

자동화 매독검사 키트의 임상적 유용성 및 생물학적 위양성률의 평가

가톨릭대학교 인천성모병원 진단검사의학과

김 성 만 · 이 제 훈

Evaluation of Clinical Utility and Biologic False Positive (BFP) Rates in Automated Syphilis Test Kits for Syphilis Screening

Sung-Man Kim and Jehoon Lee

Department of Laboratory Medicine, The Catholic University of Korea Incheon St. Mary's Hospital, Incheon 403-720 Korea

Unlike most bacteria, *Treponema pallidum* subspecies cannot be readily isolated or sustained in cell culture for numerous generations. In Korea, two non-treponemal tests are currently considered as standard; the VDRL slide test and RPR card test. These tests are based on an antigen composed of an alcoholic solution containing measured amount of cardiolipin, cholesterol, and sufficient purified lecithin to produce reactivity. The nontreponemal reagin tests measure immunoglobulin M (IgM) and IgG to lipoidal material released from damaged host cells as well as to lipoprotein-like material and possibly by cardiolipin released from the treponemes. The object of the evaluation was to evaluate the performance of the Mediace RPR kit on the automated biochemistry analyzer system as a method for screen method of syphilis as well as to identify BFP possibility. For evaluation of routine screening test, a total 2,380 specimens tested by Mediace RPR from 28th Oct, 2007 to 22th Feb, 2008. For evaluation of BFP possibility, we measured samples which have potential BFP reaction in Syphilis test such as ANA (anti-nuclear antibody) positive (135 samples), CRP (C-reactive protein) positive (100 samples), RF (Rheumatoid factor) positive (26 samples), and other potential BFP cases (17 samples) including total 278 samples. These samples were tested quantitative test Mediace RPR with Hitachi 7600 P module. For comparison with current manual test, VDRL slide test were performed. Of these 2380 specimens, 2350 were negative, 30 were positive, and one were positive with TPHA. Both methods agreed for 2356 (98.9%) samples. Of the 30 samples showed positive results over 1.0 R.U., 6 samples showed positive results with VDRL test. Of these 6 samples, 1 samples showed positive with TPHA test. The combination of the Automated Biochemistry analyzer and VDRL test for retest can be increase efficiency of syphilis screening test.

Key Words : Mediace RPR, VDRL, TPHA, BFP

I. 서 론

교신저자 : 이제훈, (우)403-720, 인천광역시 부평구 부평6동 665
가톨릭대학교 인천성모병원 진단검사의학과
TEL : 032-510-5073
E-mail : lyejh@catholic.ac.kr

매독은 전세계적으로 중요한 성병 중의 하나이다. 매독의 선별검사와 지속적인 관리를 위해서는 Venereal

Disease Research Laboratory(VDRL)과 같은 비트레포네마 검사나, *Treponema pallidum* hemagglutination assay (TPHA)와 같은 트레포네마 등의 혈청학적 진단이 필요하다(Ratman, 2005). VDRL 검사의 경우는 특이도가 매우 낮을 뿐 아니라, 위양성 빈도가 매우 높다. 매우 높은 역가를 보이는 혈청에서 위양성 결과가 보고되는 것은 항체과잉(prozone) 현상에 기인한다.

일반적인 세균과는 달리, *Treponema pallidum* 균종은 분리가 쉽지 않을 뿐 아니라, 세포 배양 또한 쉽지 않으며, 잠복기나 후기 매독인 경우에는 더욱 그러하다. 따라서, 혈청학적 검사 수행이 필요한데 일반적으로 혈청학적 검사는 두가지 분류로 나누어지는데, 앞서 언급한 바와 같은 비트레포네마 검사와 트레포네마 검사가 해당된다. 우리나라에서는 현재 두 종류의 비트레포네마 검사가 기준 검사법으로서 널리 사용되고 있다.

