

Comparison of Nine Different Qualitative HBsAg Assay Kits

Jinyoung Yang, M.D.¹, Jong-Hyun Kim, M.D.², and Yeongsic Kim, M.D.¹

Departments of Laboratory Medicine¹ and Pediatrics², College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Background : Qualitative hepatitis B surface antigen (HBsAg) assay kits are still commonly used in Korea where hepatitis B virus (HBV) infection is endemic. The accurate determination of HBsAg plays a crucial role in the diagnosis and prevention of HBV infection, especially in endemic areas. The aim of this study was to compare the detection sensitivities of 9 qualitative HBsAg assay kits.

Methods : Seven pooled sera with HBsAg concentration ranging from 0.14 IU/mL to 29.96 IU/mL were prepared. The HBsAg concentration of each pooled serum was determined by a quantitative HBsAg assay, Architect HBsAg (Abbott Laboratories, Ireland). The fully automated immunoassay kits included Elecsys HBsAg (Roche Diagnostics, Germany) and Immulite 2000 HBsAg (DPC, USA) and the rapid tests included 5 immunochromatographic assay (ICA) kits and 2 reverse passive hemagglutination assay (RPHA) kits.

Results : Elecsys HBsAg (Roche Diagnostics) showed positive result in pooled serum with HBsAg concentration of 0.14 IU/mL, but Immulite 2000 HBsAg (DPC) showed negative result in the same concentration. Although ICA kits showed variable results among different assay kits, all of them showed negative results in pooled sera with HBsAg concentration of ≤ 1.89 IU/mL. Two RPHA kits showed negative results in pooled sera with HBsAg concentration of ≤ 7.98 IU/mL.

Conclusions : Although ICAs were more sensitive than RPHAs, they had variable sensitivities for HBsAg and were less sensitive than the automated immunoassay kits. Therefore, ICAs and RPHAs should be used with caution in the screening tests for HBsAg and their sensitivities need to be improved. (*Korean J Lab Med 2010;30:178-84*)

Key Words : HBsAg, Immunochromatographic assay, Reverse passive hemagglutination assay

서 론

전 세계적으로 약 3억 5천 명이 B형간염바이러스(hepatitis B virus, HBV)에 감염되어 있으며 그 중 매년 1백만 명이 B형

간염 질환으로 사망하고 있다[1]. 만성 보유자는 HBV 전파의 주요 감염원으로 특히 증상이 없는 임신부와 헌혈자의 HBV 감염 여부를 파악하는 것이 B형간염의 전파를 막는데 매우 중요하다고 할 수 있다. 1983년 HBV 백신이 한국에 도입된 이후 HBV의 유병률이 점차 감소하였지만 1998년 보건복지부에서 시행한 실태조사에 의하면, 한국인 10세 이상 남자의 5.1%와 여자의 4.1%에서 B형간염표면항원(hepatitis B surface antigen, HBsAg)이 양성으로 나타나 아직도 B형간염 환자가 많은 것으로 나타나고 있다[2].

유병률이 높은 지역에서 HBsAg 검사는 B형간염을 선별하는데 많이 이용되고 있는데 여러 가지 검사 방법들 중에서 면역크로마토그래피법(immunochromatographic assay, ICA)이나 역수동혈구응집법(reverse passive hemagglutination assay, RPHA)과 같은 간이검사 방법도 많이 이용되고 있다. 최근 대한임상검사정도관리협회 면역혈청검사 신빙도조사 결과보고서

Received : December 16, 2009 Manuscript No : KJLM09-142
Revision received : February 2, 2010
Accepted : February 2, 2010

Corresponding authors : Yeongsic Kim, M.D.
Department of Laboratory Medicine, The Catholic University of Korea, St. Vincent's Hospital, 93-6 Ji-dong, Paldal-gu, Suwon 442-723, Korea
Tel : +82-31-249-7665, Fax : +82-31-244-6786
E-mail : yeongsik@catholic.ac.kr

Jong-Hyun Kim, M.D.
Department of Pediatrics, The Catholic University of Korea, St. Vincent's Hospital, 93-6 Ji-dong, Paldal-gu, Suwon 442-723, Korea
Tel : +82-31-249-8206, Fax : +82-31-257-9111
E-mail : jh00mn@catholic.ac.kr

*본 연구는 보건복지부 질병관리본부 2007-E32008-00에 의해 이루어짐.

