

상품화된 HBsAg 정성 검사 시스템 3종과 HBsAg 정량 검사 시스템 2종의 분석능 평가

Performance Evaluation of 3 Kinds of HBsAg Qualitative Assays and 2 Kinds of Quantitative Assays

박재선¹ · 최정인¹ · 임지훈¹ · 정윤성¹ · 이선호¹ · 박능화² · 신정우² · 나양원³ · 남창우³ · 차영주⁴ · 김성률¹

Jae-Sun Park, M.D.¹, Jung-In Choi, M.D.¹, Ji-Hun Lim, M.D.¹, Joseph Jung, M.D.¹, Seon-Ho Lee, M.D.¹, Neung Hwa Park, M.D.², Jung Woo Shin, M.D.², Yang Won Nah, M.D.³, Chang Woo Nam, M.D.³, Young Joo Cha, M.D.⁴, Sung-Ryul Kim, M.D.¹

울산대학교병원 진단검사의학과¹ · 내과² · 외과³, and 중앙대학교 의과대학 진단검사의학교실⁴

Departments of Laboratory Medicine¹, Internal Medicine², General Surgery³, Ulsan University Hospital, University of Ulsan College of Medicine, Ulsan; Department of Laboratory Medicine⁴, Chung-Ang University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Currently used techniques for quantitation of HBsAg often yield discordant results; therefore, development of quantitation techniques that can detect HBsAg with high accuracy has become very important. Recent advances have led to the development of several HBsAg detection systems. Here, we evaluated the performance of 3 newly developed detection systems, which can detect HBsAg both qualitatively and quantitatively, and determined the concordance among their results.

Methods: Four hundred and thirty two samples assigned to 4 groups-patient group, dilution group, weakly reactive group, and linearity group-were subjected to qualitative and quantitative detection of HBsAg by using the 3 systems developed by 3 major manufacturers; Abbott Architect, Roche E170 and Siemens Centaur XP.

Results: The results for the qualitative analyses were closely concordant among the three systems (98.3%) for all 432 samples. In 123 samples that were determined as HBsAg-negative, E170 (76%) distributed frequently at the upper half level (0.5-1.0) of negative reference range, compared with Architect (11%) and Centaur XP (22%). In particular, in 65 samples that were diluted from the strongly positive samples to obtain weakly positive samples, the average index values obtained using Architect (3.6 S/CO), E170 (4.2 COI) and Centaur XP (11.4 index value) differed significantly ($P < 0.0001$). In the antiviral treatment group and the post-liver transplantation group, no inconsistency was observed among the results of the qualitative and quantitative assays. In the 18-fold serially diluted samples, no linearity was observed.

Conclusions: Because of the possibility of false-positive detection in the HBsAg-negative samples, regular management of equipment and appropriate selection of reagents are very important. In weakly positive samples, quantitative assay has not to be replaced for qualitative assay. Therefore, the qualitative assays should be used for screening the samples, whereas the quantitative assays should be used for monitoring the Hepatitis B virus (HBV) load in the samples determined as HBsAg-positive. The qualitative index value should not be interpreted as a quantitative measure of HBV load.

Key Words: Hepatitis B virus, HBsAg, Qualitative assay, Quantitative assay, Chemiluminescence immunoassay, Microparticle enzyme immunoassay, Electrochemiluminescence immunoassay

Corresponding author: Sung-Ryul Kim M.D.

Department of Laboratory Medicine, Ulsan University Hospital, University of Ulsan College of Medicine, 877 Bangeojinsunhwan-daro, Dong-gu, Ulsan 682-714, Korea

Tel: +82-52-250-7271, FAX: +82-52-250-8269, E-mail: srkimuuh@hitel.net

Received: May 8, 2012

Revision received: August 22, 2012

Accepted: August 27, 2012

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2013, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서론

B형간염바이러스(Hepatitis B Virus, HBV) 감염은 세계적으로 약 3억 5천 명이 감염되어 있으며 그 중 매년 1백만 명이 B형간염질환으로 사망하고 있다[1]. 우리나라는 HBV 유행률이 높은 지역으로 1983년 HBV 백신 사업이 도입되기 이전에는 전 인구의 약 7.3%가 Hepatitis surface antigen (HBsAg) 만성보유자, 36%는 감염 후 자연면역이 된 상태, 약 15%는 항-HBc에서만 양성을 보이는 상태로 전 인구의 약 60%가 현재 혹은 과거에 감염이 있었던 것으로 보고된 바 있다[2]. 이후 HBV 백신 사업이 도입되고 HBsAg 만성보

유자가 감소하는 추세를 보였으나, 1998년 보건복지부에서 시행한 실태 조사에 의하면 한국인 10세 이상 남자의 5.1%와 여성의 4.1%에서 HBsAg이 양성으로 여전히 HBsAg 만성 보유자들이 많이 보고되고 있다[3].

HBsAg 검사는 HBV 감염 후 첫 번째로 나타나는 표지자로서, 급성 혹은 만성B형간염의 기본이 되는 검사이다. HBV 유병률이 높은 지역에서는 B형 간염의 선별 검사로 이용되고 있으며 만성B형 간염 환자에서는 치료 반응을 예측하는 인자로도 이용되고 있다. HBsAg 정량검사는 간세포 핵 내의 covalently closed circular DNA (cccDNA)와 상관관계가 높다고 보고되고 있다[4-6]. 따라서 최근 만성간염 환자의 추적검사에서 HBV DNA 검사와 함께 HBsAg 정량검사가 많이 이용되고 있다.

HBsAg 검사로는 효소결합면역측정법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 효소면역측정법(Enzyme immunoassay, EIA), 미세입자효소면역 측정법(microparticle enzyme immunoassay, MEIA), 방사면역 측정법(radioimmunoassay, RIA) 등이 사용되어 왔고 최근에는 민감도가 높고 자동화가 가능한 검사법인 미세입자효소면역측정법(microparticle enzyme immunoassay, MEIA), 화학 발광 면역 측정법(Chemiluminescence immunoassay, CLIA), 전기 화학 발광 면역 측정법(electrochemiluminescence immunoassay, ECLIA)이 개발되어 사용되고 있다. 하지만 위음성 결과들이 보고되고 있는데 그 원인에는 B형 간염 보균자의 혈중에 검사법의 검출한계보다 낮은 농도로 표면 항원이 존재하거나, 바이러스의 특정부위의 변이로 인한 돌연변이로 인해 검사시약의 항체와 반응하지 않는 경우[8, 9] 등을 들 수 있다. 따라서 보다 정확하고 민감한 방법으로 B형간염진단 검사를 선택하는 것이 필수적이다.

