

서울 지역에 거주하는 일부 주민들의 디프테리아 항체가에 관한 연구

김재옥* · 양원호 · 정문식

*식품의약품안전본부 세균제제과, 서울대학교 保健大學院 環境保健學科

A Study on Diphtheria Antibody Titer of Residents in Seoul Area

Jae-Ok Kim*, Won-Ho Yang and Moon-Shik Zong

*Division of Bacterial and Blood Products, Korea Food and Drug Administration
Department of Environmental Health, School of Public Health, Seoul National University

ABSTRACT

Diphtheria was the world-spread, respiratory infectious disease in the past. But after developing the diphtheria toxoid, diphtheria vaccine, composed of diphtheria toxoid, is generalized, so prevalence of diphtheria is sharply dropped. But diphtheria is come back in NIS(New Independent States) in 1990s. It is believed that recurrence of diphtheria is mainly due to shortage of protective diphtheria antibody titer in adults. And it is related to 70% prevalence in adults, not in children. Considering this changing environment, this study was designed to research the diphtheria antibody titer of whole population and existence of titer difference by sex. Also it was studied whether ELISA has fitness as determination method of diphtheria antibody titer compared with neutralization method on microcell culture. This study was done to 277 samples of three hospitals in Seoul area, and sera was tested by neutralization method on microcell culture and ELISA method. The results of this study were as follows: 1) Of this studied population, 31.05% had an antibody titer below the protective level (<0.01 IU/ml), 40.79% had a titer of a relative degree of protection (0.01-0.09 IU/ml) and 28.16% had a reliable degree of protection (>0.1 IU/ml). Therefore, 68.95% had a basic protective antibody titer level. 2) 20-40 age group showed the lowest diphtheria antibody titer among the studied population. 3) GMT of diphtheria antibody titer was the highest in the children. But, after child period, GMT was fallen. Standard deviation value was the lowest in older group. 4) Protective level of diphtheria antibody titer of male was slightly higher than female (70.94% vs 66.66%). But this difference was not statistically significant. 5) Diphtheria antibody titer by ELISA method was wholly higher than by neutralization method on microcell culture. Compared the two results by ELISA and neutralization, the regression coefficient was 0.38. And in titer, which was obtained by ELISA method, false-positive results was abundant.

Keywords : Diphtheria, Diphtheria toxoid, Neutralization method, ELISA, Antibody titer

I. 서 론

디프테리아는 호흡기에 위막을 형성하여 어린 아이 뿐만 아니라 어른에게도 고통을 주는 질병으로 원인균은 *Corynebacterium diphtheriae*이다. 병원소는 사람이며 감염원은 환자나 보균자의 상기도, 피부, 기타 병소로부터의 분비물과 배설물이다.¹⁾

과거에는 전세계적으로 유행한 질병이었으나 1920년대에 디프테리아 독신(Diphtheria toxin)을 포르말린으로 불활성화시킨 독소이드(Toxoid)가 개발되고 1940-1950년대 독소이드를 성분으로 한 백신의 예방 접종이 보편화되면서 그 발병률이 크게 감소하여 선진국에서는 1970년대 이후 박멸 가능할 것으로 생각되었다.²⁾ 우리나라의 경우에 있어서도

1940-50년대 매년 약 2,500명 이상의 환자가 발생하였으나 1958년 DPT백신(디프테리아 독소이드, 과상포 독소이드, 백일해 혼합백신)이 생산되고 전국적인 접종이 시작된 이후로는 발생 빈도가 현저히 감소하여 1987년 1명 발생의 공식보고 이후는 발병 사례가 없는 것으로 되어 있으며, 사망률 또한 1940-50년대는 10-20%였으나 1980년 이후에는 4% 이하로 감소되었다.¹⁾

그러나 최근에 그 상황이 변화하여 1990년 우크라이나 지방을 시작으로 구 소련연방의 전체 지역으로 디프테리아가 발병하기 시작하여 1989년 839명, 1994년 47,802명이 발병해서 1,746명이 사망하였고, 인근 유럽 지역(핀란드, 독일, 노르웨이, 폴란드 등)으로까지 유입되었다.²⁾ 또한 중국에서도 1988년 9월부터 1989년 1월까지 5개월 동안 103건이 발생하여 이중 2명이 사망하였다.³⁾

최근의 디프테리아 재발생의 가장 큰 특징으로는 예전의 소아 질병이었던 디프테리아의 발병 연령의 변화를 들 수 있으며, 위에서 언급한 구 소련연방의 경우 약 70%가 15세 이상의 연령에서, 중국의 경우 78%(전체 103명중 80명)가 16세 이상에서 발병하였다.⁴⁾ 또한 요르단의 1982-1983년 디프테리아 발병시 사춘기 청소년과 성인에서 그 발병 빈도가 높았다. 이러한 발병 연령의 변화는 성인 인구의 면역력 손실이 가장 주된 요인으로 여겨지고 있다.⁵⁾

