

매독항체 국가표준물질패널의 확립 및 다기관평가

Establishment and Multicenter Evaluation of a National Reference Panel for Syphilis Antibodies in Korea

허희진¹ · 채석래¹ · 오덕자² · 박규은³ · 임채승⁴ · 엄태현⁵ · 박윤미⁶ · 차영주⁷

Hee Jin Huh, M.D.¹, Seok Lae Chae, M.D.¹, Deok-Ja Oh, M.D.², Quehn Park, M.D.³, Chae Seung Lim, M.D.⁴, Tae Hyun Um, M.D.⁵, Yun Mi Park, M.D.⁶, Young Joo Cha, M.D.⁷

동국대학교 일산병원 진단검사의학과¹, 대한적십자사 중부혈액검사센터², 중앙대학교병원 진단검사의학과³, 고려대학교 구로병원 진단검사의학과⁴, 인제대학교 일산백병원 진단검사의학과⁵, 지멘스 헬스케어⁶, 중앙대학교 의과대학 진단검사의학교실⁷

Department of Laboratory Medicine¹, Dongguk University Ilsan Hospital, Goyang; KRC Jung-Bu Blood Laboratory Center², Daejeon; Department of Laboratory Medicine³, Chung-Ang University Hospital, Seoul; Department of Laboratory Medicine⁴, Korea University Guro Hospital, Seoul; Department of Laboratory Medicine⁵, Inje University Ilsan Paik Hospital, Goyang; Siemens Healthcare⁶, Seoul; Department of Laboratory Medicine⁷, Chung-Ang University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Establishment of a national reference panel for syphilis antibodies is necessary to evaluate the performance of in-vitro diagnostic tests for syphilis and to verify test quality. This study aimed to establish a national reference panel for syphilis antibodies, to assess the suitability of a panel for non-treponemal and treponemal testing, and to assess the reactivity of the various tests currently in use.

Methods: *Treponema pallidum* particle agglutination (TPPA)-positive and -negative fresh frozen plasma samples were obtained. After the fresh frozen plasma was converted to serum by defibrination, the samples were pooled. Two candidate reference standards containing no syphilis antibodies and 10 candidate reference standards containing syphilis antibodies were prepared on the basis of reactivity in the TPPA assay. Candidate reference standards were tested by three laboratories using five non-treponemal tests and four treponemal tests.

Results: All three laboratories reported positive non-treponemal test results for the mixed-titer performance panel (MP)/6-MP/12. MP/1, MP/2, and MP/3 were negative for non-treponemal tests. MP/4 and MP/5 were reported either as positive or negative according to the laboratories. All laboratories reported positive TPPA results for MP/3-MP/12 and negative results for MP/1 and MP/2. No significant difference was detected among the treponemal testing results in three laboratories.

Conclusions: We established 12 candidate national reference standards containing various concentrations of syphilis antibodies. A collaborative study using nine tests demonstrated that 12 candidate national reference standards presented consistent results, except a few assays with low sensitivity, and thus could be used as a national reference panel for syphilis antibody testing.

Key Words: Syphilis, National reference standard, Reference panel, Treponemal test, Non-treponemal test

서론

질병관리본부의 감염병 웹통계 자료에 의하면 1, 2기 매독은

Corresponding author: Young Joo Cha

Department of Laboratory Medicine, Chung-Ang University College of Medicine, 102 Heukseok-ro, Dongjak-gu, Seoul 156-755, Korea
Tel: +82-2-6299-2720, Fax: +82-2-6298-8630, E-mail: chayoung@cau.ac.kr

Received: November 22, 2012

Revision received: April 27, 2013

Accepted: April 27, 2013

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2014, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

2000년 이후 점차 증가하여 2008년 최고점이었고 점차 줄어 들고 있는 추세이지만, 선천매독은 여전히 지속적으로 보고되고 있다 [1]. 건강검진을 받은 20-59세 대상자를 분석한 매독의 이환율은 0.37%, 60세 이상의 대상자에서는 0.22%로 보고되어 있어, 많은 병원에서 매독환자의 진단뿐 아니라 공혈자검사와 침습적인 시술 전등에 매독검사를 시행하고 있다 [2, 3].

