

분석측정범위의 실증적 평가

녹십자의료재단, 고객지원 및 QA부¹, 화학혈액 검사실², 면역검사실³, 김천보건대학, 임상병리과⁴

장 상 우¹ · 이 상 곤² · 김 영 환¹ · 송 은 영³ · 박 용 원² · 박 병 옥² · 류 재 기⁴

An Empirical Study of the Analytical Measurement Range in Clinical Chemistry

Sang-Wu Chang¹, Sang-Gon Lee², Young-Hwan Kim¹, Eun-Young Song³, Yong-Won Park²,
Byong-Ok Park², and Jae-Gi Lyu⁴

*Technical Informaton & QA Division¹, Department of Clinical Chemistry², and Immunology³,
Green Cross Reference Laboratories, Yongin 449-913, Korea
Department of Biomedical Laboratory Science, Gimcheon College, Gimcheon 740-704, Korea⁴*

The analytical measurement range (AMR) is the range of analyte values that a method can directly measure on a specimen without any dilution, concentration, or other pretreatment not part of the usual assay process. The linearity of the AMR is its ability to obtain test results which are directly proportional to the concentration of analyte in the sample from the upper and lower limit of the AMR. The AMR validation is the process of confirming that the assay system will correctly recover the concentration or activity of the analyte over the AMR. The test specimen must have analyte values which, at a minimum, are near the low, midpoint, and high values of the AMR. The AMR must be revalidated at least every six months, at changes in major system components, and when a complete change in reagents for a procedure is introduced; unless the laboratory can demonstrate that changing the reagent lot number does not affect the range used to report patient test results. The AMR linearity was total protein (0-16.6), albumin (0-8.1), total bilirubin (0-18.1), alkaline phosphatase (0-1244.3), aspartate aminotransferase (0-1527.9), alanine aminotransferase (0-1107.9), gamma glutamyl transpeptidase (0-1527.7), creatine kinase (0-1666.6), lactate dehydrogenase (0-1342), high density lipoprotein cholesterol (0.3-154.3), sodium (35.4-309), creatinine (0-19.2), blood urea nitrogen (0.5-206.2), uric acid (0-23.9), total cholesterol (-0.3-510), triglycerides (0.7-539.6), glucose (0-672.7), amylase (0-1595.3), calcium (0-23.9), inorganic phosphorus (0.03-17.0), potassium (0.1-116.5), chloride (3.3-278.7). We are sure that materials for the AMR affect the evaluation of the upper limit of the AMR in the process system.

Key Words : Analytical measurement range, Linearity, Validation, Process

I. 서 론

임상검사실에서 사용하는 자동분석장비의 검사 시약은 일반적으로 키트화된 상품으로 판매되고 있다. 동일한 검사원리라도 시약의 순도, 안정성, 그리고 자동분석기의 사용연수 등에 따라서 참고치의 범위, 분석측정범위(analytical measurement range: AMR), 직선성, 정확성, 정밀성, 특이도, 그리고 분석 민감도 등에서 다르게 나타난다(문과 장, 2004).

AST의 경우를 보면 다양한 검사 키트가 있지만 측정 방법론적 특성들인 민감도와 특이도, 측정반응, 측정온도, 완충액의 유형들, 완충액의 분자량, pH, alpha-ketoglutarate 농도, aspartate의 농도, NADH 농도, MDH의 활성치와 순도, MDH의 준비과정, LDH의 첨가, pyridoxal phosphate의 첨가, 맹검, 측정모드, 측정시간, 표준화 등에 따라서 검사 결과치 및 참고치 범위, 보고가능범위, 직선성, 정확성, 정밀성, 특이도, 민감도 등이 다르다.

2001년도 CAP LAP의 인증심사점검표(AGC.23120 Phase 11 N/A YES NO)에 의하면 “자동분석기 시스템에 대한 모든 자동분석기를 위해서 분석측정범위(AMR)의 상한범위와 하한범위가 정의되고, 검사결과치를 보고하기 전에 필요하다면 그 결과치가 관리범위를 벗어나면 적절하게 조사하고 재 측정하는냐?”라는 점검항목이 있다(문과 장, 2004).

분석측정범위(AMR)란 검사방법이 어떤 희석이나, 농축, 일상적인 측정공정에 다른 전처리가 없이 직접 측정될 수 있는 분석수치의 범위이다. 즉 각각의 진단검사의 학과 검사실은 임상적 이용을 위해서 수용할 수 있는 결과를 제공하는 분석측정범위(AMR)를 설정해야 하는 것이다.