사람에 있어서 디프테리아 항체가를 측정하는 방법은 크게 *In vivo* test와 *In vitro* test로 나눌 수 있으며, *In vivo* test의 Guinea pig나 토끼를 이용한 독소중화법(Toxin neutralization method)이 1930년대 개발된 후 보편적으로 사용되어 왔으나 실험동물이 많이 소비되고 동물실험의 기술을 필요로 하며, 성비 및 시간이 많이 소요되는 등의 단점이 대두되어 이를 보완하기 위해서 *In vitro* 실험법으로 디프테리아 항체가를 측정하는 방법이 연구되었다.⁶⁾

이리하여 현재까지 개발된 *In vitro* test는 혈구 응집법(Passive hemagglutination), 세포배양을 이용한 독소중화법(Toxin neutralization method on microcell culture), 효소면역 측정법(Enzyme-linked immunosorbent assay)이 있다.

이중 혈구응집법은 항체가가 낮은 경우 그 결과가 정확하지 못하여 다시 *In vivo* test를 하여야 하는 큰 단점이 있는 반면, 세포배양을 이용한 독소중화법의 경우 정확성과 재현성이 뛰어나 *In vivo* test를 대신할 수 있는 실험법으로 인정받고 있다.^{1,8)} 또한 효소

면역 측정법은 실험법이 간단하고 단시간에 결과가 나오는 장점이 있으며, 이 장점을 잘 활용하여 *In vivo* test를 대신하기 위한 연구가 진행중이다.^{9,10)}

이러한 방법으로 측정된 혈청중의 디프테리아 항체가가 0.01 IU/ml 이상일 때 디프테리아에 대한 면역성을 지닌다고 믿어지고 있으며, WHO에서 발간한 자료에서는 디프테리아 항체가가 0.01-0.09 IU/ml 일 때 기본적인 면역력을, 0.1 IU/ml 이상일 때 디프테리아에 대해 믿을만한 면역력을 지닌다고 서술하고 있다.¹¹⁾

이 연구의 목적은 서울 지역 일부 주민들을 대상으로 혈청중의 디프테리아 항체가를 세포배양을 이용한 독소중화법과 효소면역 측정법으로 측정하여 연령에 따른 디프테리아 항체가 분포와 남녀 구분에 따른 디프테리아 항체가 차이의 유무 및 디프테리아 항체가 측정에 있어 효소면역 측정법의 유용성 여부를 조사하는데 있다.

II. 실험대상 및 방법

1. 실험대상

서울 지역 3개 병원(순천향병원, 서울중앙병원, 경희의료원)에서 감염병이나 소모성 전신 질환이 없는 환자군 또는 건강 검진을 위해서 내원한 건강한 사람을 대상으로 하여 무균조작으로 채혈한 후 혈청을 분리하고 실험할 때까지 냉동보관(-20°C)하였다.

2. 실험재료 및 방법

1) 세포배양을 이용한 독소중화법(Toxin neutralization method on microcell culture)¹¹⁻¹³⁾

(1) 디프테리아 독신(Diphtheria toxin)

독신제약(수)으로부터 150 Lf/ml의 역가를 지닌 독신을 받아 4MCD(Minimum cytopathic dose)로 희석하여 실험하였으며, 희석액은 Glycerin-saline(1:1)을 사용하였다.

(2) 표준 디프테리아 항독소(Standard diphtheria antitoxin)

덴마크의 Statens Serum Institute에서 분양받은 10 IU/ml의 국제표준 디프테리아 항독소를 1 IU/ml로 희석하여 실험하였으며, 희석액은 Glycerin-saline(1:1)을 사용하였다.

(3) 세포배양

Vero cell은 10%의 토끼 혈청이 첨가된 MEM

(Minimum essential medium) 배지에서 계대 배양하였으며, 0.01% EDTA의 인산염완충용액에 0.25% Trypsin으로 떨어져 원심분리한 후 2×10^5 cells/ml 농도로 희석하였다. 세포수를 측정하기 위하여 0.1% Erythrosin B 용액을 사용하였다.

(4) 실험방법

플라스틱 96 Well cell culture plate(flat-bottom, Costar社)에 MEM배지를 25 μ l씩 분주한 후, 56°C에서 30분간 비동화시킨 검사 대상 혈청 및 표준 디프테리아 항독소를 1번 Well에 25 μ l 넣는다. 2번 Well부터 12번 Well까지 차례대로 2배씩 단계 희석을 한 후 디프테리아 독소 4MCD를 첨가하고 37°C에서 1시간 반응시킨다. 반응이 끝나면 각 Well에 다시 배지를 100 μ l씩 분주하고 Vero cell 50 μ l(2×10^5 cells/ml)를 넣고 37°C에서 4-5일간 배양하면서 색깔이 변하는 지점을 읽는다. 표준 디프테리아 항독소와 비교하여 디프테리아 항체가(IU/ml)를 구한다. 이를 도식화하면 Fig. 1과 같다.

