

자가 제조한 신속 요소분해검사를 이용한 *Helicobacter pylori* 검출

이종욱 · 배수환 · 남정현 · 최종원 · 김범수* · 최 원* · 이돈행* · 김형길* · 김영수*

인하대학교 임상병리학과교실, 내과학교실*

Home-made Rapid Urease Test for Detection of *Helicobacter pylori* Infection

Jongwook Lee, M.D., Soo Hwan Pai, M.D., Jong Hyun Nahm, M.D., Jong Won Choi M.D., Bum Su Kim*, M.D., Won Choi*, M.D., Don Haeng Lee*, M.D., Hyung Gil Kim*, M.D. and Young Soo Kim*, M.D.

Departments of Clinical Pathology, Internal medicine*, Inha University Medical College, Incheon, Korea

Background : The rapid urease test has been widely used for detection of *Helicobacter pylori* infection because it is easy, simple and rapid result. The CLO test and PyloriTek test observe color changes after the gastric biopsy specimens are inserted into the test kits. Because *H. pylori* is not evenly distributed in the gastric mucosa, grinding or mincing of gastric specimens prior to culture enhances isolation rate of *H. pylori*. Therefore, we evaluated the effects of rubbing the gastric biopsy specimens onto the urea soaked filter paper in this home-made rapid urease test.

Methods : Forty-three patients referred for upper gastrointestinal tract endoscopy were evaluated for *H. pylori* infection. The home-made rapid urease test was prepared by soaking a piece of Whatman No. 2 filter paper in 2% urea agar. We compared the results of the home-made rapid urease test with histologic examination, gram stain, CLO test and culture.

Results : Of forty-three patients, 28 were found to be *H. pylori*-positive either by gram stain or by culture. The sensitivity and specificity of CLO test, based on the results of gram stain and culture were 85.7% and 92.9%. The sensitivity and specificity of home-made rapid urease test, based on the results of gram stain and culture were 92.9% and 92.9%.

Conclusions : The home-made rapid urease test is faster and shows a high sensitivity and specificity. (Korean J Clin Microbiol 1999;2:54~57)

Key words : *Helicobacter pylori*, CLO test, Home-made rapid urease test

서 론

위점막의 *Helicobacter pylori*(*H. pylori*) 감염을 진단하는 방법으로 신속 요소분해검사[1,2]가 가장 널리 쓰이고 있다. 신속 요소분해검사는 *H. pylori*가 요소를 분해해서 암모니아와 이산화탄소가 생성되면 배지의 pH가 증가되어, 함유되어 있는 지시약에 의해서 배지의 색이 변하게되는데, 검사 방법이 매우 간단하여 내시경실에서 직접 시행하고 있다.

원본 접수 : 1999년 1월 19일 접수번호 : CM99-13
수정본접수 : 1999년 2월 12일
교신저자 : 이종욱
(150-034) 서울특별시 영등포구 영등포동 4가 156
건양병원 임상병리과
전화 : 02-6397-759 Fax : 02-671-4709

Table 1. Comparison between culture, gram stain, histologic examination, and CLO test home-made rapid urease test for detection of *H. pylori* infection

Test	No. tested	TP	FP	TN	FN	Sen	Spe
Culture	42	25	0	14	3	89.3	100.0
Histologic examination	42	27	1	13	1	96.4	92.9
Gram stain	42	25	0	14	3	89.3	100.0
CLO test	42	24	1	13	4	85.7	92.9
Home-made rapid urease test	42	26	1	13	2	92.9	92.9

^aAbbreviation: TP; true positive, FP; false positive, TN; true negative, FN; false negative, Sen; sensitivity, Spe; specificity

신속 요소분해검사로 상품화되어 쓰이고 있는 제품은 CLO test[3,4]와 PyloriTek test[5,6] 등이 있는데 gel 형태인 CLO test는 작은 홀에 요소배지가 들어 있어서 그 속에 위점막 검체를 직접 접종하여 반응을 관찰하는 반면, membrane 형태인 PyloriTek test는 요소배지에 반응 용액을 떨어뜨린 다음 검체를 넣고 배지를 접은 후 암모니아 생성을 관찰한다.

기존에 나와있는 검사들은 단지 *H. pylori*의 요소분해효소의 생화학적 성상을 고려한 반면 저자 등은 이 효소의 분포를 고려하였다. 즉 위생검 조직에서 *H. pylori*의 요소분해효소가 조직 표면에 있지 않고, 조직 안쪽에 있는 경우 반응이 늦게 나올 수 있다는 가정 하에 문지르는 작업이 첨가된 신속 요소분해검사를 고안하게 되었다.

