

침습성 아스페르길루스증 진단을 위한 갈락토만난 항원 검사의 유용성 평가

서울대학교 의과대학 내과학교실¹, 검사의학교실²

송경호¹ · 이신원¹ · 장희창¹ · 전재현¹ · 박완범¹ · 박경운² · 박상원¹ · 오명돈¹ · 최강원¹

Diagnostic Usefulness of Galactomannan Assay for Invasive Aspergillosis

Kyoung-Ho Song, M.D.¹, Shinwon Lee, M.D.¹, Hee-Chang Jang, M.D.¹, Jae Hyun Jeon, M.D.¹, Wan Beom Park, M.D.¹, Kyoung Un Park, M.D.², Sang-Won Park, M.D.¹, Myoung-don Oh, M.D.¹ and Kang Won Choe, M.D.¹

Departments of Internal Medicine¹ and Laboratory Medicine², Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Invasive aspergillosis (IA) is an important cause of morbidity and mortality among immunocompromised patients. However, IA is difficult to diagnose, especially in the aforementioned patient group. Recently, galactomannan assay (GMA) using enzyme immunoassay has been introduced in Korea. We evaluated its diagnostic usefulness in the diagnosis of IA and we analyzed the results according to the underlying diseases.

Materials and Methods : All patients who underwent GMA during the period from October 2007 to June 2008 were evaluated retrospectively. According to the criteria of European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group, IA was classified into four clinical categories: 'proven', 'probable', 'possible', and 'non' IA. Patients with 'proven' and 'probable' IA were used as the reference standards for IA. GMA was performed using Platelia *Aspergillus* EIA (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Optical density index ≥ 0.5 was considered positive.

Results : Of the 144 patients who underwent GMA, two patients were classified as 'proven' IA and sixteen patients were 'probable' IA. Overall sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of the assay were 50% (95% confidence interval (CI) 95, 26-74%), 88% (CI 95, 81-93%), 38% (CI 95, 19-59%), and 93% (CI 95, 86-97%), respectively. Among the 99 patients with underlying hematologic diseases, GMA showed 67% (CI 95, 35-90%) sensitivity and 89% (CI 95, 80-94%) specificity, whereas in 45 patients with underlying diseases other than hematologic diseases, sensitivity and specificity of the assay were 17% (CI 95, 0-64%) and 87% (CI 95, 73-96%), respectively.

Conclusions : GMA showed high specificity, irrespective of the patient population. However, sensitivity of GMA was low and the assay was less sensitive in patients with underlying diseases other than hematologic diseases than in patients with hematologic diseases.

Key Words : Aspergillosis, Diagnosis, Galactomannan, Antigen

서 론

침습성 아스페르길루스증은 장기 이식환자와 장기간 면역억제치료를 받는 환자가 늘어나면서 지속적으로 증가하

고 있다(1). 침습성 아스페르길루스증의 사망률은 Voriconazole, Caspofungin 등 새로운 항진균제가 치료에 도입된 이후에도 30-50%로 높다(2). 이러한 높은 사망률을 줄이기 위해서는 조기 진단과 적절한 치료가 중요하다. 그러나 침습성 아스페르길루스증을 진단하는데 있어서 증상과 징후는 비특이적이고, 배양검사는 시간이 오래 걸리며 민감도가 낮다는 문제점이 있다. 침습성 폐 아스페르길루스증의 진단에는 공기-반월징후(air-crescent sign)나 달무리 징후(halo sign)와 같은 방사선 소견이 도움이 될 수 있으나, 이것 역시

Submitted : 17 October 2008, Accepted : 31 December 2008

Correspondence : Myoung-don Oh, M.D.

Department of Internal Medicine, Seoul National University Hospital

28 Yongun-dong, Chongro-gu, Seoul, Republic of Korea. 110-744

Tel : +82-2-2072-2945, Fax : +82-2-762-9662

E-mail : mdohmd@snu.ac.kr

특이적인 소견이 아니다(3). 또한, 확진을 위해서는 조직생검이 필요하지만 대부분의 환자는 혈액응고장애를 동반하여 침습적인 시술을 시행하기 어렵다(4).

최근에 개발된 갈락토만난 항원 검사는 비침습적이며, 결과를 신속히 알 수 있어 침습성 아스페르길루스증의 진단에 유용할 것으로 생각된다. 갈락토만난은 아스페르길루스 균 사 세포벽의 주성분으로, 아스페르길루스가 혈관을 침범하여 자라는 동안 혈액 내로 방출된다(5). 1990년대 중반 유럽에서 갈락토만난 항원을 효소면역검사법으로 민감하게 측정할 수 있는 방법이 상용화되었다(6, 7). 이 검사방법은 쥐의 단클론항체인 EB-A2를 이용하여, 혈중 갈락토만난을 검출하는 샌드위치 효소면역검사법인데, 기존의 라텍스 응집법보다 10-30배 민감하게 1 ng/mL까지 항원을 검출할 수 있는 것으로 알려져 있다(6, 8). 여러 연구에서 혈중 갈락토만난 항원검사가 유용한 것으로 보고되고 있으나, 국내에서 이 검사방법이 침습성 아스페르길루스증 진단에 얼마나 도움이 되는지에 대해서는 연구가 부족하다(9, 10). 저자들은 침습성 아스페르길루스증 진단을 위한 갈락토만난 항원 검사의 유용성을 평가하고자 하였다. 또한, 항원 검사의 유용성에 영향을 미칠 수 있는 것으로 알려져 있는 검사대상 환자의 기저질환에 따라 결과를 분석하였다.

