

## 국가 표준물질을 이용한 B형 간염 검사 시약 간의 결과 비교

서울아산병원 핵의학과

이영지 · 심성재 · 백송란 · 서미혜 · 유선희 · 조시만

### The Comparison of Results Among Hepatitis B Test Reagents Using National Standard Substance

Young Ji Lee, Seong Jae Sim, Song Ran Back, Mee Hye Seo, Seon Hee Yoo and Shee Man Cho

Department of Nuclear Medicine, Asan Medical Center, Seoul, Korea

**Purpose:** Hepatitis B is infection caused by Hepatitis B virus (HBV). Currently, there are several methods, Kits and equipments for conducting Hepatitis B test. Due to ununiformed methods, it would cause some differences. To manage these differences, it needs process evaluating function of test system and reagent using particular standard substance. The aim of this study is to investigate tendency of RIA method's reagent used in Asan Medical Center through comparing several other test reagents using national standard substance. **Materials and Methods:** The standard substance in National Institute of Food and Drug Safety Evaluation's biology medicine consists of 5 things, 4 antigens and 1 antibody. We tested reagents using A, B company's Kits according to each test method. All tests are measured repeatedly to obtain accurate results. **Results:** Test result of "HBs Ag Mixed titer Performance panel" is obtained match rate compared S/CO unit standard with RIA method and EIA 3 reagents, CIA 2 reagents is that company A's reagent is 94.4% (17/18), 83.3% (15/18), B is 88.9% (16/18), 77.8% (14/18). Test result of "HBs Ag Low titer Performance panel" is obtain that EIA 2 reagents is shown 7 positive results, CIA 3 reagents is 11, and RIA method's company A's reagent is 3, B is 2 of 13 in low panel. "HBV surface antigen 86.76 IU/vial" tested dilution. A is obtain positive results to 600 times(0.14 IU/mL), B is 300 times (0.29 IU/mL). Case of "HBV human immunoglobulin 95.45 IU/vial", A is shown positive result to 10,000 times (9.5 mIU/mL) and B is 4,000 times (24 mIU/mL). Test result of "HBs Ag Working Standards 0.02~11.52 IU/mL" is shown that Company A's kit concentration level was 0.38IU/mL, company B was 2.23 IU/mL and higher level of concentration was positive results. **Conclusion:** When comparing various test reagents and RIA method according to National Standard substances for Hepatitis B test, we recognized that there were no significant trends between reagents. For hepatitis B virus antigen-antibody titers even in parts of the test up to 600 times the antigen, antibodies to 10,000 times the maximum positive results could be obtained. Therefore, we confirmed that results from Asan Medical Center are performed smoothly by reagents and system for hepatitis B virus test. (Korean J Nucl Med Technol 2010;14(2):203-207)

**Key Words :** Hepatitis B virus, RIA, EIA, CIA, National standard substances

## 서 론

B형 간염은 B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus ; HBV)

- Received: September 3, 2010. Accepted: September 24, 2010.
- Corresponding author: Young Ji Lee  
Department of Nuclear Medicine, Asan Medical Center, 388-1  
Pungnap-dong, Songpa-gu, Seoul, 138-736 Korea  
Tel: +82-2-3010-4577, Fax: +82-2-3010-4588  
E-mail: yjlee87@yahoo.co.kr

에 의해 일어나는 염증성 간질환으로 감염자의 혈액 등 체액을 통해 감염 된다. 전 세계 3억 이상의 인구가 만성 B형 간염바이러스 보균자이며, 이로 인한 만성간염·간경변·간암으로 연간 100만명 정도가 사망하고 있는 중요한 관리 대상이 되는 질환 중의 하나이다. 우리나라 B형 간염 바이러스의 유병률은 7~8%로 미국이나 일본 등 다른 선진국에 비하여 2~6배나 되는 실정이다. 이만큼 B형 간염바이러스는 우리나라에서 가장 크게 문제가 되는 바이러스로 B형 간염 검사

를 일반화하여 필수적으로 실시하는 것이 매우 중요하다.

