

□ 원 저 □

폐결핵진단에서 결핵균 혼합항원을 이용한 혈청학적 검사의 유용성에 관한 연구

국립마산결핵병원 임상연구소, '연세대학교 의과대학 미생물학교실

박승규, 김필호, 김승철, 최인환, 조상래¹, 송선대

= Abstract =

Evaluation of an ELISA kit for the Serodiagnosis of Pulmonary Tuberculosis by Using Mixed Antigens of Mycobacterium Tuberculosis

Seung Kyu Park, M.D., Phil Ho Kim, M.D., Seung Chul Kim, Ph.D.,
In Hwan Choi, M.D., Sun Dae Song, M.D., Sang Nae Cho¹, Ph.D.

*Clinical Institute, National Masan TB Hospital, Masan, Kyungsangnam-do
and Department of Microbiology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea*

Background : Recently, serologic techniques for tuberculosis have been developed and some of them, which are focusing on detection of serum antibodies mainly directed against specific 38-kDa *Mycobacterium tuberculosis*, have already been introduced into the market. In this study, diagnostic significance of a new serologic test(ELISA kit) for pulmonary tuberculosis was evaluated.

Method : Serologic test with newly developed ELISA kit was performed upon 474 individuals, who include 333 active pulmonary tuberculosis patients, 80 healthy cases, and 61 tuberculosis contact cases. This serologic test was based on the ELISA technique and designed to detect antibodies to mixed complex antigens including 38-kDa, which were developed by Erume Biotech Co., Seoul. Active pulmonary tuberculosis was diagnosed by sputum AFB smear and culture methods.

Results : The seropositivities using this ELISA kit were 82.1% and 73.6% in smear-positive and negative groups among active pulmonary tuberculosis, respectively. And, it also showed that seronegativities were 97.5% and 85.2% in healthy and contact groups, respectively. As a whole, the results of our study using the

Address for correspondence :

Seung Kyu Park, M.D.

Clinical Institute, National Masan TB Hospital

486 Masan City, 630-320, Korea

Phone : 055-249-3777 Fax : 055-242-1135 E-mail : pulmo@unitel.co.kr

ELISA kit as a diagnostic method for pulmonary tuberculosis showed 80.0% sensitivity for active pulmonary tuberculosis, 97.5% specificity, 96.1% positive predictive value, and 65.0% negative predictive value when the prevalence of tuberculosis in the samples was 60.1%.

Conclusion : Our results reveal that the detection of antibody its reaction with 38-kDa antigen of *M. tuberculosis* is not sufficient to be accepted as single diagnostic method for pulmonary tuberculosis. However, they suggest that ELISA kit may be considered as an adjunctive test to standard diagnostic techniques of pulmonary tuberculosis. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2000, 49 : 558-567)

Key words : *M. tuberculosis*, Serodiagnosis, Tuberculosis, ELISA.

서 론

결핵은 오래 전부터 인류를 괴롭혀 온 감염성 질환으로 전 세계적으로 16억의 인구가 감염되어 있으며 매년 약 1000만 명의 새로운 결핵환자가 발생하고 그 중 약 300만 명의 환자가 결핵으로 인해 사망하는 것으로 보고되고 있는데¹ 이는 개발도상국의 전체사망률 중 6.7%를 차지하며, 피할 수 있는 성인 사망률의 26%에 이르는 것이다. 결핵은 아시아, 아프리카의 저개발국가에서 높은 유병률을 보이고 있고, 서구사회에서도 80년대 중반 이후 HIV감염과 연관되어 유병률이 다시 증가하는 추세를 보이고 있으며, 특히 다제내성 균주의 출현이 결핵치료에 있어서 막대한 의료비의 증가와 높은 사망률 등으로 새로운 문제로 대두되고 있는 실정이다². 우리 나라에서도 1995년 결핵실태조사에서 엑스선상 폐결핵 유병률은 1.03%로 꾸준히 감소추세에 있으나 항암약물요법 및 면역억제제 사용, 당뇨병, 인구의 고령화, 그리고 만성노인질환의 증가에 따라 결핵 유병률의 감소추세가 둔해진 것으로 보고되고 있다³. 결핵균은 만성 폐질환을 유발할 뿐 아니라 신체의 모든 장기에 감염될 수 있으며, 전염의 위험성과 약물 내성균주의 출현 가능성 때문에 결핵균의 신속한 진단은 매우 중요하다고 할 수 있다.

