

## 운동선수들의 뇨 중 Human Chorionic Gonadotropin 분석 및 분석키트 평가

최명자 · 이정란 · 김명수\*  
한국과학기술연구원 생체대사연구센터  
서울 성북구 하월곡동 39-1 (우)136-791

### Assay of Human Chorionic Gonadotropin in Urine of Athletes and Evaluation of Assay Kit Performance

Myung Ja CHOI, Jung Ran LEE and Myungsoo KIM\*

Bioanalysis & Biotransformation Research Center, Korea Institute of Science and Technology,  
39-1 Hawolgok-dong, Sungbuk-gu, Seoul 136-791, Korea

(Received August 20, 2002 ; accepted September 13, 2002)

**Abstract** – Special attention has been paid to human chorionic gonadotropin (hCG) for athlete doping control because it stimulates the endogenous production of testosterone and epitestosterone without increasing the T/E ratio which is a doping indicator for the exogenous administration of testosterone. Even though the IOC banned the use of hCG, a detection method has not been decided upon since there are a variety of immunoassay kits available on the market. We evaluated three kits in terms of their performance characteristics. The assay value of the control sample varied depending on the kit, resulting in 198 mIU/ml for the MAIA kit, 172 mIU/ml for the IRMA kit, and 143 mIU/ml for the MEIA kit. Considering the IOC inter-lab distribution of results (55 - 312 mIU/ml) using 27 different kits and the mean value ( $178 \pm 56$  mIU/ml), all three kits are within the range of  $-15.8\%$  -  $+5.6\%$  of the mean value, which proves them useful for the hCG assay. The MEIA kit resulted in lower hCG values because it detects only intact hCG molecules, in contrast to the other two kits which detect intact hCG and  $\beta$ -hCG together. However, it is suitable for screening purposes because of its advantage of being an automated system. When 123 urine samples of athletes were analyzed in 22 batches using this system, the variation of control values fell within  $\pm 10\%$  of the mean values, and all specimens tested negative with hCG values less than the detection limit of 2 mIU/ml.

**Key words** □ hCG doing, urine, athletes, kit evaluation

인체유모성성선자극호르몬 (human chorionic gonadotropin, hCG; MW: 37,900 dalton)은 시알로글리코단백질 (sialoglycoprotein)로서 임신 중 태반의 trophoblast cells에서 분비되는 호르몬이다. 이 호르몬은 남성과 여성의 스테로이드 성호르몬 생성을 자극하므로 치료제로 사용하고 있다. 따라서 이 호르몬의 생성기전을 이용하면 내인성의 테스토스테론 또는 기타 anabolic steroid의 생성을 촉진시킬 수 있으므로 운동선수들이 경기기량의 증진을 위해 오용할 수 있는 계기가 되고 있다 (Cowan *et al.*, 1991).

일반적으로 운동선수들의 약물검사에서 테스토스테론의 투여여부는 뇨 중 testosterone/epitestosterone (T/E)의

비율에 의해 검출하고 있다. 테스토스테론을 외부에서 투여하면 T/E의 비율이 높아지므로 테스토스테론의 투여 여부를 검색할 수 있으나, 내인성으로 테스토스테론의 생성이 많아지면 T/E 비율에 변화가 없으므로 약물검사에서 이 방법은 사용할 수가 없다. 따라서 1987년 IOC에서 hCG를 금지약물 목록에 포함시켰으며, hCG 10 mIU/ml을 금지약물의 cut-off 값으로 권장하고 있다 (Laidler *et al.*, 1994).

hCG는 분자구조가 다른 알파와 베타 두개의 subunit로 구성되어 있다.  $\alpha$ -subunit는 92개의 아미노산으로 구성된 14.9 KDa의 glycosylated polypeptide이다. 이  $\alpha$ -subunit는 뇌하수체호르몬인 human luteinizing hormone (hLH), human follicle stimulating hormone (hFSH), human thyroid stimulating hormone (hTSH)의  $\alpha$ -subunit와 동일하

\*To whom correspondence should be addressed.

