

쯔쯔가무시병의 진단에 사용되는 피동혈구응집법과 간접면역형광법의 비교 연구

전북대학교 의학전문대학원 내과학교실¹, 예방의학과², 전라북도 보건환경연구원³

이창섭¹ · 권근상² · 나상언³ · 이흥범¹

Comparison of Passive Hemagglutination and Indirect Immunofluorescence Assay for the Diagnosis of Scrub typhus

Chang-Seop Lee, M.D.¹, Keun-Sang Kwon, M.D.², Sang-Eon Nha³, and Heung-Bum Lee, M.D.^{1*}

¹Department of Internal Medicine and ²Preventive Medicine, Chonbuk National University Medical School and Research Institute of Clinical Medicine, Jeonju, Korea

³Department of Microbiology, Jeollabukdo Institute of Health & Environmental Research, Korea

The gold standard for the serologic detection of scrub typhus is the indirect immunofluorescence assay (IFA), however the passive hemagglutination assay (PHA) is commonly used method in Korea because of its availability, easy handling. We compared the sensitivity of PHA and IFA to compare their effectiveness in diagnosing scrub typhus. Out of 35 patients who were eventually diagnosed of scrub typhus by positive IFA, 19 patients (54%) were also tested positive for PHA during the acute phase (titer=1:80). Whereas 30 patients (85%) were positive in IFA during the acute phase. During the recovery phase 30 (85%) patients were positive in PHA, whereas all patients were found to be positive in IFA. Patients with 4-fold or greater rise of antibody were 12 (34.3%) in PHA, and 19 (54.3%) in IFA. We note that IFA has better sensitivity over PHA in detecting scrub typhus.

Key Words : Passive hemagglutination assay, Indirect Immunofluorescence assay, Scrub typhus

쯔쯔가무시병은 조기 진단이 되면 쉽게 치료될 수 있는 질환이다. 그러나 진단이 늦어질 경우에는 환자의 생명을 위협할 수도 있는 질환이기 때문에 조기에 진단하는 것이 매우 중요하다(1-7). 쯔쯔가무시병을 진단하는데 가장 보편적으로 쓰이고 있는 방법은 간접면역형광법 및 피동혈구응집법 등이 있다(1). 간접면역형광법은 *O. tsutsugamushi*에 대한 항체를 증명하는데 있어서 특이도가 높아 쯔쯔가무시병을 진단하는 표준 방법으로 인정되고 있다. 그러나 이 방법은 *O. tsutsugamushi*의 항원을 얻기 위하여 세포 배양을 실시해야 하며 생산된 항원의 장기 보관이 어려울 뿐만 아니라, 검사에 있어 형광현미경을 필요로 하기 때문에 제한된 일부 검사실에서만 시행될 수가 있다

(1). 반면, 피동혈구응집법은 특별한 기구가 없는 검사실에서도 쉽게 쯔쯔가무시병을 진단 할 수 있는 간편한 검사 방법이기 때문에 국내에서는 쯔쯔가무시병을 진단하기 위해 가장 흔하게 사용되고 있는 방법이다(8). 그러나 많은 임상들이 경험적으로 피동혈구응집법의 민감도가 떨어진다는 생각을 가지고 있었고, 최근 한 연구에서 쯔쯔가무시병의 조기 진단에서 피동혈구응집법의 민감도가 떨어지는 보고를 하였다(9). 이에 저자들은 쯔쯔가무시병의 진단에 사용되고 있는 피동혈구응집법과 간접면역형광법의 급성기와 회복기의 검체에서 항체 양성률을 비교하여 내원 당시의 민감도를 비교하고자 연구를 시행하였다.

2005년 9월부터 2006년 12월까지 전북대학교 병원에 쯔쯔가무시병으로 의심되어 혈청학적 검사 및 약물 투여를 시행한 환자들 가운데 급성기와 회복기의 혈청이 보존되어 있는 환자들의 혈청을 대상으로 피동혈구응집법과 간접면역형광법 검사를 시행하였다.

Submitted 13 August, 2007, Accepted 15 November, 2007

Correspondence : Heung-Bum Lee, M.D.

