

## 간흡충증 혈청학적 진단의 최신 동향

### Recent Advances in Serodiagnosis for Clonorchiasis

김태임 · 홍성종

중앙대학교 의과대학 환경의생물학교실

Tae Im Kim, Ph.D., Sung-Jong Hong, Ph.D,  
DMV.

Department of Medical Environmental Biology, Chung-  
Ang University College of Medicine, Seoul, Korea

책임저자 주소: 홍성종, 156-756, 서울시 동작구 흑석동 224-1

중앙대학교 의과대학 환경의생물학교실

Tel: 02-820-5669, Fax: 02-821-5683

E-mail: hongsj@cau.ac.kr

투고일자: 2010년 7월 3일, 심사일자: 2009년 7월 10일, 게재확정일자: 2009년 7월 15일

#### Abstract

Human clonorchiasis is a major parasitic infection and estimated about 1.4 million people to be infected with this parasite in Korea now. Clonorchiasis is a chronic disease debilitating inhabitants and threatening their health in endemic areas. Early diagnosis and treatment of clonorchis-infections are crucial. As a standard diagnostic method, the microscopic stool examination and identification of the egg has been employed. Nowadays needs are serodiagnostic kits of more rapid, simple and convenient formats. Serodiagnostic methods using antigenic proteins, in crude or molecularly defined forms, of *Clonorchis sinensis* could be alternatives for diagnosis of *C. sinensis*-infections. Serodiagnostic methods could be employed for large scale diagnosis to screen out infected with stress on false negatives of light worm-burden cases. To alleviate these obstacles, antigenic proteins of high specificity and moderate

sensitivity have been identified and available in molecularly defined forms. Recently, a rapid diagnostic test was developed for serodiagnosis of *C. sinensis*-infections. Multiple antigen mixtures are expected to be formulated using these defined antigenic proteins and to escalate rapid diagnostic tests to those of high specificity and sensitivity for serodiagnosis of *C. sinensis*-infections.

**Key Words:** *Clonorchis sinensis*, Antigen, Clonorchiasis, Serodiagnosis, Rapid diagnostic test

#### 서 론

간흡충(*Clonorchis sinensis*)은 인체 감염 시 간내 담도에 기생하여 간흡충증을 일으킨다. 간흡충증은 우리나라에서 감염률이 가장 높은 기생충성질환으로 현재 우리나라 국민의 간흡충 감염률은 2.9%이며 약 140만명이 감염되어 있는 것으로 추산된다.<sup>1</sup> 특히 4대강 유역에는 간흡충증이 토착화되어 있으며 지속적으로 감염자가 발생되고 있다. 일부 유행지역에서는 전국 평균 감염률의 10배 이상의 높은 감염율을 보이는 지역도 있다. 1982년부터 우수한 구충제인 프라지퀀텔(praziquantel)을 지속적으로 투입하면서 간흡충증을 대단위로 집단관리 하였다. 하지만 간흡충 감염율은 기대만큼 저하되지 않았으며 여전히 국민건강을 심각하게 위협하고 있다. 경제적인 수준이 향상됨에 따라 국민들이 고급 어종 민물고기를 생식하는 경향이 나타났으며 민물고기 소비량이 증가하였다. 민물고기의 간흡충 피낭유충 감염율과 감염 부하는 낮아졌지만 생선회를 먹는 빈도가 증가하여 소수의 피낭유충에 의한 간흡충 재감염이 지속적으로 일어나고 있는 것으로 예상된다.

간흡충은 인간을 포함한 포유동물을 종숙주로 하여 기생한다. 간흡충에 감염된 종숙주의 분변으로 배출된 충란이 담수에 들어가면 섬모유충(miracidium)으로 발육한다. 제

