

# 바이러스간염 진단을 위한 혈청학적 검사법과 Magicplex HepaTrio Real-time PCR의 비교

## The Comparison between Serologic Tests and Magicplex HepaTrio Real-time PCR in the Diagnosis of Viral Hepatitis

김 근 · 김덕언

Keun Kim, M.D., Duck-An Kim, M.D.

한양대학교병원 진단검사의학과

Department of Laboratory Medicine, Hanyang University Medical Center, Seoul, Korea

**Background:** Magicplex HepaTrio Real-time PCR (Magicplex, Seegene, Korea) simultaneously detects and distinguishes each type of hepatitis A, hepatitis B, and hepatitis C viruses. We investigated the diagnostic performance of Magicplex in comparison with that of serologic test.

**Methods:** We tested and analyzed 184 serum samples for hepatitis A IgM antibody (IgM antiHAV), hepatitis B virus surface antigen (HBsAg), and anti-hepatitis C virus antibody (antiHCV). Serologic markers including IgM antiHAV, HBsAg, and antiHCV were tested with electrochemiluminescence immunoassay method. We calculated positive rates of the test results and concordance rates between serologic tests and Magicplex.

**Results:** The positive rates of IgM antiHAV, HBsAg, and antiHCV using serologic methods were 15.2% (28/184), 13.6% (25/184), and 8.2% (15/184), respectively. The positive rates of the corresponding viral nucleic acid detection by Magicplex were 18.5% (34/184), 16.3% (30/184), and 4.3% (8/184), respectively. The concordance rates between serologic test and Magicplex were 95.7% (176/184) in hepatitis A, 97.3% (179/184) in hepatitis B, and 96.2% (177/184) in hepatitis C.

**Conclusions:** In our study, the concordance rates between Magicplex and traditional serologic tests are over 95%. Magicplex could not yet totally replace traditional serologic tests because there are some possibilities of cross reaction among the hepatitis viruses and false negative results in hepatitis C. If Magicplex resolves these problems, it would be a useful tool for screening test for the diagnosis of viral hepatitis as it provides an automated, easy, and simultaneous detection of the 3 major hepatitis viruses.

**Key Words:** Magicplex, Real-time PCR, Hepatitis, Serologic test

## 서 론

급성바이러스간염의 원인은 대부분 A형 간염바이러스(hepatitis A virus, HAV), B형 간염바이러스(hepatitis B virus, HBV), C형 간

염바이러스(hepatitis C virus, HCV), D형 간염바이러스(hepatitis D virus, HDV), E형 간염바이러스(hepatitis E virus, HEV)이다[1].

질병관리본부 연간 통계에 따르면 A형 간염은 2007년 2,233명, 2008년 7,895명, 2009년 15,231명, 2010년 7,655명으로 교육과 예방 접종으로 인하여 최근 상승세가 한풀 꺾였지만 수년 간 발생률이 비약적으로 증가하고 있고, B형 간염바이러스는 1998년 보건복지부에서 시행한 실태조사에 의하면 한국인 10세 이상 남자의 5.1%와 여자의 4.1%에서 B형 간염 표면항원(hepatitis B surface antigen, HBsAg) 양성으로 나타나 여전히 B형 간염 환자가 많은 것으로 나타나고 있다[2]. C형 간염바이러스는 인구의 1-2% 정도가 감염되어 있는 것으로 알려져 있으며 만성간질환의 15-20%가 만성 C형 간염과 관련이 있다[3-5].

급성바이러스간염은 각기 다른 바이러스가 원인이라 할지라도 임상 양상이 서로 비슷하여 혈청학적 검사가 진단에 필수적이며[1] 현재 본원에서는 A형, B형, C형 간염을 진단하기 위하여 IgM anti-

**Corresponding author:** Duck-An Kim, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Hanyang University Medical Center,  
222 Wangsimni-ro, Seongdong-gu, Seoul 133-792, Korea  
Tel: +82-2-2290-8977, Fax: +82-2-2298-1735, E-mail: dukim@hanyang.ac.kr

Received: May 17, 2012

Revision received: August 20, 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.

HAV, HBsAg, anti-HCV 검사를 증상이 의심되는 환자에 한해 각각 혈청학적 방법으로 검사하고 있다.