Department of Internal Medicine, Chonbuk National University Medical School, 634-18, Keumamdong, Jeonju, 561-712, South Korea

Tel : +82-63-250-1685, Fax : +82-63-254-1609

E-mail : lhbrmd@chonbuk.ac.kr

피동혈구응집법은 Genedia TsuTsu PHA II test kit을 이용하여 서울 의과학 연구소(SCL)에서 시행하였으며, 단일 혈청에서 1:80 이상의 응집가를 나타낼 때 양성으로 정의하였다. 간접면역형광법은 Robinson 등에 의해 기술된 방법에 약간의 수정을 통해, 표준 *O. tsutsugamushi* 항원 (Gilliam, Karp, Kato, Boryong)에 대한 IgM과 IgG 항체를 검사하였다(10). 찌르가무시병은 *O. tsutsugamushi*에 대한 간접 면역 형광 IgM 항체가가 1:10 이상으로 증가되거나 IgG 항체가가 급성기와 회복기에서 4배 이상 상승 소견을 보이는 경우 찌르가무시병으로 확진하였다(9). 본 연구는 전북대학교 병원 윤리 위원회의 승인을 받아 진행되었다.

연구 기간 동안 혈청학적으로 찌르가무시병을 의심하고 약물(doxycyclin)을 투여 받은 환자는 275명이었으나 급성기와 회복기의 혈청이 모두 보존되어 있는 환자는 총 39명이었다. 39명의 환자 가운데 4명은 급성기와 회복기 혈청 검사에서 찌르가무시병 항체가 음성으로 나와 다른 질환으로 분류하였다. 렙토스피라증(leptospirosis)에 대해서는 임상적으로나 항체가 검사에서도 모두 음성이었고, 유행성 출혈열에 대해서는 2명이 양성이었으나 임상적으로 유행성 출혈열에 합당한 특징적인 소견은 없었고, 가피를 동반한 전형적인 찌르가무시병으로 진단되어 본 연구에는 포함시켰다. 본 연구에 포함된 환자는 총 35명이었다.

간접면역형광법으로 확진된 35명의 환자 가운데 입원 시 채취한 검체에서 피동혈구응집법은 19명(54%), 간접면역형광법은 30명(85%)에서 양성이었다. 추적 검사에서는 피동혈구응집법은 30명(85%), 간접면역형광법은 35명(100%)에서 양성을 나타내었다. 급성기와 회복기의 혈청에서 항체가가 4배 이상 상승한 환자는 피동혈구응집법은 12명(34.3%), 간접면역형광법은 19명(54.3%)이었다.

최근 국내에서 시행된 한 연구에 의하면, 피동혈구응집법은 급성기에 41.5%, 간접면역형광법은 약 71.3%의 민감도를 보여주고 있었다(9). 피동혈구응집법은 찌르가무시병의 초기와 회복기 모두의 혈청에서 단지 57.6%의 양성률

을 보여주고 있었다(9).

본 연구에서도 피동혈구응집법은 54%, 간접면역형광법은 85%로 김 등의 연구에서와 비슷한 결과를 보였다(11). 두 연구에서 피동혈구응집법과 간접면역형광법의 민감도는 약 30% 정도의 차이가 있었다. 본 연구에서 항체가가 4배 이상 상승하는 환자들은 피동혈구응집법은 34.3%, 간접면역형광법은 54.3%로 이 역시 두 방법간에 20%의 차이를 보여주고 있었다.

찌르가무시병은 렙토스피라증 그리고 한국형 출혈열과 함께 국내에서 가을철에 발생하는 대표적인 열성 질환이다. 찌르가무시병을 진단하는데 있어서 가장 중요한 임상적 지표는 가피(eschar)이며(5, 12), 이러한 가피를 동반한 열성질환은 비교적 쉽게 찌르가무시병으로 진단 할 수 있으나 가피가 없는 환자들은 찌르가무시병으로 진단하기가 어려운 경우가 많고, 세가지 질환의 급성기에는 임상적 판단만으로 서로의 질환을 감별하기 곤란한 경우도 있다. 때문에 가피가 동반되지 않는 경우에 있어서는 특히 혈청학적 진단 방법이 필요하기 때문에 찌르가무시병의 진단을 위한 급성기 혈청 검사의 민감도는 매우 중요하다.

간접면역형광법은 찌르가무시병을 진단하는데 있어서 세계적으로 표준이 되고 있는 방법이다(11). 그러나 국내에서는 간접면역형광법 보다는 쉽게 이용가능하고, 검사 방법이 단순한 피동혈구응집법이 가장 흔하게 사용되어져 왔다. 현재 찌르가무시병을 진단하기 위해서 피동혈구응집법이나 간접면역형광법을 직접 하는 병원은 거의 없는 실정이다. 특히, 찌르가무시병이 많이 발생하는 지역의 중·소형 병원이나 개인 의료원에서는 피동혈구응집법이 아무리 간단한 방법이라 하더라도 직접 시행할 수 있는 시설이나 인력을 갖추고 있는 곳은 거의 없으며 대부분 외부 업체에 수탁으로 의뢰하고 있는 상황이다. 때문에 민감도가 떨어지는 피동혈구응집법을 진단 방법의 편리성이나 조작이 쉽다는 장점만으로, 외부 의뢰를 통한 검사 시간의 소요를 요구하는 진단 방법을 지속적으로 유지하는 것이 옳은 지에 대해서는 고민할 문제가 아닌가 생각된다.

