

血清 ferritin 測定の 精度管理에 關한 考察

서울대학교 醫科大學 內科學敎室

金柄國·徐壹澤**·金光源
趙普衍·高昌舜·李文鎬

= Abstract =

A Study on the Quality Control of 2-site Immunoradiometric Assay of Serum Ferritin.

Byoung-Kook Kim, M.D., Kwang Won Kim M.D., Chang-Soon Koh, MD,
Bo Yeon Cho MD, and Munho, Lee. MD.

Dept. of Internal Medicine, Seoul National University Hospital.

Il-Tack Seo BSc.,

Dept. of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital.

A 2-site immunoradiometric assay for serum ferritin was evaluated with commercially available kit.

The assay required 6 hours. The slope of the standard curve kept up ideal range with the calculation of maximum binding instead of total dose until expire date. The stage II washing was more important than the stage I washing on the modified washing procedure as the bead keeping to remain in the tube. With this modified method, three times of tube-washing was sufficient to reduce the significant errors

The measured values of serially diluted sample with standard diluting buffer was proportional to the predicted values.

In the experiment of serum effect on the assay, a linear relationship from 5 to 50% serum, but beyond 50% there was reduction in measured ferritin concentration. It has a sensitivity of 2.77 ng/ml, within-assay precision (CV) of 8.0%, and between-assay reproducibility(CV) of 7.4% (mean 174.8 ng/ml).

序 論

Ferritin은 鐵의 貯藏에 關여하는 蛋白質으로 최근까지 정상 상태에서는 肝·脾·骨髓 등의 細網內皮系에만 존재하고 血清內에서는 存在하지 않는다고 알려져 왔다^{1,2)}. 그러나 1972年 Addison等³⁾에 의해 放射免

疫測定法の 원리를 응용한 Immunoradiometric assay法을 개발하여 正常 血清 內에서도 血清 ferritin을 測定할 수 있게 되었으며 鐵缺乏性 貧血에서는 血清 ferritin 値가 감소되어 있음을 報告하였다.

그 후 이 測定法の 變法들이 報告되고^{4,5)} 臨床의으로 는 鐵缺乏性 貧血 및 hemochromatosis等 貯藏鐵에 異常이 있는 疾患^{6,7,8)}과 各種 腫瘍^{9,10,11)}에서의 意義에 關한 報告가 많이 나오게 되었다.

이에 著者들은 이들 測定法 中 商品化된 kit 즉 2-site-immunoradiometric assay法을 國內에 처음으로 導入 施行하는 만큼 이 測定法을 多角的으로 檢討하고

* 本 研究論文은 1979年度 아산 사회복지재단 연구비의 보조로 이루어졌음.

** 서울대학교病院 核醫學部 소속

測定法에 영향을 미치는 要素를 알아보고 또한 測定法의 精度管理를 施行하기 위하여 몇가지 實驗的 考察을 한 바 있어서 이에 報告하는 바이다.

II. 對象 및 方法

Ramco Laboratories Inc*製品の 血清 ferritin 測定用 FER-IRON™ Kit 를 對象으로 control serum 을 이용하여 다음과 같은 方法들을 이용한 測定法 및 精度管理 檢定을 실시하였다.

1) 測定 手技

測定方法은 Kit 에 포함되어 있는 안내책자의 手技에 따랐다. 즉 10 μl 의 檢體에 200 μl 의 diluting buffer 를 넣고 희석한 다음 rabbit antihuman spleen ferritin 으로 coating 되어 있는 bead 를 넣어 室溫에서 2 시간 동안 震盪하면서 incubation 하였다(Reaction I). incubation 이 끝난 후 bead 를 증류수로 씻고 ¹²⁵I-rabbit antihuman spleen ferritin 200 μl 를 미리 넣어둔 tube 에 옮겨 담은 다음 Reaction I 에서와 같은 요령으로 2시간 동안 incubation 을 시행하고(Reaction II) incubation 이 끝난 후 역시 증류수로 bead 를 씻은 다음 이를 gamma 計測器로 計測 計算하였다.

2) 洗滌效果(Washing effect)

Reaction I 과 Reaction II 가 끝난 후 각각 洗滌하게 되어 있는 바 著者들은 變法으로 tube 속에 bead 를 그대로 둔채 洗滌 횟수에 따른 영향을 檢定하였다. 즉 stage I 의 세척효과를 檢定하기 위해 동일한 血清을 이용하여 stage I 의 洗滌 횟수를 0에서 7회로 횟수를 달리하고 stage II 의 洗滌 횟수는 3회로 통일하였다. Stage II 의 洗滌 효과를 檢定하기 위해서는 stage I 의 洗滌 횟수를 3회로 통일하고 stage II 의 洗滌 횟수를 0에서 7회로 횟수를 달리하였다. 또 stage I 의 洗滌效果는 각각 duplication 한 sample 로, stage II 의 洗滌效果는 6 replication sample 의 평균치로 檢定하였다.

