

Urease를 이용한 위점막 시료에서 *Helicobacter pylori*의 신속한 진단법이학성¹, 노임환², 최태부¹, 이종화²

1건국대학교 미생물공학과, 2단국대의대 소화기연구소

전화 (02)590-2622, 이학성

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is the causative agent of chronic gastritis and the single most important factor in peptic ulcer disease, however, the pathogenetic mechanisms underlying *H. pylori* infection are not well understood. Furthermore, there is a strong association between *H. pylori* infection and gastric cancer. Various diagnostic methods for detecting *H. pylori* infection are available. These can be divided into invasive methods, requiring endoscopy, and non-invasive tests, mainly ¹³C-urea breath tests and serologic detection of antibodies. Rapid urease test is the most recommendable endoscopic test for the diagnosis of *H. pylori* infection, presently. CLO test kit is the represent of rapid urease test kits. The principles of CLO test kit is that hydrolysis of urea by urease is detected by a dye indicators showing a color change. Our device is used same principle but we improved the reaction time is more faster and positive color change is more distinctive from the color of the negative specimen. So, this kit is more reliable because it response faster and accuracy.

서 론

Helicobacter pylori (*H. pylori*)는 위암을 비롯한 위장관 질환을 야기하는 원인균으로 주목 받고 있으며, 현재 이를 위한 치료를 필요로 하고 있는 실정이다. 이러한 *H. pylori* 검출을 위해서는 위내시경시 채취된 위조직 검체를 이용하여 존재유무를 확인하는 것이 일반적이며, 이에 따라 *H. pylori* 치료에 대한 항생제 사용 등을 결정하여야 한다. 현재 *H. pylori*의 검출에 사용되는 방법으로는 urease detection test, PCR method, culture, ¹³C-Urea breath test, histology 등이 있으나, 이 중 가장 효과적으로 내시경실에서 손쉽게 이용할 수 있는 방법은 urease detection test 이다. 이 방법은 *H. pylori*가 생산하는 urease 효소가 다른 미생물에 비해 월등히 활성도가 높음을 이용하는 것으로써, 즉 kit 내에 첨가된 urea가 분해됨에 따라 생기는 암모니아에 의해 pH가 상승되면 이를 pH 지시약의 발색으로 urease 활성도를 측정하는 원리를 이용한다. 이런 원리를 이용해 상업화된 kit로는 CLO tset(US 특허번호 4,748,113), Hp fast(US 특허번호 5,439,801), Pyloritek(US 특허번호 5,420,016) 등이 있다. 우리가 고안한 방법도 기본적으로는 이러한 원리를

이용하는 것이지만, 기존 고안품들과는 다른 조성으로 발색 속도가 빠르고, 색깔에 의한 판정시 발생하는 false positive나 false negative 율을 낮추도록 고안하였다.

대상 및 방법

상부위장관 내시경검사를 시행받은 111예의 환자에서 환자당 5개의 위점막 조직을 취하였다. 조직생검검사는 위전정부에서 시행하였으며 1개는 본 고안품 (HP kit) 검사에, 1개는 CLO 검사에, 2개의 조직은 조직병리 검사에, 나머지 한 개는 *H. pylori* 배양에 이용하였으며, HP 검사와 CLO 검사는 반응 24시간 쯤 판정 후 동일 조직으로 PCR을 시행하여 확인하였다. *H. pylori* 감염 양성 판정은 은염색 및 modified Giemsa 염색에 의한 조직학적 검사, *H. pylori* 유전자에 대한 PCR 및 배양을 시행하였고, 양성 판정의 기준으로는 배양에서 양성인 경우, 혹은 배양에서 음성이어도 조직학적 검사와 PCR 검사가 모두 양성인 경우를 감염 양성의 gold standard로 하였다. 그리고 본 HP kit의 비교군으로써는 CLO test kit를 사용하였다. HP kit와 CLO test 검사는 검체와의 반응 후 각각 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 24시간에 판독하였으며 CLO test kit는 24시간에, HP kit는 2시간에 최종 판정을 하였다. 또한 위장내 비교적 흔히 생존하는 요소 분해효소 생산성 균주인 *S. homini*를 위양성 반응의 지표로 삼았다.

결과 및 고찰

2시간째의 HP kit 검사의 진단적 예민도는 94.7%, 특이도 100% 였고 24시간째 CLO 검사의 예민도는 98.2%, 특이도 88.9%로 진단성적이 비슷하였다. 그러나, 30분, 1시간, 2시간째의 HP kit 검사의 예민도는 80.2%, 86.2%, 94.7%로 CLO 검사의 35.1%, 56.1%, 71.9%에 비해 각각 유의하게 빨랐다. 즉 HP kit 검사는 CLO 검사의 요소기질과는 다르게 수용액속의 암모니아 농도를 측정하는 방법인 Phenate 법의 시약을 첨가하여 반응요소 기질을 만듦으로써 망간 촉매하에서 암모니아가 hydrocholrite와 phenol에 반응해서 indophenol blue로 변하는 원리를 이용하여 urea의 분해과정에서 반응산물인 암모늄이온을 indophenol로 만들어 urea의 분해가 지속적으로 이루어지게 하여 pH 증가가 빨라지도록 고안하였기 때문이다. 여기에 phenate 법의 시약의 첨가량을 urease의 활성이 억제되지 않고, pH 지시약인 phenol red의 색변화에 영향을 주지 않도록 변경시켰다.

결 론

본 연구진이 고안한 *H. pylori* 검출 kit와 기존의 CLO test kit는 모두 진단 예민도와 특이도가 우수하였으나, CLO test kit에 비해 반응시간이 단축되어 2시간 이내에 빠른 판정을 할 수 있어 신속한 진단이 가능할 것으로 사료된다.