

Treponema pallidum 특이항체 검출을 위한 효소면역법 Trepanostika™의 임상적 유용성

김영아 · 조동희* · 김현숙

연세대학교 의과대학 임상병리학과교실, 성균관대학교 의과대학 삼성제일병원 임상병리학과교실*

Clinical Usefulness of Trepanostika™, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of *Treponema pallidum*-Specific Antibody

Young Ah Kim, M.D., Dong Hee Cho, M.D.*, and Hyon-Suk Kim, M.D.

Department of Clinical Pathology, College of Medicine, Yonsei University,
Department of Clinical Pathology*, Samsung Cheil Hospital, Sungkyunkwan University, College of Medicine, Seoul, Korea

Background : The Trepanostika™ is an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the qualitative determination of specific antibody (Ab) to *Treponema pallidum*. It is important to detect *Treponema pallidum*-specific Ab to confirm syphilis in patients with positive nontreponemal result or at late latent stage/late stage. Currently various ELISA methods for *Treponema pallidum*-specific Ab have been developed in addition to widely used treponemal tests such as fluorescent treponemal antibody absorption (FTA-ABS) test or *Treponema pallidum* hemagglutination (TPHA) test. We evaluated Trepanostika™, anti-treponemal ELISA test.

Methods : The sensitivity and specificity of this ELISA method for detecting *Treponema pallidum*-specific Ab (Trepanostika™) were evaluated and compared with other treponemal tests such as FTA-ABS and TPHA.

Results : The sensitivity and specificity of Trepanostika™ were 95.7% and 95.8%, respectively. The concordance rate with FTA-ABS was 98.9% (283/286) and 100% (272/272) with TPHA.

Conclusions : Trepanostika™ which has similar sensitivity and specificity with FTA-ABS or TPHA could replace the well-known treponemal test such as FTA-ABS or TPHA. (*Korean J Clin Pathol* 1998; 18: 255-8)

Key words : *Treponema pallidum*-specific antibody, Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Syphilis

서론

매독 진단의 표준방법은 병변에서 직접 균을 검출하는 방법이 나 민감도가 낮고 검사가 어려우므로 주로 혈청학적 방법으로 진단해왔다. 혈청학적 방법에는 감작항체(reagin)를 검출하는 Venereal Disease Research Laboratory (VDRL)나 Rapid Plasma

Reagin (RPR)같은 비트레포네마 검사(nontreponemal test) 및 fluorescent treponemal antibody absorption (FTA-ABS)이나 *Treponema pallidum* hemagglutination (TPHA) 등의 트레포네마 검사(treponemal test)가 있으며, 전자는 선별검사에 후자는 선별검사에서 양성을 보이는 환자의 확진이나 말기 잠복매독이나 후기 매독 환자의 진단에 주로 사용되어 왔다[1].

감작항체는 조직이 파괴될 때 유리되는 것으로 매독 트레포네마 감염 외에도 백신접종[2], 세균 및 바이러스 감염[3], 전신성 홍반성 낭창, 교원질환, 자가면역질환자, 나병[4]에서 증가될 수 있으며, 말기 잠복매독이나 후기 매독에서는 27-39%에서 위음성을 보여 특이 항체의 검출이 필요하다[5].

접 수 : 1998년 3월 20일 접수번호: KJCP1139
수정본접수 : 1998년 5월 14일
교신저자 : 김현숙
우 135-720 서울특별시 강남구 도곡동 146-92
영동세브란스병원 임상병리과
전화 : 02-3497-3531, Fax : 02-3462-9493

특이 항체의 검출을 위해서 효소면역법을 이용하는 방법이 최근에 개발되었는데 자동화가 쉽고 많은 검체를 처리하기 용이하며 흡광도로 양성과 음성을 판정하게 되므로 결과가 객관적인 장점을 가지고 있다. 저자들은 특이 항체를 경쟁적 효소면역법으로 검출하는 Trepanostika™의 민감성, 특이성 및 재현성을 알아보고 잘 알려진 FTA-ABS 및 TPHA와 비교해 보았다.

재료 및 방법

1. 대상

1997년 9월부터 1998년 1월까지 신촌세브란스 병원에 내원한 총 288명의 환자를 대상으로 하였다. 대상환자는 완치된 매독 환자 35명, 신경매독 3명, 2기 매독 3명, 선천성 매독 1명 및 잠복기 매독 65명 등 총 107명의 매독환자와 181명의 대조군(습진, 베타병, 두드러기 등의 피부과 질환이나 수술전 통상 선별검사로 매독검사가 의뢰되었던 환자)으로 구성되어 있다. 대상환자의 평균연령은 매독 환자군이 50세(21-80), 대조군이 43세(9-75)이었으며 남녀 비는 두 군 모두 약 1:1이었다.