1중간숙주인 왜우렁(*Parafossarulus manchouricus*)에 섭취되면 패류 체내에서 섬모유충이 무성생식법으로 sporocyst, redia를 거쳐 유미유충(cercaria)으로 발육하고 수중으로 방출된다. 유미유충은 물 속을 헤엄쳐 다니다가 제2중간숙주인 민물고기의 피부를 뚫고 들어가 근육에서 포낭에 싸인 피낭유충(metacercaria)이 된다. 사람들은 피낭유충이 들어 있는 민물고기를 생식하거나 부적당하게 조리하여 먹음으로써 간흡충에 감염된다. 민물고기 피낭유충이 십이지장에서 탈낭하여 총수담관을 경유하여 간내 담도로 진입한다. 유충은 소담관(bile ductule) 말단에서 성장하며, 성장에 따라 담도 중간부위로 이동하여 성충이 된다.<sup>2,3</sup> 담관 내에 기생하는 간흡충 성충은 담관상피세포에 물리적 압박과 대사산물, 분비물 등에 의한 화학적인 자극을 가한다. 그 결과로 간흡충 급성감염기에는 담관상피의 과다형성(epithelial hyperplasia), 염증세포 침윤, 담관비후가 일어난다. 감염이 지속되어 만성화되면 과다형성된 담관상피가 술잔세포 화생화(goblet cell metaplasia), 선종과다형성(adenomatous hyperplasia)으로 변형되고 담관벽 비후가 간의담도까지 확장되어 간실질조직이 감소된다. 이와 같은 간병변으로 인하여 간흡충 감염자는 복부불쾌감, 소화불량, 폐쇄성 황달, 담도염, 간기능 저하, 간경변 등의 임상증상을 나타내게 된다. 또한 담관염증이 만성적으로 지속되면 담관 주위조직에 섬유화가 계속되어 담도성 경변증(biliary cirrhosis)으로 이행되기도 한다. 뿐만 아니라 간흡충에 의한 지속적인 물리적 및 화학적 자극과 손상은 담관암(cholangiocarcinoma)을 일으킨다.<sup>2,3</sup> 유행지에서 간흡충 만성감염은 담관암 발생이 2~3배 높은 역학적인 특성을 보인다. 실험 동물에서 간흡충 감염은 담관상피과다형성을 유발하여 담관암이 발생할 수 있는 전구조건을 형성시키며 암발생을 촉진시킨다.<sup>4,5</sup> 최근에는 간흡충이 분비하는 분비배설물이 숙주세포의 생리조절기능을 변화시켜서 담관암을 유발할 수 있다는 실험적인 연구결과가 발표되었다.<sup>6,7</sup> 또한 간흡충과 근연종인 타이간흡충은 염증, 산화적 스트레스, 세포증식을 유발하여 담관암을 일으키는 것으로 알려져 있다.<sup>8</sup> 최근 세계보건기구(WHO)와 국제암연구소(IARC)는 타이간흡충과 간흡충을 담관암을 유발시키는 Group 1 (Carcinogen to human)의 생물학적 발암원인체로 공인하였다(<http://www.iarc.fr/>). Group 1에 속하는 발암생물들은 인체 발암성에 관한 충분한 근거자료가 확보된 발암생물들이다.

간흡충의 수명은 10~20년에 달한다. 그러므로 간흡충증은 감염기간이 오래 동안 지속되는 만성적 경과를 취하며 우리나라 주요 하천유역에 유행지가 형성되어 있다. 간흡충증은 우리나라에서 대·소 하천유역 주민들의 건강을 위협하고 있으며 유행지 주민들의 근로의욕을 저하시켜서 사회·경제적 활동에 커다란 지장을 주고 있다. 그러므로 간흡충 감염을 조기에 진단하고 치료하는 일은 국민건강향상을 위하여 매우 중요한 과제이다.

