

여성 성매매자들을 대상으로 시행한 클라미디아 트라코마티스 진단법인 신속검사법의 의의

Evaluation of a Rapid Test for Detection of *Chlamydia Trachomatis* Infection in Female Commercial Sex Workers

Gilho Lee, Jung Hyun Shim, Youngmin Byun, Haekung Kim¹

From the Department of Urology, Dankook University College of Medicine, Cheonan, and ¹Gwonseon-gu Health Center, Suwon, Korea

Purpose: The importance of laboratory screening tests for female commercial sex workers (FCSWs) has been well documented to reduce the prevalence of chlamydial complications. A rapid test has been one of the standard chlamydial tests performed in Korean health centers. Although the process of the rapid test is simple, the sensitivity is inconsistent. Therefore, we evaluated the efficacy of QuickVue chlamydial detection kits, which is one of the rapid tests, by comparing this assay to an in-house polymerase chain reaction (PCR) method.

Materials and Methods: A total of 410 endo-cervical samples were consecutively collected in one health center. A rapid test was performed by using a QuickVue kit. Genomic DNA was extracted from cotton swabs. The cryptic plasmid of *C. trachomatis* from the genomic DNA was amplified by the PCR method.

Results: The overall sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of the rapid test were 21%, 99%, 89% and 83%, respectively, based on the PCR results. Study of the serial dilutions of reference inclusion forming units (IFU) showed that the rapid test only detected chlamydial infections that had high counts of IFUs.

Conclusions: The rapid test is not good enough to detect chlamydial infection in FCSWs. Instead, a gene amplification test should be used for detecting chlamydial infections in FCSWs. (Korean J Urol 2006;47:978-981)

Key Words: *Chlamydia trachomatis*, Point-of-care systems, Sex, Workers

대한비뇨기과학회지
제 47 권 제 9 호 2006

단국대학교 의과대학 비뇨기과학교실,
¹수원시 권선구보건소

이길호 · 김정현 · 변영민 · 김혜경¹

접수일자 : 2006년 5월 4일
채택일자 : 2006년 6월 9일

교신저자: 이길호
단국대학교병원 비뇨기과
충남 천안시 안서동 산 29
☎ 330-715
TEL: 041-550-6630
FAX: 041-556-0524
E-mail: prostatitis@hanmail.net

본 연구는 2002년 단국대학교 의료원 생명과학연구소 지원에 의하여 이루어진 것임,

서론

클라미디아 트라코마티스에 의한 남녀 생식기 감염은 가장 흔한 성병 중 하나이며, 골반염, 지속적인 자궁경부염, 자궁외 임신, 불임 등의 합병증 치료로 미국의 경우 일 년에 약 24억불이라는 막대한 돈을 지출하고 있어, 정확한 검사로 클라미디아의 감염을 조기에 발견하고 치료하는 것이 중요하다.^{1,2}

감염된 대다수의 여성에서는 전형적인 감염 증상이 없어 많은 환자들이 치료를 받지 않거나 받을 필요성을 느끼지 못하고 성 상대자와 지속적인 관계를 가짐으로써 성병 전

파에 매우 중요한 역할을 한다.³ 이와 같이 클라미디아 감염 후 증상이 모호하여 특이도와 민감도가 높고, 경제적인 검사법이 요구되고 있으며, 지금까지 배양검사, 순간검사법 (rapid test), 형광현미경을 이용한 항체검출법, 유전자증폭법 등이 알려지고 있다.²

우리나라 보건소에서 많이 시행되고 있는 신속검사법은 검사 방법이 매우 간단하고, 특별한 장비가 필요없어, 누구나 쉽게 시행할 수 있는 장점이 있다. 또한 검사 시간은 약 30분 정도만 걸려 빠른 진단과 치료로 연결될 수가 있다.⁴ 여성 성매매자들이 성병 전파에 핵심적인 역할을 함을 고려한다면 빠른 치료는 새로운 감염을 막을 수 있는 매우 적절한 대책임을 알 수 있다.