매독검사의 외부신빙도조사 현황에 의하면 비트레포네마검사 (non-treponemal test)에서는 rapid plasma reagin (RPR) 카드가 가장 많이 사용되고 있고, 전통적인 Venereal Disease Research Laboratory (VDRL)은 점차로 줄어 들고 있는 반면 자동화장비를 이용하는 면역비탁검사법(turbidimmunoassay, TIA)은 증가하고 있다 [4]. 국내에서 사용중인 RPR 카드의 제조사는 10곳이 넘고, TIA법 시약의 제조사도 3곳 이상이다. 트레포네마검사(treponemal tests)에서

는 *Treponemal pallidum* particle agglutination (TPPA) 및 *T. pallidum* hemagglutination assay (TPHA)의 이용은 감소 추세이고 신속검사인 면역크로마토그래피법(immunochromatography assay, ICA)과 자동화장비를 사용하는 TIA법의 이용이 증가하고 있다.

국내의 많은 병원들에서 이처럼 다양한 검사법의 매독검사 체외진단분석기용 시약을 이용하고 있으므로 검사방법에 따른 검사결과 표준화와 성능평가 및 품질관리를 위해서는 표준물질(reference standard)이 필요하다. WHO에서는 매독시약의 보정(calibration)을 위한 국제표준물질을 제공하고 있지만, 공급에 한계가 있어 국가표준물질의 확립을 권장하고 있다. 국가표준물질은 다기관에서 평가하고 국제표준물질의 활성도와의 비교 결과를 제시할 것을 권고하고 있다.

이에 본 연구에서는 매독항체 국가표준물질패널(national reference panel)을 확립하기 위해, 매독항체의 표준물질후보를 제조하고, 제조된 표준물질후보를 다기관에서 평가하여 비트레포네마 및 트레포네마 시약에 적용이 가능한 국가표준물질패널의 적합성을 검증하고, 다양한 시약을 이용하여 결과를 확인하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 표준물질의 원료물질

TPPA 검사 결과 양성이고 감염관련(HBsAg, anti-HCV, anti-HIV) 검사결과 음성을 보이는 신선동결혈장 및 성분채혈혈장 33단위와 TPPA 및 감염관련 검사결과 음성이지만 그 이외의 검사 결과로 인해 부적합 현혈혈액으로 판정된 신선동결혈장 5단위를 원료물질로 이용하였다. 본 연구는 중앙대학교 임상연구심의위원회(institutional review board)의 심의를 통과하였고, 대한적십자사 혈액원에서 학술연구를 위해서 신선동결혈장 및 성분채혈혈장을 제공받았다.

2. 표준물질후보의 제조

매독 음성 표준물질 2개와 다양한 TPPA 역가의 매독 양성 표준물질 10개를 제조하기 위해 원료물질인 신선동결혈장에 대해 Mediate RPR (Sekisui Chemical Co., Ltd, Osaka, Japan)과 TPPA (Fujirebio Inc., Tokyo, Japan) 검사를 시행하였다. TPPA 검사 결과를 기준으로 양성 표준물질후보와 음성 표준물질후보를 제조할 신선동결혈장 및 성분채혈혈장을 선별하였다. 총 용량이 약 150 mL인 신선동결혈장을 이용하여 총 300 mL 이상의 표준물질후보를 만들기 위해, TPPA 역가가 비슷한 신선동결혈장의 전환혈청을 3개씩 혼합하였다(Table 1).

혈청전환을 위해 원료물질 혈장에 CaCl₂를 첨가하였다. 교반기를 이용하여 4°C에서 저속으로 2시간 동안 잘 혼합하였다. 냉장실

Table 1. Results of TPPA and Mediate RPR for selected fresh frozen plasma

No. of selected fresh frozen plasma samples	TPPA (titer)	Mediate RPR (R.U.)	Code of national reference standard candidate
1	N	N	MP/1, MP/2
2	N	N	
3	N	N	
4	N	N	
5	N	N	
6	1:80	N	MP/3
7	1:80	N	
8	1:160	N	
9	1:320	2.6	MP/4
10	1:640	N	
11	1:640	1.0	MP/5
12	1:320	N	
13	1:1,280	24.0	MP/6
14	1:1,280	N	
15	1:1,280	1.8	MP/7*
16	1:640	1.4	
17	1:2,560	2.6	MP/8
18	1:2,560	96.0	
19	1:2,560	2.5	
20	1:10,240	64.0	MP/9
21	1:10,240	6.0	
22	1:5,120	2.8	
23	1:20,480	1.8	MP/10
24	1:10,240	6.8	
25	1:10,240	10.4	MP/11
26	1:20,480	25.6	
27	1:20,480	70.4	
28	1:20,480	27.2	MP/12
29	1:20,480	102.4	
30	1:20,480	2.1	
31	1:20,480	24.0	

*Spiking with fresh frozen plasma containing high titers of non-treponemal antibodies.