에 따르면, HBsAg 검사 참여기관 수가 2001년 376기관에서 2008년 702개 기관으로 계속 증가하였으며, 이와 더불어 면역크로마토그래피법으로 HBsAg을 검사한 기관의 비율도 2001년 6.6%에서 2002년 11.8%, 2003년 15.8%, 2004년 18.7%, 2005년 20.9%, 2006년 20.3%, 2007년 21.8%, 2008년 21.9%로 점점 더 증가하는 것으로 나타났다[3-10]. 그러나 유병률이 높은 국내에서 민감도가 낮은 간이검사를 사용하는 것은 B형간염을 초기에 진단하고 그 전파를 막는데 효율적이지 않을 수 있다. 최근 환자 검체를 대상으로 면역크로마토그래피법이나 역수동혈구응집법을 이용한 HBsAg 검사를 민감도가 좋은 효소면역검사법(enzyme immunoassay, EIA)이나 화학발광면역검사법(chemiluminescent immunoassay, CLIA)과 비교한 연구들이 발표되었다. 그러나 그 결과들이 상이하여 검사 결과 해석에 어려움이 있다[11-14]. 최근 WHO는 HBsAg 검사 결과를 정확히 판단하기 위해 검사결과 단위를 IU/mL로 보고하도록 권고하고 있다[11]. 본 연구는 혼주혈청(pooled sera)을 제조하여 단계별 HBsAg 농도에 따른 면역크로마토그래피법, 역수동혈구응집법, 그리고 여러 자동화 CLIA법을 이용한 HBsAg 검사들의 진단적 가치를 비교해보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 혼주혈청의 제조

2007년 7월부터 10월까지 가톨릭대학교 성빈센트병원 진단검사의학과에 의뢰된 건강검진센터 내원 환자의 혈액 검체를 선별하여 혼주혈청 제조에 이용하였다. 육안상 맑고 노란색을 띠며, HIV 음성, C형간염바이러스(hepatitis C virus, HCV) 음성, Hb <30 mg/dL, total protein 5.8-8.0 g/dL, bilirubin <1.5 mg/dL, glucose 60-110 mg/dL을 만족하는 검체들[15] 중 Architect HBsAg과 anti-HBs (Abbott Laboratories, Sligo, Ireland) 검사에서 모두 음성인 검체 20개를 선택하여 -70°C에서 냉동보관하였다. 이 검체들은 이후 제조할 HBsAg 양성 혼주혈청의 희석 시 해동하여 혼합하여 사용하였다. 다양한 항원을 가진 혼주혈청을 만들기 위해 Architect HBsAg (Abbott Laboratories) 검사에서 양성으로 판정된 15명의 환자에서 얻은 혈청을 혼합해서 18시간 동안 4°C에서 교반기(IKA Co., Staufen, Germany)를 이용하여 느린 속도로 균질화시켜서 혼주혈청을 1차로 만들었다. 그리고 여기에 앞서 언급한 HBsAg와 B형간염표면항체(hepatitis B surface antibody, anti-HBs)가 음성인 혈청을 양을 다양하게 추가하여 일곱 가

지 서로 다른 농도를 갖도록 하였다. 그런 후 18시간 동안 4°C에서 교반기를 이용해 균질화시킨 혈청을 0.2 µm DISMIC-25 cs filter (Advantec, Tokyo, Japan)를 이용하여 여과시켜 일곱 가지 농도의 HBsAg 혼주혈청을 만든 후 1.5 mL 튜브에 분주하여 검사를 실시할 때까지 -70°C에서 냉동보관하였다[15]. 혼주혈청의 균질성을 확인하기 위하여 위와 동일한 방법으로 두 가지 농도의 혼주혈청을 제조하여 20개로 분주하여 냉동보관하였다. 두 가지 농도의 냉동보관된 검체들을 하루에 한 개씩 해동하여 정량검사인 Architect HBsAg (Abbott Laboratories)으로 반복 검사하였고 20일 동안 검사한 측정치에 대한 변이계수로 그 균질성 정도를 평가하였다.

2. 정량검사

각 혼주혈청의 HBsAg 농도를 Architect HBsAg (Abbott Laboratories)을 이용하여 반복 측정하여 평균을 구하였다. Architect HBsAg (Abbott Laboratories)은 화학발광미세입자면역검사법(chemiluminescent microparticle immunoassay, CMIA)을 이용하여 HBsAg 농도를 측정하는데 HBsAg 농도는 WHO International Standard (Subtype ad; NIBSC code 80/549)에 의해 결정된 calibration curve에 의해 계산된다[16]. Architect HBsAg (Abbott Laboratories)의 정량 calibration은 6 point master calibration을 이용해서 설정된 4 parameter logistic curve 모델로 각 calibrator당 95%의 신뢰구간 불확실성을 가지고 있다. 본 검사에서는 0.5 mIU/mL와 250.0 mIU/mL 두 레벨의 calibrator를 사용하였으며 95% 신뢰구간에서 각각 0.010과 3.85의 불확실성을 갖고 있다. 기기회사에 따르면 Architect HBsAg (Abbott Laboratories)의 검출한계는 0.05 IU/mL이며 250 IU/mL까지 측정할 수 있다고 제시하고 있다.