B형 간염 검사는 현재 여러 가지 검사 방법과 여러 종류의 Kit, 장비로 시행되고 있으며 이에 따라 검사 결과간의 차이가 있을 수 있게 되며 관리가 필요하다. 이러한 차이를 관리하기 위해서는 특정 표준물질을 이용하여 검사시약, 검사시스템의 성능을 평가하는 과정이 필요하다. 따라서 본 연구의 목적은 B형 간염 검사 국가 표준물질을 이용하여 RIA법 시약과 여러 다른 검사법 즉 EIA, CIA법 시약의 비교 실험을 통해 검사 시약과 검사 시스템의 성능 평가와 더불어 정확한 결과 보고가 이루어 지고 있는지를 알아 보는데 있다.

## 실험대상 및 방법

### 1. 실험대상

실험에 사용된 B형 간염 검사에 대한 식품의약품안전평가원의 생물약품 국가 표준물질은 총 5가지로 구성되어 있으며 그 내용물은 다음과 같다.

“B형 간염 바이러스 표면 항원 (혼합농도패널)”

“B형 간염 바이러스 표면 항원 (저농도 패널)”

“B형 간염 바이러스 표면 항원 86.76 IU/vial”

“B형 간염 사람 면역글로불린 95.45 IU/vial”

“B형 간염 바이러스 표면 항원 표준물질 0.02~11.52 IU/mL”

### 2. 실험구성

위에서 소개한 B형 간염 국가 표준 물질은 4가지의 항원 물질과 1가지의 항체물질로 구성되어 있다. B형 간염 바이러스 표면 항원 혼합 농도 패널과 저농도 패널 두가지 항원 물질은 각각 18개의 panel과 13개의 panel로 이루어져 있다. 이에 해당하는 EIA, CIA법 시약에 대한 결과 데이터가 주어졌으며, 이를 RIA 법 시약 실험 결과와 비교해 보고자 한다. B형 간염 바이러스 표면 항원 86.76 IU/vial와 B형 간염 사람 면역글로불린 95.45 IU/vial은 saline과 negative standard를 희석액으로 역가 시험을 통해 어느 농도까지 검출 되는지 알아보고자 한다. 마지막으로 B형 간염 바이러스 표면 항원 표준물질은 국가표준원 에서 명시해준 0.02~11.52 IU/mL 농도 범위에 해당하는 10가지 물질로 앞에 희석검사를 통해 얻은 RIA법 cut off 치와 비교하여 그 결과가 일치하는지를 알아보고자 한다. 이 모든 구성을 본원에서 사용하고 있는

RIA법 A사, B사 두 종류의 시약으로 각각 검사 방법에 따라 실험하였으며 보다 정확한 결과를 산출하기 위해 위의 모든 실험은 반복 측정하였다.

### 3. 측정방법

#### 1) A사 HBs Ag측정 방법

- ① Standard, control, sample 200  $\mu$ L에 HBs 항체가 피복된 Bead를 1개씩 넣은 뒤 45 $^{\circ}$ C air incubation 에서 90분 동안 반응시킨다.
- ② D.W 2회 washing 후  $^{125}$ I가 표지된 HBs 항체를 200  $\mu$ L 씩 분주한다.
- ③ 다시 45 $^{\circ}$ C air incubation에서 90분 동안 반응시킨다.
- ④ D.W 2회 washing 후 감마선 계측기로 1분 동안 계측한다.

#### 2) A사 HBs Ab측정 방법

- ① Standard, control, sample 200  $\mu$ L에 HBs 항원이 피복된 Bead를 1개씩 넣은 뒤 45 $^{\circ}$ C air incubation 에서 60분 동안 반응시킨다.
- ② D.W 2회 washing 후  $^{125}$ I가 표지된 HBs 항원을 200  $\mu$ L 씩 분주한다.
- ③ 다시 45 $^{\circ}$ C air incubation에서 60분 동안 반응시킨다.
- ④ D.W 2회 washing 후 감마선 계측기로 1분 동안 계측한다.