하지만 이러한 방법에는 몇 가지 문제점이 있다. HBsAg은 바이러스의 증식이나 감염성 여부를 평가하는데 도움이 되지 않고 과거에 비해 검출 민감도가 증가하였음에도 불구하고 위음성 결과들이 보고되고 있다[6, 7]. Anti-HCV 검사는 현재 감염과 과거의 감염을 구분할 수 없고 자원 공혈자나 건강한 성인 집단 등의 C형 간염 저위험군을 대상으로 연구한 결과 적지 않은 위양성(41%)과 위음성(32%)의 문제점이 있다[8, 9]. 또한 B형 간염바이러스 보균자가 A형 간염에 중복감염 시 전격간염으로 진행할 확률과 사망률이 각각 55%, 25%에 이른다는 연구 결과[10]와 B형 간염바이러스 보균자에서 A형 간염의 중복감염 시 전격간염의 발생 빈도가 약 9배 증가하였다는 연구 결과[11]를 고려할 때 B형 간염의 유병률이 높은 우리나라에서는 A형, B형, C형 간염 모두를 검사하여 심각한 결과를 사전에 예방할 필요가 있다고 생각된다.

이에 대한 보완책으로 분자생물학적 방법을 이용한 PCR (중합효소연쇄반응법)이 대두되고 있으나 검사 방법의 복잡성, 높은 위양성의 문제점, 과거 감염력과 급성감염의 구별 및 치료 효과 판정의 어려움이 있으며 고가이므로 선별검사로서는 이용되지 못하고 있다[12].

하지만 위의 단점들을 보완하고 세가지 간염바이러스의 검출을 분자생물학적 방법으로 한번에 시행할 수 있는 단일 시험관 다중 실시간 중합효소연쇄반응법(single tube multiplex real-time polymerase chain reaction)을 이용한 Magicplex HepaTrio Real-time PCR (Magicplex, Seegene, Seoul, Korea)이 개발되어 저자들은 그 성능을 평가하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

본원에서 IgM anti-HAV, HBsAg, anti-HCV 검사를 동시에 시행한 총 184명의 환자(2010년 6월 7일부터 23일까지 98명, 2011년 2월 1일부터 5월 13일까지 86명)를 후향적으로 조사하였다. 혈청은 측정하기 전까지 -70℃에서 냉동보관하였다.

### 2. 방법

#### 1) 혈청학적 검사

IgM anti-HAV, HBsAg, Anti-HCV 측정은 모두 전기화학발광면역측정법(electrochemiluminescence immunoassay)을 이용한 Roche Modular Analytics E170 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)을 사용하여 검사하였으며 모든 검사는 제조사의 지침대로 시행하였다.

#### 2) Magicplex

##### (1) 검사 원리

Magicplex는 실시간 중합효소연쇄반응법을 바탕으로 한 검사로 통상적인 핵산증폭장비를 통한 다중 유전자 증폭 단계와 실시간 핵산증폭장비를 통한 실시간 다중 검출 단계로 구성되어 있다. 실시간 중합효소연쇄반응법에서 증폭된 PCR 산물은 PCR 과정 중 실시간 형광강도 측정을 통해 확인할 수 있다.

##### (2) 핵산 추출

혈청 500 µL를 핵산 자동화 추출장비인 STARlet (Hamilton corp., Bonaduz, Switzerland)을 이용하여 핵산 추출을 진행했다.

##### (3) 증폭과 검출

Magicplex HepaTrio Amplification kit 시약 10X HepaTrio PM 5 µL, 10X OneStep RT-PCR Buffer 5 µL, OneStep RT-PCR Enzyme mix 4 µL와 추출한 핵산 36 µL를 혼합하여 제조사 매뉴얼에 언급된 조건으로 96-well GeneAmp PCR System 9700 (ABI, Foster City, CA, USA) 장비를 이용하여 통상적인 다중 중합효소연쇄반응법을 수행했다. 통상적인 다중 중합효소연쇄반응법이 완료되면 증폭된 PCR 산물을 Magicplex HepaTrio Real-time Detection kit 시약 5X HepaTrio DOM 4 µL, RNase free water 4 µL, 2X Detection Mix 10 µL에 PCR 산물 2 µL를 혼합하여 매뉴얼에 언급된 조건으로 CFX96 Real-time PCR system (BioRad, Hercules, CA)을 이용하여 검출을 수행했다. 증폭된 HAV, HBV, HCV와 Internal control은 4개의 다른 형광 프로브에 의해 검출되고 Seegene viewer 프로그램을 이용하여 결과를 판독했다.

