

Original Article Testosterone RIA 검사 kit 별 유효성 비교평가

서울대학교병원 핵의학과
류화진 · 신선영 · 조성욱

The Validation of a Commercial Testosterone RIA Test Kits

Hwa-jin Ryu, Seon-yeong Shin and Seong-uk Cho

Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul, South Korea

Purpose Testosterone is a steroid hormone synthesized by the Leydig cells of the testes in men, and by the adrenal cortex and ovaries in women. Testosterone production is regulated by luteinizing hormone secreted by the anterior pituitary gland. In this experiment, the effectiveness of testosterone radioimmunoassay (RIA) kits produced by three companies was evaluated and compared in case the production of testosterone kits was stopped or supply problems occurred.

Materials and Methods In October 2021, samples were collected from the patients (n=49) who requested the testosterone RIA test. The experiment was conducted by dividing the patient's sample into low concentration (1.0 ng/mL or less), medium concentration (2.0 - 4.0 ng/mL) and high concentration (6.0 ng/mL or more). The Testosterone RIA test compared and evaluated the validity of Company A kits used in this hospital and those of Company B and C used in other hospitals. The precision, sensitivity, recovery, linearity and correlation were evaluated for each kit. The testosterone RIA test was carried out in accordance with the insert kit manual for each manufacturer.

Results As a result of measuring the precision of the intra assay, the Coefficient of Variation (CV) value of the company A kit was high at 11.4% only in the low concentration sample, and in the case of the company B and C kits, the CV value was less than 10% at low, medium, and high concentrations. In the inter-assay precision measurement, the CV value was less than 15% in both A and C kits, but in the case of the B kit, the CV value exceeded 15% at low and medium concentrations. Sensitivity was 0.13 ng/mL for company A, 0.01 ng/mL for company B, and 0.01 ng/mL for company C, and the linearity of all three kits showed excellent linearity. In the case of recovery rate, all of the A, B, and C company kits showed results that were out of 90-110%. In the case of correlation test, when compared with the company A kit currently use in here, the correlation coefficient (R^2) value for the company B kit was 0.9508, and for the company C kit was 0.9352

Conclusion As a result, there was a slight difference in precision at the low concentration sample. The correlation test showed an excellent correlation coefficient. However, it was difficult to secure samples of various concentrations because there were not many tests of testosterone requested at this hospital. So, additional experiments should be carried out by acquiring samples of various concentrations on each laboratory later.

Key Words Testosterone, Evaluation of efficacy, RIA(Radioimmunoassay)

서 론

Testosterone은 스테로이드 호르몬으로 남성의 경우 주로 정소의 간질세포인 레이디히 세포(Leydig cells)에서 합성되며, 여성의 경우 부신피질과 난소에서 합성이 된다. Testosterone의 생산은 뇌하수체 전엽에서 분비되는 황체형성호르몬(luteinizing hormone)에 의해 조절되며, 합성된

testosterone은 혈중에서 대부분 성호르몬결합글로불린(sex hormone binding globulin, SHBG)이나 알부민에 결합한 형태로 존재하고, 나머지 4% 미만은 유리형으로 존재하는 것으로 알려져 있다. 핵의학과에서 testosterone에 대한 방사면역측정법(radioimmunoassay, RIA) 검사는 남성의 사춘기 지연 및 androgen 결핍 시, 여성과 어린이의 경우 androgen 과잉(다모증) 및 내분비 치료 모니터링 시 시행된다. 현재 본원 핵의학 검체검사실에서는 testosterone RIA 검사를 A사에서 제조된 kit로 시행하고 있지만, 최근 RIA kit의 생산이 중단되거나 공급에 어려움이 있어 다른 회사에서 판매되고 있는 3가지 testosterone RIA kit에 대한 유효성 평가 실험을 실시하여 비교함으로써 공급의 차질이 생길 경우를 대비하고, 환자

• Received: April 14, 2022 Accepted: May 5, 2022
• Corresponding author: Hwa-jin Ryu
• Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital 101 Daehank-ro, Jongno-gu, Seoul, 110-744, Korea
Tel: +82-02-2072-3808
E-mail: hyojae0713@gmail.com

에게 지속적으로 신뢰성이 높은 검사 결과를 제공하고자 본 실험을 진행하였다.

