

효소면역법을 이용한 혈청내 집먼지진드기- 특이 IgE 항체 측정의 적정화

아주의대 알레르기-면역 내과
유탍·남동호·박해심

Validation of measurement of house dust mite-specific IgE antibodies in serum using enzyme-linked immunosorbent assay

Tak Yoo, Dong-Ho Nahm, and Hae-Sim Park

*Department of Allergy and Clinical Immunology, Ajou University School of Medicine,
Suwon, Korea*

Background: Measurement of allergen-specific IgE antibodies using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) has been developed and the results were shown to correlate well with those obtained by radioimmunoassay (RIA). However, consensus on the optimal condition and data expression method for the measurement of allergen-specific IgE using ELISA is still not present.

Object: To define the optimal condition for the measurement of allergen-specific IgE using ELISA and to evaluate the accuracy and reproducibility of the results,

Method: We measured the concentrations of house dust mite-specific IgE antibodies in serum samples by ELISA and RIA method (AlaSTAT, DPC, USA) using standardized *Dermatophagoides farinae* antigen (kindly donated by Allergopharma Joachim Ganzer KG, Reinbek, Germany).

Results: Optimal antigen coating amount was 2 μ g/well and optimal serum dilution was 1:10 for ELISA. The expression of the absolute concentration of house dust mite-specific IgE antibodies within the unknown sample using serial dilutions of samples and standard serum seemed to be more reasonable than the expression of absorbance value at a single serum dilution, because the former method provided better inter-assay variation and correlation with RIA results. The results of specific IgE measurement using ELISA significantly correlated with RIA results ($r=0.96$, $p<0.001$, $n=26$).

Conclusion: These findings suggest that the measurement of allergen-specific IgE antibodies using the ELISA method can be accurate and reliable if optimal assay conditions and standardized data expression are applied.

key words: specific IgE, house dust mite, ELISA

* 본 연구는 남동호에게 지급된 KOSEF 연구비(과제번호 98-0701-003-2)에 의해 지원됨. 연구자중 유탍은 한국과학재단에서 지원된 인턴연구원임.

통신저자: 아주의대 알레르기-면역 내과 남동호

접수: 1999년 1월 3일, 통과: 1999년 2월 5일

서 론

알레르기 질환을 지닌 환자들에서 원인 알레르겐을 찾기 위한 방법으로 혈청내 알레르겐에 대한 특이 IgE 항체 측정이 임상적으로 유용한 진단법으로 사용되어 왔으며, 전통적으로 방사선 동위원소를 이용한 방사면역측정법 (radioimmunoassay: RIA)이 주로 사용되고 있다¹⁾. 그러나 최근들어 효소면역법 (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA)을 이용하여 알레르겐-특이 IgE 항체를 측정하려는 시도들이 이루어지고 있다²⁻⁴⁾.

여러 연구들에서 효소면역법을 이용한 알레르겐-특이 IgE 항체 측정이 방사면역측정법과 비교해서 정확도나 재현성면에서 차이가 없다는 보고들도 있으나²⁻⁴⁾, 일부 연구자들은 효소면역법을 이용한 측정 방법의 정확성, 재현성 및 정량적인 측정의 가능성들에 대해 의문을 제시하기도 한다^{5,6)}. 이러한 근거로는 혈청내에 존재하는 극미량의 알레르겐-특이 IgE 항체를 측정하기 위해서는 solid-phase에 가능한 많은 양의 알레르겐을 부착시키는 것이 필요하나, 효소면역법에서 solid-phase로 사용되는 microtiter plate의 플라스틱 표면은 과거에 사용하던 cyanogen bromide로 활성화된 종이 원판 또는 agarose bead 등에 비해 월등히 적은 양의 단백질이 부착된다는 점에서 예민도를 감소시킬 가능성에 대한 우려가 제시되어 왔으며, 또한 알레르겐 혼합물안에 존재하는 중요 알레르겐 단백질이 전기적 성상이나 분자량등의 다양한 요인으로 인해 플라스틱 표면에 잘 부착되지 않을 가능성에 대한 우려도 있었다⁷⁾.