Abbreviations: MP, mixed titer performance panel; TPPA, *Treponemal pallidum* particle agglutination; RPR, rapid plasma reagin; N, negative.

에서 12-18시간 정치한 후 4°C, 2,500 g로 30분 원심분리 하고 상층을 분리하였다. 0.22 µL 미세공의 진공필터(500 mL Vacuum Filter/Storage system, Corning, Newyork, USA)로 여과하여 섬유소(fibrin)를 제거하였다. Bromidox를 넣고 4°C에서 저속으로 2시간 동안 잘 혼합한 혈청은 fibrinogen 음성을 확인하였다. 선별된 원료물질이 신선동결혈장인 경우는 전환혈청을 3개씩 혼합한 후 4°C에서 저속으로 12-18시간 동안 혼합하였다. 성분채혈혈장의 전환혈청 또는 3개의 신선동결혈장을 혼합한 전환혈청은 4°C, 2,500 g에서 30분 원심분리 한 후 상층을 분리하고 필터로 여과하였다. -20°C에서 냉동 후 4°C 냉장에서 정치하여 해동 후 4°C, 2,500 g에서 30분 원심분리하여 상층을 분리하였다. 필터로 여과 후 500 µL/vial씩

분병하여 표준물질후보를 제조하였다. 분병된 표준물질후보는 -70°C에 보관하였다.

3. 표준물질후보의 다기관평가

다기관평가를 위한 검사실로는 우수검사실 신입인증의 획득한 3개 검사실을 선별하였다. Mixed titer performance panel (MP)/1에서 MP/12까지로 코드화한 12개의 표준물질후보 2세트와 WHO 표준물질(WHO International Standard, 1st IS for human syphilitic plasma IgG and IgM, NIBSC code: 05/132)을 다기관평가 검사실에 우송하였다. 각 검사실에서는 국내에서 가장 많이 이용하는 5개의 비트리포네마검사 시약과 4개의 트리포네마검사 시약으로 검사를 시행하였다. 사용된 시약은 3종류의 RPR 카드(Asan Pharmaceutical Co., Ltd., Hwaseong, Korea; IVDLab Co., Ltd, Seoul, Korea; BD, Cayey, Puerto Rico), VDRL (BD, Grayson, USA), Mediace RPR, ICA (Standard Diagnostics, Inc., Yongin, Korea), TPPA, Mediace *T. pallidum* latex agglutination (Sekisui Chemical Co., Ltd, Osaka, Japan; TPLA) 및 CMIA (Abbott GmbH & Co.KG, Wiesbaden, Germany) 였다(Table 2). WHO 표준물질은 RPR 카드(Asan), Mediace RPR, TPPA 및 Mediace TPLA로 검사를 시행하였다.

다기관평가 검사실에서는 1세트에 대해 첫번째 검사일에 각 9개의 시약으로 2회 반복검사를 시행하고, 두번째 검사일에 2세트에 대해 두번 반복검사를 시행하였다. 역가로 표시되는 반정량검사는 최고희석배수를 최종 역가로 판정하였다. TPPA의 경우는 1:20,480 까지, RPR 카드와 VDRL의 경우 1:32까지 시행하였다. 정성검사는 음성 또는 양성으로 판정하였고 정성검사 중 수치화된 결과를 보여주는 경우는 그 결과를 이용하였다. 반정량검사의 2회 반복측정

결과가 일치하는 경우는 그 결과를 최종결과로 판단하였고 일치하지 않는 경우는 한번 더 검사를 시행하여 두번 일치하는 결과를 최종 결과로 판단하였다. 수치로 표시 가능한 검사는 2회 반복측정결과와 평균을 최종결과로 판단하였다.

결 과

MP/1, MP/2와 MP/3 표준물질후보는 모든 검사실의 비트리포네마검사 시약에서 음성 결과를 보였다(Tables 3, 4). MP/6에서 MP/12까지 표준물질후보는 모든 비트리포네마검사 시약에서 양성하였고, RPR 카드와 VDRL 결과는 한 단위 역가 이내의 차이를 보였다(Table 3). MP/4 표준물질후보는 한 검사실에서 두 개의 회사의 RPR 카드와 VDRL 음성이었고, 나머지 비트리포네마검사에서는 양성이었다. MP/5 표준물질후보는 두 검사실의 VDRL은 약양성이었지만, 그 외 비트리포네마검사에서는 음성을 보였다.