HBsAg 검사시약은 포획항체(capture antibody)와 결합항체(conjugate antibody)로 이루어져 있다. ARCHITECT HBsAg Qual II (Abbott Laboratories, Delkenheim, Germany)와 Elesys HBsAg II (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) 시약의 경우 포획항체로 2개의 단클론 항체를 사용하고 결합항체로 단클론 및 다클론항체 조합을 사용한다. ADVIA Centaur HBsAg II (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, NY, U.S.) 시약의 경우에는 포획항체로 3개의 단클론항체를 사용하고 결합 항체로 2개의 단클론항체를 사용한다. HBsAg을 포획하는 항체의 종류에 따라 돌연변이의 검출률에 차이가 생기는데 단클론(monoclonal) 항체는 돌연변이의 검출률이 낮고 다클론(polyclonal) 항체의 경우 돌연변이의 검출률이 높지만 특이도가 낮은 단점이 있다[10, 11]. HBsAg 검사 시약제조사들은 이러한 단점들을 개선시키기 위해 노력해오고 있는데 우선 Abbott사는 ARCHITECT HBsAg 검사시약의 민감도와 특이도를 높이고 돌연변이의 검출률을 향상시켰다. Roche사는 기존의 시약이 1개의 단클론포획항체와 1개의 결합항체로 이

루어져 있었는데 최근 포획항체로 2개의 단클론항체, 결합항체로 단클론항체와 다클론항체를 사용하여 돌연변이의 검출률을 높였다. Siemens사는 포획항체를 3개의 단클론항체로 증강하여 특이도를 높이고 a-determinant에 있는 돌연변이 검출률을 높인 시약을 최근에 개발하였다.

본 연구는 다양한 환자군에서 얻은 검체를 이용하여 최근 개선된 주요 세가지 HBsAg 시약을 이용하여 HBsAg 정성 검사와 정량 검사의 검출능을 비교하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

실험에 사용된 검체는 일반 환자군으로 HBsAg 음성군 검체(이하, 음성군) 50개, HBsAg 약양성군 검체 6개, HBsAg 강양성군 검체(이하, 강양성군) 50개, 고위험군 바이러스 혈청은행(<http://knrrb.knrrc.or.kr>)에 보관되어 있는 검체(이하, 혈청은행검체군) 100개(HSB20111214), 항바이러스제 치료를 받고 있는 만성 B형 환자 검체(이하, 간치료군) 50개, 간이식군 검체(이하, 간이식군) 41개, HBsAg 양성을 희석한 검체(이하, 희석군) 135개로 총 432검체였다. 일반 환자군 검체의 수집은 2011년 10월에서 2012년 1월까지 울산 대학교병원 진단검사의학과로 의뢰된 검체와 고위험군 바이러스 혈청은행에 보관된 검체를 사용하였다. Architect 장비로 검사하여 얻은 지수값(Signal cutoff value, S/CO)의 결과에 따라 음성군($S/CO < 1.0$), 약양성군($1 \leq S/CO < 10.0$) 강양성군($S/CO \geq 10.0$)으로 임의로 분류하였다. 약양성 검체에서의 차이를 좀 더 알아보기 위해 HBsAg 정성검사서 강양성이 나온 검체를 약양성 값이 나오도록 10,000배 희석하여 135개 검체를 임의로 제조하였으며, 검사 결과는 Architect 기준으로 65검체에서 약양성으로 확인되었다. HBsAg 약양성 검체(이하, 약양성군)는 환자 검체 6개와 약양성 값이 나온 희석검체 65개를 포함하여 모두 71검체를 대상으로 하였다. 간치료군 검체는 만성간염 환자 가운데 라미부딘 약제치료를 받고 있는 환자에서 얻었으며, 간이식군 검체는 간이식 후 면역 글로블린을 투여 중인 환자에서 얻었다. 직선성 검증 검체로는 HBsAg 정성 검사의 결과가 강양성이 나온 검체 2개를 18단계로 희석하여 임의로 제조 하였다. 희석액은 HBsAg, Anti-HBs 및 DNA 검사에서 음성인 혈청을 사용하였다.

2. 평가 장비와 시약

검사에 사용된 장비는 각각 Abbott사의 Architect i2000sr analyzer (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA), Roche사의 Modular analytics E170 system (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), Siemens사의 Centaur XP (Siemens Healthcare Diag-

Table 1. Characteristics of 3 automated HBsAg assays

Manufacturer	Instrument	Reagent	Test Principle	Antibody		Interpretation	
				Capture	Conjugate	Positive	Negative
Abbott	Architect	HBsAgQual II	CMLA	2Mo	Mo+Po	≥ 1	< 1
Roche	Elecsys	HBsAg II*	ECLIA	2Mo	Mo+Po	≥ 1	< 0.9
Siemens	ADVIA Centaur	HBsAgQual	CLIA	3Mo	2Mo	≥ 1	< 1

*Result between 0.9–1.0 was interpreted as borderline.

Abbreviations: Mo, monoclonal antibody; Po, polyclonal antibody; CMLA, chemiluminescence microparticle immunoassay; ECLIA, electrochemiluminescence immunoassay; CLIA, chemiluminescence immunoassay.

Table 2. The result of HBsAg qualitative test in 432 samples

	Architect	E170	Centaur XP*
Negative	130 (30%)	128 (30%)	118 (28%)
Weak positive	73 (17%)	69 (16%)	50 (12%)
Strong positive	229 (53%)	235 (54%)	259 (60%)
Total	432 (100%)	432 (100%)	427 (100%)

*Five samples were insufficient in volume to be tested.

