

결핵항원에 대한 혈청학적 검사의 진단적 유용성

연세대학교 의과대학 내과학교실, 폐질환연구소, 미생물학교실*

박재민, 박윤수, 장윤수, 김영삼, 안강현, 김세규, 장 준, 김성규, 이원영, 조상래*

= Abstract =

Diagnostic Significance of the Serologic Test Using Antigen of Mycobacterium Tuberculosis for Antibody Detection by ELISA

Jae Min Park, M.D., Yeon Soo Park, M.D., Yeon Soo Chang, M.D., Young Sam Kim, M.D.,
Kang Hyun Ahn, M.D., Se Kyu Kim, M.D., Joon Chang, M.D., Sung Kyu Kim, M.D.,
Won Young Lee, M.D., Shang Rae Cho, Ph.D.*

*Department of Internal Medicine, Institute of Chest Diseases, and Microbiology**
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Diagnosis by direct microscopy and/or by culture of the *Mycobacterium tuberculosis* from body fluids or biopsy specimens is "Gold standard". However, the sensitivity of direct microscopy after Ziehl-Neelsen staining is relatively low and culture of mycobacteria is time consuming. Detection of mycobacterial DNA in clinical samples by the polymerase chain reaction is highly sensitive but laborious and expensive. Therefore, rapid, sensitive and readily applicable new tests need to be developed.

So we had evaluated the clinical significance of serologic detection of antibody to 38 kDa antigen, which is known as the most specific to the *M. tuberculosis* complex, and culture filtrate antigen by ELISA in sputum AFB smear negative patients.

Method : In this study, culture tests for acid fast bacilli with sputa or bronchial washing fluids of 183 consecutive patients who were negative of sputum AFB smear were performed. Simultaneously serum antibodies to 38 kDa antigen and unheated culture filtrate of *M. tuberculosis* were detected by an ELISA method.

Results : The optical densities of ELISA test with 38 kDa and culture filtrate antigen were significantly higher in active pulmonary tuberculosis cases than in non tuberculous pulmonary diseases ($p < 0.05$), but in patients with active pulmonary tuberculosis, those of the sputum culture positive patients for *M. tuberculosis* were not significantly different from those of the sputum culture negative cases ($p > 0.05$). In the smear-negative active pulmonary tuberculosis patients, the sensitivity of the ELISA using 38 kDa antigen and culture filtrate

was 20.0% and 31.4%, respectively. The specificity was 95.3% and 93.9%, respectively.

Conclusion : In active pulmonary tuberculosis but smear negative, the serologic detection of antibody to 38 kDa antigen and culture filtrate by ELISA cannot substitute traditional diagnostic tests and does not have clinically significant role to differentiate the patient with active pulmonary tuberculosis from other with non-tuberculous pulmonary diseases.

Key words : Active pulmonary tuberculosis, Serologic detection of antibody, 38 kDa antigen, Culture filtrate

서 론

결핵은 오래전부터 인류를 괴롭혀온 감염성 질환이며 현재도 많은 사람들이 이 질환으로 인해 고통을 받거나 사망하고 있다. 아시아와 아프리카의 저개발국가에서 아직도 높은 유병율을 보이고 있으며, 서구사회에서도 유병율이 감소하다가 80년대 중반 이후 HIV 감염과 연관되어 유병율이 다시 증가하는 추세를 보이고 있으며 특히 다제내성균주의 출현이 새로운 문제로 대두되고 있는 실정이다. 우리나라에서도 1995년 결핵 실태조사에서 엑스선상 폐결핵 유병율은 1.03%로 꾸준히 감소 추세에 있으나 항암약물요법치료 및 면역억제제사용 등으로 인한 면역결핍상태나 인구의 고령화에 따른 폐결핵 재활성의 증가와 폐암 등의 다른 폐질환과의 감별이 새로운 문제로 대두되고 있다. 결핵의 진단은 임상적 검체에서 결핵균을 발견하는 것이 가장 정확한 방법이며 통상적인 검사로 이용되어 왔으나 객담도말 검사의 경우 민감도가 낮고 배양검사의 경우 4주 이상의 기간이 소요된다는 문제가 있다. 최근 BACTEC 등 새로운 배양검사법이나 중합효소 연쇄반응을 이용한 방법이 개발 되었으나 방법과 비용의 문제로 널리 이용되기는 아직 어려운 실정이다.