3) Linearity

檢體를 희석할 때의 효과를 보기 위하여 血清 ferritin 値가 1900 ng/ml 되는 血清을 사용하여 1:2~1:320배 희석함에 따른 각각의 결과를 구하였으며 이를 豫想値와 비교하였다.

또 血清에 의한 영향을 보기 위하여 檢體 血清을 10, 20, 50, 100, 150, 200 μl 씩 넣고 diluting buffer 는 각각 200 μl 씩 동일량을 넣어 최종 volume 을 210 μl 되게 취하여 測定하였으며 實測値와 豫想値를 비교하였다.

4) Sensitivity(敏感度)

有意하게 測定할 수 있는 최소의 血清 ferritin 値, 즉 0 ng/ml standard(nonspecific binding)의 2SD 으로 구분될 수 있는 최소의 血清 ferritin 値를 구하였다.

5) Precision(精密度)

3種의 control serum 을 이용하여 동일한 kit 內에서 각각 10회씩 測定하여 同一 檢體를 여러번 測定할 때 그 測定値가 얼마나 서로 近接한 가를 즉 within-assay variance 를 구하였다.

6) Reproducibility(再現性)

3種의 control serum 을 이용하여 kit 가 라필때 마다 每 kit 에서 각각 duplication 한 測定値를 구하여 kit 間의 測定値의 近接정도 즉 between-assay variance 를 구하였다.

IV. 結 果

FER-IRON™ Kit 를 사용한 血清 ferritin 測定方法은 간편하고 용이하였으며 檢사에 소요되는 時間은 6 時間 以內 이었으며 구체적인 결과는 다음과 같다.

1) 標準曲線

本 조사에 이용한 2-site IRMA 의 標準曲線을 구하기 위하여 kit 에 포함된 standard solution 을 사용하여 測定한 결과는 Table 1과 같으며 total dose 에 해당하는 maximum binding(MB)의 계산은 두가지 方法이 있었으나 그 결과는 서로 有意한 差異가 없었다.

이 計測値에서 % bound 를 계산하여 semilog paper 에 圖示하면 Figure 1과 같은 曲線을 얻을 수 있으며 이를 Logit-log paper 에 옮기면 Figure 2와 같은 直線을 얻을 수 있었다. 이 直線 의 slope 는 +8.06%였으며 50% intercept 値는 410 ng/ml 이었다.

2) 洗滌 效果(Fig. 3)

Reaction I 이 끝난 후는 洗滌을 한번만 하여도 그

결과에 변화가 별로 없었으나 Reacton II가 끝난 후의 洗滌 効果에는 아주 차이가 많았으며 3회 이상 씻은 경우에는 有意한 差異가 없었다. 따라서 이 결과에서 Reacton I이나 Reacton II 모두 3회 이상 洗滌을 해야 한다는 결론을 얻을 수 있었다.

3) Linearity

Fig. 4에서와 같이 血清을 필요에 따라 희석하여 測定하여도 희석 배율로 계산한 豫想値와 實測値는 거의 同一하였으며 比例 關係가 잘 성립되었으나 단지 고배율로 희석한(1:160 및 1:320) 경우에는 약간 豫想보다 낮은 값을 나타내었다.

이와는 달리 血清 効果를 보기 위해 檢體 血清을 2배, 5배, 10배, 15배, 20배 등으로 많이 넣었을 때의 결

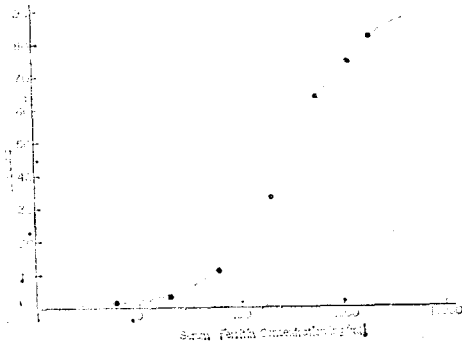


Fig. 1. The standard curve in this study (Semi-log paper)