따라서 본 연구의 목적은 문지르는 작업이 첨가된 자가 제조한 신속 요소분해검사 키트를 CLO test와 비교하여 유용성을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1998년 2월부터 6월까지 인하대부속병원 소화기내과에서 *H. pylori*의 배양이 의뢰된 42명을 대상으로 하였고, 그중 남자는 25명, 여자는 17명이었다. 신속 요소분해검사 키트는 통상적으로 검사실에서 만들어 사용하는 2% 요소배지(BBL Urea Agar Base, Becton Dickinson Microbiology Systems Cockeysville, U.S.A.)를 만들어, Whatman No. 2 filter paper에 얇게 묻혀 제조하였다. 위생검 조직을 filter paper에 놓고 반으로 접은 후 조직이 배지에 잘 접촉하도록 3-4차례 문지른 후 실온에서 반응을 관찰하였다. CLO test(Delta-West, Bantley, Western Australia)는 검사하기 30분 전 실온에 두었다가 위점막 검체를 gel 안쪽에 접종한 후 즉시 37°C 항온기에 넣어서 반응시켰다. 결과 판독은 처음 2시간과 24시간에 결과를 판독하였다.

*H. pylori*의 배양과 그람염색은 위점막 검체를 HCl-KCl buffer(0.001N HCl: 0.13N KCl=1:10, pH 2.2)에 담가 1시간 실온에서 둔 후 먼저 혈액천배지에 접종하고, 도말 염색을 시행하였다. 3-7일간 미호기성 배양을 하였으며, 무색 집락을 그람염색하여 굵은 그람음성간균

이고 catalase, oxidase, 및 urease 양성이면 *H. pylori*로 판정하였다.

*H. pylori*의 조직학적 검사는 해부병리학교실에서 H-E 염색을 실시하였다. *H. pylori* 감염의 판정기준은 배양에서 동정된 경우는 *H. pylori*의 감염으로 판정하였으며, 그람염색, 조직검사, CLO test에서는 두 가지 검사 이상 양성인 경우로 하였고, 한가지 검사만 양성인 경우에는 위양성으로 판정하였다.

결 과

총 42명의 환자 중 28명(66.7%)이 *H. pylori* 감염으로 판정되었다. 민감도는 조직학검사가 96.4%로 가장 높았으며, 특이도는 배양과 그람염색이 100%였다. CLO 검사의 민감도와 특이도는 각각 85.7% 및 92.9%였다. 자가 제조한 신속 요소분해검사의 민감도와 특이도는 92.9% 및 92.9%였다(Table 1).

고 찰

*H. pylori*의 감염의 진단에는 크게 비침습적 방법과 침습적 방법이 있다. 비침습적 방법에는 혈청 *H. pylori* IgG[7-10]와 urea breath test(UBT)[11-13] 등이 있는데 혈청 *H. pylori* IgG는 민감도와 특이도가 떨어져서, 환자의 감염 상태와 연관성이 적은 것으로 알려져 있다. UBT는 환자가 ¹⁴C 또는 ¹³C 이 첨가된 요소를 복용하면, 위에서 *H. pylori*의 요소분해효소에 의해 암모니아와 이산화탄소가 분해되는데, 이때 호흡을 통해서 배출되는 이산화탄소를 측정하는 방법이다. 이 검사의 민감도와 특이도가 매우 높으나 기기의 가격이 고가이고 시약이 비싸다. 침습적 방법이란 환자에게 내시경을 시행하여 채취한 위점막 검체로 시행하는 검사로 신속 요소분해검사, 조직검사, 그람염색, 배양, 분자생물학적 검사 등이 있는데[14-17] 이 중 배양이 “Gold standard”이다. 상기 검사 중 조직 검사와 그람염색, 배양 등은 민감도와 특이도가 매우 높아 *H. pylori* 감염 진단에 우수하나, 미생물 검사실이 없는 경우는 실시하지 못하는 단점이 있다.

임상적으로 중요한 세균 중 요소를 분해하는 세균은

H. pylori, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae* 등이 있는데 이 중 *H. pylori*의 urease 가 가장 강력하여 집락으로 신속 요소분해검사를 시행할 경우 수 분내에 양성(+)이 되지만 그 밖의 세균의 반응은 늦게 나온다고 알려져 있다[2].

