

## 폐결핵 진단을 위한 효소면역검사법의 평가

박진희, 허정원, 이미애

이화여자대학교 의과대학 임상병리과학교실

### Evaluation of Enzyme Immunoassay for the Diagnosis of pulmonary Tuberculosis

Jin Hee Park, M.D., Jung Won Huh, M.D. and Mi Ae Lee, M.D.

Department of Clinical Pathology, Ewha Womans University College of Medicine,  
Seoul, Korea

**Background :** The diagnosis of tuberculosis has been based on the detection of *tubercle bacilli* by acid-fast stain of smear or cultures, and recently the serologic diagnosis of tuberculosis has been provided a means of sensitive and specific detection of *Mycobacterium tuberculosis*. We evaluated the utility of enzyme immunoassay using determiner Tuberculosis Glicolipids (TBGL) antibody kit (Kyowa Medex Co. Ltd, Japan) to detect anti-TBGL antibody for diagnosis of pulmonary tuberculosis.

**Methods :** Anti-TBGL antibody assay was performed to the sera from 44 patients with active pulmonary tuberculosis (17 patients with smear positive, 7 patients with only culture positive, 20 patients with clinically active tuberculosis) and 80 controls (30 healthy controls, 24 patients with non-tuberculous respiratory diseases, 26 patients with inactive tuberculosis). We compared the sensitivity and specificity of anti-TBGL antibody with culture and AFB stain.

**Results :** Anti-TBGL antibodies were detected in 16 of 17 (94%) smear positive patients, 4 of 7 patients with only culture positive and 16 of 20 (80%) smear negative patients who had been clinically diagnosed as active pulmonary tuberculosis. Nine (35%) out of 26 patients with inactive tuberculosis, one (4%) out of 24 patients with non-tuberculous respiratory diseases and no one of healthy control had a positive antibody response. Overall sensitivity, specificity of the anti-TBGL antibody assay were 82%, 88%, respectively and sensitivities and specificities of culture and AFB smear were 64%, 97% and 49%, 100%, respectively. Anti-TBGL antibody titers in patients with active tuberculosis were significantly higher than control group ( $P<0.05$ ).

**Conclusions :** The anti-TBGL antibody assay was sensitive, rapid and convenient. This assay will be useful as a tool for the diagnosis of tuberculosis in combination with other conventional methods.

**Key words :** Tuberculosis, anti-Tuberculosis Glicolipids (TBGL) antibody, Culture, AFB stain.

## 서 론

원본 접수 : 2000년 1월 21일

접수번호 : CM 3-1-7

수정본접수 : 2000년 2월 29일

교신 저자 : 이미애

(158-050) 서울시 양천구 목동 911-1

이대목동병원 임상병리과

TEL : 02) 650-5222 FAX : 02) 654-7948

결핵을 비롯한 항산균증은 사람의 전염병으로서 전염성과 치사율이 높은 감염증이다[1]. 결핵은 그 전파 능력, 감염력이 높고 초기발견이 늦기 때문에 집단감염 예가 많으며 최근에 이르러 결핵환자의 감소경향이 둔화되기 시작하는 등, 사회적으로도 심각한 문제가 되고 있다[2]. 그러나 결핵진단은 질병에 비특이적인

임상적, 방사선적 소견과 예민도가 낮은 항산성염색, 6주 이상이 소요되는 배양결과에 의존하고 있어 신속하고 정확한 검사법이 필요하다. 또한 중합효소 연쇄반응법은 이용률이 증가하고 있으나 기술적인 난이도와 고비용의 단점이 있다. 최근 신속하고 간편하면서 민감도와 특이도가 높은 결핵균에 대한 여러 가지 혈청학적 방법들이 소개되고 있다. A60항원[3], 38kDa 항원[4], H<sub>37</sub>R<sub>A</sub>항원과 38kDa의 재조합항원[5,6], Tuberculosis Glycolipids (TBGL)항원 등을 이용한 효소면역검사법과 38kDa항원을 포함한 5가지 항원을 혼합한 면역크로마토그래피법[7,8] 등이 개발되어 이용되고 있다. 이에 저자들은 결핵 균체로부터 추출한 당지질 TBGL항원에 대한 항체를 검출하는 효소면역검사법을 이용하여 결핵 진단의 유용성을 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

#### 1) 활동성 결핵군

1999년 7월부터 9월까지 본원에 내원한 임상적, 조직학적, 방사선학적 활동성 결핵군 감염이 있는 결핵환자 44명을 대상으로 하였으며, 이 중 항산균도말 양성군 17명, 항산균 도말 음성이면서 배양 양성군 7명, 임상에서 폐결핵으로 간주하고 결핵치료를 시작했으나 항산균도말 음성이었거나 배양 음성군 20명이었다.