이전부터 결핵을 진단하기 위한 비교적 저렴하고 손쉽게 시행할 수 있는 혈청학적 방법들이 시도되어 왔는데 다른 균들과의 교차반응 때문에 널리 시행되지 못하다가 1972년 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 방법이 개발되고 균종에 특이한 항원과 항체를 이용할 수 있게 되면서 혈청내 결핵균 특이 항원에 대한 항체 검출이 객담 항산균 도말양성인 환자에 있어서는 기존의 검사 방법에 근접하는 민감도

와 특이도를 보인다는 보고들이 많다. 그러나 임상적으로 진단이 용이치않은 객담도말음성인 활동성 폐결핵환자에 있어서는 보고자마다 다른 결과를 보고하고 있다.

이에 현재까지 알려진 항체 중 결핵균에 가장 특이한 것으로 알려진 38 kilo-dalton 항원의 항체를 ELISA로 검출하는 방법이 결핵의 유병율이 높은 우리나라에서 임상적 유용성이 있는지를 알아보았다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

1995년 1월부터 1997년 7월까지 연세대학교 세브란스병원 호흡기내과에 입원한 폐질환환자 중 객담이나 기관지세척액에서 항산균 도말검사상 음성이었던 183명의 폐질환 환자를 대상으로 하였다. 활동성 폐결핵으로 진단받은 환자 중 객담이나 기관지세척액 배양검사상 양성인 18예, 배양은 음성이나 임상적, 방사선학적 검사 및 조직학적 검사상 활동성 폐결핵으로 진단받고 치료적 항결핵제를 시도하여 효과가 인정된 17예, 활동성 폐결핵은 아니나 과거력이 있었던 34예, 결핵성 흉막염과 임파절염 9예 및 활동성 결핵의 증거도 없고 과거력도 없는 경우는 105예 등 5군으로 구분하였다.(Table 1, 2)

2. 연구방법

1) 검체의 채취 및 환자에 대한 조사
환자들의 임상기록을 토대로 인적 사항, 임상 진단,

Table 1. Groups, age, and sex distribution of patients

Group	male			female			Total
	No.	mean age	±SD	No.	mean age	±SD	
C(+)PT(+)	9	54.5	±11.5	9	52.5	±17.5	18
C(-)PT(+)	9	48.6	±16.9	8	52.5	±20.0	17
PT(-)PHx(+)	27	67.3	± 9.2	7	46.3	±17.8	34
TP or TL	6	32.3	± 5.7	3	24.0	± 5.3	9
PT(-)PHx(-)	66	60.8	±10.5	39	59.1	±11.8	105
	117	58.3	±12.9	66	54.3	±16.6	183

C : sputum culture, PT : active pulmonary tuberculosis, Phx : past Hx of pulmonary tuberculosis, TP : Tuberculous pleurisy, TL : Tuberculous lymphadenitis, SD : standard deviation

Table 2. Diagnoses of non-tuberculous pulmonary diseases

Diagnosis	PT(-)PHx(+)	TP or TL	PT(-)PHx(-)
폐 암	21		69
감염성 폐질환	3		8
만성폐쇄성폐질환	3		8
고립성 폐질환			4
간질성 폐질환	1		4
전이성 폐암	3		4
육아종성 폐질환			2
폐흡충			2
aspergilloma	3		1
결핵성 흉막염		8	
결핵성 임파절염		1	
기 타			3
Total	34	9	105

결핵의 과거력 유무, 결핵의 치료 여부를 조사하였다. 객담 도말 검사 및 배양 검사를 위해 아침기상 후 공복상태에서 객담 1 ml 이상을 1차례씩 3일간 3번 채취하였고, 객담량이 적은 경우는 normal saline 연무를 통한 유도객담검사 혹은 굴곡성 기관지경을 시행하여 기관지세척액을 채취하였다. 항체 검사를 위해 입원 첫째날 전혈 5ml 이상을 채혈하였다.