#### 3) B사 HBs Ag측정 방법

- ① HBs 항체가 피복된 tube에 Standard, control, sample 100  $\mu$ L을 분주한다.
- ②  $^{125}$ I가 표지된 HBs 항체를 100  $\mu$ L을 분주한다.
- ③ 잘 mix한 다음 실온(18~25 $^{\circ}$ C)에서 200 rpm조건으로 90분 동안 반응 시킨다.
- ④ D.W 2회 washing 후 감마선 계측기로 1분 동안 계측한다.

#### 4) B사 HBs Ab측정 방법

- ① HBs 항원이 피복된 tube에 Standard, control, sample 50  $\mu$ L을 분주한다.
- ②  $^{125}$ I가 표지된 HBs 항원을 150  $\mu$ L을 분주한다.
- ③ 잘 mix한 다음 실온(18~25 $^{\circ}$ C)에서 200 rpm조건으로 90분 동안 반응 시킨다.
- ④ D.W 2회 washing 후 감마선 계측기로 1분 동안 계측한다.

## 결 과

### 1. B형 간염 바이러스 표면 항원(혼합농도패널)

다음 표는 항원 혼합농도패널 18가지에 대한 EIA, CIA 그리고 RIA법에 따른 결과를 S/CO 단위를 기준으로 비교한 것이다. S/CO가 1이상인 값이 양성이다.

전반적으로 동일한 결과를 보이고 있으며 차이를 보이는 부분은 1번 물질에서CIA법 Abbott사 시약은 양성 결과를 보이고 있는데 반해RIA법 시약에서는 음성 결과를 나타내고 있다. 그러나 EIA법 시약과 RIA법 A사 시약의 결과값은 100% 일치하는 것으로 보인다. RIA법과 EIA 시약 2종류와 비교한 일치율은 A사는100% (18/18) B사는 88.9% (16/18), CIA 시약 3종류와 비교한 일치율은 A사 83.3% (16/18), B사

Table1. B형 간염 바이러스 표면 항원(혼합농도패널) 결과 비교

Member	EIA		CIA		ECIA	RIA	
	Greencross Genedia HBsAg (S/CO)	Biorad Monolisa HBsAg ULTRA (S/CO)	Abbott Prism HBsAg (S/CO)	Abbott Architect HBs Ag (IU/mL/0.05)	Roche ELECSYS HBsAg (COI)	A 사 (S/CO)	B 사 (S/CO)
BTRI HBV/MP 1	0.7	1.8	1.76	1.2	1	0.51	0.38
BTRI HBV/MP 2	25.3	43	33.6	5000	567.3	118.01	18.47
BTRI HBV/MP 3	28.6	49.6	72.37	5000	6248.3	102.02	122.25
BTRI HBV/MP 4	1.8	5.2	4.31	2.8	1.9	1.21	0.76
BTRI HBV/MP 5	27.8	49.6	45.16	5000	3455.3	110.19	93.46
BTRI HBV/MP 6	25.2	42.9	16.32	5000	750.1	113.43	19.9
BTRI HBV/MP 7	4	6.2	9.33	6.8	2.8	6.56	3.97
BTRI HBV/MP 8	25.3	46.4	11.47	5000	877.5	123.28	23.38
BTRI HBV/MP 9	26.1	46.5	63.04	5000	768.8	127.28	20.61
BTRI HBV/MP 10	6.1	16	15.28	10.4	7.7	3.32	1.21
BTRI HBV/MP 11	0.3	0.7	0.05	0.4	0.6	0.45	0.82
BTRI HBV/MP 12	7.9	18.9	20.85	20.4	16.1	2.16	1.34
BTRI HBV/MP 13	10.6	15.8	29.67	20.6	9.1	4.75	1.51
BTRI HBV/MP 14	4.9	9	27.21	20	12.9	2.51	0.73
BTRI HBV/MP 15	25	43.4	22.81	5000	568.8	128.75	17
BTRI HBV/MP 16	5.9	13.4	12.67	8.8	5.1	6.52	2.46
BTRI HBV/MP 17	0.5	0.5	0.03	0.6	0.4	0.58	0.5
BTRI HBV/MP 18	0.5	0.7	1.3	1	0.6	0.34	0.5