#### 2) 대조군

1999년 7월부터 9월까지 본원 건강진단센터에서 건강 판정을 받은 성인 30명과, 폐렴, 폐암, 기관지확장증 등의 비결핵성 폐질환자 24명, 방사선적 비활동성 결핵 또는 결핵 과거력 등은 있으나 현재 비활동성 결핵환자 26명을 대상으로 하였다.

## 2. 방법

환자군과 대조군의 혈청으로 효소면역검사법에 의한 항 TBGL 항체를 검출하였다. 검체의 혈청을 분리하여 검사시행 전까지 영하 70°C에서 냉동 보관하였으며, 검사시행 시 검체 및 각 표준 항체액을 검체 회석액으로 41배 회석하였다. 검사키트(Kyowa Medex Co. Ltd, Japan)는 효소면역법에 기초하였으며, Behring ELISA Processor II (Behringwerke AG MPD, Germany)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 시약 설명서에 따라 cut off치(항 TBGL 항체 2U/mL)를 정하였으며 각 흡광도에 따른 항체가(U/mL)를 구하였다. 항 TBGL 항체 양성률과 항산성염색, 배양방법과 예민도, 특이도를 비교하였다. 결핵의 활동성과 항 TBGL 항체가의 연관성을 알아보기 위해 SPSS (ver 7.5)를 이용하여 Independent Samples T-Test 법으로 통계학적 분석을 하였다.

## 결과

활동성 결핵군과 대조군에서 효소면역검사법을 이용한 항 TBGL 항체 검사의 양성률은 각각 82%와 12%이었다. 항 TBGL 항체 양성률은 활동성 결핵군중 도말 양성군에서는 94% 이었고 배양만 양성군은 57%, 임상적 활동성 결핵군 80%를 차지하였다. 대조군에서 건강진단센터에서 건강 판정을 받은 성인에서는 모두 항 TBGL 항체 음성을 보였고, 비결핵성 폐질환자의 4%에서, 임상적 비활동성인 결핵 환자의 35%에서 항 TBGL 항체 양성을 나타내었다(Table 1). 결핵의 활동성에 대한 항 TBGL 항체가는 활동성 결핵 8.3±8.2U/mL로 대조군 1.6±4.5U/mL보다 통계학적으로 의의 있게 높았다( $P<0.05$ )(Fig. 1). 활동성 결핵군 44명중 8명이 위음성을, 대조군의 80명중 10명이 위양성을 보여 민감도, 특이도는 각각 82%, 88%였으며, 양성 및 음성 예측도는 78%, 90%이었다. 항산성염색의 예민도, 특이도, 양성 및 음성 예측도는 각각 49%, 100%,

Table 1. Positive rates of anti-TBGL antibody in the patients with active pulmonary tuberculosis and control group

Clinical Group	No. of tested	No.(%) of positive
Active tuberculosis	44	36(82)
with smear positive and/or culture positive	17	16(94)
with only culture positive	7	4(57)
clinically active with smear negative	20	16(80)
Control	80	10(12)
Healthy control	30	0(0)
Non-tuberculosis, respiratory disease *	24	1(4)
Inactive tuberculosis†	26	9(35)

\* including pneumonia, lung cancer, pleural effusion, bronchiectasis, etc.