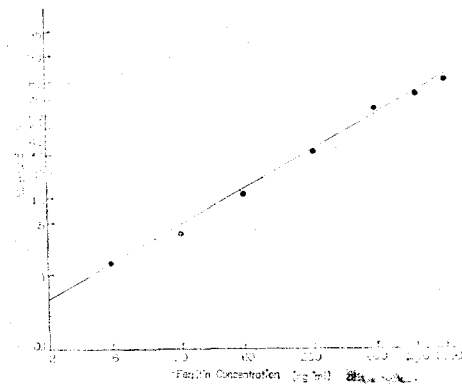


Fig. 2. The standard curve in this study (Logit log presentation)

Table 1. Example Data for Standard Curve from 2-site Immunoradiometric Assay of Serum Ferritin. (Count time: 1min.)

Standard ng/ml	Total cpm	Mean cpm	Net cpm	% bound
0	298 283	291	0	
6	500 537	519	228	1.5(1.6)
20	790 856	823	532	3.6(3.6)
60	2012 1904	1758	1667	11.1(11.4)
200	5345 5118	5232	4941	33.0(33.9)
600	9623 9763	9693	9402	62.9(64.4)
1200	11273 11448	11361	11070	74.9(75.9)
2000	12506 12399	12453	12162	81.3(83.3)

MB (Maximum Binding); Method I : 14359.3
Method II : (14594.4)

$$\text{Method I : MB} = \frac{S_2(2S_1S_3 - S_1S_2 - S_2S_3)}{S_1S_3 - (S_2)^2}$$

Where S_1 =Net Counts of 20ng Standard
 S_2 =Net Counts of 200ng Standard
 S_3 =Net Counts of 2000ng Standard

Method II ; 1.2×net counts of 2000ng standard.

Table 2. Data for Sensitivity Test from 2-site Immunoradiometric Assay of Serum Ferritin. (count time: 1min, 10 replicates data)

Serum ferritin Conc. (ng/ml)	mean cpm±SD	P-value
44.3	1737±83.5	p<0.01
22.15	904±66.1	p<0.01
11.08	666±57.5	p<0.01
5.53	505±51.7	0.01 <p<0.05
2.77	381±50.5	0.025 <p<0.05
1.38	342±47.0	0.1 <p
0.69	293±35.8	0.1 <p
0.35	311±41.3	0.1 <p
O Standard	306±28.3	

*Ramco Laboratories Inc. 3801 Kirby, Suite 170
Houston, Texas 77098

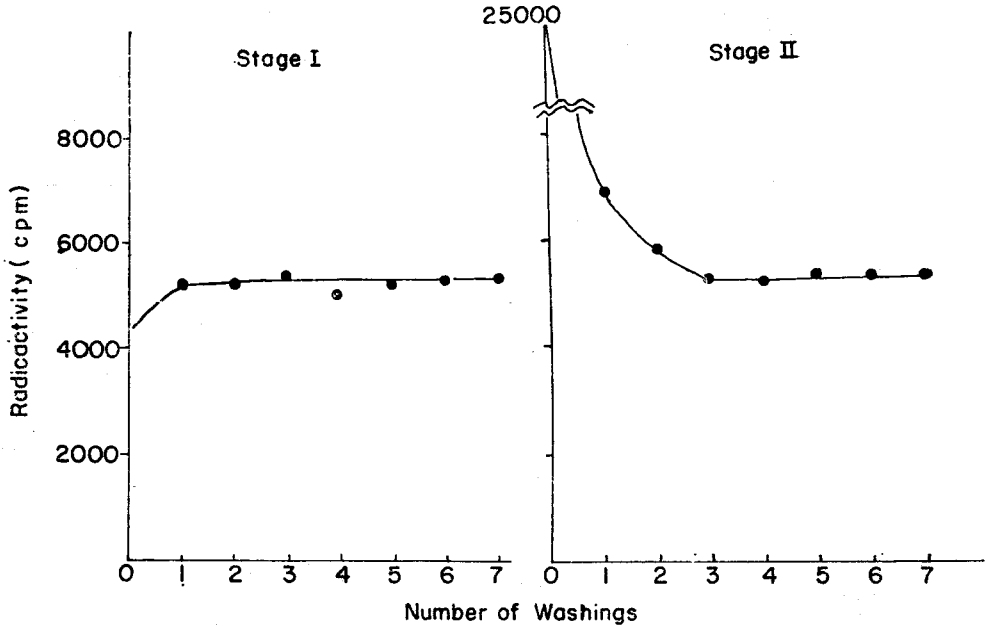


Fig. 3. Effect of varying the number of tube washing with 3ml of distilled water after reaction I and II. When the number of washes after one reaction was varied, the alternate reaction was washed 3 times.

