

임상화학검사실에서 회수율 실험의 실증적 연구

녹십자의료재단, 고객지원 및 QA부,¹ 화학혈액 검사실,² 면역검사실³

장 상 우¹ · 이 상 곤² · 송 은 영³ · 박 용 원² · 박 병 옥²

An Empirical Study of the Recovery Experiment in Clinical Chemistry

Sang-Wu Chang¹, Sang-Gon Lee², Eun-Young Song³, Yong-Won Park², and Byong-Ok Park²

*Technical Information & QA Division¹, and Department of Clinical Chemistry²,
Department of Immunology³ Green Cross Reference Laboratories, Yongin 449-913, Korea*

The purpose of the recovery experiment in clinical chemistry is performed to estimate proportional systematic error. We must know all measurements have some error margin in measuring analytical performance. Proportional systematic error is the type of error whose magnitude increases as the concentration of analyte increases. This error is often caused by a substance in the sample matrix that reacts with the sought for analyte and therefore competes with the analytical reagent. Recovery experiments, therefore, are used rather selectively and do not have a high priority when another analytical method is available for comparison purposes. They may still be useful to help understand the nature of any bias revealed in the comparison of kit experiments. Recovery should be expressed as a percentage because the experimental objective is to estimate proportional systematic error, which is a percentage type of error. Good recovery is 100.0%. The difference between 100 and the observed recovery(in percent) is the proportional systematic error. We calculated the amount of analyte added by multiplying the concentration of the analyte added solution by the dilution factor(mL standard)/(mL standard + mL specimen) and took the difference between the sample with addition and the sample with dilution. When making judgments on method performance, the observed that the errors should be compared to the defined allowable error. The average recovery needs to be converted to proportional error(100%/Recovery) and then compared to an analytical quality requirement expressed in percent. The results of recovery experiments were total protein(101.4%), albumin(97.4%), total bilirubin(104%), alkaline phosphatase(89.1%), aspartate aminotransferase(102.8), alanine aminotransferase(103.2), gamma glutamyl transpeptidase(97.6%), creatine kinase(105.4%), lactate dehydrogenase(95.9%), creatinine(103.1%), blood urea nitrogen(102.9%), uric acid(106.4%), total cholesterol(108.5), triglycerides(89.6%), glucose(93%), amylase(109.8), calcium(102.8), inorganic phosphorus(106.3%). We then compared the observed error to the amount of error allowable for the test. There were no items beyond the CLIA criterion for acceptable performance.

Key words : Recovery experiment, proportional systematic error, bias, analytical quality,

I. 서 론

교신저자 : 장상우, (우)449-913 경기도 용인시 구성읍 보정리 314
번지, 녹십자의료재단, 고객지원 및 QA부
Tel : 031-260-9206, 010-3373-0874
E-mail : johnmadams@hanmail.net

회수율 실험(recovery experiment)은 검사방법의 수행도를 평가하기 위한 고전적인 기법이다. 회수율 실험은

보다 선택적으로 사용되고 다른 분석방법이 비교목적으로 가능할 때에는 높은 우선권을 가지지 않지만, 검사방법의 실험적 비교에서 드러나는 어떤 치우침의 본질을 이해하는 데 아직까지도 유용한 도움을 주고 있다. 신뢰할 수 있는 비교방법이 없다면 회수율 실험은 좀 더 중요하게 된다(문과 장, 2004).

Fig. 1과 같이 회수율 실험의 목표는 비례계통오차를 평가하기 위해서 실행되어진다(문과 장, 2004). 분석농도가 증가하면 그 만큼 증가하는 오차의 유형이 비례계통오차이다. 이런 오차는 시약에 분석물질처럼 반응하는 동일한 복합물질이 원인이 된다. 회수율 실험은 자동분석기에 목표치(target value: TV)를 설정하기 위하여 검량물질로 조사 연구한다.