즉 VDRL 슬라이드법과 RPR 카드 검사법으로 이들 방법들은 1 차적 매독 선별검사나 약물치료 후 효과의 판정을 위한 정성적 검사 목적으로 이용되고 있다. 이러한 검사는 지질항원과 콜레스테롤 그리고 항원과의 반응을 위해 충분히 정제된 감각 항체의 양을 측정할 수 있는 알콜성의 용해액으로 구성된 항원을 기반으로 하고 있다. 비트레포네마 검사는 매독균으로부터 배출된 지질 항원과 지질단백질 같은 분비물질에 의하여 숙주세포가 손상을 입게 되어 배출되는 IgM과 IgG를 측정한다. Anti-lipoidal 항체는 매독균과 다른 트레포네마 질병균의 결과물을 생산해 낼 뿐만 아니라, 손상을 입은 조직 내에서 급성과 만성 비트레포네마 질병에 반응하는 결과물을 생산해 낸다(Nayar와 Ampos, 1993). 따라서, 매독 진단에 있어서 어떠한 증거가 없는데도 비트레포네마 검사에서 반응이 일어났다고 하여 *T. pallidum*에 감염되었다고 확신을 하면 안 된다.

연구자들은 매독 균의 선별검사 방법으로써, 자동 생화학 장비에서의 Mediace RPR 키트의 수행 능력과 생물학적 위양성의 가능성을 어느 정도 낮출 수 있는지 알아보려고 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 대상

매독 선별 검사의 평가를 위해 2007년 10월 28일 부터 2008년 2월 22일 까지 총 2,380 개의 검체를 Mediace RPR로 검사를 하였다.

위양성의 평가를 위해 잠재적 위양성을 지닌 135 개의 ANA(anti-nuclear antibody) 양성 검체, 100 개의 CRP(C-reactive protein) 양성 검체, 26 개의 RF(Rheumatoid factor) 양성 검체와 17 개의 다른 잠재적 위양성을 가지고 있는 검체를 포함하여 총 278 개의 검체를 대상으로 하였다.

2. 측정기기 및 시약

HITACHI 7600 P 모듈에서 정량검사인 Mediace RPR로 테스트 하였다. 시약은 라텍스 응집 비탁법을 원리로 이용한 것으로 *Treponema pallidum*(Nichols 주)의 균체 유래 성분을 감각시킨 폴리스티렌 라텍스에 의한 Mediace TPLA(Sekisui : 이하 TPLA)와 지질항원(cardiolipin, lecithin)을 감각시킨 폴리스티렌 라텍스의 Mediace RPR(Sekisui: 이하 RPR)을 사용하였다. 또한 비교검사로써 현재 수기법으로 널리 이용하고 있는 VDRL 슬라이드 검사를 수행하였다.

측정 단위는 TPLA가 T.U.(1 T.U.=1.64 mIU), RPR은 R.U.로 표현하고, 각각의 임계치는 TPLA를 10 T.U., RPR을 1 R.U.로 설정하였다.

3. 정밀도 평가 및 직선성 검증

정밀도 평가에는 두 농도의 혼주 혈청(pooled sera)를 이용하였고 10 일 동안 직선성 검정을 위하여 고향체가 환자 혈청을 생리식염수로 단계적으로 희석하여 확인하였다.

4. 기존 방법과의 비교 및 생물학적 위양성을 평가

기존의 VDRL 방법과 비교하여 일치율을 구하였고, RPR의 임계치를 1.0과 2.0 R.U.로 각각 설정할 경우 각 검사법에 따른 생물학적 위양성률의 변화를 알아보았다.

III. 결 과

1. 정밀도

두 농도의 혼주 혈청을 사용하여 동시 재현성(n=15)을 검토한 결과, CV는 각각 RPR에서 3.8~6.7% TPLA에서 2.64~5.08% 이었다(Table 1).

Table 1. Precision of Mediacce RPR and TPLA tests

	Level	Mean (R.U)	SD (R.U)	CV (%)	Range (R.U)
RPR	Low	1.2	0.09	6.7	0.9~1.4
	High	4.2	1.08	3.8	3.9~4.5
TPLA	Low	24.0	1.21	5.08	21.5~26.8
	High	95.8	2.52	2.64	90.3~99.7

2. 희석 직선성

고항체가 환자 혈청을 생리식염수로 단계적으로 희석하여 측정된 결과 TPLA에서는 약 250 T.U., RPR에서는 7.0 R.U.까지 직선성이 확인되었다(Fig. 1).