며, 실제로 이들 호르몬의 생리학적 차이는  $\beta$ -subunit의 차이에서 나타나는 것으로 알려져 있다 (Hoermann *et al.*, 1990). 반면에  $\beta$ -subunit는 145개의 아미노산으로 구성된 23.0 KDa의 glycosylated polypeptide로서 serum 중 free  $\beta$ -hCG는 intact hCG의 약 1% 정도인 것으로 알려져 있다. 특히 hCG의  $\beta$ -subunit는 hLH의  $\beta$ -subunit와 유사하며, 단지 c-terminal amino acids 몇 개가 다르며, glycosylation이 더 많이 되어 있다는 차이점이 있다. 그러나 이들 호르몬은 항체에 대한 반응성이 각각 다르므로 면역학적 분석법으로 그 특이성에 의해 검출할 수 있다.

hCG는 임신하지 않은 건강한 여성의 경우 3-5 mIU/ml 정도이나 정상임신의 경우 배란 후 7-11일부터 증가하기 시작하여 착상 5주까지 기하급수적으로 증가하므로 임신판정의 마커로 이용되고 있다. 건강한 남성의 경우 거의 검출되지 않으며, 50세 이하에서는 0.7 mIU/ml, 50세 이상에서는 2 mIU/ml로 보고되고 있다 (Alfthan *et al.*, 1992). 또한 hCG는 혈청시료와 뇨시료에서 차이가 없는 것으로 보고되고 있다 (Alfthan *et al.*, 1992).

운동선수들의 약물검사에서 hCG 분석은 아직 표준화된 방법이 없으며, 분석방법에 따라 그 분석값의 차이가 매우 다르게 나타나고 있다. 2001년도 IOC에서 수행한 재공인시험 결과에 의하면 사용한 hCG 면역분석 키트에 따라 6배 정도의 차이를 나타내는 것으로 보고되었으며, 이전에도 유사한 결과가 보고된 바 있다 (Cole *et al.*, 1992). 이는 면역분석법이 항원과 항체의 특이반응성을 이용하는 분석법으로서 면역항체를 얻는데 사용한 hCG 항원에 의해 생산된 항체가 뇨에 존재하는 유사한 구조를 가진 다양한 형태의 hCG와 그 subunit들에 대한 교차반응성이 다른 데에 기인하며, 또한 면역분석법 개발에 이용한 다양한 반응원리와 그 분석법 디자인에 따라서 반응성의 차이가 있기 때문이다.

따라서 운동선수들의 hCG 분석을 위해 국내에서 쉽게 구입할 수 있는 두 종류의 습식수동식키트와 한 종류의 자동화키트를 선택하여 사용지침서에 따른 분석원리와 키트의 특성을 조사한 후, 대조시료를 사용하여 그 분석법을 평가하였다. 본 연구에서는 이들 세 종류 키트에 대한 분석평가 및 선정된 키트를 사용하여 123명의 운동선수들의 hCG 뇨를 분석한 결과이다.

## 실험방법

### 시약

**MAIA Clone™ hCG Kit (MAIA Kit; BioChem ImmunoSystems, Roma, Italy)**

이 키트는 자성미립자를 사용하는 자성미립자방사면역 분석키트 (magnetic solid phase radioimmunometric assay,

MAIA)로서 혈청이나 혈장시료를 사용하는 hCG와 베타 subunit를 동시에 검출할 수 있는 정량분석 키트이다. 이 키트는 calibrator,  $^{125}\text{I}$ -anti-hCG reagent, 시료희석액, 자성미립자항체분리시약, 시료희석액, 세척액, controls로 구성되어 있다. hCG calibrator는 6 level (0, 5, 10, 25, 100, 500 mIU/ml)로서 WHO 3rd IS 75/537 를 사용하여 표준화했으며, calibrator matrix는 말혈청을 사용하였다.  $^{125}\text{I}$ -anti-hCG reagent (방사선허체시약)는  $^{125}\text{I}$ 를 label한 두 종류의 모노클론항체와 형광물질을 label한 한 종류의 모노클론항체의 혼합물로서  $^{125}\text{I}$ 를 label한 두 종류의 모노클론항체는 각각 intact hCG와  $\beta$ -subunit에 특이반응성을 나타내며, 형광물질을 label한 모노클론항체는  $\beta$ -subunit에 특이반응성을 나타내도록 되어 있다. Separating reagent (자성미립자항체분리시약)는 자성미립자에 형광물질항혈청을 접합시킨 항혈청시약이다. 시료희석액은 말혈청을 사용했으며, 세척액은 tris buffer 용액이다. control은 음성과 양성 ( $26 \pm 3$  mIU/ml) 2 level로 구성되어 있다.

**Coat-a-Count® hCG IRMA Kit (IRMA Kit; Euro/DPC Ltd., Llanberis, UK)**

이 키트는 polystyrene test tube에 단일클론항체를 코팅하여 고상형항체로,  $^{125}\text{I}$ -labeled 폴리클론항체 용액을 tracer 항체로 사용하는 방사면역분석법 (immunoradiometric assay: IRMA)으로서 hCG를 검출할 수 있는 정량 분석 키트이다. 이 키트는 calibrator, 고상형항체,  $^{125}\text{I}$ -PAb reagent (방사선허체시약), 분석 buffer, 농축세척액으로 구성되어 있다. hCG calibrator는 7 level (0, 5, 25, 50, 100, 250, 500 mIU/ml)로서 WHO 3rd IS 75/537 (=WHO 2nd IS 61/6)를 사용하여 표준화했으며, calibrator matrix는 hCG가 없는 인간혈청을 사용하였다. 고상형항체는 단일클론항체를 polystyrene tube에 결합시킨 것이며,  $^{125}\text{I}$ -폴리클론항체 시약 (방사선허체시약)는  $^{125}\text{I}$ 를 label한 폴리클론항체용액이다. 분석 buffer는 반응액으로 사용하거나 시료희석액으로 사용할 수 있다. 농축세척액은 중류수로 희석하여 사용한다.