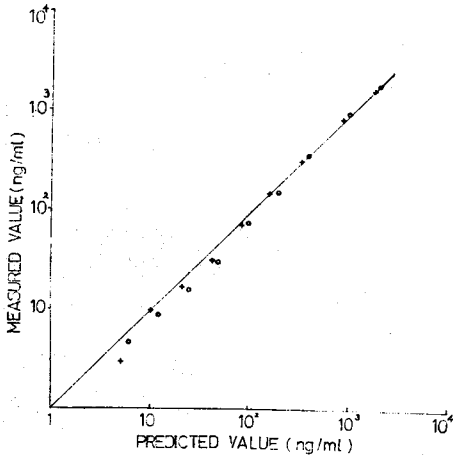


Fig. 4. Two samples with serum ferritin values of 1644 ng/ml(+) and 1900 ng/ml were serially diluted with standard diluting buffer to determine the parallelism of the assay.

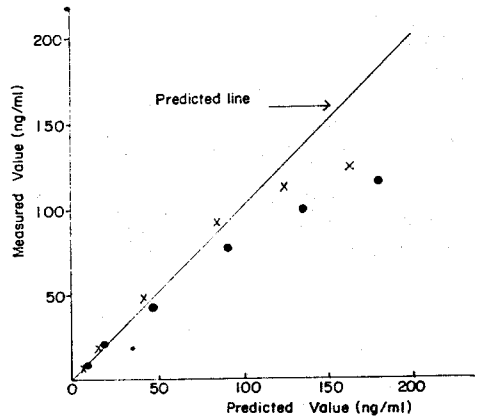


Fig. 5. The serum effect on the 2-site immunoassay for ferritin. The initial ferritin concentration of serum was 9.0 and serum (x) was 8.3ng/ml

과는 Figure 5와 같으며 血清을 10 μ l~100 μ l(전체 용적의 5%~50%)까지 넣었을 때의 결과에는 比例관계가 잘 유지되었으나 Reaction I의 총 용적에 50% 이상의 血清이 포함된 경우에는 豫想值보다 實測值가 감소 되었음을 관찰 할 수 있었다.

4) 敏感度(Sensitivity)

著者들이 施行했던 測定 手技로 95% 신뢰도를 갖는 有意한 測定 可能 下限値는 Table 2에서와 같이 2.77 ng/ml이었으며 이 보다 두배 희석된 1.38 ng/ml은 0 Standard 즉 nonspecific binding 과 통계학적으로 有意한 差異가 없었다.

Table 3. Precision and Reproducibility of 2-site Immunoradiometric Assay of Serum Ferritin.

Within-assay	low	medium	high
Number	10	10	10
mean (ng/ml)	6.9	44.3	178.4
S D (ng/ml)	1.50	4.31	14.3
C V (%)	21.7	9.7	8.0
Between-assay			
Number	6	6	6
mean (ng/ml)	5.8	36.8	183.0
S D (ng/ml)	1.32	4.99	13.56
C V (%)	23.2	13.6	7.4

* SD: Standard deviation.
CV: Coefficient of variation.

5) 精密度 (precision)

血清 ferritin 値가 자기 다른 3種의 對照血清으로 同一 kit 內에서 각각 10회 반복 측정된 결과는 Table 3 (within-assay)와 같이 그 平均이 各各 6.9 ng/ml, 44.3 ng/ml 및 178.4 ng/ml 이었으며 이 때의 標準偏差는 각각 1.50, 4.31, 및 14.3 ng/ml 이므로 이 때의 變異係數(CV: Coefficient of Variation)는 각각 21.7%, 9.7% 및 8.0%로 標準曲線의 下端에 위치한 6.9 ng/ml 値의 變異係數가 가장 높았다.

6) 再現性 (reproducibility)

3種의 對照血清으로 자기 다른 kit에서 對照血清을 各各 duplication 하여 測定하였으며 총 6개의 kit는 製作者가 자기 다른 kit를 사용하였다. 그 결과는 Table 3 (Between-assay)에서와 같이 變異係數가 각각 23.2%, 13.6%, 및 7.4%로 同一 kit에서 測定한 결과와 有意한 差異가 없었다.