##### (4) 검출 한계

각 바이러스의 검출 한계는 HAV 10 IU/mL, HBV 5 IU/mL, HCV 35 IU/mL이다.

#### 3) 통계 분석

총 184명의 혈청을 대상으로 기존의 혈청학적 방법과 Magicplex의 양성률과 일치율을 분석하였다. 검사 결과에 대한 통계학적 분석은 SPSS (version 18.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하였고, kappa 값을 구해 일치도 검정을 시행하였다.

## 결 과

혈청학적 방법으로 IgM anti-HAV, HBsAg, anti-HCV 검사를 동시에 시행한 총 184명을 대상으로 결과를 분석하였다.

검사 대상 환자들의 나이 분포는 2세부터 93세까지로 다양했고

**Table 1.** Characteristics of patients

	Total (N=184)	IgM anti-HAV (+) (N=28)	HBsAg (+) (N=25)	Anti-HCV (+) (N=15)
Age (yr)	46.17 ± 17.80	33.43 ± 9.64	48.04 ± 14.39	55.73 ± 15.22
Sex (M/F)	93/91	17/11	14/11	10/5
AST (IU/L)	483.81 ± 94.30	2,426.07 ± 445.59	188.56 ± 58.31	108.53 ± 52.22
ALT (IU/L)	417.52 ± 89.96	1,929.79 ± 443.71	110.56 ± 23.30	74.47 ± 22.50
TB (mg/dL)	1.88 ± 0.27	7.26 ± 1.22	2.18 ± 0.77	0.98 ± 0.28
DB (mg/dL)	1.26 ± 0.20	5.47 ± 0.88	1.33 ± 0.50	0.55 ± 0.20

Abbreviations: TB, total bilirubin; DB, direct bilirubin.

**Table 2.** Comparison of serum IgM anti-AV and Magicplex RT-PCR results of HAV in 184 patients

HAV	Magicplex RT-PCR		
	Positive	Negative	Total
IgM anti-HAV Positive	27	1	28
Negative	7	149	156
Total	34	150	184

Kappa value: 0.845,  $P < 0.01$ .

Abbreviations: HAV, hepatitis A virus; RT-PCR, real-time PCR.

남자는 93명(50.5%), 여자는 91명(49.5%) 참여하였다. 대상들의 평균 AST는  $483.81 \pm 94.30$  (IU/L), ALT는  $417.52 \pm 90.0$  (IU/L), 총 빌리루빈은  $1.88 \pm 0.27$  (mg/dL), 직접빌리루빈은  $1.26 \pm 0.20$  (mg/dL)이었다(Table 1). 진료과를 살펴보면 소화기내과가 가장 많았고 류마티스내과, 신경과, 응급의학과 순으로 나타났다.

혈청학적 방법으로 검사한 결과 각 검사의 양성률은 IgM anti-HAV 15.2% (28/184), HBsAg 13.6% (25/184), anti-HCV 8.2% (15/184)로 나타났다.

같은 환자의 검체를 Magicplex로 검사한 결과 각 검사의 양성률은 HAV 18.5% (34/184), HBV 16.3% (30/184), HCV 4.3% (8/184)로 나타났다(Tables 2-4).

두 방법 간의 일치율은 A형 간염의 경우 95.7% (176/184), 결과 판정의 일치측도  $\kappa$ 는 0.845 ( $P < 0.01$ )로 나타났으며 B형 간염의 일치율은 97.3% (179/184), 결과 판정의 일치측도  $\kappa$ 는 0.893 ( $P < 0.01$ )이었다. C형 간염의 일치율은 96.2% (177/184), 결과 판정의 일치측도  $\kappa$ 는 0.677 ( $P < 0.01$ )이었다.