본 연구에서 찌르가무시병을 진단하는 방법 가운데 간접면역형광법은 피동혈구응집법보다 우수한 민감도를 보여주었다. 찌르가무시병을 조기에 진단하는 것이 환자의 심한 합병증을 줄이는 것이라면 민감도가 우수하며, 세계적으로 표준화된 진단방법인 간접면역형광법을 일차적으로 사용하는 것이 옳을 것으로 판단된다. 그러나 향후 국내 실정에 맞는 검사 법으로서 비용효과적인 면 등을 고려한 연구가 추가적으로 필요할 것으로 생각된다.

Table 1. Positive Rates on Passive Hemagglutination Assay and Indirect Immuno-fluorescence Assay for Patients with Confirmed Scrub typhus

	Acute stage	Recovery stage	4-fold antibody titer elevation
PHA	19 (54.3)	30 (85.7)	12 (34.3)
IFA	30 (85.7)*	35 (100)*	19 (54.3) [†]

PHA, Passive Hemagglutination Assay; IFA Indirect immunofluorescence assay

*IgM \geq 10, [†]IgG = 4 fold elevation

참 고 문 헌

- 1) Kim IS, Choi MS, Jang WJ, Huh MS, Kim HR: *Molecular Cloning of the Major Immunogen of Orientia tsutsugamushi Thai Strains and Development Passive Hemagglutination Test. J Korean Soc Microbiol* 32: 405-14, 1997
- 2) Wang CC, Liu SF, Liu JW, Chung YH, Su MC, Lin MC: *Acute respiratory distress syndrome in scrub typhus. Am J Trop Med Hyg* 76:1148-52, 2007
- 3) Thap LC, Supanaranond W, Treeprasertsuk S, Kitvatanachai S, Chinprasatsak S, Phonrat B: *Septic shock secondary to scrub typhus: characteristics and complications. Southeast Asian J Trop Public Health* 33: 780-6, 2002
- 4) Lee CS, Choi SM, Lee HB, Lee YC, Lee YK: *A case of scrub typhus manifested with acute respiratory distress syndrome Korean J Med* 57:216-9, 1999
- 5) Silpapojakul K, Chupuppakarn S, Yuthasompob S, Varachit B, Chaipak D, Borkerd T, Silpapojakul K: *Scrub and murine typhus in children with obscure fever in the tropics. Pediatr Infect Dis J* 10:200-3, 1991
- 6) Kuroda T, Suzuki S, Konno M, Amano T, Mikame M: *A case of scrub typhus with disseminated intravascular coagulation, meningitis and pulmonary fibrosis. Nippon Naika Gakki Zasshi* 80:1816-7, 1991
- 7) Cracco C, Delafosse C, Baril L, Lefort Y, Morelot C, Derenne JP, Bricaire F, Similowski T: *Multiple organ failure complicating probable scrub typhus. Clin Infect Dis* 31:191-2, 2000
- 8) Kim IS, Seong SY, Woo SG, Choi MS, Kang JS, Chang WH: *Rapid diagnosis of scrub typhus by a passive hemagglutination assay using recombinant 56-kilodalton polypeptides. J Clin Microbiol* 31: 2057-60, 1993
- 9) Kim DM, Yun NR, Yang TY, Lee JH, Yang JT, Shim SK, Choi EN, Park MY, Lee SH: *Usefulness of nested PCR for the diagnosis of scrub typhus in clinical practice: A prospective study. Am J Trop Med Hyg* 75:542-5, 2006
- 10) Robinson DM, Brown G, Gan E, Huxsoll DL: *Adaptation of a microimmunofluorescence test to the study of human Rickettsia tsutsugamush antibody. Am J Trop Med* 25:900-5, 1976
- 11) Blacksell SD, Bryant NJ, Paris DH, Doust JA, Sakoda Y, Day NP: *Scrub typhus serologic testing with the indirect immunofluorescence method as a diagnostic gold standard: a lack of consensus leads to a lot of confusion. Clin Infect Dis* 44:391-401, 2007
- 12) Kim BN, Kwak YK, Moon CS, Kim ES, Park SW, Lee CS: *Association between Location of Eschar and Clothing in Scrub Typhus. Infect Chemother* 38:389-93, 2006