IV. 考 察

1894年 Schmiedeberg¹²⁾는 돼지의 肝에서 鐵을 含有한 蛋白質을 추출하여 “ferratin”이라 命名했으며 1937年 Laufberger¹³⁾에 의하여 馬의 脾臟에서 역시 이蛋白質을 추출하고 結晶化시켜 鐵이 20% 함유되어 있음을 報告하였으며 처음으로 “ferritin”이란 用語를 사용하였다. 그후도 상당기간 ferritin에 관한 測定法은 모두 死體나 動物의 肝, 脾 등의 臟器를 homogenized

시키고 이를 加熱후 여과시킨후 ammonium sulfate로 沈沈시켜 원심분리한 후 結晶化^{14, 15, 16)} 시키거나 Sephadex gel filtration¹⁷⁾으로 분리하여 測定 研究하는 方法들이 이용되었다.

그러나 이러한 方法들은 臨床的으로 有用하지 못하므로 血清內에서 이를 測定할 수 있는 方法이 要求되었다. 즉 1956年 Reissman¹⁸⁾은 免疫化學的 方法으로, Aungst²⁾는 이중면역확산법 (double immunodiffusion method)으로 血清 ferritin을 測定하였으나 그 결과 正常血清內에서는 ferritin이 존재하지 않으나 심한 肝의 손상, 淋巴腫 등의 病的인 경우에만 존재한다고 報告하였다. 그러나 이 方法은 敏感(sensitive)하지 못하여 즉, 測定下限値가 91 ng/ml 이어서 正常人의 血清 ferritin을 測定할 수 없었다고 판단된다.

최근 Addison等³⁾에 의하여 immunoradiometric assay法 (IRMA)이 개발되면서 正常血清內에서도 ferritin이 測定 可能하여졌고 그후 Miles⁴⁾等에 의하여 2-site immunoradiometric assay (2-site IRMA)가, Marcus⁵⁾等에 의하여 competitive protein binding assay (CPBA)가 개발되자 그 임상적 意義에 대한 研究가 많이 進行되게 되었다.

이와같은 放射免疫測定法中 IRMA가 CPBA와 다른 점은 前者는 血清 ferritin에 대한 動物의 抗體에, 後者는 血清 ferritin(抗原)에 放射性同位元素를 標識한 差異뿐이며 2-site IRMA는 미리 抗體를 固型, 즉 test tube나 bead에 coating시킨후 여기에 測定하려는 血清을 넣어 반응시키고 (Reaction I) 그후 放射性同位元素로 標識된 抗體를 또 넣어 bead에 결합되어 不溶性으로 된 抗原과 再結合시켜 sandwich를 만들고 (Reaction II) 이를 結合하지 않은 標識抗體 (free from)와 쉽게 분리할 수 있도록 고안한 方法이다.

著者들이 本 研究에 이용한 方法은 後者인 2-site IRMA法이며 이 方法에서 뿐만 아니라 일반적인 放射免疫測定法을 檢定하고 이의 精度管理를 위하여서는 다음과 같은 基準尺度를 검토하여야 한다^{18, 19)}.

1. 被檢者에 대한 前處置 (patient preparation)
2. 檢體 수집, 운반, 보관상의 문제 (sample collection, and storage)
3. 器具 및 測定機器 등 設備상의 문제 (selection, preventive maintenance, and calibration of equipment)
4. 試藥: 標準抗體, 標準抗原, 放射性同位元素標識物等 (reagent; antibody, standard, tracer, etc)
5. 手技上的 문제 (incubation time, dilution, tem-

perature, washing procedure, pH etc)

- 6. 測定管理(actual assay monitors)
 - a) 標準曲線(standard curve parameters)
 - b) 精度管理用 對照血清(quality control pools)
 - c) 再現性(reproducibility)
 - d) 精密度(precision)
 - e) 敏感度(sensitivity)
 - f) Linearity
 - g) 正確度(accuracy)

이와같은 各種基準尺度中 血清 ferritin 値의 경우는 被檢者에 대한 前處置는 별로 영향이 없어서 식사에도 무관하고 日中變動도 없는 것으로 알려져 있으며^{7,20} 採血時 발생될 수 있는 溶血도 영향이 별로 없으며 檢體는 冷凍시키면 4개월간 安靜하다고 한다(manual inserted in kit).