기존의 혈청학적 검사들과 불일치한 경우는 총 20건이었다. A형 간염은 혈청학적 검사 양성, Magicplex 음성인 경우가 1예였으며 Magicplex 양성, 혈청학적 검사 음성인 경우는 7예였다. B형 간염은 혈청학적 검사 양성, Magicplex 음성인 경우는 없었고 Magicplex 양성, 혈청학적 검사 음성인 경우가 5예였다. C형 간염은 Magicplex 양성, 혈청학적 검사 음성인 예는 없었고 혈청학적 검사 양성, Magicplex 음성인 경우가 7예였다(Table 5).

**Table 3.** Comparison of serum HBsAg and Magicplex RT-PCR results of HBV in 184 patients

HBV	Magicplex RT-PCR		
	Positive	Negative	Total
HBsAg Positive	25	0	25
Negative	5	154	159
Total	30	154	184

Kappa value: 0.893,  $P < 0.01$ 

Abbreviations: HBV, hepatitis B virus; RT-PCR, real-time PCR.

**Table 4.** Comparison of serum anti-HCV and Magicplex RT-PCR results of HCV in 184 patients

HCV	Magicplex RT-PCR		
	Positive	Negative	Total
Anti-HCV Positive	8	7	15
Negative	0	169	169
Total	8	176	184

Kappa value: 0.677,  $P < 0.01$ 

Abbreviations: HCV, hepatitis C virus; RT-PCR, real-time PCR.

## 고 찰

현재 대부분의 병원에서 간염바이러스 검사를 일상적인 선별검사로 사용하고 있지 않으며 증상이 있고 질환이 의심되는 환자에 한정하여 시행하고 있다. A형, B형, C형 간염 모두 유병률이 높고 심각한 결과를 초래할 수 있음에도 불구하고 선택적으로 검사를 시행하므로 잠복감염이나 무증상감염을 발견하지 못하는 경우가 있다. 또한 요즘 증가하고 있는 중복감염을 놓칠 가능성도 있다. 중복감염은 발생 시 단독감염에 비해 심각한 간질환과 간암을 유도하고, 예후가 좋지 않다는 연구결과들[13-15]이 발표된 바 있다. 따라서 무증상 환자를 조기에 발견할 수 있는 진단법이 필요한 시점이므로 분자생물학적 방법으로 A형 간염, B형 간염, C형 간염 검사를 한번에 시행할 수 있는 Magicplex의 평가는 시의적절했다고 생각된다.

본 연구결과에서 기존의 혈청학적 검사와 Magicplex 일치율은 모두 95% 이상으로 비교적 높게 나타났다. 기존의 혈청학적 검사들과 불일치한 경우를 상세히 살펴보면 A형 간염의 경우 혈청학적 검사 양성, Magicplex 음성인 경우가 1예, Magicplex 양성, 혈청학적 방법 음성인 경우가 7예였다.

혈청학적 검사 양성, Magicplex 음성인 경우는 처음 방문한 병원에서 급성 A형 간염으로 진단 받고 치료를 받던 중 증세가 호전되지 않아 내원한 환자로 지속적으로 약물을 투여하고 있는 상태였다(환자 1). 처음 진단 당시 AST/ALT가 3,615/3,000이었으나 내원 당시 AST/ALT는 182/827로 감소되어 있었다. 위와 같은 결과는 Anti-HAV의 경우 약 4-6주 가량 지속되어 혈청학적 방법으로 검출