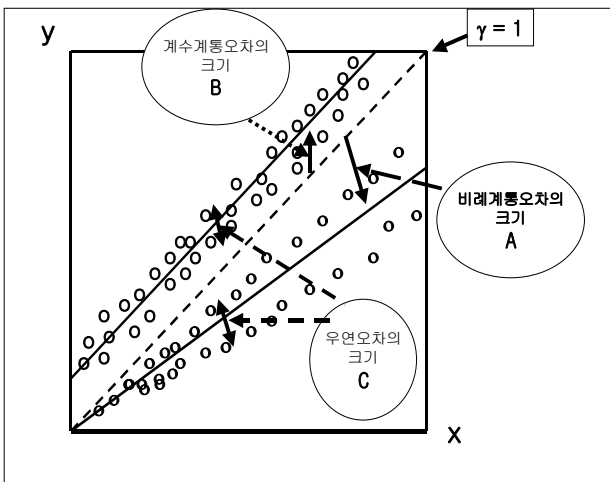


Fig. 1. 회수율 실험과 비례계통오차

회수율 실험 시에 고려해야 할 요인들은 검체의 한 쌍은 간섭물질 실험과 유사한 방법으로 준비되어진다. 중요한 차이점은 첨가된 용액에는 간섭물질보다 분석물질이 더 함유되어 있는 것이다. 첨가된 용액은 분석할 표준액이나 검량물질을 사용하나 경제적 실험을 위해서는 자체 pool 혈청을 사용할 수도 있다.

본 실험은 임상화학검사실에서 일상적으로 사용되는 total protein(TP), albumin(ALB), total bilirubin(T.B), alkaline phosphatase(ALP), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase(ALT), creatinine kinase(CK), lactic dehydrogenase(LD), creatinine(CRE), blood urea nitrogen(BUN), uric acid(UA) total cholesterol(TC), glucose(GLU), amylase(AML), gamma glutamyltranspeptidase(GGT), triglyceride(TG), calcium(CA), 그리고 inorganic phosphorus(IP) 검사에 대

하여 회수율을 산출하였다.

1. 재료 및 방법

1) 연구 방법

회수율실험에 대한 연구를 위해서 외부정도관리에 참여하는 생화학자동분석기 ADVIA 1650 System으로 Bayer Diagnostics Corporation에서 제조한 검사시약과 Boehringer Mannheim GmbH에서 제조한 검사 키트를 이용하였으며 검사항목들은 임상화학검사실에서 일상적으로 시행하는 검사로 TP, ALB, TB, ALP, AST, ALT, CK, LD, CRE, BUN, TC, IP, GLU, AML, GGT, TG, CA, 그리고 IP를 대상으로 하여 실험을 실시하였다.

(1) Calibrator

Calibrator는 Bayer Diagnostics Corporation에서 제조한 chemistry CAL를 사용하여 calibration을 하고 일내 검량 보정은 매 시약의 vial to vial에 대한 검사변이를 감소하기 위하여 교체할 때마다 calibration을 하였다.

(2) Autoanalyzer

Autoanalyzer는 Bayer Corporation의 Health Care Diagnostics Division의 ADVIA 1650 System(Tarrytown, New York, 10591-5097, USA)을 사용하여 검사를 실행하였다.

(3) QC Materials

실험상태를 점검하기 위해서 정도관리물질은 경제적 부담을 경감하기 위해서 Bio Rad Laboratory에서 제조한 unassay abnormal & normal control을 사용하고 매일 검사공정을 확인하기 위하여 실험계획의 설계변수에 따른 자체통계량의 관리 허용범위 내에 들어옴을 확인하고 실험시료를 검사하였다.

(4) 실험재료(표준물질 첨가량)

분석물질 첨가량은 초기 검체의 복합물질의 희석을 최소화하기 위해서 초기의 환자검체의 양에 비하여 적게 첨가실험시료의 양을 준비하였다. 복합물질이 희석되면 오차는 변화되므로 환자검체 0.9 mL에 0.1 mL의 환자혈청을 첨가하여 사용하였다.

분석물질의 첨가농도는 하나의 실전적인 지침은 검사를 위하여 다음 의사결정수준에 도달하기 위하여 분석물

질을 충분하게 첨가하였다. 첨가실험시료의 농도는 희석 결과를 최소화하기 위하여 적은 양을 첨가하는 것이 중요하지만 높은 농도의 첨가실험시료를 사용하는 것이 바람직하다.

반복측정은 우연오차의 측정으로는 가끔 작은 계통오차를 관찰하는 데 어려움이 있기 때문에 모든 검체를 측정해야 한다. 일반적으로 반복측정을 실행하였다. 회수율 실험의 검증은 새로운 실험검사방법과 기존의 비교검사방법 모두 회수율검체를 분석하는 것이 좋다. 가끔 첨가실험시료의 불안정한 문제점도 있지만 검체준비의 오차, 검체의 혼합, 자료계산의 실수에 의한 문제점들이 가끔은 발생할 수 있다.