2) 효소면역 측정법 (Enzyme-linked immunosorbent assay)^{12,14)}

(1) 디프테리아 독소이드 (Diphtheria toxoid)

동신제약(주)으로부터 2,854 Lf/m의 역가를 지닌 독소이드를 받아 0.5 Lf/ml로 희석하여 실험하였으며, 희석액은 Glycerin-saline(1:1)을 사용하였다.

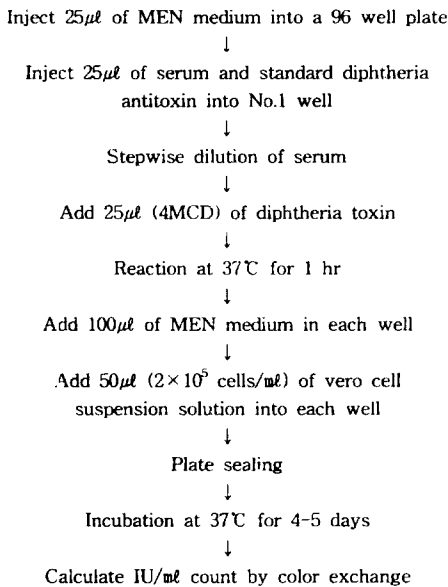


Fig. 1. Flow sheet of toxin neutralization method on microcell culture.

(2) 표준 디프테리아 항혈청 (Standard diphtheria human antiserum)

영국의 NIBSC(National Institute for Biological Standards and Control)로부터 항혈청을 분양받아 실험하였으며, 희석액은 증류수를 사용하였다.

(3) 실험방법

디프테리아 독소이드를 Coating buffer(carbonate buffer, 0.05M, pH9.6)를 사용하여 0.5 Lf/ml의 농도로 희석하여 96 Well EIA plate(flat-bottom, Costar社)의 각 Well에 200 μ l씩 분주한 후 4°C에서 밤새 정치시킨다. 다음날 PBST 용액(0.05% Tween 첨가)으로 세척한 후 1% BSA (Bovine serum albumin) 100 μ l를 Well에 첨가하고 37°C에서 1시간 반응시켜 Blocking 시킨다. Blocking이 끝난 Plate를 다시 PBST로 세척한 뒤 혈청(1:100로 희석)을 다시 2배씩 단계희석하여 검사대상 혈청 및 표준 항혈청을 100 μ l씩 넣고 37°C에서 2시간 반응시킨다. 반응이 끝나면 다시 PBST로 세척하고 각 Well에 1:2000의 비율로 희석된 Peroxidase anti-human immunoglobulin G specific conjugate(Sigma社)를 100 μ l씩 넣고 37°C에서 1시간 동안 반응시킨다. 그 뒤 PBST로 5회이상 세척한 후 Substrate buffer(phosphate citric buffer, pH5.0) 100 μ l를 첨가하고 30분 동안 반응시킨다. 30분 후 1N H₂SO₄ 50 μ l로 반응을 정지시키고 ELISA reader로 492 nm에서 측정한다. 이를 도식화하면 Fig. 2와 같다.

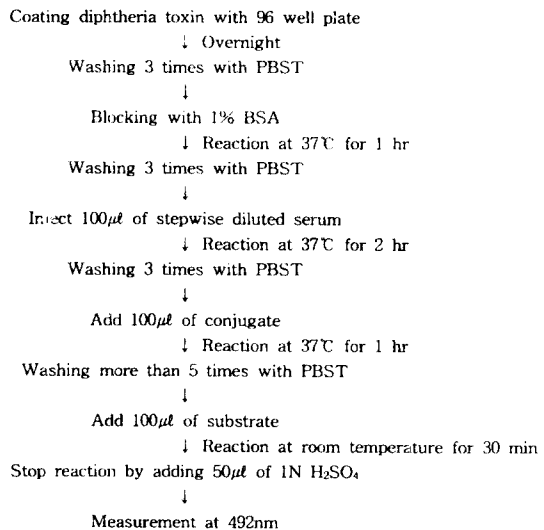


Fig. 2. Flow sheet of ELISA method.

III. 결과 및 고찰

순천향병원에서 111건, 서울중앙병원에서 96건, 경희의료원에서 70건의 혈청을 수거하여 세포배양을 이용한 독소중화법 및 효소면역 측정법으로 실험하였다.