**IMx hCG MEIA Kit (MEIA Kit; Abbott Labs., Abbott Park, IL, U.S.A.)**

이 키트는 자동화된 분석기기를 사용하는 미립자효소 면역분석키트 (microparticle enzyme immunoassay; MEIA)로서 혈청이나 혈장시료를 사용하는 hCG 정량분석 키트이다. 이 키트는 calibrator, reagent pack, control로 구성되어 있다. hCG calibrator는 6 level (0, 10, 50, 250, 500, 1000 mIU/ml)로서 WHO 3rd IS 75/537를 사용하여 표준화했으며, calibrator matrix는 소혈청을 사용하였다. Reagent pack은 미립자항체 (mouse monoclonal hCG antibody-coated microparticles), 효소항체 (goat  $\beta$ -

hCG antibody-alkaline phosphatase conjugate), 효소기질 (4-methylumbelliferyl phosphatate; 4 MU-Pi), 시료희석액 (animal serum)으로 구성되어 있다. 3 level의 control은 hCG 적중농도가 각각  $25 \pm 7$ ,  $100 \pm 25$ ,  $600 \pm 150$  mIU/ml이다. 그 밖에 기기 자동화에 따른 reaction cell을 사용하였다.

#### 노시료, Blank 노, Control

운동선수들의 뇨는 경기 직후 채취하여 사용시까지 4°C에 보관하였으며, assay validation을 위해 투약하지 않은 건강한 남성뇨를 blank로 사용하였다. 분석 전에 뇨를 12,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 사용하였다. Control로서 Lyphochek® (BioRad, CA., U.S.A.)을 사용하였다.

### 실험방법

#### MAIA Kit

테스트튜브에 calibrator, control, 노시료를 각각 50 ul 가하고 여기에 방사선허체시약 500 ul를 가한 후 잘 섞고 37°C 항온수조에서 15분간 반응시킨다. 자성미립자항체 분리시약을 200 ul 가한 후 가볍게 흔들어 준 후 실온에서 5분간 반응시킨다. Magnetic separator rack에 반응된 테스트튜브를 꽂고 2분간 방치하면 자성미립자 complex가 침전하게 된다. 조심하여 상등액을 버리고 흡수지에서 blot시킨 후 다시 500 ul의 세척액을 가한다. 가볍게 mix한 후 separator rack에 2분간 방치하면 자성미립자 complex가 다시 침전하게 된다. 다시 조심하여 상등액을 버리고 흡수지에서 5분간 잔류액을 흡수시킨 후 감마카운터로 1분간 카운트한다. 모든 실험은 duplicate assay로 결과를 얻었다.

#### IRMA Kit

단일클론항체가 결합된 고상형항체 tube에 각각 100 ul의 calibrator, control, 노시료를 가하고 실온에서 30분간 tube rack을 흔들어 준다. 튜브에 있는 반응액을 데칸트하고, 세척액을 2 ml 가해 실온에서 1-2분 방치한 후 다시 데칸트하여 세척하고 잔류용액을 흡수지에 흡수시킨다.  $^{125}\text{I}$ -Pab reagent을 500 ul 가해 실온에서 30분간 tube rack을 흔들어 준 후 데칸트하고 세척액을 2 ml 가해 실온에서 1-2분 방치한 후 다시 데칸트하여 잔류용액을 흡수지에 흡수시킨다. 세척과정을 한번 더 반복하여 흡수지에 흡수시킨 후 감마카운터로 1분간 카운트한다. 모든 실험은 duplicate assay로 결과를 얻었다.

#### MEIA Kit

Calibration curve 확립 및 시료분석을 위해 다음과 같이 수행하였다. 시약팩의 뚜껑을 열고 reagent heater block에 놓는다. Reaction cell을 carousel에 놓고, calibrator와 control을 reaction cell에 가한다. CAL mode를 선택하고 RUN을 누른다. Display window에 MULTI\_TASK라

는 글자가 나타나면 botton을 누르고 시료에 대한 정보를 기록한다. Calibration이 accept되면, control과 시료 200 ul를 각각의 carousel에 있는 reaction cell에 차례로 가하고 RUN을 누른다. 프린트되어 나온 분석데이터를 평가한다. Calibration은 duplicate assay로 결과를 얻었으며 시료는 single assay로 하였다.