결핵의 진단은 임상검체에서 결핵균을 발견하는 것이 가장 정확한 방법이며 통상적인 검사로 이용되어 왔으나 객담도말검사의 경우 민감도가 낮고, 특히 검사자의 숙련도 및 검사에 투여하는 시간이 중요한 변

수로 작용한다. 배양검사의 경우 4주 이상의 시간이 소요되어 조기진단과 조기치료의 적절한 시기를 놓치는 경우를 종종 보게된다. 특히 소아결핵의 경우 검체를 얻기 힘들고 결핵성 뇌막염이나 척추결핵 등 폐외 결핵의 경우에 임상검체에서 결핵균의 발견은 폐결핵에 비해 아주 낮기 때문에 새로운 진단법의 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다. 이를 위해 최근의 여러 새로운 검사법이 개발되었는데, BACTEC system, 중합효소연쇄반응(PCR) 및 gene probe, chromatography of mycolic acid, serologic test 등이 대표적인 검사법이다. BACTEC system⁴의 경우 10-14일 이내에 결핵균을 배양하고 결핵균 외에 비결핵성 항산균 등의 생화화적인 동정이 가능한 장점이 있으나 시설비와 유지비용이 많이 들고 방사선 동위원소를 사용하는 등의 문제점으로 널리 이용되기는 어려운 실정이다. 중합효소연쇄반응⁵을 이용한 유전학적 진단방법은 최근 높은 감수성과 특이도로 활발한 연구가 진행되고 있으나 실험실이나 검사실내 공기의 DNA오염으로 인한 위양성률이 큰 문제로 지적되고 있으며 검사의 방법 또한 어려운 단점을 가지고 있다.

이전부터 결핵을 진단하기 위하여 비교적 저렴하고 손쉽게 시행할 수 있는 혈청학적 진단방법들이 시도되어 왔는데 다른 균들과의 교차반응 때문에 널리 시행되지 못하다가 1972년 Engvall과 Perlmann 등⁶이 결핵의 진단에 사용하여 높은 감수성과 특이도를 가지면서도 간단하고 검사비용이 저렴한 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)법을 개발하고, 균

중에 특이한 항원과 항체를 이용할 수 있게되면서 혈청내 결핵균 특이항원에 대한 항체검출이 객담내 항산균 도말양성인 환자에서는 기존의 검사방법에 근접하는 민감도와 특이도를 보인다는 보고들이 나오게 되었다. 감수성과 특이도를 높이기 위해 많은 항원들이 개발되어 사용되었는데 이에 현재까지 알려진 항체 중 결핵균에 가장 특이한 것으로 알려진 38-kDa 항원을 포함한 복합항원을 이용한 검사 kit가 개발되어 상용화되고 있으며 이에 대한 연구결과가 최근 많이 보고되고 있다.

본 연구는 아직 상용화되지는 않았지만 38-kDa 항원을 포함한 혼합항원으로 구성된 ELISA kit(Erume Biotech Co.)를 이용하여 객담검사서 항산균 양성으로 진단된 결핵환자 중 계속해서 균양성인 환자, 치료경과 중 균음전화된 환자, 건강군, 그리고 결핵병원에서 1년 이상 근무하며 환자와 접촉을 자주하게 되는 직원 등을 대상으로 혈청 항체의 존재 유무를 조사하여 이러한 kit가 폐결핵의 진단에 유용하게 이용될 수 있는지를 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

결핵환자는 1999년 4월 1일부터 1999년 11월 30일 사이에 국립마산결핵병원에서 입원치료를 받고 있는 활동성 폐결핵환자 333명을 대상으로 하였으며 이들은 모두 입원당시 객담도말 및 배양검사상 양성이었다. 이 중 212명은 검사시점에 객담 도말검사상 양성이며 121명은 항결핵제 복용 중에 3회 연속으로 실시한 객담 도말검사상 균음전된 상태였다. 건강대조군은 마산시에 소재하는 모 종합병원의 건강검진센터를 방문하여 종합건강검진을 받은 사람들로 과거력상 결핵의 병력이 없고, 흉부 X-선 소견에서도 결핵을 앓은 흔적이 없는 80명을 대상으로 하였다. 병원의 결핵균 노출지역 근무자는 조사 당시 국립마산결핵병원

에서 1년 이상 근무한 의사, 간호사 그리고 일반직 직원 가운데 과거력상 결핵병력이 없고 1999년 10월 직장신체검사에서 임상적으로 결핵의 증거가 없다고 판단된 61명을 대상으로 하였다.

