

결핵진단에서 Xeniss Rapid TB kit의 임상적 유용성

국립마산결핵병원 임상결핵연구소

박승규, 이우철, 황수희, 권은시, 이흥순, 이덕형

=Abstract=

Evaluation of the Clinical Usefulness of the Xeniss Rapid TB kit for the Diagnosis of Tuberculosis

Seung Kyu Park, M.D., Woo Chul Lee, M.D., Soo Hee Hwang, M.D.,
Eun Si Kwon, M.S., Hung Soon Lee, M.S., Duk Hyoung Lee, M.D.

Clinical Research Center for Tuberculosis, National Masan TB Hospital

Background : The rapid diagnostic tests for tuberculosis are needed to facilitate early treatment of tuberculosis and prevention of *Mycobacterium tuberculosis* transmission. The Xeniss Rapid TB kit is a rapid, card-based immunochromatographic test for the detection of antibodies directed against *M. tuberculosis* antigens including antigen 5(38-kDa antigen). The objective of this study was to evaluate the performance of the Xeniss Rapid TB kit for the diagnosis of active tuberculosis with serums from patients, asymptomatic healthy and close contact controls.

Method : 188 patients with active tuberculosis were tested; 177 with pulmonary tuberculosis(18 with combined pleurisy), and 11 with extrapulmonary tuberculosis. The control groups were composed of 82 close contacts and 57 healthy adults. Study subjects were drawn from one national tuberculosis hospital for patients and close contacts, and another private hospital for healthy adults in Masan city, Korea. The Xeniss Rapid TB kit(Xeniss Life Science Co., Ltd., Seoul, Korea) was evaluated by using serum samples according to the instructions of the manufacturer by an investigator masked to the clinical and microbiological status of the study subjects.

Results : The diagnostic sensitivity of the Xeniss Rapid TB kit was 73.9% in patients and specificities were 73.2% and 93.0% in close contact and healthy adults respectively. The positive predictive value in patients was 84.2% and the negative predictive value in controls was 85.8%.

Address for correspondence:

Seung Kyu Park, M.D.

Clinical Research Center for Tuberculosis, National Masan TB Hospital

486 Gapo-dong, Masan city, 631-710 Korea

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

Conclusions : This study shows that the Xeniss Rapid TB test is a simple and fast method to diagnose active TB. The results of the sensitivity and specificities suggest that serodiagnosis using this point of care testing(POCT) device would be valuable and advantageous for screening tuberculosis in the clinical field. (*Tuberculosis and Respiratory Diseases* 2002, 53:389-400)

Key words : *M. tuberculosis*, Serodiagnosis, 38-kDa antigen, Xeniss Rapid TB kit.

서 론

결핵의 진단은 임상검체에서 결핵균을 발견하는 것이 가장 정확한 방법이며 통상적인 검사로 이용되어 왔으나 객담도말검사의 경우 민감도가 30-80%로 다양하고 검사자의 숙련도 및 검사에 소요되는 시간이 중요한 변수로 작용하며, 객담배양검사는 6주 이상의 시간이 소요되어 조기진단과 조기치료의 적절한 시기를 놓치는 경우를 종종 보게 된다. 특히 소아결핵의 경우 객담검체를 얻기 힘들고, 결핵성 뇌막염이나 척추결핵 등 폐외결핵의 경우에 임상검체에서 결핵균의 발견이 폐결핵에 비해 매우 낮기 때문에 새로운 진단법의 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다. 이를 위해 최근에 여러 새로운 검사법이 개발되었는데 BACTEC system, 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction) 및 gene probe, chromatography of mycolic acid, serologic test 등이 대표적인 검사법들이다. BACTEC system¹의 경우 10-14일 이내에 결핵균을 배양하고 결핵균 외에 비결핵성 항산균 등의 생화학적 동정이 가능한 장점이 있으나 시설비와 유지비용이 많이 들고 방사선 동위원소를 사용하는 등의 문제점으로 널리 이용되기는 어려운 실정이다. 중합효소연쇄반응²을 이용한 분자생물학적 진단방법은 최근 높은 민감도와 특이도로 활발한 연구가 진행되고 있으나 검사실내 공기중의 DNA오염으로 인한 위양성율이 큰 문제로 지적되고 있다.

이전부터 결핵을 진단하기 위하여 비교적 저렴하고 손쉽게 시행할 수 있는 혈청학적 진단방법들

이 시도되어 왔는데 다른 균들과의 교차반응 때문에 널리 시행되지 못하다가 1972년 Engvall과 Perlmann 등³이 결핵의 진단에 민감도와 특이도가 높으면서 간단하고 비교적 검사비용이 저렴한 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)법을 개발하였고, 결핵균종에 특이한 항원과 항체를 이용할 수 있게 되면서 혈청 내 결핵균 특이항원에 대한 항체검출법은 객담 내 항산균 도말양성인 환자에서는 민감도와 특이도가 기존의 검사방법과 비슷하다는 보고들이 나오게 되었다.

민감도와 특이도를 높이기 위해 많은 항원들이 개발되었는데 현재까지 알려진 항원 중 결핵균에 가장 특이한 것으로 알려진 38-kDa 항원을 포함한 복합항원을 이용한 검사 kit가 개발되어 상용화되고 있으며 이에 대한 연구결과가 많이 보고되고 있다. 최근 38-kDa 단백항원을 포함한 5가지 항원을 nitrocellulose막에 고착시키고 colloidal gold를 표지한 anti-human IgG를 이용하여 항체를 발견하는 검사 kit인 ICT Tuberculosis(AMRAD Corporation, Melbourne, Victoria, Australia)를 이용한 결핵진단의 임상적 유용성에 관한 보고가 발표되고 있다⁴⁻⁷.