대상 및 방법

본 연구는 2021년 10월 서울대학교병원 본원에 testosterone RIA 검사를 의뢰한 환자들의 검체(n=49)를 대상으로 실시하였으며, 환자의 샘플을 농도에 따라 저농도(1.0 ng/mL 이하), 중간농도(2.0-4.0 ng/mL), 고농도(6.0 ng/mL 이상)로 나누어 실험을 진행하였다.

Testosterone RIA 검사는 본원에서 사용 중인 A사 kit와 타 병원에서 사용 중인 B, C사의 kit를 대상으로 유효성을 평가하였으며, 정밀도, 민감도, 회수율, 직선성, 상관성을 분석하여 비교하였다. Testosterone RIA 검사 시 제조사에서 제공되는 kit 매뉴얼을 준수하여 실시하였으며, 각 회사에서 제공하는 testosterone RIA kit의 매뉴얼을 비교한 결과 사용되는 검체의 양, incubation, 세척(washing) 방법에서 차이가 있었다(Table 1).

Intra assay의 정밀도 평가는 저농도, 중간농도, 고농도의 검체를 대상으로 한 배치(batch)당 10회 반복 측정하여 평균값(mean), 표준편차(standard deviation, SD), 변동계수(coefficient of variation, CV) 값을 산출하였다. Inter assay 정밀도는 각각의 검체를 총 5번의 배치로 나누어 측정 후 평균값, 표준편차, 변동계수 값을 구하였으며, 민감도 검사는 kit standard 0을 10회 측정하여 분당계수치(count per minute, cpm)의 평균값과 표준편차를 구하였다. 직선성은 고농도 10 ng/mL 이상의 검체를 각각 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64배로 희석하여 기대치와 측정된 값을 비교하여 평행성을 구하였다. 회수율은 농도를 알고 있는 검체와 표준용액을 동량 첨가하여 측정하였으며, 측정된 값과 기댓값을 비교하여 계산하였다. 분당계수치는 DREAM 10 감마 카운터(Shin-jin Medics. Korea)를 사용하였다.

Table 1. Overview of testosterone RIA kits method from different manufacturers

	A	B	C
sample	25 μ L	50 μ L	50 μ L
tracer	500 μ L	500 μ L	500 μ L
Shake the tube rack gently by hand			
incubation	1 hour at 37°C in a water bath	3 hours at 37°C	3 hours at 37°C
Aspirate the content of each tube			
washing	1 mL of distilled water	3 mL of washing solution	3 mL of washing solution
Aspirate the content of each tube			
Count tubes in a gamma counter for 60 seconds			

결 과

Intra assay의 정밀도 측정 결과 A사 kit는 저농도 검체에서 만 CV 값이 11.4%로 높은 편이었고, B와 C사 kit의 경우 저농도, 중간농도, 고농도에서 모두 CV 값이 허용범위인 10% 미만이었다(Fig. 1). Inter assay의 정밀도 측정에서는 A와 C사의 kit에서 CV 값이 허용범위인 15% 미만이었지만, B사 kit의 경우 저농도와 중간 농도에서 CV 값이 15%를 초과하였다(Fig. 2). 제조사별로 민감도 실험 결과 A사는 0.13 ng/mL, B사는 0.01 ng/mL, C사는 0.01 ng/mL이었고 (Fig. 3), 직선성은 세 회사 kit들 모두 우수한 직선성을 나타냈다(Fig. 4). 회수율의 경우 A사 kit는 5건/12건(41.7%), B사는 11건/12건(91.6%), C사는 6건/12건(50%)이 벗어난 결과를 보였다(Fig. 5). 상관성 검사의 경우 현재 본원에서 사용 중인 A사 kit를 기준으로 비교하였을 때, B사 kit는 상관계수(R²) 값이 0.9508, C사 kit는 상관계수(R²) 값이 0.9352로 세 회사 kit들 모두 비교적 좋은 상관관계를 보였다. 또한 B사에 대한 C사의 상관계수(R²)를 측정한 결과 0.9755로 높은 상관관계를 나타내었다.