하지만 신속검사법의 특이도와 민감도에 관해서는 다양한 결과가 보고되고 있다.^{4,6} 비교 진단법에 따라 혹은 대상군에 따라 다양한 결과를 보여주고 있다.⁵ 예를 들어 신속검사법은 클라미디아 배양법과 비교하면 높은 민감도를 보여줄 수가 있지만 최근 클라미디아 감염 진단의 기준인 유전자 증폭법과 비교하면 그 민감도가 낮을 것으로 추정된다. 또한 검사 대상이 얼마나 많이 클라미디아균을 보유하는가에 따라 다른 결과가 관찰될 수가 있을 것으로 추정된다.

우리나라 보건소에서 많이 쓰이고 있는 신속검사법의 일종인 QuickVue *Chlamydia* test (Quidel, San Diego, USA)는 그 제품 단가가 미화 5-6불 정도가 되며, 성매매자들을 대상으로 대규모 검사 및 반복검사를 고려한다면 외국으로 지불되어야 할 경비 또한 막대하지만 그 효용성에 관해서는 거의 보고된 바가 없다.

우리나라의 성매매자들의 특징을 보면 보통 장기간에 걸쳐 성매매업에 종사하고 있으며, 하루에도 많은 성매매수자를 상대한다고 알려지고 있다. 성병의 반복적인 노출과 치료로 성병에 대한 면역기전이 보통사람과 다를 것으로 판단되나 아직까지는 우리나라에 성매매자들의 생물학적인 혹은 역학적인 특성 연구가 거의 없었다.⁷

저자는 일개 보건소의 성매매자들을 대상으로 in house PCR법과 비교하여 신속검사법의 민감도, 특이도 및 효용성을 조사하여, 향후 보건 정책 등에 참고자료로 쓰기 위해 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2004년 4월부터 8월까지 약 5개월에 걸쳐 경기도에 있는 일개 보건소에서 주기적인 건강검진을 받기 위해 모인 여성 성매매자 410명을 대상으로 하였으며, 검사 과정을 설명하고 동의를 받았다. 대상군의 평균연령은 25±6세였다. 무작위로 2개의 면봉을 이용하여 자궁경부에서 상피세포를 얻었으며, 한 면봉은 보건소에서 2명의 실험자가 신속검사법에 사용하였으며, 다른 한 면봉은 본원 연구실로 보내와 클라미디아 유전자증폭을 시행하였다.

2. 검체에서 DNA 추출 중합효소반응 (polymerase chain reaction; PCR)

Wizard genomic DNA purification kit (Promega, USA)를 이용하여 genomic DNA를 얻었다. 모든 검체를 대상으로 beta-globin을 증폭하였으며, 모든 검체에서 증폭되었다. 클라미디아 검출은 클라미디아 cryptic plasmid DNA를 증폭하였다.⁷

3. QuickVue *Chlamydia* test

제품에 포함된 설명서에 따라 2명의 실험자가 보건소에서 실험을 시행하였다 (http://www.vaxserve.com/views/PDF/QuickVue_chlamydia.pdf).

4. QuickVue 검사법과 in house PCR 법의 민감도 조사

동일한 실험조건에서 두 검사의 민감도를 조사하였으며, 3회 반복실험을 시행하였다.

1) QuickVue 검사법: 본 실험실에서 QuickVue 검사 kit에 양성대조균으로 들어있는 formalin으로 비활성화시킨 클라미디아 용액 한 방울 (약 50μl)을 Dacron swab에 점착시키고, 설명서와 같이 용액 A, B를 넣어 항원을 노출시켰다. 이를 다시 PBS 용액 (Gibco, USA)에 순차적으로 희석시킨 후 3방울 (100μl)의 추출액을 QuickVue test cassette에 넣고, 그 결과를 판독하였다.

2) In house PCR 법: 본 실험실에서 한 방울의 상기 비활성화된 클라미디아 용액을 Dacron swab에 넣고 30분간 상온에 방치하였다. 이를 1ml의 PBS 용액에 2시간 방치한 후 고속의 vortexing을 시행하여 Dacron swab에 부착된 클라미디아균이 유리되도록 하였다. Swab을 1.5ml 원심분리관에 밀착하여 용액을 짜낸 후 용액을 15분간 가열하였다. 13,000 rpm으로 원심분리한 후 상층액을 취하였다. 이를 10μl, 5μl, 1μl, 1,000배 희석한 1μl의 용액을 증폭 주형 (template)으로 하여 상기 2번의 방법과 같이 cryptic plasmid를 증폭하였다.

