

B형 간염백신 ‘Hepa-Vax’ 접종후 항체검사시약 ‘Hepa-S’ kit의 정확도에 관한 연구

이화여자대학교 의과대학 예방의학교실

<지도 최 삼 섭 교수>

문 인 숙

= Abstract =

A Study on the Validity of “Hepa-S” Hepatitis B Antibody Detecting Reagent after Vaccination of “Hepa-Vax”

In Sook Moon, M.D.

Department of Preventive Medicine, Medical College, Ewha Womans University
(Directed by Professor Sam Sop Choi)

To attempt to measure the effect of domestic product P.H.A. kit “Hepa-S” after completion of “Hepa-Vax” vaccination schedule, P.H.A. test and R.I.A. test on the 330 healthy adults were carried out.

The results obtained were as follow;

1. The positive anti HBs rate after completion of “Hepa-Vax” vaccination were; in P.H.A. test with domestic product P.H.A. kit 81.2%, in P.H.A. test with foreign product P.H.A. kit 82.7%, and in R.I.A. test 95.8%
2. Using the result of R.I.A. test as the standard, sensitivity of P.H.A. test with domestic product P.H.A. kit was 84.8% and specificity was 100.0%
3. Using the result of R.I.A. test as standard, sensitivity of P.H.A. test with foreign P.H.A. kit was 86.4% and specificity was 100.0%.
4. The concordance rate of P.H.A. test with domestic product and foreign product kit was 98.5%.

On the result of this study, there was no significant difference in the validity between the domestic product P.H.A. kit “Hepa-S” and the foreign P.H.A. kit “Hebsgencell™”. So that it is recommendable to use domestic product P.H.A. kit instead of foreign product P.H.A. kit.

I. 서 론

B형간염은 세계적으로 분포되어 있으며 그 발생률이 높아, 세계인구중 약 2억이 B형간염바이러스 보유자로 추정되고 있을 뿐 아니라, 연간 5~10만명이 전

격성 B형간염으로 사망한다¹⁾고 보고되어 있다. 우리나라에만도 약 250만명²⁾이 B형간염 만성 보유자로 알려져 있다.

대부분의 B형간염 감염자들은 일정기간이 지나면 완전 회복되지만 감염자의 1%정도는 치명적인 전격성 간염으로 이행되고, 10~15%정도는 만성간염으로 이

행되어 간경화, 간암으로까지 발전한다고³⁾ 보고되고 있다.

간염이 전염한다는 사실은 8세기초 이미 Pope Saint Zacharias⁴⁾에 의해 기술된 바 있으며 금세기에 들어와 의학의 급진적인 발전과 함께 간염에 대한 임상적 경과, 감염경로 및 발병원인 등에 대한 연구가⁵⁻⁷⁾ 활발히 진행되어 왔다.

1964년 Blumberg에 의해 처음으로 B형간염 환자의 혈청에서 Australia 항원이 발견된⁸⁾ 후, 1968년 Prince에 의해 Australia 항원이 B형간염 바이러스의 지표(marker) 항원이라는 것이 설명되었다⁹⁾. 그 뒤부터 B형간염 바이러스의 항원항체계의 면역학적 측정법이 개발되어 B형간염 바이러스에 대한 개념과 병인론이 확립되었다.

간염의 예방목적으로, 간염백신의 사용가능성을 구체적으로 검토하게 된 것은 1971년 Krugman이 B형간염 감염혈청을 가열처리한 것을 New York 주의 Willowbrook 교의 정신박약아들에게 투여한 실험성적이 보고된¹⁰⁾ 후부터라고 본다. 그 뒤 1972년 Soulier가 HBsAg 양성혈청을 인체에 투여하여 능동면역을 시도해 항체를 생산시키는데 성공하였다¹¹⁾. 간염백신은 세포배양에 의한 증식이 불가능하기 때문에 백신제조에 필요한 HBsAg은 이를 함유하는 사람의 혈장에서 구하고 있다¹²⁾.