본 연구는 국내기업(Xeniss Life Science Co., Ltd., Seoul, Korea)이 개발한 Xeniss Rapid TB kit를 이용하여 활동성 결핵환자, 건강군, 그리고 결핵병원에서 10년 이상 근무하며 환자와 밀접한 접촉을 하는 직원 및 환자의 가족 등을 대상으로 이 kit가 결핵의 진단에 유용하게 이용될 수 있는지를 알아보고자 하였다. Xeniss Rapid TB kit의

반응원리는 38-kDa항원을 포함한 3가지 결핵균항원을 혈청 내 결핵균 항체와 반응시켜 결핵균 항체-유전자재조합 결핵균항원-콜로이드 금 결합체를 형성하고, 이 결합체가 nitrocellulose막 위로 전개되면서 검사선에 분주된 유전자재조합 결핵균항원과 다시 반응하여 검사선을 발색시켜 양성인 검사결과를 나타낸다. 혈청 내 결핵균항체와 반응하지 않은 여분의 금 콘쥬게이트는 막을 따라 전개되어 대조선에 분주된 산양 항 유전자재조합 결핵균 항원에 대한 IgG항체와 반응하여 대조선을 발색시키도록 되어 있다. 이 kit는 1회 조작만으로 사람의 혈청 중에 포함된 결핵균 항체를 신속하고 간단하게 검출하여 검사시작 15분 이내에 육안으로 결과를 판독할 수 있으며 별도의 시약, 기구 혹은 장치가 필요하지 않고 검사에 숙련된 기술을 요구하지 않기 때문에 결핵을 신속하게 선별검사할 수 있을 것으로 기대되었다.

대상 및 방법

1. 연구대상

환자군은 2002년 5월 1일부터 6월 30일까지 폐결핵 혹은 폐외결핵으로 국립마산결핵병원에서 입원 혹은 외래치료를 받고 있던 환자 188명이었으며, 접촉자군은 10년 이상 국립마산결핵병원에서 근무한 의사, 간호사 중 2001년 10월 직장신체검사에서 임상적으로 결핵의 증거가 없다고 판단된 19명과 결핵환자와 1년 이상 동거한 가족 중 과거력상 지난 5년 이내에 결핵병력이 없고 본 연구 시행 당시 임상증상, 객담도말검사 및 흉부 X-선 사진상 폐결핵의 증거가 없는 63명이었다. 그리고 경상남도 마산시에 소재하는 모 종합병원의 건강검진센터에서 종합건강검진을 받은 사람들로 과거력상 결핵의 병력이 없고 흉부 X-선 사진상에서도 결핵을 앓은 흔적이 없는 57명을 건강대조군으로 하였다.

환자군은 초치료 환자 150명, 초치료실패 혹은 내성결핵으로 재치료를 받던 환자 38명이었으며, 초치료환자 중 결핵진단 당시 객담도말검사에서는 음성이었지만 임상증상과 방사선사진, 객담배양검사, 중합효소연쇄반응, 침흡인법 등으로 진단된 환자가 38명이었고, 결핵성 임파선염과 결핵성 흉막염 등의 폐외결핵이 11명이었다. 환자군 중 당뇨병이 동반된 경우는 29명이었다.

2. 실험방법

대상환자군의 79.8%가 초치료환자임을 감안하여 환자군을 치료개시일로부터 검체일사이의 시간간격별로 구분하여 균양성시기인 1개월 이내(group A), 균음전이 시작되는 2-3개월(group B), 치료종결직전인 4-6개월(group C), 치료종결직후인 6-12개월(group D), 12개월 이상(group E), 그리고 폐외결핵으로 구분하였으며, 대조군은 접촉자군과 건강대조군 등으로 구분하였다. 진단당시 객담도말검사상 배균정도, 흉부 X-선 사진상 공동성 병소유무 등을 포함하는 병변의 정도, 당뇨병 동반유무, 그리고 나이에 따른 반응 등을 조사하였으며, 2TU tuberculin을 이용한 피부반응검사(TST; tuberculin skin test)도 병행하여 결과를 비교하였다.

진단당시 배균정도는 Ziehl-Neelsen염색법을 이용한 집균도말법으로 판정하였으며 3회 연속 실시한 검사에서 균수가 가장 많이 보이는 것으로 배균정도를 결정하였다. 배균정도는 세계보건기구의 결핵임상지침서(1997)⁸의 기준을 따랐다. 본원에서 시행한 객담배양검사에서 양성인 검체에 대해서는 표준화된 생화학적 방법으로 *M. tuberculosis*와 비결핵성 항산균을 구분하였으며 본 연구대상환자의 객담배양검체에서는 비결핵성 항산균이 발견되지 않았다. 폐외결핵 환자에서 결핵성 임파선염 환자 3명 중 2명은 화농된 임파선의 검체를 항산균염색과 배양을 실시하여 모두 양성소견을 보였다. 또한

결핵성 흉막염 환자 8명은 임상증상, 흉부 X-선 소견, 그리고 흉수천자 결과 등으로 진단하였다. 흉부 X-선 사진상 병변의 정도는 1969년 미국흉부질환학회(American Thoracic Society)의 기준에 따라 경증(minimal), 중등증(moderately advanced), 그리고 중증(far advanced) 등으로 구분하였다. 투베르쿨린 피부반응검사는 50명의 초치료 환자와 19명의 의사 및 간호사 등 국립마산결핵병원의 직원을 대상으로 결핵연구원에서 제공받은 TUBERCULIN PPD RT 23 SSI 2TU/0.1ml(Copenhagen, Denmark)로 하였다. 피부반응검사는 잘 훈련받은 한 명의 간호사가 시행하고 결과를 판정하였다.