최근 스웨덴의 Pharmacia회사에서 개발된 cyanogen bromide로 활성화된 cellulose derivative를 solid-phase로 하여 많은 양의 알레르겐을 부착하고, beta-galactosidase가 부착된 항 IgE 항체를 probe로 하여 형광을 이용하여 발색하는 CAP system이 개발되어, 동위원소를 사용하지 않으면서도 기존의 RAST법에 비해

더 나은 민감도와 특이도를 보인다고 보고되어 정확한 측정방법으로 판단된다⁸⁾. CAP system 이외에도 최근들어 화학발광법 (chemiluminescence)을 이용한 측정법이나 동위원소를 이용한 AlaSTAT법등 소위 "2세대 방법"들이 개발되어 과거보다 더 표준화된 결과들을 얻을 수 있게 되었다⁹⁾. 그러나 이 방법들도 검사에 특수한 기계가 필요하고 각각의 검사에 상당한 정도의 시약 비용이 소요되는 단점이 있다.

효소면역법은 다른 방법들에 비해 검사에 필요한 장비가 적고 상대적으로 검사에 필요한 시약의 비용이 적게 소요되며, 동위원소의 사용이 필요하지 않은 장점이 있다. 따라서 각 연구실에서 스스로 알레르겐-특이 IgE 항체 측정을 위한 방법을 확립하여 실험하는 경우 측정에 따르는 경비 절감 효과가 매우 크므로 국내의 연구자들에게는 매우 유용한 연구수단으로 판단된다. 그러나 아직도 효소면역법에 의해 알레르겐-특이 IgE 항체 측정을 위한 검사 조건이나 검사결과를 표현하는 방법에 대해 합의된 보편적인 규칙이 없는 상태로 검사결과의 정확성과 재현성을 높이기 위한 검사조건의 적정화 및 검사결과 표현법의 표준화가 필요한 실정이다^{10,11)}.

이에 연구자는 효소면역법에 의한 알레르겐-특이 IgE 측정을 위한 적절한 검사조건과 검사결과의 적절한 표현 방법을 알아보고, 이 방법이 기존의 방사면역측정법과 얼마나 일치하는지 여부를 관찰해보고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

아주대학교 알레르기-면역내과로 내원한 26명의 알레르기 질환을 가진 환자의 혈청을 -20°C에 냉동 보관하였다가 실험에 사용하였다.

2. 방법

1) 효소면역법에 의한 집먼지진드기-특이 IgE 항체 측정

Microtiter plate (Costar, model 3590, Cambridge, MA, USA)에 우리나라 집먼지진드기 중 우점종인 북아메리카 집먼지진드기(*Dermatophagoides farinae*: Allergopharma Joachim Ganzer KG, Reinbek, Germany) 항원을 carbonate buffer(pH 9.6)로 희석하여 well당 $2\mu\text{g}$ ($40\mu\text{g}/\text{ml}$ 용액 $50\mu\text{l}$)씩 넣은 후 4°C 에서 18시간동안 보관하여 반응시켰다. 0.05% Tween 20이 포함된 인산염완충식염수 (PBST)로 3회 세척 후 단백질의 비특이적 결합을 방지하기 위하여 1% bovine serum albumin(BSA)이 포함된 PBST(1% BSA-PBST)를 well당 $200\mu\text{l}$ 씩 넣어 1 시간 실온에서 반응시켰다. 측정하고자 하는 혈청 검체들을 1% BSA-PBST로 각각 1:10과 1:50 배씩 희석하여 well당 duplicate하여 $50\mu\text{l}$ 씩 넣고 실온에서 2시간 반응시켰다. 다시 PBST로 3회 세척 후 biotin이 부착된 염소 항 IgE 항체 (Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA, USA)를 1% BSA-PBST로 $0.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 희석하여 well당 $50\mu\text{l}$ 씩 넣고 실온에서 2시간 반응시켰다. PBST로 3회 세척 후 peroxidase가 부착된 streptavidin (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA)를 1% BSA-PBST로 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 희석하여 well당 $50\mu\text{l}$ 씩 넣고 실온에서 30분 간 반응시켰다. PBST로 5회 세척 후 TMB 발색용액 (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA)을 각 well당 $75\mu\text{l}$ 씩 넣어 15분간 발색시킨후 $2.5\text{N H}_2\text{SO}_4$ 용액을 동량넣어 반응을 중단 시켰다. 이를 컴퓨터가 부착된 microplate reader (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 450nm 에서 흡광도를 측정하였다. 정량적 측정을 위해서 매 측정시 알고 있는 양의 고농도의 집먼지진드기-특이 IgE 항체를 가진 표준 혈청을 순차적으로 희석한 용액을 각각의 plate에 포함시켰다. Microplate reader와 연결된 컴퓨터를 이용하여 표준 혈청의 희석액의 흡광도로 표준곡선을 그린 후 각 검체의 흡광도와 비교하여

검체내의 집먼지진드기-특이 IgE 항체를 정량하였다.