국내, 외 검사실인증심사에서는 분석측정범위는 시약 lot No.의 변화와 분석기의 중요 부품의 교체 또는 최소한 매 6개월 마다 분석측정범위의 상한치와 하한치를 검증하도록 요구하고 있다. 실제로 설정된 분석측정범위를 초과하는 모든 검사들은 임상보고가능범위를 설정해야 하고, 희석방법과 보고방법이 정의되고 문서화되어 있어야 함을 인식하고는 있으나, 임상화학검사실에서 상품화된 직선성 시료를 구매하여 사용하면 한번 실험하는 데 약 200만원 정도가 소요되므로 경제적 실행방법을 찾는 것이 중요한 변수이다. 이에 좀 더 경제적이고 실행가능한 자체 직선성의 범위 산출방법을 설립하기 위해서 본 연구를 실행하였다.

본 연구는 임상화학검사실에서 일상적으로 검사되는 total protein(TP), albumin(ALB), total bilirubin(TB), alkaline phosphatase(ALP), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase(ALT), chloride(CL), creatinine kinase(CK), lactic dehydrogenase(LD), potassium (K), sodium(Na), creatinine(CRE), blood urea nitrogen (BUN), uric acid(UA), total cholesterol(TC), glucose (GLU), amylase(AML), gamma glutamyltranspeptidase (GGT), triglyceride(TG), calcium(CA), inorganic phosphorus (IP), 그리고 HDL Cholesterol(HDL-C) 등 22검사 종목에 대하여 자체 직선성의 범위 산출을 통한 측정가능범위의 산출을 시도하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 방법

분석측정범위에 대한 연구는 외부정도관리에 참여하는 참고장비 ADVIA 1650 System으로 Bayer Diagnostics Corporation에서 제조한 검사키트와 Boehringer Mannheim GmbH에서 제조한 검사키트를 이용하여 분석 측정범위의 상한치과 하한치에 근접한 9점 시료를 3회 측정하고 그 평균치를 사용하였다. 검사항목들은 임상화학검사실에서 일상적으로 사용되는 검사로 TP, ALB, TB, ALP, AST, ALT, CL, CK, LD, K, Na, CRE, BUN, UA, TC, IP, GLU, AML, GGT, TG, CA, 그리고 HDL-C 등 22종목을 대상으로 실시하였다.

1) Calibrator

Calibrator는 Bayer Diagnostics Corporation에서 제조한 Chemistry CAL(SETpoint)를 사용하여 calibration을 하고 일내 검량보정은 매 시약의 vial to vial에 대한 검사변이를 감소하기 위하여 교체할 때마다 calibration을 하였다.

2) 자동분석장비

자동분석장비는 ADVIA 1650 System(Bayer Corp., Health Care Diag..Div., New York, USA)을 사용하여 검사를 실행하였다.

3) 재료

상품화된 직선성 물질은 enzyme, non-enzyme, lipid

group의 3가지로 나누어 시판되므로 experimental materials은 경제적 부담을 경감하기 위해서 Bio Rad Laboratory에서 제조한 assayed abnormal control과 매일 아침 검사 결과치를 검색하면서 모은 환자시료를 모아서 제조 사용하였고, 매일 검사공정을 확인하기 위하여 공정 설계의 설계변수에 따른 자체통계량의 관리 허용범위 내에 들어움을 확인하고 시료를 검사하였다.

4) 경제적 실험시료의 농축제조 방법

GGT, AST, ALT, CK, LD, AMY, ALP 검사는 환자시료를 분석측정범위의 상한치에 근접한 시료를 모아서 사용하고 외부정도관리(external quality control)에 참여하는 참고분석기로 3회 측정된 평균치를 100%의 목표치로 하였으며 9점 시료에 대한 회석은 87.5%, 75%, 62.5%, 50%, 37.5%, 25%, 12.5%, 0%로 희석하였다. TP, ALB, TB, CL, K, Na, CRE, BUN, UA, TC, IP, GLU, TG, CA, HDL-C 검사는 상품화된 Bio Rad Laboratories에서 판매하는 unassayed control serum을 농축하여 사용하였다. 농축방법은 분석측정범위 상한치를 assayed control serum의 target value로 나누어주고 희석액의 첨가량을 그 배수로 나누어주면 첨가할 희석액의 첨가량을 구하여 농축하였다.