## 본 론

간흡충 감염은 대변현미경검사법으로 육안으로 충란을 직접 확인하여 진단한다. 대변검사법은 감염여부를 가장 정확하게 판별할 수 있을 뿐 아니라, 대변 내 충란 수를 측정하여 얼마나 많은 수의 간흡충에 감염되었는지 즉 감염강도를 추정할 수 있는 장점이 있다.<sup>9,10</sup> 하지만 대변검사법은 현실적으로 여러 어려움을 가지고 있다. 환자가 대변에 혐오감을 가지고 있을 경우, 진단용 대변 채취와 배출을 꺼리는 경향이 있고, 대단위 기생충 감염을 조사하는 경우에는 대변수거의 어려움이 있다. 뿐만 아니라 충체부하가 낮은 간흡충 감염자의 경우에는 충란 검출율이 낮아져서 현미경대변검사를 반복해야하기 때문에 확진까지 소요되는 시간이 길다. 또한 간흡충 충란을 장내감염 장흡충류 및 조충류의 충란과 구별하여 판독할 수 있는 숙련된 전문인력을 필요로 한다. 또한 보완적인 진단법으로 초음파검사와 역행성 내시경담도조영술 등의 영상진단법과 면역혈청학적검사로 피부반응검사가 간흡충 감염의 진단에 활용되고 있다. 대단위 간흡충증관리사업에 양성감염자 선별검사로 피내반응 검사가 사용되고 있다. 간흡충 및 폐흡충 피내반응 검사는 민감도는 높지만 특이도가 낮고, 현증과 과거 감염을 구분하지 못해 실효성이 떨어진다.<sup>10,11</sup> 최근에는 이마저도 공급이 중단되어 현장에서 사용할 수 없다. 영상학적 진단방법인 초음파검사, 전산화 단층 촬영(CT), 자기공명영상(MRI), 내시경적 역행성 담관조영술은 간내 담관이 불규칙적으로 확장된 소견을 확인하여 간흡충증을 의심해볼 수 있고, 또 이차적인 합병증 즉 담낭, 담관, 간의 염증, 담관결석, 담관암 등을 알아볼 수 있다.<sup>12</sup> 하지만 이들 방법으로는 확진이 어렵고 고가의 진단장비와 전문가가 필요하여 진단법으로 활용하기에 제한적인 면이 있다.

### 1. 간흡충증의 면역혈청학적 진단법

간흡충에 대한 특이항체를 검출하는 면역혈청학적 진단법은 대단위 역학 조사와 관리사업에 중요한 요소가 되고 있다. 1950년대 이후 기생충 특이항체를 검출하는 혈청학적 검사법으로 보체결합반응법, 면역형광법, 면역전기영동법, 면역확산법, 효소면역검사법 (ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay) 등이 개발되었다. 혈청학적 검사법은 충체가 어려서 아직 충란을 산란하지 않거나, 충체가 노쇠하여 충란을 생성하지 않은 경우에도 혈청에서 항체를 검출하여 간흡충 감염을 진단할 수 있는 진단법이다.<sup>9</sup> 이 가운데 감염자의 혈액에서 간흡충 항원단백질과 반응하는 항체를 검사하는 효소면역검사법 같은 면역혈청학적 검사법이 간흡충증 진단에 유용하게 이용되고 있다.

면역혈청학적 검사키트를 개발하기 위해서는 민감도와 특이도가 높은 간흡충 특이항원을 확보하는 것이 중요하다. 간흡충은 담관에서 기생하면서 비침습적인 생활환(life cycle)을 갖고 있기 때문에 혈액 내에 특이 항체생성 효율이 낮은 편이다. 따라서 항원성이 매우 강력한 간흡충 항원 단백질 개발이 지속적으로 요구되어 왔다.

### 2. 간흡충 항원단백질

감염자의 항체와 민감하게 반응하는 간흡충 특이항원에 대한 연구는 간흡충 성충의 조항원(crude extracts) 및 분비배설항원(excretory-secretory antigens)을 이용하여 진행되었다. 이들 항원단백질로 간흡충 감염자 혈청에 대해 immunoblotting 및 ELISA를 실시하였을 때, 조항원과 분비배설항원은 민감도는 높으나 특이도가 낮았다. 즉 다른 기생충에 감염된 환자의 혈청과의 교차반응으로 인해 간흡충을 감별진단할 수 있는 항원단백질로 적합하지 못하였다.

### 3. 간흡충 재조합항원단백질

조항원의 특이도가 낮은 점을 개선하기 위하여 간흡충에서 단일단백질을 분리 정제하거나 항원단백질을 재조합단백질로 생산하여 혈청학적진단에 이용하는 연구가 보고되고 있다. 재조합단백질로 생산된 반복서열을 포함하고 있는 glycine-rich protein과 proline-rich antigen은 간흡충 감염혈청에 대하여 특이도가 높다고 보고되었다.<sup>13-15</sup> 간흡충 성충의 분비배설항원에서 정제된 7-kDa 항원 단백질

