

B형 간염 바이러스 표면 항체 검출을 위한 Passive Hemagglutination (PHA) 방법의 정확도에 관한 연구

서울대학교 의과대학 예방의학교실

박 병 주

— Abstract —

A Study on the Validity of Passive Hemagglutination (PHA) Test for HBsAb

Byung Joo Park, M.D.

*Department of Preventive Medicine, College of Medicine,
Seoul National University*

The author investigated the effect of some variables such as age, sex and the experience of past vaccination on the validity of PHA. The changing pattern of the validity with the change of PHA diagnostic criteria, and the relationship between PHA test result and RIA Ratio Unit were also studied.

The results obtained were as follow;

- 1) No statistically significant difference was found in sensitivity, specificity and negative predictability by sex, but positive predictability was significantly higher in male than that in female.
- 2) Positive predictability was shown to become higher with the increase of age and negative predictability was found to be significantly different among age groups, but no statistically significant difference was found in sensitivity and specificity by age group.
- 3) Significantly low specificity and high positive predictability were found in past vaccinated group, but no statistically significant difference was found in sensitivity and negative predictability between past vaccinated group and non-vaccinated group.
- 4) False negative cases by PHA were found to be the weak positive reactors by RIA and false positive rate of PHA was as high as 46.3 per cent.
- 5) Sensitivity and specificity of PHA at the diagnostic criteria of HBsAb titer 1 : 2 were 98.4% and 53.8% respectively, but after increasing the HBsAb titer to 1:64 as the diagnostic criteria the results were 60.0% and 95.6% respectively.

I. 서 론

간염바이러스 표식자에 대한 검사법은 1960년대 이후 급속히 발전하여, 민감도가 매우 낮은 제 1 세대의 agar gel immunodiffusion (AGID) 법에서부터 민감도가 높아진 제 2 세대의 counterimmunoelectrophoresis (CIEP) 법, complement fixation (CF) 법 및 latex agglutina-

tion법을 거쳐 1973년 이후 제 3 세대로 일컬어지는 reversed passive hemagglutination (RPHA) 법, passive hemagglutination (PHA) 법, enzyme-linked immunosorbent (ELISA) 법 및 radioimmunoassay (RIA) 법 등이 개발되어 이용되고 있다 (Lockyer, 1979).

이들 제 3 세대 검사법 중 RIA 법의 민감도와 특이도가 가장 높은 것으로 보고되어 있으나 (Polesky, 1981), 감마계수기와 같은 고가의 특수장비설치, 시약의 짧은 유효

효기간, 폐기물처리, 고가의 검사비용 등의 제약점때문에 아직까지 국내에서는 보편적인 방법이 되지 못하였고 대신 검사방법이 간편하고 경제적인 RPHA법 및 PHA법이 면역상태를 파악하기 위한 신체검사나 수혈혈액의 선별검사 등 screening용으로 주로 이용되고 있다(조 등, 1984).

최근 국내에서 RPHA법 및 PHA법의 정확도에 관한 보고가 활발히 수행되어 김 등(1984)은 RPHA법과 RIA법을 비교하여 무증상인 B형간염바이러스 만성 보유자의 screening이나 B형간염예방접종 대상자의 선택에는 RPHA법을 이용하는 것이 현실적으로 더 타당하다고 주장하였고, 윤 등(1985)과 김 등(1985)은 RPHA법은 RIA법과 유사한 민감도와 특이도를 나타내었으나, PHA법은 RIA법에 비해 민감도가 낮게 나타났다고 보고하였으며 박 등(1985)은 RPHA법과 PHA법의 정확도를 높이기 위한 개선된 혈구응집검사법을 제시한 바 있다.