2. 실험방법

ELISA kit(Erume Biotech Co., Seoul, Korea)를 이용한 항체검사는 연구대상의 말초정맥에서 5ml의 전혈을 채취하여 3000rpm에서 원심분리한 후 혈청을 분리하여 설명서의 내용에 따라서 즉시 검사를 시행하였거나, 여의치 않은 경우에는 냉동보관(-20℃)하였다가 3일 이내에 검사를 시행하였다. 혈청 5μl에 혈청 희석액 495μl을 섞어 혈청을 1:100으로 희석하였다. 희석된 검체를 38-kDa 항원을 포함한 결핵균 혼합항원이 부착된 microwell에 각 well당 200μl씩 넣고 37℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 microwell plate를 세척액으로 세척을 실시한 후, 결핵균 특이 항원과 결합되어 microwell에 붙어 있는 결핵균 특이 면역글로불린에 대해 특이적인 효소가 부착된 conjugate를 각 well당 200μl씩 넣고 37℃에서 1시간 동안 교잡반응시킨 뒤 기질을 넣어 발색시켰다. 검체내의 결핵균 존재 여부는 ELISA로 측정된 흡광도와 양성기준치를 비교하여 결정하였는데 본 검사에서는 0.30을 양성기준 값으로 결정하여 검체의 흡광도가 0.30이상이면 양성으로, 0.30미만이면 음성으로 판단하였다.

3. 통 계

SPSS/PC+(Statistical package for the social science, Version 8.0 ; SPSS Inc, Chicago, IL, USA)통계 프로그램을 사용하였다. ELISA로 측정된 흡광도는 평균과 표준편차로 표시하였고, 각 군간의 비교는 student t-test를 이용하여 p값을 구하여 p값이 0.05미만인 경우에 통계적 유의성을 인정하였다.

Table 1. Clinical characteristics of TB patients, healthy, and contact groups

	Patient group	Healthy group	Contact group
Male : female	4 : 1 (266 : 67)	1 : 3.3 (32 : 109)	1 : 1.67 (30 : 50)
Age(yrs)	44.9 ± 14.6	36.8 ± 9.1	36.9 ± 8.8
Morbidity period (months)	58.5 ± 100.8		
Previous Tx (No)	2.5 ± 1.6		

Table 2. Results of ELISA kit test performances for each subjects

Subjects	No. tested	ELISA kit test performances	
		Optical density	Seropositivity(%)
Sputum positive active PTB*	212	1.34 ± 1.38	174/212(82.1)
Sputum negative active PTB	121	1.25 ± 0.87	89/121(73.6)
Contact control	61	0.22 ± 0.07	9/61(14.8)
Healthy control	80	0.07 ± 0.01	2/80(2.5)

*Seropositivity was defined as the cut-off value more than optical density of 0.3 by ELISA.

*PTB : pulmonary tuberculosis.

결 과

환자군의 성별, 나이, 결핵 이환기간 및 과거 치료력은 Table 1과 같다. 환자군은 전국의 의료기관에서 균양성인 상태로 본원에 전원되어 입원치료를 받고 있던 환자로 검사시점에 객담 도말검사서 양성인 환자군 212명, 균음전에 성공한 환자군 121명을 대상으로 하였으며, 환자군의 남녀 성별분포는 남자가 4배 많았지만 건강군과 결핵환자 접촉군의 경우에는 여자가 1.7-3.3배 많았다. 연령분포는 환자군이 평균 45세, 건강군과 접촉군은 37세로 환자군이 평균 8세 정도 많았다. 환자군의 결핵이환기간은 평균 5년 정도이며 과거 치료력은 평균 2.5회였다. 건강대조군은 마산시의 모 준중합병원 건강검진센터에서 건강검진을 받은 사람들로 흉부 X-선 사진과 객담도말검사 등에서 비정상적인 소견은 발견되지 않았으며 결핵의 과거력도 없었다. 결핵환자 접촉군은 국립마산결핵병원에서 1년 이상 근무하며 결핵환자들과 잦은 접촉을 피할 수 없는 부서에서 근무하는 의사, 간호사, 방사선사, 그리고 검사실 직원들로 이들도 흉부 X-선 사진

과 객담도말검사서 모두 정상으로 판정받은 사람들이었다.

