

Original Article

자동 분주기 Fixed Tip의 Carryover 방지를 위한 개선 방안

삼성서울병원 핵의학과

황보라 · 어두희 · 배진수 · 박종오 · 김지영 · 석재동

The Prevention of Carryover in the Automated System With Fixed Tips

Bo Ra Hwang, Doo Hee Au, Jin Su Bae, Jong O Park, Ji Young Kim, Jae Dong Seok

Department of Nuclear Medicine, Samsung Medical Center, Seoul, Korea

Purpose: Automated system that immunoassay examination are used widely. However, sample to sample carryover can cause that the next patient sample is false positive. **Materials and Methods:** We test HBs Ag, HBs Ab, HBc Ab(IgG) with Automated pipetting system (Tecan). It was placed with very high concentrations followed by saline solution. During this experiment, The fixed tip of Automated system wash With 0.25 mol/L NaOH. The Measurement results of saline solution confirm the occurrence of carryover. **Results:** Results of saline solution with 0.25 mol/L NaOH cleaning process was measured 100% negative, And results of patient serum with 0.25 mol/L NaOH cleaning process is similar reported results. **Conclusion:** As Results, 0.25 mol/L NaOH cleaning process was avoid carryover in experiment, And we know results of the hepatitis test did not affected by this solution . we recommend 0.25 mol/L NaOH cleaning process as the Prevention of carryover in the automated system with fixed Tips. (**Korean J Nucl Med Technol 2009;13(3):181-184**)

Key Words: TECAN, Carryover, Fixed Tip, Automated system, False positive

서 론

현재 핵의학에서 실시하는 혈액 검사는 단시간에 대량의 검체를 처리하기 위해 다양한 종류의 자동화 장비들을 이용하고 있다.¹⁻³⁾ 그 중 삼성서울병원에서 사용하고 있는 스위스 TECAN사에서 생산된 Freedom Evo는 다양한 기능, 분주의 정확성, 실험자의 편리성으로 전 세계적으로 널리 사용되고 있다.^{4,5)} 이 자동분주기는 disposable tip과 fixed tip을 선택적으로 사용 가능한 것이 특징이다. 이 두 가지의 tip은 각각의 장단점을 가지고 있는데, 먼저 disposable tip은 carryover가 발생할 위험은 없으나 1회용 사용으로 tip 구입에 따른 비용

이 많이 든다. 그러나 fixed tip은 반영구 사용으로 disposable tip에 비해 상대적으로 저렴하나 검사 시 충분한 세척에도 불구하고 고농도 검체 뒤에 연이은 검체가 영향을 받는 carryover 현상이 발생할 수 있는 위험성이 있다.^{6,7)} 이 경우에는 검사결과가 위 양성으로 나타날 수 있으므로 이상 유무 판단을 위해 잦은 재검을 실시해야 하는 번거로움과 보고시간의 지연 및 키트의 소모가 있다. 이에 본 연구는 경제성이 높은 fixed tip을 사용하면서 carryover를 방지할 수 있는 방법을 알아내어 개선하고자 하는데 목적을 하고 있다.

측정대상 및 방법

1. carryover 검사

자동분주기(Tecan)를 이용한 검사에 있어서 carryover가 발생하는지 유무를 확인하기 위하여 HBs Ag 검사를 실행하

• Received: August 10, 2009. Accepted: September 9, 2009.
• Corresponding author: **Bo Ra Hwang**
Department of Nuclear Medicine, Samsung Medical Center,
50 Il won-dong, Kang Nam-gu, Seoul, 135-701, Korea
Tel: +82-2-3410-2634, Fax: +82-2-3410-2639
E-mail: bora_h@hanmail.net

였다.

1) 검체 준비

생리식염수 80개의 검체를 fixed tip이 장착된 자동분주기로 분주를 준비한다. 그리고 cpm 10,000 이상의 고농도 HBs Ag을 함유한 혈청을 모아서 풀 혈청을 만든다.

2) 측정 방법

먼저 8개의 fixed tip으로 대조 생리식염수 8개를 HBs 항체가 피복된 튜브에 100 µL씩 분주한다. 그리고 생리 식염수 분주시마다 증류수로 tip 세척과정을 거친 후 제조된 풀 혈청 100 µL를 흡입한다. 그리고 제자리에 다시 분주함으로써 tip을 HBs Ag 고농도에 노출시킨다. tip 세척과정을 거친 후 이번에는 생리식염수 100 µL를 HBs 항체가 피복된 튜브에 분주한다. 풀 혈청에 노출시킨 후 증류수로 세척하고 생리식염수를 분주하는 과정을 반복하여 72개의 생리식염수를 튜브에 분주한다. 분주된 80개의 튜브에 ¹²⁵I 표지 항체를 각각 100 µL 씩 분주하여 실온에서 90분간 반응시킨다. 반응이 이루어진 80개의 튜브를 증류수 2 mL로 4번 세척한 후 감마선 계측기로 1분간 측정한다.

