

Comparison of SD BIOLINE Rapid Influenza Antigen Test Using Two Different Specimens, Nasopharyngeal Swabs and Nasopharyngeal Aspirates

Hae In Bang, Jeong Won Shin, Tae Youn Choi, Rojin Park, Yu Jeong Shin

Department of Laboratory Medicine, Soonchunhyang University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: The pandemic swine origin influenza A/H1N1 2009 virus (H1N1 2009) was rapidly spread out all over the world after it was first found in April, 2009. This study was made to compare the performance of nasopharyngeal swabs and nasopharyngeal aspirates for the SD Biotest rapid influenza antigen test.

Methods: From Aug to Nov, 2009 the SD Biotest rapid influenza antigen tests were conducted with the nasopharyngeal swabs and the nasopharyngeal aspirates from the 244 specimens of patients who had come to the hospital with influenza-like illness. The data from the examination were compared with the multiplex RT-PCR as a reference standard to obtain sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value.

Results: The sensitivity and the specificity of the SD Biotest rapid influenza antigen tests with the nasopharyngeal swabs were 75.8%, and 93.3% respectively, and the sensitivity and specificity with the nasopharyngeal aspirates were 61.3%, and 98.3% respectively.

Conclusion: Even if the nasopharyngeal aspirates showed the lower sensitivity than the nasopharyngeal swabs, since the specificity is higher, the nasopharyngeal aspirates are more useful because we can reduce false positive rate. (Korean J Clin Microbiol 2010;13:147-150)

Key Words: H1N1, Rapid influenza antigen test, Multiplex RT-PCR

서 론

대유행 신종 인플루엔자 A/H1N1 2009 바이러스(swine-origin influenza A/H1N1 2009 virus, H1N1 2009)는 2009년 4월 미국 캘리포니아에서 처음 발견된 이래 빠르게 전 세계로 퍼졌다[1]. 국내에서는 2009년 5월 첫 환자가 발생하였으며 2009년 7월에는 전염병 위기단계를 경계단계로 조정하여 정책적으로도 신종 인플루엔자 유행을 막기 위한 노력을 더하게 되었다[2,3].

인플루엔자는 어린 아이들, 노인들, 면역이 떨어진 환자들에게서 특히 치명적이기 때문에 적절한 치료를 받기 위해 빠른 진단이 필요하다[4]. 그러나 중합효소연쇄반응 검사는 신속항원 검사에 비해 비교적 검사 소요 시간이 더 길고 숙련된 검사자가 필요하기 때문에 소규모 병원에서는 중합효소연쇄반응 검사를 시행하지 못하여 규모가 더 큰 병원이나 검사전문기관으로 위탁검사를 보내게 되어 결과를 받기까지의 시간이 더 많이 소요된다. 반면 신속항원검사는 조작성 간편하고 결과값이 나

오기까지 15분 이내의 시간이 소요되기 때문에 빠른 시간 내에 결과를 알 수 있어 양성이 나온 환자는 H1N1 2009 추정환자로 판단하여 빠른 치료를 시행할 수 있는 장점이 있다[4-6].

인플루엔자 검사에 사용될 수 있는 검체는 비강 면봉 검체(nasal swab specimen), 비인두 면봉 검체(nasopharyngeal swab specimen)와 비인두 흡인 검체(nasopharyngeal aspirate specimen)가 있는데 대개 신속항원검사는 비강 또는 비인두 면봉 검체를, 중합효소연쇄반응 검사는 비인두 흡인 검체를 사용한다. 본 연구에서는 비인두 면봉 검체와 비인두 흡인 검체로 동시에 신속항원검사를 시행하고 이를 다중 역전사 중합효소연쇄반응 검사(Multiplex RT-PCR)와 비교함으로써 검체 종류에 따른 신속항원검사의 민감도와 특이도의 차이를 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2009년 8월부터 11월 사이 순천향대학교 서울병원에 내원한 호흡기 질환 환자로 부터 채취한 비인두 면봉 검체와 비인두 흡인 검체 각각 244 검체를 대상으로 하였다. 환자의 나이는 생후 1개월에서부터 83세까지였으며 생후 12개월 미만은 5명, 2~6