재료 및 방법

1. 대 상

2007년 10월 1일부터 2008년 6월 30일까지 갈락토만난 항원 검사를 받은 모든 환자들의 의무기록과 검사결과를 후향적으로 분석하였다. 전산화 의무기록을 통하여 연령, 성별, 기저질환, 혈액검사결과, 미생물학적 검사결과, 스테로이드 사용력, 항생제 투여력 등을 조사하였다. 침습성 아스페르길루스 감염증의 위험인자로서 '호중구 감소증'은 10일 이상 말초혈액의 호중구수가 $500/\text{mm}^3$ 미만으로 지속된 경우로, '스테로이드 사용'은 최근 2개월 이내에 치료적 용량의 스테로이드를 3주 이상 사용한 경우로 정의하였다(11).

2. 진단기준

침습성 아스페르길루스증은 2002년 European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group (EORTC/MSG)의 진단기준에 따라, '확진(proven)', '거의 틀림없는(probable)', '가능한(possible)', '가능성이 없는(non)' 침습성 아스페르길루스증으로 분류하였다(11, 12). 갈락토만난 항원검사의 유용성을 평가하기 위한 연구이므로, 미생물학적 진단기준에 사용되는 '기관지-폐포

세척액, 뇌척수액 및 혈액(2회 이상)에서 갈락토만난 항원검사 양성'일 경우는 진단기준에서 제외하였다.

갈락토만난 항원 검사의 진단적 유용성을 평가하기 위하여, '확진'또는 '거의 틀림없는' 침습성 아스페르길루스증으로 분류된 사례를 침습성 아스페르길루스증으로, '가능한' 또는 '가능성이 없는' 감염증으로 분류된 사례는 침습성 아스페르길루스증이 아닌 것으로 정의하였다.

3. 갈락토만난 항원 검사

갈락토만난 항원 검사는 상용화된 효소면역검사키트(Platelia *Aspergillus* EIA, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 사용하였다. 제조사의 사용지침에 따라 검사를 시행하였다. 간략하게 기술하면, 시험 대상 혈청을 과산화효소가 부착된 쥐의 단클론항체인 EB-A2와 혼합하였다. 혼합액을 EB-A2가 바닥면에 부착된 microplate에 분주하고 반응시켰다. Microplate를 세척하고, 발색기질(tetramethylbenzidine chromogen)을 첨가하여 EB-A2에 부착되어 있는 과산화효소와 반응시킨 후, 시험 검체의 흡광도를 측정하였다. 시험 검체와 1 ng/mL농도의 갈락토만난을 포함하는 2개의 대조군을 함께 검사하였으며, 최종검사결과는 시험 검체의 흡광도를 대조군 흡광도의 평균으로 나눈 값인 흡광도 지수로 표시하였다(13).

갈락토만난 항원 검사결과는 흡광도 지수가 0.5이상인 경우를 양성으로 판정하였다. 2회 이상 갈락토만난 항원검사를 시행한 경우, 최초 항원검사결과를 검사의 유용성을 평가하는데 사용하였다.

4. 통 계

민감도, 특이도, 양성예측도, 음성예측도, 양성우도비(positive likelihood ratio), 음성우도비(negative likelihood ratio)를 계산하여 진단적 유용성을 평가하였으며, Wilson score method를 이용하여 양측 95% 신뢰구간을 제시하였다(14). 대상환자의 임상상 및 민감도, 특이도는 Chi-square test 또는 Fisher's exact test로 비교하였으며, $P < 0.05$ 를 통계적으로 의미있는 결과로 해석하였다.

결 과

1. 대상 환자

대상 환자는 모두 144명이었다. 연령은 평균 55세(18-84세)였으며, 남자가 86명(60%)이었다. 기저질환은 혈액학적 질환이 99명이었는데, 백혈병이 62명(43%), 림프종이 21명(15%), 다발성 골수종이 8명(6%), 재생불량성빈혈이 8명

(6%)이었다. 이들 가운데 조혈모세포이식을 받은 환자는 16명(11%)였다. 45명은 혈액학적 질환 이외의 기저질환을 가지고 있었는데, 고형장기 이식환자는 15명(10%), 고형암 환자는 10명(7%)이었다. 조혈모세포이식 환자와 고형장기 이식환자는 예방적인 항진균제로 fluconazole을 투여받고 있었다.