#### hCG 표준곡선 확립 및 시료값 계산

표준곡선은 P/C에서 Window 98과 Microsoft Excel 2000과 연계하여 사용하였다. 표준곡선수식은 (standard curve equation)은 MAIA kit의 경우, y축에 net cpm을 x축에 hCG 농도 (mIU/ml)를 log-log scale로 plot했을 때 직선식 (linear regression equation)을 얻을 수 있었다. IRMA kit의 경우, y축에 % bound를 x축에 hCG 농도 (mIU/ml)를 log-log scale로 plot했을 때 직선식을 얻을 수 있었으며, MEIA kit의 경우, y축에 형광반응정도를 x축에 hCG 농도 (mIU/ml)를 log-log scale로 plot했을 때 직선식을 얻을 수 있었다.

### 결과 및 고찰

#### 표준곡선 및 표준곡선 범위

세 종류의 키트 모두 동일한 hCG 표준물질 (WHO 3rd IS 75/537)을 사용하여 보정한 calibrator를 사용했으며, MEIA kit는 0-1000 mIU/ml의 표준곡선범위를 사용하고 있으며, MAIA kit와 IRMA kit는 0-500 mIU/ml 범위를 사용하고 있다. 그러나 calibrator에 사용한 matrix는 각각 달라서 MEIA kit는 소혈청을, MAIA kit는 말혈청을, IRMA kit는 hCG가 없는 인간혈청을 사용하고 있다. 세 종류 키트 모두 log hCG 농도를 x축으로 log 반응도를 y축으로 plot했을 때 직선식으로 나타났으며, 이 표준곡선의 직선식에 의해 시료의 농도를 쉽게 구할 수 있었다 (Fig. 1).

#### 표준곡선의 재현성 및 Run-to-Run Precision

표준곡선의 재현성은 표준곡선의 직선식 ( $\log y = a \log x + b$ )에서의 변수인 a와 b의 변수정도를 통계처리하여 얻었다. 4번의 분석에 걸친 calibration curve의 평균 직선식은 MAIA kit의 경우  $\log y = 0.927 \log x + 5.21$ 이며, IRMA kit의 경우  $\log y = 0.901 \log x - 0.808$ , MEIA kit의 경우  $\log y = 0.918 \log x + 0.496$ 로 나타났으며 slope의 경우 CV가 0.5-4.8%, y축 intercept의 경우 variation이 좀 커서 CV가 9.2-21.5%이나, correlation coefficient의 경우 CV가 0.1% 이하로 나타나 직선식으로 data를 쉽게 구할 수 있었다. MAIA kit와 IRMA kit의 경우 매 batch 마다 calibration curve를 작성하며, control 값을 매번 평가 분석하여 calibration curve의 variation이

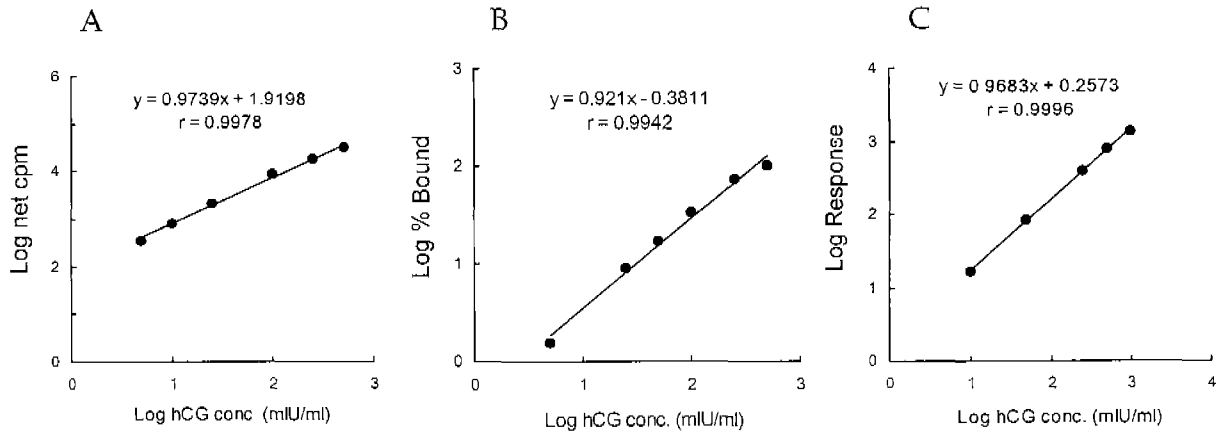


Fig. 1. Typical calibration curve of hCG assay  
A: MAIA kit, B: IRMA kit, C: MEIA kit