환자군의 경우 333명 가운데 263명(78.8%)에서 양성반응을 보였으며 접촉군의 경우에는 61명 가운데 14.8%, 건강대조군의 경우에는 80명 가운데 2.5%가 양성반응을 보여 환자군과 접촉군, 환자군과 건강대조군, 그리고 접촉군과 건강대조군 사이에 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.001$). 환자군의 경우에는 객담도말 검사상 양성과 음성으로 나누어 검사결과를 비교하였다. 도말양성의 경우 212명의 환자 중 82%에서 양성반응을 보였으며, 음성의 경우 121명의 환자 중 74%에서 양성반응을 보여 객담 도말검사상 양성과 음성군 사이에 통계적 유의성은 없었다. 한편 접촉군은 61명 가운데 14.8%가 양성반응을 보였으며, 건강대조군의 경우에는 80명 가운데 2.5%에서 양성반응을 보여 이 두 군 사이에는 통계적으로 유의한 차이를 보였으며($p < 0.001$), 대조군의 전체적인 음성반응률은 92.2%를 보였다. 따라서 전체적으로 감수성 78.9%, 특이도 97.5%, 양성예측도 96.1%, 그리고 음성예측도 65.0% 등을 나타내었다.

Table 3. Sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of ELISA kit performances.

ELISA results	Active PTB			Control			Total
	Spt. pos.	Spt. neg.	Subtotal	Contact	Healthy	Subtotal	
Positive	174	89	263	9	2	11	274
Negative	38	32	70	52	78	130	200
Total	212	121	333	61	80	141	474

Spt. pos.=sputum positive cases.

Spt. neg.=sputum negative cases.

Total sensitivity = $263/333 \times 100 = 78.9\%$.

Total specificity = $78/80 \times 100 = 97.5\%$.

Total positive predictive value = $263/274 \times 100 = 96.1\%$.

Total negative predictive value = $130/200 \times 100 = 65.0\%$ (with prevalence of TB of 60.1%).

고 찰

전통적으로 폐결핵의 진단은 흉부 X-선 사진, 객담의 항산균 염색과 배양에 의존하고 있지만 민감도가 충분하지 못하거나 결과를 확인할 때까지 6주 이상의 시간이 걸리며, 현미경으로 균을 확인하기 위해서는 결핵균이 최소 5,000-10,000/ml 이상 있어야 하고 검사 및 검체 처리과정의 차이에 따라서 민감도가 차이가 나는 단점이 있다⁷. 배양을 통하여 진단을 내리는 경우 BACTEC 460 radiometric system 등의 특수한 방법을 이용하더라도 2-4주의 시간이 소요되어 임상적으로 항결핵제 치료시점을 결정하거나 경과를 관찰하는데 제한이 있었다. 그리고 polymerase chain reaction(PCR), transcription-mediated amplification (TAM)⁸과 같이 더욱 민감하고 특이적인 검사들은 모두 일정한 수준의 기술과 장비가 필요하여 결핵의 진단을 위한 일상적인 검사로 이용하기에는 부적당하다.

결핵은 전세계의 연간 새로운 환자 800만 명 중 500만 명 이상이 동남아시아와 우리 나라를 포함한 서태평양 연안의 나라에서 발생하고 있고⁹, 특히 우리나라는 OECD가입국가 중 결핵으로 인한 사망률이 가장 높기 때문에 간편하고, 민감도가 높고, 또한 비용절감면에서 효과적인 결핵진단 방법이 개발되어야

할 필요성이 제기되어 왔다.

결핵의 진행과정에서 숙주의 장액성 면역이 작용할 것이라는 것을 예측하여 항결핵제가 개발되기 전부터 혈청으로 결핵을 치료하고자 하는 시도가 있었지만, 결핵균체가 만들어 내는 다양한 항원에 대한 항체들 중 일부는 오히려 결핵을 더 악화시키기도 하기 때문에 항체의 정제기술이 발달하지 못한 과거의 연구에서는 결핵에서 장액성 면역의 역할을 뚜렷이 밝혀내지 못하였다¹⁰. 그러나 그 후 단클론 항체(monoclonal antibody, MAbs) 제조기술이 발달하면서 결핵균 항원 또는 그에 대한 항체를 이용하여 결핵을 진단할 수 있다는 보고들이 나오게 되었으며, 결핵균 감염에 대한 체내의 면역반응으로 나타나는 항체를 ELISA를 이용하여 측정함으로써 간접적으로 결핵균 감염의 증거로 삼고자 하는 노력이 계속되어 왔다. 초기에는 항원 정제의 문제로 특이성이 낮은 단점이 있었으나, 결핵균 항원을 발현하는 *E. coli* 클론으로부터 항원을 얻게 되고, 정제방법의 발달로 최근에는 특이성이 많이 향상되었다³. 활동성 결핵이 있는 경우에 약 200여 가지 항원이 나타나며, 이 중에 소수의 항원은 매우 특이적인 것으로 알려져 있다. 그 중에서 혈청학적 진단에 주로 사용되는 항원들로서는 38-kDa, 19-kDa, 16-kDa 단백질 등이며 이들은 현저한 면역원성을 가진 것으로 알려져 있다¹¹.