신속 요소분해검사는 *H. pylori*가 10^5 개 이상 있어야 양성으로 나온다[18]. 신속 요소분해 검사는 *H. pylori*가 요소를 분해해서 암모니아를 생성되면 배지의 pH가 증가되어 첨가되어있는 지시약에 의해서 배지의 색이 변하게되는데 검사 방법이 매우 간단하고, 민감도와 특이도가 비교적 높아, 국내의 대부분의 병원에서는 내시경실에서 직접 시행하고 있다. 그러나 이 검사는 요소분해효소를 가지고 있는 다른 오염세균에 의해 위 양성(+)이 있을 수 있고, 약물을 복용한 환자나 *H. pylori*의 위조직 분포가 균일하지 않아서 위음성(+)이 있을 수 있다[19,20].

기존의 검사들은 단지 요소분해효소의 생화학적 성상으로 *H. pylori*의 감염 진단을 하였는데, 저자 등은 *H. pylori*의 위점막 분포를 고려한 검사를 고안하였다. 즉 *H. pylori*는 위점막조직에 고르게 분포하지 않고 또한 위조직 표면에 있는 것이 아니라 점막층(mucus layer) 안에 분포한다. 따라서 이 위점막 조직을 잘게 가는 등의 전 처치 조작이 있는 경우 분리율이 높고, 배지에 약간 누르면서 접촉하면 배양이 잘 된다. CLO test나 PyloriTek test 등은 이러한 조작을 하지 않는데, 본 연구에서는 요소를 얇게 묻힌 배지 위에 위점막 조직을 놓고 접은 후 2-3회 정도 문지르는 방법을 고안하였다.

본 연구에서 CLO test에 비해서 자가 제조한 신속 요소분해검사의 민감도가 다소 높았다. 또한 CLO test의 양성 반응의 95%가 2시간 이내에 나왔던 반면 자가 제조한 신속 요소분해검사는 대부분 30분 이내에 양성 반응을 보였다(data not shown). 따라서 문지르는 작업이 들어 갈 경우 조직 안쪽에 있는 *H. pylori*의 요소분해효소가 쉽게 노출되어 기존 검사보다 더 빠르고 정확한 반응을 얻은 것으로 생각된다.

자가제조한 신속 요소분해검사는 한 번에 약 20 키트를 만들어 냉장보관을 하면서 2주 정도 사용하였다. 그러나 보관을 잘못하여 오염되는 경우도 있어 이에 대한 보완이 있어야 할 것으로 생각된다.

요 약

배 경 : 현재 *H. pylori* 감염의 진단에 이용되는 신속 요소 반응 검사는 다른 검사에 비하여 조작이 쉽고 간단하며, 신속하게 결과를 얻을 수 있어서 국내에서 널리 쓰이고 있고, 현재 국내에는 CLO test와 PyloriTek 등의 검사가 있다. 이들 검사는 단순히 검사 kit 안에 넣고 반응을 관찰하게 된다. *H. pylori*가 위점막에 불규

칙하게 분포하기 때문에 배지에 접촉하기 전에 조직을 잘게 갈아주면 *H. pylori*의 배양이 잘 된다. 저자 등은 이 점에 착안하여 문지르는 조작이 첨가된 신속 요소 분해검사를 CLO test(Delta-West, Bantley, Western Australia)와 비교하고자 하였다.

방 법 : 1998년 2월부터 6월까지 인하대병원 내과에서 *H. pylori* 배양이 의뢰된 42 검체를 대상으로 하였다. 신속 요소분해검사는 Whitman No. 2 filter paper에 2% 요소 배지(pH 6.8)를 얇게 묻혀 제조하였다. 조직을 filter paper에 놓고 반으로 접은 후 조직이 배지에 잘 접촉하도록 3-4차례 문지른 후 반응을 관찰하였다. CLO test는 조직을 작은 hole에 접촉한 후 37°C 항온기에 넣고 관찰하였다. 두 검사 모두 배지가 모두 분홍색으로 변하면 양성으로 판정하였다.

결 과 : 병리조직검사, 배양 및 그림 도말 염색의 결과를 *H. pylori* 감염의 기준으로 삼았을 때, 자가 제조한 신속 요소분해검사의 민감도와 특이도는 92.9% 및 92.9%였고, CLO test는 85.7% 및 92.9%였다.

