

Helicobacter pylori 감염진단을 위한 Asan Helicobacter 검사의 평가

이종욱, 김범수*, 이경원**, 이재학***, 이재경****, 이창훈*****

건양외대, 인하의대*, 연세의대**, 서일대학***, 중앙대학****, 건국외대*****

Evaluation of Asan Helicobacter Test for Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection

Jongwook Lee, Pum Soo Kim*, Kyungwon Lee**, Jae Hag Lee***,
Jae Kyoung Lee****, Chang Hoon Lee*****

Department of Laboratory Medicine, Coll. Of Med, Konyang Univ., Daejeon, Department of Internal Medicine, Coll. Of Med., Inha Univ. *, Incheon, Department of Laboratory Medicine, Yonsei Univ. Coll. Of Med. **, Department of food and Nutrition, Seoil College***, Jongang University****, KonKuk Univ. Coll. Of Med*****, Seoul, Korea

Background : *Helicobacter pylori* is the single most common pathogen that causes chronic bacterial infection in human. The authors designed a new type of urease detection method (Asan Helicobacter test) that can be used for rapid early detection of *H. pylori* as well as a transport medium. This medium has a strong acidity with a minimal concentration of urea for the purpose of the detection of *H. pylori*. The current study was to evaluate the bacteriological and clinical usefulness of this medium.

Method : 252 antral biopsies from patients underwent upper gastrointestinal endoscopies in Inha University Hospital were inserted Asan Helicobacter Test and CLO test. 37 antral biopsies from patients underwent upper gastrointestinal endoscopies in Konyang University Hospital were inserted Asan Helicobacter Test. Biopsies were cultured on nonselective media only.

Result : The sensitivity and specificity of the Asan Helicobacter test were comparable with the CLO test (88.0% and 94.0%, respectively), and the results agreed in 99.2% of 252 cases with the CLO test. With this transport medium, all 23 specimens that showed positive reaction among 37 patients yielded satisfactory isolation of *H. pylori*.

Conclusion : These findings suggest that the reagent in the kit inhibit the growth of microbial contaminant due to low pH and do not suppresses growth of *H. pylori* due to low concentration of urea. This kit may be used as a transport medium as well as a rapid urease test for *H. pylori*.

(Korean J Clin Microbiol 2003;6(2):156-159)

Key words : *Helicobacter pylori*, Asan Helicobacter test, rapid urease test, CLO test, transport medium

서 론

Helicobacter pylori (*H. pylori*)는 만성위염 및 소화성 궤

양의 중요 원인균이며[1], 위암 및 위림프종과 깊은 연관
이 있다[2,3].

신속요소분해효소검사는 *H. pylori*가 요소를 분해해서
암모니아와 이산화탄소가 생성되면 배지의 pH가 증가되
어 함유되어 있는 지시약에 의해서 배지의 색이 변하는
원리를 이용한 것인데, 검사방법이 매우 간단하여 내시
경실에서 직접 시행할 수 있다.

저자 등은 위생검 조직에서 *H. pylori*를 배양 시 검체의
오염을 최소화 하기 위하여 강산성인 H-K buffer (0.001N

접수번호 : CM 6-2-12

교신저자 : 김범수

(400-711) 인천 중구 신흥동 3가

인하대병원 소화기내과

TEL : 011)9194-9733 FAX : 032)890-2549

E-mail : pskim@inha.ac.kr

Table 1. Performance of Asan Helicobacter test compared with histologic examination.

Histologic exam	Asan Helicobacter test		Total
	Positive	Negative	
Positive	147	21	168
Negative	5	79	84
Total	152	100	252

Sensitivity: 88.0%, specificity: 94.0%

Table 3. Effect of transport medium by the Asan Helicobacter test on the isolation of *H. pylori*.