1. 혈청 제공 대상자들의 일반적인 특징

총 277건의 혈청중 남성이 148건, 여성이 129건이었으며 5년 단위로 연령별 구분을 하였다. 건강검진을 위해 내원한 건강한 사람이 128건으로 전체의 46.21%를 차지하였고 입원환자가 101건으로 36.46%, 병원에 내원한 사람이 45건으로 16.24%를 차지하였다. 입원한 환자의 경우 가슴이 답답하거나 관절염, 천식, 허리통증 등의 증세가 많았고 내원한 사람은 감기가 가장 많았으며 그외에 허리통증, 피곤, 빈혈, 두통 등을 호소하였다. 설문지를 통하여 과거의 디프테리아 발병 유무를 문의하였으나 대부분이 미상이었으며 과거 DPT백신의 접종여부 또한 불과 34건만이 회답되었다.

2. 연령별 디프테리아 항체가 측정결과

세포배양을 이용한 독소중화법으로 실험한 각 연령별 구분에 따른 디프테리아 항체가는 Table 1과 같다. 측정된 디프테리아 항체가를 전체적으로 살펴보면 277명중 86명이 0.01 IU/μl 이하의 항체가를

지니 디프테리아에 대해 면역성이 없는 것으로 조사되었고, 나머지 191명중 113명이 0.01-0.09 IU/μl의 항체가를, 78명이 0.1 IU/μl 이상을 지니는 것으로 나타났다. 이는 전체적으로 보았을 때 68.95%(0.01 IU/μl 이상)가 디프테리아 면역력을 가졌음을 보여 주는 것이며, 영국의 67%, 핀란드의 77%, 덴마크의 78%와 유사한 결과이다.²¹ 이러한 결과들을 종합해 볼 때, 현재 우리나라는 68.95%로 70%에 가까운 수준에 놓여있는 상황으로서 디프테리아 유행에 대한 위험은 크지 않은 것으로 여겨진다.^{27,28)}

연령 구분에 따른 디프테리아 항체가를 보면 20세 이전에는 78.21%가 0.01 IU/μl 이상의 항체가를 지니며, 20-40세는 그보다 낮은 47.67%, 40세 이상의 연령에서는 78.76%가 디프테리아에 대해 기본적인 면역력을 지닌다. 이것을 요약해보면 성인, 특히 활동이 왕성한 20-40대의 면역력이 대체적으로 낮으며 25-29세 사이에서 그 수치가 가장 낮다. 이를 외국의 경우와 비교하여 보면 독일과 프랑스, 일본, 영국에서 20-40세가 디프테리아에 면역력이 가장 낮아 위의 결과와 일치하며, 폴란드, 오스트레일리아, 구 소련지역은 40-50세에서, 덴마크와 스웨덴, 핀란드, 미국의 경우에는 50세 이상에서 가장 낮은 디프테리아 면역력을 보인다.^{27,28)} 또한 중국의 1988-1989년의 디프테리아 발병시 21-40세의 발병률이 가장 높았던 것도 위의 20-40대의 디프테리아 면역력 수치가 가장 낮은 결과와 상통한다.²⁹⁾

Table 1. Age-specific diphtheria antibody positive rate

Age groups (years)	No. of Subjects tested	Antibody titers(IU/ml)					
		< 0.01		0.01-0.09		> 0.1	
		No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
0-4	25	4	16.00	16	64.00	5	20.00
5-9	16	1	6.25	14	87.50	1	6.25
10-14	16	4	25.00	8	50.00	4	25.00
15-19	21	8	38.10	8	38.10	5	23.81
20-24	20	12	60.00	6	30.00	2	10.00
25-29	20	8	40.00	9	45.00	3	15.00
30-34	22	12	54.55	7	31.82	3	13.64
35-39	24	13	54.17	3	12.50	8	33.33
40-44	20	9	45.00	4	20.00	7	35.00
45-49	20	4	20.00	6	30.00	10	50.00
50-54	26	3	11.54	12	46.15	11	42.31
55-59	18	5	27.78	4	22.22	9	50.00
60-64	10	1	10.00	6	60.00	3	30.00
≥65	19	2	10.53	10	52.63	7	36.84
Total	277	86	31.05	113	40.79	78	28.16

이러한 결과는 여러가지 요인 때문으로 추정되는데, 신생아의 경우에 있어서는 모체로부터의 면역력 획득(Transplacental maternal immunity)과 DPT백신의 생후 2, 4, 6개월의 정기 예방접종으로 인하여 높은 디프테리아 항체가를 가지는 것으로 생각되며, 소아의 경우에는 정기 예방접종으로 생성된 항체의 지속과 4-6세의 DPT백신 추가접종으로 인한 디프테리아 면역력의 증가로 인하여 15세 전까지 약 75-93%의 높은 수치를 나타내는 것으로 추정된다. 노령인구의 경우에는 예전의 디프테리아 발병이 많던 시기에 자연면역을 획득(Naturally acquired immunity) 할 기회가 많아 상대적으로 높은 값을 나타내는 것으로 여겨진다.²⁰⁾ 그러나 성인 인구는 노령인구처럼 자연면역을 획득할 기회가 적었으며 마지막 4-6세의 추가접종 후 생성된 디프테리아 항체가는 계속하여 소실되므로 전체 연령 중에서 가장 낮은 면역력을 지니게 된 것으로 보인다.