Received 31 May, 2010, Revised 14 July, 2010

Accepted 20 August, 2010

Correspondence: Tae Youn Choi, Department of Laboratory Medicine, Soonchunhyang University Hospital, 22 Daesagwan-gil, Yongsan-gu, Seoul 140-743, Korea. (Tel) 82-2-709-9425, (Fax) 82-2-709-9083, (E-mail) choity@hosp.sch.ac.kr

Table 1. Performance of SD BIOLINE RAT in comparison with multiplex RT-PCR using two different specimens, nasopharyngeal swabs and nasopharyngeal aspirates

Specimens	No. of case				% sensitivity (95% CI)	% specificity (95% CI)	% PPV (95% CI)	% NPV (95% CI)
	PCR+ RAT+	PCR+ RAT-	PCR- RAT+	PCR- RAT-				
NPS	94	30	8	112	75.8 (70.4~81.2)	93.3 (90.2~96.4)	92.2 (88.8~95.6)	78.9 (73.8~84.0)
NPA	76	48	2	118	61.3 (55.2~67.4)	98.3 (96.7~99.9)	97.4 (95.4~99.4)	71.1 (65.4~76.8)

Abbreviations: RAT, rapid antigen test; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; NPS, nasopharyngeal swab; NPA, nasopharyngeal aspirate.

세는 51명, 7~18세는 104명, 19~59세는 65명, 60세 이상은 19명이었으며 평균 나이는 21.1세였다. 비인두 면봉 검체는 나일론 재질의 flocked swab (Copan diagnostics, Corona, CA, USA)을 콧구멍을 통해 입천장과 평행하게 비인두까지 넣고 회전하여 분비물을 흡수할 때까지 수 초 기다린 후 빼내어 SD BIOLINE 인플루엔자 항원 키트(Standard Diagnostics, Inc., Yongin, Korea)에 포함된 튜브에 담아 수송하였고, 비인두 흡인 검체는 흡인기에 연결된 관에 식염수를 넣어 코와 인두를 씻어내고 흡인한 총 7~8 mL의 검체를 멸균된 검체통(Hyup Sung, Seoul, Korea)에 담아 수송하여 검사하였다.

2. 신속항원검사

비인두 면봉 검체 및 비인두 흡인 검체 각 244 검체에 대해 SD BIOLINE Influenza Antigen 키트(Standard Diagnostics, Inc., Yongin, Korea)를 이용하여 제조사의 지침에 따라 검사를 시행하였다. 검사원리는 면역크로마토그래피법이며, 나이트로 셀룰로즈막의 검사선 A에는 인플루엔자 A 항체, 검사선 B에는 인플루엔자 B 항체가 흡착되어 있어 이를 검체와 반응시킨 후 판정하였고, 대조선만 발색하는 경우는 음성, 대조선과 검사선 A가 발색하는 경우는 인플루엔자 바이러스 A 양성, 대조선과 검사선 B가 발색하는 경우는 인플루엔자 바이러스 B 양성으로 판정하였고, 어떠한 밴드도 나타나지 않는 경우는 검사가 잘못된 경우로 판정해 재검사를 하였다.

신속항원검사에서 각 검체별 차이 유무를 알아보기 위한 자료처리와 분석은 SPSS version 18.0에서 Pearson 카이제곱 검정을 이용하였고 P 값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 의미가 있다고 하였다.

3. Multiplex RT-PCR

비인두 흡인 244 검체에 대해 Viral DNA/RNA extraction kit (Seegene, Seoul, Korea)를 사용하여 바이러스의 RNA를 추출하였다. Multiplex RT-PCR은 Seeplex FluA ACE Subtyping 키트 (Seegene, Seoul, Korea)를 이용하여 제조사의 지침에 따라 검사를 시행한 후 전기영동에서 밴드를 판독하였다. 표적은 hemagglutinin (HA) 유전자로 PCR 결과물의 크기는 Human influenza

A virus subtype H3는 590 bp, Human influenza A virus subtype H1은 474 bp, Avian influenza A virus subtype H5는 327 bp, Swine influenza A virus subtype H1은 262 bp이며 Influenza A virus의 표적은 기질단백질 M1 유전자로 크기는 206 bp이다.