Definition: Weak positive, 1.0 S/CO ≤ HBsAg < 10.0 S/CO; Strong positive, HBsAg ≥ 10.0 S/CO.

nostics Inc., Tarrytown, NY, U.S.)이고 각 사의 전용 HBsAg 정성 및 정량, anti-HBs 검사 시약을 사용하였다. 검사는 시행하기 전에 장비점검과 정도관리를 포함하여 사전 점검을 시행하였다. 제조사 별 시약의 특성을 Table 1에 정리하였다.

1) HBsAg 정성검사

정성검사는 대조군에서 구한 signal 값과 환자 검체의 signal 값의 비율로 구하며 Scutoff의 값은 $Scutoff = (A \times Sneg) + (B \times Spos) + C$ 의 동일한 공식을 통해 구해지며 각 상수값은 회사마다 차이가 있다. ARCHITECT HBsAg Qual II는 미세입자화학발광면역측정법을 원리로 하고 있고 화학발광이 유도될 때 이 신호를 검출기로 측정하여 보정을 통해 구해진 기준치와 검체에서 측정된 신호를 이용해 계산된 지수값(S/CO)의 비율로 결과를 판정하며 이 값이 1.0 이상인 경우 양성으로 판정한다. Elecsys HBsAg II는 전기화학발광면역측정법을 사용하는데 전극에 전류를 가하는 순간 화학 발광이 유도되고 이 신호를 검출기로 측정하여 보정을 통해 구한 기준치(cutoff index, COI)와 검체에서 측정된 신호를 이용해 계산된 지수값으로 결과를 판정하며 0.9 이상 1.0 미만인 경우 borderline으로 판정하고, 1.0 이상인 경우 양성으로 판정한다. ADVIA Centaur HBsAg II는 화학발광면역측정법을 원리로 하고 있고 지수값(Index value)이 1.0 이상인 경우 양성으로 판정한다.

2) HBsAg 정량검사

HBsAg 정량검사의 경우 Abbott사, Roche사 두 회사에서만 전용 시약을 공급하고 있어 두 회사에서만 검사를 시행하였다. Abbott사는 CMIA법을 사용하고 0.05 IU/mL 이상을 양성으로 판정

Table 3. The result of HBsAg qualitative test in negative samples

	Architect	E170	Centaur XP*
0.00 S/CO < HBsAg ≤ 0.25 S/CO	0 (0%)	0 (0%)	33 (28%)
0.25 S/CO < HBsAg ≤ 0.50 S/CO	109 (89%)	29 (24%)	59 (50%)
0.50 S/CO < HBsAg ≤ 0.75 S/CO	11 (9%)	79 (64%)	16 (14%)
0.75 S/CO < HBsAg < 1.00 S/CO	3 (2%)	15 (12%)	10 (8%)
Total	123 (100%)	123 (100%)	118 (100%)

*Five samples were insufficient in volume to be tested.

하며 측정범위는 0.0–250 IU/mL이다. 250 IU/mL를 초과하면 검체를 희석하여 결과를 산출한다. Roche사는 ECLIA법을 사용하고, 결과판정은 0.05 IU/mL 이상인 경우 양성으로 판정하며 검출 한계치는 0.01 IU/mL이다. Roche사에서는 정량검사 측정 시 검체를 400배 자동 희석한 후 희석배수를 보정하여 결과를 산출하며 측정 범위는 0.0–52,000 IU/mL이다.

3) 통계

모든 통계분석은 SPSS ver 17.0을 이용하였다. 세 회사 간의 HBsAg 양성 검출률의 차이를 카이제곱 검정을 통해 비교하였으며 HBsAg 정량 검사 간의 양성 검출률의 차이는 paired *t*-test를 통해 비교하였다. *P* 값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 차이가 유의한 것으로 판단하였다.

결 과

1. 전체 결과

총 432검체에서 HBsAg 정성검사를 시행하였고 음성군, 약양성군, 강양성군으로 임의로 분류하였으며 세 회사 간의 검사 결과 일치율은 98.3%였다(Table 2).

2. 음성 검체 결과

총 432개의 검체에서 세 회사의 HBsAg 정성검사에서 모두 음성을 보인 검체는 123개였으며, 음성검체를 0.25 구간씩 네 개의 그룹으로 나누어 Table 3에 나타내었다. HBsAg 음성검체 정성검사의 평균값은 Centaur XP 0.3597 index value, Architect 0.4112 S/CO,

Table 4. Comparison of HBsAg qualitative test in different sample groups

Group	No.	Architect		E170		Centaur XP*	
		Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative
Negative	50	1 (2%)	49 (98%)	1 (2%)	49 (98%)	1 (2%)	46 (98%)
Weak Positive	71	71 (100%)	0 (0%)	71 (100%)	0 (0%)	71 (100%)	0 (0%)
Strong Positive	50	50 (100%)	0 (0%)	50 (100%)	0 (0%)	50 (100%)	0 (0%)
HSB20111214	100	100 (100%)	0 (0%)	100 (100%)	0 (0%)	100 (100%)	0 (0%)
CHB with Tx.	50	50 (100%)	0 (0%)	50 (100%)	0 (0%)	50 (100%)	0 (0%)
Post LT	41	2 (5%)	39 (95%)	2 (5%)	39 (95%)	2 (5%)	37 (95%)
Total	362	274 (76%)	88 (24%)	274 (76%)	88 (24%)	274 (77%)	83 (23%)

*Three samples were insufficient in volume to be tested in negative group. Two samples were insufficient in volume to be tested in post LT group.

Definition and abbreviations: Weak positive, $1.0 \text{ S/CO} \leq \text{HBsAg} < 10.0 \text{ S/CO}$; Strong positive, $\text{HBsAg} \geq 10.0 \text{ S/CO}$; HSB20111214, Human serum bank samples; CHB with Tx, chronic hepatitis B with antiviral treatment; LT, liver transplantation.