우리나라에서의 B형간염 바이러스 양성율은 3~7%로^{2, 13-15)} 보고하고 있는 바 이는 영국, 미국의 0.1% 및 일본의 2%¹⁶⁾에 비해 월등히 높아 이에 대한 예방책으로서 B형간염 백신접종은 중요한 의미를 지니고 있다고 할 수 있다. 우리나라에 있어서 B형간염 예방을 위한 백신은 그간 수입품에 의존하여 왔으나 1983년에 국산 B형간염백신이 개발됨에 따라 현재는 병용되고 있으며, 국산 B형간염백신의 효과에 대한 서등¹²⁾의 시험보고에 의하면 면역생성 능력에 있어 수입 B형간염백신에 비해 손색이 없는 것으로 보고되고 있다.

백신의 면역성은 혈중 간염항체 여부를 측정하여 판정하는데 대표적으로 HBsAb를 측정한다. 측정방법으로는 수동혈구응집법(passive hemagglutination, PHA)과 방사면역측정법(radioimmuno assay, RIA) 등이 있다. PHA 검사는 예민도와 특이도는 다소 떨어지나 검사가 신속, 간편하고 가격이 저렴한 반면, RIA 검사는 예민도와 특이도는 높으나 가격이 고가인 제약점이 있다. 그간 우리나라는 PHA 검사용 항체검출시약(PHA kit)을 외국 수입품에 의존하여 왔으며 최근 국내에서 PHA kit가 개발되었으나 아직 보급되

지 않고 있다. 수입 PHA kit와 국산 PHA kit의 사용방법과 제조과정은 동일하나 국산품으로 대체할 경우 원가절감의 효과를 볼 수 있으므로, 저자는 국산 B형간염백신 접종 후, 국산 PHA kit와 수입 PHA kit를 각각 사용하여 항체양성화율을 비교 분석해 볼으로써 국산 PHA kit 평가분석에 참고자료를 제공하고 국산품 보급에 도움을 주고자 본 연구를 시행하였다.

II. 연구대상 및 방법

A. 연구대상

이화여자대학교 교직원 중 B형간염 항원, 항체 모두 음성인 자로서 B형간염백신 접종을 완료한 330명을 본 연구대상으로 하였다. 백신접종 시작시점을 기준으로 하여 대상을 A군(282명: 1984년 7월 12일 1차 접종자)과 B군(48명: 1984년 8월 13일 1차 접종자)으로 구분하였다. 본 연구대상자 330명의 일반사항은 Table 1과 같다.

B. 연구방법

1) 백신접종 회수 및 접종방법: B형간염 항원, 항체 모두 음성인 자에 대하여 최초 접종(1회)후 1개월(2회) 및 6개월(3회) 기간을 두고 3회에 걸쳐 국산 B형간염백신 "Hepa-Vax" 1 ml(25 µg)씩을 상박부에 근육주사하였다(Table 2).

2) 항체검사용 채혈방법: 국산 B형간염백신을 3회에 걸쳐 접종받은 330명을 대상으로 하여 개별적으로 채혈 약속일시를 사전에 통보하고, 1985년 5월 13일부터 18일까지의 5일에 걸쳐 매일 평균 60명씩 채혈하였다. 혈액 가검물량 4 cc를 완전멸균된 5 cc 일회용 주사기를 사용하여 좌상박부 위에서 정맥 채혈하여 곧바로 채혈용 특수시험관(Green tube)에 옮겨 2시간내에 실험실에 운반하여 분리시킨 혈청을 -20°C로 냉동 보관하였다.

3) B형간염 항체검사: PHA 검사를 먼저 실시하여 음성인자에 대하여서는 RIA 검사를 추가로 실시하였다.

① PHA 검사: 가검물 330개에 대하여 B형간염 항체양성 여부를 측정하기 위하여 개별적으로 국산 PHA kit인 "Hepa-S"항체시약과 수입 PHA kit인 "Hebs-gencellTM"시약을 사용한 두가지 PHA로 각각 검사하였다.