2. 효소면역법을 이용한 *Treponema pallidum* 특이항체 검출

경쟁적 효소면역법인 Trepanostika™ (Organon Teknika, Belgium)를 사용하였다. Horseradish peroxidase, tetramethylbenzidine, peroxide를 사용 450 nm에서의 흡광도를 측정하였으며 흡광도는 검체내 항체의 양과 반비례하게 된다.

3. Fluorescent treponemal antibody absorption (FTA-ABS) 검사

FTA-ABS Test system (SCIMEDX Corp., Denville, NJ)을 사용하여 검사하였다. 매독 트레포네마를 항원으로 하는 간접 면역형광법으로 비병원성 트레포네마에 반응하는 항체는 흡착제로 처리하여 매독 트레포네마 항체의 특이성을 높인 방법이다. 항원이 교정된 슬라이드에 희석 혈청 25 µL를 분주하고 37°C에서 30분간 반응시키면 항원-항체 복합체가 형성되고 이에 형광물질이 부착된 항 면역글로불린을 처리시 매독 트레포네마가 형광을 띄어 나선형으로 관찰된다. 결과는 반응정도에 따라 양성(2+ - 4+), 약양성(1+), 음성으로 판독하였다.

4. *Treponema pallidum* hemagglutination (TPHA) 검사

TPHA Test kit (FUJIZOKI Pharmaceutical Co., LTD, Tokyo, Japan)를 사용하여 검사하였다. 수동적 혈구응집법으로 혈청을 흡착제 처리 후 1:80 - 1:5,120배 희석 혈청 50 µL와 감작 적혈구 75 µL와 반응시킨다. 특이항체가 있으면 적혈구가 응집된다. 결

과는 육안으로 관찰하여 최종 희석배수를 보고하였다.

결 과

1. Trepanostika™ (Organon Teknika)의 민감도, 특이도

대상군 중 진단명의 확인이 가능했던 272명에서 Trepanostika™의 민감도, 특이도는 각각 95.7%와 95.8%이었다.

2. 진단명에 따른 Trepanostika™ (Organon Teknika)의 흡광도의 차이

대상군 중 진단명의 확인이 가능했던 272명에서 잠복기 매독 환자, 치료받은 매독환자 및 대조군(다른 피부질환 및 수술의 선별검사로 매독 검사가 의뢰)의 흡광도는 각각 평균 0.29, 0.50, 1.49이었다(Fig. 1).

3. Trepanostika™의 재현성

각각 5개씩의 양성 및 음성 검체(총 10개)를 5일간 반복 측정한 결과, 양성 검체의 변이계수는 8.2-17.9%이었으나, 음성 검체의 변이 계수는 8% 이하이었으며 불일치는 없었다(Table 1).

4. 효소면역법 Trepanostika™와 FTA-ABS의 상관성

총 286명의 검사결과 중 3명을 제외하고 효소면역법과 FTA-ABS의 결과가 일치하여 일치율 98.9%이었으며, FTA-ABS의 결과가 음성인 경우 Trepanostika™ 검사의 흡광도의 평균은 1.0이었으나 1+에서 4+로 반응정도에 따라 흡광도가 낮았다(Table 2).

불일치를 보인 환자 중 3명의 환자에서 FTA-ABS는 양성이었으나 효소면역법으로는 음성을 보였는데(Table 3), 이 환자들의

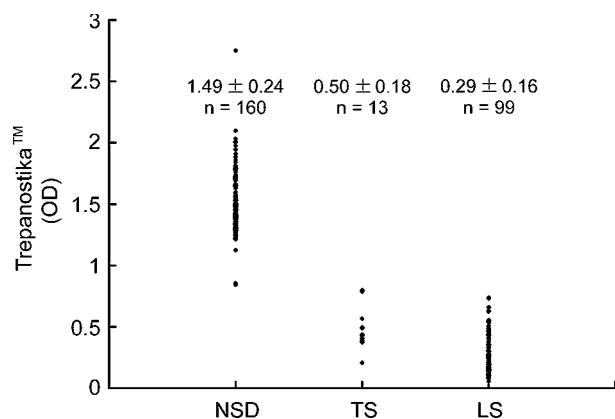


Fig. 1. The differences of optical density in patient's sera with non-syphilitic disease (NSD), treated syphilis (TS), latent syphilis (LS) tested by anti-treponemal ELISA (Trepanostika™).