은 간흡충 감염환자 혈청과 반응하였으나 폐흡충 감염환자 혈청과는 반응하지 않았다.<sup>16</sup> 간흡충 28 kDa 충란 단백질(egg protein)은 간흡충 감염자 혈청에 대하여 높은 민감도를 보였으나 폐흡충증, 타이간흡충증, 주혈흡충증 환자의 혈청과 교차반응하였다.<sup>17</sup> Myoglobin은 간흡충 분비배설물의 중요한 항원 주요 성분이며 재조합단백질로 생산된 단백질은 특이성이 좋다고 평가되었다. 그렇지만 간흡충 감염자 혈청 25%와 교차 반응하여 낮은 민감도를 나타내었다.<sup>18, 19</sup> Clonrin 재조합단백질은 간흡충 감염자 혈청에 대해 매우 높은 민감도를 보였지만 특이도가 낮았다. 또 다른 분비배설항원인 lysophosphatidic acid phosphatase는 ELISA에서 조항원보다도 오히려 높은 민감도와 특이도를 보였다.<sup>20</sup> 간흡충 성충의 lysophospholipase와 지방산 결합단백질(fatty acid-binding protein, 15.2 kDa)은 항원성은 보이지만 민감도가 낮아 혈청학적 진단용 항원단백질로는 적합하지 않다고 평가되었다.<sup>21, 22</sup> 간흡충의 단백질 분해효소 중 cysteine계 단백질 분해효소는 간흡충의 소화관에 분포하여 단백질 소화흡수에 기여하며 장내용물과 함께 토출되어 분비배설물의 주요 항원성분이 된다. 이 cysteine계 단백질 분해효소의 재조합단백질은 간흡충 감염자 혈청에 대하여 민감도와 특이도가 모두 높아서 간흡충증의 혈청학적 진단에 유용한 항원단백질로 평가되고 있다.<sup>23-27</sup> 간흡충 26 kDa 및 28 kDa glutathione S-transferases는 간흡충의 표피와 소화관에 분포하며 분비배설물의 주요 항원 성분이다. 26 kDa 및 28 kDa glutathione S-transferases의 재조합단백질은 간흡충 감염자 혈청에 대하여 특이도가 높았으나 민감도가 낮았다(Table 1).<sup>28, 29</sup>

### 4. 간흡충 복합항원

현재 국내 간흡충증 감염양상은, 유행지의 일부 지역 주민을 제외하면, 감염자의 대부분이 충체부하가 낮다. 제2중간숙주인 민물고기들의 간흡충 피낭유충 감염율과 부하가 낮아서 소수의 피낭유충에 의한 반복감염이 일어나고 있으며 대부분의 감염자들은 피낭유충 다수 감염으로 인한 급성 증상을 경험하지 않고 있다. 간흡충은 담도 내에 기생하여 항원단백질이 담도상피층을 통과하여 숙주의 면역감시 체계에 공시되어야 하는 비교적으로 공시효율이 낮은 해부학적 위치에 있다. 이러한 병태생리학적 특성으로 인하여 간흡충 감염자에서 간흡충 특이항체 생산 효율이 낮으며 혈중 항체가가도 높지 않을 것으로 예상된다.

**Table 1.** Serodiagnostic Antigens Identified from *Clonorchis sinensis*

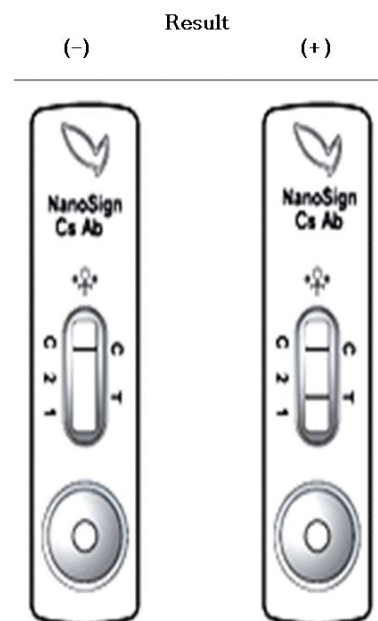
Source	Antigenic protein	Reference
Secretory-excretory protein	CsPRA (proline-rich antigen)	15
	Cs7P (7-kDa protein)	16, 31
	Cs28kDa (Antigenic egg protein)	17
	CsCP (Cysteine proteinase Cathepsin)	24, 25, 26, 34
	Cs26GTP (26-kDa Glutathione S-Transperase)	29, 35
	Cs28GTP (28-kDa Glutathione S-Transperase)	28
	Cu/ZnSOD (Copper/zinc superoxide dismutase)	36
	MnSOD (Manganese superoxide dismutase)	36
	CsFtn (York Ferritin)	37
	purified 8 kDa antigenic protein	38
	Tegumental protein	CsTP20.8 (20.8-kDa tegumental protein)
CsTP31.8 (31.8-kDa tegumental protein)		39
CsTP22.3 (22.3-kDa tegumental protein)		32