그러나 간염예방접종대상자의 선정, 간염예방접종의 효과판정 및 B형간염바이러스의 표식자에 관한 역학적 연구에 필수적인 HBsAb측정시 PHA법을 적용하였을 때 이 PHA법의 정확도가 여러 요인에 의하여 어떻게 변동되는지에 관한 연구보고는 없다. 이에, 저자는 PHA법의 정확도가 각종 변수들, 즉 성, 연령, 과거간염예방접종여부 등에 의한 영향의 정도, PHA법의 양성판정기준 변동에 따른 정확도의 변화 및 RIA Ratio Unit (sample cpm/cutoff value)와 PHA법 검사결과를 비교 검토하여 지견을 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 연구 방법

1. 대 상

1986년 6월부터 동년 10월사이에 서울시에 거주하는 정상성인을 대상으로 혈액을 채취하여 RIA법으로 HBsAb를 검사한 뒤 양성으로 판정된 자중 435명 및 음성으로 판정된 자중 160명을 임의 추출하여 총 595명을 대상으로 PHA법을 시행하였는데, 연구대상의 성, 연령, 및 과거 간염예방접종여부별 분포는 표 1에서 보는 바와 같다.

혈액은 3,000 rpm에서 20분간 고속원심분리한 뒤 혈청을 -70°C의 deep freezer에 냉동보관하였다가 검사를 시행하였다.

2. 실험방법

1) RIA법 : 미국 Abbott사의 Ausab® Kit를 사용하여 제조회사의 시약설명서에 따라 검사를 시행하였는데, 이 Kit에는 human-¹²⁵I(human, subtypes ad and ay)이 입혀진 polystyrene beads, HBsAg-¹²⁵I(human, subtypes ad and ay), positive human control 과 negative human control이 포함되어 있다.

2) PHA법 : 국내 녹십자회사의 Hepa S-Ab test Kit를 사용하여 제조회사의 시약설명서에 따라 검사를 시행하였다.

Table 1. Distribution of the subjects by sex, age and past vaccination

Variable	Male	Female	Total
Age			
< 25	2	18	20
25 - 34	165	60	225
35 - 44	188	12	200
45 - 54	123	5	128
55 <	21	0	21
Past vaccination			
Recieved	182	35	217
Not received	317	60	477
Total	499	95	594*

* One subject is excluded because the datum on sex cannot be identified

Table 2. Validity Index

RIA	+	-	Total
PHA			
+	A	B	A + B
-	C	D	C + D
Total	A + C	B + D	N

$$1. \text{ Sensitivity} = \frac{A}{A + C} \times 100(\%)$$

$$2. \text{ Specificity} = \frac{D}{B + D} \times 100(\%)$$

$$3. \text{ Predictability positive} = \frac{A}{A + B} \times 100(\%)$$

$$\text{negative} = \frac{D}{C + D} \times 100(\%)$$

3. 결과분석

PHA법의 정확도(Validity)를 파악하기 위하여 RIA법에 의한 판정을 기준으로 하여, 민감도(sensitivity), 특이도(specificity), 양성 및 음성적중도(positive and negative predictability)를 산출하고(Table 2), 비교 집단간의 통계적 유의성 검정은 X²검정법을 적용하였다.

III. 결 과

1. 성별에 따른 PHA법의 정확도 (Table 3)

남녀별 민감도는 각각 98.4%, 98.3%로 나타났고, 특이도는 각각 55.7%, 45.9%로 나타났으나 남녀간에 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 양성적중도는 남자에서 87.3%로 여자의 74.0%에 비하여 유의하게 높았으나 (P<0.01), 음성적중도는 남녀에서 각각 91.9%, 94.4%로 유의한 차이가 없었다.

2. 연령별 PHA법의 정확도 (Table 4)

25세미만, 25~34세, 35~44세, 45~54세 및 55세 이상의 5개 연령군별 민감도는 각각 100.0%, 99.3%, 96.7%, 99.0% 및 100.0%로 유의한 차이가 없었고, 특이도도 각각 27.3%, 57.3%, 55.3%, 50.0% 및 50.0%로 유의한 차이는 없었다. 양성적중도는 각각 52.9%, 82.3%, 87.6%, 89.6% 및 95.0%로 연령증가와 비례하여 커졌으며 통계적으로도 매우 유의하였다(P<0.01). 음성적중도는 각각 100.0%, 97.7%, 83.9%, 92.3% 및 100.0%로 연령군별로 유의한 차이를 보였으며(P<0.05), 35-44세군에서 가장 낮았다.