Table 1. The reproducibility of anti-treponemal ELISA test (Trepanostika™)

Sample	Test day	1	2	3	4	5
Positive (n=5)	Concordance rate* (%)	100	100	100	100	100
	Mean OD	0.18	0.24	0.14	0.26	0.19
	CV	17.7	17.9	10.7	8.2	9.8
Negative (n=5)	Concordance rate (%)	100	100	100	100	100
	Mean OD	1.37	1.36	1.37	1.41	1.54
	CV	6.4	4.7	5.9	5.6	7.7

*Concordance rate = 5/5×100 = 100%.
Abbreviations: OD, optical density; CV, coefficient of variance.

진단명은 1명은 후기 잠복매독이었으며 2명은 치료된 매독이었다.

5. 효소면역법 Trepanostika™와 TPHA와의 상관성

총 272개의 검체에서 두 방법을 시행하였는데 모두 일치된 결과를 보여 일치율은 100%이었다(Table 4). TPHA의 최종희석배수와 Trepanostika™ 검사의 흡광도를 비교해보면 1:80 이상의 경우 평균 0.55이나 희석배수가 증가할수록 흡광도도 감소하여 1:5,120 양성인 경우 흡광도는 0.17이었다(Table 3).

고 찰

혈청학적 매독검사는 매독 감염의 진단 및 수혈이나 장기 이식에서의 공혈자의 선별검사로 중요한 검사이다. 흔히 감작항체(reagin)를 검출하는 Venereal Disease Research Laboratory (VDRL)와 Rapid Plasma Reagin (RPR)같은 비트레포네마 검사(nontreponemal test)가 선별검사로 사용되고, fluorescent treponemal antibody absorption (FTA-ABS)과 *Treponema pallidum* hemagglutination (TPHA)등 트레포네마 검사(treponemal test)는 선별검사서 양성을 보이는 환자의 확진이나 말기 잠복매독이나 후기 매독 환자의 진단에 주로 사용되어 왔는데 [1, 6] 최근에 효소면역법을 이용하여 매독 트레포네마 항체를 검출하는 방법이 개발되었다[7-9].

Table 2. The correlation between anti-treponemal ELISA test (Trepanostika™) and FTA-ABS

FTA-ABS (n=286)	Titer No.	NR 168	1+ 11	2+ 75	3+ 24	4+ 8
Trepanostika™ (n=286)	Concordance rate* (%)	100 (168/168)	72.7 (8/11)	100 (75/75)	100 (24/24)	100 (8/8)
	Discrepant	0	3	0	0	0
	Mean OD	1.0	0.6	0.4	0.2	0.2

*According to positive or negative result.
Abbreviations: NR, non reactive; No, number.

이러한 방법은 감작항체의 검출을 위한 VDRL 검사시 보이는 급성 및 만성 위양성[2-4]이 적고 자동화가 가능하고 대량검체의 처리가 용이하며 검사의 판독이 객관적인 장점이 있으므로 검사의 수요가 많고 전산화가 필요한 대형병원에서 유용한 검사로 생각된다. 지금까지 여러 보고에서 FTA-ABS나 TPHA등의 검사와 비교시 99%이상의 민감도와 특이도가 보고되어 있다[7, 8]. 본 저자들도 임상적 진단으로 본 민감도와 특이도가 95.7%와 95.8%로 좋았으며 FTA-ABS 및 TPHA와의 일치율도 각각 98.9%와 100%로 종래에 널리 사용하던 방법과 상관성이 매우 좋음을 알 수 있었다.

FTA-ABS나 TPHA 등의 민감도는 매독의 병기에 따라 달라져 1기 매독의 경우 FTA-ABS가 84% (70-100), TPHA가 76% (69-90)이며 2기 매독과 잠복기 매독의 경우 두 방법 모두 거의 100%. 후기 매독은 두 방법이 약 95%의 민감도를 보이는 것으로 알려져 있다[1]. 본 연구에서는 대상군이 잠복기 매독 및 치료받은 매독환자가 주된 대상이었으므로 좋은 민감도를 보인 것이라 생각되며 앞으로 1기 및 2기 매독의 민감도와 특이도를 좀 더 확인할 필요가 있겠다.

FTA-ABS로는 양성이나 효소면역법으로 음성을 보인 경우는 3에 모두 치료된 매독환자로 치료 후 항원이 감소되는지에 대한 추가 검사가 필요하리라 생각되며 FTA-ABS가 좀더 민감하게 항체를 검출해 낸다고 생각된다. TPHA와는 상관성이 매우 좋았다.