	A사 (ng/mL)			B사 (ng/mL)			C사 (ng/mL)		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3
1	0.63	3.24	7.33	0.55	3.25	7.37	0.56	3.24	7.50
2	0.51	3.73	7.45	0.55	3.26	7.73	0.56	3.26	7.47
3	0.50	3.66	7.42	0.60	3.51	8.25	0.57	3.67	7.43
4	0.68	3.29	7.43	0.55	4.39	7.21	0.62	4.14	6.80
5	0.55	3.57	7.30	0.57	3.64	7.15	0.58	3.75	6.60
6	0.55	3.05	8.59	0.56	3.57	8.16	0.63	4.07	7.78
7	0.53	3.25	6.86	0.58	3.32	7.45	0.59	3.26	7.35
8	0.65	3.30	6.14	0.56	3.41	7.95	0.64	3.40	6.71
9	0.51	3.35	7.31	0.55	3.41	7.59	0.53	3.54	6.71
10	0.61	4.03	7.60	0.53	3.60	6.75	0.55	3.42	6.39
Mean	0.57	3.45	7.34	0.56	3.54	7.56	0.58	3.58	7.07
SD	0.07	0.29	0.61	0.02	0.33	0.47	0.04	0.33	0.48
CV(%)	11.4%	8.5%	8.3%	3.5%	9.3%	6.3%	6.3%	9.2%	6.8%

Fig. 1. This figure is the results of intra assay.

BATCH	A사 (ng/mL)			B사 (ng/mL)			C사 (ng/mL)		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3
1	0.25	2.84	4.86	0.41	3.22	4.58	0.36	2.92	4.85
2	0.26	3.99	5.20	0.41	3.35	3.82	0.41	3.19	3.78
3	0.27	3.75	5.24	0.32	2.57	4.17	0.32	2.58	3.97
4	0.33	3.96	4.82	0.43	2.96	4.02	0.42	3.14	3.78
5	0.28	3.57	4.95	0.31	2.29	4.16	0.31	2.62	4.38
Mean	0.28	3.62	5.01	0.38	2.88	4.15	0.36	2.89	4.15
SD	0.03	0.47	0.19	0.06	0.44	0.28	0.05	0.28	0.46
CV(%)	11.2%	13.0%	3.9%	15.0%	15.4%	6.7%	13.8%	9.8%	11.1%

Fig. 2. This figure is the results of inter assay.

	A사	B사	C사
1	17131	10416	11201
2	17105	10330	10468
3	17272	10172	11829
4	16867	10341	11900
5	18310	10581	12090
6	18351	10370	11882
7	17290	10477	11439
8	18409	10089	11584
9	17477	10147	11339
10	17997	9513	11534
mean	17621	10244	11527
sd	587	299	465
mean-2SD	16448	9646	10596
민감도 (ng/mL)	0.13	0.01	0.01

Fig. 3. This figure is the results of sensitivity.

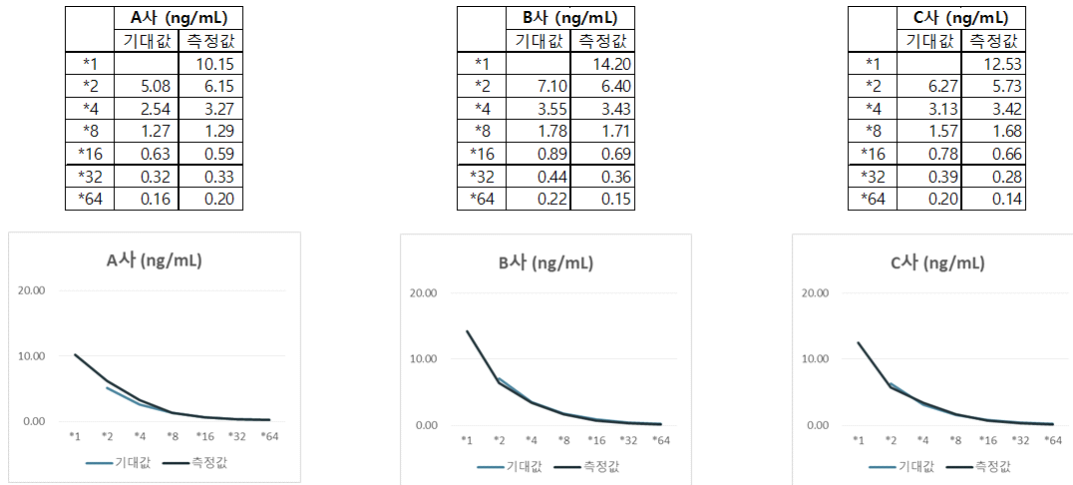


Fig. 4. This figure is the results of linearity.

