

□ 원 저 □

결핵균 분비항원을 이용한 결핵의 혈청학적 진단 방법에 대한 평가

결핵연구원

배길한, 박은미, 김상재

= Abstract =

Evaluation of a Serodiagnostic Method for Tuberculosis by Using Secreted Protein Antigens of *Mycobacterium Tuberculosis*

Gill-Han Bai, Eun-Mi Park, and Sang-Jae Kim

Korean Institute of Tuberculosis

The Korean National Tuberculosis Association

Background : An immunochromatographic assay (ICT Diagnostics) which facilitates the diagnosis of tuberculosis(TB) by detecting serum antibodies mainly directed against specific 38KDa of *Mycobacterium tuberculosis* has come into the market. The test consists of a cardboard folding device containing nitrocellulose strip and absorbent pads. The whole procedure is completed within 15 min and does not require any additional equipment. The test has been reported to be sensitive and specific in diagnosing active TB. Thus the test had been evaluated with sera from TB patients and TB-free subjects.

Method : Sera from patients with active pulmonary tuberculosis(40 sputum positives for *Mycobacterium tuberculosis*, 79 sputum negatives, and 3 extrapulmonary tuberculosis) were obtained from the Double-Cross Chest Clinic of the Korean National Tuberculosis Association (KNTA) in Seoul. The control group consisted of TB-free 68 subjects(21 children under 7 years old and 47 healthy staff members of KNTA).

Results : Nine out of 68(13.2%) TB-free controls had positive antibody response. Total 106 of 122(86.9%) radiologically active patients had positive antibodies while 16 (13.1%) showed negative reaction.

[†]이 연구는 1999년도 결핵연구원 임상용역비의 지원에 의해 이루어 졌음.

Address for correspondence :

Gill-Han Bai, Ph.D.

Department of Microbiology, Korean Institute of Tuberculosis

14 Woomyun-dong, Socho-gu, Seoul 137-140, Korea

Phone : 02-576-4981 Fax : 02-573-1914 E-mail : baigh@knta.or.kr

Antibody was detected in 38 of 40(95.0%) sputum positive patients and 68 of 82(82.9%) sputum negative patients who were under the antituberculosis chemotherapy.

The sensitivity and specificity were all 87% and the positive predictive value was 92.2% while the negative predictive value was 78.7%, when the prevalence of TB in the sample was 64.2%.

Our results clearly show that the detection of antibodies which mainly react with the 38KDa antigen of *M. tuberculosis* is not suitable as the first-line method of diagnosis but considered only as an adjunctive test to standard techniques of tuberculosis diagnosis, when considering its high false positivity. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2000, 48 : 315-323)

Key words : *M. tuberculosis*, Serodiagnosis, 38KDa.

서 론

결핵의 원인이 되는 *M. tuberculosis*의 단백질 성분에 관한 연구는 Robert Koch가 결핵균을 발견한 이래 지속되어온 중요 연구 대상이었다. 그 이유는 결핵균의 대사과정과 효소체계를 규명하여야만 미생물의 생리 자체에 대한 이해가 가능해지기 때문이며, 또 사람이나 동물의 면역계와 관련된 결핵균의 조성 성분별 상관 관계를 밝히게 되면 결핵 발병 예방용 항원을 찾아내거나 이를 피부반응검사나 혈청검사에 유용한 진단용 표지로 활용할 수 있을 것이라 기대 때문이었다.

균종별로 특이성이 높은 피부 반응용 또는 혈청학적 진단용 표지로서의 항원을 개발하려는 초기 연구에서는 가열처리 하지 않은 *M. tuberculosis*의 배양여액이나 sonicate를 토끼나 염소의 면역혈청(polyclonal antibodies)을 이용하여 전기영동으로 확인해내는 방법을 사용하였다. 이때 사용된 1차원 전기영동법으로는 11개 정도의 중요 침전물(precipitate)을 얻을 수 있었고, 더 진전된 소위 교차면역전기영동법(crossed-immunoelectrophoresis=CIE)을 이용하였을 때는 약 36개에 이르는 침전물을 얻기도 하였다¹. Nagai 등은 이러한 생화학적 방법을 이용하여 발육 중에 있는 mycobacteria로부터 분리되는 중요 결핵균 단백질항원 성분을 순수하게 분리해내는데 성공하기도 했다^{2,3}. 근래 들어서는 고유단백성분을 acylation⁴이나 glycosylation 등⁵에 의해 변형된 형태로 얻기도 하였다. 특히 단일클론성항체(Mab, monoclonal