침습성 아스페르길루스증의 진단은 2명이 '확진', 16명이 '거의 틀림없는' 침습성 아스페르길루스증으로 분류되었다. '가능한'으로 분류된 환자는 28명이었다. 침습성 아스페르길루스증으로 '확진'된 환자 2명 중 1명은 당뇨 이외의 기저질환이 없었으며, 두개골을 침범한 침습성 부비동염으로 수술로 얻은 생검 조직에서 *Aspergillus fumigatus*의 침습성 감염증이 증명되었다. 다른 1명은 간질성 폐질환 때문에 고용량 스테로이드를 장기간 투여받던 환자로 폐렴이 발생하여 내원하였다. 기관지-폐포 세척액 배양검사결과 *A. fumigatus*가 동정되었으며, 경기관지 폐생검 결과 조직 내로 침

습하는 것이 확인되었다. 침습성 아스페르길루스증으로 진단된 환자 18명(13%)과 침습성 아스페르길루스증이 아닌 것으로 진단된 환자 126명의 임상적 특징을 Table 1에 정리하였다(Table 1). 두 군간에 연령, 성별, 기저질환으로 혈액학적 질환이 동반되었는지 여부, '호중구 감소증' 동반여부 및 '스테로이드 사용' 여부 등에 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

2. 갈락토만난 항원 검사의 진단적 유용성

갈락토만난 항원 검사의 민감도, 특이도, 양성예측도, 음성예측도, 양성우도비 및 음성우도비는 각각 50% (CI95, 26-74%), 88% (CI95, 81-93%), 38% (CI95, 19-59%), 93% (CI95, 86-97%), 4.20 (CI95, 2.11-7.37) 및 0.57 (CI95, 0.35-0.81)였다. 기저질환으로 혈액학적 질환을 가지고 있는 99명에서 시행한 갈락토만난 항원 검사의 민감도는 67% (CI95, 35-90%)였던 반면에, 혈액학적 질환 환자가 아닌 45명을 대

Table 1. Characteristics of 144 Patients who Underwent Galactomannan Assay for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis (IA)

Characteristics	IA (No.=18) (%)	Not-IA (No.=126) (%)	P- value
Age, median (range)	62 (20-78)	54 (18-84)	0.159
Male	11 (61)	75 (60)	0.898
Underlying disease			0.838
Hematologic disease	12 (67)	87 (69)	
Leukemia	10 (56)	52 (41)	
Lymphoma	2 (11)	19 (15)	
Multiple myeloma	-	8 (6)	
Aplastic anemia	-	8 (6)	
Bone marrow transplantation	2 (11)	14 (11)	
Non-hematologic disease	6 (33)	39 (31)	
Solid organ transplantation	2* (11)	13† (10)	
Solid organ malignancy	1 (6)	10 (8)	
Others	3‡ (22)	16 (13)	
Prolonged neutropenia§ (≥10 days)	9 (50)	65 (52)	0.900
Long-term steroid treatment (≥3 weeks)	7 (39)	36 (29)	0.371
Site of infection			0.182
Pulmonary infection	14 (78)	112 (89)	
Sinonasal infection	2 (11)	4 (3)	
Disseminated infection	2 (11)	5 (4)	
Others	-	5 (4)	
Isolated micro-organism			
<i>Aspergillus fumigatus</i>	15 (83)	-	
<i>Aspergillus flavus</i>	3 (17)	-	
Others¶	2 (11)	-	

Of the 18 patients with invasive aspergillosis (IA), 2 patients were diagnosed with 'proven' IA and 16 patients with 'probable' IA, according to the EORTC/MSG (European Organization of the Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group) criteria (11).

*Liver transplantation (2 patients)

†Heart transplantation (5 patients), liver transplantation (3), kidney transplantation (2), liver-kidney co-transplantation (2) and lung transplantation (1).

‡Polyarteritis nodosa (1), interstitial lung disease (1) and diabetes mellitus only (1).

§Neutropenia was defined as an absolute neutrophil count below 500/mm³ over 10 days.

||2 patients were co-infected with *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus flavus*.

¶*Aspergillus versicolor* (1) and *Aspergillus* spp.(1).

상으로 시행한 경우에는 17% (CI95, 0-64%)였다($P=0.131$). 혈액학적 질환자에서 항원 검사의 특이도는 89% (CI95, 80-94%), 혈액학적 질환 환자가 아닌 경우 87% (CI95, 73-96%)였다($P=1.000$) (Table 2).

침습성 아스페르길루스증으로 '확진'된 환자 2명의 갈락토만난 항원검사 결과는 모두 음성이었다. 비-부비동(sinonasal) 침습성 아스페르길루스증 환자 2명은 모두 갈락토만난 항원 검사 음성이었으며, 전신성(disseminated) 감염증 환자는 2명 모두 양성이었다. 위음성 환자 9명 가운데 5명은 갈락토만난 항원검사를 시행할 당시 사상균에 효과적인 항진균제를 사용 중이었다. 또한, 3명은 혈액학적 질환 이외의 기저질환을 가지고 있던 환자인데 장기간 스테로이드 치료를 받던 중이었다. 그리고, 나머지 1명은 급성림프구성 백혈병 환자로서 침습성 아스페르길루스 폐렴이 진단되었으나 갈락토만난 항원검사 결과는 음성이었다(Table 3).

위양성을 보인 15명 중 5명은 piperacillin-tazobactam으

로 치료받는 상태에서 갈락토만난 항원검사를 받았다. 6명의 환자가 1주 내에 갈락토만난 항원검사를 다시 받았으며, 두 번째 검사결과는 6명 모두에서 음전되었다. 위양성 환자 중 신부전이 동반된 환자는 없었다(Table 4).