이와 같은 간흡충증의 병태생리학적 특성을 고려할 때, 조항원의 높은 민감도를 유지하면서 교차 반응을 최소화시키는 방법으로, 단일항원단백질을 여러 개 혼합하여 복합항원(multi-antigen mix)을 제조하여 혈청학적 진단항원으로 사용하는 것이라고 본다. 간흡충 복합항원에 사용되는 단일항원단백질들은 특이도가 높아서 다른 기생충 및 병원체들과 감별진단할 수 있어야 한다. 그리고 항원단백질들 상호간에 항원결정기가 서로 달라서 간흡충 감염자의 혈중에 있는 서로 다른 항체와 결합하여 복합항원의 양성 반응을 증가시켜 주어야 한다. 간흡충의 단일항원단백질들이 서로 다른 조직에 분포하거나, 서로 다른 생리-대사경로에 속하면 항원결정기가 상이할 가능성이 높아진다. 또한, 단일항원들이 서로 다른 항체와 결합하여 복합항원의 양성반응을 (민감도)을 향상시킬 수 있게 될 것이다.

우수한 항원성을 가진 간흡충 항원단백질을 발굴하기 위하여 간흡충 전사체 정보와 대량분석기법을 활용하여 제조한 단백질들의 항원성을 분석하는 연구들이 꾸준히 지속되고 있다.

### 5. 간흡충증 신속진단법

간흡충증의 대단위 집단관리 검사현장과 병원에서 검사 절차의 간편성, 결과판독의 신속성, 사용자의 편의성을 향상시킨 진단키트에 대한 연구 및 개발이 진행되고 있다. 최근 ELISA법과 유사한 반응원리(항원-항체 반응)를 이용하지만, 간편하고 신속하게 간흡충 특이 항체를 검출할 수 있는 간흡충증 신속진단키트(RDT, Rapid Diagnostic Test)가 개발되었다(Fig. 1).<sup>30</sup>

**Fig. 1.** A rapid diagnostic test released recently.

간흡충 RDT는 면역친화성 크로마토그래피(immunoaffinity chromatography) 법을 작동원리로 이용하는 가장 최근에 개발된 면역진단법 중의 하나이다. 간흡충 RDT는 감염자 혈청 혹은 혈장 5  $\mu$ L를 사용한다. RDT키트에서 간흡충 감염자 혈액 중에 들어 있는 간흡충 특이항체가 콜로이드성 금 입자(colloidal gold particle)에 결합된 간흡충 항원(tracer antigen)과 반응한다. 콜로이드성 금 입자는 모세관 현상에 의해 nitrocellulose막의 미세구멍(micropore)을 통하여 이동하다가 미세구멍의 내부 표면에 고정되어 있는 protein A에 포집되고 빨간 발색 띠를 형성하게

된다. 육안으로 빨간색 띠가 확인되면 양성 반응으로 판독한다. 이 진단법은 절차가 간단하고 결과를 신속하게 판독할 수 있어서 다양한 감염성 병원체들의 항원 및 항체, 호르몬 검출을 비롯하여 의약 성분 등의 검사에 현재 많이 이용되고 있다.<sup>30)</sup>

간흡충 RDT는 가장 많이 이용되고 있는 혈청학적 간흡충 진단법인 ELISA와 비교하였을 때 91%의 일치율(identity)을 보였다. ELISA에 의한 간흡충증 진단이 확진 결과와 일치한다고 가정하면, RDT의 민감도와 특이도는 90%를 상회하였다.