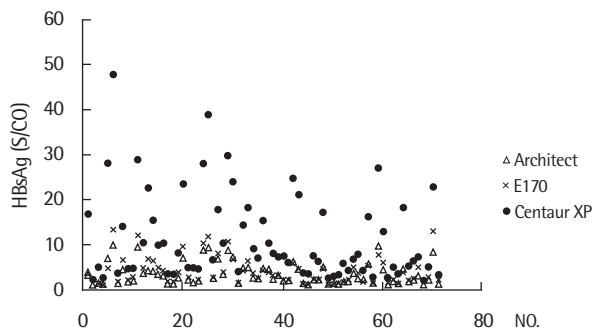


Fig. 1. Distribution of HBsAg qualitative results in 71 weakly positive group.

E170 0.5745 COI 순이었다. 평균값의 차이는 E170과 Centaur XP는 0.21, Architect과 E170는 0.16, Architect과 Centaur XP는 0.05순이었다. 세 회사의 HBsAg 정성결과와 모두 음성으로 일치하였으나 S/CO 0.5 이하 값을 보인 검체는 Architect (89%)가 가장 많았고 Centaur XP (78%), E170 (24%) 순이었다. HBsAg S/CO 0.5 초과 값을 보인 검체는 E170 (76%), Centaur XP (22%), Architect (11%) 순이었다. 결과 값에서 E170은 0.5-0.75 범위의 결과 값이 64%로 가장 많았고, Centaur XP는 0.0-0.5 범위의 결과 값이 78%로 가장 많았다.

3. 그룹별

1) 정성검사

각 검체별로 구분하여 검사한 362검체들 중에서 음성군, 약양성군, 강양성군, 혈청은행검체군, 간치료군, 간이식군의 정성검사 결과는 각 군별로 모두 일치하였다(Table 4). 약양성군에서의 HBsAg 분포를 Fig. 1에 나타내었다.

2)정량검사

각 그룹별 정량검사 결과를 Table 5에 나타내었다. HBsAg 검사에서 음성군, 강양성군과 혈청은행검체군, 치료군, 간이식군에서는 유의한 차이가 없었으나 약양성군에서는 두 회사 간 정량값에

Table 5. Comparison of HBsAg quantitative test results between Architect and E170 in different sample groups

Group	No.	Architect*		E170†	
		Positive	Negative	Positive	Negative
Negative	50	1 (2%)	48 (98%)	1 (2%)	49 (98%)
Weak Positive	71	65 (92%)	6 (8%)	59 (83%)	12 (17%)
Strong Positive	50	50 (100%)	0 (0%)	50 (100%)	0 (0%)
HSB20111214	100	100 (100%)	0 (0%)	100 (100%)	0 (0%)
CHB with Tx.	50	50 (100%)	0 (0%)	50 (100%)	0 (0%)
Post LT	41	2 (5%)	39 (95%)	2 (5%)	38 (95%)
Total	362	268 (74%)	93 (26%)	262 (75%)	99 (25%)

*One sample was insufficient in volume to be tested in negative group; †One sample was insufficient in volume to be tested in post LT group.

Definition and abbreviations: Weak positive, $1.0 \text{ S/CO} \leq \text{HBsAg} < 10.0 \text{ S/CO}$; Strong positive, $\text{HBsAg} \geq 10.0 \text{ S/CO}$; HSB20111214, Human serum bank samples; CHB with Tx, chronic hepatitis B with antiviral treatment; LT, liver transplantation.

유의한 차이를 보였다($P < 0.0001$). 약양성군에서 Architect의 양성률이 92%였고, 평균 값은 0.193 IU/mL이었으며, E170은 양성률이 83%였고 평균 값은 0.161 IU/mL였다.

3)정성과 정량검사

약양성군에서 정성과 정량간의 차이를 보인 검체는 Architect에서 6검체(6/71, 8.4%)였고, E170에서 12검체(12/71, 16.9%)였으며(Table 6), 정성검사와 정량 검사 간의 비교에서 Architect가 E170보다 불일치 검사가 상대적으로 더 적었다.

4. 희석검체

1) 정성검사

HBsAg 양성인 검체를 약양성군으로 임의로 희석하여 제조하였던 135개 검체에서 정성검사의 결과에 따라 음성군, 약양성군, 강양성군으로 나누었고 결과 값을 Table 7에 나타내었다. Architect의 HBsAg 그룹별 농도는 음성군에서 0.32-0.83 S/CO, 약양성군은 1.16-9.91 S/CO, 강양성군은 10.3-185.08 S/CO의 범위에 있었다.

E170은 음성군에서 0.44-0.95 COI, 약양성군에서 1.02-9.71 COI, 강양성군에서 10.06-222.90 COI 범위에 있었으며, Centaur XP는 음성군에서 0.13-0.99 index value, 약양성군에서 1.0-9.25 index value, 강양성군에서 10.03-902.15 index value 범위였다. 세 회사 중 음성률은 Architect가 가장 높았고(31%), E170 (29%), Centaur XP (26%) 순이었으며 양성률에서는 Centaur XP (74%)가 가장 높았고, E170 (71%), Architect (69%)순이었다. 강양성률은 Centaur XP (40%)가 가장 높았고 E170 (25%), Architect (21%) 순이었다. 약양성군 검체는 Architect (48%), E170 (46%), Centaur XP (34%) 순이었으며 평균 값은 Architect 3.6 S/CO, E170 4.2 COI, Centaur XP 11.4 index value였고 Architect와 E170 ($P<0.0001$), E170와 Centaur XP ($P<0.0001$), Architect와 Centaur XP ($P<0.0001$) 모두 유의한 차이를 보였다. 강양성군 검체는 Centaur XP (40%), E170 (25%), Architect (21%)순이었으며 평균 값은 E170 43.73 COI, Architect 44.95 S/CO, Centaur XP 107.55 index value였으며 Centaur XP가 상대적으로 높은 값을 보였다. 세 장비 간 결과 값에는 유의한 차이가 없었다. 세 장비 간에 HBsAg 결과 값에 차이가 나는 검체를 Table 8에 나타내었다.