2. carryover 방지를 위한 방법의 유용성 평가

0.25 mol/L NaOH 용액으로 tip을 세척하는 것이 carryover 발생을 방지하기 위한 방법으로 유용한지를 알아보기 위하여 간염의 세 가지 검사를 실행한다.

1) 검체 준비

삼성서울병원에 HBs Ag 검사를 목적으로 내원한 환자 중 120명으로 양성 50개 음성 70개 검체를 선별한다. 또한 HBs Ab 검사를 의뢰한 환자 중 104명으로 양성 61검체, 음성 43

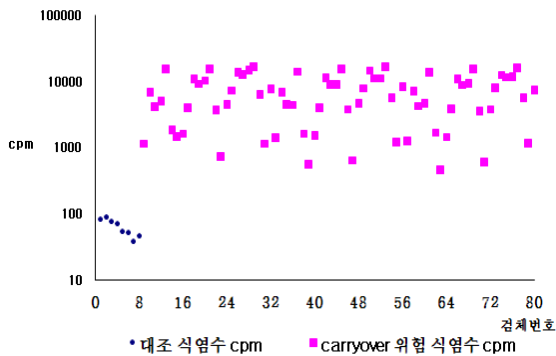


Fig. 1. The effect of carryover. Control saline (No.1-8), Saline which affected by high concentration of HBs Ag samples (No.9-80)

개, 그리고 HBc Ab (IgG) 검사를 의뢰한 환자 중 132명으로 양성 67개, 음성 65개 검체를 선별한다. 한 번에 분주 할 수 있는 장착된 tip의 수가 8개 이므로 각 선별된 검체를 8개 배치하고 이어서 생리식염수를 8개 연이어 배치한다. 이렇게 선별된 검체와 생리식염수를 8개씩 반복하여 배치한다.

2) 측정 방법

검체 분주 시 마다 carryover 발생을 방지하기 위한 방법으로 0.25 mol/L NaOH용액을 500 µL 흡입하고 제자리에 분주한다. 이런 방법으로 fixed tip을 0.25 mol/L NaOH용액으로 세척한 후 증류수로 다시 세척하는 과정을 거쳐서 각각 HBs Ag, HBs Ab, HBc Ab (IgG) 세 가지 검사를 실시한다. 검사 방법은 각 각의 항체와 항원이 피복된 튜브에 검체와 식염수를 분주한다. 분주된 튜브에 ¹²⁵I가 표지된 각각의 항체와 항원을 분주하여 HBs Ag, HBs Ab는 실온에서 90분간, HBc Ab (IgG)는 120분간 반응을 시킨다. 반응된 튜브들을 증류수 2 mL로 4번 세척한 후 감마선 계측기로 1분간 측정한다.

결 과

1. HBs Ag 실험을 분석하여 carryover의 유무를 확인하여 보았다. 고농도에 노출되지 않고 분주된 대조 식염수 8개 (1번-8번)의 검체는 100이하의 cpm을 보였다. 그리고 고농도에 노출된 후 증류수로만 세척과정을 거쳐 분주된 생리식염수 검체 72개의 cpm을 분석한 결과 455에서 16331로 다양한 분포를 보이며 높은 cpm 결과를 보였다(Fig. 2).

2. 0.25 mol/L NaOH용액으로 fixed tip의 세척이 유용한지를 확인하는 실험에서는 식염수의 결과를 분석한 결과 HBs Ag 120개, HBs Ab 104개, HBc Ab (IgG) 132개의 생리식염수 검체 모두 음성결과를 보였다. (Fig. 2-4).

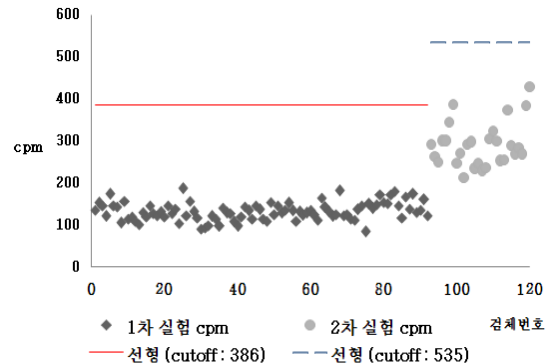


Fig. 2. HBs Ag concentration of saline which does not contain HBs Ag. Test was performed with 0.25 mol/L NaOH washed tips.

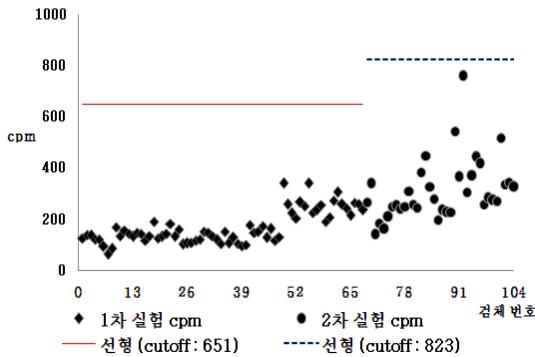


Fig. 3. HBs Ab concentration of saline which does not contain HBs Ab. Test was performed with 0.25 mol/L NaOH washed tips.