		첨가량	기대값	측정값	회수율(%)		첨가량	기대값	측정값	회수율(%)
A사 (ng/mL)	S1	-		1.31	-	S2	-		4.88	-
		0.00	0.66	0.88	133.3		0.00	2.44	3.01	123.4
		0.06	0.72	0.90	125.0		0.06	2.5	3.14	125.6
		0.18	0.84	0.89	106.6		0.18	2.6	3.09	118.2
		0.69	1.35	1.26	93.3		0.69	3.1	3.42	109.3
		1.87	2.53	2.63	104.0		1.87	4.3	4.63	107.4
		6.19	6.85	6.43	93.9		6.19	8.6	8.79	101.9
B사 (ng/mL)	S1	-		1.35	-	S2	-		4.82	-
		0.00	0.68	0.80	118.5		0.00	2.41	2.55	105.8
		0.05	0.72	0.94	129.8		0.05	2.46	2.89	117.5
		0.20	0.88	1.23	140.6		0.20	2.61	3.15	120.7
		0.79	1.47	2.09	142.7		0.79	3.20	3.94	123.1
		2.61	3.29	3.92	119.3		2.61	5.02	6.65	132.5
		7.60	8.28	10.04	121.3		7.60	10.01	12.24	122.3
C사 (ng/mL)	S1	-		1.45	-	S2	-		5.41	-
		0.00	0.73	0.68	93.8		0.00	2.71	2.56	94.6
		0.05	0.77	0.78	100.7		0.05	2.75	2.79	101.3
		0.20	0.93	1.02	110.3		0.20	2.91	3.28	112.9
		0.79	1.52	1.71	112.9		0.79	3.50	3.68	105.3
		2.61	3.34	3.56	106.7		2.61	5.32	6.15	115.7
		7.60	8.33	9.60	115.3		7.60	10.31	11.72	113.7

Fig. 5. This figure is the results of Recovery test.

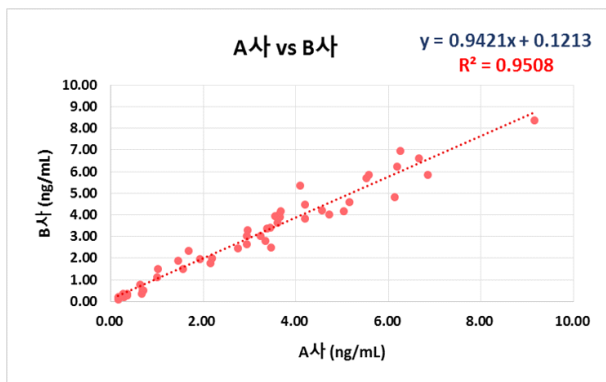


Fig. 6. This figure is the correlation between A and B.

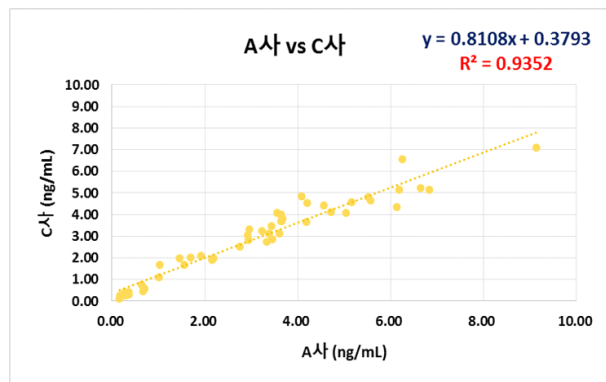


Fig. 7. This figure is the correlation between A and C.