MP/1과 MP/2 음성 표준물질후보는 모든 검사실의 트리포네마 검사 시약에서 음성 결과를 보였다(Tables 5-7). MP/3-MP/12번 양성 표준물질후보의 TPPA 검사 결과는 한 단위 titer 이내의 차이를 보였다(Table 5). WHO 표준물질의 TPPA 결과와 비교하면 MP/3-MP/8은 WHO 표준물질보다 낮은 결과였고, MP/9와 MP/10은 비슷한 결과였고, MP/11과 MP/12는 높은 결과였다(Table 5). Mediace TPLA 정량결과와 표준물질후보 간의 결과순위는 검사실 간에 동일하였다(Table 6). MP/1-MP/4와 MP/6 표준물질후보의 ICA 검사 결과는 음성이었고 그 외 MP/5, MP7-MP/12는 양성이었다. MP/6 표준물질후보의 TPPA 결과는 MP/5번 표준물질후보 보다 높으나 Mediace TPLA 및 CMIA 결과는 MP/5 표준물질후보 보다 낮았다.

고 찰

매독진단의 혈청학적 방법은 선별검사 뿐만 아니라 확진검사로 이용되고 있다[5]. 비트리포네마검사는 경제적이고 간편하게 현증을 진단할 수 있기 때문에 통상적으로 선별검사로 이용되고, 트리포네마검사는 확진검사에 이용되었다[6]. 최근 미국에서는 면역효소측정법(enzyme immunoassay)을 기본으로 하는 민감도가 높은 트리포네마검사를 선별검사로 이용할 것을 제안하였고, 유럽에서도 트리포네마검사를 선별검사로 제안하고 있다[7, 8]. 국내에서는 병원의 상황에 맞는 매독진단 혈청학적 검사들을 이용하고 있는 실정으로, 정확한 매독의 진단을 위해서는 체외진단분석기용 시약들의 성능이 평가되고 품질이 관리 될 필요가 있다. 성능평가를 위해 WHO의 국제표준물질을 사용할 수 있지만, 고가이고 수량에 제한이 있어 시간적뿐만 아니라 경제적 어려움이 있다. WHO에서도 국제표준물질의 공급 제한성 때문에 국가표준물질을 만들

Table 2. Assays used in the multicenter study

	Method	Name of the test	Manufacturer, City, Country
Non-treponemal test	RPR card	Asan RPR Card Test	Asan Pharmaceutical Co., Ltd., Hwaseong-si, Korea
		LabSlide RPR Card Test	IVDLab Co., Ltd, Seoul, Korea
		Macro-Vue RPR Card Test	BD, Cayey, Puerto Rico
	VDRL	BD VDRL	BD, Grayson, USA
	TIA	Mediace RPR	Sekisui Chemical Co., Ltd, Osaka, Japan
Treponemal test	ICA	SD Syphilis	Standard Diagnostics, Inc., Yongin-si, Korea
	TPPA	Serodia-TPPA	Fujirebio Inc., Tokyo, Japan
	TIA	Mediace TPLA	Sekisui Chemical Co., Ltd, Osaka, Japan
	CMIA	Syphilis TP	Abbott GmbH & Co.KG, Wiesbaden, Germany

Abbreviations: RPR, rapid plasma reagin; VDRL, Venereal Disease Research Laboratory; TIA, turbidimetric assay; ICA, immunochromatography assay; TPPA, *Treponema pallidum* particle agglutination; CMIA, chemiluminescent microparticle immunoassay; TPLA, *T. pallidum* latex agglutination.