고 찰

본 연구에서 침습성 아스페르길루스증을 진단하는데 있어서 갈락토만난 항원검사의 민감도는 50%였다. 이는 항암 치료를 받는 혈액종양환자 또는 조혈모세포 이식환자를 대상으로 시행된 과거 연구들에서 보고된 민감도(70-100%)보다 낮았다(13). 그러나 검사대상환자를 기저질환에 따라 분류하여 분석해보면, 혈액학적 질환자에서의 민감도는 67% (8/12)였던 반면에 혈액학적 질환 이외의 질환을 동반하고 있던 45명에서는 침습성 아스페르길루스증으로 진단된 6명 중 단 1명(17%)만이 갈락토만난 항원검사 양성조건을 나타

Table 2. Diagnostic Performances of Galactomannan Assay for Proven and Probable Invasive Aspergillosis in 144 Patients

Patient population	TP/(TP+FN)	TN/(TN+FP)	Sensitivity % (CI95)	Specificity % (CI95)	PPV % (CI95)	NPV % (CI95)	LR+ % (CI95)	LR- % (CI95)
All patients	9/(9+9)	111/(111+15)	50 (26-74)	88 (81-93)	38 (19-59)	93 (86-97)	4.20 (2.11-7.37)	0.57 (0.35-0.81)
Patients with hematologic disease	8/(8+4)	77/(77+10)	67 (35-90)	89 (80-94)	44 (22-69)	95 (88-99)	5.80 (2.81-9.48)	0.38 (0.17-0.68)
Patients with non-hematologic disease	1/(1+5)	34/(34+5)	17 (0-64)	87 (73-96)	17 (0-64)	87 (73-96)	1.30 (0.21-6.24)	0.96 (0.55-1.14)

TP, no. of cases with true-positive result; TN, no. of cases with true-negative result; FP, no. of cases with false-positive result; FN, no. of cases with false-negative result; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; LR+, likelihood ratio for positive test; LR-, likelihood ratio for negative test; CI95, 95% confidence interval

Table 3. Clinical Characteristics of 9 Patients with False-negative Result of Galactomannan Assay (GMA) for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis (IA)

No.	Age/Sex	Underlying disease	Site of infection	Risk factor* for IA	EORTC/MSG for IA	Isolated organism	Specimen	Antifungal therapy† prior to GMA	GMA result‡
1	44/M	ILD/DM	Pulmonary	Steroid	Proven	<i>A. fumigatus</i>	TBLB	No	Negative
2	71/M	DM	Sinonasal	-	Proven	<i>A. fumigatus</i>	Surgical tissue	Yes	Negative
3	20/M	AML/BMT	Sinonasal	Neutropenia	Probable	<i>A. versicolor</i>	Nasal discharge	Yes	Negative
4	61/F	ALL	Pulmonary	Neutropenia	Probable	<i>A. fumigatus</i>	Sputum	No	Negative
5	61/M	AML	Pulmonary	Neutropenia	Probable	<i>A. fumigatus</i>	Sputum	Yes	Negative
6	63/M	NHL	Pulmonary	Neutropenia	Probable	<i>A. fumigatus</i>	Sputum	Yes	Negative
7	52/M	Liver TPL	Pulmonary	Steroid	Probable	<i>A. fumigatus</i>	Sputum	Yes	Negative
8	61/M	Liver TPL	Pulmonary	Steroid	Probable	<i>A. fumigatus</i>	Sputum	No	Negative
9	70/M	PAN	Pulmonary	Steroid	Probable	<i>A. fumigatus</i>	BAL	No	Negative

EORTC/MSG, European Organization of the Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group; ILD, interstitial lung disease; DM, diabetes mellitus; TBLB, transbronchial lung biopsy; AML, acute myelocytic leukemia; BMT, bone marrow transplantation; ALL, acute lymphocytic leukemia; NHL, non-Hodgkins lymphoma; TPL, transplantation; PAN, polyarteritis nodosa; BAL, bronchoalveolar lavage.

*As risk factors for invasive aspergillosis, "neutropenia" was defined as an absolute neutrophil count below 500/mm³ over 10 days and steroid was defined as prolonged (>3 weeks) use of corticosteroids in previous 60 days

†Antifungal therapy active against mold infection.

‡Optical density index ≥ 0.5 was considered as positive result.