antibody)에 의한 단백질별 단일 epitopes내 인식 및 결합 부위의 확인이 가능해지면서부터는 획기적인 단백질정제기술의 발전(affinity purification)이 이루어졌고, Lambda gt11 vector를 이용한 *M. tuberculosis* 및 *M. leprae* DNA expression libraries의 구축 등, DNA 수준에서의 mycobacteria 유전자 및 그 산물에 대한 연구 등이 계속 이어졌다⁶. 그 결과, 50 여개 이상의 mycobacteria 단백질항원 성분이 항목별로 정리되었고, 많은 항원 성분에 대한 염기서열이 확인되었다⁷.

그 중에서 혈청학적 진단을 목적으로 진행된 연구에서는 38KDa 항원이 주요 대상이 되었으며⁸, 38KDa 항원을 포함한 특성이 다른 여러 개의 항원을 조합하여 Western blot분석기법⁹을 실시하여, 뇌막염이나 폐외결핵환자 등의 조기 진단에 활용하려는 연구 개발이 이어졌다.

마침, 38KDa 항원을 포함한 여러 mycobacteria 항원 성분을 조합하여 간편하게 쓸 수 있도록 kit화한 제품이 국내외적으로 사용되고 있기에, 이를 이용하여 혈청학적 결핵 진단의 효용성을 평가해보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

1) 정상 대조군 :

튜베르쿨린(Tuberculin PPD RT23, 1TU) 반응 양

성(경결 크기가 10mm 이상)이나 결핵이 없는 20세 이상 55세 이하의 건강한 대한결핵협회 직원 47명 및 튜베르쿨린 반응 음성이며 결핵이 없는 것으로 판명된 7세 이하의 아동(서울 시내 일개 대학병원 소아과에 내원한 아동) 21명등, 총 68명이 대상 대조군으로 사용되었다.

2. 환자 대상군:

대한결핵협회 복심자 의원에서 치료 중에 있던, 정상 대조군에서와 같은 20-55세 사이의 환자들을 대상으로 하였다. 연구 수행 당시에 결핵균이 검출되던 환자 40명과, 3개월 이상의 치료력이 있었고 내원 당시에는 균양성이었으나 혈청 검사를 위한 채혈 시점에서는 결핵균이 검출되지 않고 있던 환자 79명 및 역시 균음성으로 치료 중에 있던 폐외결핵환자(병리조직학적으로 진단된 결핵성 흉막염 환자) 3명등, 총 122명의 결핵환자를 대상으로 하였다.

2. 시험방법

정상 대조군 및 환자 대상군으로부터 채혈, 분리된 혈청으로 항원항체반응 실험을 실시하였다. 반응시킬 항원은 kit화된 card(ICT Diagnostics, Balgowlah,

Australia)를 이용하였다.

시험과정은 다음과 같았다.

1) Test card를 개봉하여 표면에 평면으로 놓고, 시액 A (PBS-based wash buffer)를 왼쪽의 적/백색 conjugate pad의 백색 부위에 2 방울씩 떨어뜨렸다.

2) 30 μ l의 표본(혈청)을 청색 pad 위에 놓고 표본이 한계선까지 이동할 때까지 기다렸다.

3) 시액 A를 오른쪽 백색 pad에 한 방울 떨어뜨린 후 card를 덮고 창을 통해 결과를 판독하였다. colloidal gold particle에 부착해 있는 anti-human immunoglobulin G (IgG)와 시험 표본 내 존재하는 IgG가 결합하여 1개 이상의 pink대를 형성할 때를 양성으로, pink대가 한 개도 없으면 항체가 없는 것으로(음성) 판정하였다.