본 연구는 연구대상자의 정맥혈 3cc를 채혈하여 당일에 검사를 시행하였다. 대상자의 임상적, 세균학적 상태를 모르는 한 명의 검사자가 제조사의 제품 설명서의 내용에 따라서 100 μ l의 혈청을 Xeniss Rapid TB kit에 적하한 후 대략 15분 이내에 결과를 판정하였다. 대조선이 분명하게 나타나는 경우에만 검사결과가 유효한 것으로 하였으며, 양성판정은 대조선과 판정선이 나타나는 경우로 하였다.

3. 통 계

모든 자료를 데이터베이스에 입력한 후, SPSS/PC+(Statistical package for the social science, Version 8.0 ; SPSS Inc, Chicago, IL, USA)통계 프로그램을 사용하여 결과를 분석하였다. 각 군 간의 비교는 student t-test를 이용하였으며, p값이

0.05미만인 경우에 통계적 유의성을 인정하였다.

결 과

연구대상자의 성별, 나이는 Table 1과 같다. 폐결핵 혹은 폐결핵에 결핵성 흉막염이 동반된 177명의 환자에서 72.8%의 양성반응율을 보였으며, 폐외결핵 환자 11명(결핵성 임파선염 3명, 흉막염 8명) 중 10명에서 양성반응(90.9%)을 보여 전체적으로 73.9%의 민감도를 보였다. 진단시점부터 검사시점사이의 시간대에 따른 양성반응율은 1개월 이하군에서 61.5%로 가장 낮았다가 점차 증가하여 4-6개월군에서 94.4%로 가장 높았으며 이후 점차 감소하여 12개월 이상군에서는 67.4%를 보였으나 통계적 유의성은 없었다(Table 2). 진단당시 객담도말검사상 양성인 환자에서 76.2%(109/143)의 양성반응율을 보여 음성인 환자 68.4%(26/38)보다 양성반응율이 높았으나 통계적 유의성은 없었다. 또한 흉부 X-선 사진상 병소가 심할수록(경증 63.3%, 중증 79.3%), 그리고 공동성 병소가 있는 환자군과(75.7% 대 70.5%) 과거치료가 있는 환자군(76.3% 대 73.3%)에서 양성반응율이 높았으나 통계적 유의성은 없었다. 당뇨병이 동반된 환자군(69.0% 대 74.8%)과 나이가 많은 환자일수록(20세 이하 100%, 61세 이상 68.1%) 양성반응율이 낮았으나 통계적 유의성은 없었다. Purified protein derivative(PPD) 피부반응검사는 53명의 환자군에서 15.4 \pm 6.5mm, 접촉자군 16명에서 14.7 \pm 3.9mm를

Table 1. Characteristics of study subjects

Characteristics	Patients (n=188)	Close Contacts (n=82)	Healthy adults (n=57)
Sex			
Male	143	27	25
Female	45	55	32
Age(years)	48.0 \pm 17.7	41.4 \pm 13.3	44.7 \pm 15.9
TST [#] induration(mm)	15.4 \pm 6.5	14.7 \pm 3.9	

[#]TST(tuberculin skin test) was performed in 53 patients and 16 contacts.

Table 2. Results of Xeniss Rapid TB test in study subjects

Study subjects	N	Positive(%)	Sensitivity(%)	Specificity(%)
Patients	188	139/188(73.9)	73.9	
Pul. TB	177	129/177(72.8)	72.8	
Group A(≤ 1 mo.)	41	25/41(61.5)		
B(2-3 mo.)	32	25/32(78.1)		
C(4-6 mo.)	18	17/18(94.4)		
D(7-12 mo.)	43	33/43(76.7)		
E(> 12 mo.)	43	29/43(67.4)		
Extrapul. TB	11	10/11(90.9)	90.9	
Close Contacts	82	22/82(26.8)		73.2
hospital workers	19	11/19(57.9)		42.1
pt's family members	63	11/63(17.5)		82.5
Healthy adults	57	4/57(7.0)		93.0
Total			73.9	81.3

Total sensitivity=73.5%

Total specificity=81.3%

Total positive predictive value=139/165=84.2%

Total negative predictive value=139/162=85.8%(with prevalence of TB of 57.5%)

보였으며, 10mm미만인 군에서는 83.3%(5/6), 10mm이상인 군에서는 81.0%(51/63)의 양성반응을 보였으나 통계적 유의성은 없었다(Table 1, 3). 국립마산결핵병원에서 10년 이상 근무하면서 활동성 결핵환자와 밀접한 접촉을 한 의사, 간호사 등 직원은 57.9%(11/19), 환자가족은 17.5%(11/63)의 양성반응을 보였으며, 결핵병력이 없는 건강성인은 7.0%(4/57)의 양성반응을 보여 활동성 결핵환자와 접촉기간이 길수록 양성반응율이 높았으며, 결핵환자가 아닌 139명 중 26명이 양성반응을 보여 81.3%의 특이도를 보였다. 전체적으로 양성예측율(positive predictive value)은 84.2%, 음성예측율(negative predictive value)은 85.8%였다(Table 2).