Table 5. Discrepant results between serologic test and Magicplex RT-PCR

Pt.	Serologic test			Magicplex RT-PCR			Clinical information	
	IgM anti-HAV	HBsAg	Anti-HCV	HAV	HBV	HCV	Final diagnosis	Others
1	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	Acute hepatitis A	Hepatitis medication
2	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	Acute hepatitis A	IgM anti-HAV(+) on repeat serologic test
3	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	Acute hepatitis A	IgM anti-HAV(+) on repeat serologic test
4	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	Acute hepatitis A	IgM anti-HAV(+) on repeat serologic test
5	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	Acute hepatitis A	IgM anti-HAV(+) on repeat serologic test
6	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	HCC due to hepatitis B	Radiation therapy
7	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	Known chronic hepatitis C	HCV genotype: Type 1b in 2010
8	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	R/O Acute hepatitis A	Further evaluation was impossible
9	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	Operation for paravalvular leakage	HBsAb: 210.5 mIU, AST/ALT (35/14)
10	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	Acute laryngitis	HBsAb: 10.4 mIU, AST/ALT (27/34)
11	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	Traumatic pneumothorax	HBsAb: > 1,000.0 mIU, AST/ALT (14/11)
12	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	Acute hepatitis A	HBsAb: 851 mIU, AST/ALT (506/2910)
13	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	R/O Toxic hepatitis	HBsAb: < 2.0 mIU, AST/ALT (723/745)
14	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	HCC due to hepatitis C	HCV genotype: Type 2a in 2011
15	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	Hepatic encephalopathy d/t hepatitis C	HCV genotype: Type 2a in 2009
16	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	End-stage renal disease	Anti-HCV(+) in 2010
17	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	End-stage renal disease	Anti-HCV(+) in 2004
18	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	End-stage renal disease	Anti-HCV(-) in 2007
19	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	Unstable angina	Anti-HCV(+) in 2010
20	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	For medical examination	Anti-HCV(+) in 2010

Abbreviations: RT-PCR, real-time PCR; Pt, patient; HAV, hepatitis A virus; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; HCC, hepatocellular carcinoma.

이 되었으나 HAV의 경우 치료 약제의 복용으로 인해 사멸하여 Magicplex로 검사 시 음성으로 나온 것으로 추측된다.

Magicplex에서 HAV가 검출되었으나 혈청학적 검사 음성인 7예 중 4예는 임상적으로 A형 간염이 강력히 의심되었던 환자로 혈청학적 검사에서 음성이 나온 후 시행한 추가검사에서 양성으로 확인되었다(환자 2-5). Lee 등[16]은 2008년 시행한 연구에서 내원 당시 IgM anti-HAV가 음성이었으나 추적 검사에서 양성으로 판정되어 A형 간염으로 진단된 경우가 6.7% 있었다고 보고했고, Hirata 등[17]도 임상적으로 A형 간염이 강력히 의심될 경우 1-2주 후 재검하면 대부분에서 혈청 전환을 확인할 수 있었다는 보고를 한 것으로 보아 위의 4예의 경우는 실질적으로 두 검사간의 결과가 일치했다고 판단된다. 나머지 3예 중 2예는 다른 종류의 간염으로 진단 받은 과거력이 있는 환자로 1예는 B형 간염으로 인한 간세포암 환자였고(환자 6), 1예는 C형 간염으로 치료 받은 환자였다(환자 7). 불일치를 보인 2예의 경우 중복감염을 Magicplex가 민감하게 검출했을 가능성도 있지만 primer가 다른 종류의 간염바이러스와 반응하여 위양성을 보였을 가능성을 배제할 수 없다. 이에 대하여 이번 연구를 통해서도 밝힐 수 없었으며 추가 연구가 필요한 부분이라고 판단된다. 나머지 1예는 임상양상으로 급성간염이 강력히 의심되었으나 추가 진료를 받지 않아 재검이 불가능하였다(환자 8).

B형 간염은 혈청학적 검사 양성, Magicplex 음성인 예는 없었고 Magicplex 양성, 혈청학적 검사 음성인 경우가 5예였다. 5예 중 3예

는 급성간염에 해당하는 증상 없이 다른 주소로 내원하여 치료받던 환자로 HBsAg 음성이었으나 Magicplex에서 HBV가 검출되었다(환자 9-11). 간염을 의심할 만한 임상 증상이 없었고 다른 검사 결과도 간염을 의심하기 힘들어 Magicplex의 위양성 가능성이 높으나 환자 10의 경우 anti-HBs가 낮은 것으로 보아 잠복감염을 배제할 수 없다. 급성간염의 증상을 보인 2예 중 1예는 IgM anti-HAV가 검출되어 급성 A형 간염 진단 하에 치료받은 환자로 다른 종류의 간염바이러스와 교차 반응하여 위양성을 보였을 가능성이 있다(환자 12). 마지막 1예는 급성간염의 혈청학적 지표들이 모두 음성으로 판명되어 독성간염 의심 하에 치료받았다(환자 13). 독성 간염 의심 하에 치료받은 환자가 연구 기간 내 추가로 혈청학적 검사를 시행하지 않아 Magicplex의 위양성 여부는 확인할 수 없었다. 우리나라를 포함한 B형 간염 만연지역과 감염의 예방을 위해 예방접종을 시행하는 지역에서는 vaccine escape mutant가 증가할 가능성이 높다는 연구 결과와[18] 혈청학적 방법은 사용 시약에 따라 돌연변이를 검출하지 못한다는 연구결과[19]가 보고된 적이 있고 B형 간염 보균자의 혈중에 검사법의 검출한계보다 낮은 농도로 표면항원이 존재할 경우 역시 검출하지 못한다는 연구결과들[20, 21]을 종합해보면 전반적으로 Magicplex의 위양성 가능성이 높다고 생각되나 Magicplex의 민감도가 높아 미량의 바이러스를 검출했을 가능성을 배제할 수 없다고 판단된다.