著者들이 洗滌效果를 考察한 이유는 kit의 안내문에는 단지 반응후의 bead를 tube에서 꺼내어 bead에 묻어있는 diluting buffer의 색이 보이지 않을 때까지 흐르는 증류수로 洗滌하라고 되어 있는바 bead를 꺼내어 bead holder로 들고 흐르는 증류수에 씻으면 holder로부터 떨어져 서로 섞이는 수도 있고 contamination이 되기도 하며, 증류수의 낭비도 많은 바 著者들은 變法으로 tube에 bead가 들어있는 채 증류수 3ml를 넣어 spoid로 몇번 irrigation을 반복하는 방법을 택하였는 바, 몇번 洗滌를 하여야 그 결과에 영향이 없을까를 檢討하였다. 그 결과 Fig. 3에서와 같이 stage I의 洗滌에는 한번만 세척하여도 그 이상 洗滌한 결과와 有意한 차이가 없었으며 stage II의 洗滌은 3번 세척을 하여야 된다는 결과를 얻었다. 이것은 stage I에서는 標識抗體가 없는 과정이며 단지 抗原-抗體 반응에서 결합되지 않은 抗原을 씻어 버리는 과정이어서 이 과정에서 불완전하게 洗滌된 유리 抗原은 stage II 洗滌時에서도 씻어질 수 있으나 stage II에서는 결합되지 않은 標識抗體를 완전히 씻지 않고 이 tube를 그대로 計測하게 되면 영향이 있게 될 것이란 點으로 설명이 가능하다. 따라서 著者들은 stage I 및 stage II 모두 3회씩 洗滌함을 測定手技의 원칙으로 하였으며 특히 stage II의 洗滌을 강조하였다.

標準曲線의 檢定을 위해서는 slope, intercept 및 (B/T) 즉 total dose 등이 중요하다^{18,19}. 標識抗體는 시간이 지남에 따라 比放射能이나 immunoreactivity가 떨어져 ¹²⁵I-rabbit antihuman ferritin의 경우 immunoreactivity는 半減期가 3주 정도라고 한다²¹. 따라서 시간이 경과함에 따라 total dose가 감소되어 결

구 標準曲線의 slope가 낮아지고, % bound의 오차에 따른 ferritin濃度의 誤差가 더욱 커지게 된다.

Ramco社의 FER-IRON™ kit는 이점을 고려하여 total dose를 maximum binding(MB)로 대신하고 있는바 MB의 계산을 위하여 Table. 1의註에서와 같이 두가지 方法을 권장하고 있다. 즉 Method I은 20 ng/ml, 200 ng/ml, 2000 ng/ml짜리 ferritin standard의 net cpm에서 공식에 의거 계산으로 구하는 방법이고, method II는 2000 ng/ml ferritin standard의 net cpm을 1.2배하여 구하는 방법인 바, Method II는 測定 상한치 즉 오차가 많은 부분의 값 하나로 MB가 결정되므로 전체 標準曲線이 불안정할 위험이 있고 항상 MB에 대한 2000 ng/ml ferritin standard의 % bound는 83.33%로 고정되는 불합리성을 內包하고 있다. 따라서 Method I에 의한 MB의 算定法이 더 좋다고 판단되며 이렇게 하여 얻은 標準曲線은 total dose에 의한 標準曲線보다 항상 일정범위의 理想的인 기울기를 유지하므로 다른 放射免疫測定法에서와 같이 매번 測定할 때마다 slope나 50% intercept 値로 精度管理하는 것은 의미가 적고 total dose에 대한 MB의 比率를 비교하여 보는 것이 더 바람직한 것으로 판단된다.

放射免疫測定法에서는 대체로 標準曲線의 中央部の 값이 가장 精密度가 높으므로 高濃度의 血清檢體를 연속으로 희석하여 이와같은 범위에 도달하도록 하여 희석배율을 곱해주는 것은 흔히 이용되는 방법이다. 그러나 抗體의 특이성에 따라서는 이와같은 비례식이 성립하지 않는 경우도 있으므로¹⁰ 이를 檢定하는 것도 중요한 의미를 가진다.

著者들의 실험에서 이를 검증한 결과 2-site IRMA에 의한 血清 ferritin의 測定法에서 Fig. 4와 같이 좋은 비례식이 成立하고 있음을 알 수 있었다.

이와는 달리 抗原의 效果(血清效果)를 檢定하기 위해서는 Fig. 5에서와 같이 血清을 2배 5배 10배 15배 20배 등으로 증가시킴에 따른 실제 測定値와 넣어진 血清의 量으로 계산한 豫想値를 비교해 볼 수 있다.