2) 방사면역측정법을 이용한 효소면역법에 의한 집먼지진드기-특이 IgE 항체측정

동일한 검체 내의 집먼지진드기-특이 IgE 항체를 방사면역측정법을 이용한 kit(AlaSTAT, Diagnostic Product Co., Los Angeles, CA)를 사용하여 제조회사의 추천 방법대로 측정하였다.

3) 효소면역법의 검사조건 및 측정결과 표현 방법의 적정화

우선 측정을 위한 최적의 알레르겐 양과 적정 혈청 희석 배수 및 적정 희석액내의 BSA 농도 및 microtiter plate의 종류 (Immulon 2: Dynatech Laboratories, Inc., Chantilly, Va)에 따른 차이 여부를 확인하였다. 다음으로 표준 혈청을 이용하여 정량적 측정이 가능한지 여부를 알아보기 위해 표준 혈청과 다른 측정검체들을 2배씩 희석하여 측정한 흡광도값의 변화가 서로 평행한지 여부를 관찰하였다. 또한 검사방법의 정확성과 재현성을 평가하기 위하여 동일한 검체를 한꺼번에 여러번 반복 측정한 값의 변이 (intra-assay variation)와 동일 검체를 여러번에 나누어 측정한 경우의 측정치의 변이 (inter-assay variation)를 구하였다. 또한 측정 결과를 표현하는 방법을 하나의 정해진 희석 배수로 희석된 혈청으로 측정된 흡광도로 표시한 경우와 여러 농도로 희석된 검체의 흡광도와 표준 혈청을 희석하여 얻어진 흡광도치의 그래프를 이용하여 절대량으로 표현한 경우의 측정치의 변이 정도와 방사면역측정법으로 측정한 결과와의 상관관계를 계산하였다.

4) Microtiter plate에 부착된 집먼지진드기 주알레르겐 양의 정량

집먼지진드기 주 알레르겐인 Der f 1의 측정은 연구자 등이 이미 발표한 방법과 동일하게 효소면역법을 이용하여 측정하였다¹²⁾. 먼저 상기 실험에 사용된 *Dermatophagoides farinae* 항

Table 1. Inter- and intra-assay variations of ELISA when the results were expressed as absolute concentrations using standard serum

Samples	Test results (IU/ml)			Coefficient of variance (%)
	1	2	3	
Inter-assay variation				
A	11.1	12.42	11.55	5.7
B	3.04	3.36	3.11	5.2
C	0.78	0.71	0.64	9.8
Intra-assay variation				
A	12.42	12.59	12.65	0.9
B	3.51	3.69	3.36	4.7
C	0.618	0.71	0.682	7.0

원내에 주 알레르겐인 Der f 1이 얼마나 들어 있는지를 효소면역법으로 정량하였다. 실험시 일부의 well에는 Der f 1에 대한 단클론항체 (IND-
OOR Biotechnologies Inc., Charlottesville,
VA, USA) 대신 상기 집먼지진드기-특이 IgE
항체 측정시와 동일하게 집먼지진드기 항원을
well당 2 μ g씩 부착하고 검체대신 희석액만 넣은
후 다시 biotin이 부착된 Der f 1에 대한 단클론
항체(INDOOR Biotechnologies Inc.)를 넣었
다. 그런뒤에 peroxidase가 부착된 streptavidin
과 TMB 발색용액을 이용하여 발색하여 Der f
1 표준시약의 흡광도와 집먼지진드기 항원을 부
착시킨 well의 흡광도를 비교하여 well당 부착

된 Der f 1 알레르겐 양을 정량하였다.