† including tuberculosis history or inactive tuberculosis on chest X-ray

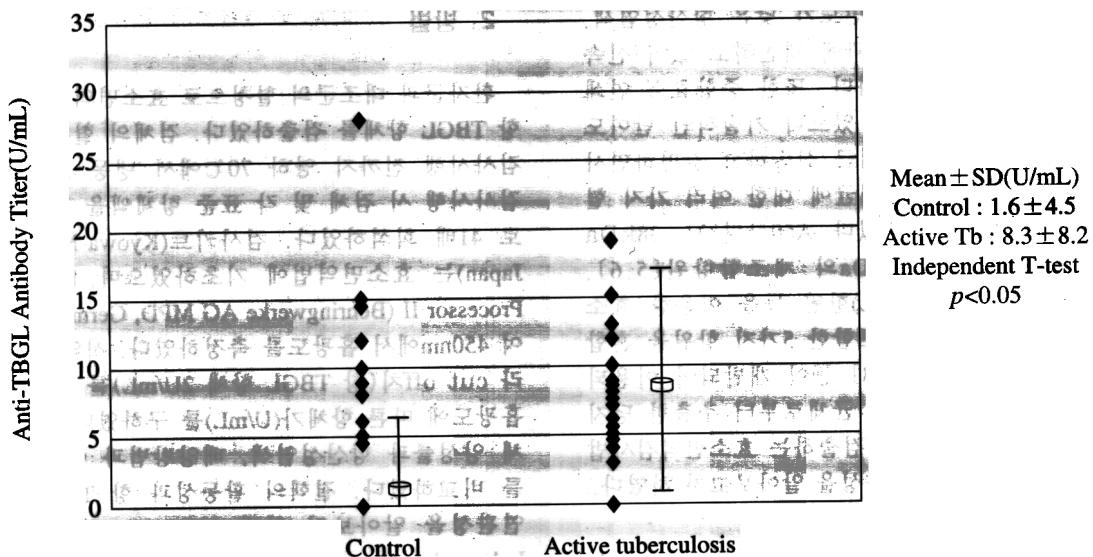


Fig. 1. Comparison of anti-TBGL antibody titer between control group and the patients with active pulmonary tuberculosis.

Table 2. Comparisons of sensitivity, specificity and predictive values of different methods for the diagnosis of active pulmonary tuberculosis

Method	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
Anti-TBGL antibody (n=123)	82(36/44)	88(70/80) *	78(36/46)	90(70/78)
AFB smear (n=79)	49(27/55)	100(62/62) *	100(27/27)	70(62/89)
TB culture (n=48)	64(30/47)	97(31/32) *	97(30/31)	35(17/48)

\* including inactive tuberculosis

Abbreviations: PPV, positive predictive value.; NPV, negative predictive value

100%, 70%이었으며, 배양방법의 예민도, 특이도, 양성 및 음성 예측도는 각각 64%, 97%, 97%, 35%이었다(Table 2).

## 고 찰

결핵은 인간에게 있어서 가장 중요한 감염질환의 하나로 인식되어 왔으며, 특히 한국의 경우 유병률이 감소하였으나, 서구 여러 나라에 비하여 여전히 높아[9] 결핵의 정확한 진단이 중요하다. 결핵의 진단에는 환자의 분비물이나 조직에서균을 분리하는 것이 주로 이루어졌으나, 과정이 어렵고 한계점이 있다. 객담 항산성 염색은 예민도가 낮으며, 배양검사는 적어도 6주에서 8주가 소요된다. 결핵의 증상은 비특이적이며, 방사선소견 또한 선진국의 경우 결핵환자 30%이상에서 비전형적이다[10]. 따라서, 높은 예민도, 특이도와 신속하고 정확한 검사방법이 필요하게 되었으며, 최근에는 예민도가 높고 검사술식이 간편한 효소면역법이 개발되어 이에 대한 많은 연구가 있어왔다. 흔히 사용되는 방법으로는 A60항원[3], 38kDa항원[4], H<sub>37</sub>R<sub>A</sub>항원과 38kDa의 재조합항원[5,6], TBGL항원 등을 이용

한 효소면역검사법과 38kDa항원을 포함한 5가지 항원 혼합한 면역크로마토그래피법[7,8] 등이 있다. 이 중 A60항원은 모든 항산균에 존재하는 항원으로 A60 IgM과 IgA 검사를 시행했을 때의 결핵에 대한 예민도는 75.5%, 특이도는 92%였다[11]. 결핵균에만 존재하는 38kDa항원에 대한 특이도는 96%로 높다고 하였으나 결핵 감염 환자의 일부에서 항체반응이 낮거나 없을 수 있는 한계점때문에 예민도는 68%로 낮다고 하였다[12]. 박 등[13]은 H<sub>37</sub>R<sub>A</sub>항원과 38kDa의 재조합항원 항원으로 이루어져 *Mycobacterium* species에 대한 IgG 항체를 측정하는 Pathozyme-Myco의 예민도, 특이도가 80%, 75%며, 38kDa의 재조합 항원만으로 이루어져 *M. tuberculosis* complex에 대한 IgG 항체를 측정하는 Pathozyme-TB의 예민도, 특이도가 52%, 95%라고 하여, 예민도가 높은 Pathozyme-Myco와 특이도가 높은 Pathozyme-TB를 모두 사용하여야 진단적 가치가 높다고 하였다. 그 외에도 38kDa항원을 포함한 5가지 항원을 혼합한 면역 크로마토그래피법(IFT tuberculosis)이 소개되어 있는데 예민도, 특이도는 20-88%, 89-97%로 보고되었다[14,15]. 이것은 효소면역법이 아닌 면역크로마토그래피법을 이용한 검사로 항체가 항원띠로 빠