3. 정성검사

본 연구에서 평가된 정성검사는 총 아홉 가지로, 그 중 다섯 가지는 면역크로마토그래피법, 두 가지는 역수동혈구응집법, 한 가지는 화학발광면역검사법, 그리고 나머지 한 가지는 전기화학발광면역검사법(electrochemiluminescent immunoassay, ECLIA)이었고 이것들을 사용해서 각 혼주혈청을 반복 측정하였다. 면역크로마토그래피법과 역수동혈구응집법은 각각 동일한 lot를 사용하여 한 검체당 두 번씩 측정하였으며, 불일치한 결과를 보일 경우에는 한 번 더 측정하여 두 번의 결과가

일치하는 것으로 준하였다. 자동화검사법인 화학발광면역검사법과 전기적화학발광면역검사법은 각 장비로 두 번씩 측정하여 평균값을 구하였다.

면역크로마토그래피법은 nitrocellulose strip으로 구성되어 있으며 환자의 혈청에 HBsAg이 존재하는 경우 colloidal gold를 부착시킨 anti-HBs와 반응하여 면역복합체(immune complex)를 형성한다. 이 복합체는 membrane에 고정된 두 번째 항체에 의해 잡히게 된다. 일정시간 경과 후 대조선과 검량선 모두 붉은 선으로 나타날 때 양성으로 판단하였다. 이 연구에서 사용된 면역크로마토그래피법은 모두 국내산으로 Biotracer HBsAg Rapid Card (BioFocus Co., Uiwang, Korea), Bio-line HBsAg (Standard Diagnostics, Yongin, Korea), HBsAg Card (Humasis Co., Anyang, Korea), Genedia HBsAg Rapid Device (Green cross Life Sciences Co., Eumseong, Korea), Asan Easy Test HBs Strip (Asan Pharm, Co., Hwaseong, Korea)이었다.

역수동혈구응집법의 원리는 적혈구에 정제된 IgG anti-HBs를 코팅하여 감작시킨 후 이 감작혈구가 환자 혈청 내에 있는 HBsAg와 반응하여 일으키는 응집반응을 이용하는 것이다. 응집이 일어나는 경우를 양성으로 판단하였다. 평가한 역수동혈구응집법 역시 모두 국내산으로 Mycell II HBsAg (Shinyang Chemical Co., Seoul, Korea)과 Asan HBs (Asan Pharm,

Table 1. Homogeneity of two pooled sera

Pooled sera	Mean (IU/mL)	SD (IU/mL)	CV (%)	
			Within-run	Total
1 (N=20)*	1.80	0.078	3.57	4.98
2 (N=20)*	11.5	0.58	4.90	6.14

*Measurements: twice a day, for 20 days.

Table 2. Comparison of HBsAg results between different qualitative assay kits

Pooled sera	Quantitative			Qualitative						
	ARCHIT (IU/mL)	ELEC (COI)	IMMUL (S/CO)	ICA				RPHA		
				BT	BO	HB	GN	AE	MY	AS
1	0.14	P (0.47)	N (1.55)	N	N	N	N	N	N	N
2	0.47	P (1.54)	P (4.09)	N	N	N	N	N	N	N
3	1.54	P (2.84)	P (12.07)	N	N	N	N	N	N	N
4	1.89	P (10.70)	P (14.68)	N	N	N	N	N	N	N
5	5.73	P (16.55)	P (51.19)	P	P	N	N	N	N	N
6	7.98	P (54.90)	P (73.80)	P	P	P	N	P	N	N
7	29.96	P (129.00)	P (293.60)	P	P	P	P	P	P	N

Abbreviations: ARCHIT, Architect HBsAg; ELEC, Elecsys HBsAg; IMMUL, Immulite 2000 HBsAg; ICA, immunochromatographic assay; RPHA, reverse passive hemagglutination assay; BT, Biotracer HBsAg Rapid Card; BO, Biotracer HBsAg; HB, HBsAg Card; GN, Genedia HBsAg Rapid Device; AE, Asan Easy Test HBs Strip; MY, Mycell II HBsAg; AS, Asan HBs; P, positive; N, negative.

Co., Hwaseong, Korea)이었다.

Immulite 2000 HBsAg (DPC, Los Angeles, CA, USA)은 CLIA로 검체의 signal과 cutoff signal의 비(S/CO)가 1 이상인 경우를 양성으로 판단하며 1 미만인 검체는 음성으로 간주하였다. Elecsys HBsAg (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)는 ECLIA로 WHO 2nd International Standard (subtype adw2, genotype A, NIBSC code 00/588)에 의해 결정된 calibration curve를 측정에 이용하였다. 이 검사는 결과 단위로 cutoff index (COI)를 이용하고 COI가 1 이상이면 HBsAg 양성, 1 미만이면 음성으로 보고하였다.