고 찰

본 연구는 국립마산결핵병원에서 입원 혹은 외래

치료 중인 활동성 결핵환자와 10년 이상 긴밀하게 접촉하면서 근무한 직원 그리고 환자의 가족 및 건강한 성인들을 대상으로 혈청을 이용한 결핵진단방법인 Xeniss Rapid TB kit의 임상적 유용성을 평가하고자 하였다. 검사의 민감도는 73.9%, 특이도는 접촉자군에서 73.2%, 건강대조군에서 93.0%였으며, 양성예측율은 84.2%, 음성예측율은 85.8%였다.

결핵은 전세계적으로 연간 새로운 환자 800만 명 중 500만명 이상이 동남아시아와 우리나라를 포함한 서태평양 연안의 나라에서 발생하고⁹, 특히 우리나라는 경제협력개발기구 가입국가 중 결핵으로 인한 사망율이 가장 높기 때문에 간편하면서 민감도가 높은 결핵진단 방법이 개발되어야 할 필요성이 제기되어 왔다.

일반적으로 혈청학적 검사는 음성예측율이 높아 활동성 결핵을 배제하는 데 유용한 검사법이지만,

Table 3. Results of Xeniss Rapid TB test according to sputum smear status, CXR[&], concomitant DM, age, and TST in patients

	N	Positive(%)	p value
Smear status			NS [#]
negative	26/38	68.4	
positive	109/143	76.2	
+	58/77	75.3	
++	28/38	73.7	
+++	23/28	82.1	
NTA classification			NS
minimal	19/30	63.3	
moderately advanced	44/63	69.8	
far advanced	73/92	79.3	
Cavity			NS
yes	81/107	75.7	
no	55/78	70.5	
Concomitant DM			NS
yes	20/29	69.0	
no	119/159	74.8	
Age			NS
≤20	7/7	100	
21-40	49/64	76.6	
41-60	51/70	72.9	
≥61	32/47	68.1	
TST induration(mm) ^{\$}			NS
<10	5/6	83.3	
≥10	51/63	81.0	
Past History for TB			NS
yes	29/38	76.3	
no	110/150	73.3	

[&]CXR means chest X-ray film.

[#]NS means not significant statistically.

^{\$}TST was performed in 53 patients and 16 close contacts.

HIV 양성환자는 민감도와 음성예측율이 낮고, 결핵유병율이 높은 지역은 양성예측율과 특이도가 낮아 결핵진단의 선별검사법으로는 한계가 있을 것으로 생각되고 있다¹⁰.

결핵균제가 만들어내는 다양한 항원에 대한 항체의 정제기술이 발달하지 못한 과거의 연구에서는 결핵에서 체액성 면역의 역할을 뚜렷이 밝혀내지 못하였다¹¹. 그러나 그 후 단클론 항체(mono-

clonal antibody, MAb) 제조기술이 발달하면서 결핵균 항원 또는 그에 대한 항체를 이용하여 결핵을 진단할 수 있다는 보고들이 나오게 되었으며, 초기에는 항원정제의 문제로 특이성이 낮은 단점이 있었으나 결핵균 항원을 발현하는 *E. coli* 클론으로부터 항원을 얻게 되었고, 정제방법의 발달로 최근에는 특이성이 많이 향상되었다. 활동성 결핵이 있는 경우 약 200여 종의 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 이들의 면역원성은 현저한 것으로 알려져 있다¹². 김 등¹³은 14-kDa, 16-kDa, 19-kDa, 23-kDa, 그리고 38-kDa항원을 이용한 ELISA검사결과에서 특이도는 모든 항원에서 90%이상이었으나 민감도는 38-kDa(70%)를 제외한 항원에서 16-44%를 보여 38-kDa를 포함한 복합항원을 이용하면 민감도를 높일 수 있을 것으로 보고한 바 있으며, 박 등¹⁴은 38-kDa항원을 포함한 복합항원으로 구성된 ELISA kit(Erum Biotech Co., Seoul, Korea)를 이용한 연구에서 민감도 78.9%, 특이도 97.5%를 보고하였다. 38-kDa의 유전자는 *M. tuberculosis*의 *M. bovis* BCG도 함유하고 있으나 BCG는 결핵균 항원량의 1/10에 불과하다는 보고¹⁵도 있어서 BCG예방접종으로 인한 38-kDa 항원에 대한 항체 수준은 높게 나타나지 않으며, 숙주의 체내에서 활발한 증식이 일어나서 임상적 수준에 도달할 정도의 감염이 없다면 항체의 체내순환이 오랫동안 지속되지도 않는 것으로 생각되고 있다. 따라서 BCG를 접종받은 건강한 성인에서는 항체가 검출되지 않으므로 결핵환자의 진단목적으로 활용함에 문제가 없을 것으로 인식되어 있다.

항원-항체결합과 또 다시 콘쥬게이트와의 결합을 위해 일정한 조건에서 일정시간동안 반응을 시킨 후 발색반응을 평가하는 ELISA기법과는 달리 최근에 개발되어 이용되고 있는 38-kDa항원을 이용한 immunochromatographic assay들은 항체가 신속하게 항원선을 지나가면서 고도의 친화성 결합이 이루어지게 되어 있다. 이는 ELISA기법의 문제점으로 지적되는 항원에 대한 비특이적 IgG 항체결합을 감소시키며, 혈청을 희석하지 않고 사용할 수 있다.