효소면역법은 FTA-ABS나 TPHA와 마찬가지로 치료후의 반응 정도를 관찰하기에는 적당하지 않았다. VDRL 검사결과와 비교가 가능했던 총 285 검체 중 22 검체에서 불일치를 보였다. VDRL에서는 음성을 보였으나 효소면역법에서 양성을 보인 경우는 18명

Table 3. The correlation between anti-treponemal ELISA test (Trepanostika™) and TPHA test

TPHA (n=272)	Titer No.	NR 167	1:80 6	1:160 7	1:320 18	1:640 11	1:1280 22	1:2560 26	1:5120 15
Trepanostika™ (n=272)	Concordance rate* (%)	100 (167/167)	100 (6/6)	100 (7/7)	100 (18/18)	100 (11/11)	100 (22/22)	100 (26/26)	100 (15/15)
	Discrepant	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mean OD	1.07	0.55	0.29	0.45	0.42	0.36	0.22	0.17

*According to positive or negative result.
Abbreviations: NR, non reactive; No, number.

이었는데 베체병 환자 1명을 제외하고는 과거에 매독으로 진단받은 환자가었다(결과는 제시하지 않음).

본 저자들은 효소면역법으로 Trepanostika™ (Organon Teknika, Belgium)를 사용하였는데 이는 경쟁적 효소면역법으로 혈청 내 항체의 양과 흡광도는 서로 반비례하게 된다. 흥미롭게도 흡광도와 FTA-ABS나 TPHA의 최종 희석 농도는 반비례하였는데 이로 미루어 흡광도가 치료 후 경과 관찰에 유용한지에 대한 검토가 필요하리라 생각된다. 또 대조군과 치료받은 매독균 및 잠복매독 환자군 사이의 흡광도 평균에 차이가 있었다.

결론적으로 효소면역법인 Trepanostika™은 기존의 검사를 대체할 수 있는 유용한 검사로 생각되며 위양성이 적고 잠복기에도 검출이 가능한 점, 면역효소법의 장점인 자동화와 대량검체의 처리가 가능한 점은 특히 공혈자군과 같은 대량 선별검사에 유용하리라 생각된다.

요약

배경: Trepanostika™는 효소면역법으로 매독 트레포네마에 대한 특이항체를 검출한다. 특이항체의 검출은 주로 fluorescent treponemal antibody absorption (FTA-ABS)이나 *Treponema pallidum* hemagglutination (TPHA)를 사용해왔으나 최근에 효소면역법을 이용한 많은 방법들이 소개되고 있다.

방법: 효소면역법인 Trepanostika™의 민감도와 특이도를 진단명을 기준으로 알아보았고 종래의 방법인 FTA-ABS 및 TPHA와 비교해 보았다.

결과: 민감도와 특이도는 각각 95.7%와 95.8%이었다. FTA-

ABS 및 TPHA와의 일치도는 각각 98.9% (283/286)와 100% (272/272)로 좋았다.

결론: 효소면역법 Trepanostika™는 기존의 트레포네마 검사인 FTA-ABS 나 TPHA를 대체할 수 있는 유용한 검사로 생각된다.

참고문헌

1. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. *Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 1-21.
2. Grossman IJ and Peery TM. *Biologically false positive serologic tests for syphilis due to small pox vaccination. Am J Clin Pathol* 1969; 51: 375-8.
3. Salo OP, Vuorio M, Mustakallio KK, Aho K. *Tests for syphilis in young males: an analysis of a seven-year series from a central military hospital. Mil Med* 1967; 132: 258-61.
4. Sparling PF. *Diagnosis and treatment of syphilis. N Engl J Med* 1971; 284: 642-53.
5. Harner RE, Smith JL, Israel CW. *The FTA-ABS test in late syphilis. JAMA* 1968; 203: 545-8.
6. Atwood WG, Miller JL, Stout GW, Norins LC. *The TPHA and FTA-ABS tests in treated late syphilis. JAMA* 1968; 203: 549-51.
7. Nayar R and Campos JM. *Evaluation of the DCL syphilis-G enzyme immunoassay test kit for the serologic diagnosis of syphilis. Am J Clin Pathol* 1993; 99: 282-5.
8. Hooper NE, Malloy DC, Passen S. *Evaluation of a Treponema pallidum enzyme immunoassay as a screening test for syphilis. Clin Diagn Lab Immunol* 1994; 1: 477-81.
9. Whang KK, Lee MG, Song MS, Lee JB. *ELISA inhibition test using monoclonal antibody specific for treponema pallidum as the serologic test for syphilis. Acta Derm Venereol* 1995; 75: 397-9.