항체측정 조작방법 및 과정은 다음과 같다. 먼저

Table 1. Sample distribution

Classification	A group*		B group**		Total		
	No.	%	No.	%	No.	%	
Sex	Male	134	47.5	11	22.9	145	43.9
	Female	148	52.5	37	77.1	185	56.1
	Total	282	100.0	48	100.0	330	100.0
Age	~30	32	11.3	4	8.3	36	10.9
	30~39	72	25.6	18	37.5	90	27.3
	40~49	115	40.8	15	31.3	130	39.4
	50~	63	22.3	11	22.9	74	22.4
	Total	282	100.0	48	100.0	330	100.0
Occupation	Instructor	70	24.8	20	41.7	90	27.3
	Office worker	212	75.2	28	50.3	240	72.7
	Total	282	100.0	48	100.0	330	100.0
	%	85.5		14.5		100.0	

* 접종완료후 4개월된 집단

** 접종완료후 3개월된 집단

Table 2. The schedule of vaccination and hepatitis B antibody test between groups

Classification	No.	Vaccination timing			Test timing
		first	second	third	
A group	282	1984(7.12)	1984(8.13)	1985(1.9)	1985(5.13)
B group	48	1984(8.13)	1984(9.14)	1985(2.8)	(5.17)

HBsAg이 감작되어 있는 양적혈구(Sheep RBC)에 phosphate buffered saline을 1~5ml 넣어 잘 섞은 후 실온에 보관해 둔다. microplate 각 well에 phosphate buffered saline에 넣어 1:16으로 희석시킨 검체와 보관중인 양적혈구를 섞어 2시간 실온에 세워 둔 후 대조군과 비교해 응집정도를 읽어 기록하였다.

② RIA 검사: 국산 PHA kit와 수입 PHA kit를 각각 사용한 두가지 PHA 검사에서 한가지라도 음성으로 나온 62개 검체에 대하여는 다시 RIA로 검사하였다. 항체측정 조작방법 및 과정은 다음과 같다.

1개의 항원이 부착된 bead에 검체를 반응시켜 8시간 세워둔 후, Trisbuffersolution으로 여러번 씻어 ¹²⁵I-HBsAg을 넣고 4시간 후에 반응한 bead를 7-scintillation counter를 이용하여 CPM(count per mim-

ute)을 측정하였다. 본 연구에선 대조군의 cut off value*가 176.4(cpm)이어서 176.4(cpm)이상인 경우 양성으로 판정하였다.

*cut off value

= (Negative control mean - Instrument background) × 2.1 + Instrument back-ground

(Nc \bar{x} ; 84)
(Pc \bar{x} ; 5243)

4) 연구성적에 대한 통계처리: 본연구에 있어서 대 상군, 성, 연령 및 면역형성기간을 독립변수로 택하였고 사용시약종류 및 검사방법을 종속변수로 하였다. 연구성적은 본연구 목적으로 제작한 조사카드에 백신의 효과 및 PHA kit별 검사성적을 정리 분석하였고, 이의 통계적 유의성 검정은 x²-test 법을 적용하였다.

C. 본 연구의 제한성

항체형성여부 검사에 있어서 비용관계로 대상자 모두에게 RIA 검사를 실시하지 않고 PHA 검사로 먼저 하여 음성인 경우에만 RIA 검사를 하였다. RIA 검사에서의 양성율 계산에 있어서 PHA 검사에서의 양성자는 모두 RIA 검사에서도 양성인 것으로 간주하였다. 이는 백신투여전에 이미 항체양성이었을 가능성을 배제할 수 없는 바 본 연구의 큰 제한점으로 사료되나 문헌고찰에서의 PHA와 RIA의 예민도를 추정해 볼 때 본 연구의 목적인 국산 PHA kit와 수입 PHA kit의 평가분석에는 큰 영향을 미치지 않았다고 생각된다.

III. 연구성적 및 고찰

A. 국산 PHA kit와 수입 PHA kit에 의한 항체 검사결과 일치율

국산 PHA kit와 수입 PHA kit에 의한 항체검사 결과 총 330명중, 325명이 일치하여 98.5%의 일치율을 보였다(Table 3).