Table 6. Discrepant results between HBsAg qualitative and quantitative tests in 71 weakly positive samples

No.	Architect				E170			
	Qualitative test		Quantitative test		Qualitative test		Quantitative test	
1	1.29	P	0.06	P	1.14	P	<0.05	N
2	1.44	P	0.06	P	1.99	P	<0.05	N
3	1.44	P	0.03	N	1.88	P	<0.05	N
4	1.52	P	0.04	N	1.98	P	<0.05	N
5	1.78	P	0.03	N	1.94	P	<0.05	N
6	1.93	P	0.06	P	2.25	P	<0.05	N
7	1.99	P	0.03	N	3.01	P	<0.05	N
8	1.99	P	0.02	N	2.39	P	0.13	P
9	2.31	P	0.05	P	2.81	P	<0.05	N
10	2.59	P	0.03	N	2.86	P	<0.05	N
11	2.86	P	0.05	P	4.01	P	<0.05	N
12	3.16	P	0.06	P	4.40	P	<0.05	N
13	3.76	P	0.07	P	5.03	P	<0.05	N

Abbreviations: N, Negative; P, Positive.

Table 7. Comparison of HBsAg qualitative test in 135 samples diluted to be weakly positive

Group	Architect		E170		Centaur XP	
	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative
Negative	0 (0%)	42 (31%)	0 (0%)	40 (29%)	0 (0%)	35 (26%)
Weak positive	65 (48%)	0 (0%)	62 (46%)	0 (0%)	46 (34%)	0 (0%)
Strong positive	28 (21%)	0 (0%)	33 (25%)	0 (0%)	54 (40%)	0 (0%)
Total	93 (69%)	42 (31%)	95 (71%)	40 (29%)	100 (74%)	35 (26%)

Definition: Weak positive, $1.0 \text{ S/CO} \leq \text{HBsAg} < 10.0 \text{ S/CO}$; Strong positive, $\text{HBsAg} \geq 10.0 \text{ S/CO}$.

2) 정량검사

전체 135검체 중에서 Architect는 음성 45개, 양성 90개였고,

Table 8. Discrepant results in HBsAg qualitative test with samples diluted to be weakly positive samples among 3 different assays

S/CO	Architect		E170		Centaur XP	
	Interpretation	COI	Interpretation	Index value	Interpretation	
0.610	N	1.020	WP	1.280	WP	
0.640	N	0.835	N	1.000	WP	
0.670	N	0.741	N	1.170	WP	
0.740	N	0.922 (BL)*	N	1.580	WP	
0.770	N	0.903 (BL)*	N	1.240	WP	
0.810	N	0.871	N	1.880	WP	
0.810	N	1.130	WP	1.690	WP	
3.160	WP	4.400	WP	10.460	SP	
3.440	WP	4.100	WP	10.530	SP	
3.580	WP	5.090	WP	10.030	SP	
3.760	WP	5.030	WP	10.630	SP	
4.200	WP	6.570	WP	15.480	SP	
4.340	WP	6.990	WP	22.650	SP	
4.580	WP	6.800	WP	14.200	SP	
4.580	WP	6.190	WP	12.820	SP	
4.770	WP	4.690	WP	21.170	SP	
4.790	WP	4.070	WP	18.270	SP	
4.810	WP	4.070	WP	10.430	SP	
4.860	WP	4.360	WP	15.400	SP	
4.960	WP	4.440	WP	14.350	SP	
5.080	WP	6.570	WP	18.340	SP	
5.220	WP	4.810	WP	17.300	SP	
5.950	WP	5.520	WP	16.370	SP	
6.440	WP	5.990	WP	24.750	SP	
6.890	WP	8.220	WP	17.780	SP	
7.180	WP	9.710	WP	23.410	SP	
7.310	WP	6.920	WP	24.100	SP	
8.580	WP	13.050	SP	22.860	SP	
8.890	WP	10.490	SP	28.080	SP	
8.910	WP	10.790	SP	29.850	SP	
9.550	WP	11.940	SP	38.920	SP	
9.610	WP	12.180	SP	29.080	SP	
9.910	WP	7.870	WP	27.110	SP	

*BL, Borderline; WP, Weak Positive, $1.0 \text{ S/CO} \leq \text{HBsAg} < 10.0 \text{ S/CO}$; SP, Strong positive, $\text{HBsAg} \geq 10.0 \text{ S/CO}$.

Abbreviations: S/CO, sample cutoff value; COI, Cutoff index.

Table 9. Discrepant results of HBsAg qualitative and quantitative tests with samples diluted to be weakly positive

No.	Architect				E170			
	Qualitative test		Quantitative test		Qualitative test		Quantitative test	
1	0.61	N	0.05	P	1.02	P	<0.05	N
2	0.77	N	0.05	P	0.90	N	<0.05	N
3	0.81	N	0.05	P	0.87	N	<0.05	N
4	0.81	N	0.04	N	1.13	P	<0.05	N
5	1.44	P	0.06	P	1.99	P	<0.05	N
6	1.44	P	0.03	N	1.88	P	<0.05	N
7	1.52	P	0.04	N	1.98	P	<0.05	N
8	1.78	P	0.03	N	1.94	P	<0.05	N
9	1.93	P	0.06	P	2.25	P	<0.05	N
10	1.99	P	0.03	N	3.01	P	<0.05	N
11	1.99	P	0.02	N	2.39	P	0.130	P
12	2.31	P	0.05	P	2.81	P	<0.05	N
13	2.59	P	0.03	N	2.86	P	<0.05	N
14	2.86	P	0.05	P	4.01	P	<0.05	N
15	3.16	P	0.06	P	4.40	P	<0.05	N
16	3.76	P	0.07	P	5.03	P	<0.05	N

Weakly Positive: 1.0 S/CO ≤ HBsAg < 10.0 S/CO.

Abbreviations: N, Negative; P, Positive.

E170는 음성 53개, 양성 82개였다. 양성 검체에서의 평균 값은 Architect 0.7761 IU/mL, E170 0.8109 IU/mL였다.