Table 4. Clinical Characteristics of 15 Patients with False-positive Result of Galactomannan Assay (GMA) for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis (IA)

No.	Age/ Sex	Underlying disease	Site of infection	Risk factor for IA	EORTC/ MSG for IA	Additional GMA result	Use of Pip/Taz	Alternative diagnosis	Treatment outcome
1	66/M	AML	Pulmonary	Neutropenia	Possible	Negative	No	Febrile neutropenia	Resolved after recovery of neutropenia
2	60/M	AML	Pulmonary	Neutropenia	Possible	NA	No	Febrile neutropenia	Resolved after recovery of neutropenia
3	66/M	AML	Pulmonary	Neutropenia	Possible	Negative	No	Febrile neutropenia	Resolved after recovery of neutropenia
4	27/M	ALL	Pulmonary	Neutropenia	Possible	NA	No	Febrile neutropenia	Resolved after recovery of neutropenia
5	37/F	ALL	Pulmonary	Neutropenia	Possible	NA	No	Febrile neutropenia	Resolved after recovery of neutropenia
6	68/M	AML	Pulmonary	Neutropenia	Non	Negative	Yes	Febrile neutropenia	Expired
7	68/M	AML	Pulmonary	Neutropenia	Non	Negative	Yes	Febrile neutropenia	Resolved after recovery of neutropenia
8	65/M	MDS	Pulmonary	Neutropenia	Non	NA	No	Febrile neutropenia	Resolved after recovery of neutropenia
9 [§]	65/M	MDS	Pulmonary	Neutropenia	Non	NA	No	Febrile neutropenia	Resolved after recovery of neutropenia
10	70/M	MM	Pulmonary	Neutropenia	Non	NA	Yes	Bacterial pneumonia	Expired
11	58/M	Kidney TPL	Pulmonary	Steroid	Possible	Negative	No	Bacterial pneumonia	Improved without antifungal treatment
12	55/M	Liver TPL	Pulmonary	Steroid	Possible	NA	No	Bacterial pneumonia	Improved without antifungal treatment
13	59/F	Lung cancer	Pulmonary	Steroid	Possible	NA	No	Bacterial pneumonia	Expired
14	62/F	ILD	Disseminated	Steroid	Non	NA	Yes	Candidemia	Cured after treatment of candidemia
15	68/M	DM	Pulmonary	-	Non	Negative	Yes	Bacterial pneumonia	Improved without antifungal treatment

There was no patient who had received amoxicillin/clavulanate and no patient with graft-versus-host disease and renal failure.

EORTC/MSG, European Organization of the Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group; Pip/Taz, piperacillin-tazobactam; AML, acute myelocytic leukemia; ALL, acute lymphocytic leukemia; MDS, myelodysplastic syndrome; MM, multiple myeloma; TPL, transplantation; ILD, interstitial lung disease; DM, diabetes mellitus; NA, not available.

[†]As risk factors for invasive aspergillosis, "neutropenia" was defined as an absolute neutrophil count below 500/mm³ over 10 days and "steroid" was defined as prolonged (>3 weeks) use of corticosteroids in previous 60 days

[‡]If the attending physician requested, additional galactomannan assay was performed within a week after the first test.

[§]Treatment outcome was evaluated at least 3 months after the first galactomannan assay.

[§]*Penicillium marneffei* was isolated in sputum.

냈다. 혈액학적 질환자 이외에도 고형장기이식 환자와 같이 장기간 면역억제치료를 받는 환자도 침습성 아스페르길루스증의 고위험군으로 알려져 있다(11). 그러나, 간이식환자를 대상으로 시행한 연구에서 갈락토만난 항원 검사의 민감도는 57%였으며(15), 폐이식환자를 대상으로 한 연구에서의 민감도는 더욱 낮았다(25%) (16). 또한, 1966년부터 2005년까지 시행되었던 갈락토만난 항원 검사에 관련된 연구들을 메타분석한 결과에 따르면(17), 갈락토만난 항원 검사의 민감도는 혈액학적 질환 환자에서 70%, 조혈모세포 이식환자에서 82%였으나, 고형장기 이식환자에서는 22%에 불과하였다.

갈락토만난 항원 검사의 민감도가 검사대상환자의 기저 질환에 따라 달라지는 이유는 아직까지 확실하지 않으나, 면역저하의 유형에 따라 침습성 아스페르길루스증의 초기 질병의 진행 양상, 중증도가 달라지기 때문일 가능성이 있다. 갈락토만난 항원검사는 아스페르길루스의 침습성에 따라 영향을 받는다. 아스페르길루스증, 기관-기관지염, 알레르기성 기관지폐 아스페르길루스증 등 침습성이 없거나 낮은 감염증에서 갈락토만난 항원검사의 민감도는 매우 낮으며, 반대로 질병의 진행이 빠르고 심할수록 항원검사의 민감도는 높은 것으로 알려져 있다(18, 19). 본 연구에서도 침습성이 낮은 비-부비동 아스페르길루스증으로 진단된 환자 2명

은 모두 항원검사 음성이었으나, 전신성 감염증 환자 2명에서는 모두 양성조건을 보였다. 면역저하 유형에 따른 초기 질병의 진행양상의 차이를 살펴본 동물실험결과에 따르면 (20), 장기간 스테로이드를 사용하여 면역이 억제된 실험동물에서 아스페르길루스가 체내에 침투하면, 감염부위에 많은 수의 호중구가 유입되었고 균사의 성장이 억제되어 감염부위의 갈락토만난 수치는 높게 증가하지 못하였다. 그러나, 호중구 감소증이 동반된 실험동물에서는 감염초기부터 침범부위에서 균사가 많이 성장하였으며, 감염부위의 갈락토만난이 급격히 증가하였다. 호중구 감소증이 동반되지 않은 환자, 즉 혈액학적 질환이 동반되지 않은 검사대상환자에서 초기 질병의 진행이 상대적으로 느리고 침습성이 낮기 때문에 갈락토만난 항원 검사의 민감도가 낮은 것으로 생각된다.

