

약물검사 키트의 분석 민감도에 대한 연구

녹십자의료재단, 고객지원 및 QA¹, 약물검사실²

장상우¹ · 김남용¹ · 이희경¹ · 김현정¹ · 이윤정¹ · 진옥배² · 김미경¹

A Study of Analytical Sensitivity on TDM Test Kit in Clinical Chemistry

Chang, Sang Wu¹., Kim, Nam Yong¹., Lee, Hee Gyung¹., Kim, Hyun Jung¹.,
Lee, Yun Jung¹., Jin, Ok Bae²., Kim, Mi Gyung¹

*Technical Information & QA Division¹, TDM Laboratory²
Green Cross Reference Laboratories, Seoul, Korea*

Analytical sensitivity on TDM test is the lowest concentration that can be distinguished from background noise. The aim of study was to evaluate analytical sensitivity that is also referred to as the lower limit of detection(LLD) about difference between zero calibrator and isotonic saline sample.

We tested for 10 days with zero calibrators and 0.85% saline samples while running trilevel control samples under control. Raw data divided by two groups calculated mean and standard deviation from two sample populations and analytical sensitivity by $\bar{X}+2SD$.

In comparison with isotonic saline samples and zero calibrators, there were significant differences in phenytoin, phenobarbital and vancomycin, etc. Especially analytical sensitivity on phenytoin is at the same level as the upper limit of analytical measurement range with 40 $\mu\text{g/mL}$. We think the cause of this is matrix interference.

In conclusion, we were sure that standard protocol for analytical sensitivity as lower limit of analytical measurement range on TDM test must be measured with zero standard rather than an isotonic saline sample and type 1 reagent DW for reducing matrix effects within interactions between different materials in a mixture.

Key Words : Analytical sensitivity, Analytical measurement range, LLD, Matrix interference

I. 서 론

분석 민감도란 95% 신뢰수준에서 검사방법이나 분석기가 0 농도를 진실로 식별할 수 있는 최소량의 분석과 관련되며 분석 민감도란 최소검출농도와 관련된다(문과장, 2004). 진단적 민감도란 단순히 말하면 질병에서 검

사결과의 양성은 질병이 존재할 때에 검사결과가 양성으로 나올 수 있는 확률이다.

분석 민감도는 최소검출한계(lower limit of detection: LLD)로 분석측정범위의 하한치와 관련된다. 검사결과는 분석 민감도와 분석 특이도에 의하여 결정되나 이들은 상호 상반된 관계에 있다.

분석 민감도란 background의 잡음으로부터 식별될 수 있는 최소농도로서 이러한 농도를 검출한계라는 용어로 사용되나 가장 일반적인 말로는 민감도와 관련된다.

교신저자 : 장상우, (우)449-913 경기도 용인시 구성읍 보정리 314
녹십자의료재단 고객지원 및 QA부
Tel : 02-578-0131(교환206) HP : 011-9909-7224
E-mail : johnmadams@hanmail.net

보고가능범위란 “각 검사항목에 따라서 최대 측정가능한 수치와 최소측정가능한 수치의 설정이다”. Rabinovitch(2001년)는 보고가능범위(reportable range : RR)를 분석측정범위(analytical measurement range: AMR)로 대체하고(문과 장, 2004) 임상보고가능범위(clinically reportable range: CRR)로 2가지 유형으로 세분화할 것을 요구하고 있다(Rabinovitch A. 2001, 문과 장, 2004).

최소검출농도에 대한 국제임상화학연맹(IFCC)은 “ 최소검출농도(LOD)란 신뢰하는 확률로서 적절한 맹검으로부터 측정될 수 있는 단일의 최소 결과치이다”라고 정의하였다(문과 장, 2004).

최소검출농도(LOD)란 “정확한 수치로 정량화할 수는 없어도 하나의 시료 내에서 검출될 수 있는 분석물질의 최소량을 말한다”. 최소검출농도는 분석 민감도와 관련된다. 분석 특이도(analytical specificity)란 “간섭, 지질, 용혈, 황달과 비 임상적으로 출현하는 물질로부터 영향을 받지 않는 특성과 관련된다”.