III. 결 과

1. 기율기, 절편, 상관계수의 분석결과

분석측정범위의 하한치와 상한치에 고르게 걸치는 직선성의 범위는 9점 실험시료를 사용하였으며, 각 시료를

대상으로 21종목의 검사를 3회 반복 측정된 시료집단의 결과 평균치를 Table 1-1부터 1-4까지 표시하였다. 목표치와 관측치 간의 상관 그래프(Fig. 1, Fig. 2, Fig 3, Fig. 4)를 구하였고 이로부터 9점 시료에 대한 목표치와 관측치의 분석측정범위를 검증하기 위하여 기율기, 상관계수, 절편값, 직선성의 범위를 Table 2-1과 2-2에 나타내었다. 기율기에서 가장 낮은 검사항목은 ALP가 0.8792이었고 가장 높은 검사는 1.0468이었으며 평균기율기는 0.9945로 매우 양호하였으며, 절편값이 가장 작은 검사는 AST가 -2.0892이었고 가장 높은 검사는 sodium이 30.007이었고 amylase가 27.63으로 나타났으며 평균 intercept는 4.674이었으며, 상관계수는 0.983에서 1.0으로 매우 양호하게 나타났다. 분석측정범위의 하한치는 NA(35.4), BUN(0.5), TC(-0.3), TG(0.7), IP(0.03), K(0.1), L(3.3)으로 나타나 배경잡음(background noise)이 다소 있었으나 15가지 검사에서는 0으로 매우 양호하게 나타났다.

2. 분석측정범위의 직선성 범위

임상화학검사실에서 22개 검사항목에 대한 분석측정범위의 직선성 범위는 P(0.0-16.5), ALB(0.0-8.1), TB(0.0-18.1), ALP(0.0-1244.3), AST(0.0-1527.9), ALT (0.0-1107.9), GGT(0.0-1527.7), CK(0.0-1666.6), LD (0.0- 1342.0), HDL-C(0.0-154.3), NA(35.4-309.0), CREA (0.0-19.2), BUN(0.5-206.2), UA(0.0-23.9), TC (-0.3-510.3), TG(0.7-539.6), GLU(0.0-672.7), AMY (0.0-1595.3), CA(0.0-23.9), IP(0.03-17.00), K (0.1-116.5), CL(3.3-278.7)로 나타났다. 직선성의 실험시료의 농도가 낮은 시료를 사용할 때 보다 높은 시료를 사용함으로써 분석측정범위의 상한을 더 명확하게 확인할 수 있었다.

Table 1-1. Summary mean of population from three times on TP, ALB, TB, ALP, AST, ALT

Item	TP		ALB		TB		ALP		AST		ALT	
	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
Level(%)												
100.0	16.50	16.4	8.0	8.1	18.20	18.2	1245.0	1244.3	1533.0	1120.3	1120.3	1107.0
87.5	14.40	14.7	7.0	7.3	15.90	15.9	1089.4	1095.7	1341.3	1341.3	980.3	973.0
75.0	12.40	12.7	6.0	6.4	13.60	13.6	933.8	944.0	1150.0	1149.3	840.0	835.0
62.5	10.30	10.5	5.0	5.5	11.30	11.3	788.1	786.0	959.0	957.3	700.0	698.0
50.0	8.25	8.6	4.0	4.5	9.00	9.0	622.5	621.0	767.0	768.3	560.2	562.7
37.5	6.19	6.6	3.0	3.4	6.80	6.7	466.9	469.3	575.0	573.0	420.0	421.3
25.0	4.30	5.0	2.3	2.4	4.60	4.6	299.0	300.0	299.0	298.0	275.0	276.0
12.5	2.06	2.2	1.0	1.1	2.28	2.2	155.6	154.7	192.0	184.3	140.0	136.0
0.0	0.30	0.3	0.0	0.0	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Legend: X axis is target value, Y axis is observed value

Table 1-2. Summary mean of population from three times on GGT, CK, LD, HDL C, NA, CRE

Item	GGT		CK		LD		HDL-C		NA		CRE	
	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
100.0	1529.0	1527.7	1675.7	1666.7	1358.3	1342.0	154.0	154.3	307.7	309.0	19.20	19.2
87.5	1337.9	1353.3	1466.2	1475.3	1188.5	1192.0	134.8	137.7	269.7	270.0	16.80	16.6
75.0	1147.0	1171.3	1257.0	1269.3	1019.0	1049.7	115.5	119.7	230.8	235.7	14.25	13.8
62.5	956.0	987.0	1047.0	1067.7	849.0	877.0	96.3	100.0	192.3	200.3	12.00	11.7
50.0	765.0	800.7	838.0	856.0	679.0	712.3	77.0	79.7	153.9	167.0	9.60	9.6
37.5	573.0	610.3	628.0	645.0	509.0	542.7	57.8	59.0	115.4	2130.7	7.20	7.3
25.0	375.0	376.0	400.0	399.0	717.0	711.0	38.5	38.0	76.9	97.0	4.30	4.9
12.5	191.0	201.7	210.0	216.0	170.0	179.7	19.3	17.0	38.5	62.7	2.40	2.5
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	35.4	0.00	0.0