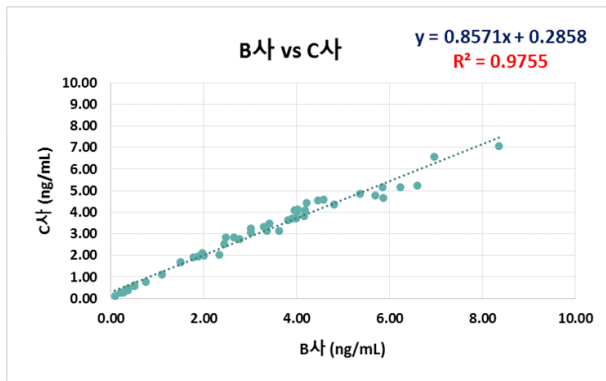


Fig. 8. This figure is the correlation between B and C.

결론 및 고찰

본원에서 사용하는 A사 kit와 B, C사 kit의 비교 실험 결과 A사와 B사 kit는 상관계수(R^2) 값이 0.9508, C사 kit는 상관계수(R^2) 값이 0.9352로 세 회사 kit 모두 비교적 우수한 상관관계를 보였다. 정밀도 결과 낮은 농도에서 A사 kit의 경우 CV 값이 11.4%, B사의 경우 CV 값이 15.0%, 15.4%로 허용범위를 초과하였으나, 실제 수치상으로는 그 값이 유의미할 정도로 큰 차이는 아니었다. 민감도와 직선성 실험 결과 3사 kit 모두 우수하였다. 회수율의 경우 A사 kit는 5건/12건(41.7%), B사는 11건/12건(91.6%), C사는 6건/12건(50%)이 벗어난 결과를 보였지만, 낮은 농도의 검체로 실험을 진행하여 허용범위인 90-110%를 벗어난 것으로 사료된다.

이 실험을 바탕으로 각 병원에서 사용 중인 kit가 생산이 중단되거나 공급에 문제가 생길 경우 상호 호환이 가능할 것으로 생각되나, 본 연구에서는 핵의학과에 의뢰되는 testosterone의 검사 건수가 많지 않아 다양한 농도의 검체와 고농도의 검체를 확보하는데 한계점이 있었다. 따라서 추후 검사실별로 검체를 획득하여 추가적인 실험을 진행해야 할 것으로 사료된다.

요 약

Testosterone에 대한 방사면역측정법(radioimmunoassay, RIA) 검사는 남성의 사춘기 지연 및 androgen 결핍 시, 여성과 어린이의 경우 androgen 과잉(다모증) 및 내분비 치료 모니터링 시 시행된다. 현재 본원 핵의학 검체검사실에서는 testosterone RIA 검사를 A사 kit로 사용하고 있지만, 최근 RIA kit의 생산이 중단되거나 공급에 어려움이 발생하여, 다른 회사에서 판매되고 있는 testosterone RIA kit에 대한 유효성 평가 실험을 실시하여 비교하였다.

2021년 10월 서울대학교병원 본원에 의뢰된 검체를 대상으로 실시하였으며, 정밀도, 민감도, 회수율, 직선성, 상관성을 분석하여 비교 평가하였다. 실험 방법은 각 회사에서 제공하는 testosterone RIA kit의 매뉴얼을 준수하였으며, 검체의 양, incubation, 세척(washing) 방법에서 차이가 있었다. 실험 결과 민감도, 직선성, 상관성 실험의 경우 모두 우수한 결과를 나타내었지만, 정밀도와 회수율의 경우 허용범위를 벗어났는데, 이는 낮은 농도의 검체로 실험을 진행하여 벗어난 것으로 사료된다.

이 실험을 바탕으로 각 병원에서 사용 중인 kit가 생산이 중단되거나 공급에 문제가 생길 경우 상호 호환이 가능할 것으로 생각되나, 본 실험에서 고농도의 검체로 실험을 진행하지 못했다는 아쉬움이 있다. 따라서 추후 검사실별로 다양한 농도와 고농도의 검체를 획득하여 추가적으로 실험을 진행해야 할 것으로 사료된다.

Reference

1. 청구문화사, 핵의학 검사학, 2판, 청구문화사, 2013
2. 서일택 외. 제 4판 임상핵의학 검사 기술학, 고려의학, 2010