3. 기존 방법과의 일치율

총 2,380 개의 검체를 RPR로 검사한 결과, 이 중에서 2350 개는 음성이었고, 30 개는 양성이었다(Table 2). 기존의 VDRL 방법과 2,356 검체가 일치하여, 98.9%의 일치율을 보였다. 1.0 R.U. 이상의 양성을 보인 30 개의 검체 중 VDRL에서 양성을 보인 검체는 6 개였으며, 6 개의 검체 중 1 개 검체에서만 TPHA검사 양성을 보였다.

Table 2. The comparison of Mediacce RPR, VDRL and TPHA results

	Mediacce RPR	VDRL	TPHA
Non reactive	2,350	Negative	Not performed
Reactive	30	6	1
Total	2,380	6	1

4. 생물학적 위양성률

임계치를 1.0 R.U.로 설정한 경우 RPR로 검사한 ANA 양성 검체의 생물학적 위양성(BFP, biological false positive)의 가능성은 5.2%였고, 수기법으로 검사한 경우에는 6.7% 였다. CRP 양성 검체의 경우 RPR에서 BFP 가능성은 5% 였으며, 수기법의 경우 3% 였다. RF 양성 검체의 경우 RPR에서 BFP 가능성은 7.7% 였으며, 수기법의 경우 3.8%였다. 다른 검사항목의 검체를 포함하여, RPR의 경우 총 BFP는 5.4% 였으며 수기법의 경우에는 4.7%였다. RPR의 임계치를 2.0 R.U.로 설정하면, 전체 위양성률은 2.5%로 감소된다(Table 3.).

IV. 고찰 및 결론

일반적으로 검사실에서는 신속성과 정확성을 항상 요구하고 있으며 또한 다량의 검사를 정해진 시간에 수행해야 하는 현실에 직면해 있다. 따라서 이러한 목적에 맞는 자동화 시스템 뿐만 아니라 기존의 수기법을 대체할

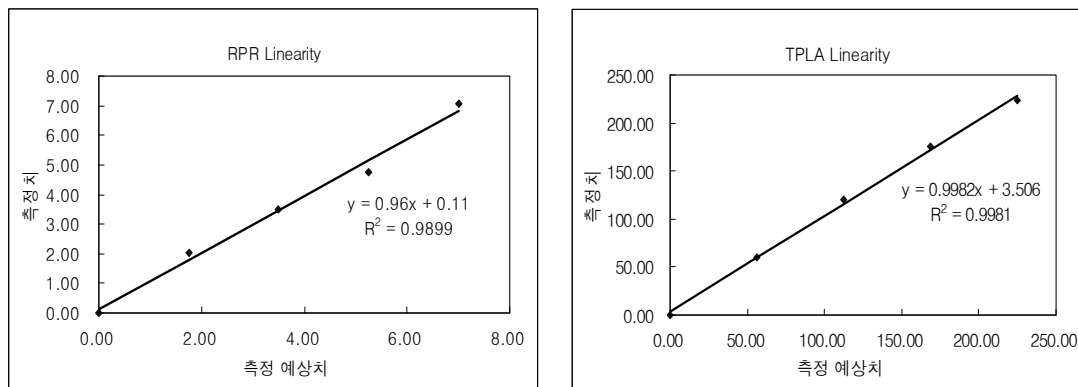


Fig. 1. The linearity curves of TPLA and RPR tests.

Table 3. The biologic false positive (BFP) rates of Mediace RPR and RPR card

	Mediace RPR (1.0 R.U.)	RPR card test	Mediace RPR (2.0 R.U.)
ANA(+) (n=135)	7 (5.2%)	9 (6.7%)	2 (1.5%)
CRP(+) (n=100)	5 (5.0%)	3 (3.0%)	2 (2.0%)
RF(+) (n=26)	2 (7.7%)	1 (3.8%)	2 (7.7%)
Others(+) (n=17)	1	0	1
Total (n=278)	15 (5.4%)	13 (4.7%)	7 (2.5%)

수 있는 새로운 방법들이 필요하다. Mediace RPR 검사는 일본에서 개발되었고(Kazuhisa 등, 2002; Kinjyo 등, 2005), 국내에는 2005년에 소개되어 많은 의료기관에서 사용하고 있다. 인천성모병원 진단검사의학과에서는 월 1,000~1,500 건의 매독 선별 검사를 하고 있으며 기존의 수기법으로는 인력과 시간의 효율적인 사용이 불가능하여 매독 선별 검사로서 자동화된 생화학 분석기를 이용한 Mediace RPR 방법을 도입하게 되었다. Hitachi 7600 P 모듈을 통하여 한 시간에 100 건 정도의 검사를 처리하고 있다.