Table 1-3. Summary mean of population from three times on BUN, UA, TC, TG, GLU

Item	BUN		UA		TC		TG		GLU	
	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
	208.6	206.3	24.10	14.0	509.3	510.3	540.7	539.7	670.7	672.7
	182.5	184.3	21.10	21.1	445.6	448.0	473.1	478.3	586.9	589.3
	156.5	158.8	18.10	19.2	382.0	386.0	406.0	416.0	503.0	506.0
	130.4	132.2	15.20	15.2	318.3	321.3	338.0	350.0	419.0	422.0
	104.3	107.5	12.10	12.2	254.7	256.7	270.0	282.7	335.0	338.0
	78.3	74.8	9.04	9.2	191.0	194.3	203.0	215.0	252.0	253.7
	52.2	53.3	6.03	6.1	127.3	127.3	135.0	144.0	168.0	168.3
	26.1	25.7	3.01	3.0	63.7	62.3	67.6	71.3	83.8	83.7
	0.0	0.5	0.00	0.0	0.0	-0.3	0.0	0.7	0.0	0.0

Table 1-4. Summary mean of population from three times on AMY, CA, IP, K, CL

Item	AMY		CA		IP		K		CL	
	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
100.0	1597.0	1595.3	23.80	24.0	16.7	17.00	16	16.5	279.3	278.7
87.5	1397.4	1423.0	20.80	22.1	14.6	14.80	14	13.7	244.4	239.7
75.0	1197.8	1262.0	17.90	19.6	12.5	12.60	12	11.5	209.5	205.3
62.5	998.1	1092.0	14.90	16.8	10.4	10.40	10	9.6	174.4	169.0
50.0	799.0	923.0	11.90	13.4	8.35	8.30	8	7.5	139.7	133.0
37.5	599.0	710.7	8.90	10.0	6.25	6.50	6	5.5	104.7	100.0
25.0	399.3	488.0	5.92	6.3	4.18	4.00	4	3.6	69.8	65.7
12.5	199.6	208.3	2.90	2.7	2.1	2.00	2	1.7	34.9	34.3
0.0	0.0	0.0	0.00	0.1	0.0	0.03	0	0.1	0.0	3.3