Table 3. Validity of PHA by sex

Sex	Sensitivity	Specificity	Positive ** predictability	Negative predictability
Male	98.4	55.7	87.3	91.9
Female	98.3	45.9	74.0	94.4

** P < 0.01

Table 4. Validity of PHA by age group

Age group	Sensitivity	Specificity	Positive** predictability	Negative* predictability
< 25	100.0	27.3	52.9	100.0
25-34	99.3	57.3	82.3	97.7
35-44	96.7	55.3	87.6	83.9
45-54	99.0	50.0	89.6	92.3
55 <	100.0	50.0	95.0	100.0

* P < 0.05 ** P < 0.01

Table 5. Validity of PHA by past vaccination

Past vaccination	Sensitivity	Specificity**	Positive * predictability	Negative predictability
Received	99.5	20.7	89.0	85.7
Not received	97.6	60.8	82.5	92.9

* P < 0.05, ** P < 0.01

3. 과거간염예방접종여부별 PHA법의 정확도 (Table 5)

특이도는 과거간염예방접종군에서 20.7%로 미접종군의 60.8%보다 통계적으로 매우 유의하게 낮았으며(P<

Table 6. Comparison of the results of HBsAb test between RIA and PHA titer

PHA	RIA									
	-	2	4	8	16	32	64	128	256+	Total
+	7	7	11	42	67	40	71	42	148	435
-	86	29	15	12	9	2	2	1	4	160
Total	93	36	26	54	76	42	73	43	152	595

Table 7. Validity of PHA by HBsAb titer level

Titer	Sensitivity	Specificity	Positive predictability	Negative predictability
1 : 2	98.4	53.8	85.3	92.5
1 : 4	96.8	71.9	90.3	89.1
1 : 8	94.3	81.3	93.2	83.9
1 : 16	84.6	88.8	95.3	67.9
1 : 32	69.2	94.4	97.1	53.0
1 : 64	60.0	95.6	97.4	46.8

0.01), 양성적중도는 점중군에서 89.0%로 미점중군의 82.5%보다 유의하게 높았다($P < 0.05$). 민감도는 점중군과 미점중군에서 각각 99.5%, 97.6%, 음성적중도는 각각 85.7%, 92.9%로 유의한 차이가 없었다.

4. PHA법의 판정기준치별 정확도

(Table 6 및 7)

PHA법의 양성판정기준치의 변동에 따른 정확도의 변화를 파악하기 위하여 먼저 RIA법에 의한 검사결과와 PHA법에 의한 HBsAb titer별 결과를 표 6에 제시하였는데, screening용 양성판정기준은 HBsAb titer 1 : 16 으로서, 이 기준에 의한 정확도는 민감도 84.6%, 특이도 88.8%, 양성적중도 95.3%, 음성적중도 67.9%로 나타났다.

양성판정기준치인 HBsAb titer를 높혀가면 특이도와 양성적중도는 같이 커지나 민감도와 음성적중도는 반대로 낮아진다.

즉 양성판정기준치를 HBsAb titer 1 : 2로 하면 민감도, 특이도, 양성 및 음성적중도는 각각 98.4%, 53.8%, 85.3%, 및 92.5%로 변하고, 기준치가 1 : 64로 되면 각각 60.0%, 95.6%, 97.4%, 및 46.8%로 변하게

된다(Table 7).

5. RIA Ratio Unit와 PHA법에 의한 결과비교 (Table 8)

RIA법에 의한 검사결과는 Ratio Unit(sample cpm/cutoff value)가 1보다 클 때 양성으로 판정한다. PHA법에 의하여 가음성으로 판정된 7에는 모두 RIA Ratio Unit가 1~10사이로 약한 양성반응을 보인 예들이었고, Ratio Unit가 11이상인 경우에는 가음성예가 없었다.

IV. 고 찰

정확도의 검증에 있어서 주의할 점은 이 정확도를 검증하는데 지표로 이용되는 민감도, 특이도, 양성 및 음성적중도는 절대치가 아니라는 점이다. 왜냐하면 이들은 동일한 검사에 있어서도 주어진 여건, 예를 들면 측정기준에 대한 명확성, 설정기준치의 수준, 측정대상집단내 유병률, 측정도구의 신뢰도 등 여러가지 요인에 의하여 변동되기 때문이다(김, 1984).