2) 결핵균 항체 검사

각 well에 μl 의 recombinant 38 kDa 항원(연세 의대 조상래 교수 제공, 이하 r38 kDa 항원으로 약함)과 결핵균 culture filtrate 항원(연세 의대 조상래 교수 제공)을 넣고 4°C에서 하룻밤 동안 흡착시킨 후 각 well을 PBST 용액으로 세척하고, 200 μl 의 PBST-0.5%(w.v) bovine serum albumin을 넣고 37°C에서 1시간 동안 정치시켰다. 1 : 300으로 희석한 혈청 100 μl 를 넣고 37°C에서 90분간 반응시켰다. 각 well을 세척한 후 PBST-NGS 용액으로 1 :

Table 3. The optical densities of r38kDa and culture filtrate

Antigen	Group	No. of Pt	Optical density	
			mean ± SD	
38 kDa	C(+)PT(+)	18	0.58 ± 0.90	**
	C(-)PT(+)	17	0.64 ± 0.93	**
	PT(-)PHx(+)	34	0.26 ± 0.49	*
	TP or TL	9	0.18 ± 0.28	
	PT(-)PHx(-)	105	0.16 ± 0.32	**
Culture filtrate	C(+)PT(+)	18	0.82 ± 0.96	**
	C(-)PT(+)	17	0.91 ± 0.97	**
	PT(-)PHx(+)	34	0.33 ± 0.60	*
	TP or TL	9	0.29 ± 0.24	
	PT(-)PHx(-)	105	0.15 ± 0.34	**
		183		

* : $p < 0.05$, ** : $p > 0.05$

5000으로 희석한 $100\mu\ell$ 의 affinity-purified peroxidase conjugated anti-human IgG (Calbiochem, San Diego, CA, U.S.A.)를 넣고, 37°C 에서 1시간 동안 반응시켰다. 각 well을 세척한 후 H_2O_2 -phenylenediamine substrate를 첨가하고 상온에서 15분간 반응시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) 결과의 판정 및 분석

결핵균 항체 검사 판정의 기준치는 비결핵 환자들 중 결핵의 과거력이 없는, 즉 제 4환자군의 혈청에서 측정된 흡광도의 하위 95%를 취하여 이들의 평균값에 표준 편차의 2배를 더한 값으로 정하고, 이 값 이상인 경우 검사 양성, 미만인 경우를 검사 음성으로 하였다. 이러한 방법으로 r38 kDa 항원에 대한 항체 검사의 판정 기준은 흡광도 0.80으로 하였고, 결핵균 culture filtrate 항원에 대한 항체 검사 판정 기준은 흡광도 0.84로 하였다.

민감도는 검사를 시행한 질병군에서 양성 결과가 나온 비율로, 특이도는 검사를 시행한 비결핵성 폐질환

군에서 음성 결과가 나온 비율로 정의하였다.

통계적 분석은 SAS 통계 packag를 이용하여 흡광도가 활동성 결핵군과 대조군 사이에 차이가 있는지를 t -test를 이용해 분석하였고, 각 질환군간의 비교는 ANOVA test로 하였으며, p 값이 0.05 이하인 경우 유의한 차이가 있는 것으로 분석하였다.

결 과

1. 객담 결핵균 배양 결과

활동성 폐결핵환자 35명 중 51.8%인 18명에서 결핵균이 배양되었다.

2. 환자군별 r38 kDa와 culture filtrate 항원에 대한 흡광도 (Table 3)

r38 kDa 항원의 기준치를 0.80, culture filtrate의 기준치를 0.84로 하였을 때,

1) 활동성 폐결핵환자군에서 비결핵성 폐질환환자군에 비해 유의하게 높았다. ($p < 0.05$)

2) 활동성 폐결핵환자군에서 배양양성군과 음성군

Table 4. The sensitivity and specificity of ELISA test

검사법	활동성 폐결핵	기타 폐질환
	35	148
배양 양성	18 (51.8%)	0
배양 음성	17	148 (100%)
38 kDa 양성	7 (20.0%)	7
38 kDa 음성	28	141 (95.3%)
CF 양성	11 (31.4%)	9
CF 음성	24	139 (93.9%)
38 kDa 양성+CF 양성	14 (40.0%)	13
38 kDa 음성+CF 음성	21	135 (91.2%)