Colony count of contaminant(CFU)	Rapid urease test(No.(%) of specimen)	
	Positive(n=23)	Negative(n=14)
None	3(13.1)	3(21.4)
1-10	15(65.2)	11(78.6)
10-99	5(21.8)	0
> 100	0	0

HCl: 0.13N KCl, pH 2.2)를 수송배지로 사용하였다[4]. CLO 검사에 양성인 위생검 조직을 H-K buffer에 넣어 암모니아를 측정할 결과 다량의 암모니아가 측정되는 것을 관찰하였다. 보통 요소배지에는 2g/dL의 다량의 요소가 첨가되어 있어서 *H. pylori*의 요소분해효소 활성이 있을 경우 상당량의 암모니아가 발생하게 되는데 요소가 전혀 함유되어 있지 않은 H-K buffer에서 다량의 암모니아가 발생하는 것을 관찰하였다. 이는 오염균의 증식을 최소화할 수 있도록 pH가 강산성이면서 요소를 첨가하지 않거나 소량만 첨가한 신속요소분해효소검사를 만들 수 있을 것으로 생각되었다.

기존의 신속요소분해효소검사는 모두 *H. pylori* 감염을 진단만 하는 것이지만, 수송 배지의 역할을 하는 새로운 개념의 신속요소분해효소검사를 개발하면 따로 배양을 위한 조직을 채취할 필요가 없어, 소화기 내시경 검사 시 간이 단축되고, 배양과 항균제 감수성검사를 쉽게 실시할 수 있어서 환자의 치료에 많은 도움을 줄 수 있을 것이다.

본 연구의 목적은 강산성이면서 요소가 기존 신속요소분해효소검사법보다 소량 첨가되어 있고, 배양을 위한 수송배지의 역할을 수행할 수 있는 Asan Helicobacter 검사의 임상적 유용성을 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

1. Asan Helicobacter 검사의 제조

4mM Sodium Acetate(0.033g), 40mM Potassium chloride (0.298g), Urea 1g 및 Chlorophenol Red 0.02g 을 100mL 증류수에 혼합하여 용해한 뒤, 멸균된 1.8% Agarose 용액 100mL와 혼합을 하여 최종 pH를 3.0으로 만들었다.

Table 2. Performance of Asan CLO test compared with histologic examination.

Histologic exam	CLO test		Total
	Positive	Negative	
Positive	148	20	168
Negative	5	79	84
Total	153	99	252

Sensitivity: 88.1%, specificity: 94.0%

2. CLO 검사와 비교

2001년 4월부터 7월까지 인하대부속병원 소화기내과와 건강진진 센터에서 상부 위장관 내시경 검사 시 CLO 검사, Asan Helicobacter 검사(아산제약, 한국)와 조직병리검사를 실시한 252명을 대상으로 하였다. *H. pylori* 감염은 Hematoxylin-Eosin 염색과 Giemsa 염색을 실시한 조직병리검사의 결과를 기준으로 하여[4,5] 민감도와 특이도를 구하였다.

3. 수송배지 역할 평가

2002년 9월부터 10월 까지 건양대병원 소화기내과에서 소화성궤양이 관찰되어 *H. pylori* 배양이 의뢰된 37개 검체를 대상으로 하였다. 증식된 집락이 도말염색에서 만족된 그람음성 간균이고, oxidase, catalase 및 urease 양성이면 *H. pylori*로 동정하였고, 그 외의 오염균은 집락수를 세었다.

결 과

1. CLO 검사와 비교

총 252명의 환자 중 조직검사서 *H. pylori*가 관찰된 경우는 168검체(66.8%)였다. 조직검사를 기준으로 CLO 검사의 민감도 및 특이도는 88.1% 및 94.0%였고(Table 1), Asan Helicobacter 검사의 민감도 및 특이도는 88.0% 및 94.0%였다(Table 2). CLO 검사와 Asan Helicobacter 검사의 일치율은 99.2%였다.

2. 수송배지 역할 평가

37명의 환자에서 채취한 내시경 생검조직으로 Asan Helicobacter 검사를 시행한 후 동일 검체로 배양을 실시한 결과, 23명의 환자 검체가 Asan Helicobacter 검사에 양성이었다고 이들 검체 모두에서 *H. pylori*를 분리할 수 있었다(23/23). Asan Helicobacter 검사가 양성인 경우 대부분의 오염균은 1-10 CFU이었다. Asan Helicobacter 검사가 음성인 14 검체에서는 *H. pylori*가 증식되지 않았고, 오염

균의 수가 10 CFU 이상 관찰된 경우는 없었다(Table 3).