Table 3. Results of RPR card and VDRL

Method	Lab	Set	Results (titer)												WHO
			MP/1	MP/2	MP/3	MP/4	MP/5	MP/6	MP/7	MP/8	MP/9	MP/10	MP/11	MP/12	
RPR card (Asan)	1	1	N	N	N	1:1	N	1:8	1:4	1:8	1:16	1:4	1:16	1:16	1:8
		2	N	N	N	1:1	N	1:8	1:4	1:8	1:16	1:4	1:16	1:16	
	2	1	N	N	N	N	N	1:8	1:4	1:8	1:8	1:4	1:16	1:8	1:8
		2	N	N	N	N	N	1:8	1:4	1:8	1:8	1:4	1:16	1:8	
	3	1	N	N	N	1:2	N	1:8	1:4	1:8	1:16	1:4	1:16	1:16	1:8
		2	N	N	N	1:2	N	1:8	1:4	1:8	1:16	1:4	1:16	1:16	
RPR card (IVD lab)	1	1	N	N	N	1:1	N	1:8	1:4	1:8	1:16	1:4	1:16	1:16	
		2	N	N	N	1:1	N	1:8	1:4	1:8	1:16	1:4	1:16	1:16	
	2	1	N	N	N	N	N	1:8	1:4	1:8	1:8	1:4	1:16	1:8	
		2	N	N	N	N	N	1:8	1:4	1:8	1:8	1:4	1:16	1:8	
	3	1	N	N	N	1:2	N	1:8	1:4	1:8	1:8	1:4	1:16	1:8	
		2	N	N	N	1:2	N	1:8	1:4	1:8	1:8	1:4	1:16	1:8	
RPR card (BD)	1	1	N	N	N	1:1	N	1:8	1:4	1:8	1:16	1:4	1:16	1:16	
		2	N	N	N	1:1	N	1:8	1:4	1:8	1:16	1:4	1:16	1:16	
	2	1	N	N	N	1:1	N	1:8	1:4	1:8	1:16	1:4	1:16	1:16	
		2	N	N	N	1:1	N	1:8	1:4	1:8	1:16	1:4	1:16	1:16	
	3	1	N	N	N	1:2	N	1:8	1:4	1:8	1:8	1:4	1:16	1:8	
		2	N	N	N	1:2	N	1:8	1:4	1:8	1:8	1:4	1:16	1:8	
VDRL (BD)	1	1	N	N	N	1:1	WP	1:4	1:2	1:4	1:16	1:2	1:16	1:8	
		2	N	N	N	1:1	WP	1:4	1:2	1:8	1:32	1:2	1:16	1:8	
	2	1	N	N	N	N	N	1:4	1:2	1:4	1:16	1:2	1:16	1:8	
		2	N	N	N	N	N	1:4	1:2	1:4	1:16	1:2	1:16	1:8	
	3	1	N	N	N	WP	WP	1:4	1:2	1:4	1:16	1:2	1:8	1:8	
		2	N	N	N	WP	WP	1:4	1:2	1:8	1:16	1:4	1:16	1:8	

Abbreviations: RPR, rapid plasma reagin; MP, mixed titer performance panel; N, negative; VDRL, Venereal Disease Research Laboratory; WP, weak positive.

Table 4. Results of Mediace RPR (Sekisui)

Lab	Set	Results (R.U.)												WHO
		MP/1	MP/2	MP/3	MP/4	MP/5	MP/6	MP/7	MP/8	MP/9	MP/10	MP/11	MP/12	
1	1	N	N	N	1.8	N	19.2	3.0	28.0	9.2	3.4	28.0	28.0	5.2
	2	N	N	N	2.0	N	20.0	2.7	27.2	10.8	2.8	26.4	28.0	
2	1	N	N	N	2.0	N	20.0	3.6	25.0	9.3	3.4	21.4	19.6	5.1
	2	N	N	N	1.8	N	20.0	3.4	25.6	9.3	3.2	21.6	20.2	
3	1	N	N	N	1.4	N	18.4	3.3	25.6	10.4	3.1	27.2	22.4	9.2
	2	N	N	N	1.4	N	18.4	3.3	25.6	10.4	3.1	27.2	22.4	

Abbreviations: RPR, rapid plasma reagin card; MP, mixed titer performance panel; N, negative.

Table 5. Results of TPPA (Fujirebio)

Lab	Set	Results (titer)												WHO
		MP/1	MP/2	MP/3	MP/4	MP/5	MP/6	MP/7	MP/8	MP/9	MP/10	MP/11	MP/12	
1	1	N	N	1:80	1:320	1:320	1:1280	1:1280	1:2560	1:10240	1:10240	1:20480	1:20480	1:10240
	2	N	N	1:80	1:320	1:320	1:1280	1:1280	1:2560	1:5120	1:5120	1:20480	1:20480	
2	1	N	N	1:80	1:320	1:640	1:1280	1:1280	1:2560	1:10240	1:10240	1:20480	1:20480	1:10240
	2	N	N	1:80	1:320	1:640	1:1280	1:1280	1:2560	1:10240	1:10240	1:20480	1:20480	
3	1	N	N	1:80	1:320	1:640	1:1280	1:1280	1:2560	1:5120	1:5120	1:10240	1:20480	1:5120
	2	N	N	1:80	1:320	1:640	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:5120	1:10240	1:20480	

Abbreviations: TPPA, *Treponema pallidum* particle agglutination; MP, mixed titer performance panel; N, negative.