결 과

제조된 두 가지 농도의 혼주혈청을 20일 동안 하루에 한 개씩 해동하여 오전과 오후 각각 2번 측정한 검사 결과는 다음과 같았다(Table 1). 두 가지 혼주혈청의 농도는 각각 1.80 IU/mL와 11.5 IU/mL HBsAg이었고, within-run CV 값은 각각 3.57%와 4.90%이었으며, total CV 값은 각각 4.98%와 6.14%이었다. Architect HBsAg (Abbott Laboratories)의 경우 0.23 IU/mL와 4.68 IU/mL의 농도에서 within-run CV가 각각 4.6%와 4.1%, total CV가 각각 7.7%와 7.2%로 제시되어 있으므로 이를 고려했을 때 이번 연구에 제조된 혼주혈청들은 균질한 것으로 판단하였다.

Architect HBsAg (Abbott Laboratories)으로 측정된 혼주혈청의 농도는 0.14, 0.47, 1.54, 1.89, 5.73, 7.98, 29.96 IU/mL이었다(Table 2). Immulite 2000 HBsAg (DPC) 검사에서 0.14 IU/mL 농도의 혼주혈청은 음성으로 측정되었으나, 0.47 IU/mL 농도 이상부터는 양성으로 측정되었다. Elecsys HBsAg (Roche

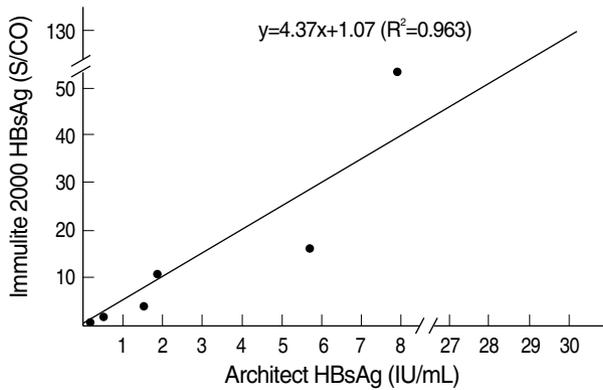


Fig. 1. Correlation between HBsAg results measured by Architect HBsAg (IU/mL) and by Immulite 2000 HBsAg (S/CO).

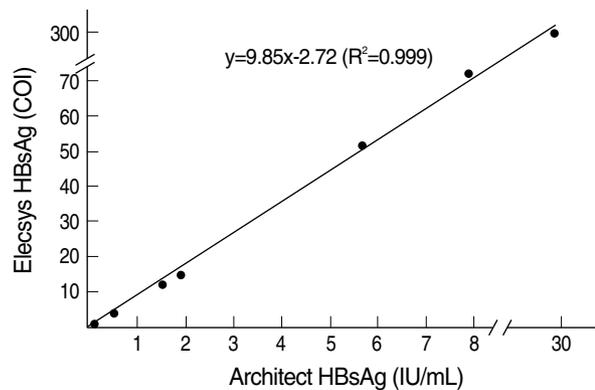


Fig. 2. Correlation between HBsAg results measured by Architect HBsAg (IU/mL) and by Elecsys HBsAg (COI).

Diagnostics) 검사에서는 일곱 가지 혼주혈청 모두에서 양성으로 측정되었다.

Architect HBsAg (Abbott Laboratories)으로 측정된 혼주혈청 농도와 Immulite 2000 HBsAg (DPC)으로 측정된 측정치(S/CO 수치)는 좋은 상관관계를 나타내었다($r=0.981$). Architect HBsAg (Abbott Laboratories)으로 측정된 혼주혈청 농도와 Elecsys HBsAg (Roche Diagnostics)으로 측정된 측정치(COI 수치) 또한 매우 밀접한 상관관계를 보였다($r=0.999$) (Fig. 1, 2).

면역크로마토그래피법과 역수동혈구응집법은 각각 동일한 lot를 사용하여 한 검체당 두 번씩 측정하였다. 그 결과 농도가 0.14 IU/mL, 0.47 IU/mL, 1.54 IU/mL, 1.89 IU/mL인 네 가지 혼주혈청에서 모두 음성으로 나타났다. 다섯 가지 면역크로마토그래피법 중 Biotracer HBsAg Rapid Card (BioFocus Co.)와 Bioline HBsAg (Standard Diagnostics)은 농도가 5.73 IU/mL 이상인 혼주혈청에서 양성을 나타냈고, HBsAg Card (Humasis Co.)와 Asan Easy Test HBs Strip (Asan Pharm. Co.)은 농도가 7.98 IU/mL 이상인 혼주혈청에서 양성을 나타냈으며, Genedia HBsAg Rapid Device (Green cross Life Sciences Co.)는 농도가 29.96 IU/mL인 혼주혈청에서만 양성을 나타냈다. 두 가지 역수동혈구응집법 중 Mycell II HBsAg (Shinyang Chemical Co.)은 29.96 IU/mL인 혼주혈청에서만 양성을 나타냈고, 나머지 Asan HBs (Asan Pharm. Co.)는 29.96 IU/mL인 혼주혈청에서도 양성을 나타냈다.