5) 통계처리

통계처리는 SPSS 프로그램을 이용하여 분석
하였다. 측정값의 변이를 변이계수(coefficient
of variance: CV)로 표현 하였으며, $CV(\%) = \text{standard deviation} / \text{mean} \times 100$ 의 공식을
이용하여 산출하였다. CV값이 10% 미만일 경
우 적절한 결과로 해석하였다. 방사면역측정법을
이용한 측정값과 효소면역법을 이용한 측정값간
의 상관관계는 Spearman's rank correlation
test를 이용하여 산출하였다. p 값이 0.05 이하
일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. 효소면역법을 이용한 집먼지진드기-특이

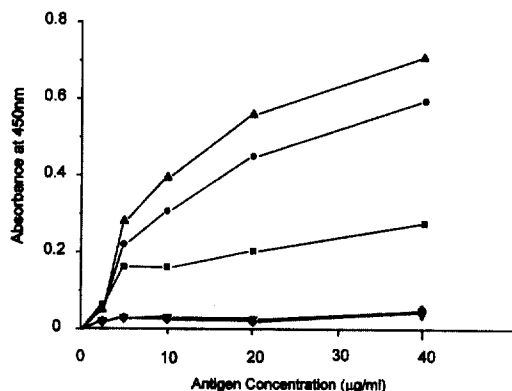


Fig. 1. Determination of optimal antigen-coating concentration for the measurement of house dust mite-specific IgE with sera from five individual atopic subjects

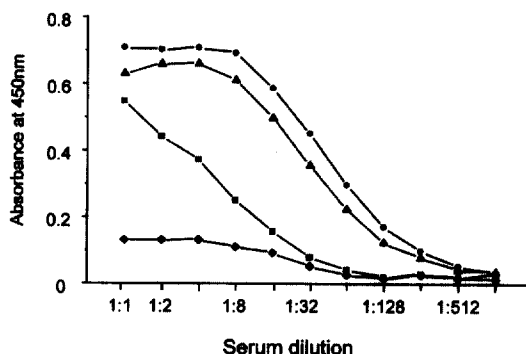


Fig. 2. Determination of optimal measurement of house dust mite-specific IgE with sera from four individual atopic subjects

Table 2. inter- and intra-assay variations of ELISA when the results were expressed as absolute values.

Samples	Test results (absorbance at 450nm)			Coefficient of variance (%)
	1	2	3	
Inter-assay variation				
A	0.200	0.278	0.212	18.3
B	0.231	0.342	0.329	20.3
C	0.122	0.127	0.127	2.3
Intra-assay variation				
A	0.278	0.281	0.282	0.7
B	0.351	0.361	0.342	2.7
C	0.12	0.127	0.125	2.9

IgE 항체 측정을 위한 적정조건

microtiter plate에 부착시킨 집먼지진드기 양이 증가함에 따라 흡광도치가 점차 증가하여 well당 2 μ g을 부착시에 최고의 흡광도치를 보였으며 경제적인 측면을 고려해 실험에 필요한 항원의 양을 well당 2 μ g으로 정하였다(Fig. 1). 혈청을 원액으로 부터 2 배씩 희석해 보았을때 높은 항체 값을 보인 혈청들에서는 1:8 이하의 희석배수에서는 희석에 따른 흡광도치의 변화가 없었으며, 최소한 1:8 보다 큰 혈청희석 배수가 정량적인 측정을 위해 필요하리라 판단되었다(Fig. 2). 또한 1:8 이상의 희석 배수에서는 높은 항체치를 나타낸 표준 혈청과 다른 혈청 검체에서 혈청희석에 따른 흡광도의 감소가 서로 평행하였다(Fig. 2). 이러한 결과를 바탕으로 정량적인 측정시 검체를 1:10과 1:50의 희석배수로 희석하였으며, 각각의 희석배수에서 측정된 흡광도값 중 표준검체에 의한 희석곡선의 직선에 가까운 부위에 해당하는 흡광도를 취하여 정량적인 값으로 표현하였다. 효소면역법을 이용한 집먼지진드기-특이 IgE 항체 측정시 상기와 같이 표준혈청을 이용하여 정량적으로 표현하였을때의 재현성 및 정확성을 확인하기 위해 3 개의 혈청 검체를 이용하여 intra-assay variation과 inter-assay variation을 측정하여 보았을때, 모두에서 변이계수값이 10% 미만의 정확도와 재현도를 보였으나 항체의 절대값이 낮은 경우 측정치의 변이가 증가하는 경향을 보였다 (Table

1). 한편 측정결과 표현시 흡광도치만으로 표현한 경우 intra-assay variation은 변이계수값이 10% 미만이었으나, 반복측정시 inter-assay variation은 변이계수값이 10% 이상이었다(Table 2). 또한 희석액내의 우형 알부민의 농도를 1%에서 3%로 상승시킨 경우나 microtiter plate를 Immunolon 2(Dynatech Laboratories, Chantilly, VA, USA)로 바꾼 경우에도 intra-assay variation의 감소는 없었다(Table 3).

