	9
Total	3	1	5	5	2	1	1	1	5	24
%	12.5	4.2	20.8	20.8	8.3	4.2	4.2	4.2	20.8	100

Lp1 : *L. pneumophila* sg 1, Lp2 : *L. pneumophila* sg 2, Lp4 : *L. pneumophila* sg 4, Lp5 : *L. pneumophila* sg 5, Lp6 : *L. pneumophila* sg 6, Ll : *L. longbeachae* sg 1, Lf : *L. feeleii* sg 2, Lb : *L. busanensis*, La : *L. anisa*

*pneumophila*의 분포에 대한 Yoon 등(11)의 결과(70.6%)와 유사하였으나, Fields 등(2)의 결과인 90%와는 상이하였다. 하지만 Fields 등(2)은 이 보고에서 *L. pneumophila*의 감염이 높게 나타난 것은 non-*L. pneumophila*에 대한 분석기술의 부족에서 기인할 수도 있다고 하였다. 또한 부산지역의 레지오넬라증에 관한 박 등(12)의 연구 결과에서는 레지오넬라 감염 중 non-*L. pneumophila*에 의한 감염이 약 86%를 차지하였다. 이는 분석기술의 발전 과 지역의 상이함으로 인한 결과로 판단되며, 원인에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

본 연구에서 19건의 양성혈청 중 두 개의 항원에 교차반응을 보인 경우는 *L. pneumophila* sg 4와 *L. pneumophila* sg 5 2건, *L. pneumophila* sg 5와 *L. busanensis* 1건이고, 세 개의 항원이 교차반응을 보인 경우는 *L. pneumophila* sg 2, *L. pneumophila* sg 4, *L. pneumophila* sg 6의 1건으로 총 4건(21.1%)의 혈청에서 교차반응을 보였다(표 3).

법정감염병 확인·진단 기준에서는 임상증세를 보이는 환자 중에서 간접형광항체법을 이용한 항체가 급성기와 회복기 혈청에서 4배 이상 증가하는 경우로 정의하고 있다(3). 본 연구에서는 급성기와 회복기의 항체가가 아닌 단일 항체가로 감염여부를 추정 진단하는 제한점이 있다. 또한 지역이 서울로 국한된 점, 의사환자의 기저질환, 여행력 등의 시공간적 기초자료 없이 연령, 성별만으로 분석이 이루어진 점이 제한점으로 판단된다.

보다 정확한 연구를 위하여 급성기와 회복기의 혈청에 대한 항체가 검사와 시공간적 자료를 고려한 실험실 진단이 필요하다.

## 결론

2012년 1월부터 2015년 6월까지 의뢰된 혈청 2,307건 중 양성으로 판정(항체가 1:128 이상)된 혈청은 19건(0.8%)이었다. 연구기간 동안 월별 발생 현황의 특이성은 보이지 않으나 기간 내 10, 11, 12월에는 양성으로 판정되는 환자가 나타나지 않은 것으로 조사되었다.

연령에 따른 양성 혈청은 20대 환자 2명을 제외한 17건(89.5%)이 50대 이상에서 발생하고 있으며, 이는 기존의 연구결과(13)와 유사하다. 또한 Ngeow 등(9)에 의하면 비정형 폐렴이 기저질환자와 고령층에서 심각한 증상을 보인다고 하였으므로 고령층의 감염에 대한 주의가 필요할 것으로 보인다.

항체가 1:128 이상인 레지오넬라균 분포는 *L. pneumophila*가 16건(66.7%)을 차지하였다. 이는 레지오넬라 감염 중 *L. pneumophila*의 분포에 대한 Yoon 등(11)의 결과(70.6%)와 유사하였으나, Fields 등(2)의 결과인 90%와는 상이하였다. 19건의 양성혈청 중 두 개의 항원에 교차반응을 보인 경우는 총 4건이었다.

본 연구 결과, 보다 정확한 연구를 위하여 급성기와 회복기 혈청에 대한 검사와 시공간적 자료를

고려한 실험실 진단이 필요한 것으로 판단된다.

### 참고문헌

1. 대한감염학회 : 감염학, 군자출판사. p.571~578, 2007.
2. Fields, BS, Benson, RF and Besser, RE : *Legionella* and Legionnaires' Disease 25 Years of Investigation. Clin. Microbiol. Rev. 15:506~526, 2000.
3. 질병관리본부 : 2012 레지오넬라증 관리지침, 2012.
4. Benson, RF and Fields, BS : Classification of the genus *Legionella*. Semin Respir Infect. 13:90~99, 1998.
5. Lück, PC, Helbig, JH and Schuppler, M : Epidemiology and Laboratory Diagnosis of *Legionella* Infections. Laboratoriums Medizin 26:174~182, 2002.
6. Kim, JS, Lee, SW, Shim, HS, Oh, DK, Cho, MK, Oh, HB, Woo, JH and Chong, YS : Outbreak of legionellosis in ICU of K Hospital Korea. Korean J. Epidemiol. 7:44~58, 1985.
7. Kim, MJ, Cheong, HJ, Sohn, JW, Shim, HS, Park, DW, Park, SC, Woo, JH, Kang, JY, Kim, YG, Shin, WS, Kim, YL, Lee, WJ and Kim, JH : A prospective multicenter study of the etiological analysis in adults with community acquired pneumonitis : Legionells, Leptospira, Hantan virus and Orienta tsutsugamushi. Korean J. Infect. Dis. 33:24~31, 2001.
8. Maiwald, M, Helbig, JH and Luck, PC : Laboratory methods for the diagnosis of *Legionella* infections. J. Microbiol. Methods 33:59~79, 1998.
9. Ngeow, YF, Suwanjutha, S, Chantarojanasriri, T, Wang, F, Saniel, M, and Alejanfria, M, et al. : An asian study on the prevalence of atypical respiratory pathogens in community -acquired pneumonia. Int. J. Infect. Dis. 9:144~153, 2005.
10. Harrson, TG and Doshi N : Evaluation of the Bariels *Legionella* urinary antigen enzyme immunoassay. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 20:738~740, 2001.
11. Yoon, YT, Han, CH, Choi, SS, Lee, JM, Kim, CK and Choi, SM : An Epidemiological Survey on Serological Diagnosis of *Legionella* Infection in Seoul, Korea. Journal of Bacteriology and Virology, 43:140~144, 2013.
12. 박은희, 박성아, 박연경, 권연희, 박혜영, 이미옥, 김기곤 : 간접형광항체법을 이용한 부산지역 비정형 폐렴환자의 레지오넬라균종 분포 연구. 부산시보건환경연구원보 22(1):16~25, 2012.
13. 김선자, 광진, 이원철, 배근량 : 2010년-2013년 국내 레지오넬라증의 역학적 특징. 주간건강과 질병, 7(25):529~533, 2014.
14. 국립보건연구원 : 감염병 실험실 진단, 질환별 시험법. p.202~220, 2005.