3) 정성과 정량검사

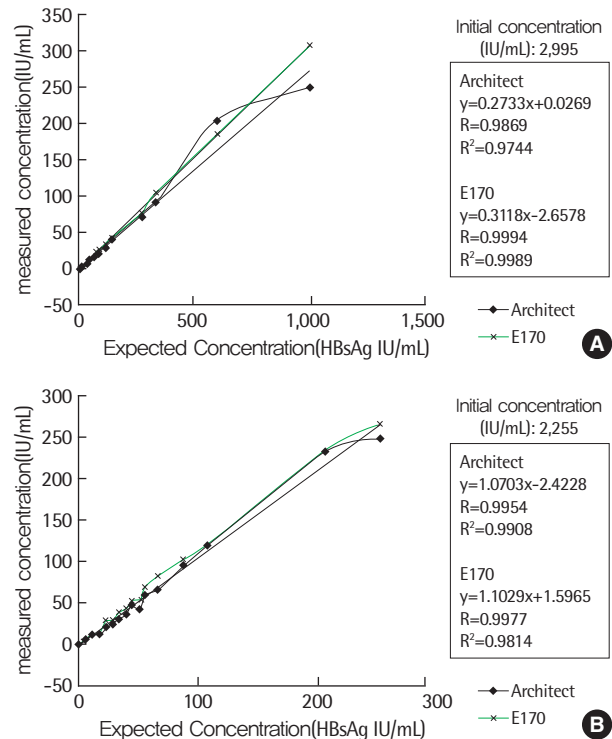
정성과 정량검사간의 차이를 보이는 검체는 Architect 9검체 (6.66%), E170 13검체(9.62%)였다(Table 9). 희석검체 135개로 검사한 정성 검사와 정량 검사간의 상관계수는 Architect과 E170이 각각 0.93과 0.87이었다.

5. 직선성 검증

HBsAg 정성 검사에서 강양성을 보인 검체 2개를 18계단 희석하여 Architect과 E170 두 장비의 HBsAg 정성검사와 정량검사를 시행하였다. 직선성 검증을 시행한 결과 두 검체 모두 직선성을 보이지 않았다(Fig. 2). 정성검사와 정량검사간의 회귀분석을 통해 비교해본 결과 Architect는 R² 값이 0.9657과 0.9475였고 E170은 0.9869와 0.9195였다(Fig. 3).

고 찰

우리나라는 만성간염의 유병률이 높은 지역으로 B형 간염의 선별검사 및 추적검사로 HBsAg 검사가 자주 이용되고 있다. 하지만 HBsAg 검사는 간혹 위음성 결과들이 보고되고 있는데 그 원인에는 검사법의 검출한계보다 낮은 농도로 항원이 존재하거나 바이러스의 특정 부위의 변이로 인한 돌연변이가 검사 시약의 항체와 반

**Fig. 2.** Linearity test with serial dilution of 2 HBsAg strongly positive samples.

응하지 않는 경우 등이 있다. 따라서 민감도가 높은 검사 시약으로 HBsAg을 검사하는 것이 중요하다. 최근 Abbott, Roche, Siemens에서는 HBsAg의 민감도와 특이도를 높이고, 돌연변이 검출률을 높인 시약들을 개발하였다. 이전에도 다양한 시약에 따른 HBsAg 항원 검출률을 비교한 연구들이 있지만 최근 개선된 시약들의 HBsAg 검출률을 비교해 보았다. 총 432개의 검체를 이용하여 검사를 시행하였다. 전체 검체의 HBsAg 정성 검사 결과에서 양성 검출률은 Centaur XP (72%)가 가장 높았고 Architect (70%)와 E170 (70%)는 동일하였다. 그 중 강양성 결과를 보인 검체는 Centaur XP (60%)에서 가장 많았고 다음으로 E170 (54%), Architect (53%) 순이었다. 음성 결과를 보인 123개의 검체를 4개의 범위로 나누어 비교해본 결과 index value 값들의 분포가 농도별로 다양하게 관찰되고 특히 0.75-1.0 미만 범위의 값들도 다수 분포하였다. 이는 측정시 장비보정(calibration)의 baseline이 일시적으로 높아지거나 검체 요인으로 인해 index value가 높아질 경우 발생하며 위양성을 초래할 가능성도 있으므로 검사시 장비를 잘 점검할 필요가 있다. Centaur XP는 0.0-0.25 index value의 낮은 범위 결과 값이 많고 전체 검체군에서 양성을 보인 검체에서는 강양성 결과 값이 많은 것으로 보아 저농도와 고농도의 결과 값을 타사 제품들에 비하여 보다 더 잘 구분해줄 수 있었다.