사이에 흡광도의 유의한 차이는 없었다.($p>0.05$)

3) 비결핵성 폐질환환자군에서 결핵의 과거력 유무에 따른 흡광도의 유의한 차이는 없었다.($p>0.05$)

4) 활동성 폐결핵환자군에서 결핵성 흉막염환자군보다 흡광도가 유의하게 높았다.($p<0.05$)

5) 결핵성 흉막염환자군과 비결핵성 폐질환환자군 사이에 흡광도의 유의한 차이는 없었다.($p>0.05$)

3. ELISA검사의 민감도 및 특이도(Table 4.)

1) r38 kDa 항원의 민감도는 결핵균 배양검사상 양성인 활동성 폐결핵환자군에 있어서 18명중 4명에서 양성으로 22.2%, 특이도는 148명 중 141명에서 음성으로 95.3%였으며, 배양검사상 음성인 경우는 17명 중 3명에서 양성으로 17.8%의 민감도를 보여 전체민감도는 20.0%이었다.

2) Culture filtrate의 민감도는 결핵균 배양 검사상 양성인 활동성 폐결핵환자군에 있어서 18명 중 5명에서 양성으로 27.8%, 특이도는 148명 중 139명에서 음성으로 93.9%였으며, 배양검사상 음성인 경우는 17명 중 6명에서 양성으로 35.3%의 민감도를 보여 전체 민감도는 31.4%이었다

3) r38 kDa 항원과 culture filtrate를 조합하였을 때 민감도는 40.0%로 상승하였으나 특이도는 91.2%로 감소하였다.

고 찰

1882년 Koch가 결핵균을 발견한 이후 임상 검체로부터 균을 검출하는 것이 결핵의 진단에 있어 근간을 이루고 있는데, 항산균 도말검사는 간단하고 신속하게 결과를 확인 할 수 있으며 특이도는 98% 이상으로 높지만 민감도가 40-50% 이하로 낮고^{1,2)}, 검체당 약 15분의 검경 시간이 필요해 대량의 검체 처리 능력에는 한계가 있다. 배양 검사의 경우 소수의 균도 검출이 가능하지만 기법이 복잡하고 통상적인 고형 배지의 경우 4주 이상의 기간이 필요하다는 문제가 있다. 최근 *Mycobacterium*에 선택적인 액체 배지에 ¹⁴C-palmitic acid를 첨가하여 균의 대사에 의해 생성되는 ¹⁴CO₂를 측정하여 균배양 및 약제 감수성 결과를 7-14일만에 알 수 있는 BACTEC radiometric broth system이 개발되었으나 동위원소를 취급해야 하고 장비와 운영비가 매우 고가라는 문제점을 가지고 있다³⁾.

중합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction, PCR)을 이용하여 결핵균에 특이한 DNA 절편이나 rRNA를 검출해내는 방법은 민감도 및 특이도가 매우 높고 수 시간만에 검사 결과를 알 수 있는 장점이 있으나⁴⁾ 그만큼 외부 오염에 대해 매우 민감하고 고도로 숙달된 전문가가 필요하며 방법이 복잡하고 비용이

많이 드는 단점이 있다.

1898년 Arloing이 agglutination test를 이용한 후부터 여러 혈청학적 진단방법들이 시도되었으나, 다른 균과의 교차반응때문에 민감도 및 재현성이 낮아 임상에서 이용하는데 한계가 있었다. 그러나 1972년 ELISA법이 개발되고 Nassau 등⁵⁾이 이 방법을 이용하여 결핵진단에 57%의 민감도와 98%의 특이도를 보고한 후, ELISA법을 기본으로 하는 여러 혈청검사법과 결핵균에 특이한 정제 항원 및 단백분해 항체들이 개발됨에 따라 민감도와 특이도가 향상되어 기존의 결핵진단법들의 단점을 보완하기 위해 혈청학적 검사에 대한 연구가 꾸준히 진행되어왔다.