고 찰

*H. pylori*는 인간의 만성 세균감염균 중 가장 흔한 원인 균이다[6]. 최근 들어 *H. pylori*의 치료에 사용되는 항균제에 대한 내성균이 증가되어 치료 실패율이 증가되고 있어서 이 세균 감염증의 빠르고 정확한 진단방법이 요구되고 있다[5,7].

*H. pylori*의 요소분해효소는 *Proteus mirabilis*의 약 두 배, 요검체에서 분리되는 다른 세균의 약 10-100배 정도의 활성을 갖는다[8]. 신속 요소분해효소검사는 *H. pylori*의 강력한 요소분해효소의 활성을 이용한 것으로 사용이 간편하며, 검사자 간의 차이가 없는 것이 장점이다. 그러나 약물을 복용한 환자가거나 위조직내에 *H. pylori*의 분포가 균일하지 않기 때문에 위음성이 나올 수 있고[9], 요소를 분해하는 다른 세균에 의해서 위양성이 나올 수 있다. CLO 검사의 민감도와 특이도는 연구자마다 다소 차이는 나지만 86.4% 및 91.7% 정도 보고되고 있는데[7] 본 연구에서도 비슷한 결과를 보였다. 새로운 신속요소분해효소검사와 CLO 검사와 검사의 일치율이 99.2%로 매우 높았다. 두 검체가 일치하지 않았는데 이는 각각 채취된 위 생검 조직의 표면에 있는 집락 수의 차이로 생각할 수 있다.

*H. pylori*는 미호기성 그람음성 간균으로 혈액이 첨가된 배지에서 3-5일 배양 후에 무색집락이 증식되고, 계대 배양을 했을 경우 약 2일 정도에 집락이 증식된다. *H. pylori*의 분리율이 연구자들에 따라 많은 차이가 있는데 이는 내시경 검사 때 이 세균에 영향을 주는 약제의 복용, 실온에서 오래 방치된 조직으로 배양하였을 경우, 오래된 배지로 배양하였을 경우, 상기도 오염균의 증식 등으로 설명되고 있다[10]. 본 연구에서는 비선택배지인 혈액 한천배지 한가지만 사용하여 배양을 실시하였다. 위점막 검체는 가능한 한 신속하게 검사실로 운반되어야 하며, 수송배지를 사용하면 4시간 이내에 접종할 수 있다. 대부분의 검체는 소화기 내시경실에서 미생물실로 옮겨진 후 2시간 이내에 그람염색 및 배양을 실시하였다. Asan Helicobacter 검사에서 양성이었던 검체 모두에서 *H. pylori*를 분리하는 데 성공하였다. Asan Helicobacter 검사에서 *H. pylori*가 분리되었을 때 대부분의 경우 오염균의 집락이 10 CFU 이하로 쉽게 *H. pylori*를 분리할 수 있었다. Asan Helicobacter 검사에서 음성이었던 검체에서는 *H. pylori*가 증식되지 않았고, 또한 오염균의 수도 모두 10 CFU 이하이었다. 이는 본 연구에 사용된 Asan Helicobacter 검사가 강산성이어서 *H. pylori* 이외의 다른 세균의 증식이 억제되었을 것으로 생각된다[11-12]. 또한 높은 농도의 요소(2g/dL)는 *H. pylori*의 생존력을 억제하는데[13] Asan Helicobacter 검사는 소량의 요소가 첨가되어 있어서 *H. pylori*의 생존력을 많이 억제하지 않은 것으로 생각된다.

이상의 결과로 새롭게 고안한 Asan Helicobacter 검사에 위점막 조직을 넣어 수송하였을 경우 상기도 세균의 오염을 현저하게 감소시켜 *H. pylori*를 쉽게 분리할 수 있었고, 기존의 CLO검사와 높은 일치율을 보여 임상에서 유용하게 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

배 경 : *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)는 인간의 만성 감염균 중 가장 흔한 세균이다. 저자 등은 *H. pylori*를 신속하게 진단하면서 수송배지 역할을 수행하는 Asan Helicobacter 검사를 제조하였다. 이 신속요소분해효소검사는 강산성이면서 소량의 요소가 함유되어 있다. 저자 등은 Asan Helicobacter 검사의 세균학적 및 임상적 유용성을 평가하였다.