갈락토만난 항원 검사의 민감도를 낮추는 다른 원인으로 는 검사 당시 아스페르길루스에 효과적인 항진균제로 치료 받는 경우가 알려져 있다(13). 아스페르길루스에 효과가 있는 항진균제를 투여하면, 혈관 내로 침범한 균사가 우선적으로 영향을 받게 되고 이로 인해 혈중으로 방출되는 갈락토만난이 현저히 감소하는 것으로 설명되고 있다. Marr 등(21)은 조혈모세포 이식 환자를 대상으로 시행한 연구에서 항진균제를 투여받지 않은 환자에서의 민감도는 88%였으나, 항진균제를 투여받던 환자에서는 20%로 감소하는 것으로 보고하였다. 본 연구에서 위양성이 나타난 9명 중 5명에서는 아스페르길루스에 효과적인 항진균제를 사용 중이었으며, 나머지 4명 중 3명은 호중구감소증이 없던 환자들로 장기간 스테로이드로 치료를 받는 중 이었다.

갈락토만난 항원 검사의 특이도는 검사대상환자의 기저 질환에 관계없이 높았다(87-89%). 혈중에서 갈락토만난 항원이 검출되는 것은 아스페르길루스 감염증에 매우 특이적인 것으로 알려져 있다(22). 현재까지 밝혀진 위양성의 가장 중요한 원인은 piperacillin-tazobactam, amoxicillin-clavulanate 등과 같은 항생제를 사용 중인 경우이다. 항생제 제조과정에서 사용되는 *Penicillium*에서 나온 갈락토만난이 항생제에 들어가면, 이로 인해 교차반응이 발생하여 나타나는 것으로 생각되고 있다(13). 또한, *Aspergillus*와 유사한 세포벽 갈락토만난을 생성하는 *Penicillium*을 비롯한 *Bifidobacterium*, *Histoplasma*, *Fusarium* 등의 다른 진균감염증이 발생한 경우에도 위양성이 나타날 수 있는 것으로 알려져 있다(13). 본 연구에서 위양성을 보인 15명 중 5명은 piperacillin-tazobactam을 투여 받던 중이었으며, 한 명에서는 객담배양감사에서 *Penicillium marneffei*가 동정되었다.

갈락토만난 항원검사의 민감도, 특이도에 영향을 미칠 수 있는 중요한 고려사항으로 양성판정기준값(cut-off value)

과 관련된 문제가 있다. 본 연구에서는 대부분의 환자(71%, 102/144)들이 갈락토만난 항원검사를 한번 시행 받았으며, 2회 이상 검사를 받은 경우에는 최초로 시행한 검사의 흡광도 지수가 0.5이상이면 양성으로 판정하였다. 갈락토만난 항원검사가 상용화되었을 당시, 제조사에서는 흡광도 지수가 1.5 이상인 경우를 '양성', 1.0미만을 '음성', 1.0-1.5인 경우를 '미정'으로 제시하였다. 그러나, 1998년 Verweij 등은 이러한 기준을 이용하였을 때 위양성이 많이 나타난다는 것을 보고하였다(23). 양성판정기준값을 낮추면 민감도는 상승하겠지만 특이도는 낮아지게 될 것이라는 우려와는 달리, 여러 연구에서 양성판정기준값을 0.5로 낮추더라도 특이도는 많이 감소하지 않으면서 민감도가 상승하는 것으로 확인되었다(21-23). 또한, 2003년 Wheat 등(24)이 170명의 환자에서 ROC (Receiver Operating Characteristic) curve를 이용하여 분석한 결과, 0.5를 양성판정기준값으로 할 때 가장 높은 진단적 유용성(민감도 81%, 특이도 89%)을 나타냈다. 이후, 여러 연구에서 연속 2회 이상, 0.5이상의 흡광도 지수를 나타내는 경우를 양성으로 판정하면, 특이도를 보존하면서도 민감도를 증가시킬 수 있는 것으로 보고하였다(19, 24, 25). 본 연구에서 위양성 환자 15명 중에서 6명은 1주 내에 다시 갈락토만난 항원검사를 받았고, 6명 모두 2번째 항원 검사결과는 음성이었다. 실제 임상에서 2회 이상 - 흡광도 지수 0.5이상을 양성판정기준으로 사용한다면, 위양성을 감소시킬 수 있을 것으로 생각된다.