혈청학적 검사는 객담항산균음성 결핵이나 폐외결핵같이 통상적인 방법으로 진단에 실패했거나 어려운 경우를 진단하는데 중요한 역할을 할 것으로 기대하고 있으나, 객담도말양성인 환자에 있어서는 대부분 높은 민감도와 특이도를 보이는 반면, 객담도말음성의 경우에는 보고자마다 달라 Chan 등⁶⁾은 16%, Steele 등⁷⁾은 62%의 민감도를 보고하는 등 다소 차이가 있다. 폐외결핵은 검체에서 결핵균을 증명하기 어렵고 검체 자체를 얻기도 힘들어, 혈청학적 검사의 필요성이 더욱 크다고 여겨지나 ELISA를 이용한 혈청항체검출법의 유용성에 대해서는 아직 확실히 정립되지 않아 보고자마다 차이가 있으며, 폐외 결핵의 종류에 따라서도 크게 차이나 결핵성 흉막염의 경우 민감도가 14%-90%까지 보고되고 있다⁸⁻¹⁰⁾. 그외 투약중인 환자의 compliance를 감시, 예방적 화학요법이 필요한 경우의 진단 및 새로운 vaccine의 효과판정에 혈청학적 검사가 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다¹¹⁾.

ELISA를 이용한 혈청학적 항체검출방법에 있어서는 항원의 역할이 중요한데, 균특이 항원이 의미있는 면역반응을 유발해야 하고 교차반응이 적어야 민감도 및 특이도를 높일 수 있다. culture filtrate내의 분비 항원을 포함한 여러 항원들, M. bovis BCG와 같은 정제되지 않은 형태의 항원, purified protein derivatives(PPD)와 그의 반정제 형태인 A60 antigen,

lipoarabinomannan(LAM), 38 kDa 항원, 30 kDa 항원, phenolic glycolipid등의 정제 또는 반정제된 항원 등이 혈청학적 진단에 이용되고 있는데, 이중 38 kDa가 현재까지는 가장 민감하고 특이한 결핵항원으로 알려져 있어¹²⁾ Daniel 등¹³⁾은 38 kDa를 이용한 ELISA 검사법으로 63.4%의 민감도와 98.3%의 특이도를 보고하였다¹⁴⁻¹⁹⁾. 그 후 여러 연구에서 지역적인 차이는 있으나 민감도는 대략 49-89%, 특이도는 98-100%의 결과를 얻었다고 보고하였다. 최근에는 Cole 등²⁰⁾이 rapid immunochromatographic assay를 이용하여 민감도 93%, 특이도 95%로 높은 민감도를 보고하였다. 그 외 다른 결핵균 특히 항원에 대한 연구 중 30 kDa 항원은 민감도 62-78%, 특이도 97-100%를 보였고²¹⁾, 최근에는 glycolipid항원을 이용한 ELISA 검사법으로 96%의 민감도를 보였다는 보고⁸⁾도 있는 등 여러 다른 결핵균 항원에 대한 항체검출법도 비교적 높은 민감도와 특히 100%에 가까운 특이도를 보였다²²⁻²⁵⁾. 그러나 어느 특정한 균특이 항원이 단독으로 활동성 결핵에서 면역반응을 자극하여 항체형성을 유발한다는 증거는 많지 않다²⁶⁾. 또한 HIV감염환자에서는 항체형성이 적어 혈청학적 검사의 민감도가 매우 낮고¹⁸⁾, 일부 HLA-DR8의 표현형인 경우 38 kDa 항원에 대한 항체형성능력이 현저히 감소해 있는 것으로 알려져 있는²⁷⁾ 등 환자의 면역상태에 따라 항체 생성 능력이 다르므로 단독 항원에 대한 검사보다는 몇 가지 균특이 항원을 조합하여 사용하면 민감도를 높일 가능성이 있다^{13, 14, 18, 26)}. 그러나 이 연구들의 환자군은 대부분 결핵의 유병률이 높은 지역의 객담도말양성환자이거나 나이가 젊은 환자들로 폐결핵을 진단하는데 비교적 어렵지 않은 환자들이 많았고, 대조군들도 다른 호흡기질환이 전혀없는 젊은 정상인들로 구성되어 있기 때문에 기준치가 낮아 높은 민감도와 특이도를 보인 것으로 여겨진다. 즉 실제 임상에서 많이 경험하는 폐결핵은 의심되나 객담도말검사상 항산균이 검출되지 않는 경우 혹은 폐암 등 다른 폐질환과의 감별시에는 민감도가 어떻게 변하는지에 대해서는 아직 확실한 연구가 없는 실정이다. 여러 연