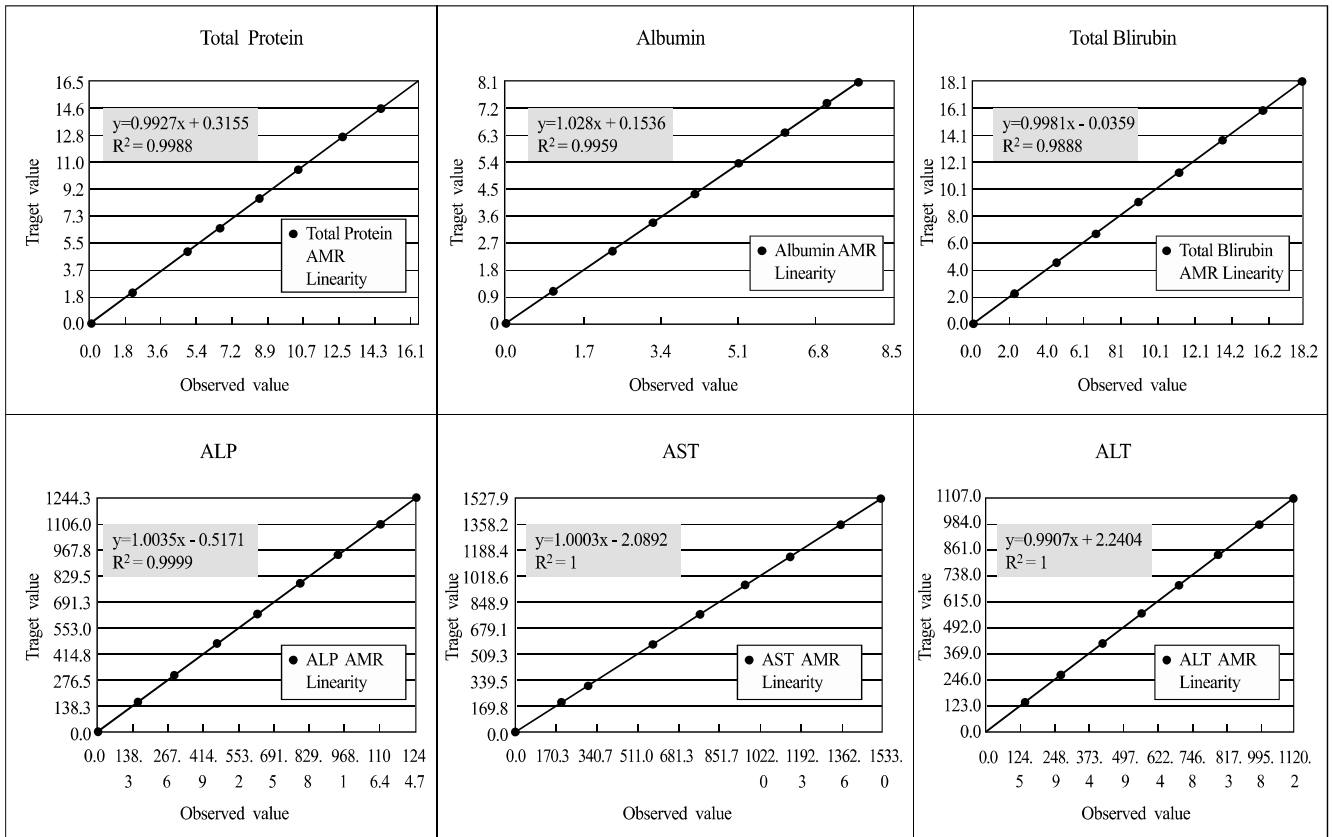


Fig. 1. Linearity range of the analytical measurement range on TP, ALB, TB, ALP, AST, and ALT.