C형 간염은 Magicplex 양성, 혈청학적 검사 음성인 예는 없었고



혈청학적 검사 양성, Magicplex 음성인 경우가 7예이다. 각각 살펴보면 7예 중 2예는 간질환과 연관이 있었는데 1예는 간세포암종과 열로 수술을 받은 환자(환자 14)였고 나머지 1예는 간경화로 인한 간성뇌증으로 입원한 환자였다(환자 15). 간세포암종으로 진단받은 환자는 동시에 실시한 HCV 정량검사서 256 IU/mL, 유전형은 2a로 밝혀져 Magicplex의 위음성으로 판정했고 간성뇌증으로 입원한 환자는 1년 전 시행한 HCV 정량검사 결과가 218 IU/mL, 유전형 2a로 나타나 위음성의 가능성이 높은 것으로 판단되지만 추가 검사를 시행하지 않아 정확한 판단은 어렵다. 나머지 5예는 간질환과 무관한 증상으로 내원한 환자로 그 중 3예는 투석환자(환자 16-18)이고 1예는 심장질환(환자 19), 1예는 건강검진으로 내원한 경우였다(환자 20). 이러한 결과들의 원인은 크게 세 가지로 추측된다. 첫째로 Magicplex의 위음성 가능성을 생각할 수 있다. 혈청학적 검사는 바이러스 자체나 그 항원을 검출하는 것이 아니고 anti-HCV 항체를 탐지하는 방법이므로 현재 체내에서 증식이 일어나지 않는 과거 감염일 경우 C형 간염바이러스의 활동상태가 아니므로 HCV RNA가 검출되지 않을 가능성[22]이 있다. 2007년 시행된 한 연구[1]에서는 심지어 급성 C형 간염조차 40%는 진단 당시 HCV RNA를 검출할 수 없었다고 보고한 바 있다. 두 번째 혈청학적 검사로 측정된 anti-HCV의 위양성 가능성을 생각해볼 수 있다. 위양성의 원인으로 항원 제조과정에서 발생한 오염원과 재조합 항원이 비특이적 부위에 결합하는 혈청 내 비특이 항체 등을 고려할 수 있다[23]. 기존의 다른 연구들[7, 24]에서도 이번 실험 결과와 비슷한 수준의 위양성률을 보이는 것으로 보아 근본적으로 존재하는 혈청학적 검사의 위양성이 이번 실험에서도 영향을 미쳤을 가능성이 있다고 추측된다.

마지막으로 생각할 수 있는 원인은 한랭글로불린의 영향이다. Thiel 등[25]은 C형 간염바이러스 양성 간질환자에서 한랭글로불린에 의해 PCR 결과가 위음성으로 나오는 경우에 대한 보고를 한 바 있다. 이번 실험에서 혈청학적 검사는 검체 채취 후 바로 시행되었으나 Magicplex로 검사하기까지 최장 4개월 간 -70°C에서 보관하는 과정에서 한랭글로불린의 영향을 받아 검사 시 위음성을 보였을 가능성이 있다고 생각된다.

본 논문은 후향적 논문이므로 재검이나 추가검사가 불가능하다는 제한점이 있다. 또한 혈청학적 검사와 Magicplex를 이용한 검사를 동시에 진행하지 못하고 시간차를 두고 검사하여 완벽하게 동일한 조건을 유지하지 못한 점도 이번 연구의 한계점이라 할 수 있다.