또한 연령별 구분에 따른 항체가의 평균값(Geometric mean titer, GMT)의 값은 Table 2와 같다. 디프테리아 항체가의 연령별 GMT 및 표준편차를 살펴보면 소아의 디프테리아 항체가 GMT가 성인이나 노령인구에 비해 월등히 높음을 볼 수 있으며, 이 값은 점차 감소하기 시작하여 성인 연령층에서 낮다가 노령인구로 가면서 다시 증가하는데 이는 전체적인 디프테리아 면역력 획득비율의 형태와 유사하다. 특히 5-9세의 GMT 값이 가장 높운데 이는 4-6세 사이에 DPT백신을 추가 접종하여 면역력이 증가되었기 때문으로 생각된다. 표준편차 또한

소아에서 그 값이 크며, 노령인구에서는 0.2-0.4 정도로 같아져 노령의 연령층이 비슷한 디프테리아 항체가를 지녔음을 보여준다.

전체적으로 볼 때 디프테리아 면역력을 획득한 항체가는 약 70% 수준이지만, 이 수치는 WHO에서 권장하는 90%의 수준에는 미치지 못하는 수준이며²¹⁾, 특히 성인에 있어 디프테리아 항체가가 낮아 현재의 상태로 계속 진행된다면 노령 인구는 감소하고 면역력을 지니지 못한 성인 인구는 증가하게 되어 전체적인 디프테리아 면역력 수준이 떨어지게 되므로 적당한 시기에 성인용 디프테리아 독소이드(2Lf)의 추가접종을 실시하는 것을 고려해 보아야 할 것이다.

3. 성별 디프테리아 항체가 측정결과

세포배양을 이용한 독소중화법으로 실험하여 측정된 남녀 성별 및 연령 구분에 따른 디프테리아 항체가는 Table 3과 같다. 측정된 디프테리아 항체가 결과를 살펴보면 남자의 경우 전체 148명중 105명(70.95%)이 0.01 IU/μl 이상의 항체가를 가져 여자 129명중 86명(66.67%)에 비해 약간 더 높은 항체가를 나타내고 있으며, 이것은 덴마크에서 행한 연구결과와 유사하다.²²⁾ 그러나 전체적으로 보았을 때 성별에 따른 차이는 유의하지 않은 것으로 여겨지며($\chi^2=0.59$, $p<0.05$), 이것은 Ispen 등의 결과와 일치한다.^{17,19,22)} 또한 남녀 각각의 디프테리아 면역력 정도가 전체 연령별 면역력 정도와 비슷함을 알 수 있다.

Table 2. GMT of diphtheria antibody (IU/ml)

Age groups (years)	No. of Subjects tested	Maximum value	Minimum value	GMT	Standard deviation
0-4	25	4.0000	0.0019	0.1967	1.5578
5-9	16	4.0000	0.0000	0.6299	1.4594
10-14	16	4.0000	0.0000	0.2083	1.6184
15-19	21	4.0000	0.0000	0.0473	1.0030
20-24	20	4.0000	0.0000	0.0539	0.3303
25-29	20	1.0000	0.0000	0.0395	0.1015
30-34	22	0.2500	0.0000	0.0738	0.9776
35-39	24	0.2500	0.0000	0.0198	0.0602
40-44	20	1.0000	0.0000	0.0257	0.2730
45-49	20	1.0000	0.0000	0.0563	0.2294
50-54	26	2.0000	0.0000	0.1005	0.4539
55-59	18	1.0000	0.0000	0.0442	0.2446
60-64	10	1.0000	0.0025	0.1281	0.4208
≥65	19	1.0000	0.0039	0.0723	0.2519