著者들이 검토한 결과는 血清을 10배(100 μl) 즉 총 量의 50%까지 넣어도 측정치와 豫想値는 잘 일치되나 그 이상 증가시켰을 때는 測定値가 현저히 낮아짐을 알 수 있다. 이와 같은 "high dose hook"²⁴ 현상은 제한된 標識抗體에 과잉의 抗原이 반응하게 되면 非特異的 不溶性의 抗原이 일부 生成되고 標識抗體의 量은 制限되어 있는 만큼 測定値가 감소되게 된다. 이런 效果는 血清 ferritin 値가 2000 ng/ml 이상의 高濃度로 존재할

때도 나타날 수 있으므로²²⁾ 이런 경우는 회색하여 재차 測定하여야 한다.

標準曲線과 관련하여 標識抗體의 比放射能(specific activity of tracer), nonspecific background count (nonspecific binding, NSB), 및 intercept 등은 해당 測定法의 sensitivity(敏感度)에 영향을 주거나 이를 monitor 하기 위해 檢定을 한다^{18,19)}. 著者들의 考察結果 이 kit 을 이용한 測定법의 sensitivity 는 2.77 ng/ml 로 이 정도이면 正常과 鐵缺乏性 貧血의 cut off value(discrimination value)인 12 ng/ml~18 ng/ml^{23,21,24)}을 유의하게 測定할 수 있으므로 임상적으로 有用하다고 할 수 있었다.

精密度(precision)와 再現性(reproducibility)은 kit 自體의 有用性을 決定하는데 중요할 뿐만 아니라 上記 精密度管理의 各種基準尺度(parameter of quality control)를 전체적으로 檢定하는데도 흔히 이용되는 기준이다. 즉 對照血清을 每 測定時마다 같이 測定하여 精密度 및 再現性의 平均値에서 95% 신뢰도(2SD)를 벗어나면 그 測定値의 結果를 신뢰하기 어려우므로 그 원인을 규명하여 해결해야만 한다^{18,19)}.

著者들이 검토한 FER-IRON™ kit 의 精密度는 그 平均値가 6.9 ng/ml 에서 178.4 ng/ml 로 증가함에 따라 變異係數는 21.7%에서 8.0%로 감소되었다. 즉 標準曲線의 下端部는 그만큼 精密度는 못하나 中央部로 갈수록 더욱 精密度를 알 수 있었다. 이런 결과는 自由度(측정횟수)를 증가시키므로 標準편차를 더 줄일 수 있으므로 著者들이 실시한 自由度 10에 비해서 변이계수가 8%임은 kit 의 안내문에 기재된 7.8%(자유도 30)와 다름없는 소견이었다.

Kit 가 달라질 때마다 동일 檢體의 측정치가 달라진다면 그 결과의 판정에 어려움이 많으므로 임상적 有用성이 결여된다. 著者들이 檢討한 결과에 의한 再現性(reproducibility)의 변이계수는 7.4~13.6%(自由度 6)로 kit 의 안내문에 기재된 5.7~7.3%(自由度 10)에 비해 약간 變異係數가 높았으나 역시 自由度를 더 높이면 더 접근할 수 있는 것으로 사료되었으며 within-assay variance 와 between-assay variance 間에 큰 차이가 없으므로 kit 로써의 안정성이 있다고 판단되었다.

V. 結 論

血清 ferritin 의 測定法中 상품화된 kit 로 2-site immunoradiometric assay 法을 검토하고 測定法의 精

度管理를 위한 실험적 考察를 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

즉 測定에 소요되는 시간은 6시간이며 total dose 대 신 maximum binding 을 이용하면 標準曲線의 slope 가 이상적인 범위이내로 유지될 수 있었다.

洗滌의 効果는 Reaction I 이 끝난후보다 Reaction II 가 끝난 후에 더욱 중요하였으며 bead 를 tube 에 들체 세척할 때에는 3회씩 세척으로 충분하였다.

血清을 회색 사용했을 때 예상値와 測定値 사이에는 좋은 비례식이 성립되었으나 血清效果를 보기위해 血清을 많이 넣었을 때는 檢體血清이 총 용적의 50% 이상을 초과하면 high dose hook 현상이 관찰되었다.

이 방법으로 검정한 sensitivity 는 2.77 ng/ml 이었으며 within-assay precision 의 變異係數는 21.7%, (mean 6.9 ng/ml), 9.7% (mean 44.3 ng/ml) 및 8.0% (mean 178.4 ng/ml)이었으며 between-assay reproducibility 의 變異係數는 7.4%이었다.

또한 放射免疫測定法의 精密度管理를 위한 文獻考察을 통하여 이 實驗의 考察을 비교 검토 하였다.