Table 2. B형 간염 바이러스 표면 항원 (저농도패널) 결과 비교

Member	EIA	MEIA	CIA		ECIA	RIA	
	Behring HBsAg (S/CO)	Abbott AxSYM HBsAg (S/CO)	Abbott Prism HBsAg (S/CO)	Abbott Architect HBs Ag (IU/mL/0.05)	Roche ELECSYS HBsAg (COI)	A 사 (S/CO)	B 사 (S/CO)
BTRI HBV/LP 1	9.2	9.77	42.86	25.6	21.58	5.04	1.8
BTRI HBV/LP 2	0.85	0.78	2.26	1.2	1.46	0.51	0.59
BTRI HBV/LP 3	2.12	1.71	7.1	2.8	2.72	0.38	0.38
BTRI HBV/LP 4	1.86	1.33	3.45	1.6	1.65	0.6	0.58
BTRI HBV/LP 5	0.46	0.44	0.28	0.2	0.38	0.31	0.51
BTRI HBV/LP 6	3.94	1.86	8	3.4	3.49	0.72	0.6
BTRI HBV/LP 7	0.9	0.8	2.23	1	1.49	0.65	0.41
BTRI HBV/LP 8	1.41	1.38	4.67	2	2.93	1.08	0.56
BTRI HBV/LP 9	0.46	0.51	0.35	0.2	0.33	0.3	0.45
BTRI HBV/LP 10	0.47	1.78	4.73	3.4	1.11	0.47	0.45
BTRI HBV/LP 11	0.87	0.76	1.87	1	1.17	0.49	0.42
BTRI HBV/LP 12	3.16	1.95	7.48	4.6	3.84	0.94	0.85
BTRI HBV/LP 13	4.54	4.13	17.45	9.2	11.11	2.19	1.72

77.8% (14/18) 이다.

## 2. B형 간염 바이러스 표면 항원 (저농도 패널)

다음 표는 저농도 패널 13가지에 대한 EIA, CIA 그리고 RIA법 시약에 따른 결과를 S/CO 단위를 기준으로 비교한 것으로 S/CO 단위를 기준으로 1이상인 값이 양성이다.

EIA 2가지 시약은 7개, CIA 3가지 시약은 11개가 양성 결과를 보였으며, RIA 법 A사 Kit는 3개 B사 Kit는 2개에서 양성 결과를 보였다.

## 3. B형 간염 바이러스 표면 항원 86.76 IU/vial

“B형 간염 바이러스 표면 항원 86.76 IU/vial” 물질을 RIA 법 A사와 B사 시약을 가지고 saline와 negative standard 두 가지 희석액을 사용하여 희석 검사를 시행하였으며, 두 시약 모두 negative standard 보다 saline을 희석액으로 사용하였을 때 더 높은 민감도를 보였다. 10에서 10<sup>5</sup>까지 희석 검사를 시행한 결과 두 시약 모두 10<sup>2</sup>까지 양성 값을 얻었다. 보다 자세한 희석 검사를 위해 10<sup>2</sup>에서 10<sup>3</sup> 사이의 배수인 200~800 배 희석 검사를 시행하였으며 그 결과 A사 시약은 600배인 0.14 IU/mL까지, B사 시약은 300배인 0.29 IU/mL까지 양성 결과를 나타내었다. 참고로 HBs Ag 검사에 대한 CIA 법 cut off치는 0.05 IU/mL로 RIA법 A사 시약 보다 2~3배 정도 낮은 것으로 보이고 있다.