침습성 아스페르길루스증을 진단하는데 있어서 갈락토만난 항원검사의 유용성을 평가한 국내자료들을 살펴보면, 2005년 Yoo 등(9)은 128명의 호중구감소성 발열이 발생한 혈액질환자를 대상으로 발열 3일째부터 선별검사로써 1주에 2회 갈락토만난 항원검사를 시행하였다. Yoo 등은 ROC curve를 이용하여 양성판정 기준을 결정하였고, 이 결과에 따라 흡광도 지수 0.5이상을 양성으로 판정하였을 때, 갈락토만난 항원검사의 민감도는 86% (12/14)였다. 본 연구에서 혈액질환자를 대상으로 시행한 항원 검사의 민감도는 67% (8/12)로 낮았다. 그러나, Yoo 등은 선별검사로써 항원검사를 시행하였고, 따라서 검사당시 항진균제를 사용 중인 대상 환자는 없었다. 같은 조건으로 본 연구에서 검사 당시 항진균제를 투여받던 환자를 분석에서 제외한다면, 민감도는 89% (8/9)이며, 이는 Yoo 등의 보고와 유사한 결과였다. 또한, 2005년 Sung 등(10)은 검사 대상 환자 중 혈액질환자가 약 20%에 불과하였고, 높은 양성판정 기준값(흡광도 지수 \geq 1.5)을 사용하였음에도 높은 민감도(77%)와 특이도(95%)를 보고하였다. 그러나 이는 항원 검사 당시 항진균제를 투여받던 4명을 제외한 결과로 이를 포함하여 분석할 경우, 민감도

는 59%로 감소하여 본 연구의 결과(50%)와 유사하였다. 또한, Sung 등은 갈락토만난 항원검사 결과가 2회 이상 양성인 경우를 표준진단기준에 포함시켰고, 이에 따라 환자 2명이 '거의 틀림없는' 침습성 아스페르길루스증으로 분류되었다. 이러한 경우, 유용성 평가의 대상이 되는 검사의 결과가 표준진단기준에 영향을 미치게 되어, 민감도가 실제보다 높게 나타나게 된다는 합일화 치우침(incorporation bias)이 발생한다는 것을 고려해야 하겠다(26).

본 연구에서 검사대상환자의 기저질환에 따라서 갈락토만난 항원 검사의 민감도에 차이가 있는 경향을 보였으나 통계적으로 의미있는 결과는 아니었다. 이는 검사 대상환자 수가 하위집단을 분석할 만큼 충분하지 않았기 때문으로 판단된다. 같은 이유로 본 연구에서는 위양성, 위음성을 일으킬 수 있는 주요 항생제, 항진균제 사용이 검사의 유용성에 미치는 영향을 별도로 평가할 수 없었다. 또한, 후향적으로 계획된 연구였기 때문에 질병의 발현 시점과 갈락토만난 항원 검사의 시점을 미리 결정할 수 없었고, 갈락토만난 항원 검사가 조기 진단에 도움이 되는지 여부에 대해서는 파악할 수 없었다. 그리고 본 연구에서는 2002년 EORTC/MSG 진단기준을 사용하여 침습성 진균감염증을 분류하였다. 그러나 암환자 및 조혈모세포 이식 환자 이외에도 다양한 기저질환을 지닌 환자들이 포함되어 있어 최근 개정된 2008년 진단기준(27)을 이용하여 분석하는 것이 보다 정확하게 침습성 진균 감염증을 분류할 수 있었을 것으로 판단된다. 그러나 새로운 진단기준으로 분류하였을 때에도 본 연구에서 정의한 침습성 아스페르길루스증 여부는 변경되지 않았으며, 따라서 갈락토만난 항원 검사의 유용성 평가 결과에는 영향이 없었다(테이터는 제시하지 않음).

결론적으로, 갈락토만난 항원 검사는 낮은 민감도(50%)와 높은 특이도(88%)를 나타냈다. 특이도는 검사 대상 환자의 기저질환과 관계없이 높았으나, 민감도는 기저질환으로 혈액학적 질환을 가지고 있지 않은 환자에서 혈액학적 질환 환자에 비하여 더욱 낮은 경향을 보였다. 그러나 검사대상환자의 기저질환과 질병의 중증도, 위양성, 위음성을 일으킬 수 있는 요인을 고려하여 사용한다면, 침습성 아스페르길루스증을 진단하는데 더 도움이 될 수 있겠다.