고 찰

HBsAg 검사는 유병률이 높은 지역에서 B형간염을 선별검사하는 데 자주 이용되고 있다. HBV 전파를 막기 위해 민감도가

높은 검사시약으로 HBsAg을 조기에 검출하는 것은 중요한 방법 중 하나이다. 지금까지 여러 연구에서 정성검사의 민감도를 비교하였는데 현재 이용되고 있는 HBsAg 검사들이 각기 다른 단위로 결과를 보고하고 있어 여러 장비 간 측정치를 객관적으로 비교하기 어려웠다.

최근 WHO에서 HBsAg에 대한 네 가지 표준물질, 즉 WHO 2nd International Standard (IU/mL)와 Paul Ehrlich Standard (ng/mL), French Standard (ng/mL), Abbott Standard (ng/mL)를 비교 분석한 결과 1 IU는 Paul Ehrlich Standard 0.43 ng/mL, French Standard 1.9 ng/mL, Abbott Standard 5.6 ng/mL에 해당하는 것으로 보고하면서, ng/mL로 표현된 여러 가지 표준물질의 농도가 서로 달라 결과 해석에 큰 차이를 보이므로 HBsAg 농도 단위를 IU로 할 것을 권고하였다[11].

본 연구에서 혼주혈청 HBsAg의 농도 결정에 사용한 방법은 Architect HBsAg (Abbott Laboratories)으로 calibration curve를 WHO International Standard (HBsAg subtype ad; NIBSC code 80/549)를 사용하여 설정했기 때문에 측정 단위가 WHO에서 권장한 IU/mL와 동일하고 0.05 IU/mL까지 측정가능하며[16, 17], 현재 여러 연구에서 정량검사로 이용되고 있다[18-20]. Architect HBsAg (Abbott Laboratories) 검사법으로 0.14 IU/mL로 측정된 혼주혈청이 Elecsys HBsAg (Roche Diagnostics)에서도 양성으로 나타나 두 가지 검사 방법 모두 0.14 IU/mL 이상의 농도는 측정하는 것으로 나타났다. 그러나 Immulite 2000 HBsAg (DPC)은 0.14 IU/mL HBsAg 농도의 혼주혈청에서 음성으로 나타나 Architect HBsAg (Abbott Laboratories)이나 Elecsys HBsAg (Roche Diagnostics)에 비해 민감도가 좋지 않은 것으로 나타났다. 이런 결과는 Weber 등[21]의 연구와도 일치하는데, 이들은 Paul Ehrlich Standard와 WHO International standard (HBsAg subtype

ad; NIBSC code 80/549)를 이용해서 Immulite 2000 HBsAg (DPC)과 Elecsys HBsAg (Roche Diagnostics) 검사법을 비교 하였으며, Elecsys HBsAg (Roche Diagnostics)의 검출한계가 0.0125 IU/mL로 0.1 IU/mL인 Immulite 2000 HBsAg (DPC)보다 민감도가 더 좋은 것으로 보고하였다. Architect HBsAg (Abbott Laboratories)과 Elecsys HBsAg (Roche Diagnostics)을 비교 분석한 Huh 등[22]의 연구에서도 두 가지 검사방법 모두 0.075 IU/mL의 최소검출농도를 나타내어 본 연구의 결과와 비슷하였다.