회수율 실험(recovery experiment)은 상호 경쟁적인 반응에 대한 정보를 제공하는 것이다. 검사할 환자검체에 첨가실험시료를 첨가한 하나의 검체를 준비하고 하나의 기준 검체는 동일한 환자검체의 두 번째 것에 동일한 양의 증류수 희석액을 첨가하고 준비하였다. 두 개의 검체를 측정방법으로 분석하고 회수된 양은 첨가량과 비교하였다.

(5) 경제적 실험시료의 농축제조 방법

비례계통오차의 회수율 실험(Recovery Experiment)의 절차는 아래와 같이 진행하였다.

가. 실험재료준비(첨가농도 10%미만)

첨가시료는 환자 2명의 시료를 각각 0.9 mL에 각각 첨가물질시료 0.1 mL를 첨가하고 증류수 첨가 환자시료는 환자 2명의 시료를 각각 0.9 mL에 각각 증류수 첨가 0.1 mL를 첨가하고 혼합하고 각각 2조를 측정하고 그 평균치를 사용하였다.

나. 회수율 실험의 계산

회수율은 실험적 목표가 비례계통오차를 평가하는 것이기 때문에 오차의 백분율로 표현된다. 이상적인 회수율은 100%이며 100과 측정회수율 사이의 차이는 비례계통오차이므로 회수율이 95%이면 비례계통오차는 5%이다.

① 첨가물질의 양은 첨가물질 농도의 희석배수를 곱해주면 계산되고 첨가물질의 양은 첨가물질의 양에서 첨가물질의 양에 검체량을 더하고 나누어주면 계산된다.

A 검체와 B 검체의 회수율을 더하고 2로 나누어주면 그 평균회수율을 구하면 계산된다.

② A와 B의 평균회수율의 계산은 A 검체의 회수율에 B 검체의 회수율을 2로 나누어주면 되며, 평균 회수율계산식은 A와 B검체의 회수율을 2로 나누어 계산하였다. 회수율은 1조 평균% 와 2조 평균%를 구하고 그 평균치를 사용하였다. 첨가물질시료에서 증류수 첨가시료를 차감하고 그 차이를 첨가물질의 농도로 나누어주고 100을 곱하여 회수율을 계산하였다. 비례계통오차는 100%에서 평균회수율을 빼주어 계산을 하였다.

7) 검사방법의 선택수행도 기준

측정된 오차는 검사를 위해서 허용오차량과 비교해야 하고 총오차허용범위(TEa)는 10%보다 작아야 한다. 관측된 비례계통오차가 CLIA기준보다 작으면 검사수행도는 채택된다.

III. 결 과

1. 첨가물질의 목표치 계산

회수율 실험은 계통오차를 평가하여 허용범위내에 들어오는가를 확인하는 것이 주된 목적이다. Table 1과 같이 첨가물질을 목표치를 계산하기 위하여 국·내외정도

Table 1. Summary mean value of population from three times on 18 items

no	TP	ALB	TB	ALP	AST	ALT	GGT	CK	LD	CRE	BUN	UA	TC	TG	GLU	AMY	CA	IP
1	7.4	3.8	7.3	130	190	150	138	438	1158	8	81.5	10.1	3201	234	270	280	10.7	6.4
2	7.4		7.43	129	189	147	138	440	1165	8	82.3	10.1	200	235	271	281	10.7	6.4
3	7.4	3.8	7.4	128	190	146	139	437	1149	8	82.4	10.1	201	234	270	280	10.6	6.4
mean	7.4	3.8	7.4	129	189.7	147.7	138.83	438.3	1157.3	8	82.1	10.1	200.7	234.3	270.3	280.3	10.7	6.4
10%	0.74	0.38	0.74	12.9	18.97	14.77	13.83	43.83	115.73	0.8	8.21	1.01	20.07	23.43	27.03	28.03	1.07	0.64

관리에 참여하는 참고분석기를 통해서 연속 3회 측정하고 그 평균치를 사용하였다.