결 과

Multiplex RT-PCR을 시행한 244 검체 중 H1N1 양성은 124 (50.8%)검체였다. 인플루엔자 신속항원검사에서 양성으로 나온 것은 모두 인플루엔자 바이러스 A였으며 비인두 면봉, 흡인 검체 모두 양성인 것은 70 검체, 비인두 면봉 검체 양성, 비인두 흡인 검체 음성이 나온 것은 32 검체, 비인두 면봉 검체 음성, 비인두 흡인 검체 양성인 경우는 8 검체, 비인두 면봉, 흡인 검체 모두 음성이 나온 것은 134 검체로 비인두 면봉 검체의 양성률이 높았으며 이는 통계학적으로 의미 있는 차이를 보였다($P=0.000$).

인플루엔자 신속항원검사의 민감도는 비인두 면봉 검체가 75.8%, 비인두 흡인 검체가 61.3%였고 위양성률은 비인두 면봉 검체가 6.7%, 비인두 흡인 검체가 1.7%로 비인두 면봉 검체의 위양성률이 더 높았다(Table 1).

고 찰

H1N1 2009가 유행하면서 국내에 시판되고 있는 여러 인플루엔자 바이러스 신속항원검사의 정확도에 대한 관심이 증가하고 있다. H1N1 2009 유행 시에 미국 질병통제 예방센터 (Centers for Disease Control and Prevention, CDC)에서 H1N1 2009에 대해 hemagglutinin (HA) 유전자, 인플루엔자 A에 대해 기질 단백질 M 유전자를 이용한 통상적 중합효소연쇄반응법 (conventional RT-PCR), 다중 중합효소연쇄반응법(multiplex RT-PCR), 실시간 중합효소연쇄반응법(real-time RT-PCR) 등의 분자 진단법을 제시하여 진단에 이용할 수 있게 하였다[7]. Hwang 등[8]은 multiplex RT-PCR과 real-time PCR 검사를 동시에 시행하였는데 99.6%의 거의 완벽한 일치도를 보였고 두 가지 real-time PCR 검사를 비교하였을 때도 97.0%의 거의 완

벽한 일치율을 보였다고 보고하였다.

본 연구에서는 인플루엔자 증상이 있는 환자에서 두 가지 종류의 검체를 SD BIOLINE Influenza Antigen 키트를 사용하여 검사하였으며 이를 Multiplex RT-PCR 검사와 비교한 결과, 비인두 면봉 검체의 민감도가 75.8%, 비인두 흡인 검체의 민감도는 61.3%로 나타나 더 좋은 결과를 보여 주었으나 두 검체 모두 전반적으로 낮은 민감도를 보였다. 특이도는 비인두 흡인 검체가 98.3%로, 비인두 면봉 검체의 93.3%보다 높게 나타나 비인두 흡인 검체를 사용하여 검사를 시행하는 것이 신속항원 검사의 위양성률을 줄여 환자에게 불필요하거나 잘못된 치료를 예방할 수 있을 것으로 생각한다.

2006년 Agoritsas 등[9]이 시행한 연구에서는 122명의 소아에서 비강 면봉 검체, 비인두 면봉 검체, 비인두 세척 검체를 채취하여 Quidel QuickVue Test (Quidel Corp., San Diego, CA, USA)를 실시한 결과 비강 면봉 검체의 민감도는 78%, 비인두 면봉 검체는 85%, 비인두 세척 검체는 69%로 비인두 면봉 검체의 민감도가 가장 높았고 특이도는 세 가지 검체 모두 비슷했다. Biggs 등[10]은 2006년 11월부터 2007년 4월까지 응급실로 내원한 566명의 환자들에서 flocked swab (Copan Diagnostics)을 사용하여 비인두 면봉 검체를 채취해 Binax NOW influenza A&B 키트(Inverness Medical, Montreal, Quebec, Canada)로 신속항원검사를 시행하였는데 Influenza A에 대한 민감도는 75.3%로 본 연구와 유사하였고, 특이도는 97.8%로 본 연구보다 높았다.