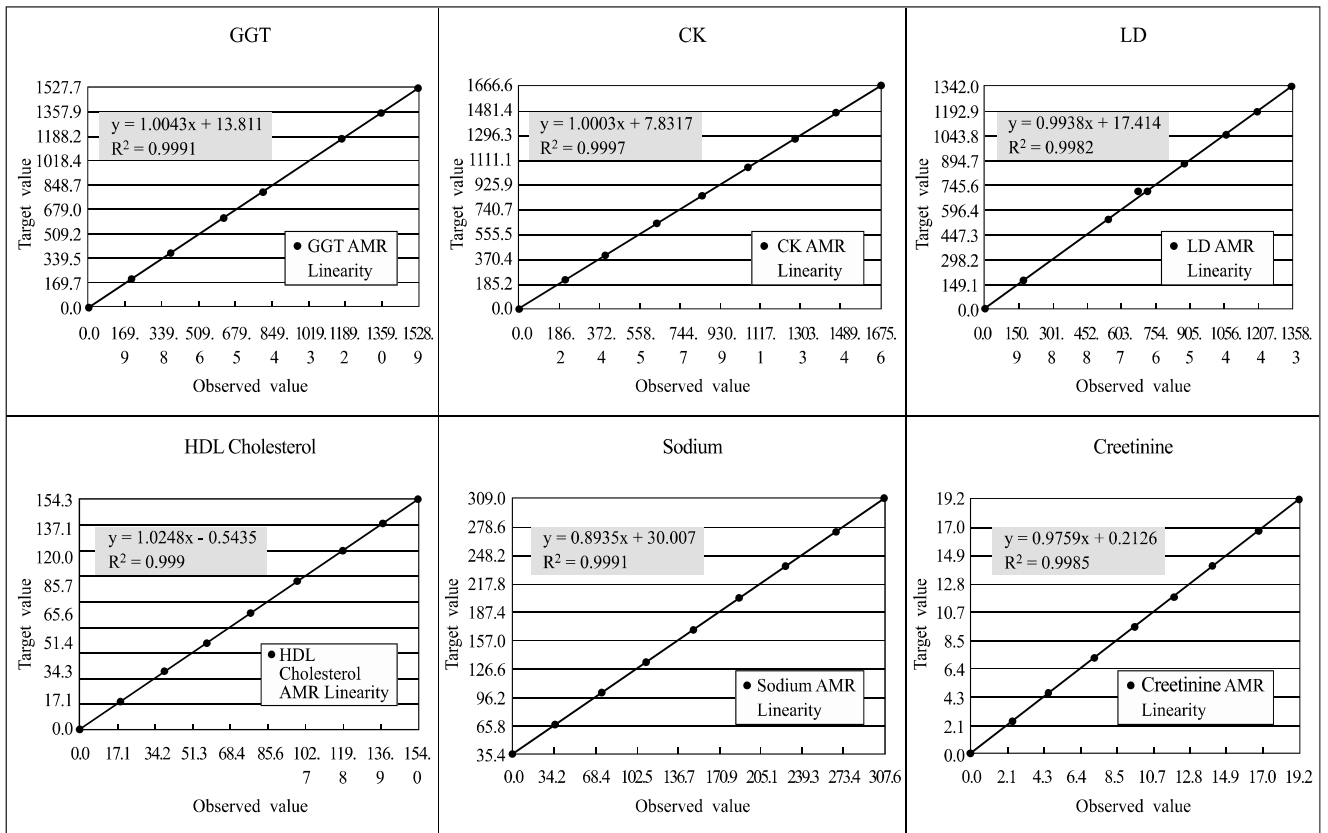


Fig. 2. Linearity range of the analytical measurement range on GGT, CK, LD, HDL-C, Na, and CRE.

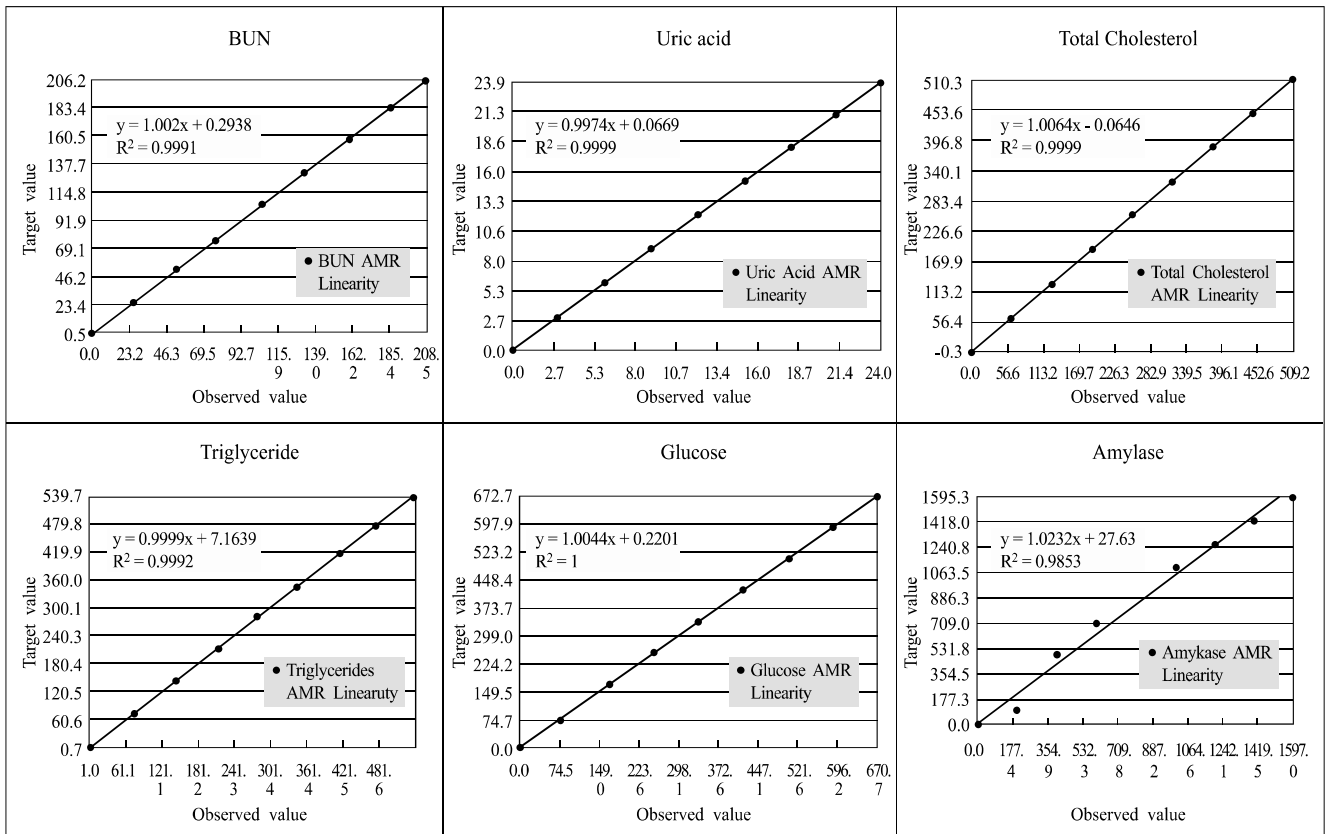


Fig. 3. Linearity range of the analytical measurement range on BUN, UA, TC, TG, GLU and AMY.