결 과

410명의 성매매자 82례 (20%)에서 클라미디아 cryptic plasmid가 증폭되었으며, 신속검사법에서는 단지 19례 (4.9%)만 양성으로 검출되어, 민감도 21%, 특이도 99%, 양성예측치 89%, 음성예측치 83%였다 (Table 1).

민감도 비교검사에서는 QuickVue 검사법에는 원액농도에

Table 1. Comparison the results of the rapid test and the PCR* method

Method	No. of patients (positive)	No. of patients (negative)	PVPT [†]	PVNT [‡]
Rapid test	19	391	89%	83%
PCR*	82	328		

*PCR: polymerase chain reaction, [†] PVPT: predictive value of positive test, [‡] PVNT: predictive value of negative test, PCR positivity was one defining criterion for true positive

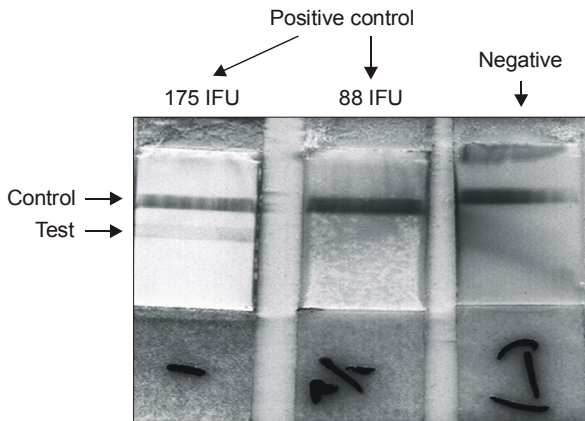


Fig. 1. Serial dilution study for determining the sensitivity of the rapid test show a positive band in the test line (short arrow) in the one-time diluted test drops. All three samples show positive bands in the control lines (long arrow). The positive controls are from formalin-inactivated *Chlamydia* and the negative control is from heat-activated group B *Streptococcus*.

서만 양성으로 판독되었으며, 희석액에서는 양성 띠를 발견할 수가 없었다. in house PCR 법에서는 10 μ l, 5 μ l, 1 μ l, 100배 희석한 주형에서도 양성으로 관찰되었다 (Fig. 1, 2).

고 찰

신속검사법은 효소면역분석법 (enzyme immunoassay)의 일종으로 클라미디아 세포벽에 있는 lipopolysaccharide (LPS)의 항체를 검출하는 검사법이다.^{8,9} 그 민감도는 클라미디아 트라코마티스의 절대적인 수 즉 관찰 가능한 inclusion forming unit (IFU) 수에 비례한다. 양성대조군은 1회 검사량 (2 방울)에 약 350 IFUs의 클라미디아를 넣어, 본 실험에서 사용한 한 방울은 약 175 IFUs가 있을 것으로 추정된다. 한 방울을 사용한 in vitro 신속검사법에서 원액에서만 희미한 띠가 관찰되었으며, 희석 액에서는 띠의 흔적을 찾을 수가 없었다 (Fig. 1). 하지만 유전자 증폭법은 매우 소량의 주형에서도 클라미디아를 검출할 수가 있었으며, 주형을 100배 희석하여도 희미한 띠를 관찰할 수가 있다 (Fig. 2). 이는 소량의 목표 유전자가 있으면 그 유전자가 로그함수 적으로 증폭되는 유전자 증폭법의 특성과 저자가 검출하는 목표 유전자 즉 cryptic plasmid의 특성에 기인한다.¹⁰ 신속검사법은 검출목표인 LPS가 클라미디아 한 개당 1개의 항체가 있을 수가 있으나, cryptic plasmid는 클라미디아 세균 안에 존재하는 것으로 한 세균당 약 10개의 cryptic plasmid를 가지고 있어 신속검사법보다 매우 예민하게 진단됨을 알 수가 있다.¹¹