Table I. Standard curve reproducibility

Kit	N	Linear Regression Line of Standard Curve (log y = a log x + b)		Correlation Coefficient (r)	
		a	b		
MAIA	4	Mean	0.927	5.210	0.999
		SD	0.044	0.480	0.001
		% CV	4.8	9.2	0.1
IRMA	4	Mean	0.901	-0.808	0.996
		SD	0.029	0.174	0.001
		% CV	3.2	21.5	0.1
MEIA	4	Mean	0.918	0.496	0.999
		SD	0.005	0.060	0.001
		% CV	0.5	12.0	0.01

실제로 문제가 되지는 않지만, 본 실험을 통해 볼 때 매우 안정적으로 나타나고 있음을 알 수 있었다. MEIA kit의 경우 표준곡선이 매우 안정해 10일에 한번씩 작성하며, control 값이 적정범위에 드는 값을 나타낼 때만 표준곡선이 적정한 것으로 평가하였다.

이 때 QC용으로 사용한 control 값의 variation을 통계 처리하여 run-to-run precision 값으로 적용하였다. 그 결과 직선식의 기울기와 y축 intercept의 변이상수 (coef-

icient of variation)가 매우 낮아 표준곡선의 재현성이 우수하였다 (Table I). 따라서 low, medium, high range에서의 run-to-run assay variation도 %CV를 볼 때, 분석결과는 적합점을 인정할 수 있는 범위로서 MAIA kit의 경우 3.5 - 10.8%, IRMA kit의 경우 5.7 - 11.5%, MEIA kit의 경우 5.3 - 11.3%를 나타냈다 (Table II).

**hCG 키트의 비교 및 스크리닝 키트의 선정**

세 종류의 키트는 각각 나름대로의 특성을 갖고 있으며, 그 분석성능 또한 유사하였다 (Table III). MAIA kit나 IRMA kit는 radioisotope <sup>125</sup>I를 tracer로 사용하는 데에 따른 폐기물 처리와 실험 중 취급에 어려움이 있으며, 방사선실에서 실험을 해야 하는 한계성이 있다. 또한 습식 manual type assay에서 오는 오차를 생각할 수 있으나 Table I과 Table II에서 나타났듯이 실제로 그 변수가 매우 적었으며, 일정량의 시료를 분석하는 batch assay에 적합하였다. 반면에 MEIA kit는 시약의 가격이 비싼 것이 흠이 되나, 자동화된 기기를 사용하므로 실험조작에서 오는 오차를 최소화 할 수 있으며, 기기조작이 매우 간단해 숙련된 인력의 필요성에 대한 한계를 극복할 수 있었다. 따라서 소량의 시료를 자주 분석하는데 적합하므로 운동선수들의 시료분석에 MEIA kit를 선정하여 사용하였다.

Table II. Run-to-run precision study

MAIA	IRMA			MEIA			MEIA		
	L	M	H	L	M	H	L	M	H
N	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Mean (mIU/ml)	6.7	24.0	190.7	5.2	20.9	183.9	4.4	14.9	126.8
SD (mIU/ml)	0.4	2.6	6.8	0.6	1.2	14.9	0.5	0.8	11.0
% CV	6.0	10.8	3.5	11.5	5.7	8.1	11.3	5.3	8.7

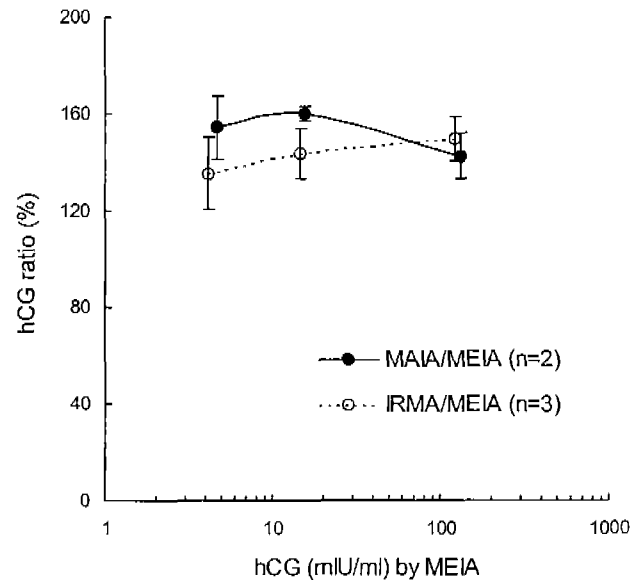
Immunoassay control: Lyphochek® (BioRad, CA., U.S.A.).  
L, M, H: Three level of control: low, medium, high