2. 효소면역법과 방사면역측정법에 의한 측정치사이의 상관관계

동일한 26개의 혈청 검체들에서 집먼지진드기-특이 IgE 항체를 상기 효소면역법을 이용하여 정량적으로 측정된 값과 RIA를 이용한 측정값

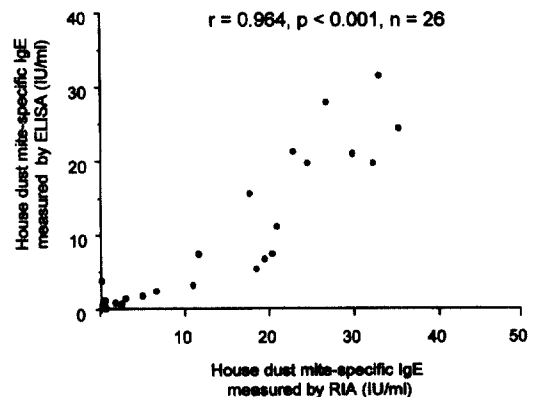


Fig. 3. Correlation between ELISA and RIA measurements of house dust mite-specific IgE in serum samples

Table 3. inter-assay variations of ELISA by changes in bovine serum albumin(BSA) concentration in diluent or type of ELISA plate.

Samples (specific IgE level)	Coefficient of variance (%)			
	Costar 3590 [®] plate		Immulon 2 [®] plate	
	1% BSA	3% BSA	1% BSA	3% BSA
A (22.6 IU/ml)	5.2	2.0	6.6	10.7
B (13.0 IU/ml)	3.2	4.9	3.3	10.2

Table 4. Correlation between absorbance values obtained by ELISA using single serum dilution and radioimmunoassay results (n = 13).

Serum dilution	Correlation coefficient (r)	p value
Nondiluted	0.48	0.098
1:10 dilution	0.91	<0.001
1:50 dilution	0.90	<0.001

사이에 통계적으로 유의한 높은 상관관계를 보였다($r=0.964$, $p<0.001$; Fig. 3). 한편 효소면역법을 이용하여 13개의 혈청 검체내의 집먼지진드기-특이 IgE 항체양을 하나의 회석 배수로 회석된 혈청 검체에서 측정된 흡광도치로 표현한 후 방사면역측정법을 이용한 측정값과의 상관성을 관찰했을때, 혈청 원액을 사용한 경우는 유의한 상관관계가 없었으나($p=0.098$), 1:10 또는 1:50으로 회석한후 측정된 결과와는 유의한 상관관계가 관찰되었다($p<0.001$, Table 4).

3. Microtiter plate에 부착된 집먼지진드기 주알레르겐 양의 정량

집먼지진드기에 대한 특이 IgE 항체 측정을 위해 사용한 *Dermatophagoides farinae* 항원 1mg내에는 Der f1이 55 μ g(전체 항원단백의 약 5.5%)이 포함되어 있었으며, microtiter plate에 *Dermatophagoides farinae* 항원을 well당 2 μ g씩(즉 Der f1으로 110 ng)을 부착시켰을때 실험 과정이 다 끝난 후 마지막까지 붙어있는 Der f1은 0.48ng(최초에 부착시킨 Der f1 단백질의 약 0.44%)이었다.