항체의 측정은 단클론 항체와 ELISA 기법을 주로 이용해 왔지만 환자의 여건에 따라 항체발현의 양상은 매우 다양하였다¹². 38-kDa는 결핵균 복합체(*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*)에 특이적으로 존재하는 세포의 지단백의 하나로 인산 대사과정에 관여하며¹⁴, 현재까지는 가장 민감하고 특이한 결핵항원으로 알려져 있어 Daniel 등¹⁵은 38-kDa를 이용한 ELISA 검사법으로 63.4%의 민감도와 98.3%의 특이도를 보고하였다. 그 후 ELISA 검사를 이용하여 38-kDa 항원에 대한 항체를 측정한 다른 연구결과에서 지역적인 차이는 있으나 민감도는 64-89%이며, 특이도는 81-100% 정도로 보고되어 임상적 유용성이 대두되었다. 김 등¹⁶은 14-kDa, 16-kDa, 19-kDa, 23-kDa, 그리고 38-kDa 항원을 이용하여 본 연구의 예비실험을 시행한 결과 특이도는 모든 항원에서 90% 이상이었으나 감수성은 38-kDa(감수성 70%)를 제외한 항원에서 16-44%를 보여 38-kDa를 포함한 복합항원을 이용하면 감수성을 높일 수 있을 것으로 보고한 바 있다.

38-kDa의 유전자는 *M. tuberculosis* 외에 *M. bovis* BCG도 함유하고 있으나 BCG는 결핵균 항원량의 1/10에 불과하다는 보고¹⁷도 있어서 BCG 예방접종으로 인한 38-kDa 항원에 대한 항체수준은 높게 나타나지 않으며, 숙주의 체내에서 활발한 증식이 일어나서 임상적 수준에 도달할 정도의 감염이 없다면 항체의 체내순환이 오랫동안 지속되지도 않는 것으로 보고되고 있다. 그러므로 BCG를 접종받은 건강성인 등에서는 검출되지 않으므로 결핵환자의 진단목적으로 활용함에 문제가 없을 것으로 인식되어 있다.

최근에는 38-kDa 항원을 이용한 immunochromatographic assay kit들이 개발되어 이용되고 있다. Cole 등¹⁴과 Zhou 등¹⁸에 따르면 중국의 활동성 결핵환자를 대상으로 38-kDa 항원을 포함한 5가지의 결핵항원을 nitrocellulose막에 고착시킨 항체검사 kit인 ICT tuberculosis test를 사용하여 연구한 결과 객담 양성환자에서는 89%, 객담 음성환자에서는 74%의 양성반응률을 나타내었으며, 건강대조군에 대한 특

이도는 97.5%이고, BCG 예방접종이 큰 영향을 미치는 못하는 것으로 보고하였으며, 장 등¹⁹은 동일한 방법으로 실험한 결과 감수성 79.4%, 특이도 92.2%로 보고하였다.

본 연구에서는 검사 kit의 민감도나 특이도를 판정하는 데, 정확성을 높이기 위하여 치료개시 전에 객담도말 양성이었던 활동성 폐결핵환자와 과거 결핵병력이 없으면서 폐병변이 없는 대조군을 대상으로 비교하고자 하였으며, 장기간 활동성 폐결핵환자와 접촉하는 건강 접촉군과의 비교를 통하여 감염가능성이 있는 경우와 활동성 폐결핵환자와의 감별진단의 유용성에 대한 평가를 시도하였다. 객담도말 염색은 가장 쉽고, 빨리 결과를 얻을 수 있어서 결핵의 초기진단에 큰 도움을 주는 검사이지만 검체내에 포함되어 있는 결핵균의 수, 검사자와 검체의 종류 등에 따라서 민감도가 다양하여 이에 저자들은 검체선정 과정에서 객담도말 염색법의 한계를 최소화하기 위하여 3회 이상 연속적으로 도말검사를 실시하였으며, 하나의 검체에서라도 도말양성이면 도말양성 군에 포함시켰다. 또한 도말검사가 배양검사에 비해 정확성이 부족한 것은 사실이지만 3회 이상 연속적으로 객담도말검사를 실시한 경우에는 배양검사와의 일치율이 95% 정도이므로²⁰ 결핵의 진단 및 경과관찰에는 큰 문제가 되지 않을 것으로 생각되었다.