본 연구에서 다섯 가지 면역크로마토그래피법 중 민감도가 가장 좋은 것은 Biotracer HBsAg Rapid Card (BioFocus Co.)와 Bioline HBsAg (Standard Diagnostics)이었으며, 검출한계는 두 가지 모두 1.89–5.73 IU/mL 사이에 있는 것으로 나타났다. 또한 HBsAg Card (Humasis Co.)와 Asan Easy Test HBs Strip (Asan Pharm. Co.)의 검출한계는 5.73–7.98 IU/mL 사이, Genedia HBsAg Rapid Device (Green cross Life Sciences Co.)의 검출한계는 7.98–29.96 IU/mL 사이에 존재하여, 이 다섯 가지 면역크로마토그래피법의 민감도가 Architect HBsAg (Abbott Laboratories)이나 Immulite 2000 HBsAg (DPC)에 비해 훨씬 못 미치는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 4가지 서로 다른 HBsAg 농도를 가진 패널을 구성하여 여러 개의 HBsAg 검사키트의 민감도 차이를 분석한 WHO의 연구결과와 비슷하다. 그 연구 결과에 따르면, Bioline HBsAg (Standard Diagnostics)은 2.06 IU/mL까지 양성으로, Asan Easy Test HBs Strip (Asan Pharm. Co.)은 2.06–8.25 IU/mL 사이, Genedia HBsAg Rapid Device (Green cross Life Sciences Co.)는 8.25 IU/mL까지 양성으로 측정되었다고 보고하였다[11]. 최근 국내 연구에서도 면역크로마토그래피법들은 낮은 HBsAg 농도에서 음성을 나타내는 것으로 보고하였다. Cha 등[12]의 연구에 의하면, 미세입자효소면역검사법(Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA)으로 검사한 양성 검체를 대상으로 했을 때 세 가지 면역크로마토그래피법 시약은 각각 S/N value 23.66 이하, 59.64 이하, 129.58 이하의 검체들은 음성으로 판정하였다(양성 기준치는 S/N value 2.0 이상). 또한 두 가지 면역크로마토그래피법 시약을 비교 분석한 Whang 등[13]의 연구에서도 두 가지 모두 AxSYM HBsAg (Abbott Laboratories, USA) 검사상 S/N value 2와 10 사이의 검체는 모두 음성으로 나타났다. 본 연구에서 평가된 다섯 가지 면역크로마토그래피법 중 Biotracer HBsAg Rapid Card (BioFocus Co.)와 Asan Easy Test HBs Strip (Asan Pharm. Co.)은 제조회사에서 각각 1 ng/mL와 2 ng/mL의 검출한계를 제시하였으나 그 단

위가 제조회사의 임의적인 단위이기 때문에 그 수치로 비교하기는 어려운 것으로 판단되었다.

최근 여러 연구를 보면 면역크로마토그래피법을 이용한 HBsAg 검사 제품들의 민감도가 95% 이상으로 보고되고 있는데 이는 평가에 이용되었던 검체 중 저농도 HBsAg 검체의 비율이 높지 않았기 때문으로 판단된다[13, 14]. 급성 B형간염 환자와 만성 B형간염 환자의 경우 혈중 HBsAg 농도가 대부분 100 IU/mL 이상이기 때문에 이 환자들에서 면역크로마토그래피법으로 HBsAg을 측정하면 양성으로 나타날 수밖에 없다[23–25]. 그러나 급성 B형간염 초기, 급성 B형간염 감염 후 회복기, 그리고 만성 B형간염 환자 중 일부에서 혈중 HBsAg 농도가 10 IU/mL 미만으로 나타나고 있고, 최근 중국인 8,089명을 대상으로 HBsAg 농도를 측정된 연구에서도 HBsAg 양성자 816명 중 189명 (23.6%)이 5 ng/mL 이하인 저농도 HBsAg을 가지고 있는 것으로 보고되고 있기 때문에 중국과 HBV 감염률이 비슷한 국내에서 면역크로마토그래피법을 이용한 HBsAg 검사 제품을 사용할 때에는 해석상 주의가 필요할 것으로 판단된다[11, 26].

본 연구에서 평가되었던 두 가지 역수동혈구응집법 중 Mycell II HBsAg (Shinyang Chemical Co.)의 검출한계는 7.98–29.96 IU/mL 사이, Asan HBs (Asan Pharm. Co.)의 검출한계는 29.96 IU/mL를 초과하는 것으로 나타나 역수동혈구응집법이 다섯 가지 면역크로마토그래피법에 비해 민감도가 좋지 않은 것으로 나타났다. 이런 결과는 기존 연구와도 일치하였다[12, 27].

결론적으로 면역크로마토그래피법은 HBsAg 농도가 1.89 IU/mL 이하인 검체에서, 그리고 역수동혈구응집법은 7.98 IU/mL 이하인 검체에서 HBsAg을 검출할 수 없었기 때문에 이 검사방법들을 HBsAg 선별검사로 사용할 때에는 주의가 필요할 것으로 판단된다.

요 약

배경 : B형간염바이러스 유병률이 높은 한국에서 아직도 B형간염표면항원(hepatitis B surface antigen, HBsAg) 정성검사가 많이 사용되고 있다. HBsAg의 정확한 검사는 특히 유병률이 높은 지역에서 B형간염을 진단하고 예방하는데 중요한 역할을 한다. 본 연구에서는 아홉 가지 서로 다른 HBsAg 정성검사의 HBsAg 검출 민감도를 비교 평가하였다.

방법 : HBsAg 농도가 0.14–29.96 IU/mL 사이에 있는 일곱 가지 혼주혈청을 자가제조하였다. 각 혼주혈청의 HBsAg 농도는 정량검사인 Architect HBsAg (Abbott Laboratories, Ireland)을 사용하여 측정하였다. 자동화 검사법은 Elecsys HBsAg

(Roche Diagnostics, Germany)와 Immulite 2000 HBsAg (DPC, USA)을 이용하였고, 간이검사법으로는 다섯 가지 면역크로마토그래피법 제품과 두 가지 역수동혈구응집법 제품을 이용하였다.