본 연구에서는 HBsAb의 측정기준을 RIA법에 의한 검사결과로 삼았기 때문에 기준이 명확하고, PHA법에 의한 양성판정기준을 HBsAb titer 1 : 2로 정하였고, 숙련된 단일 검사자에 의하여 정도관리가 잘 되고 있는 검사실에서 검사가 시행되었기 때문에 검사의 신뢰도도 믿을 만하나, 대상집단의 HBsAb양성률이 다를 경우에는 가양성확률과 가음성확률이 달라지므로(Fleiss, 1981), 이 지표를 그대로 적용할 수는 없다.

RIA법에 의한 검사결과를 기준으로 한 PHA법의 민감도 및 특이도는 보고자에 따라 차이가 많아서, 윤 등(1985)은 민감도 57.3%, 특이도 96.7%, 김 등(1985)은 각각 79.1%, 92.0%, 박 등(1985)은 각각 87.6%

Table 8. Comparison of the results of HBsAb test by PHA and RIA ratio unit*

PHA	RIA R.U.*	< 1	1 - 10	11 - 20	21 - 50	50 <	Total
+		74	158	54	106	110	502
-		86	7	0	0	0	93
Total		160	165	54	106	110	595

* Ratio unit : Sample cpm/cutoff value

~93.7%, 93.7~94.3%, 문(1985)은 각각 84.8%, 100.0%로 특이도가 민감도보다 높게 나타나는 것으로 보고하였으나, 이 등(1984)은 민감도 80.6%, 특이도 33.3%로 특이도가 민감도보다 낮은 것으로 보고하여 본 연구에 의한 민감도 98.4%, 특이도 53.8%보다는 낮은 값들이나 같은 양상을 보였다. 이러한 보고의 불일치는 연구대상집단의 HBsAb 보유률, PHA검사시약, PHA법의 양성판정기준치, 및 PHA법 검사의 신뢰도 등의 차이에서 기인된 것으로 사료된다.

집단검진에 사용되는 screening test에 있어서 정확도의 지표는 판정기준치의 변동에 따라 달라지므로, 어떤 판정기준치를 선택할 것인가는 그 연구의 목적에 따라 임의로 결정할 수 있다. 예를 들면 예방접종대상자를 파악하기 위한 집단검진에서는 가음성률이 낮아야 하기 때문에 민감도를 높히는 판정기준치를, HBsAb보유자에 대한 추적조사를 실시할 경우에는 가양성률이 낮아야 하므로 특이도를 높히는 판정기준치를 선정하면 된다. 본 연구에서 PHA법의 양성판정기준치를 현행의 HBsAb titer 1:16으로 적용하였을 때 민감도 및 특이도는 각각 84.6%, 88.8%이었으나, 판정기준치를 HBsAb titer 1:64로 증가시켰을 때는 각각 60.0% 및 95.6%로 변동되었으므로 연구목적에 유용한 판정기준치를 선정할 수 있을 것이다.

성별, 연령별 민감도 및 특이도에는 차이가 없었으나, 양성적중도에서 차이를 나타내어 남자에게 높았고, 연령증가와 비례하여 커졌으며, 음성적중도도 연령별로 유의한 차이를 보였는데, 이의 기전을 규명하기 위하여는 추구조사가 필요할 것으로 사료된다.

과거 간염예방접종여부별 정확도에서는 특이도가 접종군에서 미접종군에 비해 매우 낮게, 즉 가양성률이 매우 높게 나타났는데, PHA법에서 가양성이 나타나는 경우는 비특이적으로 응집이 되었을 때로서 감작혈구에 대한 항체가 혈청내에 존재하거나, 류마티스 인자의 존재시 또는 환자의 혈청내 점도가 높을 때라는 이 등(1984)의 해석이 있으나, 더욱 정확한 면역학적 기전의 규명을 위한 추구조사가 수행되어야 할 것으로 판단된다.