**Table III.** Comparison of characteristics of three kits

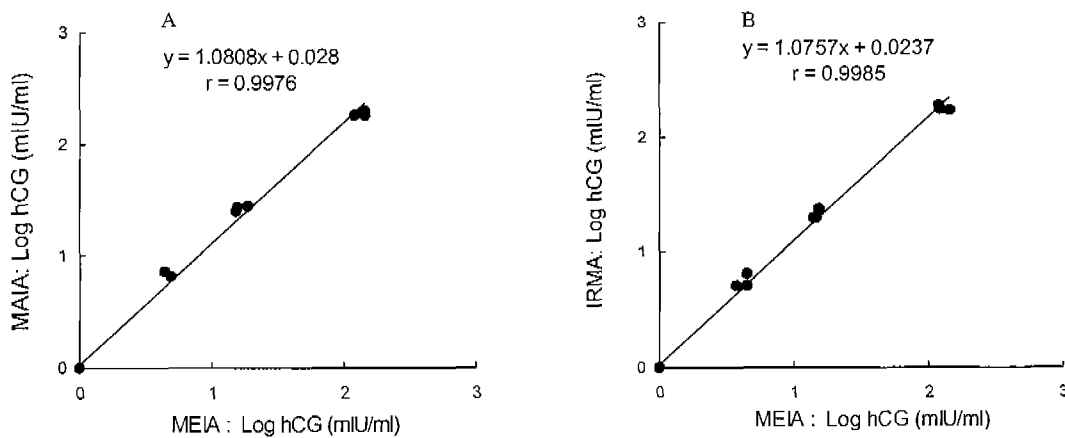
Method	MAIA	IRMA	MEIA
Principle	Immunoradiometric assay using magnetic particle separation	Immunoradiometric assay using polystyrene tube solid phase separation	Magnetic particle enzyme immunoassay using fluorogenic substrate using membrane separation
Assay system	Manual type	Manual type	Auto type
Instrument	General gamma counter	General gamma counter	Built-in fluorometer
Result measurement	End point assay	End point assay	Rate assay
Target analyte	Intact hCG & -hCG	Intact hCG & -hCG	Intact hCG
Sample volume	50 ul	100 ul	< 100 ul
Assay time/batch	2.5 hrs	3 hrs	1 hr
Detection limit	1 mIU/ml	0.3 mIU/ml	2 mIU/ml
Assay sensitivity	50 uIU/test	30 uIU/test	-

**다른 키트와의 상관성 연구 (MEIA vs. MAIA & MEIA vs IRMA)**

MEIA kit를 hCG 검사법으로 채택함에 따라 MAIA kit와 IRMA kit와의 상관성을 조사하였다. 3 level (low, medium, high)의 control을 사용하여 세 종류의 키트로 각각 분석한 후 그 값의 상관성을 MEIA vs. MAIA와 MEIA vs IRMA (Fig. 2)으로 plot하였다. 직선식의 상관 계수 (correlation coefficient, r)는 거의 1로 나타나 키트들의 상관성은 우수했으나 각각의 시료에 대한 hCG 값은 많은 차이를 나타냈다. hCG의 MAIA kit 분석값은 MEIA kit 분석값보다 hCG level에 따라 40-60% 정도 높았으며, IRMA kit도 MEIA kit보다 35-50% 정도 높았다 (Fig. 3). 이들 세 종류의 키트는 동일한 standard 물질 (WHO 3rd IS 75/537)로 표준화된 calibrator를 사용한 점을 고려할 때 면역분석법 개발에 사용한 항체와, calibrator matrix, 분석법원리의 차이에서 오는 항원과 항체의 반응성의 차이로서 이와 같이 다른 값을 나타낼 수 있다. 실제로 노시료를 위에서 기술한 세



**Fig. 3.** Ratio of hCG values for MEIA With each of the other two kits.



**Fig. 2.** Correlation study between the MEIA kit and the other two kits  
A: MEIA kit vs MAIA kit, B: MEIA kit vs IRMA kit

종류의 키트로 분석한 결과는 MAIA kit는 198 mIU/ml, IRMA kit는 172 mIU/ml, MEIA kit는 143 mIU/ml을 나타냈으며, 27 종류의 hCG 검출키트를 사용한 결과인 IOC의 inter-lab 분석치 분포도 55 - 312 mIU/ml (n=73)의 평균값 178±56 mIU/ml (CV 31.7%)과 비교했을 때, 세 종류의 키트 모두 평균치의 -19.7% - +11.2% 범위의 값을 나타냈다.