신속검사법의 민감도는 52-90%로 매우 다양하다. Widjaja

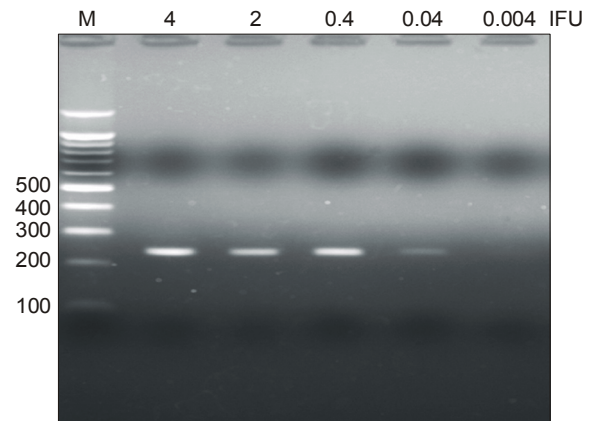


Fig. 2. The polymerase chain reaction test shows a very strong band at serial dilutions of 10, 5, 1 and even 1 μ l of the 10²d diluted template volume. 1 μ l of 10²d dilution means 1 μ l of the original template is diluted to 1:1,000 and 1 μ l of the diluted template is added to the polymerase chain reaction mixture for amplification. Marker: 100bp DNA ladder marker (Promega, USA).

등⁶은 신속검사법의 일종인 optical immunoassay (OIA) 검사법은 chlamydial ligase chain reaction (LCR)과 민감도를 비교하면 20-50%로 매우 낮았으며, 검사 기관에 따라 결과를 다양하게 보고하였다. 신속검사법은 그 검사의 특성상 간편하고, 누구도 간단한 교육으로 쉽게 진단할 수 있다는 점을 고려한다면 매우 이해적이라 할 수 있다. 또한 검사 집단의 성격에 따라 클라미디아 진단의 민감도가 차이가 있었다. 예를 들면 Rani 등⁵의 보고에 따르면 클라미디아는 높은 유병률로 관찰되는 집단에서는 그 민감도가 65%였으나, 낮은 유병률이 관찰되는 집단에서는 25%로 매우 낮았다. 즉 환자 대상군의 특징에 따라 신속검사법의 민감도는 차이가 있음을 알 수가 있다.

본 연구의 경우 2명이 신속검사법에서는 클라미디아 양성으로 진단되었으나 유전자 증폭법에서는 음성으로 판정되었다. 2명 모두 인간 beta-globin이 검출된 것으로 보아 DNA 추출 과정은 정상적으로 이루어졌다고 생각되어, 클라미디아의 다른 유전자 즉 ompA 유전자의 확인을 위해 다시 증폭하였다.¹² 두 검체 모두에서 ompA 유전자가 증폭되지 않은 것으로 보아 신속검사법 자체의 문제로 추정된다.

미국의 클라미디아 유병률은 15-19세의 여성에서 가장 흔하고 그 빈도는 나이가 들어감에 따라 점차 감소하여 25-29세가 되면 유병률이 급격하게 감소한다.¹³ 여러 가지의 이유가 있겠지만 아마도 나이가 들어감에 따라 성 상대자가 결혼으로 정해져 제한된 성행위를 하게 되고 성병 교육에 의한 자기보호 혹은 성병 전파 위험도가 낮은 성상대자와의 사귄 등을 고려할 수가 있지만 기간이 긴 성행위로 자연적인 혹은 적절한 치료 후 클라미디아 면역력을 획득

한 것 또한 중요한 원인으로 생각된다.¹⁴

우리나라 성매매자들의 특징을 체계적으로 연구한 논문은 많지 않고, 또한 대상수도 적어 매우 단편적이다. 일부 보고에 따르면 여성 성매매자의 73%가 13세에서 19세 사이에 성매매에 유입되고, 20-29세의 성매매자들은 평균 5년 정도 성매매업에 종사한다.

성매매자들을 이용하는 성매수자 또한 성병 전파의 핵심 군에 속한다는 점을 고려한다면 많은 성매매자들은 다양한 종류의 성병에 감염되었을 것이고, 보건소에서 이루어지는 주기적인 검진과 치료 등으로 성매매자들에 있어서 클라미디아에 관해 면역이 부분적이거나 생겼을 것으로 추정 가능성이 있다. 성매매자들이 신속검사법에 낮은 민감도를 보이는 이유는 여러 가지를 생각할 수가 있다. 1) 검사상의 오류를 생각할 수가 있다. 실제로 보건소의 검사자들의 의견에 따르면 신속검사법을 시행한 환자에서 양성, 음성이 모호한 경우가 있었으며, 2) 성매매자들이 클라미디아에 높은 감염률을 보여주지만 감염 정도의 척도인 IFU은 생각보다 높지 않을 수도 있다는 점이다. IFU가 낮은 이유로는 전술한 장기적인 성매매로 부분적인 클라미디아에 대한 면역형성을 생각할 수 있으며, 또한 인위적인 행위 즉 증상이 있으면 검사 전 항생제 투여, 질세척 등으로 IFU의 절대적인 수를 감소시킬 가능성도 고려할 수가 있다. 이러한 것을 증명하기 위해서는 성매매자로부터 클라미디아 배양과 형광현미경을 이용한 IFU 측정이 필수적인데 본 실험에서는 시행하지 못하였다.