B. 접종후 항체양성화율

국산 B형간염백신 "Hepa-Vax"를 접종한 대상 330명중 국산 PHA kit "Hepa-S"를 사용한 PHA 검사에서의 항체양성화율은 81.2%(268명)였으며, 수입 PHA kit "Hebsgencell™"을 사용한 PHA 검사에서의 항체양성화율은 82.7%(273명)로서 양자의 항체양성화율은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 본 연구에서 나타난 성적들은 이등¹⁷⁾이 보고한 수입 PHA kit에 의한 항체양성화율 80%, 서등¹²⁾이 보고한 RIA 검사에서의 항체양성화율 96%등과 비교하여 별 차이가 없었다.

C. 국산 PHA kit와 수입 PHA kit에 의한 항체 검사법의 정확도

RIA 검사결과를 기준으로 참값이라고 간주할 경우 국산 PHA kit를 사용한 항체검사법의 민감도는 84.8%, 특이도는 100.0%였으며, 수입 PHA kit를 사용한 항체검사법의 민감도는 86.4%, 특이도는 100.0%로 국산과 수입 PHA kit간에 나타난 차이에 통계적 유의성은 없었다(Table 4). 그러나 수입 PHA kit인 "Hebsgencell™"에 대한 조등¹⁸⁾의 연구결과인 민감도 93.7%, 특이도 93.7%와는 차이를 보였다.

Table 3. Comparison of the results of antibody test between domestic product P.H.A. kit and foreign product P.H.A. kit.

Classification	Foreign product P.H.A. kit		Total	
	+	-		
	No.	No.	No.	
Domestic product P.H.A. kit	+	268	0	268
	-	5	57	62
	T	273	57	330

* concordance; 98.5%

Table 4. Comparison of the results of hepatitis B antibody test between domestic product and foreign product

Primary	Second	R.I.A.		Total
		+	-	
		No.	No.	No.
Domestic product P.H.A. kit	+	268	0	268
	-	48	14	62
	T	316	14	330
Foreign product P.H.A. kit	+	273	0	273
	-	43	14	57
	T	316	14	330

D. 성별, 연령별 항체양성화 결과 비교

국산 B형간염백신 "Hepa-Vax"접종자에 대한 국산 PHA kit에 의한 항체양성전환결과를 성별로 보면 남자 79.3%(115명)였고 여자 82.7%(153명)으로 여자에 있어 다소 높게 나타나고 있으나 양군간의 차이에 통계적 유의성은 없었다.

RIA 검사에 의한 항체양성화결과, 남자 93.8%(136명)였고 여자 93.3%(185명)로 여자에 있어 다소 높은 양성화율을 보이고 있으나 양군간에 통계적 유의성은 없었다. 한편 RIA 검사에 의한 항체검사결과를 연령별로 보면 30세미만 연령군에서 97.1%(35명), 30~39세연령군에서는 100.0%(90명), 40~49세연령군에서는 93.8%(122명), 50세이상 연령군에서는 93.2%(69명)의 양성화율을 각각 보여 연령증가에 따라 다소 낮은

Table 5. Distribution of the results of Hepatitis B Antibody test between sex and age

Sex	Classification Age	Total		P.H.A.(domestic product)				R.I.A.			
				+		-		+		-	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Male	30 ↑	4	100.0	4	100.0	0	0.0	4	100.0	0	0.0
	30~39	35	100.0	31	88.6	4	11.4	35	100.0	0	0.0
	40~49	63	100.0	51	85.0	12	15.0	58	92.1	5	7.9
	50 ↓	43	100.0	29	67.4	14	32.6	39	90.7	4	9.3
	Total	145	100.0	115	79.3	30	20.7	136	93.8	9	6.2
Female	30 ↑	32	100.0	27	84.4	5	15.6	31	96.9	1	3.1
	30~39	55	100.0	51	92.7	4	7.3	55	100.0	0	0.0
	40~49	67	100.0	53	79.1	14	20.9	64	95.5	3	4.5
	50 ↓	31	100.0	22	71.0	9	29.0	30	96.8	1	3.2
	Total	185	100.0	153	82.7	32	17.3	180	97.3	5	2.7
Total	30 ↑	36	100.0	31	86.1	5	13.9	35	97.2	1	2.8
	30~39	90	100.0	82	91.1	8	8.9	90	100.0	0	0.0
	40~49	130	100.0	104	80.0	26	20.0	122	93.8	8	6.2
	50 ↓	74	100.0	51	68.9	23	21.1	69	93.2	5	6.8
	Total	330	100.0	268	81.2	62	18.8	316	95.8	14	4.2