검출한계가 한 번 결정되면, 측정의 직선성의 범위는 최저검출농도로부터 최대농도의 검량물질을 위한 수치의 범위이며, 검사방법이 다양하게 직선성을 수용할 수 있는 농도까지이다. 진단적 민감도란 단순히 말하면 질병에서 검사결과의 양성은 질병이 존재할 때에 검사결과가 양성으로 나올 수 있는 확률이다.

분석 민감도(analytical sensitivity)란 검사방법이나 분석기가 0농도를 진실로 식별할 수 있는 최소량의 분석과 관련된다. 그래서 분석 민감도는 최저검출농도와 관련되고 분석측정범위(analytical measurement range : AMR)의 하한치와 관련된다.

분석 민감도의 실험목적은 측정되어질 분석물질의 최소농도를 평가하기 위하여 실행되며 약물검사나 종양인자들의 검사에 명백하게 중요한 의미를 부여해준다. 최소검출농도에서의 분석 수행도는 특히 종양표지자 검사에 중요하며 치료 후의 경과관정에 이용된다.

미국에서는 법률로서 분석 민감도에 대한 최소검출농도를 검증할 것을 FDA나 CLIA에서 정도관리를 위하여 요구하고 있다. 제조회사에서는 다양한 용어로 사용되는데 민감도, 분석 민감도(analytical sensitivity), 최소검출농도, 검출한계, 정량화의 한계라고 부른다. 현재는 표준적인 용어가 없으나 실제적인 실험과정을 찾아내고 필요하면 자료를 계산하는 것이다. 이러한 평가방법은 검사의 의학적 적용에 유용하며 background count로서 zero calibrator와 saline 그리고 DW를 분석하여 어느 검사항목

이 최소검출농도에서 차이가 나타나는가를 연구하는데 목적을 두었다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

2003년 6월 2일부터 16일까지 녹십자의료재단에서 자가제조한 isotonic saline과 상품화된 therapeutic drug monitoring(TDM)의 zero calibrators를 대상으로 10일간 COBAS INTEGRA 800 System으로 검사를 실행하였다.

약물검사의 zero 검량물질은 Roche Diagnostics Corporation의 3.5ml의 COBAS-FP phenytoin, theophylline, phenobarbital, VANC, salicylate, carbamazepine, primidone, phenobarbital, valproic acid, vancomycin, acetaminophen, digoxin calibrator 사용하였다.

2. 실험방법

1) 실험시료

실험시료는 자가제조한 isotonic saline과 Roche Diagnostics Corporation의 COBAS-FP zero calibrators를 사용하였다. 0.85% NaCl은 미국의 Tedia Company, Inc.의 NaCl 8.5g을 Human Science의 순수제조장치에서 제조한 reagent distilled water 1000ml에 용해하여 사용하였다.

2) 관리시료와 검량물질

검량물질은 COBAS-FP phenytoin calibrators를 사용하였고, 관리시료는 acetaminophen, salicylate, phenytoin, carbamazepine, phenobarbital, primidone, theophylline, vancomycin, valproic acid 검사는 COBAS-FP TDM Multianalyte control를 사용하였으며 digoxin 검사는 Roche TDM Online Digitoxin controls을 사용하였다. 10개의 TDM 검사항목이 실험계획법에 의한 실험계획법(Design of Experiments: DOE)에 의하여 산출된 통계량의 관리허용범위 내에 들어오름을 확인하고 양 시료를 검사하였다(문과 장, 2004).