## 결론

간흡충 감염자가 약 140만명으로 예상되어 국민건강에 심각한 위협이 될 수 있는 만큼, 간흡충의 관리는 필수적이다. 간흡충증 관리의 효율성을 증대시키기 위해서는 불특정 다수에 대한 대단위 검사가 반복적으로 이루어져야 한다. 또한, 병의원에서도 간흡충 감염을 수월하게 검사할 수 있어야 한다. 하지만 현재 간흡충증 진단을 위해서 사용되는 현미경충란검사법은 간흡충의 감염여부를 직접적으로 확인할 수 있지만, 감염초기나 경감염 또는 비충란성 감염의 검출이 어렵고 대량으로 검사를 하기에 부적합하며 충란을 감별할 수 있는 숙련된 전문인력이 필요하다는 단점이 있다. 또한 혈청학적인 진단법은 대단위 집단검사가 가능하지만 간흡충 충체부하가 낮은 경우 위음성(false negative)으로 판독될 가능성이 있다. 이를 극복하기 위하여 민감도와 특이도가 우수한 간흡충 항원단백질을 발굴하고 복합항원을 제조하여 신속진단키트를 개발하면 간흡충증 관리 및 진단과 치료에 유용하게 사용될 것이다.

## References

1. Kim TS, Cho SH, Huh S, Kong Y, Sohn WM, Hwang SS, Chai JY, Lee SH, Park YK, Oh DK, Lee JK. A nationwide survey on the prevalence of intestinal parasitic infections in the Republic of Korea, 2004. Korean J Parasitol 2009;47:37-47.
2. Rim HJ. The current pathobiology and chemotherapy

- of clonorchiasis. Kisaengchunghak Chapchi 1986;24 Suppl:1-141.
3. Rim HJ. Clonorchiasis: an update. J Helminthol 2005; 79:269-81.
4. Lee JH, Yang HM, Bak UB, Rim HJ. Promoting role of *Clonorchis sinensis* infection on induction of cholangiocarcinoma during two-step carcinogenesis. Korean J Parasitol 1994;32:13-8.
5. Choi D, Hong ST, Li S, Chung BS, Lim JH, Lee SH. Bile duct changes in rats reinfected with *Clonorchis sinensis*. Korean J Parasitol 2004;42:7-17.
6. Kim YJ, Choi MH, Hong ST, Bae YM. Resistance of cholangiocarcinoma cells to parthenolide-induced apoptosis by the excretory-secretory products of *Clonorchis sinensis*. Parasitol Res 2009;104:1011-6.
7. Pak JH, Kim DW, Moon JH, Nam JH, Kim JH, Ju JW, Kim TS, Seo SB. Differential gene expression profiling in human cholangiocarcinoma cells treated with *Clonorchis sinensis* excretory-secretory products. Parasitol Res 2009;104:1035-46.
8. Sripa B, Kaewkes S, Sithithaworn P, Mairiang E, Laha T, Smout M, Pairojkul C, Bhudhisawasdi V, Tesana S, Thinkamrop B, Bethony JM, Loukas A, Brindley PJ. Liver fluke induces cholangiocarcinoma. PLoS Med 2007;4:e201.
9. Kim C, Kim S, Cho S. Serological reactions in early stage of experimental paragonimiasis in dog. Chung-Ang J Med 1982;7:335-47.
10. Soh C, Min D, Ryu J, Yong T. Study on the reproducibility of ELISA technique for the diagnosis of clonorchiasis and paragonimiasis. Yonsei Rep Trop Med 1985;16:1-10.
11. Kim SI. A *Clonorchis sinensis*-specific antigen that detects active human clonorchiasis. Korean J Parasitol 1998;36:37-45.
12. Shin B, Choi K. Diagnostic Significance of Intradermal Test Compared with Radiologic Findings for Clonorchiasis. Korean J Clin Pathol 2000;20:81-6.
13. Yong TS, Yang HJ, Park SJ, Kim YK, Lee DH, Lee SM. Immunodiagnosis of clonorchiasis using a recombinant