결론적으로 Magicplex는 기존의 검사와 일치율이 비교적 높으나 각종 간염바이러스 간의 교차 반응 가능성과 C형 간염바이러스 검출의 위음성 가능성이 명확히 규명되지 않아 아직까지 기존의 혈청학적 방법을 완전히 대체하기는 힘들다고 판단된다. 하지만

분자생물학적 검사법의 단점인 검체 처리 및 검사 방법의 어려움이 자동화로 인해 편리해졌고 무엇보다 세가지 형태의 간염바이러스를 한번에 검출할 수 있는 장점이 있기 때문에 대규모 연구를 시행해 명확하지 않은 부분에 대해 규명한다면 Magicplex를 선별검사로 사용할 수 있을 것이라 생각된다.

## 요 약

**배경:** 간염은 여러 가지 원인으로 생길 수 있지만 가장 중요한 원인은 만성 간질환을 유발할 수 있는 간염 바이러스이다. 지금까지 간염을 진단하기 위해서 A형 간염바이러스 IgM 항체(IgM anti-HAV), B형 간염 표면항원검사(HBsAg), 항-C형 간염 바이러스 항체(anti-HCV)를 각각 혈청학적 방법으로 검사해야 했으나 분자생물학적 방법으로 세 가지 검사를 한번에 시행할 수 있는 Magicplex HepaTrio Real-time PCR (Seegene, Seoul, Korea, 이하 Magicplex)이 개발되어 저자는 그 성능을 평가하고자 하였다.

**방법:** 본원에서 IgM anti-HAV, HBsAg, anti-HCV 검사를 동시에 시행한 총 184명의 환자를 후향적으로 조사하였다. IgM anti-HAV, HBsAg, Anti-HCV 측정은 모두 전기화학발광 면역측정법(electrochemiluminescence immunoassay)을 이용한 Roche Modular Analytics E170 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)을 사용했으며 기존의 혈청학적 방법과 Magicplex의 양성률과 일치율을 분석하였다.

**결과:** 총 184개의 검체를 분석한 결과 IgM anti-HAV, HBsAg, anti-HCV의 양성률은 각각 15.2% (28/184), 13.6% (25/184), 8.2% (15/184)로 나타났다. Magicplex로 검사한 결과 HAV 양성률은 18.5% (34/184), HBV 양성률은 16.3% (30/184), HCV 양성률은 4.3% (8/184)로 나타났고 두 방법 간의 일치율은 A형 간염 95.7% (176/184), B형 간염 97.3% (179/184), C형 간염 96.2% (177/184)로 나타났다.

**결론:** 새로이 개발된 Magicplex는 기존의 혈청학적 검사법과 95% 이상의 일치율을 보였다. 그러나 각종 간염바이러스 간의 교차 반응 가능성과 C형 간염바이러스 검출의 위음성 가능성이 명확히 규명되지 않아 아직까지 혈청학적 방법을 완전히 대체하기는 힘들다고 판단된다. 그럼에도 불구하고 기존의 분자생물학적 검사법의 단점인 검체 처리 및 검사 방법의 어려움이 자동화로 인해 편리해졌으므로 위의 문제점을 보완한다면 Magicplex를 선별검사로 사용해도 좋을 것이라 생각된다.