P.H.A. $X^2=1.212$ $p>0.1$

R.I.A. $X^2=2.143$ $p>0.1$

Table 6. Distribution of the results of Hepatitis B Antibody between groups

Classification	Total		P.H.A.(domestic product)				R.I.A.			
			+		-		+		-	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
A Group	282	100.0	225	79.8	57	20.2	268	95.0	14	5.0
B Group	48	100.0	43	89.6	5	10.4	48	100.0	0	0.0
Total	338	100.0	268	81.2	62	18.8	316	95.8	14	4.2

P.H.A. $X^2=2.9$ $p>0.1$

R.I.A. $X^2=2.4$ $p>0.1$

양성화율을 나타내는 경향을 보였으나 각군간 양성화율차이에 통계적 유의성은 없었다(Table 5).

Philippe¹⁹⁾ 등은 20세이상 60세까지의 백신 접종후에 항체생산은 연령이나 성별에 의한 차이가 없다고 하였다.

E. 접종후 검사까지의 기간별 항체 양성화 결과 비교

국산 PHA kit에 의한 항체 양성화 결과는, A군에서 79.8%(225명), B군에서 89.6%(43명)로 B군이 높은 양성화율을 보였으나 그 차이에 통계적 유의성은

없었다. RIA 에 의한 항체양성화결과는 A군에서 95.0%(268명), B군에서 100.0%(48명)로 B군에서 높았으나 양군간의 양성화율차이에 통계학적 유의성은 없었다(Table 6). Szmunness 등²⁰⁾은 간염백신 접종완료후 3개월 경과시의 RIA 검사에 의한 항체 양성화율이 95%, 6개월 경과시의 항체양성화율이 96%, 9개월 경과시의 항체양성화율이 95%, 12개월 경과시의 항체양성화율이 92%로 보고한 바 있고 서동¹²⁾은 백신접종 완료 후 항체양성화율이 96%로 보고하였다. 본 시험은 3개월 및 4개월 경과시 항체양성화율을 측정함으로써 접종완료후의 항체양성화율에 대해서는 접종완료에 가까운 시기로부터 시기별로 더욱 자세한 시험을 시행하여 항체양성화율 변화곡선을 측정하여야 할 것으로 사료되었다.

IV. 결 론

국산 B형간염백신 "Hepa-Vax"접종완료후 국산 PHA kit "Hepa-S"의 정확성 여부를 알고자 건강한 성인 330명을 대상으로 연구한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) 국산 B형간염백신 "Hepa-Vax"를 3회 접종완료한자에 대한 국산 PHA kit를 사용한 PHA 검사에서 항체양성화율은 81.2%였으며, 수입 PHA kit를 사용한 PHA 검사에서 항체양성화율은 82.7%였다.

2) RIA 검사결과를 기준으로 참값이라고 간주할 경우, 국산 PHA kit를 사용한 항체검사법의 민감도는 84.8%, 특이도는 100.0%였다.

3) RIA 검사결과를 기준으로 참값이라고 간주할 경우, 수입 PHA kit를 사용한 항체검사법의 민감도는 86.4%, 특이도는 100.0%였다.

4) 국산 PHA kit 및 수입 PHA kit를 사용한 항체양성율화의 일치율은 98.5%였다.

본 연구결과, 두시약의 정확도에 있어서는 차이가 없는 것으로 평가되어 현재까지 사용되었던 수입 PHA kit를 가격이 저렴한 국산 PHA kit로 대체 사용함이 바람직하다고 사료된다.