연구결과

1. 정상 대조군 시험

Table 1에서 보는 바와 같이 68명의 결핵이 없는 대상자에 대한 ICT 시험 결과, 13.2% (9명)는 양성자로, 86.8% (59명)는 음성자로 나타났다. 7세 이

Table 1. Results of ICT-TB tests for normal(TB-free) subjects

Subjects	Numbers tested	ICT	
		Positive	Negative
TB-free children under 7 years old (Tuberculin PPD RT23 1TU, negative)	21 (100.0)	1(4.8)	20 (95.2)
TB-free healthy adults			
Male	33 (100.0)	4 (12.1)	29 (87.9)
Female	14 (100.0)	4 (28.6)	10 (71.4)
Subtotal	47 (100.0)	8 (17.0)	39 (83.0)
Total	68 (100.0)	9 (13.2)	59 (86.8)

() = %

Table 2. Results of ICT-TB performances on tuberculosis patients

Subjects	No. tested	ICT performances	
		Positive	Negative
Bacteriologically proven PTB	40 (100.0)	38 (95.0)	2 (5.0)
Radiologically active/ bacteriologically negative PTB	79 (100.0)	67 (84.8)	12 (15.2)
Bacteriologically negative/ extrapulmonary TB(pleurisy)	3 (100.0)	1 (33.3)	2 (66.7)
Total	122 (100.0)	106 (86.9)	16 (13.1)

() = %

하의 결핵 없는 어린이들에서도 4.8%가 양성반응을 보였다. 건강 남성에서는 12.1%가, 여성에서는 28.6%가 양성반응을 나타내었으나, 남녀간 차이가 통계적으로 유의하지는 않았다($P=0.1676$).

2. 결핵 환자군에 대한 ICT 반응시험

도말 또는 배양검사에서 균이 검출 (도말과 배양검사에서 동시에 양성인자 36명과 배양만 양성인자 4명이 포함)되던 40명, 흉부방사선 검사 결과 결핵병소를 가지고 있었으나 ICT 검사 당시에는 균이 검출되지 않던 치료 중의 폐결핵환자 79명과 폐외결핵환자 (흉막염) 3명등, 총 122명을 대상으로 ICT 검사를 한 결과는 Table 2에서와 같다.

1) 균양성 폐결핵 환자에 대한 ICT 검사 결과

검사된 40명 중 38명(95.0%)은 양성반응을 보였으나 2명 (5.0%)은 음성으로 나타났다. 이들은 검사 당시 모두 결핵 치료를 받고 있는 환자들이었으며, 튜베르쿨린반응 검사는 실시되지 않았다.

2) 균음성 폐결핵 환자에 대한 ICT 검사 결과

시험된 79명의 대상자들 중 15.2% (12명)는 음성

반응을 보였으나, 나머지 (67명, 84.8%)는 양성반응을 나타내었다. 균양성자와 균음성자간의 ICT 반응 양성률에는 통계적으로 유의한 차가 없었다($P=0.1118$). 이 대상 환자들에 대해서도 튜베르쿨린 반응검사는 실시되지 않았다. 시험 당시 균음성인 상태에서 치료를 계속 중이었던 이들은 치료 개시 시점에서는 모두 균양성인 환자들이었다. 한편 결핵성 흉막염 환자 3명 중에서는 1명만이 ICT 양성반응을 보였다.

고 찰

결핵을 혈청학적으로 진단해보고자 하는 목적으로, 종래부터 여러 종류의 항원들이 검토되어 왔다. 그 중에서, 혈청학적 진단에 주로 사용되는 항원들로서는 38KDa, 19KDa, 16KDa 단백질등¹⁰⁾이며, 이들은 현저한 면역원성을 가진 것으로 알려져 왔다. 항체의 측정은 MAb와 ELISA기법을 주로 이용해왔지만¹¹⁾, 환자 여건에 따라 항체 발현 양상은 매우 다양하였다. 예를 들면, 38KDa 항체량은 균이 많이 나오는 결핵 환자에게서 상승되는 경향인 반면, hsp71에 대한 항체는 객담도말 음성인 폐결핵 환자에서도 동일하게 검출되었다. 또 16KDa 항원에 대한 항체는 오랫동안