Cole 등⁴에 따르면 중국의 활동성 결핵환자를 대상으로 ICT Tuberculosis를 사용하여 도말양성 환

자 61명, 도말음성 환자 91명, 결핵이외 호흡기질환자 56명, 그리고 건강대조군 30명을 대상으로 연구한 결과, 객담 양성환자 및 객담 음성환자의 양성반응율은 각각 89%, 74%, 그리고 특이도는 93%, 양성예측율은 95%였으며, BCG예방접종이 크게 영향을 미치지 않는 것으로 보고하였다. 장 등⁵은 부산지역에서 과거 결핵치료력 유무와 관계없이 67명의 결핵환자를 동일한 방법으로 실험한 결과 민감도 79.4%, 특이도 92.2%를 보고하였다. Rosolof 등⁶은 마다가스카르에서 시행한 ICT Tuberculosis를 이용한 연구에서 민감도가 도말양성 환자에서 68.2%, 폐외결핵 환자에서 65.2%, 그리고 특이도는 83.3%로 보고하면서 ICT Tuberculosis를 임상에 단독으로 적용하기에는 예측율이 충분하지 못하다고 하였다. 최근 Gounder 등⁷은 브라질의 리오데자네이로의 한 병원의 외래에서 결핵이 의심되는 70명의 환자와 이전에 BCG접종을 받았거나 피부반응검사서 양성인 21명의 건강대조군을 대상으로 혈장을 이용하여 ICT Tuberculosis test를 시행한 결과에서 민감도 65-70%, 특이도 65-81%, 양성예측율 39-50%, 그리고 음성예측율 82-87%를 보고하였다.

본 연구에서는 결핵치료를 시작한 후 IgG항체가 치료시작 첫 3개월 동안 증가하다가 12-16개월 후 서서히 감소¹⁶하는 점을 고려하여 치료개시 후 시간대별 양성반응율의 변화를 조사하였다. 치료개시 직후 양성반응율이 가장 낮고(1개월 이내 61.5%), 4-6개월군에서 양성반응율이 가장 높으며(94.4%) 이후 점차 감소하는 양상을 나타내었다. 즉, 검사 시점에 따라 양성반응율이 다른 점을 고려하여 검사의 민감도가 평가되어야 할 것으로 생각되었다. 본 연구는 검사를 시행한 후 동일한 환자에서 추후검사를 시행하지 않았기 때문에 치료경과에 따른 항체반응이 어떻게 변해가는 지는 정확히 알 수 없었지만 대상환자의 79.8%(150/188)가 과거치료력이 없는 환자임을 고려할 때 치료개시 후 12

개월 이상 경과한 환자군에서 67.4%의 비교적 높은 양성반응을 보이는 것으로 보아 치료종결 후에도 상당기간 항체가 잔존할 것으로 예상된다.

진단당시 배균상태에 따라서 도말음성군 68.4%, +++군 82.1%로 배균정도가 심할수록 양성반응율이 증가하였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었으며, 균양성 환자에서 항체 양성반응율이 다소 높았다는 Cole 등⁴의 보고와 비교할 때도 비슷한 양상이었다. 또한 흉부 X-선 사진상 병소가 심할수록(경증 63.3%; 중등증 69.8%; 중증 79.3%), 그리고 공동성 병소가 있는 경우에 양성반응율이 높게 나타났다(75.7% 대 70.5%) 통계적 유의성은 보이지 않았다. 이러한 경향은 결핵의 혈청학적 진단에 관한 다른 연구에서도 관찰되었는데 객담검사상 도말양성이면서 균수가 많은 환자에서 정량적(quantitatively) 항체반응이 훨씬 높게 나타나는 것인지, 혹은 결핵균에 대한 정성적(qualitatively) 면역반응에 차이가 있는 것인지는 분명하지 않으며, 치료 중인 활동성 결핵환자의 경우에는 군상태나 병소의 심한 정도와 관계없이 비슷한 항체반응을 보이는 것으로 생각되었다.

장 등⁵은 과거 결핵치료력이 있는 환자가 초발환자보다 항체 양성반응율이 높은 것(87% 대 73%)은 부분적으로 초치료 후에 잔존하는 항체때문일 가능성을 지적하였으며, 본 연구에서도 과거치료력이 있는 환자에서 양성반응율이 다소 높았으나(76.3% 대 73.3%) 통계적 유의성은 없었다.

폐외결핵은 폐결핵보다 진단이 어렵고 특히 항산균 염색의 민감도도 높지 않기 때문에 혈청학적으로 진단할 수 있다면 바람직할 것이다. Wilkins 등¹⁷은 결핵성 임파선염과 결핵성 흉막염 등 73명의 폐외결핵환자에 대한 38-kDa 항체검사서 74.0%의 민감도를 보고하였다. 본 연구에서는 폐결핵을 동반하지 않은 결핵성 임파선염 혹은 결핵성 흉막염 등 폐외결핵 환자 11명 중 10명(90.9%)에서 양성반응을 보였다. 음성반응을 보인 한 명은