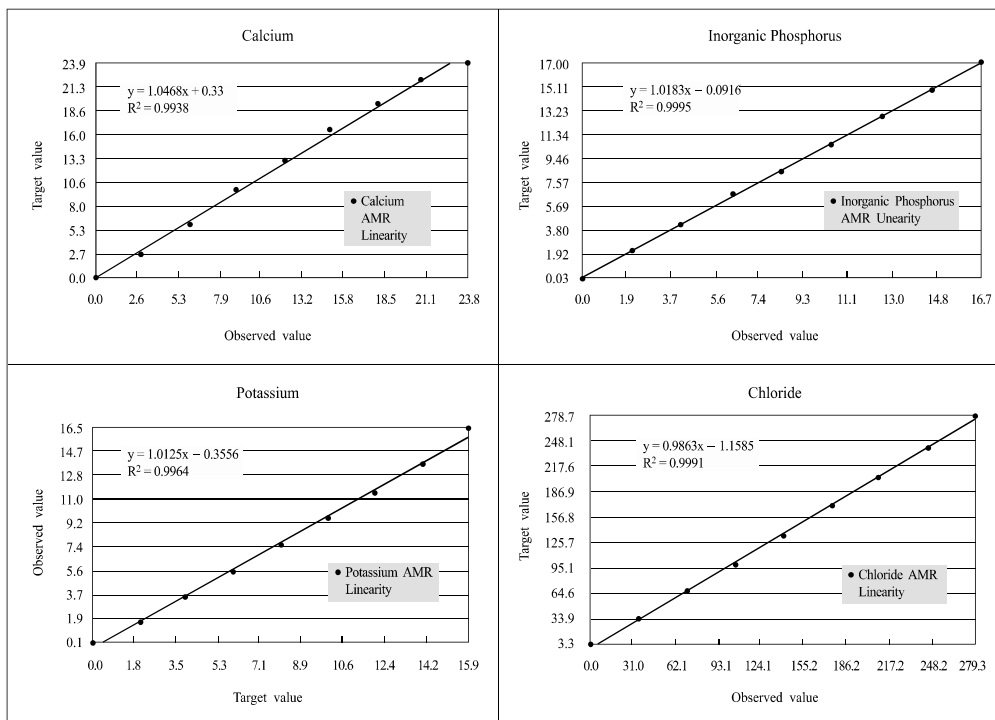


Fig. 4. Linearity range of the analytical measurement range on Ca, IP, K, and CL.

Table 2-1. Slope, intercept, correlation coefficient and linearity range for TP, ALB, TB, ALP, AST, ALT, GGT, CK, LD, HDL-C, and Na

Item	TP	ALB	TB	ALP	AST	ALT	GGT	CK	LD	HDL-C	NA
Slope	0.9927	1.028	0.9981	1.0035	1.0003	0.9907	1.0043	1.0003	0.9938	1.0248	0.8935
Intercept	0.3155	0.1536	-0.0369	-0.5171	-2.0892	2.2404	13.811	7.8317	17.414	-0.5436	30.007
Correlation coefficient	0.9983	0.9969	0.999	0.9999	1.0000	0.9999	0.9991	0.9997	0.9982	0.9999	0.9991
Linearity range	0-16.5	0-8.1	0-18.1	0-1244.3	0-1527.9	0-1107.9	0-1527.7	0-1666.6	0-1342	0-154.3	35.4-309

Table 2-2. Slope, intercept, correlation coefficient and linearity range for TP, ALB, TB, ALP, AST, ALT, GGT, CK, LD, HDL-C, and Na

Item	CRE	BUN	UA	TC	TG	GLU	AMY	CA	IP	K	CL
Slope	0.9759	1.002	0.9974	1.0064	0.9999	1.0044	1.0232	1.0468	1.0183	1.0125	0.9863
Intercept	0.2126	0.2938	0.0669	-0.0646	7.1639	0.2201	27.63	0.33	0.0916	-0.3556	-1.1585
Correlation coefficient	0.9985	0.9991	0.9999	0.9999	0.9992	1.0	0.9853	0.9938	0.9995	0.9961	0.9991
Linearity range	0-19.2	0.5-206	0-23.9	-0.3-510.3	0.7-539.6	0-672.7	0-1595.3	0-23.9	0.03-17	0.1-16.5	3.3-278.7