환자가족에게 노출된 접촉자들에서 선택적으로 증가된다거나¹², 결핵성뇌막염을 가진 환자의 뇌척수액에서 높게 검출된다고도 했다¹³. 또 38KDa 항원에 대한 항체가가 높고 16KDa 항원에 대한 항체가가 낮은 환자 중에는 재발환자가 많고 광범위한 방사선적 폐결핵 소견을 가지고 있으며 예후가 불량한 경우가 많았다고도 했다. 그리고 공동이 많지 않은 환자에서 19KDa 항체가가 높았다는 보고도 있으며, 치료 중 균이 양전되는 경우 16KDa -TB68 epitope 항체가가 상승한다고도 하였다. 한편, 19KDa 항원은 *M. avium*과의 교차반응이 있다¹⁴고 했으며, 16KDa 항원은 환자는 아니나 이미 감염된자에게서도 높은 수준으로 검출될 수 있다고 하였다. 또 30-32KDa의 fibronectin-binding 단백질은 다른 mycobacteria 균종 감염시에도 교차반응을 일으키며, 결핵환자의 2/3와 나중나(lepromatous leprosy) 환자에게서 흔히 반응을 나타낸다고 하였다¹⁵. 또 hsp71에 대한 반응은 균이 잘 검출되지 않는 결핵환자에게서 나타나기도 하는데, 균의 세포 내 증식의 결과라고 하였다.

38KDa의 유전자는 *M. tuberculosis* 외에 *M. bovis* BCG도 함유하고 있으나 BCG는 결핵균 항원량의 1/10에 불과하다는 보고도 있다¹⁶. 그렇기 때문에 BCG 예방접종으로 인한 38KDa 항원에 대한 항체 수준은 높게 나타나지 않으며, 숙주 체내에서 활발한 증식이 일어나서 임상적 수준에 도달할 정도의 감염이 없다면 항체의 체내 순환이 오랫동안 지속되지도 않는 것으로 보고 되고 있다. 그러므로 BCG를 접종 받은 건강 성인등에서는 검출되지 않으므로 결핵 환자의 진단 목적으로 활용함에 문제가 없는 것으로 인식되어 있다.

기본적으로 결핵에서는 T 림파구가 중요한 면역기능을 수행하고 있기 때문에, B-cell 면역원성을 중심으로 선정되었거나 이를 진단용 수단으로 사용시는, 관련 항원의 발현과 그 항원의 특성에 대해 논란이 따를 수밖에 없으며, 또 AIDS에서 처럼 면역 반응이 문제시되는 환자에서도 양성 검출력은 현저히 저하될 것이다. 그럼에도 도말음성인 결핵환자나 폐외결핵환

자의 신속한 진단을 위해서 혈청학적 진단방법이 보완적 대안으로 제시되고 있다.

본 연구에서 사용된 ICT는, 유전자 재조합으로 제작된 단백항원으로서 주항원이 38KDa임은 알려져 있으나, 함께 사용되고 있는 다른 항원에 대해서는 결핵균 분비항원이라는 것 외에는 구체적으로 밝혀져 있지 않았기 때문에, 본 시험에서는 항원별 특성 비교는 불가능하였다.

이 ICT 항원은 38KDa 항원을 포함한 5개의 분비항원들이 4줄로 나뉘어 blotting 되어 있으며, goat anti-human IgG가 40nm의 gold particle에 conjugation 되어 있다. 시험된 표본혈청이 항원이 결합되어 있는 nitrocellulose strip 위로 이동하여 항원항체간 결합이 생기고, 이어서 conjugate와도 부착하여 발색반응을 나타낸다. 이 제품의 민감도는 항원항체 결합이 일어나는 결합조건에 기인한다고 설명되고 있다¹⁷. 즉, ELISA를 이용하는 기법에서는 항원항체간 상호작용이 incubation에 의존하지만, 이 방법에서는 표본 내에 존재하는 항체가 항원선(line)을 신속히 통과하면서 고도의 친화성 결합(affinity binding)을 이루게 되므로, 항원에 대한 비특이 IgG 결합도 줄어들게 된다고 한다. 따라서, 별다른 기술 훈련 없이 아주 간편하게 사용될 수 있으며 신속하게 결과를 얻을 수 있다. Cole¹⁷ 및 Zhou¹⁸ 등에 따르면, 폐결핵환자에서의 ICT에 의한 대체적 민감도는 70-92%, 특이도는 92-93% 수준이며, 폐외결핵에서는 민감도가 76%, 특이도가 92%로 보고하였다. 또 Grobusch 등의 보고¹⁹에서는 특이도가 100%, 민감도는 50%로 보고하여 시험시 사용된 표본에 따라 평가 결과가 다양하다. 본 시험 결과로부터, ICT 검사용 시험 표본 중 결핵환자의 유병률이 64% (190명 중 122명이 결핵환자인 경우)라는 확률의 전제가 있을 때, 결핵환자가 아닌 자가 결핵환자로 나올 위양성률과, 결핵환자임에도 환자가 아닌 것으로 나올 위음성률은 각각 13%이고 (Table 3), 민감도와 특이도도 같은 87%이며, 양성예측률(positive predictive value)은 92.2%였다.