키트의 특성상 MAIA kit와 IRMA kit는 intact hCG 분자와 β-hCG 분자를 동시에 검출할 수 있는 키트이며, MEIA kit는 intact hCG 분자만을 검출하는 키트로서 MAIA kit나 IRMA kit 보다 hCG 분석치가 낮은 것은 어느 정도 예견한 결과이다. 그러나 면역분석은 그 분석 원리에 따라 상당히 다른 결과를 나타내는 것으로 인정되어 IOC에서도 실험실간의 오차와 분석키트간의 오차도 함께 모니터링하고 있으며, 2001년도 재공인 받은 실

험실간의 hCG 값의 차이는 178±56 mIU/ml (CV 31.7%)로 나타났다. 이러한 결과는 다양한 hCG 키트에 사용한 원료와 항체와 분석원리 차이에서 기인하는 것으로서 그동안의 여러 편의 보고들이 있었다 (Kerrigan *et al.*, 2001, Choi *et al.*, 1991, Thomas *et al.*, 1989).

**뇨시료의 Matrix 영향**

상품화된 hCG kit은 주로 혈청이나 혈장을 시료로 사용하도록 되어 있으므로 뇨시료를 사용할 경우 나타날 수 있는 matrix 영향을 조사하였다. MEIA kit의 경우 matrix 영향을 hCG calibrator를 순차적으로 희석한 두 세트의 hCG 값을 구하여 비교하였다. 이 때, 한세트는 blank 뇨로 희석했으며, 다른 한세트는 시료희석액로 희석하였다. 그 결과, matrix 중 뇨의 양이 60% 이하일 때 serum matrix와 같은 결과 (98 - 100%)를 얻었으며, 70 - 90% 일 때는 serum matrix의 90%에 상응하는 hCG 값을 얻을 수 있으므로 뇨시료를 사용하는 데에 따른 matrix 영향은 거의 없는 것으로 나타났다 (Fig. 4). 또한 대부분의 운동선수들의 뇨시료가 hCG 음성인 점을 감안할 때 뇨시료에 대한 matrix 영향은 고려하지 않아도 되는 것으로 나타났다.

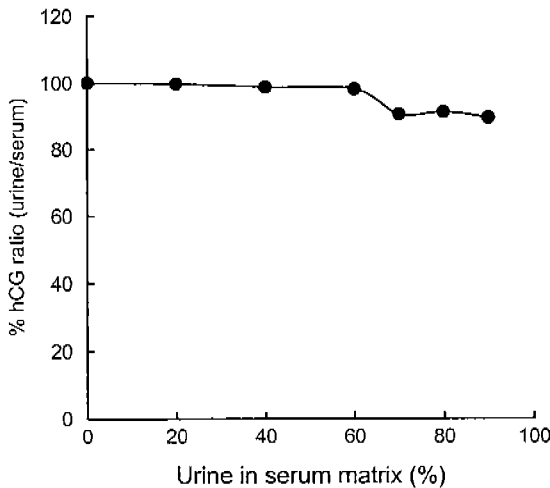


Fig. 4. Effect of urine in the matrix.

**Dilution Linearity**

MEIA kit를 사용하면서, 시료희석배수에 따른 hCG 값의 linearity를 조사했을 때 Fig. 5와 같이 나타났다. 시료희석액인 혈청으로 희석한 경우 ( $y = -0.433x + 43.1$ )와 뇨로 희석한 경우 ( $y = -0.437x + 43.0$ ), urine matrix effect에서 보듯이 높은 농도에서는 hCG 회수율이 좋아 linearity가 좋으나 낮은 농도에서 뇨 희석배수에 따라 그 회수율이 낮아 조금의 차이가 있는 것으로 나타났다.

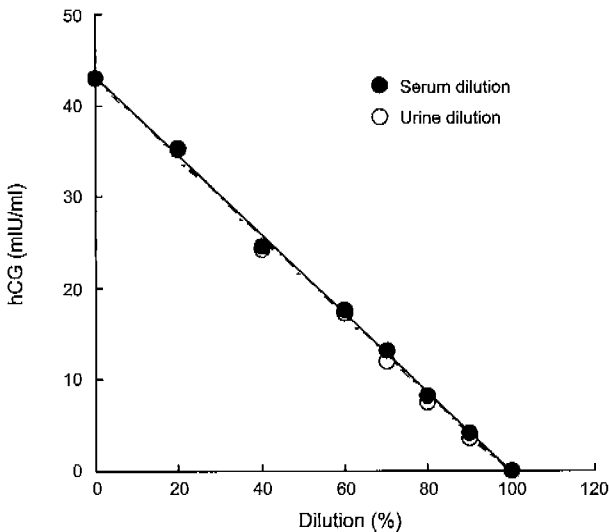


Fig. 5. Dilution linearity by serum and urine.