경부임파선염 환자로 치료개시 후 24개월 시점에 검사가 시행되었다. 따라서 치료 중인 폐외결핵 환자는 모두 양성반응을 보였으며 전체적으로 치료개시 후 검사시기가 평균 7.5개월인 점을 감안하면 폐외결핵의 경우에 양성반응율이 더 높게 나타나는 경향을 보였다. 또한 폐결핵에 결핵성 흉막염이 동반된 환자 18명의 경우에도 83.3%의 양성반응율을 보였다. 김 등¹⁸은 ICT Tuberculosis와 Bio-SignTMTB 등의 혈청학적 진단기법을 사용한 연구에서 폐외결핵보다 폐결핵 환자군에서 더 높은 감수성을 보였으며, 이는 세균 총량이 많은 진행성 폐결핵 환자가 많이 포함된 폐결핵 환자군에서 혈중 항체역가가 높게 나타난 때문으로 설명하였으며, 폐외결핵 환자군 3명 중 2명은 속립성 결핵으로 두 가지 kit 모두에서 음성 반응을 보였다. 일반적으로 속립성 결핵이 체내 면역체계의 장애가 있을 때 호발하는 점을 고려하면 속립성 결핵의 경우에는 혈청학적 검사의 유용성이 낮을 것으로 생각된다. 반면 Zhou 등¹⁹의 보고에 따르면 201명의 폐결핵 환자와 67명의 폐외결핵 환자를 대상으로 38kDa 항원을 이용한 혈청학적 검사에서 폐외결핵(76%)은 폐결핵(도말음성 70%, 도말양성 92%)과 비슷한 정도의 감수성을 보였으며, 폐외결핵 환자군에서 감수성이 높은 것은 객담 또는 기관지액에 결핵균이 흔히 부족하기 때문으로 설명하였다. 본 연구는 속립성 결핵환자를 포함하지 않았으며, 혈행성으로 전파된 폐외결핵이 혈중 항원-항체반응을 더 잘 유발한 것으로 생각되어 폐외결핵의 혈청학적 진단에 도움이 될 것으로 판단되지만 향후 좀 더 많은 폐외결핵 환자를 대상으로 연구할 필요성이 있다고 생각된다. 접촉자군에서는 의사, 간호사 등 직원의 경우 양성반응율이 57.9%(11/19)이었으나, 63명의 환자가족들은 11명(17.5%)이 양성반응을 보였다. 이러한 결과는 직원의 경우 10년 이상 장기간 활동성 결핵환자와 지속적으로 접촉하기 때문에 환자가족에 비해서 감염가능성이 더

높을 것으로 판단되며 결핵병원에서 장기간 환자와 직접 접촉한 의료인들은 발병가능성에 대한 세심한 주의가 필요할 것으로 생각된다. 이러한 결과를 근거로 Xeniss Rapid TB검사가 감염자에 대한 선별검사법으로도 사용될 수 있을 것으로 기대된다. ICT Tuberculosis를 이용한 장 등⁵의 보고에서 건강 대조군의 경우 12%, 접촉자(종합병원 종사자)군에서는 5.7%의 양성반응율을 보여 접촉자군에서 양성반응율이 오히려 낮아 본 연구결과와 상당한 차이가 있었는데, 이는 접촉자군의 경우 대상자가 본 연구의 대상기준과는 상당한 차이가 있었기 때문으로 생각된다.

투베르쿨린 피부반응검사는 69명(환자 53, 직원 16명)에서 시행하였으며 경결의 직경이 10mm이상인 경우에 Xeniss Rapid TB 양성반응율은 81.0% (51/63), 10mm미만인 경우에는 83.3%(5/6)였으며, 직원의 경우 1명을 제외한 나머지 15명에서 10mm 이상의 경결을 보였다. 우리나라에서의 PPD RT23 사용은 1998년 후반부터 1TU에서 2TU로 변경 사용되고 있으며 양성판정기준은 변화없이 그대로 통용되고 있는 과도기적 변환기간에 처해 있다. 우리나라의 투베르쿨린 피부반응검사 판독기준은 도 말양성 결핵환자와 접촉력이 있으면서 BCG반흔이 있을 때 경결반응이 10mm이상이면 양성으로 판정하고, 흉부 X-선 검사에서 유소견이면 결핵치료를, 무소견이면 결핵예방 화학요법을 권유하고 있다²⁰. 본 연구에서 투베르쿨린 피부반응검사를 시행한 대상자 수와, 건강성인에서는 피부반응검사를 하지 못한 한계가 있지만 환자의 경우 67.9%(36/53), 직원의 경우 93.8%(15/16)로 오히려 접촉자군에서 높은 투베르쿨린 양성반응율을 보여 PPD RT23 2TU를 이용한 피부반응검사의 임상적 유용성에 한계가 있는 것으로 생각된다.

당뇨병의 동반유무에 따라서는 69.0%와 74.8%로 당뇨병이 동반된 군에서 양성반응율이 다소 낮았다. 환자의 나이에 따른 반응은 20세 이하에서

100%(7/7)이었으나, 61세 이상은 68.1%(32/47)로 나이가 많을수록 양성반응율이 점차 감소하는 경향을 보였다. 이러한 사실은 통계적 유의성은 없지만 당뇨병이 동반되거나 고령인 결핵환자일수록 체액성 면역반응력이 감소하는 것으로 추정된다. 현재까지는 노인에서 활동성 결핵의 혈청학적 진단에 대한 체계적인 연구가 없는 실정이며, 연령 자체가 면역체계에 장애를 일으켜 결핵균 항원에 대한 항체반응에 영향을 미치는 지에 대해서는 여전히 의견이 다양하다. 나이가 들수록 BCG예방접종 후 혈청학적 양전율(seroconversion)이 낮고 항체가 감소하는 점에서 체액성 면역이 감소하는 것이 관찰되었으며, 이는 주로 T-helper cell의 기능이 소실되기 때문으로 생각되고 있다²¹. 따라서 향후 노인 결핵환자에서 혈청학적 진단에 관한 전향적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