Table 3. Sex-specific and age-specific diphtheria antibody positive rate

Age group (years)	Female					Male				
	Antibody titers(IU/ml)				No. of subjects tested	Antibody titers(IU/ml)				No. of subjects tested
	< 0.01		≥ 0.01			< 0.01		≥ 0.01		
	No.	(%)	No.	(%)		No.	(%)	No.	(%)	
0-4	0	0.00	8	100.00	8	4	23.53	13	76.46	17
5-9	0	0.00	6	100.00	6	1	10.00	9	90.00	10
10-14	1	20.00	4	80.00	5	3	27.27	8	72.73	11
15-19	5	62.50	3	37.50	8	3	23.08	10	76.92	13
20-24	8	61.54	5	38.46	13	4	57.14	3	42.86	7
25-29	4	36.36	7	63.64	11	4	44.44	5	55.56	9
30-34	5	50.00	5	50.00	10	7	58.33	5	41.67	12
35-39	7	63.64	4	36.36	11	6	46.15	7	53.85	13
40-44	6	60.00	4	40.00	10	3	30.00	7	70.00	10
45-49	3	25.00	9	75.00	12	1	12.50	7	87.50	8
50-54	2	15.38	11	84.62	13	1	7.69	12	92.31	13
55-59	1	10.00	9	90.00	10	4	50.00	4	50.00	8
60-64	0	0.00	4	100.00	4	1	16.67	5	83.33	6
≥65	1	12.50	7	87.50	8	1	9.09	10	90.91	11
Total	43	33.33	86	66.67	129	43	29.05	105	70.95	148

4. 효소면역 측정법(ELISA)에 의한 디프테리아 항체가 측정

1) 효소면역 측정법에 의한 디프테리아 항체가 측정결과

표준 디프테리아 항혈청을 단계 희석한 후, 효소면역 측정법으로 실험하여 얻은 OD(Optical Density) 값으로 표준곡선을 그린 다음 표준곡선에 검사

대상 혈청의 OD값을 대입하여 각 혈청별 디프테리아 항체가(IU/ml)를 추정한다. 이렇게 하여 얻은 값을 연령별로 구분한 것이 Table 4와 같다. 세포배양에 의한 독소중화법으로 얻은 디프테리아 항체가와 비교하여 볼 때 효소면역측정법은 전체적으로 그 값이 높으며 20-40대에 있어서도 70%이상이 0.01 IU/ml 이상의 디프테리아 항체가를 지니는 것으로

Table 4. Age-specific diphtheria antibody titer by ELISA

Age groups (years)	No. of Subjects tested	Antibody titers(IU/ml)					
		< 0.01		0.01-0.09		≥ 0.1	
		No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
0-4	25	1	4.00	18	72.00	6	24.00
5-9	16	1	6.25	13	81.25	2	12.50
10-14	16	0	0.00	11	68.75	5	31.25
15-19	21	1	4.76	7	33.33	13	61.90
20-24	20	3	15.00	8	40.00	9	45.00
25-29	20	5	25.00	1	5.00	14	70.00
30-34	22	3	13.64	4	18.18	15	68.18
35-39	24	4	16.67	6	25.00	14	58.33
40-44	20	3	15.00	9	45.00	8	40.00
45-49	20	1	5.00	10	50.00	9	45.00
50-54	26	0	0.00	15	57.69	11	42.31
55-59	18	1	5.56	7	38.89	10	55.56
60-64	10	0	0.00	7	70.00	3	30.00
≥65	19	1	5.26	9	47.37	9	47.37
Total	277	24	8.66	125	45.13	128	46.21

나타나며, 이에 관해서는 다음의 세포배양을 이용한 독소중화법과 효소면역 측정법의 비교에서 좀더 서술하고자 한다.

2) 세포배양을 이용한 독소중화법과 효소면역 측정법의 비교

Vero cell을 이용한 독소중화법은 디프테리아 독신이 Mammalian cell의 단백질 합성을 방해하여 세포성장을 저해, 사멸시키는 것을 이용한 방법으로서 *In vitro* 실험법중 가장 정확성과 재현성이 뛰어나 *In vivo* 실험을 대신하고 있다. 그러나 세포배양을 이용한 독소중화 실험법은 세포배양의 기술을 필요로 하고 결과를 판독하기 위해 37°C에서 4-5일을 배양해야만 하는 단점이 있다. 반면에 효소면역 측정법은 특별한 기술을 필요로 하지 않으며 단시간에 결과를 볼 수 있는 이점으로 인하여 현재 효소면역 측정법으로 디프테리아 항체를 측정하기 위한 연구가 많이 진행되고 있다.

따라서 본 연구에서도 효소면역 측정법을 실시하여 나온 결과를 세포배양을 이용한 독소중화시험법의 결과와 비교하였으며 그 결과는 Fig. 3과 같다. Fig. 3에서 보이는 것처럼 세포배양을 이용한 측정법과 효소면역 측정법을 회귀방정식으로 비교해 본 결과 $r^2=0.38(p<0.0001)$ 로 차이가 발생하는데, 이것은 독신을 독소이드로 만드는 과정이나 독소이드를 Well plate에 고정화시키는 단계에서 항원의 구

조변화 또는 독소이드 제조과정 중 삽입된 오염물에 혈청중의 항체가 반응하기 때문으로 여겨진다.^{21,22)}

세포배양을 이용한 독소중화법과 효소면역 측정법의 0.01 IU/μl 이상 및 미만의 항체가를 지니는 검체수를 비교한 표는 Table 5와 같다.