Table 6. Results of Mediac TPLA (Sekisui)

Lab	Set	Results (T.U.)												WHO
		MP/1	MP/2	MP/3	MP/4	MP/5	MP/6	MP/7	MP/8	MP/9	MP/10	MP/11	MP/12	
1	1	N	N	47.5	82.0	134.5	105.5	320.0	540.0	1016	1272.0	3984.0	4880.0	2472.0
	2	N	N	45.5	84.5	131.5	104.0	308.0	508.0	1012	1280.0	4112.0	4912.0	
2	1	N	N	44.5	71.5	133.5	106.5	298.0	498.0	980.0	1188.0	3632.0	4976.0	2448.0
	2	N	N	45.5	69.5	134.5	96.0	330.0	520.0	988.0	1308.0	3840.0	5056.0	
3	1	N	N	45.0	85.0	142.5	100.0	322.0	502.0	980.0	1244.0	4096	4512.0	2264.0
	2	N	N	42.0	79.0	136.5	94.0	284.0	470.0	968.0	1180.0	3880.0	4144.0	

Abbreviations: TPLA, *T. pallidum* latex agglutination; MP, mixed titer performance panel; N, negative.

Table 7. Results of CMIA (Abbott)

Lab	Set	Results (S/CO)											
		MP/1	MP/2	MP/3	MP/4	MP/5	MP/6	MP/7	MP/8	MP/9	MP/10	MP/11	MP/12
1	1	N	N	1.2	2.6	13.8	8.8	25.3	22.6	29.8	29.4	33.0	32.7
	2	N	N	1.3	2.8	14.3	9.4	25.2	22.2	28.9	29.2	32.8	33.3
2	1	N	N	1.1	1.5	10.0	5.7	19.7	15.5	24.8	24.8	31.0	30.4
	2	N	N	1.1	2.1	12.5	7.1	22.7	18.3	27.4	26.9	31.4	31.8
3	1	N	N	1.3	2.8	14.2	9.4	24.0	22.6	29.5	29.0	33.0	33.9
	2	N	N	1.2	2.8	13.5	9.1	25.1	22.1	30.0	29.7	33.0	33.7

Abbreviations: CMIA, chemiluminescent microparticle immunoassay; MP, mixed titer performance panel; N, negative.

것을 권고하고 있다[9].

기준에 이용되고 있는 시약 중 일부는 검사가능 검체로 혈장을 제시하고 있지만 대부분은 혈청을 이용하여 검사가 진행된다. 특히 비트레포네마검사 중 대표적인 VDRL은 검사과정 중 비동화가 포함되어 있어, 혈장의 비동화과정에서 섬유소가 형성되고 이는 검사 결과 위양성의 원인이 된다[10]. 이러한 이유로 다양한 검사에 적용되기 위해서는 혈청으로 제조된 표준물질이 필요하지만, 매독 항체 양성 혈청을 원료물질로 이용하기 위해서는 매독환자에게서 혈청을 기증받아야 하는 현실적인 어려움이 있다. 적십자사 혈액원에서는 헌혈 후 매독검사 양성인 혈액을 폐기하고 있기 때문에 폐기되는 신선동결혈장을 이용하면 비교적 쉽게 매독양성 혈장을 얻을 수 있었다. 연구자들은 신선동결혈장을 표준물질의 원료로 사용하기 위해서 CaCl₂를 이용한 혈장의 혈청전환을 시행하였다. 이때, CaCl₂, 트롬빈 및 카오린을 이용한 섬유소제거(defibrination) 과정을 거쳐 VDRL의 위양성을 없앤 보고를 참조하였다[11].

MP/6에서 MP/12까지 표준물질 후보는 모든 비트레포네마검사 시약에서 양성되었고, RPR 카드와 VDRL 결과는 한 단위 역가 이내의 차이를 보여 검사실간에 일치율이 높았다. 그러나 MP/4와 MP/5 표준물질 후보의 RPR 카드와 VDRL 검사는 검사실 또는 시약마다 결과의 차이를 보여 양성인 경우도 있고 음성인 경우도 있었다. 비트레포네마검사는 판독자에 따른 차이가 있을 수 있고 특히 경험이 적은 경우 약양성과 음성을 감별하기 어려운 문제가 있다[4]. 한 검사실에서 음성결과가 많았고 시약마다 차이를 보여, 판독이나 일부 시약의 낮은 민감도가 차이의 원인인 것으로 판단되

고 표준물질 후보의 문제는 아닌 것으로 생각된다. 매독의 외부인 병도 조사에 사용되는 물질의 경우도 항체가 매우 낮으면 검사의 정확도가 낮아지는 것으로 보고된 바 있으므로[12], 낮은 농도의 비트레포네마 항체를 함유한 MP/4와 MP/5를 시약의 성능평가 등에 이용할 때 이점을 고려해야 할 것이다.