결 론 : 자가 제조한 신속 요소분해검사의 민감도와 특이도가 높아 *H. pylori*의 감염 진단에 유용할 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

1. Marshall BJ, Warren JR, Francis GJ, Langton SR, Goodwin CS, Blincow ED. Rapid urease test in the management of *Campylobacter pyloridis*-associated gastritis. *Am J Gastroenterol* 1987;82:200-10.
2. Goldie J, Veldhuyzen van Zanten SJ, Jalali S, Hollingsworth J, Riddell RH, Richardson H, et al. Optimization of a medium for the rapid urease test for detection of *Campylobacter pylori* in gastric antral biopsies. *J Clin Microbiol* 1989;27:2080-2.
3. Niv Y, Sperber AD, Scapa E, Maoz E, Fraser G, Druzd T, et al. A comparison of new rapid urease tests for detection of *Helicobacter pylori*: test characteristics and factors affecting positivity and time to positivity. *J Clin Gastroenterol* 1998;27(4):327-30.
4. Westblom TU, Madan E, Kemp J, Subik MA. Evaluation of a rapid urease test to detect *Campylobacter pylori* infection. *J Clin Microbiol* 1988;26: 1393-4.
5. Yousfi MM, El-Zimaity HM, Cole RA, Genta RM, Graham DY. Comparison of agar gel (CLOtest) or reagent strip (PyloriTek) rapid urease tests for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 1997;92:997-9.
6. Laine L, Suchower L, Johnson E, Ronca P, Neil G. Accuracy of CLOtest after *Helicobacter pylori* therapy. *Gastrointest Endosc* 1998;47(3):250-3.
7. 장명구, 김학양, 조병동, 장웅기, 김동준, 김용범 등. 한국인의 위계양 및 십이지장궤양 환자에서 *Helicobacter pylori* 감염 빈도. *대한내과학회지* 1997;52: 457-64.

8. 김나영, 김경영, 김지영, 전춘호, 차성은, 이계희 등. 위점막내 *Helicobacter pylori* 검사방법의 상호비교에 관한 연구. *대한내과학회지* 1994;47:162-72.
9. Schembri MA, Lin SK, Lambert RJ. Comparison of commercial diagnostic tests for *Helicobacter pylori* antibodies. *J Clin Microbiol* 1993;31:2621-4.
10. Talley NJ, Kost L, Haddad A, Zinsmeister AR. Comparison of commercial tests for detection of *Helicobacter pylori* antibodies. *J Clin Microbiol* 1992;30:3145-50.
11. Minoli G, Prada A, Schuman R, Murnick D, Rigas B. A simplified urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection using the LARA System. Laser Assisted Ratio Analyzer. *J Clin Gastroenterol* 1998;26:264-66.
12. Klein PD, Malaty HM, Martin RF, Graham KS, Genta RM, Graham DY. Noninvasive detection of *Helicobacter pylori* infection in clinical practice: the ¹³C urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1996;91(4):690-4.
13. Miwa H, Murai T, Ohkura R, Nagahara A, Watanabe H, Terai T, et al. Usefulness of the [¹³C]-urea breath test for detection of *Helicobacter pylori* infection in fasting patients. *J Gastroenterol Hepatol* 1998;13(10): 1039-43.
14. 이경원, 김태승, 권상욱, 이미경, 윤갑준, 정운섭. 위염과 소화성 궤양 환자에서 위점막내의 *Campylobacter pyloridis* 검사에 관한 연구. *대한의학협회지* 1987; 30:553-60.
15. 이미애 및 허정원. *Helicobacter pylori* 감염의 진단법 비교: 조직검사, 신속요소분해검사, 배양, 혈청학적 검사 및 중합효소연쇄반응. *대한임상미생물학회지* 1998;1:44-50.
16. Faigel DO, Furth EE, Childs M, Goin J, Metz DC. Histological predictors of active *Helicobacter pylori* infection. *Dig Dis Sci* 1996;41:937-43.
17. 김신경, 김은숙, 박일규, 강정욱, 최태열. *Helicobacter pylori* 감염의 진단방법 및 배양배지에 관한 연구. *대한임상병리학회지* 1997;17:1060-7.
18. Lin TT, Yeh CT, Yang E, Chen PC. Detection of *Helicobacter pylori* by polymerase chain reaction assay using gastric biopsy specimens taken for CLOtest. *J Gastroenterol* 1996;31:329-32.
19. Working Parity of the European *Helicobacter pylori* Study Group. Guidelines for clinical trials in *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997;41(supp2):S10.
20. Van Horn KG, Dworkin BM. Direct gram stain and urease test to detect *Helicobacter pylori*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1990;13:449-52.
21. Bhasin D, Yachha S, Ayyagiri A, Singh V, Kochhar R, Malik A, et al. How specific is the rapid urease test for diagnosing *Campylobacter pylori*? *J Clin Pathol* 1989;42:671.