## 감사의 글

연구를 위하여 도움을 주신 (주)씨젠 측에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Kang HM, Jeong SH, Kim JW, Lee D, Choi CK, Park YS, et al. Recent etiology and clinical features of acute viral hepatitis in a single center of Korea. *Korean J Hepatol* 2007;13:495-502.
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. Pawlotsky JM. Therapy of hepatitis C: from empiricism to eradication. *Hepatology* 2006;43(S1):S207-20.
4. Shin HR, Kim JY, Kim JI, Lee DH, Yoo KY, Lee DS, et al. Hepatitis B and C virus prevalence in a rural area of South Korea: the role of acupuncture. *Br J Cancer* 2002;87:314-8.
5. Shin HR, Kim JY, Ohno T, Cao K, Mizokami M, Risch H, et al. Prevalence and risk factors of hepatitis C virus infection among Koreans in rural area of Korea. *Hepatol Res* 2000;17:185-96.
6. 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.
7. Kee SJ, Shin JH, Suh SP, Ryang DW. Discrepancy between serological markers of enzyme immunoassay and results of polymerase chain reaction for hepatitis B and C viruses in patients with chronic liver diseases. *Korean J Clin Pathol* 1996;16:965-78.
8. Hsu HH, Gonzalez M, Fong SK, Feinstone SM, Greenberg HB. Antibodies to hepatitis C virus in low-risk blood donors: implications for counseling positive donors. *Gastroenterology* 1991;101:1724-7.
9. Sugitani M, Inchauspé G, Shindo M, Prince AM. Sensitivity of serological assays to identify blood donors with hepatitis C viraemia. *Lancet* 1992;339:1018-9.
10. Pramoolsinsap C. Acute hepatitis A and acquired immunity to hepatitis A virus in hepatitis B virus (HBV) carriers and in HBV- or hepatitis C virus-related chronic liver diseases in Thailand. *J Viral Hepat* 2000;7(S1):S11-2.
11. Chu CM, Liaw YF. Increased incidence of fulminant hepatic failure in previously unrecognized HBsAg carriers with acute hepatitis independent of etiology. *Infection* 2005;33:136-9.
12. Kim YK, Kim BH, Jin ES, Nam KD, Jang JY, Kim NH, et al. Positive predictability and predictive factors of the third generation anti-hepatitis C virus (HCV) ELISA test for HCV infection. *Korean J Gastroenterol* 2005;45:181-8.
13. Liaw YF. Role of hepatitis C virus in dual and triple hepatitis virus infection. *Hepatology* 1995;22:1101-8.
14. Buxton JA and Kim JH. Hepatitis A and hepatitis B vaccination responses in persons with chronic hepatitis C infections: A review of the evidence and current recommendations. *Can J Infect Dis* 2008;19:197-202.
15. Raimondo G, Cacciato G, Saitta C. Hepatitis B virus and hepatitis C virus co-infection: additive players in chronic liver disease. *Ann Hepatol* 2005;4:100-6.
16. Lee EJ, Kwon SY, Seo TH, Yun HS, Cho HS, Kim BK, et al. Clinical features of acute hepatitis A in recent two years. *Korean J Gastroenterol* 2008;52:298-303.
17. Hirata R, Hoshino Y, Sakai H, Marumo F, Sato C. Patients with hepatitis A with negative IgM-HA antibody at early stages. *Am J Gastroenterol* 1995;90:1168-9.
18. Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. *J Clin Virol* 2005;32:102-12.
19. Koyanagi T, Nakamura M, Sakai H, Sugimoto R, Enjoji M, Koto K, et al. Analysis of HBs antigen negative variant of hepatitis B virus: unique substitutions, Glu129 to Asp and Gly145 to Ala in the surface antigen gene. *Med Sci Monit* 2000;6:1165-9.
20. Jilg W, Sieger E, Zachoval R, Schätzl 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. *J Hepatol* 1995;23:14-20.
21. Coleman PF, Chen YC, Mushahwar IK. Immunoassay detection of hepatitis B surface antigen mutants. *J Med Virol* 1999;59:19-24.
22. Mosley JW, Aach RD, Hollinger FB, Stevens CE, Barbosa LH, Nemo GJ, et al. Non-A, non-B hepatitis and antibody to hepatitis C virus. *JAMA* 1990;263:77-8.
23. Hur M, Kang HJ, Kang SH, Lee KM. Evaluation of ADVIA Centaur HCV Assay for the Detection of Hepatitis C Virus Antibody: A Comparison Study with AxSYM HCV Version 3.0 Assay. *Korean J Lab Med* 2005;25:181-5.
24. Francois M, Dubois F, Brand D, Bacq Y, Guerois C, Mouchet C, et al. Prevalence and significance of hepatitis C virus (HCV) viremia in HCV antibody-positive subjects from various populations. *J Clin Microbiol* 1993;31:1189-93.
25. Van Thiel DH, Fagioli S, Caraceni P, Wright HI, Nadir A, Gavalier JS, et al. Cryoglobulinemia: a cause for false negative polymerase chain reaction results in patients with hepatitis C virus positive chronic liver disease. *J Hepatol* 1995;22:464-7.