**운동선수들의 뇨 중 hCG 분석**

운동선수 123명의 뇨시료를 날짜에 따라 22개의 batch

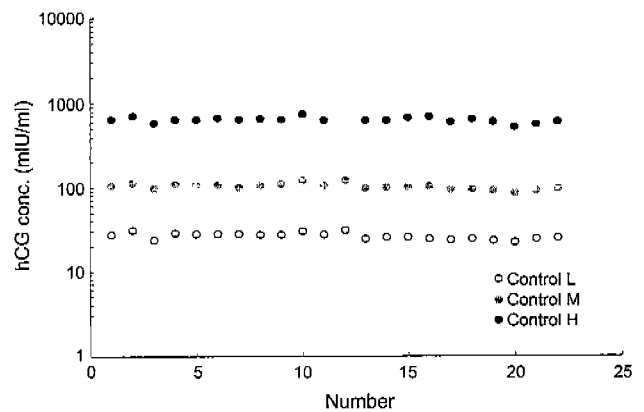


Fig. 6. Distribution of control values for day-by-day assays.

로 분석했으며, 3 level의 control 시료를 QC validation 으로 사용하여 그 결과를 얻었다. 22 batch의 QC variation은 Fig. 6과 같으며, 이를 통계적으로 분석할 때 low, medium, high control에서 각각  $26.2 \pm 2.5$  mIU/ml (CV 9.5%),  $102.4 \pm 9.2$  mIU/ml (CV 9.0%),  $630.4 \pm 50$  mIU/ml (CV 7.9%)이므로 예상치의 10% 이내의 오차로 분석이 수행되었음을 알 수 있었다. 따라서 모든 뇨 시료의 분석결과를 판정하는데 오류가 없었으며, MEIA kit의 검출한계 (2 mIU/ml) 보다 낮은 값을 나타냈으므로 hCG 음성으로 판명되었다.

결론적으로 MAIA kit, IRMA kit, MEIA kit는 모두 운동선수들의 뇨 시료 스크리닝에 문제점이 없었으며, 자동화된 MEIA kit는 많은 시료를 스크리닝하는데 적합하였다.

### 감사의 말씀

본 논문실험을 도와주신 장운정님께 감사드립니다. 또한 본 연구는 FIFA World Cup 지원에 의해 수행되었음을 밝힙니다.

### 참고문헌

- Alfthan, H., Haglund, C., Dabek, J. and Stenman, U-H. (1992). Concentrations of hCG,  $\beta$ hCG and c $\beta$ hCG in serum and urine of non-pregnant women and men. *Clin. Chem.*, **38**, 1981-1987.
- Choi, M. J., Choe, I. S., Kang, H., Lee, J. S. and Chung, T. W. (1991). Simple enzyme immunoassay for the simultaneous measurement of wholechoriogonadotropin molecules and its free  $\beta$ -subunits in sera of abnormal pregnancies and tumor of the reproductive system. *Clin. Chem.*, **37** (5), 673-677.
- Cole, L.A. and Kardana, A. (1992). Discordant results in human chorionic gonadotropin assays. *Clin. Chem.*, **38**, 263-270.
- Cowan, D. A., Kicmn, A. T., Walker, C. J. and Wheeler, M. J. (1991). Effect of administration of human chorionic gonadotropin on criteria used to assess testosterone administration in athletes. *J. Endocrinol.*, **131**, 147-154.
- Hoermann, R., Spoettl, G., Moncayo, R. and Mann, K. (1990). Evidence for the presence of human chorionic gonadotropin and free beta-subunit of hCG in the human pituitary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **71**, 179-186.
- Laidler, P., Cowan, D. A., Hider, R. C. and Kicman, A.T. (1994). New decision limits and quality control material for detecting human chorionogonadotropin misuse in sports. *Clin. Chem.*, **40**, 1306-1311.
- Kerrigan, S. and Phillips Jr., W. H. (2001). Comparison of ELISAs for Opiates, Methamphetamine, Cocaine Metabolite, Benzodiazepines, Phencyclidine, and Cannabinoids in Whole Blood and Urine. *Clin. Chem.*, **47**, 540-547.
- Thomas, C. M. G. and Segers, M. F. G. (1989). Quantification of choriogonadotropin: differential cross-reactivities of the free hCG  $\beta$ -subunit with eight different monoclonal antibody-based hCG and (hCG- $\beta$ ) sandwich type assays. *Clin. Chem.*, **35**, 1791-1792.

Alfthan, H., Haglund, C., Dabek, J. and Stenman, U-H. (1992). Concentrations of hCG,  $\beta$ hCG and c $\beta$ hCG in serum and