객담 도말양성인 폐결핵환자가 치료경과 중 균음전된 경우와 계속해서 양성인 경우를 비교한 결과 균양성인 경우 항체 양성률은 각각 74%와 82%로 통계적 차이는 보이지 않았지만 균양성 환자에서 다소 높은 항체 양성률을 보였는데 이는 Cole 등¹⁴의 보고와 비교할 때 비슷한 양상을 보였다. IgG 항체가 치료시작 첫 3개월 동안 증가하다가 12-16개월 후 서서히 감소²¹하는 점을 고려하면 치료중인 활동성 폐결핵환자의 경우에는 균상태와 관계없이 비슷한 항체 반응을 보이는 것으로 생각되었다. 그러나 Jakett 등¹³은 객담도말양성인 경우 38-kDa에 대한 항체가가 높아 지나 객담도말음성인 활동성 폐결핵환자에서는 23%만이 양성반응을 보였으며, Chan 등²²은 객담 도말음

성인 경우 38-kDa 항원의 민감도는 16%였다고 보고를 하였다. 따라서 지역적 혹은 미세한 방법적 차이에 의해서 민감도가 크게 변할 수 있음을 시사하며 이는 혈청학적 검사를 진단에 이용하려면 각 지역마다 혈청학적 검사의 유용성에 대한 검증이 필요할 것으로 여겨진다.

우리 나라는 결핵의 빈도가 높기 때문에 비결핵 마이코박테리아(NTM)감염증에 대한 관심이 상대적으로 적어서 NTM감염증의 빈도가 정확하게 알려져 있는 양으나 검사실에서 검출되는 mycobacteria의 약 10% 정도가 NTM이라는 보고가 있었으며²³, 이들 중 일부는 환경의 오염균일 것으로 추정되기 때문에 대략 10% 이하일 것으로 추정된다. 본 연구에서 진단 당시 항산균 염색 및 도말검사서 양성인 환자의 검체 가운데 21%가 ELISA kit 검사에서 음성을 보인 것은 그 중 일부가 NTM에 의한 감염증일 가능성이 있을 것으로 생각되지만 위음성의 가능성도 적지 않음을 고려할 때 본 검사가 폐결핵의 신속 진단방법으로 흉부 X-선 검사나 항산균 염색 및 배양검사 등과 함께 사용할 수는 있어도 이들을 대신할 수는 없을 것으로 생각된다.

본 연구에서는 검사를 시행한 후 동일한 환자에서서 추가검사를 시행하지 않았기 때문에 치료경과에 따른 항체반응이 어떻게 변해가는 지는 알 수 없었다. 향후 이에 대한 연구도 필요할 것으로 생각되며 이러한 연구를 통해서 혈청학적 방법을 통하여 치료경과의 판정에 도움이 될 수 있는 지표를 개발할 가능성도 있을 것으로 기대된다.

건강 대조군과 결핵환자와 장기간 접촉한 군 사이에는 항체 반응물에 어느 정도 차이가 예상되었으나 본 연구결과 건강대조군의 항체 반응물 2.5%, 접촉자 군 14.8%로 접촉자 군에서 상당히 높은 결과를 보여($p < 0.001$) ELISA kit가 결핵발병의 위험요인이 많은 사람들을 찾아내는데 유용한 보조진단법으로 사용될 가능성이 있을 것으로 생각되었다. ICT tuberculosis test를 이용한 장 등¹⁹의 보고에서 건강 대조군의 경우

3%의 항체반응물을, 접촉자(병원 종사자)군에서는 2%의 결과를 보여 본 연구결과와는 상당한 차이를 나타내었으며, 김 등²⁴은 과거 결핵치료력이 있었던 경우 항체반응물이 5.9%, 폐질환이 없는 건강군에서 항체반응을 보이는 경우는 아무도 없었다고 보고하였다. 그러나 이러한 비교는 향후 동일한 환자에서 결과를 직접 측정할 수 있어야 임상적 유용성을 객관적으로 평가할 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서는 폐외결핵, 치유된 결핵 혹은 결핵이외의 다른 폐질환 등을 앓고 있는 환자에 대해서는 검사를 시행하지 않았다. 폐외결핵은 검체에서 결핵균을 증명하기 어렵고 검체 자체를 얻기도 힘들어, 혈청학적 검사의 필요성이 더욱 크다고 여겨지지만 ELISA를 이용한 혈청항체 검출법의 유용성에 대해서는 아직 확실히 정립되지 않아 보고자마다 차이가 나 홍막염의 경우 민감도가 14-90%까지 보고되고 있다²⁵⁻²⁷.