## 4. B형 간염 사람 면역글로불린 95.45 IU/vial

“B형 간염 사람 면역글로불린 95.45 IU/vial” 물질을 RIA 법 A사와 B사 시약으로 saline와 negative standard 두 가지 희석액을 사용하여 희석 검사를 시행하였다. 두 시약 모두

saline보다 negative standard를 희석액으로 사용하였을 때 더 높은 민감도를 보였으며 10에서 10<sup>5</sup>까지 희석 검사를 시행한 결과 A사 시약은 10<sup>4</sup>까지, B사 시약은 10<sup>3</sup>까지 양성 값을 얻었다. 보다 자세한 희석 검사를 위해 10<sup>3</sup>에서 10<sup>4</sup>사이의 배수인 2,000~8,000배 희석 검사를 시행하였으며 그 결과 A사 시약은 10,000배인 9.5 mIU/mL, B사 시약은 4,000배인 24 mIU/mL까지 양성 결과를 보였다.

## 5. B형 간염 바이러스 표면 항원 표준물질 0.02~11.52 IU/mL

B형 간염 바이러스 표면 항원 표준물질은 국가표준원에서 명시한 0.02~11.52 IU/mL 농도 범위에 대한 10가지 물질이다. 이를 RIA법 A사, B사 시약으로 실험한 결과 A사는 0.38 IU/mL 이상에서 양성 결과 얻었고 B사는 2.23 IU/mL 이상에서 양성 결과를 얻었다.

## 고찰 및 결론

B형 간염 검사에 대해 국가 표준물질을 이용하여 실험해 보았을 때 여러가지 검사법 시약과 RIA 법 시약의 결과값 경향이 동일한 성향으로 나타나고 있으며, B형 간염 항원, 항체에 대한 역가 시험의 부분에 있어서도 항원은 최대 600 배 (0.14 IU/mL), 항체는 최대 10,000 배(9.5 mIU/mL)까지 양성 결과를 얻을 수 있었다. 따라서 본원 핵의학과에서 시행하고 있는 RIA 방법을 통한 B형 간염 검사의 검사시약과 검사시스템은 원활한 성능으로 정확한 결과보고가 수행되고 있다고 판단된다. 하지만 저농도 패널에서 다른 검사법 시약과의 낮은 일치율은 위양성과 민감도의 측면에서 해결되어야 할 숙제로 보이며, 또한 동일한 RIA 방법 일지라도 Kit 간 민감도와 특이도의 격차는 계속해서 연구되고 개발되어야

Table 3. B형 간염 바이러스 표면 항원 표준물질 결과 비교

Member	국가표준품(IU/mL)	A 사(S/CO)	B 사(S/CO)
BTRI HBV/WS A	11.52	27.4	22.4
BTRI HBV/WS F	11.46	24.3	18.3
BTRI HBV/WS G	2.37	7.1	3.4
<b>BTRI HBV/WS B</b>	<b>2.23</b>	<b>7</b>	<b>3.7</b>
BTRI HBV/WS H	0.46	1.3	0.83
<b>BTRI HBV/WS C</b>	<b>0.38</b>	<b>1.2</b>	<b>0.78</b>
BTRI HBV/WS I	0.09	0.59	0.38
BTRI HBV/WS D	0.07	0.57	0.56
BTRI HBV/WS J	0.03	0.48	0.49
BTRI HBV/WS E	0.02	0.44	0.52

할 것으로 사료된다.

## 요 약

B형 간염은 B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus ; HBV)에 의해 일어나는 감염으로 B형 간염 검사는 현재 여러 가지 검사 방법과 여러 종류의 Kit, 장비로 시행되고 있는데, 이에 따라 검사 결과간의 차이가 있을 수 있다. 이러한 차이를 관리하기 위해서는 특정 표준물질을 이용하여 검사시약, 검사시스템의 성능을 평가하는 과정이 필요하다. 본 연구

는 B형 간염 검사 국가 표준물질을 이용하여 여러 다른 검사법 시약과 비교 실험을 통해

본원 핵의학과에서 사용하고 있는 RIA법 시약이 동일한 결과로 정확하게 수행되고 있는지를 알아보는데 있다.