Table 5를 보면 세포배양을 이용한 독소중화법에서 디프테리아 항체가가 0.01 IU/μl 미만이나 효소면역 측정법에서 0.01 IU/μl 이상인 경우가 70명으로 전체의 25.27%에 달하는 것을 볼 수가 있으며, 이 수치는 일반적으로 실제 값보다 측정치가 높게 나타나는 효소면역 측정법의 특성과도 부합된다. 하지만 세포배양을 이용한 독소중화법과 효소면역 측정법 모두에서 항체가가 0.01 IU/μl 이상인 경우에는 전체 191명중 183명(66.06%)으로 두 실험법이 조금더 일치함을 보여주고 있다. 결론적으로 볼 때 효소면역 측정법은 실험방법이 간편하고 결과 판독기간이 짧은 장점은 있으나 세포배양을 이용한 독소중화법에 의한 결과에 상충되는 것이 많으며, 특히 디프테리아 항체가의 수치가 낮은 경우에도 면역력이 있는 것으로 나타날 확률이 높아 디프테리아 항체가의 측정법으로 적당하지 않은 것으로 여겨진다.²³⁾

IV. 결 론

디프테리아는 호흡기 질환으로서 과거에는 전세계적으로 유행한 질병이었다. 그러나 디프테리아 독소이드가 개발되고 이를 구성성분으로 하는 백신이 보편화되면서 그 발병률이 크게 감소하여 박멸까지 가능할 것으로 기대되었다. 그러나 1990년대 들어 디프테리아가 구소련연방 지역을 중심으로 다시 유행되기 시작하였으며, 이러한 디프테리아 재발생의 가장 큰 특징은 발병 연령의 변화로서, 이는 성인 인구의 디프테리아 면역력 손실 때문으로 여겨진다. 따라서 이러한 디프테리아 유행의 변화에 비추어서 우리나라 국민의 연령별 디프테리아 항체가는 어느 정도

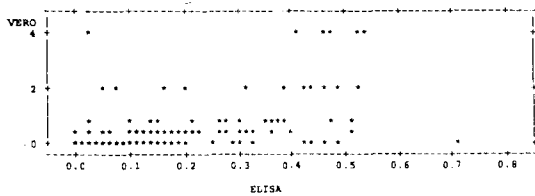


Fig. 3. Comparative diphtheria antibody titer according to the neutralization method and ELISA method ($r^2=0.38, p<0.0001; y=3.582x-0.413$).

Table 5. Comparison of neutralization method with ELISA method

Test method	ELISA		Total	
	<0.01IU/ml	≥0.01IU/ml		
Neutralization	<0.01IU/ml	16(18.6%)	70(25.27%)	86(31.05%)
	≥0.01IU/ml	8(4.19%)	183(66.06%)	191(68.95%)
Total		24(8.66%)	253(91.34%)	277(100.00%)

(Kappa index=0.18)

인지 파악하고, 남녀별 항체가의 차이가 있는지 알아 보며, 사람 혈청중의 디프테리아 항체가 측정법으로서 효소면역 측정법을 세포배양을 이용한 독소중화법과 비교하여 그 유용성 여부를 조사하고자 한다.

본 연구는 서울 지역 3개 병원에서 277건의 혈청을 sampling하여 측정된 결과, 1) 0.01 IU/μl 미만이 31.05%, 0.01 IU/μl 이상이면서 0.09 IU/μl 이하가 40.79%, 0.1 IU/μl 이상이 28.16%로서, 68.95%가 기본적인 디프테리아 면역력을 가지고 있었다. 2) 연령별 구분에 따른 디프테리아 항체가 측정 결과 20-40세의 연령층에서 가장 낮은 디프테리아 항체가를 나타내었다. 3) 연령별 구분에 따른 디프테리아 항체가의 GMT는 소아에서 그 수치가 높다가 점차 감소하였으며 노령 인구에서 가장 낮은 표준편차를 보였다. 4) 남녀 성별 구분에 따른 디프테리아 항체가는 남성의 70.94%, 여성의 66.66%가 0.01 IU/μl 이상을 나타내었으며 성별에 따른 차이는 유의하지 않았다($\chi^2=0.59$, $p<0.05$). 5) 효소면역 측정법으로 측정된 디프테리아 항체가는 전체적으로 세포배양을 이용한 독소중화법보다 높았으며, 두 시험법의 상관계수 r^2 은 0.38이었다. 또한 세포배양을 이용한 독소중화법으로 구한 항체가가 0.01 IU/μl 미만인 혈청에서도 양성(0.01 IU/μl 이상)의 결과가 많았다.