3) 측정방법

측정방법으로는 검사 kit는 Roche Diagnostics

Table 2. Analytical sensitivity with zero calibrator

	No.	Test items($\mu\text{g}/\text{mL}$)									
		CARB	DIG	VANC	VALP	PHNY	PHNO	THEO	SALI	ACETA	PRIM
S	1	0.1	0.06	1.3	3.2	0.6	0.6	0.2	2.1	0.7	0.0
t	2	0.1	0.05	1.3	3.2	0.6	0.6	0.2	2.6	0.7	0.1
a	3	0.1	0.17	1.3	3.2	0.6	0.6	0.2	0.71	0.7	0.0
t	4	0.2	0.07	1.3	3.2	0.6	0.7	0.2	2.6	0.7	0.0
i	5	0.3	0.17	1.3	3.2	0.6	0.6	0.2	2.6	0.7	0.0
s	6	0.3	0.06	1.3	3.2	0.6	0.6	0.2	2.6	0.7	0.0
t	7	0.2	0.05	1.3	3.2	0.6	0.6	0.2	2.6	0.7	0.1
i	8	0.3	0.17	1.3	3.2	0.6	0.6	0.2	2.6	0.7	0.0
c	9	0.2	0.07	1.3	3.2	0.6	0.6	0.2	2.1	0.7	0.0
s	10	0.2	0.17	1.3	3.2	0.6	0.6	0.2	2.6	0.7	0.0
Sum		2.0	1.04	13	32	6.0	6.1	2.0	23.1	7.0	0.2
Mean		0.2	0.104	1.3	3.2	0.6	0.61	0.2	2.31	0.7	0.02
Standard Deviation		0.12	0.06	0	0	0	0.03	0	0.6	0	0.04
Analytical Sensitivity		0.36	0.22	1.3	3.2	0.6	0.67	0.2	3.51	0.7	0.1

Table 3. Comparison of 0.85% NaCl and 0 Calibrator

Sample types	Test items										
	CARB	DIG	VANC	VALP	PHNY	PHNO	THEO	SALI	ACETA	PRIM	
0.85% NaCl	1.37	0.17	15.9	3.6	40	3.58	0.43	3.4	0.7	1.0	
0 Calibrator	0.36	0.22	1.30	3.2	0.6	0.67	0.2	3.51	0.7	0.1	
Difference	0.51	0	14.51	0.4	39.4	3.32	0.23	0.8	0.0	1.0	

Corporation의 것을 사용하였으며 분석기는 COBAS INTEGRA 800을 사용하였다. 측정원리는 acetaminophen, salicylate 검사는 효소법, phenytoin, carbamazepine, phenobarbital, primidone, theophylline, vancomycin, valproic acid 검사는 fluorescence polarization 검사법을 사용하였고, digoxin 검사는 kinetic interaction of micro-particles in solution(KIMS) 검사법을 사용하였다.

분석 민감도의 계산은 일차로 10일간 normal saline과 zero calibrators로 검사를 진행하고 평균치와 표준편차를 계산하고 $\bar{X}+2s$ 로 하였다.

III. 결 과

1. 0.85% NaCl 시료의 분석 민감도

생리식염수를 시료로 사용한 경우의 분석민감도는

Table 1와 같이 phenytoin 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$, theophylline 0.43 $\mu\text{g}/\text{mL}$, phenobarbital 3.58 $\mu\text{g}/\text{mL}$, vancomycin 15.93 $\mu\text{g}/\text{mL}$, acetaminophen 0.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$, salicylate 3.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, carbamazepine 0.87 $\mu\text{g}/\text{mL}$, Primidone 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, Phenobarbital 3.58 $\mu\text{g}/\text{mL}$, Valproic Acid 3.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, Digoxin 0.17 ng/mL 로 나타났다.

2. Zero calibrator(Roche Diagnostics)의 분석 민감도

Zero calibrator를 시료로 사용한 경우의 분석 민감도는 Table 2와 같이 salicylate 3.51 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 제외하고는 phenytoin 0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, theophylline 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, acetaminophen 0.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$, phenobarbital 0.26 $\mu\text{g}/\text{mL}$, vancomycin 1.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$, carbamazepine 0.36 $\mu\text{g}/\text{mL}$, primidone 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, phenobarbital 0.67 $\mu\text{g}/\text{mL}$, valproic acid 3.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, digoxin 0.22 ng/mL 로 일반적으로 더 낮게 나타났다.

IV. 고 찰

진단검사의학 분야에서도 인증제도의 도입으로 임상화학, 약물검사, 면역혈청검사 등에서 각 검사의 분석 방법에 따라서 보고할 수 있는 검사결과의 범위가 정해져 있는가를 조사한다. 특히 분석측정범위(analytical measurement range: AMR)는 검사실에서 직접 검증을 해야한다. 5점이상 검량물질을 사용하는 경우에는 분석측정범위와 검량보정검증을 동시에 할 수 있도록 인정해준다. 즉 시약이나 분석기의 설명서 등에서 인용하고 검사실에서 자체 입증과정이 전 품목에서 없으면 반점을 부여하게 되어있다. 분석측정범위(AMR)란 시료의 전처리나 희석이 없이 분석 민감도로서 최소검출한계로부터 최대검출한계까지의 직선성의 범위를 말한다.