방 법 : 인하대병원 종합건강증진센터 환자 242명의 검체를 대상으로 Asan Helicobacter test와 CLO test를 비교하였다. 건양대병원 소화기내과 환자 37명의 검체로 수송배지 역할을 평가하였다. 배양은 비선택배지인 혈액 한천배지 만을 사용하였다.

결 과 : CLO 검사의 민감도 및 특이도는 88.1% 및 94.1%였고, Asan Helicobacter 검사의 민감도 및 특이도는 88.7% 및 94.0%였다. CLO 검사와 Asan Helicobacter 검사의 일치율은 99.2%였다. 수송배지의 평가에서 37명의 환자의 검체로 배양을 실시한 결과 Asan Helicobacter 검사에 양성인 27명 환자 검체에서 *H. pylori*를 분리할 수 있었다(100.0%).

결 론 : Asan Helicobacter 검사는 강산성이기 때문에 오염균의 증식을 억제하고, 또한 요소의 농도가 낮아 *H. pylori*의 증식을 억제하지 않은 것으로 생각된다. 이 Asan Helicobacter 검사는 *H. pylori*의 진단 및 배양을 위한 수송배지 역할에서 유용한 것으로 판단되었다.

참 고 문 헌

- Schrader JA, Peck HV, Notis WM, Shaw P, Venezia RA. A role for culture in diagnosis of *Helicobacter pylori*-related gastric disease. *Am J Gastroenterol* 1993;88:1729-33.
- Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, Gelb AB, Warnke RA, Jellum E, et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. *N Engl J Med* 1994;330:1267-71.
- Parsonnet J HS, Rodriguez L. *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. *New Eng J Med* 1994;330:1267-71.
- 이종욱, 황유경, 배수환, 김범수, 이경원, 정윤섭. *Helicobacter pylori*의 배양에 있어서 HCl-KCl buffer의 유용성. *대한임상병리학회지* 1999;19:662-6.
- 이종욱, 이남금, 배수환, 김범수, 최원, 이돈행 등. *Helicobacter pylori*의 진단 및 배양을 위한 수송배지 역할에서 유용한 것으로 판단되었다.

- cobacter pylori* 감염진단을 위한 Urea Breath Test의 평가. 대한임상미생물학회지 2000;3:111-5.
6. Pounder R. *The prevalence of Helicobacter pylori infection in different countries. Aliment Pharma Ther* 1995;2 (9 Suppl):33-39.
 7. 엄희섭, 김범수, 이종욱, 배수환, 이진우, 최원 등. *Helicobacter pylori* 감염 검출을 위한 4가지 Enzyme Immunoassy. 대한소화기학회지 2001;37:312-8.
 8. Ansorg R, Von Recklinghausen G, Pomarius R, Schmid EN. *Evaluation of techniques for isolation, subcultivation, and preservation of Helicobacter pylori. J Clin Microbiol* 1991;29:51-3.
 9. Westblom TU, Madan E, Midkiff BR. *Egg yolk emulsion agar, a new medium for the cultivation of Helicobacter pylori. J Clin Microbiol* 1991;29:819-21.
 10. 이경원, 김태승, 권상욱, 이미경, 윤갑준, 정윤섭. 위염과 소화성 궤양 환자에서 위점막내 *Campylobacter pyloridis* 검사에 관한 연구. 대한의학협회지 1987;30:553-60.
 11. Marshall BJ, Barrett LJ, Prakash C, McCallum RW, Guerrant RL. *Urea protects Helicobacter(Campylobacter) pylori from the bactericidal effect of acid. Gastroenterology*. 1990;99:697-702.
 12. Clyne M, Labigne A, Drumm B. *Helicobacter pylori requires an acidic environment to survive in the presence of urea. Infect Immun* 1995;63:1669-73.
 13. Soltesz V, Zeeberg B, Wadstrom T. *Optimal survival of Helicobacter pylori under various transport conditions. J Clin Microbiol* 1992;30:1453-6.