환자군에 따른 HBsAg 결과 값의 차이를 비교하기 위해 음성군

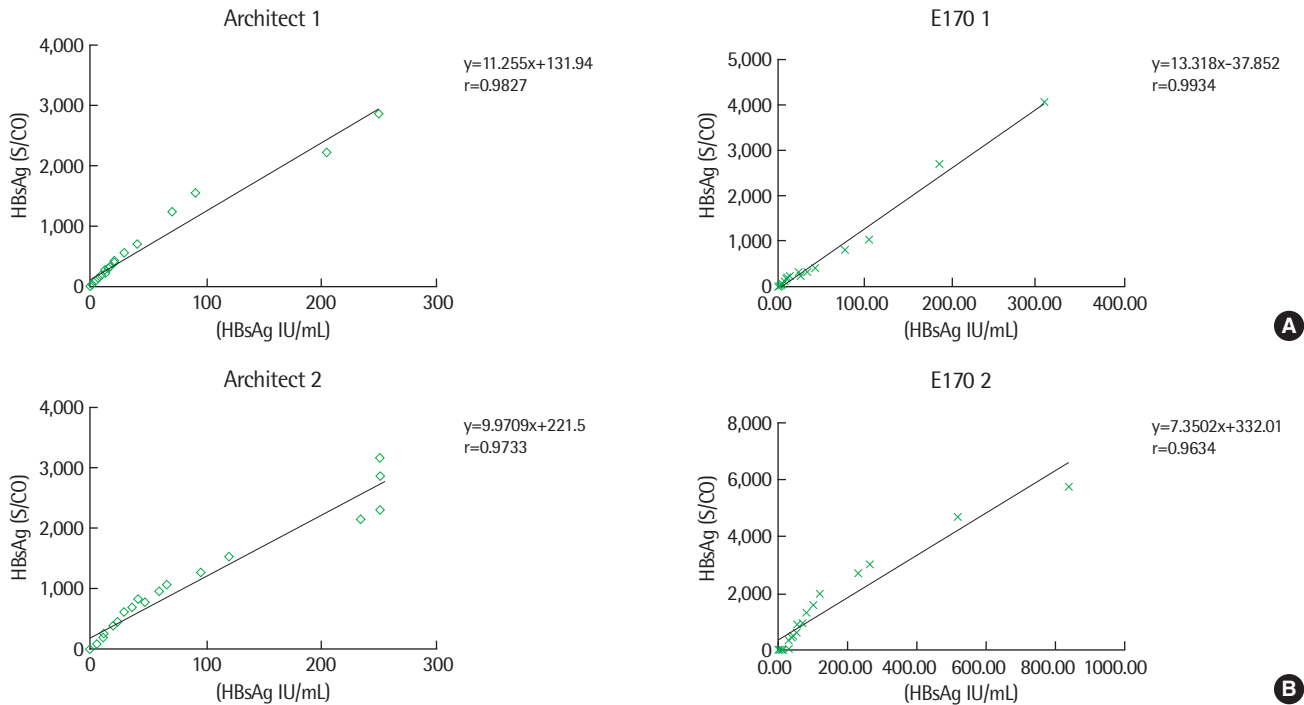


Fig. 3. Correlation between HBsAg qualitative and quantitative test using serially diluted samples.

과 약양성군, 강양성군, 혈청은행검체군, 간치료군, 간이식군으로 나누어 비교해 보았다. 모든 그룹에서 HBsAg 정성검사의 결과는 일치하였다. 이 결과는 비슷한 연구에서도 차이가 없는 것으로 보고되어 동일한 결과를 보였고[12, 13] 외부신빙도조사 결과보고에서도 일치율이 95% 이상으로 유사한 결과를 보였다[14-17]. 하지만 동일검체에 대한 비교 실험을 한 외국의 논문에서는 서로 다른 결과를 보였다는 예도 가끔 있었다[18, 19].

환자군에 따른 정량검사에서는 약양성군을 제외하고 음성결과와 양성결과는 일치하였다. 약양성군에서는 HBsAg 정성검사와 정량검사에서 불일치를 보이는 검체가 13개 있었다(Table 6). 차이를 보인 검체는 정성검사에서 모두 양성 결과를 보인 검체들로 Architect는 6검체(1.66%)에서 음성을 보였고, E170은 12검체(3.32%)에서 음성을 보였다. 차이를 보인 검체들은 임상기록 검토를 통해 만성B형간염 환자로 확인되었고 Architect HBsAg 정성검사에서 1.29-3.76 S/CO 농도 값들이었다. 이것으로 보아 낮은 농도 값에서는 정성검사가 더 예민하고 검출률이 높으며, 정량검사에서 위음성 가능성이 더 높다는 것을 알 수 있다. 따라서 HBsAg의 스크리닝 검사로는 정성검사가 더 유용하고 정량검사는 만성간염 환자에서 추적검사로 더 유용하게 쓰일 수 있으며 정량검사 결과를 정성검사로 해석해서는 안된다. 하지만 본 연구에서 사용한 저농도 검체에는 인위적으로 희석하여 제조한 검체가 포함되어 있어 실제 환자 검체에서는 다른 결과가 보일 수도 있다. 불일치 검체에 대해서는 PCR 등의 좀 더 예민한 검사법이나 참값을 갖고 있는 확진법으로 검증

을 해주는 것이 더 좋을 것으로 생각한다.

주로 검사 간 차이를 보이는 약양성 검체의 결과를 분석하기 위해 HBsAg 강양성을 보이는 검체 135개를 희석하여 실험하였다. 희석군에서 HBsAg 정성 검사 결과 값은 음성군, 약양성군, 강양성군으로 나누었다. 음성결과와 약양성결과는 Architect가 가장 높았고(79%), 다음으로 E170 (75%), Centaur XP (60%)순이었다. 강양성군은 Centaur XP에서 가장 많았고(40%) 다음으로 E170 (25%), Architect (21%) 순이었다. 135개의 희석검체에서 정성과 정량 간의 차이를 보이는 검체는 Architect 9개(6.66%), E170 13개(9.62%)의 검체였고 S/CO 값이 0.61-3.76 사이의 낮은 농도 값에서 차이를 보이므로 낮은 농도에서의 결과 값의 해석에 주의가 필요하다. 희석검체를 이용하여 정성과 정량검사 간의 관계를 회귀분석한 결과 Architect $R^2=0.93$, E170 $R^2=0.87$ 이었다. 따라서 양성 검체에서 약양성 결과를 적게 보이고 강양성 결과가 많이 보이는 제품이 더 위음성의 가능성을 줄일 수 있으므로 제품의 선택에 참고하여야 한다.

직선성 검증을 위해 HBsAg 강양성을 보인 검체 2개를 18계단 희석하여 정성 검사의 예상농도와 측정농도 간의 관계를 비교해 본 결과 2개 검체 모두에서 직선성을 보이지 않았다. 직선성 검증에 사용된 검체의 정성값과 정량값을 비교해 본 결과 두 회사 모두 정성과 정량 간에 좋은 상관관계를 보였지만 HBsAg 고농도 부위에서는 직선성이 현저히 떨어져 보였다. 이는 정성검사의 고농도 검체에서 발생하는 hook effect 때문으로 생각된다. 이를 배제하기 위하여 정량검사에서는 Architect은 250 IU/mL 이상의 값에서는

희석하도록 권장하고 있으며 E170에서는 측정 전 400배 자동으로 희석하여 검사하고 있다. 이 결과로 보아 정성검사로 정량검사의 결과 값을 어느 정도 추정하는 것은 가능하지만 환자마다 동일하게 적용할 수 없으므로 정성검사로 정량검사를 대체할 수는 없을 것으로 생각한다.