참고문헌

- 1) 국립보건원 보건복지부 : 감염병 실험실 진단 지침, 1996.
- 2) WHO/EPI/GEN/93.12 : Immunological basis for immunization (Module 2, Diphtheria, 91-102.
- 3) 손영모 : 디프테리아, 파상풍, 백일해(DTP), 대한의학협회지, 3, 242-246, 1991.
- 4) Morbidity and Mortality Weekly Report, CDC, 44, 177-181, 1995.
- 5) Y. Youwang, D. Jianming, X. Yong, Z. Pong : Epidemiological features of outbreak of diphtheria and its control with diphtheria toxoid immunization, *Int. J. Epidemiol.* 21, 807-811, 1992.
- 6) A. M. Galazka, S. E. Robertson, Diphtheria : Changing patterns in the developing world and the industrialized world, *Euro. J. Epidemiol.* 11, 107-117, 1995.
- 7) O. Simonsen : Vaccination against tetanus and diphtheria, *Danish Medical Bulletin*, 36, 24-47, 1989.
- 8) R. K. Gupta, S. Higham, C. K. Gupta, B. Rost, G. R. Siber : Suitability of the Vero cell method for titration of diphtheria antitoxin in the United States potency test for diphtheriatoxoid, *Bio.*, 22, 65-72, 1994.
- 9) S. B. Svevon, K. Larsen : An enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) for the determination of diphtheria toxin antibodies, *J. Immunol. Meth.*, 17, 249-256, 1977.
- 10) M. M. Smith, A. Balfour : Estimation of Corynebacterium diphtheriae antitoxin in human sera: a comparison of an enzyme-linked immunosorbent assay with toxin neutralization test, *J. Med. Microbiol.* 25, 279-283, 1988.
- 11) K. Miyamura, S. Nishio, A. Ito, R. Murato, R. Kono : Microcell culture method for determination of diphtheria toxin and antitoxin titration. I. Studies on factors affecting the toxin and antitoxin titration, *J. Bio. Stand.* 2, 189-201, 1974.
- 12) K. Miyamura, E. Tajiri, A. Ito, R. Murato, R. Kono : Microcell culture method for determination of diphtheria toxin and antitoxin titers using Vero cells. II. Comparison with the rabbit skin method and practical application for sero-epidemiological studies, *J. Bio. Stand.* 2, 203-209, 1974.
- 13) B. Kriz, K. Sladky, B. Buriannova-Vysoka, O. Mottlova, Z. Roth : Determination of diphtheria antitoxin in guinea-pig sera by Jensen and tissue-culture methods, *J. Bio. Stand.* 2, 289-295, 1974.
- 14) M. E. Camargo, L. Silveira, J. A. Fuuruta, E. P. T. Oliveria, O. A. Germek : Immuno-enzymatic assay of anti-diphtheric toxin antibodies in human serum, *J. Clin. Microbiol.* 20, 72-774, 1984.
- 15) 신중우 : 디프테리아, 백일해 및 파상풍의 예방접종, *대한의학협회지*, 8, 51-54, 1965.
- 16) M. Wriz, M. Puccinelli, C. Mele, G. Gentili : Immunity to diphtheria in the 4-70 year age group in Italy, *Vaccine*, 13, 771-773, 1995.
- 17) J. Ispen, Jr. M.D. : Immunization of adults against diphtheria and tetanus, *New England J. Medicine*, 25, 459-466, 1954.
- 18) C. Cellesi, C. Michelangeli, G. M. Rossolini, F. Giovannoli, A. Rossolini : Immunity to the diphtheria, six to 15 years after a basic three-dose immunization schedule, *J. Bio. Stand.* 17, 29-34, 1989.
- 19) A. Galazka, B. Kardymowicz : Immunity against in adults in Poland, *Epidemi. Infect.*, 103, 587-593, 1989.
- 20) N. Khuri-bulos, Y. Hamzah, S. M. Sammmerrai, A. Shehabi, R. Hamed, M. A. Arnaout, J. Turk, H. Qubain : The changing epidemiology of diphtheria in Jordan, *Bulletin of the World Health Organization*, 66, 65-68, 1988.
- 21) B. Christenson, M. Bottiger : Serological im-

- munity to diphtheria in Sweden in 1978 and 1984. Scandi. J. Infect. Dis. 18, 227-233. 1986.
- 22) B. A. Rix, A. Zhobakas, C. H. Wachmann, V. Bakasenas, T. Ronne : Immunity from diph-theria, tetanus, polimyelitis, measles, mumps and rubella among adults in Lithuania. Scandi. J. Infect. Dis. 26, 459-467. 1994.