이번 연구에서 Mediace RPR의 정밀도는 변이계수가 저농도 고농도에서 각각 3.8%와 6.7%, TPLA에서 2.64~5.08% 로 국내 다른 연구에서보다 더 좋은 값을 보였고(김 등, 2007) 직선성 검증을 위한 고역가 검체의 희석 검사에서도 TPLA에서는 약 250 T.U., RPR에서는 7.0 R.U. 까지 직선성이 확인되어 정량검사로 이용하기에 적합한 것으로 판명되었다. 그러나 임계치 근처의 저농도에서 양성과 음성의 판정을 위하여 더 높은 정밀도가 요구된다.

Mediace RPR과 종래법과의 전반적인 일치율은 임상 검체 2,380 예에 대하여 98.9%였다. 불일치가 있는 24 예의 경우 1 예를 제외한 나머지는 생물학적 위양성 반응으로 판단하였다.

비트레포넴 검사에서는 급성발열성 진환, 임신, 자가면역 질환, 염증성 질환 등에 의해서 위양성이 나올 수 있으며, 정상인에서도 소수 발견된다(Conley와 Savarese, 1989; Pope 등, 2002). 본 연구에서 이러한 위양성이 나올 만한 질환들의 검체를 이용하여 기존의 수기법과 비교한 결과 Mediace RPR의 임계치를 1.0 R.U.로 설정한 경우 5.4%로 수기법의 4.7% 보다 약간 높았다. 그러나 Mediace RPR의 임계치를 2.0 R.U.로 설정하면, 전체 위양성률은 2.5%로 감소되었다. 따라서 임상적으로 매독을

판정하는 기준과 위양성률을 최소화하기 위한 임계치 사이에 적절한 값의 설정이 가능할 것으로 보이고, 이러한 정량검사가 기존의 정성검사를 대체할 근거가 될 수 있으며, 치료 효과에 따른 값의 변화를 쉽게 측정할 수 있는 장점이 있다.

따라서 매독검사 자동화의 시도로써 라텍스 응집 비탁법을 원리로 하는 항 TP 항체, 항지질 항체 시약을 동시에 범용형 자동분석 장치에 적용하는 것이 임상적으로 유용하며, 검사실에서 쉽게 적용하기에 좋을 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

1. Conley CL, Savarese DM. Biologic false-positive serologic tests for syphilis and other serologic abnormalities in autoimmune hemolytic anemia and thrombocytopenic purpura. *Medicine(Baltimore)* 68(2): 67-84, 1989.
2. Kazuhisa O, Nagao T, Inuzumi K, Araki H, Kawai K. Clinical evaluation of latex agglutination test kits for detecting nti-syphilitic lipoidal antibodies and anti-treponemal antibodies. *Jap J Sex Transm Dis* 13:124-130, 2002.
3. Kinjyo, Nago T, Kinyama KS, Ohshiro M, Naamine T, Yamane N. 4. Laboratory-based evaluation of latex-agglutination turbidimetric assay by Mediace RPR on P Module of Hitachi autoanalyzer 7600 to quantitatively determine serum RPR antibody. *Jap J Clin Lab Assoc* 30:257-262, 2005.
5. Nayar R, Ampos JM. Evaluation of the DCL Syphilis-G enzyme immunoassay test kit for the

- serologic diagnosis of syphilis. *Am J Clin Pathol* 99:282-285, 1993.
6. Pope V, Bragg SL, Schridfer ME, Larsen SA. Manual of clinical laboratory immunology. 6th ed, p477-487, American Society fo Microbiology, Washington DC, 2002.
 7. Ratman S. The laboratory diagnosis of syphilis. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 16(1):45-51, 2005.
 8. 김한성, 이영경, 강희정. 자동화분석기용 Mediace RPR 검사를 이용한 매독의 혈청학적검사. 임상검사 외정도관리 29(1):195-199, 2007.