Table 3. Sensitivity and Specificity of ICT-TB

ICT results	Radiologically active TB			Non-TB			Total
	Sputum pos.	Sputum neg.	Subtotal	Adult	Children	Subtotal	
Positive	38	68	106	8	1	9	115
Negative	2	14	16	39	20	59	75
Total	40	82	122	47	21	68	190

pos.=positive cases, neg.=negative cases

Total sensitivity= $106/122 \times 100 = 86.9\%$

Total specificity= $59/68 \times 100 = 86.8\%$

Total positive predictive value= $106/115 \times 100 = 92.2\%$ (with prevalence of TB of 64.2%)

만일, 균양성인 결핵환자 40명만을 진짜 결핵 환자라고 간주하고서 대조군 68명과 비교한다면, 이 표본의 결핵유병률은 37.0%이며, 이 때 ICT의 민감도는, 비록 통계적으로 유의한 차이를 가진 것은 아니나 ($P>0.05$), 87%에서 95%로 상승하고, 반대로 양성예측률은 80.9%로 저하한다. 본 시험에 포함된 대조군 건강 성인들은 모두 튜베르쿨린 양성 반응자들이었으므로, 튜베르쿨린 반응 음성으로서 건강한 성인 대조군에 대한 ICT 반응의 비교는 현실적으로 거의 불가능하였기에, 튜베르쿨린 음성인 아동들에 대한 ICT 반응 결과를 포함시켜보았다. 시험 결과, 특이도는 건강 성인에서 83.0%, 결핵없는 아동에서 95.2%로 나타나, 통계적으로 유의한 차가 있지는 않았다 ($P=0.2006$). 따라서 건강 성인과 아동들을 함께 결핵없는 대조군으로 사용하였다. 그러나 연령에 따른 면역반응이 다양하게 나타나는 점을 고려하여, 7세 이하의 아동들을 제외한 20세 이상인 건강 성인과 균양성인 환자군간의 ICT 시험 결과만을 비교하여보았지만, 이때 결핵의 유병률은 46.0%로, ICT검사의 민감도는 95.0%, 특이도는 83.0%, 양성예측률은 82.6%로, 균음성인 환자 및 결핵없는 아동까지 모두 포함해서 비교한 ICT 결과와 유의한 차이를 나타내지는 않았다 ($P>0.05$).

Bayes의 정리에 의하면²⁰ ICT의 진단능력 (diagnosability)은 유병률에 따라서 크게 달라지는 것이므로, 예를 들어 어떤 병의원의 호흡기 내과에 찾

아온 자 중 결핵으로 확진되는 환자가 10% 범위라면, 본 연구 결과를 기준으로 할 때, ICT에만 의존하여 결핵 진단이 맞을 확률은 약 43%에 불과하다. 이는 주로 ICT 검사의 위양성률이 높음에 기인하는 것으로, ICT를 결핵 진단에 적용할 때, 매우 신중을 기해야 함을 의미한다. 최근에 우리나라 사람들을 대상으로 결핵의 혈청학적 진단을 평가하였던 연구 결과들도, 장 등²¹은 미생물학적 확진 여부의 구분없이 임상적 진단만을 기준하였을 때, ICT 검사의 민감도가 73%, 특이도는 92%로, 위양성률은 7.8%, 위음성률은 20.6%로 보고하였고, 김 등²²은 ELISA 기법을 활용하였는데, 38KDa 항원에 의한 혈청학적 진단의 민감도는 70%, 특이도는 94%였고, 38KDa과 16KDa을 조합시는 민감도가 87%, 특이도가 94% 수준인 것으로 보고하였다. 시험에 사용된 표본의 다양성등을 고려할 때, 결핵 항원을 이용한 기존의 국내의 모든 혈청학적 진단 방법의 능률은 대체로 본 시험에서 나타난 바와 유사한 한계를 지닌 것으로 판명되었다.