구에서 결핵이 심할수록 객담항산균도말검사상 항산균을 검출할 수 있는 확률은 증가하고 항체형성 역시 증가하여 혈청학적 검사의 민감도가 증가하는 것은 잘 알려져 있는 사실이다. 그러나 임상에서 접하게 되는 활동성 폐결핵환자들이 반드시 진행된 결핵환자만은 아니며 최근에는 진행된 결핵환자의 빈도가 감소하는 추세이므로 세균학적 진단이 용이하지 않은 경우가 많다. 특히 폐암에서 38 kDa 항원에 대하여 가양성이 증가함이 알려져 있고¹³⁾, Jakett 등¹⁶⁾은 객담도말양성인 경우 38 kDa에 대한 항체가 높아지나 객담도말음성인 활동성 폐결핵 13예 중 3명에서만 항체검사상 양성이었다고 하였으며, Chan 등⁶⁾은 객담도말음성인 경우 38 kDa 항원의 민감도는 16%였다는 보고를 하였다. 그러나 Steele 등⁷⁾은 객담도말음성인 경우에 민감도는 62%였다는 보고를 하여 지역적 혹은 미세한 방법적 차이에 의해서 민감도가 크게 변할 수 있음을 시사한다. 그러므로 혈청학적 검사를 진단에 이용하려면 각 지역마다 혈청학적 검사의 유용성에 대한 검증이 필요할 것으로 여겨진다.

본 연구에서 객담항산균도말 음성인 활동성 폐결핵 환자군에서 객담배양의 결과와 상관없이 활동성 폐결핵의 진단에 있어서 r38 kDa 항원에 대한 혈청학적 항체검사의 민감도는 약 20% 정도로 매우 낮았고, culture filtrate 항원도 31.4%, 38 kDa 항원과 culture filtrate 항원을 조합했을 때도 40%의 낮은 민감도를 보이며 결핵균 배양검사의 민감도 51.8%보다도 낮아 확진을 위한 검사로 사용하기는 어려울 것으로 여겨진다. 이는 환자군의 흡광도는 유의하게 증가하여 있지만 대조군도 연령이 많아 과거에 결핵균에 노출되었을 가능성이 많고, 또한 60% 이상이 폐암환자로 항체가 높았을 가능성이 있는데, 이러한 이유들에 의해서 대조군 혈청의 흡광도가 비특이적으로 높아 기준치가 너무 높게 책정되었기 때문으로 생각된다. 대부분의 결핵에 대한 혈청학적 검사결과는 대조군과 질환군사이에 중복되는 부위가 많기 때문에 검사의 기준치에 따라 민감도와 특이도가 영향을 받는다. 예를 들어 민감도를 높이면 반대로 특이도와 양성예측