장 등⁵의 보고에서는 치료개시 후 검사시점에 대한 언급이 없으며, Gounder 등⁷은 결핵이 의심되지만 확진되지 않은 상태에서 검사를 시행하였으며 추후 대상자의 29.0%가 결핵으로 확진되어 본 연구의 57.5%의 유병율과는 연구대상자의 구성에 차이가 있었다. Xeniss Rapid TB는 기존에 소개된 ICT Tuberculosis(ICT Diagnostics, Sydney, Australia)와 비교할 때 전체적인 민감도와 특이도는 73.9%와 81.3%(ICT Tuberculosis의 경우 민감도 65.2-89.0%, 특이도 83.3-93.0%)로 특이도가 다소 낮지만 폐외결핵의 경우 90.9%(ICT Tuberculosis의 경우 65.2%), 결핵성 흉막염이 폐결핵과 동반된 경우는 83.3%의 양성반응율을 보여 폐외결핵의 진단에는 오히려 더 나은 결과를 보였으며, 치료개시 후 4-6개월 환자군에서는 94.4%의 양성반응율을 보였다. 검체사용량은 ICT Tuberculosis의 경우 35-50 μ l에 비해 Xeniss Rapid TB는 100 μ l가 필요하지만 채혈량은 2-3cc 정도로 거의 차이가 없었다. 또한 기존의 ICT Tuberculosis는 반응선이 4개의 띠로 구성되어 있으나 Xeniss Rapid

TB는 대조선과 반응선 2개로 구성되어 반응결과 판독이 상대적으로 용이할 것으로 생각된다.

본 연구의 결과에서 결핵진단시점으로 볼 수 있는 치료개시 1개월 이내 환자의 양성반응율이 61.5%였으며, 건강대조군은 7.0%로 이를 기준으로 민감도(61.5%)와 특이도(93.0%)를 판정해야 할 것으로 생각된다. 또한 진단당시 객담검사상 음성이었던 38명의 환자에서 68.4%의 양성반응율을 나타내어 본 검사방법이 세균학적 진단방법의 보조적 진단수단으로서 유용할 것으로 생각되며, 짧은 기간 환자와 접촉한 환자의 가족에서 17.5%인 것에 비하여 10년 이상 결핵병원에서 활동성 결핵환자와 밀접한 접촉을 한 의사와 간호사 등의 양성반응율이 57.9%로 높은 것은 결핵균에 노출되는 시간에 비례하여 감염가능성이 높을 것으로 추정됨으로 본 검사방법은 감염자의 진단방법으로도 유용할 것으로 생각된다. 진단당시의 배균정도, 병소의 심한 정도, 공동유무, 과거치료력 유무, 당뇨동반 유무, 그리고 나이 등이 통계적 유의성은 보이지 않았지만 Xeniss Rapid TB검사의 결과에 영향을 미치는 인자들로 생각되었다.

그러나 본 연구는 동일한 환자에서 치료경과에 따른 검사결과의 추이를 조사하지 못하여 항원-항체반응이 어떻게 변해 가는 지에 대하여 향후 조사할 필요성이 있다. 접촉자군의 경우에는 10년 이상 결핵병원에서 활동성 폐결핵환자와 지속적으로 접촉한 직원들을 주 대상으로 하였으므로 결핵유병율이 1%대인 우리나라의 결핵실태를 감안하여 다양한 환경의 접촉자군에 대한 연구도 필요할 것으로 생각된다. 또한 소아환자에 대한 연구도 필요할 것으로 생각된다.

배 등²²⁾에 의하면 이러한 혈청학적 진단방법의 진단능률은 유병률에 따라서 크게 달라질 수 있으므로 기존의 혈청학적 결핵진단 방법들이 현재 사용중인 도말 및 배양 등의 균검사 방법을 대체할 수 있는 수준이 아님을 간과해서는 안될 것으로

생각된다. 반면 혈청학적 결핵진단방법은 검사시점과 배균상태, 병소의 심한 정도, 당뇨병의 동반 혹은 노인 등의 면역기능저하, 그리고 과거치료력 등에 따라서 양성반응율이 달라질 수 있음도 고려되어야 할 것으로 생각된다.

결론적으로 Xeniss Rapid TB 검사는 신속하고 간편하며, 흉부 X-선 사진, 객담 도말 및 배양검사 등과 함께 보조적인 진단방법으로 사용될 수 있으며, 세균학적으로 진단이 불확실한 폐결핵, 폐외결핵의 진단 및 감염자의 진단에도 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 또한 향후 동일한 환자에서 연속적인 혈청학적 검사로 치료경과의 판정에 도움이 되는 지표를 개발할 가능성도 있을 것으로 기대된다.

요 약

배 경 :

결핵의 조기치료와 전염방지를 위해서 신속하고 간편한 결핵진단법의 개발이 요구되고 있는 실정에서 결핵균에 특이한 38-kDa단백을 포함하여 금콘주게이트에 결합된 유전자재조합 항원을 혈청과 반응시켜 항결핵 항체를 발견하도록 고안된 카드 형태의 혈청학적 진단기법인 Xeniss Rapid TB kit가 결핵의 진단에 유용하게 이용될 수 있는 지를 알아보고자 하였다.