요 약

배경: 간염 검사법들은 과거부터 꾸준히 개선되어 왔으나 저농도 혈청 값, 비특이반응, 돌연변이 등으로 인하여 위음성 결과 등이 보고되어 주요 공급사들에서는 특이도가 높은 단클론 항체와 다클론 항체들을 사용하고 항체의 종류를 추가하여 불일치 반응들을 줄이고자 하였다. 따라서 최근에 새로이 개발된 주요 검사법들을 이용하여 그 분석능을 비교하고자 하였으며, 정성검사 값을 정량검사로써 준용하여 해석하려는 사례들이 있으므로 정성검사 index value와 정량검사 농도 값을 비교하고자 하였다.

방법: HBsAg 검사에서 음성, 약양성, 강양성 결과를 보인 검체, 환자군별로 구분한 간치료군과 간이식군의 검체, 혈청은행에서 양성으로 확정된 검체들을 포함한 총 432검체들을 대상으로 주요 3사의 제품들로 정성검사와 정량검사를 실시하였다. 약양성 검체들은 강양성 검체들을 희석하여 약양성 결과를 보이도록 제조하였으며, 이들을 대상으로 정성검사와 정량검사를 실시하였다. 강양성 검체들을 18단계 계대 희석하여 제조한 검체들을 대상으로 정성검사와 정량검사를 실시하였다.

결과: 세 회사 장비 간의 정성검사 일치율은 425/432, 98.3%로 매우 우수하였다. 음성 검체에서 정성검사의 결과 값은 세 회사 장비에서 모두 일치하였으나 index 값을 0.25범위로 나누어 본 결과 0.75-1.0 미만인 검체들은 Architect (2%)와 Centaur XP (8%)에 비하여 E170 (12%)에서 더 많았다. 또한 Architect 3검체(2.43%)에서 정성검사와 정량검사 간의 차이를 보였다. 양성 결과 값을 보인 309검체에서 Architect 6검체(1.94%), E170 14검체(4.53%)에서 정성과 정량 간의 결과 값이 달랐고 index 값은 1.29-3.76 S/CO범위에 있었다. 약양성으로 제조한 65검체들에서 정성 검사 평균 값은 Architect 3.6 S/CO, E170 4.2 COI, Centaur XP 11.4 index value였고 Architect과 E170 ($P<0.0001$), E170과 Centaur XP ($P<0.0001$), Architect과 Centaur XP ($P<0.0001$)에서 유의한 차이를 보였다. 간치료군과 간 이식군에서의 세 회사 간의 정성 검사와 정량 검사 결과는 모두 일치하였다. 강양성 검체들을 18계단 희석한 검체들에서 직선성을 보이지 않았다.

결론: 음성 검체 일부에서는 index value가 상대적으로 높게 나타나서 위양성을 보이거나 항원-항체 모두 양성 결과를 보일 위험이 있다. 이는 장비의 백그라운드 값이 높아지거나 시약의 비특이 반

응으로 나타날 수 있으므로 정기적인 장비 관리와 적절한 시약의 선택이 필요하다. 약양성 검체들에서 정성검사에서는 양성이지만 정량검사에서는 음성인 검체들이 보이므로 정량검사에서는 위음성으로 판정될 수도 있다. 그러므로 정량검사 결과로 정성검사를 판정하여서는 안되며 단지 모니터링에서만 사용하여야 한다. 강양성 검체들을 계단희석하여 제조한 검체들에서 정성검사와 정량검사들은 검체별로 서로 상이한 결과를 보이므로 정성검사에서 보고되는 index value를 정량검사의 결과로 준용하여 해석해서는 안 된다.

감사의 글

본 연구는 애보트, 지멘스의 연구비 지원과 애보트, 로슈, 지멘스의 학술 및 기술 제공 지원을 받아 수행되었습니다.

REFERENCES

1. Lee WM. Hepatitis B virus infection. N Engl J Med 1997;337:1733-45.
2. Lee HS. Current status of viral hepatitis and serological diagnosis (우리나라에서 간염바이러스 감염실태 및 혈청학적 진단). Korean J Clin Pathol 1995;15(S2):S197-S212.
3. Lee DH KJ, 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.
4. Su TH, Hsu CS, Chen CL, Liu CH, Huang YW, Tseng TC, et al. Serum hepatitis B surface antigen concentration correlates with HBV DNA level in patients with chronic hepatitis B. Antivir Ther 2010;15:1133-9.
5. Wursthorn K, Lutgehetmann M, Dandri M, Volz T, Buggisch P, Zollner B, et al. Peginterferon alpha-2b plus adefovir induce strong cccDNA decline and HBsAg reduction in patients with chronic hepatitis B. Hepatology 2006;44:675-84.
6. 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.
7. Jilg W, Sieger E, Zachoval R, Schatzl H. Individuals with antibodies against hepatitis B core antigen as the only serological marker for hepatitis B infection: high percentage of carriers of hepatitis B and C virus. Journal of Hepatology 1995;23:14-20.
8. Coleman PF, Chen YC, Mushahwar IK. Immunoassay detection of hepatitis B surface antigen mutants. J Med Virol 1999;59:19-24.
9. 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.
10. Moerman B, Moons V, Sommer H, Schmitt Y, Stetter M. Evaluation of sensitivity for wild type and mutant forms of hepatitis B surface antigen by four commercial HBsAg assays. *Clin Lab* 2004;50:159-62.
11. Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. *J Clin Virol* 2005;32:102-12.
12. Song SM, Oh WI, Kim DW. Evaluation of Serologic Marker Tests for Hepatitis B Viral Infection Using the Automated Immunoassay System ARCHITECT i2000. *Korean J Clin Pathol* 2002;22:42-6.
13. Yoo SJ, Oh HJ, Shin BM. Comparison of 3 Automated Immunoassay for Hepatitis B surface Antigen. *Korean J Lab Med* 2006;26:282-6.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. Chen D, Kaplan L, Liu Q. Evaluation of two chemiluminescent immunoassays of ADVIA Centaur for hepatitis B serology markers. *Clin Chim Acta* 2005;355:41-5.
19. Taylor P, Pickard G, Gammie A, Atkins M. Comparison of the ADVIA Centaur and Abbott AxSYM immunoassay systems for a routine diagnostic virology laboratory. *J Clin Virol* 2004;30 Suppl 1:S11-5.