2. 회수율의 실험과 비례계통오차의 결과

Table 2-1과 2-2의 임상화학검사실에서 18개 검사항목에 대한 회수율실험의 결과는 TP(101.4%), ALB(97.4%), TB(104%), ALP(89.1%), AST(102.8%), ALT(103.2%),

GGT(97.6%), CK(105.4%), LD(95.9%), CRE(103.1%), BUN(102.9%), UA(106.4%), TC(108.5%), TG(109.8%), GLU(93%), AMY(109.8%), CA(102.8%), IP(106.3%)로 나타났다.

비례계통오차의 결과는 TP(1.4%), ALB(-2.6%), TB(4%), ALP(-10.9%), AST(2.8%), ALT(3.2%), GGT(-2.4%), CK(5.4%), LD(-4.1%), CRE(3.1%), BUN(2.9%), UA(6.4%), TC(8.5%), TG(-10.4%), GLU(-7%), AMY(-0.2%), CA(2.8%),

Table 2-1. Summary of population from three times on TP, ALB, TB, ALP, AST, ALT, GGT, CK, LD

Item	TP		ALB		TB		ALP		AST		ALT		GGT		CK		LD	
	aa	ad	aa	ad	aa	ad	aa	ad	aa	ad	aa	ad	aa	ad	aa	ad	aa	ad
a1	7.6	6.9	4.6	4.2	1.2	0.4	73	61	43	24	37	23	47	34	136	93	620	510
a2	7.6	6.9	4.6	4.2	1.1	0.4	71	60	44	25	37	22	47	34	136	91	628	507
mean	7.6	6.9	4.6	4.25	1.15	0.4	72	60.5	43.5	24.5	37	22.5	47	34	136	92	624	508.5
b1	7.6	6.8	4.7	4.3	1.2	0.4	84	72	46	28	39	22	49	35	118	70	654	548
b2	7.6	6.8	4.7	4.3	1.2	0.4	83	72	47	26	38	23	50	36	118	69	657	550
mean	7.6	6.8	4.7	4.3	1.18	0.4	83.5	66.3	46.5	27	38.5	22.5	49.5	35.5	118	69.5	655.5	549
gm	7.6	6.85	4.65	4.28	1.17	0.4	77.8	66.3	45	25.75	37.75	22.5	48.25	34.8	127	80.8	639.8	528.8
diff	0.75		0.37		0.77		11.5		19.5		15.25		13.25		46.05		111	
add	0.74		0.38		0.740		12.9		18.97		14.77		13.83		43.83		115.7	
recovery	101.4		97.4		104		89.1		102.8		103.2		97.6		105.4		95.9	
PE	1.4		-2.6		4		-10.9		2.8		3.2		-2.4		5.4		-4.1	
TEa**	10		10		20		30		20		20		20		30		20	
Assess	g		g		g		g		g		g		g		g		g	

*aa-added analyte, ad-added DW, PE - proportional error, gm - grand mean, Diff-difference, a-a sample, b-b sample, g-good

**TEa-total error allowable

Table 2-2. Summary of population from three times on CRE, BUN, UA, TC, TG, GLU, AMY, CA, IP

Item	CRE		BUN		UA		TC		TG		GLU		AMY		CA		IP	
	aa	ad	aa	ad	aa	ad	aa	ad	aa	ad	aa	ad	aa	ad	aa	ad	aa	ad
a1	1.8	1	22.3	13.7	6	5	188	172	191	168	116	85	106	74	9.5	8.4	3.9	3.3
a2	1.8	1	21.8	13.6	5.9	5	188	176	190	166	116	85	105	74	9.6	8.5	4	3.3
mean	1.8	1	22.1	13.7	6	5	188	174	190.5	167	116	85	105.5	74	9.55	8.45	3.95	3.3
b1	1.6	0.8	21.1	11.9	4.8	3.6	211	193	150	131	117	98	91	59	9.4	8.2	4.2	3.3
b2	1.7	0.8	19.7	11.9	4.8	3.6	211	193.5	150	132	116	97	90	62	9.5	8.3	4.2	3.6
mean	1.7	0.8	20.4	11.9	4.8	3.6	211	181.3	150	131.5	116.5	97.5	92.3	60.5	9.5	8.3	4.2	3.5
gm	1.73	0.9	21.2	12.8	5.4	4.3	199.5	177.7	170.3	149.3	116.5	91.3	98	67.25	9.5	8.4	4.08	3.14
diff	0.83		8.45		1.08		21.8		21		25.2		30.75		1.1		0.68	
add	0.8		8.21		1.01		20.1		23.4		27		28.03		1.07		0.64	
recovery	103.1		102.9		106.4		108.5		89.6		93		109.8		102.8		106.3	
PE	3.1		2.9		6.4		8.5		-10.4		-7		9.8		2.8		6.25	
TEa	15		9		17		10		25		10		30		1.0*		20	
Assess	g		g		g		g		g		g		g		g		g	

* mg/dL

IP(6.25%)로 나타났다.