ELISA kit(Erume Biotech Co.)검사는 ICT tuberculosis test기법과는 달리 38-kDa 항원을 포함한 균체항원 또는 분비항원을 복합항원으로 만들어 항원 항체간의 결합을 37℃에서 1시간 정도 반응시켜 유도한 후, 항원과 결합된 항체에 특이적인 효소가 부착된 conjugate를 37℃에서 다시 1시간 동안 교잡반응을 시킨 후 발색반응을 평가하는 방법으로 활동성 폐결핵의 진단에 민감도는 80%였으며, 건강대조군에 대한 특이도 97.5%를 보여서 폐결핵의 진단방법으로 유용할 것으로 생각되지만 Bayes의 정리에 의하면²⁸ 이러한 혈청학적 진단방법의 진단능률은 유병률에 따라서 크게 달라질 수 있으므로 배 등³¹의 지적처럼 ELISA kit를 포함한 기존의 혈청학적 결핵진단 방법들이 현재 사용중인 도말 및 배양 등의 균검사 방법을 대체할 수 있는 수준이 아님을 간과해서는 안될 것으로 생각된다. 따라서 기존의 전통적으로 결핵을 진단하는데 사용하던 흉부 X-선 사진, 객담 도말 및 배양 검사 등과 함께 보조적인 도구로 사용하면 기존의 방법으로 진단이 불확실하게 판단되는 경우를 포함한 폐결핵의 진단에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

배 경 :

현행 도말 및 배양 등의 미생물학적 검사법의 제한점을 보완할 수 있는 신속하고 간편한 결핵진단 방법의 하나로서 가장 많이 연구되어 온 분야가 혈청학적인 방법이다. 이 중 현재까지 결핵의 혈청학적 진단에 유용성이 높은 것을 평가되는 항원의 하나가 38-kDa으로 대표되는 결핵균 분비항원이다. 이 38-kDa을 주항원 성분으로 하여, 간편하게 실험할 수 있도록 kit화된 수입제품이 국내에서 널리 시판되고 있는 실정에서 국내의 회사에서 개발한 ELISA kit(Erum Biotech Co.)를 이용하여 폐결핵의 혈청학적 진단이 얼마나 유용한 지를 평가하고자 하였다.

방 법 :

도말 및 배양검사상 균양성으로 진단된 후 항결핵치료를 받고 있는 폐결핵환자 333명(검사당시 균양성 환자 212명, 균음전된 환자 121명), 건강 성인 80명, 그리고 국립마산결핵병원에서 1년 이상 근무하며 환자와 접촉을 자주 하게되는 접촉군 61명 등 총 474명을 대상으로 하여 결핵의 혈청학적 진단용 ELISA kit를 이용하여 시험하였다.

결 과 :

1) 균양성 활동성 폐결핵환자 212명에 대한 ELISA kit의 양성반응률은 82.1%, 균음성 활동성 폐결핵환자 121명에 대한 양성반응률은 73.6%로 이 두 군 사이에는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$).

2) 접촉 대조군 61명에 대한 양성반응률은 14.8%, 건강 대조군 80명에 대한 양성반응률은 2.5%로 이 두 군 사이에는 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.001$).

3) 활동성 폐결핵환자 333명 모두에 대한 양성반응률은 78.90%, 대조군 141명 모두에 대한 양성반응률은 7.8%로 이 두 군 사이에는 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.001$).

4) ELISA kit의 민감도는 78.9%, 특이도는 97.5

%였으며, 유병율이 60.1% 수준일 때의 양성예측율은 96.1%, 음성예측율은 65.0%였다.

결 론 :

ELISA kit는 민감도나 특이도 면에서 수입시판되고 있는 ICT와 비교할 때 비슷한 결과를 보이며, 전통적으로 결핵을 진단하는 데 사용하던 흉부 X-선 사진, 항산균 염색 및 배양 등과 함께 보조적인 도구로 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. World Health Organization. World Health Statistics Annual. Geneva : WHO ; 1989. p 11-12
2. Sudre P, GT Dam, Kochi A. Tuberculosis : a global overview of the situation today. Bull of WHO, 1992;70(2):149-59
3. 보건복지부 대한결핵협회. 제7차 전국 결핵실태조사 결과. 1995
4. 김상재. 결핵의 진단. 결핵 및 호흡기질환 1998; 45:676-86
5. Figueira L, Delgado R, Palenque E, noriega AR. Detection of Mycobacterium tuberculosis DNA in clinical samples by using a simple lysis method and polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1993;31:1019
6. Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA, III-Quantization of specific antibodies by enzyme-labelled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. Tuberc 1976;57-67
7. Kox LFF. Tests for detection and identification of mycobacteria. How should they be used?. Respir Med 1995;89:399-408
8. Jonas V, Alden MJ, Curry JI, Kamisango K, Knott CA, Lankford R, et al. Detection and identification of Mycobacterium tuberculosis directly from sputum sediments by amplification of