근래 보고된 바에 의하면, 결핵균의 38KDa 항원은 *M. intracellulare*나 *M. malmoense*와 같은 결핵균의 mycobacteria에서도 분비되는 것으로 보고되고 있으며, 이는 비특이 반응을 일으키는 원인의 하나로도 간주될 수 있다²³. 일반적으로 1차검사(screening)에서는 민감도가 높은 검사 방법을 쓰고 2차검사에서는 특이도가 높은 검사를 활용함이 좋을 것이나,

본 시험 결과로만 판단할 때 ICT 검사는 민감도와 특이도가 모두 크게 높지는 않은 검사로 평가되므로, 진단적 수단으로서는 제한적일 수밖에 없다. 따라서, ICT를 포함한 기존의 혈청학적 결핵진단 방법들이 현행 도말 및 배양등의 균검사 방법을 대체할 수 있는 수준이 아님을 간과해서는 안될 것이다. 아울러 모든 혈청학적 진단기법들에 대한 평가가 주로 단순한 기왕조사(retrospective survey) 형식을 취하였으므로, 향후로는 전향조사가 부가된 좀 더 적절한 평가가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경:

현행 도말 및 배양등의 미생물학적 검사법의 제한점을 보완 또는 보조할 수 있는 신속한 결핵진단 방법의 하나로서 가장 많이 연구 되어온 분야가 혈청학적인 방법이다. 이 중 현재까지 결핵의 혈청학적 진단에 유용성이 높은 것으로 평가되는 항원의 하나가 38KDa으로 대표되는 결핵균 분비항원이다. 마침, 이 38KDa 항원을 주항원 성분으로 하여, 간편하게 실험할 수 있도록 kit화된 제품이 국내외에서 널리 시판되고 있기에(ICT-TB, 호주 ICT Diagnostics사) 이를 이용, 결핵의 혈청학적 진단이 얼마나 유용할 것인지를 평가하고자 하였다.

방 법:

결핵이 없는 7세 이하 아동 21명과 건강 성인 47명 등 총 68명의 대조군과, 치료 개시 전에는 균양성이었으나 ICT 검사 당시에는 균이 나오지는 않았던 치료 중인 폐결핵환자 82명 (결핵성 흉막염 환자 3명 포함) 및 균양성으로 당시 치료 중이던 폐결핵환자 40명 등, 총 122명의 결핵환자를 대상으로 하여 결핵의 혈청학적 진단용 kit인 ICT를 이용하여 시험하였다.

결 과:

1. 결핵환자가 아닌 대조군 대상자 68명(7세 이하 아동 21명 포함)에 대한 ICT의 양성반응률 (위양성률)은 13.2%였고, 음성반응률 (결핵환자가 아닌 것

으로 판정되는 율, true negative)은 86.8%였다.

2. 시험된 대상 결핵환자 122명에 대한 ICT에 의한 양성반응률은 86.9%, 음성반응률은 13.1%였다. 3. 균양성 폐결핵 환자 40명에 대한 ICT 양성률은 95.0% (38명), 음성률은 5.0% (2명)였다. 4. 폐외결핵환자 3명을 포함한, 현재 치료 중에 있는 균음성 결핵환자에 82명에 대한 ICT의 양성반응률은 82.9% (68명), 음성반응률은 17.1% (14명)였다. 그러나, 균양성 결핵환자와 균음성인 결핵환자간 ICT 양성률에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다($P>0.05$). 5. ICT의 민감도와 특이도는 모두 87%였으며, 위양성률과 위음성률도 같은 13%였다. 또 유병율이 64% 수준일 때의 양성예측률은 92.2%, 음성예측률은 78.7%였다.

결 론:

ICT의 높은 위양성률과 진단능률(diagnosability) 등을 고려할 때, 결핵이 의심되지만 기존의 도말 및 배양검사 결과를 얻기 어려운 대상자에게만 필요에 따라 제한적으로 활용해볼 수 있는 검사인 것으로 판단되었다.

참 고 문 헌

1. Wright GL and DB Roberts. Two-dimensional immunoelectrophoresis of mycobacterial antigens. Comparison with a reference system. Am Rev Respir Dis 1974; 109:306-10.
2. Nagai S, HG Wiker, M Harbue, and M Kinomoto. Isolation and partial characterization of major protein antigens in the culture fluid of *Mycobacterium tuberculosis*. Infect Immun 1991;59:372-82.
3. Young DB and TR Garbe. Heat shock proteins and antigens of *Mycobacterium tuberculosis*. Infect Immun 1991; 59:3086-93.
4. Young DB and TR Garge. Lipoprotein antigens of *Mycobacterium tuberculosis*. Res Microbiol