- antigen. Korean J Parasitol 1998;36:183-90.
14. Yang HJ, Park SJ, Im KI, Yong TS. Identification of a *Clonorchis sinensis* gene encoding a vitellaria antigenic protein containing repetitive sequences. Mol Biochem Parasitol 2000;111:213-6.
  15. Kim TY, Kang SY, Ahn IY, Cho SY, Hong SJ. Molecular cloning and characterization of an antigenic protein with a repeating region from *Clonorchis sinensis*. Korean J Parasitol 2001;39:57-66.
  16. Lee HJ, Lee CS, Kim BS, Joo KH, Lee JS, Kim TS, Kim HR. Purification and characterization of a 7-kDa protein from *Clonorchis sinensis* adult worms. J Parasitol 2002;88:499-504.
  17. Lee M, Chung YB, Lee SK, Chung BS, Li S, Choi MH, Hong ST. The identification of a *Clonorchis sinensis* gene encoding an antigenic egg protein. Parasitol Res 2005;95:224-6.
  18. Chung YB, Yang HJ, Hong SJ, Kang SY, Lee M, Kim TY, Choi MH, Chai JY, Hong ST. Molecular cloning and immunolocalization of the 17 kDa myoglobin of *Clonorchis sinensis*. Parasitol Res 2003;90:365-8.
  19. Sim S, Park GM, Yong TS. Cloning and characterization of *Clonorchis sinensis* myoglobin using immune sera against excretory-secretory antigens. Parasitol Res 2003;91:338-43.
  20. Hu F, Yu X, Ma C, Zhou H, Zhou Z, Li Y, Lu F, Xu J, Wu Z, Hu X. *Clonorchis sinensis*: expression, characterization, immunolocalization and serological reactivity of one excretory/secretory antigen-LPAP homologue. Exp Parasitol 2007;117:157-64.
  21. Lee JS, Yong TS. Expression and cross-species reactivity of fatty acid-binding protein of *Clonorchis sinensis*. Parasitol Res 2004;93:339-43.
  22. Ma C, Hu X, Hu F, Li Y, Chen X, Zhou Z, Lu F, Xu J, Wu Z, Yu X. Molecular characterization and serodiagnosis analysis of a novel lysophospholipase from *Clonorchis sinensis*. Parasitol Res 2007;101:419-25.
  23. Park GM, Yong TS. Geographical variation of the liver fluke, *Clonorchis sinensis*, from Korea and China based on the karyotypes, zymodeme and DNA sequences. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2001;32 Suppl 2:12-6.
  24. Kang TH, Yun DH, Lee EH, Chung YB, Bae YA, Chung JY, Kang I, Kim J, Cho SY, Kong Y. A cathepsin F of adult *Clonorchis sinensis* and its phylogenetic conservation in trematodes. Parasitol 2004;128:195-207.
  25. Na BK, Lee HJ, Cho SH, Lee HW, Cho JH, Kho WG, Lee JS, Song KJ, Park PH, Song CY, Kim TS. Expression of cysteine proteinase of *Clonorchis sinensis* and its use in serodiagnosis of clonorchiasis. J Parasitol 2002;88:1000-6.
  26. Nagano I, Pei F, Wu Z, Wu J, Cui H, Boonmars T, Takahashi Y. Molecular expression of a cysteine proteinase of *Clonorchis sinensis* and its application to an enzyme-linked immunosorbent assay for immunodiagnosis of clonorchiasis. Clin Diagn Lab Immunol 2004;11:411-6.
  27. Shen C, Lee JA, Allam SR, Bae YM, Han ET, Takeo S, Tsuboi T, Hong ST, Choi MH. Serodiagnostic applicability of recombinant antigens of *Clonorchis sinensis* expressed by wheat germ cell-free protein synthesis system. Diagn Microbiol Infect Dis 2009;64:334-9.
  28. Kang SY, Ahn IY, Park CY, Chung YB, Hong ST, Kong Y, Cho SY, Hong SJ. *Clonorchis sinensis*: molecular cloning and characterization of 28-kDa glutathione S-transferase. Exp Parasitol 2001;97:186-95.
  29. Hong SJ, Yun Kim T, Gan XX, Shen LY, Sukontason K, Kang SY. *Clonorchis sinensis*: glutathione S-transferase as a serodiagnostic antigen for detecting IgG and IgE antibodies. Exp Parasitol 2002;101:231-3.
  30. Chandler J, Gurmin R, Robinson N. The place of gold in rapid tests. IVD Technology 2000:37-43.