결과 : HBsAg 농도가 0.14 IU/mL인 혈청에서 Elecsys HBsAg (Roche Diagnostics) 검사는 양성이었으나, Immulite 2000 HBsAg (DPC)은 음성을 나타냈다. 다섯 가지 면역크로마토그래피법의 결과는 제품에 따라 다양하였는데, HBsAg 1.89 IU/mL 이하의 혈청에서는 모두 음성을 나타냈으며, 두 가지 역수동혈구응집법은 7.98 IU/mL 이하의 농도에서 음성의 결과를 보였다.

결론 : 면역크로마토그래피법은 역수동혈구응집법에 비하여 민감도는 더 우수하였으나 제품에 따라 다양한 민감도를 보이며, 자동화 검사법에 비하여 민감도가 떨어지므로 간이검사법들을 HBsAg 선별검사로 사용할 때에는 주의해야 하며, 이 방법들의 민감도 개선이 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997;337:1733-45.
2. Lee DH, Kim JH, Nam JJ, Kim HR, Shin HR. Epidemiological findings of hepatitis B infection based on 1998 National Health and Nutrition Survey in Korea. *J Korean Med Sci* 2002;17:457-62.
3. Cha YJ, Kum DG, Kim SW, Kim TY, Kim JR, Kim HS, et al. Annual report on external quality assessment in immunoserology in Korea (2001). *J Clin Pathol Qual Control* 2002;24:27-38. (차영주, 금동길, 김성원, 김신규, 김재룡, 김현숙 등. 면역혈청검사 신빙도조사 결과보고(2001). 임상병리와 정도관리 2002; 24: 27-38.)
4. Cha YJ, Kum DG, Kim SW, Kim TY, Kim JR, Kim HS, et al. Annual report on external quality assessment in immunoserology in Korea (2002). *J Lab Med Qual Assur* 2003;25:51-71. (차영주, 금동길, 김성원, 김신규, 김재룡, 김현숙 등. 면역혈청검사 신빙도조사 결과보고(2002). 임상검사와 정도관리 2003;25:51-71.)
5. Cha YJ, Kwon SY, Kum DG, Kim SW, Kim TY, Kim JR, et al. Annual report on external quality assessment in immunoserology in Korea (2003). *J Lab Med Qual Assur* 2004;26:47-69. (차영주, 권소영, 금동길, 김성원, 김신규, 김재룡 등. 면역혈청검사 신빙도조사 결과보고(2003). 임상검사와 정도관리 2004;26:47-69.)
6. Cha YJ, Kwon SY, Kum DG, Kim SW, Kim TY, Kim JR, et al. Annual report on external quality assessment in immunoserology in Korea (2004). *J Lab Med Qual Assur* 2005;27:37-57. (차영주, 권소영, 금동길, 김성원, 김신규, 김재룡 등. 면역혈청검사 신빙도조사 결과보고(2004). 임상검사와 정도관리 2005;27:37-57.)
7. Cha YJ, Kwon SY, Kim TY, Kim JR, Kim HS, Park MH, et al. Annual report on external quality assessment in immunoserology in Korea (2005). *J Lab Med Qual Assur* 2006;28:41-61. (차영주, 권소영, 김신규, 김재룡, 김현숙, 박명희 등. 면역혈청검사 신빙도조사 결과보고(2005). 임상검사와 정도관리 2006;28:41-61.)
8. Cha YJ, Kwon SY, Kim TY, Kim JR, Kim HS, Park MH, et al. Annual report on external quality assessment in immunoserology in Korea (2006). *J Lab Med Qual Assur* 2007;29:45-64. (차영주, 권소영, 김신규, 김재룡, 김현숙, 박명희 등. 면역혈청검사 신빙도조사 결과보고(2006). 임상검사와 정도관리 2007;29:45-64.)
9. Cha YJ, Kwon SY, Kim TY, Kim JR, Kim HS, Park MH, et al. Annual report on external quality assessment in immunoserology in Korea (2007). *J Lab Med Qual Assur* 2008;30:49-74. (차영주, 권소영, 김신규, 김재룡, 김현숙, 박명희 등. 면역혈청검사 신빙도조사 결과보고(2007). 임상검사와 정도관리 2008;30:49-74.)
10. Cha YJ, Kwon SY, Kim TY, Kim JR, Kim HS, Park MH, et al. Annual report on external quality assessment in immunoserology in Korea (2008). *J Lab Med Qual Assur* 2009;31:49-72. (차영주, 권소영, 김신규, 김재룡, 김현숙, 박명희 등. 면역혈청검사 신빙도조사 결과보고(2008). 임상검사와 정도관리 2009;31:49-72.)
11. WHO Working Group on Hepatitis and HIV Diagnostic Kits. Report of a WHO collaborative study to assess the suitability of a candidate replacement International standard for HBsAg and a reference panel for HBsAg and to calibrate the candidate standard in IU. WHO/BS/03.1987. Geneva: World Health Organization, 2003.
12. Cha YJ, Yang JS, Chae SL. Evaluation of indigenously manufactured immunochromatographic assay systems for rapid detection of hepatitis B surface antigen and antibody. *Korean J Lab Med* 2006;26:52-7. (차영주, 양주석, 채석래. 국내에서 생산되는 면역크로마토그래피법을 이용한 B형간염표면항원 및 항체 검사 제품의 평가. 대한진단검사의학회지 2006;26:52-7.)
13. Whang DH and Um TH. Comparison of immunochromatography assays and quantitative immunoassays for detecting HBsAg and anti-HBs. *Korean J Lab Med* 2005;25:186-91. (황동희 및 엄태현. B형간염항원 및 항체 검사를 위한 신속검사법과 정량적 효소면역법의 비교. 대한진단검사의학회지 2005;25:186-91.)
14. Lau DT, Ma H, Lemon SM, Doo E, Ghany MG, Miskovsky E, et al. A rapid immunochromatographic assay for hepatitis B virus screening. *J Viral Hepat* 2003;10:331-4.

15. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Preparation and validation of commutable frozen human serum pools as secondary reference materials for cholesterol measurement procedures: approved guideline. NCCLS document C37-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
16. Deguchi M, Yamashita N, Kagita M, Asari S, Iwatani Y, Tsuchida T, et al. Quantitation of hepatitis B surface antigen by an automated chemiluminescent microparticle immunoassay. *J Virol Methods* 2004;115:217-22.
17. Chen CH, Lee CM, Wang JH, Tung HD, Hung CH, Lu SN. Correlation of quantitative assay of hepatitis B surface antigen and HBV DNA levels in asymptomatic hepatitis B virus carriers. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004;16:1213-8.
18. Chen J, Wang Z, Guo Y, Peng J, Sun J, Ahmed CS, et al. Serum HBsAg changes in HBeAg positive chronic hepatitis B patients with continuous viral load reductions during treatment with adefovir or peg-interferon-alpha-2a. *Antiviral Res* 2009;81:88-91.
19. Muhlbacher A, Weber B, Burgisser P, Eiras A, Cabrera J, Louisir-irothchanakul S, et al. Multicenter study of a new fully automated HBsAg screening assay with enhanced sensitivity for the detection of HBV mutants. *Med Microbiol Immunol* 2008;197:55-64.
20. Moucari R, Mackiewicz V, Lada O, Ripault MP, Castelnau C, Martinot-Peignoux M, et al. Early serum HBsAg drop: a strong predictor of sustained virological response to pegylated interferon alfa-2a in HBeAg-negative patients. *Hepatology* 2009;49:1151-7.
21. Weber B, Dengler T, Berger A, Doerr HW, Rabenau H. Evaluation of two new automated assays for hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) detection: IMMULITE HBsAg and IMMULITE 2000 HBsAg. *J Clin Microbiol* 2003;41:135-43.
22. Huh HJ, Chae SL, Cha YJ. Comparison study with enzyme immunoassay and chemiluminescence immunoassay for hepatitis B virus surface antigen detection. *Korean J Lab Med* 2007;27:355-9. (허희진, 채석래, 차영주. 효소면역측정법과 화학발광면역측정법을 이용한 B형간염표면항원 검사의 비교. *대한진단검사의학회지* 2007;27:355-9.)
23. Rodella A, Galli C, Terlenghi L, Perandin F, Bonfanti C, Manca N. Quantitative analysis of HBsAg, IgM anti-HBc and anti-HBc avidity in acute and chronic hepatitis B. *J Clin Virol* 2006;37:206-12.
24. Chan HL, Wong VW, Tse AM, Tse CH, Chim AM, Chan HY, et al. Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1462-8.
25. Kohmoto M, Enomoto M, Tamori A, Habu D, Takeda T, Kawada N, et al. Quantitative detection of hepatitis B surface antigen by chemiluminescent microparticle immunoassay during lamivudine treatment of chronic hepatitis B virus carriers. *J Med Virol* 2005;75:235-9.
26. Chen Y and Wu W. Determination of low level HBsAg in serum by microparticle enzyme immunoassay. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2002;1:262-4.
27. Sato K, Ichiyama S, Inuma Y, Nada T, Shimokata K, Nakashima N. Evaluation of immunochromatographic assay systems for rapid detection of hepatitis B surface antigen and antibody, Dainascreen HBsAg and Dainascreen Ausab. *J Clin Microbiol* 1996;34:1420-2.