결 론

막대한 국가 예산으로 성매매자들에게 신속검사법을 사용하여 클라미디아 감염을 진단하는 것은 낮은 민감도로 시행 중단을 고려해야 할 것으로 생각되며, 향후 정확한 진단을 위해 유전자증폭법으로 변환하여야 할 것으로 생각한다.

REFERENCES

- Groseclose SL, Zaidi AA, DeLisle SJ, Levine WC, St Louis ME. Estimated incidence and prevalence of genital *Chlamydia trachomatis* infections in the United States, 1996. *Sex Transm Dis* 1999;26:339-44
- Stamm WE. *Chlamydia trachomatis* infections of the adult. In: Holmes KK, Sparling PF, Mardh P, Lemon SM, Stamm WE, Piot P, editors. *Sexually transmitted diseases*. 3rd ed. New York: McGraw-Hill; 1999;407-22
- National guideline for the management of *Chlamydia trachomatis* genital tract infection. Clinical Effectiveness Group (Association of Genitourinary Medicine and the Medical Society for the Study of Venereal Diseases). *Sex Transm Infect* 1999;75(Suppl 1):S4-8
- Swain GR, McDonald RA, Pfister JR, Gradus MS, Sedmak GV, Singh A. Decision analysis: point-of-care *Chlamydia* testing vs. laboratory-based methods. *Clin Med Res* 2004;2:29-35
- Rani R, Corbitt G, Killough R, Curless E. Is there any role for rapid tests for *Chlamydia trachomatis*? *Int J STD AIDS* 2002;13:22-4
- Widjaja S, Cohen S, Brady WE, O'reilly K, Susanto, Wibowo A, et al. Evaluation of a rapid assay for detection of *Chlamydia trachomatis* infections in outpatient clinics in South Kalimantan, Indonesia. *J Clin Microbiol* 1999;37:4183-5
- Lee G, Sohng I. Cryptic plasmid amplification of *Chlamydia trachomatis* at a Korean Health Center for female commercial sex workers. *Korean J Urol* 2006;47:37-41
- Tay YK, Goh CL, Chan R, Ali K, Nadarajah M, Sng J. Evaluation of enzyme immunoassay for the detection of anogenital infections caused by *Chlamydia trachomatis*. *Singapore Med J* 1995;36:173-5
- Woolley PD, Pumphrey J. Application of 'Clearview *Chlamydia*' for the rapid detection of cervical chlamydial antigen. *Int J STD AIDS* 1997;8:257-8
- Lo YM. Introduction to the polymerase chain reaction. In: Lo YM, editor. *Clinical applications of PCR*. Totowa: Humana Press Inc; 1998;3-10
- Mahony JB, Luinstra KE, Sellors JW, Chernesky MA. Comparison of plasmid- and chromosome-based polymerase chain reaction assays for detecting *Chlamydia trachomatis* nucleic acids. *J Clin Microbiol* 1993;31:1753-8
- Kim BR, Lee GH. A semi-nested polymerase chain reaction for amplification of *Chlamydia trachomatis* *omp1* gene. *Korean J Urol* 2003;44:812-8
- Eckert LO, Suchland RJ, Hawes SE, Stamm WE. Quantitative *Chlamydia trachomatis* cultures: correlation of chlamydial inclusion-forming units with serovar, age, sex, and race. *J Infect Dis* 2000;182:540-4
- Lyons JM, Morre SA, Airo-Brown LP, Pena AS, Ito JI. Acquired homotypic and heterotypic immunity against oculogenital *Chlamydia trachomatis* serovars following female genital tract infection in mice. *BMC Infect Dis* 2005;5:105