MP/3-MP/12번 양성 표준물질 후보의 TPPA 검사 결과는 한 단위 역가 이내의 차이를 보였다. MP/3, MP/4와 MP/6 양성 표준물질 후보의 ICA 검사 결과는 음성이었다. ICA 검사의 민감도는 이용된 시약에 따라 93.6%로 높게 보고한 연구도 있지만, TPPA 또는 TPHA 결과와 비교하여 67.4-100%로 다양하게 보고 되고 있으므로 본 평가에 사용된 시약의 민감도가 TPPA 보다 낮은 것이 차이의 원인으로 생각된다[13, 14].

MP/6 표준물질 후보의 TPPA 결과는 MP/5 표준물질 후보 보다 높으나 Mediac TPLA 및 CMIA 결과는 MP/5 표준물질 후보 보다 낮았다. TPPA와 비슷한 검사법인 TPHA 역가와 CMIA법의 S/CO 수치 간에는 상관관계를 보인다고 보고되어 있지만, TPHA 역가가 높은 검체의 S/CO값이 TPHA 역가가 낮은 검체의 S/CO보다 항상 높은 것은 아니었다[15]. WHO 국제표준물질 중 매독 IgG 항체 양성인 국제표준물질의 항체가는 TPPA 결과를 기준으로 결정되었다[16]. MP/5 표준물질이 MP/6 보다 낮은 매독항체를 함유하고 있을 가능성이 있으나, 본 연구의 표준물질 후보의 결과는 WHO 국제표준물질 평가에서와 동일하게 TPPA 검사를 기준으로 하였다. 본 연구에서 제조한 표준물질 후보는 WHO 국제표준물질의 활성도와 비교한 international unit (IU)로 제시되지 못했고 매독항체

를 IgG와 IgM으로 구분하여 제시되지 못한 단점이 있다. 추후 제조되는 국가표준물질은 정량값을 IU로 제시하고자 하는 노력이 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로, TPPA 검사 결과를 기준으로 2개의 음성 표준물질 후보와 10개의 다양한 농도의 양성 표준물질후보를 제조하였다. 다기관평가를 통해 표준물질후보의 TPPA 결과는 한 역가 이내의 차이를 보임을 확인하였고 다른 트레포네마검사의 결과도 동일함을 확인하여 표준물질후보는 매독항체 국가표준물질패널로 적합하였다. 매독항체 국가표준물질패널의 확립으로 체외진단분석기용 시약의 허가등을 위한 성능평가 및 유효성 검증에 공인된 물질을 기존보다 쉽게 이용할 수 있게 되었고, 궁극적으로는 매독진단의 정확성이 증가할 것으로 기대된다.

요 약

배경: 매독진단에 이용되는 다양한 체외진단분석기용 시약의 성능평가와 품질관리를 위해 매독항체 국가표준물질패널의 필요성이 대두되었다. 이에 저자들은 매독항체 국가표준물질패널을 확립하기 위해, 표준물질후보를 제조하고, 제조된 표준물질후보를 다기관에서 평가하여 비트레포네마 및 트레보네마 시약에 적용이 가능한 표준물질로서의 적합성을 검증하고, 다양한 시약에서의 결과를 확인하고자 하였다.

방법: 대한적십자사 혈액원에서 제공받은 *Treponemal pallidum* particle agglutination (TPPA) 결과 양성인 신선동결혈장과 음성인 신선동결혈장을 원료물질로 이용하였다. 신선동결혈장의 섬유소를 제거하여 혈청전환을 한 후, 만들어진 혈청을 혼합하였다. TPPA 검사를 기준으로 2개의 음성표준물질후보와 10개의 양성표준물질후보를 제조하였다. 표준물질후보는 3개의 검사실에서 국내에서 가장 많이 이용하는 5개의 비트레포네마검사 시약과 4개의 트레포네마검사 시약에 대해 검사를 시행하였다.