참 고 문 헌

- Marr KA, Carter RA, Crippa F, Wald A, Corey L. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 34:909-17, 2002
- Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, Bennett JE, Greene RE, Oestmann JW, Kern WV, Marr KA, Ribaud P, Lortholary O, Sylvester R, Rubin RH, Wingard JR, Stark P, Durand C, Caillot D, Thiel E, Chandrasekar PH, Hodges MR, Schlamm HT, Troke PF, de Pauw B. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med* 347:408-15, 2002
- Bruno C, Minniti S, Vassanelli A, Pozzi-Mucelli R. Comparison of CT features of Aspergillus and bacterial pneumonia in severely neutropenic patients. *J Thorac Imaging* 22:160-5, 2007
- Reichenberger F, Habicht J, Matt P, Frei R, Soler M, Bolliger CT, Dalquen P, Gratwohl A, Tamm M. Diagnostic yield of bronchoscopy in histologically proven invasive pulmonary aspergillosis. *Bone Marrow Transplant* 24:1195-9, 1999
- Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis* 4:349-57, 2004
- Stynen D, Goris A, Sarfati J, Latge JP. A new sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to detect galactofuran in patients with invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 33:497-500, 1995
- Verweij PE, Stynen D, Rijs AJ, de Pauw BE, Hoogkamp-Korstanje JA, Meis JF. Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay compared with Pastorex latex agglutination test for diagnosing invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *J Clin Microbiol* 33:1912-4, 1995
- Lombardi G, Farina C, Andreoni S, D'Antonio D, Faggi E, Manso E, Mazzoni A. Multicenter evaluation of an enzyme immunoassay (Platelia Aspergillus) for the detection of Aspergillus antigen in serum. *Mycopathologia* 155:129-33, 2002
- Yoo JH, Choi JH, Choi SM, Lee DG, Shin WS, Min WS, Kim CC. Application of nucleic acid sequence-based amplification for diagnosis of and monitoring the clinical course of invasive aspergillosis in patients with hematologic diseases. *Clin Infect Dis* 40:392-8, 2005
- Sung H, Chung HJ, Pyo YJ, Namgoong S, Kim MN. The Evaluation of Clinical Utility of Platelia Aspergillus Antigen Immunoassay for Diagnosis of Invasive Aspergillosis. *Korean J Clin Microbiol* 8:113-20, 2005
- Ascioglu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert F, Denning DW, Donnelly JP, Edwards JE, Erjavec Z, Fiere D, Lortholary O, Maertens J, Meis JF, Patterson TF, Ritter J, Selleslag D, Shah PM, Stevens DA, Walsh TJ. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 34:7-14, 2002
- Yoo JH. Outlines and principles of treatment of fungal infection. In: The Korean Society of Infectious Diseases.

- Infectious Diseases. 1st ed. p841, Seoul, Koonja Co., 2007
- 13) Wheat LJ, Walsh TJ. Diagnosis of invasive aspergillosis by galactomannan antigenemia detection using an enzyme immunoassay. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 27:245–51, 2008
 - 14) Newcombe RG. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Stat Med* 17:857–72, 1998
 - 15) Fortun J, Martin-Davila P, Alvarez ME, Sanchez-Sousa A, Quereda C, Navas E, Barcena R, Vicente E, Candelas A, Honrubia A, Nuno J, Pintado V, Moreno S. Aspergillus antigenemia sandwich-enzyme immunoassay test as a serodiagnostic method for invasive aspergillosis in liver transplant recipients. *Transplantation* 71:145–9, 2001
 - 16) Husain S, Kwak EJ, Obman A, Wagener MM, Kusne S, Stout JE, McCurry KR, Singh N. Prospective assessment of Platelia Aspergillus galactomannan antigen for the diagnosis of invasive aspergillosis in lung transplant recipients. *Am J Transplant* 4:796–802, 2004
 - 17) Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 42:1417–27, 2006
 - 18) Pasqualotto AC, Denning DW. Post-operative aspergillosis. *Clin Microbiol Infect* 12:1060–76, 2006
 - 19) Aquino VR, Goldani LZ, Pasqualotto AC. Update on the contribution of galactomannan for the diagnosis of invasive aspergillosis. *Mycopathologia* 163:191–202, 2007
 - 20) Balloy V, Huerre M, Latge JP, Chignard M. Differences in patterns of infection and inflammation for corticosteroid treatment and chemotherapy in experimental invasive pulmonary aspergillosis. *Infect Immun* 73:494–503, 2005
 - 21) Marr KA, Balajee SA, McLaughlin L, Tabouret M, Bentsen C, Walsh TJ. Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis: variables that affect performance. *J Infect Dis* 190:641–9, 2004
 - 22) Maertens J, Theunissen K, Verbeken E, Lagrou K, Verhaegen J, Boogaerts M, Eldere JV. Prospective clinical evaluation of lower cut-offs for galactomannan detection in adult neutropenic cancer patients and haematological stem cell transplant recipients. *Br J Haematol* 126:852–60, 2004
 - 23) Verweij PE, Erjavec Z, Sluiter W, Goessens W, Rozenberg-Arska M, Debets-Ossenkopp YJ, Guiot HF, Meis JF. Detection of antigen in sera of patients with invasive aspergillosis: intra- and interlaboratory reproducibility. The Dutch Interuniversity Working Party for Invasive Mycoses. *J Clin Microbiol* 36:1612–6, 1998
 - 24) Wheat LJ. Rapid diagnosis of invasive aspergillosis by antigen detection. *Transpl Infect Dis* 5:158–66, 2003
 - 25) Maertens J, Van Eldere J, Verhaegen J, Verbeken E, Verschakelen J, Boogaerts M. Use of circulating galactomannan screening for early diagnosis of invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients. *J Infect Dis* 186:1297–306, 2002
 - 26) Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Glas AS, Bossuyt PM, Kleijnen J. Sources of variation and bias in studies of diagnostic accuracy: a systematic review. *Ann Intern Med* 140:189–202, 2004
 - 27) De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, Pappas PG, Maertens J, Lortholary O, Kauffman CA, Denning DW, Patterson TF, Maschmeyer G, Bille J, Dismukes WE, Herbrecht R, Hope WW, Kibbler CC, Kullberg BJ, Marr KA, Muñoz P, Odds FC, Perfect JR, Restrepo A, Ruhnke M, Segal BH, Sobel JD, Sorrell TC, Viscoli C, Wingard JR, Zaoutis T, Bennett JE. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 46:1813–21, 2008