도가 감소되어 위양성이 많아진다. 위양성의 결과로 필요치 않은 치료를 하거나 다른 질환을 진단하는데 소홀하게 되는 우를 범할 수 있으므로 혈청학적 검사에서 기준치를 정할 때 감수성을 높이기 보다는 특이도를 더 높이려는 경향이다. 따라서 여러 가지 호흡기 질환이 혼재하는 병원에 입원하는 환자들, 특히 나이가 많은 환자에 있어서 객담도말음성인 경우 객담배양 결과가 나오기 전에 38 kDa 항원에 대한 혈청 항체 검사를 통해 활동성 폐결핵을 조기에 감별하여 항결핵제를 투여하려는 시도는 혈청학적 검사의 민감도가 너무 낮아 임상적 유용성이 적은 것으로 생각된다. 특히 우리나라에서와 같이 비교적 결핵의 유병률이 높고, 과거에 결핵균에 대부분이 노출되어 tuberculin skin test에 음성인 사람을 찾기 힘들고, 비교적 객담 항산균 도말검사나 배양검사가 어렵지 않게 시행될 수 있는 실정에서는 고령에서 다른 질환으로부터 활동성 폐결핵을 감별하는데 기존의 다른 진단적 검사에 비해 유용성이 떨어질 것으로 여겨진다. 그러나 혈청학적 항체검출검사법이 다른 박테리아성 질환의 진단에 이용되고 있고, 혈청학적 검사가 지니고 있는 저렴하고 손쉽게 시행할 수 있다는 장점이 있으며 결핵성 뇌막염같이 조기 진단하여 빨리 치료하지 않으면 치명적인 결과를 초래할 수 있는 경우 등에서 유용할 가능성은 충분히 있으므로, 좀 더 민감하고 특이한 결핵균 특이 항원을 찾기 위한 연구는 계속되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경 :

결핵의 유병률은 감소하는 추세이나 노인, 항암약물요법, HIV감염 등에 의해 면역기능이 약화된 환자에 있어서 결핵의 발생이 문제가 되고 있으며, 특히 다제내성균주의 출현은 큰 문제이다. 결핵진단법 중 체액에서 도말검사나 배양검사를 통해서 *Mycobacterium tuberculosis*를 검출하는 것이 표준진단법이나, 도말검사는 상대적으로 민감도가 낮고 배양검사는 오랜시

간이 소요된다. 중합연쇄반응을 이용하여 결핵균의 DNA를 검출하는 방법은 매우 민감하나 비용이 많이 소요된다. ELISA (enzyme linked immunosorbent assay)를 이용하여 혈청에서 결핵균 특이항원에 대한 항체를 검출하는 방법이 객담도말음성인 활동성 폐결핵환자를 다른 비결핵성 폐질환으로부터 감별하는데 유용한지를 확인하고자 하였다.

방 법 :

연세대학교 세브란스 병원에 입원한 183명의 객담도말음성인 폐질환환자에서 항산균에 대한 객담도말 및 배양검사와 결핵균 특이 항원인 recombinant 38 kilo-dalton 항원과 culture filtrate항원을 이용한 ELISA 검사를 시행하였다.

결 과 :

35명의 활동성 폐결핵환자 중 18명에서 배양검사상 *Mycobacterium tuberculosis*를 검출할 수 있었다. 38 kDa와 culture filtrate에 대한 흡광도는 활동성 폐결핵환자들에서 비결핵성 폐질환자들보다 유의하게 높았다($p < 0.05$). 활동성 폐결핵환자 중 객담배양양성과 음성군사이에 38 kDa와 culture filtrate에 대한 흡광도의 유의한 차이는 없었다($p > 0.05$) 객담도말음성인 환자에 있어서 38 kDa와 culture filtrate의 민감도는 각각 20.0%와 31.4%였고 특이도는 각각 95.3%와 93.9%였다.

결 론 :

객담도말검사 음성인 활동성 폐결핵환자에 있어서 ELISA를 이용한 38 kDa와 culture filtrate 항원에 대한 혈청항체검사법은 기존진단방법보다 낮은 민감도를 보여, 비결핵성 폐질환으로부터 활동성 폐결핵을 감별진단하는데 크게 도움이 되지 않을 것으로 여겨진다.

참 고 문 헌

1. Levy H, Feldman C, Sacho H, van der Meulen H, Kallenbach J, Koornhof H : A reevaluation of sputum microscopy and culture in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Chest* 95 : 1193, 1989
2. Pitcherik AE, Fertil D : Medical management of AIDS patients. Tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease. *Med Clin North Am* 76 : 121, 1992
3. Shinnick TM, Good RC : Diagnostic mycobacteriology laboratory practices. *Clin Infect Dis* 21 : 291, 1995
4. Richeldi L, Barnini S, Saltini C : Molecular diagnosis of tuberculosis. *Eur Respir J suppl* 20 : 689s, 1995
5. Nassau E, Parsons ER, Johnson GD : The detection of antibodies to *Mycobacterium tuberculosis* by microplate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Tubercle* 57 : 67, 1976
6. 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* 142 : 385, 1990
7. Steele BA, Daniel TM : Evaluation of the potential role of serodiagnosis of tuberculosis in a clinic in Bolivia by decision analysis. *Am Rev Respir Dis* 143 : 713, 1991
8. Dogan UB, Aksu HS : Serodiagnostic value of ELISA in pulmonary tuberculosis in Turkey where tuberculosis is highly prevalent. *Respiration* 64 : 73, 1997
9. 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* 146 : 280, 1982
10. Wilkins EG, Ivanyi J : Potential value of serology for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis.