PHA법에 의해 가음성으로 판정된 예는 모두 RIA법 상 약한 양성반응을 보인 예들이었는데, 이는 Hayama 등(1980)의 RIA법에 의한 Ratio Unit가 2.3이하일 경우는 PHA법으로 음성으로 나타난다고 한 보고와 일치되는 소견이었다.

V. 결 론

성, 연령, 과거간염예방접종여부가 PHA법의 정확도에 미치는 영향과 PHA법의 양성판정기준을 변동시켰을 때의 정확도의 변화 및 RIA Ratio Unit와 PHA법의 검사결과를 비교검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 성별에 따른 민감도, 특이도 및 음성적중도간에는 유의한 차이가 없었으나, 양성적중도는 여자보다 남자에서 높았다.

2) 연령별 민감도 및 특이도에는 유의한 차이가 없었으나, 양성적중도는 연령과 비례하여 높아졌고, 음성적중도는 연령군간에 유의한 차이가 있었으며, 35~44세 군에서 가장 낮았다.

3) 과거간염예방접종군과 미접종군간에 민감도 및 음성적중도는 차이가 없었으나, 접종군에서 미접종군에 비해 유의하게 낮은 특이도와 높은 양성적중도를 보였다.

4) PHA법에 의하여 가음성으로 판정된 7예는 모두 RIA법상 약한 양성반응을 보인 예들이었고, 가양성률은 46.3%로 높게 나타났다.

5) RIA법의 판정기준치를 HBsAb titer 1:2로 하였을 때의 민감도와 특이도는 각각 98.4%, 53.8%이었으나, 판정기준치를 HBsAb titer 1:64로 하였을 때는 각각 60.0%, 95.6%로 나타났다.

참 고 문 헌

- Lockyer WJ. Large-scale screening for viral hepatitis. *Med Lab Sci* 1979; 36:107-108
- Polesky HF and Hanson MR. Comparison of viral hepatitis marker test methods based on AAB-B-CAP survey data. *Am J Clin Pathol* 1981; 76(Suppl):521-524
- 조한익, 강득용, 김상인, 김경희, 이용우, 최성엽, 박명희, 김현숙. 면역혈청 및 혈액은행검사 신빙도 조사결과 (1983). *임상병리와 정도관리* 1984; 6:31-38
- 김정룡, 이효석, 유병철, 백현옥, 송영옥, 정현채, 최상운. HBsAb 검출에 있어서 Radioimmunoassay (RIA)와 Reversed passive hemagglutination (RPHA)의 비교. *대한의학협회지* 1984; 27(1):49-53
- 윤규석, 정화순, 최태열, 김신규, 김문원, 김기홍. B형간염 표면항원 및 항체의 검출방법의 비교연구. *한양의대학술지* 1985; 5(2):605-611

- 김현숙, 권오현, 이삼열. HBs항원 및 Anti-HBs항체 검출을 위한 RPHA 및 PHA법의 세가지 검사시약의 비교검토, 대한임상병리학회지 1985; 5(2):497-503
- 박명희, 김진규, 조한익, 김상인. HBsAg 및 Anti-HBs검출을 위한 개선된 혈구응집검사법-5종 RPHA 시약과 2종 PHA 시약의 비교검토-임상병리와 정도관리 1985; 7(2):245-251
- 김정순. 역학원론, 초판, 신광출판사, 서울 1984
- Fleiss JL. *Statistical Methods for Rates and Proportions*, 2nd ed., John Wiley & Sons, 1981
- 문인숙. B형간염백신 "Hepa-Vax" 접종후 항체검사시약 "Hepa-S" kit의 정확도에 관한 연구, 예방의학회지 1985; 18(1):51-57
- 이용수, 정화순, 김춘원, 김인필. 간염백신 주사 후 검사방법에 의한 B형간염 항체생성에 관한 비교연구, 대한임상병리학회지 1984; 4(1):77-83
- Hayama K, Kawaguchi T, Yazawa J. Evaluation of Serodia-Anti HBs, an HBs antibody detecting reagent, by the PHA method, Fujizoki; Data Series SH-4-1, 1980