실험에 사용된 B형 간염 검사에 대한 식품의약품안전평가원의 생물약품 국가 표준물질은 총 5가지로 항원물질 4가지와 항체물질 1가지로 구성 되어 있다. “B형 간염 바이러스 표면 항원(혼합농도패널)”, “B형 간염 바이러스 표면 항원 (저농도 패널)”, “B형 간염 바이러스 표면 항원 86.76 IU/vial”, “B형 간염 사람 면역글로블린 95.45 IU/vial”, “B형 간염 바이러스 표면 항원 표준물질 0.02~11.52 IU/mL”이며, 이를 본원에서 사용하고 있는 A사, B사 두 종류의 시약으로 각각 검사 방법에 따라 실험하였다. 보다 정확한 결과를 산출하기 위해 위의 모든 실험은 반복 측정하였다.

“B형 간염 바이러스 표면 항원 (혼합농도패널)”은 S/CO 단위를 기준으로 RIA법을 EIA 3가지 시약, CIA 2가지 시약과 비교한 일치율이 A사는 94.4%(17/18), 83.3%(15/18), B사는 88.9%(16/18), 77.8%(14/18)였다. “B형 간염 바이러스 표면 항원 (저농도 패널)”의 결과 EIA 2가지 시약은 7개, CIA 3가지 시약은 11개가 양성 결과를 보였고 RIA법 A사는 3개, B사는 2개가 양성 결과를 보였다. 희석검사를 시행한 “B형 간염 바이러스 표면 항원 86.76 IU/vial”에서는 A사 시약은 600배(0.14 IU/mL), B사 시약은 300배(0.29 IU/mL)까지 양

성 결과를 나타냈다. “B형 간염 사람 면역글로블린 95.45 IU/vial”의 경우에는 A사 Kit는 10,000배(9.5 mIU/mL), B사 Kit는 4,000배(24 mIU/mL)까지 양성 결과를 보였다. “B형 간염 바이러스 표면 항원 표준물질 0.02~11.52 IU/mL”에 대한 실험 결과 A사 시약은 0.38 IU/mL, B사 시약은 2.23 IU/mL 농도까지 검출하여 그 이상의 농도에서 양성 결과를 나타냈다.

B형 간염 검사에 대해 국가 표준물질을 통해 비교해 보았을 때 여러가지 검사법 시약과 RIA 법 시약의 결과값 경향이 동일한 성향으로 나타나고 있으며, B형 간염 항원, 항체에 대한 역가 시험의 부분에 있어서도 항원은 최대 600배(0.14 IU/mL), 항체는 최대 10,000배(9.5 mIU/mL)까지 양성 결과를 얻을 수 있었다. 따라서 본원 핵의학과에서 시행 하고 있는 RIA 방법을 통한 B형 간염 검사의 검사시약과 검사시스템은 원활한 성능으로 정확한 결과보고가 수행되고 있다고 판단된다. 하지만 저농도 패널에서 다른 검사법 시약과의 낮은 일치율은 위양성과 민감도의 측면에서 해결되어야 할 숙제로 보이며, 또한 동일한 RIA 방법 일지라도 Kit간 민감도와 특이도의 격차는 계속해서 연구되고 개발 되어야 할 것으로 사료된다.

## REFERENCES

1. Cho JH et al. Distribution of hepatitis B virus genotypes in Korea. Departments of Wonkwang Clinical Medicine Research Center, College of Medicine Wonkwang University, Seoul Clinical Laboratory Seoul Medical Science Ins, Seoul. Korea. 2009;15: 140-147
2. Weinberger KM et al, A novel deletion mutant of hepatitis B virus surface antigen, *J Med Virol* 1999;58(2):105-10
3. Hoofnagle JH, Shafritz DA, Popper H : Chronic type B hepatitis and the “healthy”HBs Ag carrier state. *Hepatology* 1987;7:758
4. Sharma R et al, Hepatitis B virus infection in pregnant women and its transmission to infants, *J Trop Pediatr* 1996;42(6):352-4
5. 서일택. 임상 핵의학 검사기술학. 제3판. 고려의학 2002;355-69