고 찰

전통적으로 혈청내 알레르겐-특이 IgE 항체 측정을 위해서는 cyanogen bromide로 활성화된 종이 원판과 동위원소가 부착된 항 IgE 항체를 이용한 RAST법이 널리 이용되어 왔으나 최근 들어 동위원소를 사용하지 않으면서도 정확한 측정이 가능한 CAP system(Pharmacia Diagnostics, Uppsala, Sweden)이 개발되어 새로운 표준 방법중의 하나로 여겨지고 있다²⁾. 한편 CAP system 이외에도 본 연구에서 사용한 방법인 동위원소를 이용한 AlaSTAT법 및 화학발광법(chemiluminescence)을 이용한 방법 등 알레르겐-특이 IgE 항체측정을 위한 소위 "2세대 방법"들이 개발되어 과거보다 표준화된 결과들을 얻을 수 있게 되었다⁹⁾. 그러나 이런 측정법들은 사용되는 시약의 비용이나 특별한 장비의 필요성, 그리고 동위원소 사용의 이유로 일반 연구자들이 용이하게 연구 목적으로 사용하기에는 아직 어려운 점이 많다. 이러한 이유로 많은 연구들에서 효소면역법을 이용하여 알레르겐-특이 IgE 항체를 측정하려는 시도들이 이루어지고 있으나^{3,4)}, 아직 적절한 검사 조건이나 검사결과의 표현 방법이 표준화되지 못했으며^{10,11)}, 일부에서는 측정법의 정확성이나 재현성에 대해 문제점을 제시하는 연구들도 있다⁵⁻⁷⁾.

연구자 등이 독일의 Allergopharma Joachim Ganzer KG사로 부터 공급받은 표준화된 집먼지진드기 항원을 이용한 효소면역법으로 혈청내 집먼지진드기 알레르겐-특이 IgE 항체를 측정해본 결과 AlaSTAT법을 이용하여 방사면역측정법으로 측정한 값과 매우 일치하는 결과를 보였다. 그러나 효소면역법을 이용한 측정 조건을 결정하는 과정에서 정확한 측정법을 얻기 위해 필요한 몇가지 조건들을 알 수 있었다. 즉, 측정하려고 하는 알레르겐에 따라 알레르겐 부착 농도와 혈청 희석배수 및 측정결과의 표현법 등이 검사결과의 정확도와 재현성에 영향을 미칠 수 있다는 사실이다. 본 실험 결과에서 집먼지진드기 알레르겐-특이 IgE 항체를 정량적으로 측정하기 위해서는 최소한 10배 이상의 혈청 희석배수와 well당 2 μ g 내외의 알레르겐 단백질의 부착이 필요한 조건으로 여겨진다. 또한 효소면역법에 의한 측정 결과의 표현 방식도 흡광도 자체만으로 표현하는 경우에 동시에 측정한 결과들을 비교하는 것은 비교적 합당하나, 다른 시기에 측정된 결과를 같이 표현할 경우 inter-assay variation이 심하므로 표준혈청을 이용하여 정량적으로 표현하는 것이 실험결과의 재현성을 높인다는 관점에서 더 바람직하다고 판단된다.

효소면역법은 기존의 RAST법이나 CAP system을 이용한 측정법에 비해 몇가지 결정적인 단점들을 가지고 있다. 대표적인 두가지 단점 중에 첫째 단점은 solid-phase에 부착 가능한 단백질의 양이 RAST에 사용되는 종이 원판의 경우 약 10 μ g, CAP의 경우 약 30 μ g인데 비해 ELISA plate의 경우 1 μ g 미만인 점에서 적은 양의 특이 IgE 항체의 측정시 예민도가 부족할 가능성이 많다고 판단된다³⁾. 특히 본 실험에서 집먼지진드기에 대한 단크론항체를 이용하여 정량해 보았을 때 microtitier plate에 부착시킨 Der f 1 항원의 약 0.44%만이 부착된 채로 남아있었던 사실 또한 이러한 우려와 일치하는 소견으로 판단된다. 아마도 이러한 소량의 알레르겐

만이 부착되어 있었으므로 효소면역법을 이용한 측정시 낮은 혈청 희석배수에서 혈청 검체내 고농도의 항체가 존재하면서 항체과잉으로 인해 적절한 항원-항체 반응을 이루지 못하는 것으로 판단되며, 이에 따라 정량적인 측정을 위해서는 혈청을 희석하여 검체내의 특이 항체 농도를 낮추는 작업이 필요한 것으로 판단된다. 또한 효소면역법의 두번째 단점으로 solid-phase에 부착된 알레르겐과 반응한 특이 IgE 항체를 검출하는 tracer와 이를 정량하는 방법에 있어서도 효소면역법에서 사용하는 발색제의 흡광도로 표현하는 방법보다는 동위원소의 방사선 량의 측정이나 형광을 이용한 표현법이 조금더 많은 범위를 포함하여 혈청 희석의 필요성을 없애거나 낮은 농도의 항체를 측정하는데 적합할 수도 있다고 판단된다. 이러한 단점을 극복하기 위해 avidin과 biotin을 이용한 신호증폭방법을 사용하거나^{2,4)}, 최종발색시 기존의 발색제 대신에 화학발광법을 이용하여 효소면역법의 민감도를 높여려는 시도가 이루어져 왔으며⁹⁾, 본 연구에서도 avidin-biotin법을 이용한 신호증폭방법을 사용하였다.