REFERENCES

- 1) Reissman, K.R. and Dietrich, M.R.: *On the presence of ferritin in the peripheral blood of patients with hepatocellular disease, J. Clin. Invest.*, 35: 588, 1956.
- 2) Aungest, C.W.: *A specific and sensitive method for the detection of ferritin in body fluids, J. Lab. Clin. Med.*, 67:307, 1966.
- 3) Addison, G.M., Beamish, M.R., Hales, D.N., Hodgkins, M.R., Jacobs, A. and Llewellyn, P.: *An immunoradiometric assay for ferritin in the serum of normal subjects in patients with iron deficiency and iron overload, J. Clin. Pathol.*, 25:326, 1972.
- 4) Miles, L.E., Lipschitz, D.A., Bieber, C.P. and Cook, J.D.: *Measurement of serum ferritin by a 2-site immunoradiometric assay, Anal. Biochem.*, 61:209, 1974.
- 5) Marcus, D.M. and Zinberg, N.: *Mesurement of serum ferritin by radioimmunoassay: Results in normal individuals and patients with breast cancer, J. Natl. Cancer Inst.*, 55:791, 1975.
- 6) Walters, G.O., Miller, F.M. and Worwood, M.:

- Serum ferritin concentration and iron stores in normal subjects. J. Clin. Pathol.*, 26:770, 1973
- 7) Cook, J.D., Lipschitz, D.A., Miles, L.E.M. and Finch, C.A.: *Serum ferritin as a measure of iron stores in normal subjects, Am. J. Clin. Nutr.*, 27:681, 1974.
 - 8) Prieto, J., Berry, M. and Sherlock, S.: *Serum ferritin in patients with iron overload and with acute and chronic liver disease, Gastroenterology*, 68:525, 1975.
 - 9) Alpert, E., Isselbacher, K.J. and Drysdale, J.W.: *Carcinofetal human liver ferritins, Nature (London)*, 242:194, 1973.
 - 10) Drysdale, J.W. and Alpert, E.: *Carcinofetal human isoferritins, Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 259:427, 1975.
 - 11) Jacobs, A., Slater, A., Whittaker, J.A., Counellos, G., and Wiernik, P.H.: *Serum ferritin concentration in untreated Hodgkin's disease, Br. J. Cancer*, 34:162, 1976.
 - 12) Schmiedeberg, O.: *Ueber das ferratin und seine diatetische und therapeutische Anwendung, Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, 33:101, 1984.
 - 13) Laufberger, V.: *Sur, la cristallisation de la ferritine, Bull. Soc. Chim. Biol.*, 19:1575, 1937.
 - 14) Granick, S.: *Ferritin: Its properties and significance of iron metabolism. Chem. Rev.*, 38:379, 1946.
 - 15) Penders, T.J., De Dooij-Dijk, H.H. and Leijnse, B.: *Rapid isolation of ferritin by means of ultracentrifugation, Biochim. Biophys. Acta*, 168:588, 1968,
 - 16) Gonyea, L.M., Lamb, C.M., Sundberg, R.D. and Deinard, A.S.: *Comparison of three procedurs for isolating human ferritin for uses of standard in an immunoradiometric assay, Clin.Chem. (N.C.)*, 22:513, 1976.
 - 17) Linder, M.C. and Munro, H.N.: *Assay of tissue ferritin, Anal. Biochem.*, 482:66, 1972.
 - 18) Rodbard, D., Rayford, P.L., Cooper, J.A. and Ross, G.T.: *Statistical quality control of radioimmunoassay. J. Clin. Endocr.*, 28:1412, 1968.
 - 19) Rhodes, B.A.: *Quality control in nuclear medicine. Mosby Co., St. Louis, 1977.*
 - 20) 최두혁, 이광길, 김병수, 김병국, 이문호 : 사람에서 혈액학적 성분의 일중 변동에 관한 실험적 관찰. 대한내과학회잡지, 23:241, 1980.
 - 21) Luxton, A.W., Walker, W.H.C., Gouldie, J., Ali, M.A.M. and Pelletier, C.: *A radimmunoassay for serum ferritin, Clin. Chem (N.C.)*, 23:683, 1977.
 - 22) Li, P.K., Humbert, J.R. and Cheng, C.: *Evaluation of commercially obtainable ferritin test kit in relation to the high dose parabolic phenomenon. Clin. Chem.* 24:1650, 1978.
 - 23) Cook, J.D., Finch, C.A. and Smith, N.J.: *Evaluation of the iron status of a population*, 48:44, 1976.
 - 24) Valberg, L.S., Sarbie, J., Ludwig, J. and Pelletier, O.: *Serum ferritin and iron status of Canadians, Can. Med. Assoc. J.*, 114:417, 1975.