Chan 등[11]은 flocked swab으로 시행한 비인두 면봉 검체와 비인두 흡인 검체로 인플루엔자 A에 대한 RT-PCR 검사를 시행하였고 비인두 흡인 검체가 비인두 면봉 검체보다 바이러스 양이 약 32.9배 더 많았다고 보고하였다. 비인두 흡인 검체가 바이러스 양이 더 많은 검체임에도 불구하고 본 연구에서 민감도가 더 낮게 나온 것은 Vasoo 등[5]이 보고하였듯이 신속항원 검사 결과는 RT-PCR 검사보다 검체의 질에 영향을 많이 받기 때문이며 비인두 흡인 검체가 식염수에 희석되었기 때문에 위음성이 많았던 것으로 생각했다. 본 연구에서 비인두 흡인 검체로 multiplex RT-PCR을 시행하였는데 제조사의 연구에 따르면 Seeplex FluA ACE Subtyping 키트의 검출 한계는 100 copies/reaction으로 신속항원검사에 비해 바이러스 양이 매우 적어도 검출 가능하므로 비인두 흡인 검체를 사용하여도 위음성이 나올 가능성이 적어 참고표준으로 삼아도 문제가 없을 것이라 보았다.

2009~2010년 사이 H1N1 2009가 유행하면서 인플루엔자 신속항원검사에 대한 부정적인 보고도 나오고 있다. Kok 등[12], Drexler 등[13]과 Welch와 Ginocchio[14]에 의하면 인플루엔자 신속항원검사의 민감도가 낮기 때문에 그 한계를 받아들이고 그 점을 임상 의들에게 주지시켜야 하며 결과에서 음성이 나오더라도 반드시 핵산 검사를 해야 한다고 보고하였다.

신속항원검사가 비록 검체에 따라 결과가 다르고 민감도가 떨어지긴 하지만 검사를 빠르게 진행할 수 있고 조작이 간편하고 장소에 크게 구애를 받지 않는다는 장점이 있다[4,5,15]. 또한 인플루엔자 유사 세균, 바이러스 감염 질환을 배제하여 불필요한 항생제의 사용을 막을 수 있어 환자의 치료에 도움을 줄 수 있다[15]. 최근에는 계절 인플루엔자와 H1N1 2009에 내성을 보이는 약제가 다르기 때문에 신속항원검사로 H1N1 2009를 감별할 수 있는 키트도 개발되어 사용되고 있다[16].

본 연구에서, 비인두 흡인 검체의 민감도가 더 낮았던 원인은 검체 채취 시 검체 채취자에 따라 희석 과정에서 식염수 함유량이 달라지기 쉽기 때문으로 생각했다. 검사를 수행할 때 정확한 가이드라인에 따라 검체 채취를 하고 빠른 시간 내에 검사를 시행하려는 노력과 키트의 민감도와 특이도를 더욱 높이기 위한 연구가 필요할 것이다. 또한, 신속한 치료를 시작할 수 있다는 신속항원검사의 장점을 더욱 살리기 위해서는 특이도가 높은 비인두 흡인 검체를 사용하여 위양성률을 줄이기 위한 노력이 필요할 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

1. Peiris JS, Poon LL, Guan Y. Emergence of a novel swine-origin influenza A virus (S-OIV) H1N1 virus in humans. *J Clin Virol* 2009;45:169-73.
2. World Health Organization. First confirmed case of influenza A(H1N1) in Republic of Korea. http://www.wpro.who.int/internet/templates/MED_News_or_Press_Release.aspx?NRMODE=Published&NRNODEGUID=%7B25EF48D3-DD8F-4AE4-B247-11D7EFA2EB0E%7D&NRORIGINALURL=%2Fmedia_centre%2Fnews%2Fnews_20090503.htm&NRCACHEHINT=Guest [Online] (last visit on 18 May 2010).
3. World Health Organization. Republic of Korea raises alert level as Pandemic (H1N1) 2009 spreads. http://www.wpro.who.int/media_centre/news/news_20090723.htm [Online] (last visit on 18 May 2010).
4. Hurt AC, Alexander R, Hibbert J, Deed N, Barr IG. Performance of six influenza rapid tests in detecting human influenza in clinical specimens. *J Clin Virol* 2007;39:132-5.
5. Vasoo S, Stevens J, Singh K. Rapid antigen tests for diagnosis of pandemic (Swine) influenza A/H1N1. *Clin Infect Dis* 2009;49:1090-3.
6. Mai LQ, Hien PT, Hang NL, Oh JS, Ha GW, Kwon JA, et al. Evaluation of two lateral-flow chromatographic membrane immunoassays for rapid detection of influenza virus in limited respiratory specimens. *J Lab Med Qual Assur* 2005;27:243-9.
7. WHO. WHO information for laboratory diagnosis of pandemic (H1N1) 2009 virus in humans-revised. http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/WHO_Diagnostic_Recommendation_sH1N1_20090521.pdf [Online] (last visited on Nov 2009).
8. Hwang Y, Kim K, Lee M. Evaluation of the efficacies of rapid antigen test, multiplex PCR, and real-time PCR for the detection of a novel influenza a (H1N1) virus. *Korean J Lab Med* 2010;30:147-52.
9. Agoritsas K, Mack K, Bonsu BK, Goodman D, Salamon D, Marcon MJ. Evaluation of the Quidel QuickVue test for detection