르게 이동하여 가장 흡착력이 강한 항체만이 결합되어 비특이 IgG가 항원에 결합하는 것을 막아주기 때문에 효소면역법보다 검출률이 높다고 하였으나(7) Mathur 등(15)은 새로 진단한 결핵에서는 예민도가 낮았고 MOTT의 30%에서 양성을 보인다고 하였다.

본 연구 결과 배양 및 항산성 염색 음성 활동성 결핵군에서 항 TBGL 항체가 82% 예민도를 보여 항산성염색 및 배양검사의 49~64%보다 예민하였다. 이는 이등(16)이 보고한 중합효소연쇄반응의 예민도 80~100%보다는 낮았으나, 결핵균 중합효소반응이 10fg DNA 정도로 2개 결핵균까지 검출되는 예민한 방법이지만 일부 죽은 균까지 검출될수 있거나 너무 예민하여 위양성 예(16,17)가 있기 때문으로 생각된다. 본 연구에서 항 TBGL 항체의 특이도 88%로 배양 및 항산성염색보다 낮았으나 건강인에서 위양성이 없고 비결핵성 호흡기 질환군이 96%의 높은 특이도를 보였다. 그러나 비활동성 결핵 환자의 36%에서 위양성으로 나와서 항 TBGL 항체로는 활동성 결핵과 감별이 어려웠으나, 항 TBGL 항체가 활동성 결핵보다 통계학적으로 의의있게 낮아서 항체가를 이용한다면, 진단에 도움이 될 것으로 사료된다. 본 연구에서 항 TBGL 항체의 예민도는 다른 연구 조사와 비슷하거나 높았으나 특이도가 낮은 이유는 대조군에 비활동성 결핵환자가 포함되었기 때문으로 생각되었다. 또한 본 연구에서 결핵균 배양에서 대조군의 1명이 위양성을 보여 특이도가 97%였는데, 이것은 배양결과상 두 집락이 보고된 환자로서, 임상에서 의미를 두지 않고 치료를 시행하지 않았기 때문에 위양성으로 생각된 경우였다.

본 연구에 사용된 항 TBGL 항체는 항원에 결핵세포막 표면충성분에서 유래한 당지질성분인 TBGL항원을 사용하고 있으며 검체의 회색 외에 다른 전처리가 필요 없어서 간편하고, 대량 검체의 측정이 가능하고 Fab'-HRP 결합을 이용하여 비특이적인 반응이 감소하여 높은 정확도와 재현성을 나타낸다고 하였다(18). 본 연구에서 항 결핵 항체 검출은 신속하고, 대량 검체 및 항체가 측정이 가능하고, 항산성 염색이나 배양보다 예민하여, 기존의 검사방법과 병용하여 사용한다면 결핵의 진단에 도움이 되리라 생각한다.

## 요 약

**배 경 :** 폐결핵의 진단은 항산성염색이나 배양을 이용한 결핵균 검출에 의존하고 있어왔고, 최근에는 여러 가지 혈청학적 진단이 결핵균 검출의 예민하고 특이적인 방법으로 소개되고 있다. 이에 저자들은 determiner TBGL antibody 키트(Kyowa Medex Co. Ltd, Japan)를 이용하여 TBGL항원에 대한 항체를 검출하여 폐결핵진단에 있어서 효소면역검사법의 유용성을 알아보자 하였다.

**방 법 :** 44명의 폐결핵환자(항산균도말 양성군 17명, 항산균도말 음성, 배양 양성군 7명, 항산균도말 음성, 배양 음성군 20명)과 80명의 대조군(정상인 30명, 비결핵성 폐질환자 24명, 비활동성 결핵환자 26명)의 혈청을 대상으로 효소면역검사법을 이용하여 항 TBGL 항체를 검출하였다. 항 TBGL 항체의 예민도, 특이도를 배양과 항산성염색과 비교하였다.