이상으로 효소면역법을 이용한 알레르겐-특이 IgE 항체의 정량시 검사에 적절한 조건을 미리 찾아 검사를 시행할 경우 정확하고 재현성 있으며 방사면역측정법을 이용한 측정결과와 일치하는 결과를 얻을 수 있으리라 판단된다.

결론

혈청내의 집먼지진드기에 대한 특이 IgE 항체 측정을 위한 효소면역법은 재현성이 높고 정확하며 방사면역측정법에 의한 결과와 매우 높은 상관관계를 보였다. 그러나 실험조건 및 결과의 표현 방법에 따라 결과의 정확성이나 재현성에 차이가 있을 수 있으므로 실험에 필요한 적절한 조건을 찾아 표준화된 방법으로 결과를 표현하려는 노력이 필요할 것으로 판단된다.

참고 문헌

- 1) Wide L, Bennich H, Johansson SGO: Diagnosis of allergy by an in vitro test for allergen antibodies. *Lancet* 2:1105-7, 1967.
- 2) Metzger WJ, Butler JE, Swanson P, Reinder E, Richerson HB: Amplification of the enzyme-linked immunosorbent assay for measuring allergen-specific IgE and IgG antibody. *Clin Allergy* 11:523-531, 1981.
- 3) Ali M, Ramanarayanan M: A computerized micro-ELISA assay for allergen-specific IgE antibodies. *Am J Clin Pathol* 81:591-601, 1984.
- 4) Ubba Rao PV, McCartney-Francis NL, Metcalfe DD: An avidin-biotin microELISA for rapid measurement of total and allergen-specific human IgE. *J Immunol Method* 57:71-85, 1983
- 5) Reid MJ, Kwasnicki JM, Moss RB, Cheung NKV: Underestimation of specific immunoglobulin E by microtiter plate enzyme-linked immunosorbent assays. *J Allergy Clin Immunol* 76:172-6, 1985
- 6) Kauffman HF, van der Heide S, Hovenga H, de Vries K: Standardization of house dust mite extracts: liberation of allergenic and antigenic components in relation to extraction conditions. *Allergy* 40:143-50, 1985
- 7) Hamilton RG, Adkinson NF Jr: Immunological tests for diagnosis and management of human allergic disease: total and allergen-specific IgE and allergen-specific IgG. In Rose NR, de Macario EC, Folds JD, Lane HC, Nakamura RM (eds): *Manual of clinical laboratory immunology*. 5th ed, p 881-892. ASM press, Washington DC, 1997
- 8) Bousquet J, Chanez P, Chanal I, Michel MB: Comparison between RAST and Pharmacia CAP system: A new automated specific IgE assay. *J Allergy Clin Immunol* 85:1039-43, 1990.
- 9) Plebani M, Bernardi D, Basso D, Borghesan F, Faggian D: Measurement of specific immunoglobulin E: intermethod comparison and standardization. *Clin Chem* 44:1974-9, 1998
- 10) Feger TA, Dolen WK, Ford JL, Ponder RD, Hoffman DR, Stafford CT: Laboratory evaluation of a commercial immunoassay for fire ant allergen-specific IgE antibodies. *J Allergy Clin Immunol* 96:182-7, 1995
- 11) Tame A, Sakiyama Y, Kobayashi I, Terai I, Kobayashi K: Differences in titres of IgE, IgG4 and other IgG subclass anti-Der p 2 antibodies in allergic and non-allergic patients measured with recombinant allergen. *Clin Exp Allergy* 26:43-9, 1996
- 12) 박해심, 남동호, 채보원: 표준화 방법을 이용한 국내에서 사용되는 여러가지 아메리카 집먼지진드기 알레르겐의 비교. *알레르기* 16:19-25, 1996
- 13) L Yman: In Clinical Workshop on IgE antibodies and the Pharmacia CAP system in allergy diagnosis. A report of an international workshop. Uppsala, 23 June 1988