- rRNA. *J Clin Microbiol* 1993;31:2410
9. Snider DE Jr, Raviglione M, Kochi A. Chapter 1, Global burden of tuberculosis, In: Bloom BR (Ed.) *Tuberculosis ; pathogenesis, protection, and control*, p4-5, Washington DC, ASM Press 1994
10. Glatman-Freedman A, Casadevall A. Serum therapy for tuberculosis revisited : reappraisal of the role for antibody-mediated immunity against *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Rev* 1998;11:514
11. Ivanyi J, JA Morris, 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. p59-60
12. 김상재, 배길한, 김성진. 효소결합면역분석법을 이용한 결핵환자 혈청내 항결핵균 항체의 검출. 결핵 및 호흡기질환 1981;28(4):171-6
13. Jackett PS, GH Bothamley, HV Batra, A Mistry, DB Young, J Ivanyi. Specificity of antibodies to immunodominant mycobacterial antigens in pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1988;26:2313-8
14. Cole RA, Lu HM, Shi YZ, Wang J, De-Hua T, Zhou AT. Clinical evaluation of a rapid immunochromatographic assay based on the 38-kDa antigen of *Mycobacterium tuberculosis* in China. *Tubercle and Lung Disease* 1996;77:363-8
15. Daniel TM, De Murillo GL, Sawyer JA, Griffin AM, Pinto E, Debanne SM, et al. Field evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:662
16. 김대연, 최인환, 박승규, 조상래, 송선대. 다양한 특이 결핵항원을 이용한 결핵항체검사(ELISA)의 진단적 유용성. 결핵 및 호흡기질환 1999;47(6):757-67
17. Young D, Kent L, Rees A. Immunological activity of 38-kilodalton protein purified from *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 1986;54:177-83
18. Zhou AT, WL Ma, PY Zhang, 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. 장철훈, 손한철, 류기찬, 박순규, 이선호, 김성률 등. 결핵 진단에서 ICT Tuberculosis Test Kit의 효용성. 결핵 및 호흡기질환 1999;46:473-80
20. Pitchenik AE, Fertel D. Medical management of AIDS patients. Tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease. *Med Clin North Am* 1992;76:121
21. Chiang IH, Suo J, Bai KJ. Serodiagnosis of tuberculosis. a study comparing three specific mycobacterial antigens. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:906-11
22. Chan SL, Reggiardo Z, Daniel TM, Girling DJ, Mitchison DA. Serodiagnosis of tuberculosis using an ELISA with antigen 5 and a hemagglutination assay with glycolipid antigens. Results in patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis ranging in extent of disease from minimal to extensive. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:385
23. 신정환, 장철훈, 손한철, 김철민, 송선대. 결핵균 배양 양성 검체 중 비결핵 마이코박테리아의 빈도와 항결핵제 내성양상. abstr m-32. 대한임상병리학회지 1997;17(S2):S379
24. 김덕겸, 권성연, 이석영, 박계영, 정경해, 이춘택 등. 형광학적 방법을 이용한 결핵 진단 방법의 효용성. 결핵 및 호흡기질환 1999;47:586-94
25. Dogan UB, Aksu HS. Serodiagnostic value of ELISA in pulmonary tuberculosis in Turkey

- where tuberculosis is highly prevalent. *Respiration* 1997;64:73
26. Stroebel AB, Daniel TM, Lau JH, Leong JC, Richardson H. Serologic diagnosis of bone and joint tuberculosis by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Infect Dis* 1982;146:280
27. Wilkins EG, Ivanyi J. Potential value of serology for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Lancet* 1990;336:641
28. Fleiss JL. Statistical methods for rates and proportions. 2nd ed. NY : John Willy & Sons; 1982
29. 배길한, 박은미, 김상재. 결핵균 분비항원을 이용한 결핵의 혈청학적 진단 방법에 대한 평가. *결핵 및 호흡기질환* 2000;48(3):315-23
-