방 법 :

188명의 결핵환자(폐결핵 177명, 폐외결핵 11명)와 82명의 접촉자, 그리고 57명의 건강한 성인을 대상으로 하였으며, 연구대상자의 혈청을 이용하여 Xeniss Rapid TB kit의 민감도, 특이도, 양성예측율, 그리고 음성예측율을 조사하였다.

결 과 :

전체적인 민감도는 73.9%, 특이도 81.3%, 양성예측율 84.2%, 그리고 음성예측율은 85.8%였다. 진단시점부터 검사시점간의 시간간격에 따라서는 1개월

이내에서 61.5%로 가장 낮고 점차 증가하여 4-6개월 시점에 94.4%로 가장 높았으며 이후 점차 감소하여 12개월 이상 경과한 시점에서는 67.4%의 양성반응율을 보였다. 폐외결핵 환자(90.9%)에서는 폐결핵 환자(72.8%)보다 양성반응율이 높았다. 객담도말양성(76.2 대 68.4%), 방사선 사진상 중증(79.3 대 63.3%), 공동성 병소(75.7 대 70.0%), 과거 치료력(76.3 대 73.3%)이 있는 환자군에서 상대적으로 높은 양성반응율을 보였으며, 당뇨병을 동반한 환자군(69.0 대 74.8%)과 노인환자군(68.1 대 100%)에서는 상대적으로 낮은 양성반응율을 보였다. 건강성인군 7.0%, 환자가족군 17.5%에 비해 병원직원군에서 57.9%의 양성반응율을 보여 활동성 결핵환자와 장기간 지속적으로 접촉한 군에서 높은 양성반응율을 보였다.

결 론 :

Xeniss Rapid TB kit는 신속하고 간편하며, 민감도와 특이도가 비교적 높고 특히, 폐외결핵에서는 높은 양성반응율을 보여 폐결핵, 폐외결핵, 그리고 감염자의 진단에 보조적 검사법으로 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. 김상재. 결핵의 진단. 결핵 및 호흡기질환 1998; 45:676-86.
2. Folgueira 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;31:1019-26.
3. Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA, III-Quantitization of specific antibodies by enzyme-labelled anti-immunoglobuline in antigen-coated tubes. Tuberc 1976;57-67.
4. 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. Tuberc Lung Dis 1996; 77:363-8.
5. 장철훈, 손한철, 류기찬, 박순규, 이선희, 김성률 등. 결핵 진단에서 ICT Tuberculosis Test Kit의 효용성. 결핵 및 호흡기질환 1999;46: 473-80.
6. Rosolof V, Rasolonalona T, Ramarokoto H, Chanteau S. Predictive values of the ICT Tuberculosis test for the routine diagnosis of tuberculosis in Madagascar. Int J Tuberc Lung Dis 2000;4:184-95.
7. C Gounder, FC Mello, MB Conde, WR Bishai, AL Kritski, RE Chaisson, SE Dorman. Field evaluation of a rapid immunochromatographic test for tuberculosis. J Clin Microbiol 2002;6:1989-93.
8. TB: A CLINICAL MANUAL FOR SOUTH EAST ASIA. WHO/TB/96.200, 1997.
9. Snider DE Jr, Ravigliione M, Kochi A. Chapter 1. Global burden of tuberculosis. In: Bloom BR, editor. Tuberculosis. Washington DC: ASM Press; 1994. p. 4-5.
10. Chan ED, Heifets, MD Iseman. Immunologic diagnosis of tuberculosis: a review. Tuberc Lung Dis 2000;80:131-40.
11. 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;11:514-20.
12. 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.
13. 김대연, 최인환, 박승규, 조상래, 송선대. 다양한 특이 결핵항원을 이용한 결핵항체검사(ELISA)의 진단적 유용성. 결핵 및 호흡기질환 1999;47(6):757-67.
 14. 박승규, 김필호, 김승철, 최인환, 조상래, 송선대. 폐결핵진단에서 결핵균 혼합항원을 이용한 혈청학적 검사의 유용성에 관한 연구. 결핵 및 호흡기질환 2000;49(5):558-67.
 15. Young D, Kent L, Rees A. Immunological activity of 38-kilodalton protein purified from *Mycobacterium tuberculosis*. Infect Immun 1986;54:177-83.
 16. 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.
 17. Wilkins EG, Ivanyi J. Potential value of serology for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. Lancet 1990;336:641-50.
 18. 김덕겸, 권성연, 이석영, 박계영, 정경해, 이춘택 등. 혈청학적 방법을 이용한 결핵 진단방법의 효용성. 결핵 및 호흡기질환 1999;47(5):586-94.
 19. Zhou AT, Ma WL, Zhang PY, Cole RA. Detection of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis patients with the 38-kDa antigen from *Mycobacterium tuberculosis* in a rapid membrane-based assay. Clin Diagn Lab Immunol 1996;3:337-41.
 20. 보건복지부, 국립보건원. 2000년 결핵관리지침 (방역 00-2), 보건복지부 결핵사업지침 1999(방역 99-1).
 21. Miller RA. The aging immune system: Primer and prospectus. Science 1996;273:70-4.
 22. 배길한, 박은미, 김상재. 결핵균 분비항원을 이용한 결핵의 혈청학적 진단 방법에 대한 평가. 결핵 및 호흡기질환 2000;48(3):315-23.