시약 또는 장비의 제조회사에서 제공하는 설명서를 인용하는 경우에는 반듯이 해당 검사항목의 결과가 분석측정범위를 초과하는 시료에 대하여 배수희석을 하여 자체 검사실의 임상보고가능범위(clinically reportable range: CRR)를 설정해야하고 결과의 보고는 임상보고가능범위 하한치의 이하의 결과는 이하(<), 임상보고가능범위 상한치의 초과는 이상(>)으로 보고해야한다(Rabinovitch A. 2001).

분석 민감도는 일반적으로 0.85% NaCl를 사용하는데 특히 sensor가 부착된 분석기의 경우에 많이 활용된다. 분석 민감도란 분석측정범위의 하한치(lower limit of analytical measurement range: LLO AMR)와 관련되는 최소측정한계를 말한다.

분석 민감도란 시약의 lot number의 교체, 동일한 시약이라도 역가의 저하나 농축, 분석기의 model의 상이, 동일한 model이라도 분석기의 열화의 정도, 분석기의 중요한 부품의 교체, 검량물질의 변질과 교체에 따라서 다르게 나타난다. 이러한 이유에서 CAP LAP의 검사실 인증 심사에서는 분석측정범위(AMR)를 매 6개월 단위로 재설정할 것을 요구한다(문과 장 2004).

약물검사의 분석 민감도는 3차중류수나 0.85% NaCl로 측정된 경우에는 일반적으로 zero calibrators를 사용한 경우보다 더 높게 나타났다. 3차중류수나 0.85% NaCl를 시료로 사용하는 경우가 분석 민감도가 높은 것은 matrix interference로 인한 cross reactivity으로 추정됨으로 matrix effects를 최소화하기 위해서는 zero 검량물질을 사용하는 것이 좋다고 본다. 양 시료에서 분석 민감도가 0으로 복합 간섭물질의 영향을 받지않는 검사항목은

digoxin과 acetaminophen이었다.

특히 isotonic saline을 시료로 사용하여 fluorescence polarization 검사법을 사용한 pheytin의 경우 분석측정범위의 상한치와 동일하게 40 µgm/mL로 나타나므로 검사 kit의 한계성 임으로 검사법의 개선이 필요하다고 본다.

Fluorescence polariztion 검사방법의 vancomycine, phenytoin, phenobarbital 검사에서는 효소법이나 kinetic interaction of microparticles in solution(KIMS) 검사법에 비하여 분석 민감도가 높은 것은 matrix interference로 인한 측정한계로 보인다.

V. 결 론

약물검사에서 분석 민감도는 배경잡음으로부터 식별되어질 수 있는 최소농도를 말한다. 연구의 목적은 zero 검량물질과 생리식염수의 시료 사이에서 최소검출농도의 차이를 보고자 하였다.

일상적으로 사용되는 3개수준의 정도관리시료가 정상 일때에 zero 검량물질과 생리식염수의 시료를 10일간 검사하였다. 2개 집단에 대한 검사자료들은 평균치와 표준편차를 계산하고 양 시료집단의 분석 민감도를 $\bar{x}+2SD$ 로 결정하였다.

1. 0.85% 식염수 시료와 zero 검량물질의 비교실험에서 중요한 차이를 발견하였다. 특히 phenytoin 검사의 분석 민감도에서는 복합간섭으로 인하여 분석측정범위의 상한치인 40µgm/mL와 동일하게 나타났다.

2. 약물검사에서 분석측정범위의 하한치인 분석 민감도를 위한 표준검사술식으로는 다른 물질의 상호작용으로 인한 복합효과를 감소하기 위해서 0.85% 식염수나 3차 중류수보다는 zero 검량물질로 측정되어야 하는 것을 확인하였다.

참 고 문 헌

1. Rabinovitch A. Commission on Laboratory Accreditation. Laboratory Accreditation Program. Automated/General Chemistry Checklist. Illinois: College of American Pathologists, p15-17. 2001
2. 문해란, 장상우. 6 시그마 정도관리: 인증중심의 정도관리. p425, p430, p445, p480, p572, p560, p562, 퍼넬롱 출판사, 서울, 2004