- Lancet 336 : 641, 1990
11. Bothamley GH : Serological diagnosis of tuberculosis. Eur Respir J suppl 20 : 676s 1995
 12. Harboe M, Wiker HG : The 38-kDa protein of *Mycobacterium tuberculosis*: A review. J infect Dis 166 : 874, 1992
 13. Daniel TM, De Murillo GL, Sawyer JA, Griffin AM, Pinto E, Debanne SM, Espinosa P, Cespedes E : Field evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of tuberculosis. Am Rev Respir Dis 134 : 662, 1986
 14. Balestrino EA, Daniel TM, De Latini MD, Latini OA, Ma Y, Scocozza JB : Serodiagnosis of pulmonary tuberculosis in Argentina by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of IgG antibody to *Mycobacterium tuberculosis* antigen 5 and tuberculin purified protein derivative. Bull WHO 62(5) : 755, 1984
 15. Ivanyi J, Krambovitis E, Keen M : Evaluation of a monoclonal antibody (TB72) based serological test for tuberculosis. Clin Exp Immunol 54 : 337, 1983
 16. Jackett PS, Bothamley GH, Batra HV, Mistry A, Young DE, Ivanyi J : Specificity of antibodies to immunodominant mycobacterial antigens in pulmonary tuberculosis. J Clin Microbiol 26 : 2313, 1988
 18. Verbon A, Weverling GJ, Kuijper S, Speelman P, Jansen HM, Kolk AHJ : Evaluation of different tests for the serodiagnosis of tuberculosis and the use of likelihood ratios in serology. Am Rev Respir Dis 148 : 378, 1993
 19. Daniel TM, Debanne SM, van der Kuyp F : Enzyme-linked immunosorbent assay using *Mycobacterium tuberculosis* antigen 5 and PPD for the serodiagnosis of tuberculosis. Chest 83 : 388, 1985
 20. 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* on patients with pulmonary tuberculosis in China. Tuberc Lung Dis 77 : 363, 1996
 21. Salata RA, Sanson AJ, Malhotra IJ, Wiker HG, Harboe M, Phillips NB, Daniel TM : Purification and characterization of the 30,000 dalton native antigen of *Mycobacterium tuberculosis* and characterization of six monoclonal antibodies reactive with a major epitope of this antigen. J Lab Clin Med 118 : 589, 1991
 22. McDonough JA, Sada DE, Sippola AA, Ferguson LE, Daniel TM : Microplate and dot immunoassays for the serodiagnosis of tuberculosis. J Lab Clin Med 120 : 318, 1992
 23. Charpin D, Herbault H, Gevaudan MJ, Saadjian M, de Micco P, Arnaud A, Vervloet D, Charpin J : Value of ELISA using A60 antigen in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. Am Rev Respir Dis 142 : 380, 1990
 24. Cocito C, Vanlinden F : Preparation and properties of antigen 60 from *Mycobacterium bovis* BCG. Clin Exp Immunol 66 : 262, 1986
 25. Sada E, Ferguson LE, Daniel TM : An ELISA for the serodiagnosis of tuberculosis using a 30,000-Da native antigen of *Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis 162 : 928, 1990
 26. Bassey EO, Catty D, Kumararatne DS, Raykundalia C : Candidate antigens for improved serodiagnosis of tuberculosis. Tuberc Lung Dis 77 -136, 1996
 27. Lee BY, Hefta SA, Brennan PJ : Characterization of the major membrane protein of virulent *Mycobacterium tuberculosis*. Infect Immun 69-2066, 1992