**결 과 :** 효소면역검사법을 이용한 항 TBGL 항체 검사 결과, 17명의 항산성 염색 양성 폐결핵환자 중 16명(94%), 7명의 배양검사양성 폐결핵환자 중 4명(57%) 그리고 20명의 임상적 활동성 결핵환자 중 16명(80%)이 양성을 보였다. 비활동성 결핵환자 26명 중 9명(35%), 비결핵성 폐질환자 24명 중 1명(4%)에서 위양성을 보였고 건강 대조군에서는 모두 항 TBGL 항체 음성을 나타내었다. 항 TBGL 항체 검사의 예민도, 특이도는 각각 82%, 88% 였고, 배양과 항산성 염색의 예민도, 특이도는 각각 64%, 97% 및 49%, 100%였다. 활동성 결핵환자의 항 TBGL 항체의 역가는 대조군보다 의미 있게 높았다( $P<0.05$ ).

**결 론 :** 항결핵항체 검출은 예민하고, 신속하고, 편리하여, 기존의 검사방법과 병용하여 사용한다면 결핵의 진단에 도움이 되리라 생각한다.

## 참 고 문 헌

- Heifets LB. *The mycobacteriology laboratory. Past, present, and future.* Clin Lab Med. 1996;16:513-25.
- 홍영표. 결핵의 역학-전국실태조사 성적을 중심으로. 대한의학협회지 1991;34:468-76.
- Cocito CG. *Properties of the mycobacterial antigen complex A60 and its applications to the diagnosis and prognosis of tuberculosis.* Chest 1991;100:1687-93.
- Harboe M and Wiker HG. *The 38-kDa protein of Mycobacterium tuberculosis: a review.* J Infect Dis 1992;166:874-84.
- Grubek-Jaworska H, Zwolska Z, Droszcz P, Rybus L, Dabrowski A, Droszcz W. *Serum and bronchoalveolar IgG against A60 and 38 kDa antigens in the diagnosis of tuberculosis.* Int J Tuberc Lung Dis 1997;1:556-62.
- Wilkinson RJ, Haslov K, Rappuoli R, Giovannoni F, Narayanan PR, Desai CR, et al. *Evaluation of the recombinant 38-kilodalton antigen of Mycobacterium tuberculosis as a potential immunodiagnostic reagent.* J Clin Microbiol 1997;35:553-7.
- 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.* Tuber Lung Dis

- 1996;77:363-8.
8. Zhou AT, Ma WL, Zhang PY, Cole RA. *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.
  9. 홍영표. 결핵의 현황. 대한의학회지 1993;36:236-41.
  10. Glassroth J, Robins AG, Snider DE Jr. *Tuberculosis in the 1980s*. *N Engl J Med*. 1980;302:1441-50.
  11. Gupta S, Bhatia R, Datta KK. *Serological diagnosis of childhood tuberculosis by estimation of mycobacterial antigen 60-specific immunoglobulins in the serum*. *Tuber Lung Dis* 1997;78:21-7.
  12. Espitia C, Cervera I, Gonzalez R, Mancilla R. *A 38-kD Mycobacterium tuberculosis antigen associated with infection. Its isolation and serologic evaluation*. *Clin Exp Immunol* 1989;77:373-7.
  13. 박덕우, 박일구, 어영, 윤갑준, 송광선, 용석중, 신계철. 결핵의 진단에 있어서 Pathozyme-Myco와 Pathozyme-TB complex의 유용성. 임상병리와 정도관리 1996;18:161-5.
  14. 송원근, 서진태, 강정옥, 김선의, 박명재, 박희철 등. 폐결핵 진단을 위한 신속 ICT Tuberculosis 검사의 진단적 유용성. 대한미생물학회지 1992;2:167-71.
  15. Mathur ML, LoBue PA, Catanzaro A. *Evaluation of a serologic test for the diagnosis of tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999;3(8):732-5.
  16. 이미애, 홍기숙. 종합효소연쇄반응을 이용한 결핵의 진단에 있어서 시발체 선택에 따른 임상적 유용성 비교. 대한임상병리학회지 1996;16(2):192-200.
  17. Beige J, Lokies J, Schaberg T, Finckh U, Fischer M, Mauch H, et al. *Clinical evaluation of a Mycobacterium tuberculosis PCR assay*. *J Clin Microbiol* 1995;33:90-5.
  18. Kawamura M, Sueshige N, Imayoshi K, Yano I, Maekura R, Kohno H. *Enzyme immunoassay to detect anti-tuberculous glycolipid antigen (anti-TBGL Antigen) antibodies in serum for diagnosis of tuberculosis*. *J Clin Lab Anal* 1997;11:140-5.