- of influenza A and B viruses in the pediatric emergency medicine setting by use of three specimen collection methods. J Clin Microbiol 2006;44:2638-41.
10. Biggs C, Walsh P, Overmyer CL, Gonzalez D, Feola M, Mordechai E, et al. Performance of influenza rapid antigen testing in influenza in emergency department patients. Emerg Med J 2010;27:5-7.
 11. 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.
 12. Kok J, Blyth CC, Foo H, Patterson J, Taylor J, McPhie K, et al. Comparison of a rapid antigen test with nucleic acid testing during cocirculation of pandemic influenza A/H1N1 2009 and seasonal influenza A/H3N2. J Clin Microbiol 2010;48:290-1.
 13. Drexler JF, Helmer A, Kirberg H, Reber U, Panning M, Müller M, et al. Poor clinical sensitivity of rapid antigen test for influenza A pandemic (H1N1) 2009 virus. Emerg Infect Dis 2009;15:1662-4.
 14. Welch DF and Ginocchio CC. Role of rapid immunochromatographic antigen testing in diagnosis of influenza A virus 2009 H1N1 infection. J Clin Microbiol 2010;48:22-5.
 15. Watcharananan S, Kiertiburanakul S, Chantratita W. Rapid influenza diagnostic test during the outbreak of the novel influenza A/H1N1 2009 in Thailand: an experience with better test performance in resource limited setting. J Infect 2010;60:86-7.
 16. Choi YJ, Kim HJ, Park JS, Oh MH, Nam HS, Kim YB, et al. Evaluation of new rapid antigen test for detection of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus. J Clin Microbiol 2010;48:2260-2.

=국문초록=

비인두 면봉 검체와 비인두 흡인 검체로 시행한 SD BIOLINE Influenza Antigen 키트의 비교 평가

순천향대학교 의과대학 진단검사의학교실

방해인, 신정원, 최태윤, 박노진, 신유정

배경: 2009년 4월에 처음 발견되어 전 세계적으로 빠르게 퍼진 H1N1 2009에 대해 적절한 치료를 하기 위해서는 빠르고 정확한 진단이 필요하다. SD Boline 신속항원검사에서 비인두 면봉 검체와 비인두 흡인 검체를 사용하였을 때의 정확성을 비교하기 위해 다음 연구를 시행하였다.

방법: 2009년 8월부터 11월 사이 급성열성호흡기 증상으로 내원한 환자들을 대상으로 비인두 면봉 검체와 비인두 흡인 검체를 채취하여 신속항원검사를 시행하였으며 이를 참고 표준인 multiplex RT-PCR과 비교하여 민감도, 특이도, 양성예측도와 음성예측도를 구하였다.

결과: 신속항원검사에 각각 244개 검체가 사용되었다. 비인두 면봉 검체로 시행한 신속항원검사의 민감도는 75.8%, 특이도는 93.3%였고 비인두 흡인 검체로 시행한 신속항원검사의 민감도는 61.3%, 특이도는 98.3%였다. 민감도는 비인두 면봉 검체가 높았고 특이도는 비인두 흡인 검체가 더 높았다.

결론: 비록 비인두 흡인 검체가 비인두 면봉 검체보다 민감도가 더 낮은 하나 특이도가 높아 신속항원검사에서 위양성률을 줄일 수 있어 더 유용할 것으로 생각한다. [대한임상미생물학회지 2010;13:147-150]

교신저자 : 최태윤, 140-743, 서울시 용산구 대사관길 22
순천향대학교병원 진단검사의학과
Tel: 02-709-9425, Fax: 02-709-9083
E-mail: choity@hosp.sch.ac.kr