참 고 문 헌

1) Maupas, P., Coursaget, P., Goudeau, A., Barin, F., Chiron, J.P. and Raynaud, B.: *Hepatitis B vaccine rationale, principles and applications in "Hepatitis B vaccine., Inserim symposium*

No. 18, Maupas, P. and Guersy, P. (Eds), Elsevier. North Holland Biomedical Press, 1981, p.3-11.

- 2) 김정룡: 한국인 의료종사자에 있어서의 간염 B형 항원 발현빈도. 대한내과학회잡지, 18:705-710, 1975.
- 3) Wolf Szmunness, M.D., Dr Sci: *Recent advances in the study of the epidemiology of hepatitis B. American J. of path. Vol. 81, No. 3 Dec, 1975.*
- 4) Migne, J.P.: *Ecclesiastia scriptores. Patrologiae 89:950, 1850.*
- 5) Cameron, J.D.S.: *Infective hepatitis Q.J. Med. 12:139, 1943.*
- 6) Rifkind, R.A., Morgan, C.: *The hepatitis viruses, the liver and its diseases. Edited by S.E. Bradley, Med. Clin. North Am., 47:779, 1963.*
- 7) Zuckerman, A.J.: *The multiple etiology of riral hepatitis. postgrad. Med. J., 47:776, 1971.*
- 8) Blumberg, B.S., Alter, H.J., Vinich, S.: *A new antigen in leukemic sera. JAMA. 191: 541, 1965.*
- 9) Prince, A.M.: *An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. Proc. Nat. Acad. Sci., 50:814, 1968.*
- 10) Krugman, S., Giles, J.P. and Hammond, J.: *Hepatitis virus; Effect of heat on the infectivity and antigenicity of the MS-1 and MS-2 strains. J. Infec. Dis., 122:432, 1970.*
- 11) Soulier, J.P. et al.: *Prevention of virus B hepatitis(SH-Hapatitis). Am. J. Dis. Child, 123:429, 1972.*
- 12) 서동진, 김진호, 최중호, 신광순, 김경호: *The Efficacy of Hepatitis B Vaccine.* 대한의학협회지, 제 26권 제 9호 p. 863, 1983.
- 13) 정환국, 김부성, 최제하, 기춘석: 한국에 있어서 hepatitis associated Ag.: 각종 간장질환에 있어서. 대한소화기병학회지, 3(2), 1971.
- 14) 김창균, 김정순: 일부 한국인의 Australia 항원 양성률에 대한 조사. 공중보건잡지, 11(1):59, 1974.

- 15) Kwon, H.H. and Suh, D.J.: *The changing pattern of occurrence of HBs Ag in Korean patients during the period of 5years. The Korean J. of internal medicine., Vol. 20, No. 5:423, 1977.*
- 16) Scott Mazzur: *Menstral blood as a vehicle of Australia Ag. transmission. Lancet, 1:749, 1973.*
- 17) 이응수, 정화순, 김춘원, 김인필 : 간염백신 주사 후 검사방법에 의한 B형간염 항체생성에 관한 비교 연구. 대한임상병리학회, 제 4권 제 1호 K.J. C.P. Vol. 4, No. 1, 1984.
- 18) 조한익 : *Result of Anti-HBs test(PHA kit 별), 1984(미발표)*
- 19) Phillippe Maupas, Alain, Goudeau, et al. : *Potency and efficacy of HB vaccine applied to a high risk population, Hepatitis B Vaccine, INSERH Symposium, No. 18, Elsevier, North Holland Biomedical Press, 1981.*
- 20) Wolf Szmunes, M.D., Cladd E. Stevens, M.D., Edward J. Harley M.S., Edith A. Zang, Ph.D., William R. Oleszko, Ph. D., Deniel C. William, M.D., Rocjard Sandovsky, M.D., John M Morrison and Aaron Kellner, M.D. : *Demonstration of efficacy in a controlled clinical trial in a High-Risk Population in the United States. The New England J. of Med., Vol. 303, No. 15, Oct. 1980.*