결과: Mixed titer performance panel (MP)/6-MP/12의 비트레포네마검사는 모든 검사실에서 양성하였고, MP/1, MP/2 및 MP/3는 음성이었다. MP/4와 MP/5는 검사실에 따라 양성 또는 음성의 다양한 결과를 보였다. MP/1과 MP/2 표준물질후보는 모든 검사실의 TPPA 검사에서 음성 결과를 보였고, MP/3-MP/12는 양성을 보였다. 트레보네마검사 결과는 세 곳의 검사실 사이에 차이가 없었다.

결론: 다양한 농도의 매독항체를 함유한 12개의 국가표준물질후보를 제조하였다. 다기관평가를 통해 다양한 시약으로 검사한 12개의 국가표준물질후보의 결과는 일부 민감도가 낮은 시약에서의 결과를 제외하고는 일정하여, 매독항체 국가표준물질패널로서 적합함을 확인하였다.

감사의 글

이 연구는 2011년 식품의약품안전청 용역연구개발과제(11122기 타사811)의 지원에 의해 이루어졌음.

REFERENCES

1. Korean Centers for Disease Control and Prevention. Disease web statistics system. <http://www.cdc.go.kr/kcdchome/jsp/observation/stat/sub-main/subMain.jsp?pageNum=1&sub=3> (Updated on Aug 2012).
2. Choe HS, Lee DS, Lee SJ, Lee CB, Lee WC, Cho YH. Prevalence of sexually transmitted infections and sexual behavior of young adults and middle-aged people presenting to health examination centers in Korea. *J Infect Chemother* 2012;18:207-12.
3. Choe HS, Lee SJ, Kim CS, Cho YH. Prevalence of sexually transmitted infections and the sexual behavior of elderly people presenting to health examination centers in Korea. *J Infect Chemother* 2011;17:456-61.
4. Song EY, Yang JS, Chae SL, Kim S, Choi YS, Cha YJ. Current status of external quality assessment of syphilis test in Korea. *Korean J Lab Med* 2008;28:207-13.
5. Clyne B and Jerrard DA. Syphilis testing. *J Emerg Med* 2000;18:361-7.
6. Choi KC and Song JY. Recent trends in clinical observation of syphilis and consideration for laboratory tests. *J Korean Med Assoc* 2009;52:1100-6.
7. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Discordant results from reverse sequence syphilis screening-five laboratories, United States, 2006-2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60:133-7.
8. French P, Gomberg M, Janier M, Schmidt B, van Voorst Vader P, Young H. IUSTI: 2008 European guidelines on the management of syphilis. *Int J STD AIDS* 2009;20:300-9.
9. World Health Organization. Recommendations for the preparation, characterization and establishment of international and other biological reference standards (revised 2004). http://www.who.int/entity/bloodproducts/publications/TRS932Annex2_Inter_biologstandard-srev2004.pdf (Updated on Aug 2012).
10. Potkin-Posadskii VA. Defibrination of blood plasma for obtaining hemagglutinating sera. *Probl Gematol Pereliv Krovi* 1970;15:48-9.
11. Castro AR, Kikkert SE, Fears MB, Pope V. Defibrination of blood plasma for use in serological tests for syphilis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002;9:1376-8.
12. Müller I, Brade V, Hagedorn HJ, Straube E, Schörner C, Frosch M, et al. Is serological testing a reliable tool in laboratory diagnosis of syphilis?

- Meta-analysis of eight external quality control surveys performed by the german infection serology proficiency testing program. *J Clin Microbiol* 2006;44:1335-41.
13. Mabey D, Peeling RW, Ballard R, Benzaken AS, Galbán E, Changalucha J, et al. Prospective, multi-centre clinic-based evaluation of four rapid diagnostic tests for syphilis. *Sex Transm Infect* 2006;82(S5):v13-6.
 14. Sato NS, de Melo CS, Zerbini LC, Silveira EP, Fagundes LJ, Ueda M. Assessment of the rapid test based on an immunochromatography technique for detecting anti-Treponema pallidum antibodies. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2003;45:319-22.
 15. Kim JY, Kim WH, Cho CH, Kim JY, Kim GY, Nam MH, et al. Evaluation of automated architect syphilis TP as a diagnostic laboratory screening test for syphilis. *Korean J Lab Med* 2008;28:475-82.
 16. Rigsby P, Ison C, Brierley M, Ballard R, Hagedorn HJ, Lewis DA, et al. Evaluation of two human plasma pools as candidate international standard preparations for syphilitic antibodies. *Biologicals* 2009;37: 245-51.