IV. 고 찰

1. 분석측정범위와 임상보고가능범위의 관련성

CAP LAP의 검사실인증을 위한 분석측정범위는 검사실인증심사위원회에서는 최소한 5점 평가를 선호하나 (CAP, 2004) 미국임상병리개선법률(clinical laboratory improvement amendments, CLIA)에서는 3개로 명시되어 있다. 최소한 매 6개월마다 한 번은 분석측정범위를 평가해야하며 최고 낮은 수치와 최고 높은 수치 그리고 이들을 함께 결합한 중간치인 3점(three points)을 취하도록 하고 있다. 또한 과거의 검사실 인증심사의 점검표에서는 심사자들이 매 6개월마다 검량보정을 충분하게 실행하고 있다고 보고 분석측정범위를 요구하지 않았다. 그러나 새로운 인증심사점검표에서는 분석측정범위를 실행할 때에는 좀 더 정밀하고 상세하게 묘사하고 있다(문과 장, 2004). 이러한 검량보정검증과 분석측정범위가 정량적 검사영역으로서 임상화학, 독물학, 면역혈청 등의 분야에서 적용하고 있다.

분석측정범위를 벗어나는 검사결과를 보고하기 위해서는 정의된 보고방식을 가져야하며 적용할 때에는 희석액과 규정을 명시해야 하며 “임상보고가능범위(clinically reportable range, CRR)의 하한치는 더 작다”, 또는 “임상보고가능범위의 상한치는 더 크다”라고 보고할 때에 숫자적으로 의미를 부여해준다. 즉 각 기관의 검사실은 각

검사항목의 측정치에 대하여 임상보고가능범위의 상한치 경계를 정의해야 한다. 이때 분석측정범위의 하한치는 분석민감도인 최소검출농도와 관련된다.

2. 분석측정범위의 자체설정

시약의 역가, 분석기나 램프의 열화, 검량물질의 상이, 검사원리, 화학성분의 등급 등에 따라서 측정가능범위는 다르게 마련이다. 질병의 경과 관찰과 진단의 정확한 평가를 위해서는 측정하고자 하는 검사물질의 최대 측정치까지 측정할 수 있어야 한다. 그러나 경제적 효율성과 turn around time의 단축 등으로 임상진단에 가장 이상적인 분석측정범위를 설정하고 초과하는 검사에 대하여 희석범위를 규정하고 반복 검사하여 보고하도록 하는 것이 좀 더 정확한 결과를 제공할 수 있게 된다는 것을 인식해야한다.

본 연구에서 분석측정범위의 자체설정 시에는 필히 과학적인 진단과 경과관찰을 고려하여 임상보고가능범위를 규정하고 희석방법을 각 검사항목에 따라서 설정하는 것이 중요하다고 판단되었다. 주기적으로 실행되는 분석측정범위는 각 검사항목의 직선성의 범위를 재설정하여 결정하는 것이 권장된다.

임상시료를 이용한 제조혈청의 사용은 일반적으로 비 전해질 검사에서는 분석민감도가 매우 양호한 실험결과를 보였으나 전해질 검사항목인 Na(목표치, 0; 측정치

35.4)와 CL(목표치, 0; 측정치, 3.3)으로 약간의 차이를 보였으며 이는 전해질 측정방법의 특성으로 사료된다. 그러나 전체적으로 실용 가능한 결과를 보였다고 판단되며, 특히 고가의 calibrator 물질을 최소한으로 사용하면서, 임상검체 중, 고농도 혈청을 수집하여 사용함으로써 저비용으로 직선성을 검증할 수 있었다. 검량보정검증과 분석측정범위 측정을 위한 정기적 실행 사이의 검증에 사용하는 것도 의미가 있을 것으로 판단된다. 이러한 분석측정범위의 설정은 환자의 결과치에 직접적으로는 영향을 주므로 임상보고가능범위를 동시에 규정하여 그 범위를 현장에 배치하고 분석자들이 즉시 참고하여 조치하고 검색하도록 하는 것이 매우 중요하다는 것을 인식하였다.

참 고 문 헌

1. College of American Pathologists(CAP), Chemistry and toxicology checklist, p23-29, Northfield, IL, 2004.
2. 문해란, 장상우. 6-시그마 정도경영: 인증중심의 정도관리. p158-234, 퍼넴 흥, 서울, 2004.
3. 문해란, 장상우. 6-시그마 정도관리: 인증중심의 정도관리. p428, 퍼넴 흥, 서울, 2004.