IV. 고 찰

1. 회수율 실험결과의 비례계통오차 관계

회수율 실험은 검사수행도의 적합성을 평가하는 고전적인 기법이다(Westgard, 2003). 회수율 실험의 결과가 100%이면 가장 이상적이다. 그러나 시약의 순도, 램프의 수명, 분석기의 노후화, 측정방법, 측정환경, 검량보정 등에 따라서 각기 회수율은 다르게 나타난다. 검사과정상에서 오차가 존재하므로 회수율이 100% 이상 높으면 환자 결과의 수치를 높게 만든다. 회수율 실험결과가 100%보다 더 낮으면 반대로 환자검사결과를 낮게 만든다는 사실을 확인하였다. 간섭물질실험은 계수계통오차에 관련되어 농도의 높고 낮은 것을 불문하고 일정수치만큼만 검사결과를 높거나 낮게 만들지만, 회수율 실험은 이와 반대로 농도가 높고 낮으면 비례하여 검사결과치를 낮거나 높게 만드는 비례계통오차와 관련된다.

자동분석기나 측정방법의 신규 도입시에는 필히 사용 중인 분석기나 키트를 새로 도입하려는 분석기와 회수율 실험을 실행하여 회수율이 100%에 접근하는 분석기나 키트를 선택하는 것이 비례계통오차를 감소시키는데 크게 기여한다는 사실을 인식해야한다.

2. 회수율과 비례계통오차의 결과

회수율이란 검량보정(문과 장, 2004)과 밀접한 관련성을 가지며 분석물질의 첨가량이 분석검사공정을 통해서 정확하게 얼마나 회수되는가를 확인하는 것이고, 비례계통오차란 가장 이상적인 회수율이 100%이므로 100에서 회수율을 빼준 것이다. 미국의 Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI)의 Document EP7-P(NCCLS, 1986)에서 요구하는 CLIA의 총오차허용범위(Westgard, 2006)를 초과하는 검사항목은 하나도 없었다.

3. 임상화학 검사실에서 회수율 실험에 대한 분석결과 요약

1) 분석기를 도입할 때뿐만이 아니라 주기적으로 carry over를 실험하고 bias가 허용범위를 벗어나는가를 확인할 필요가 있다고 생각된다.

2) 계수계통오차는 일정한 수치만큼 결과에 영향을 주지만 비례계통오차는 결과치의 높고 낮음에 따라서 상이하게 변이가 발생됨을 인식하였다.

3) 회수율실험은 검량보정검증을 얼마나 정확하게 실행하느냐에 따라서 다소 검사변이를 감소시킬 수가 있다고 사료된다.

4) 본 실험장비에서는 총오차허용범위를 벗어나는 검사항목이 하나도 없이 매우 양호한 결과치를 얻었다.

참 고 문 헌

1. Westgard JO. Basic Method Validation, Training in Analytical Quality Management for Healthcare Laboratories, 2nd. p144-150, Westgard QC, Inc., Madison, 2003.
2. Westgard JO. Six Sigma Quality Design & Control, Desirable Precision and Requisite QC for Laboratory Measurement Process, 2nd., p307-314, Westgard QC, Inc., Madison, 2006.
3. NCCLS Document EP7-P. Interference Testing in Clinical Chemistry. Wayne, PA:NCCLS, p78, 1986.
4. 문해란, 장상우. 6 시그마 정도경영: 인증중심의 정도경영. p183, 퍼냄 흥, 서울, 2004.
5. 문해란, 장상우. 6 시그마 정도관리: 인증중심의 정도경영. p184, 퍼냄 흥, 서울, 2004.
6. 문해란, 장상우. 6 시그마 정도관리: 인증중심의 정도관리. p357, 퍼냄 흥, 서울, 2004.