- 1991;142:55-65
5. Garbe T, D Harris, M Vordermeier, R Lathigra, J Ivanyi, and D Young. Expression of the *Mycobacterium tuberculosis* 19-kilodalton antigen in *Mycobacterium smegmatis*: immunological analysis and evidence of glycosylation. *Infect. Immun* 1993;61:260-7.
6. Young RA, BR Bloom, GM Grssinsky, J Ivany, D Thomas, and RW Davis. Dissection of *Mycobacterium tuberculosis* antigens using recombinant DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82:2583-7.
7. Bloom BR. Tuberculosis pathogenesis, protection, and control. 1st ed. Washington DC : ASM;1994. p. 316-9.
8. Wilkins EGL and J Ivanyi. Potential value of serology for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Lancet* 1991;336:641-3.
9. Verbon A, S Kuijper, HM Jansen, P Speelman, and AHJ Kolk. Antigens in culture supernatant of *Mycobacterium tuberculosis*: epitopes defined by monoclonal and human antibodies. *J Gen Microbiol* 1990;136:955-64.
10. Ivanyi J, JA Morris, and M Keen. Studies with monoclonal antibodies to mycobacteria. In : A. J. L. Macario and E. E. Macario (ed.), *Monoclonal Antibodies against Bacteria*. Orlando : Fla : Academic Press;1985. p 59-60.
11. 김상재, 배길한, 김성진. 효소결합면역분석법을 이용한 결핵환자 혈청내 항결핵균 항체의 검출. *결핵 및 호흡기질환* 1981;28(4):171-6
12. Jaccett PS, GH Bothamley, HV Batra, A Mistry, DB Young, and J Ivanyi. Specificity of antibodies to immunodominant mycobacterial antigens in pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1988; 26:2313-8.
13. Chandramuki A, GH Bothamley, PJ Brennan, and J Ivanyi. Levels of antibody to defined antigens of *Mycobacterium tuberculosis* in tuberculous meningitis. *J Clin Microbiol* 1989;27:821-825.
14. Nair J, GH Bai, DA Rouse, and SL Morris. Nucleotide sequence analysis and serologic characterization of the *Mycobacterium intracellulare* homologue of the *Mycobacterium tuberculosis* 19 KDa antigen. *Mol Microbiol* 1992;6:1431-9.
15. Turner M, JP Van Vooren, J De Bruyn, E Serruys, P Dierckx, and JC Yernault. Humoral immune response in human tuberculosis: immunoglobulins G, A, and M directed against the purified P32 protein antigen of *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Gu rin. *J Clin Microbiol* 1988;26:1714-9.
16. Young D, Kent L, Rees A. Immunological activity of 38-kilodalton protein purified from *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 1986;54:177-183.21.
17. Cole RA, HM Lu, YZ Shi, J Wang, T De-Hua, and AT Zhou. Clinical evaluation of a rapid immunochromatographic assay based on the 38 KDa antigen of *Mycobacterium tuberculosis* on patients with pulmonary tuberculosis in China. *Tuber Lung Dis* 1996;77:363-8.
18. Zhou AT, WL Ma, PY Zhang, and RA Cole. Detection of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis patients with the 38-kilodalton antigen from *Mycobacterium tuberculosis* in a rapid membrane-based assay. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996;3:337-41.
19. Grobusch MP, D Sch rmann, S Sehwenke, D Teichmann, and E Klein. Rapid mmunochromatographic assay for diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1998;36:3443.
20. Fleiss JL. Statistical methods for rates and pro-

portions. 2nd ed. NY : John Willy & Sons;1982.

21. 장철훈, 손한철, 류기찬, 박순규, 이선희, 김성률 등. 결핵 진단에서 ICT Tuberculosis Test Kit의 효용성. 결핵 및 호흡기질환 1999;46(4):473-80.
 22. 김대연, 최인환, 박승규, 조상래, 송선대. 다양한 특이결핵항원을 이용한 결핵항체검사 (ELISA)의 진단적 유용성. 결핵 및 호흡기질환 1999;47(6):757-67.
 23. Freeman R, J Magee, A Barratt, J Wheeler, M Steward, M Lee, and N Piggott. Rapid immunochromatographic assay for diagnosis of tuberculosis : antibodies detected may not be specific. 1999;JCM 37(6):2111-2.
-