또한 선별된 검체 HBs Ag 120개와 HBs Ab 104개의 검체는 일치율 100%로 기준에 보고 된 결과와 동일하였다 (table 1, 2). 그러나 HBc Ab (IgG)검체는 일치율 95.4%를 보였다 (table 3). 그러나 불일치 검체들은 cut-off zone (cut-off±10%) 안에서의 변동임을 알 수 있었다(Table 4).

고찰

고농도에 tip을 노출시킨 후 분주된 생리식염수 검체 80개의 HBs Ag 결과가 대조 식염수와는 달리 높은 cpm을 보였다. 이 실험을 통해 고농도 다음의 분주된 생리식염수 검체가 음성임에도 불구하고 양성 결과를 보일 수도 있음을 추측할 수 있다. 이러한 carryover 현상을 방지하고자 하는 방안으로 검체 분주 시 마다 0.25 mol/L NaOH 로 tip을 세척하는 과정을 거치는 방법을 제안하고자 한다. 이 과정을 거친 실험에서는 HBs Ag, HBs Ab, HBc Ab (IgG) 검사를 실시 한 생리식염수 검체들이 모두 100% 음성을 보여줌으로서 carryover 현상이 전혀 나타나지 않음을 알 수 있었다. 그리고 선별된 검체들의 결과는 0.25 mol/L NaOH 로 tip을 세척하여도 기준에 외래에 보고 되었던 결과와 유사한 것으로 보아 0.25

Table 1. The result of HBs Ag (coincidence ratio=100%)

	negative	positive
외래보고결과	50개	70개
본 실험결과	50개	70개

Table 2. The result of HBs Ab (coincidence ratio=100%)

	negative	positive
외래보고결과	43개	61개
본 실험결과	43개	61개

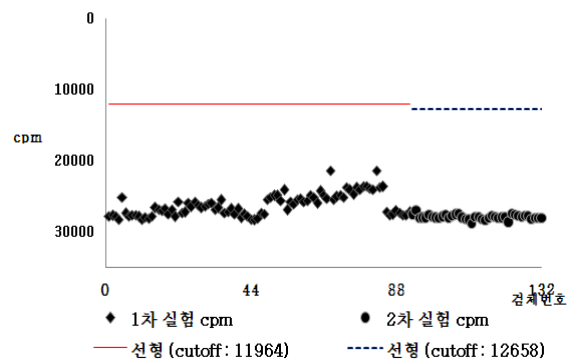


Fig. 4. HBc Ab (IgG) concentration of saline which does not contain HBc Ab (IgG). Test was performed with 0.25 mol/L NaOH washed tips.

mol/L NaOH 용액이 실험에 영향을 미치지 않음을 추측 할 수 있었다.

결론

많은 검체를 효율적으로 운용하기 위하여 자동화 장비가 필수적이며 또한 이를 유용하게 활용하여야만 한다.⁸⁾ 그러나 carryover가 발생할 가능성이 있는 검사를 이러한 장비로 실험하였을 경우 고농도 뒤에 분주된 검체는 재검을 함으로 보고시간이 늦어지고 키트의 소모량이 많아질 수 밖에 없다. 그래서 본 연구에서는 자동화 분주 장비의 carryover를 방지할 수 있는 방법을 찾고 실용성을 알아보고자 하였다. 그 방법 중 하나가 0.25 mol/L NaOH 용액으로 fixed tip을 세척하는 것이다. 고농도 다음에 분주된 생리 식염수가 모두 100% 음성을 보인 것으로 이 방법이 carryover를 예방할 수 있고, 이로 인해 발생하는 위 양성을 방지할 수 있음을 증명하고 있다.

또한, 환자 검체의 결과 값이 기준에 보고된 결과 값과 일치함으로써 0.25 mol/L NaOH 용액이 tip에 노출되었어도 증

Table 3. The result of HBc Ab (IgG) (coincidence ratio=94.5%)

본 실험결과		
외래보고결과	negative	positive
negative	70	1
positive	3	70

Table 4. Discrepancy analysis of HBc Ab (IgG)

불일치 검체	외래보고결과	본실험결과
1	Negative	Po 1.1*
2	Po 1.0*	Negative
3	Negative	Po 1.0*
4	Negative	Po 1.1*

*cutoff cpm / 검체 결과 cpm

류수로 세척을 거친다면 간염 검사결과에 영향을 끼치지 않음을 확인하였다. 따라서 본 실험에서 실시한 방법이 disposable tip보다 상대적으로 경제적인 fixed tip을 사용하면서도 carryover가 없는 정확한 검사 결과를 얻을 수 있는 효과적인 방안을 확인할 수 있다.

요 약

목적 : 자동 분주기 (TECAN)의 fixed tip 사용 시 충분한 세척에도 불구하고 고농도 검체 뒤에 연이은 검체가 영향을 받는 carryover 현상이 발생하는 경우가 있다. 이는 검사결과가 위 양성으로 나타날 수 있는 위험성이 있으므로 이상유무 판단을 위해 잦은 재검을 실시해야 하는 번거로움이 있다. 따라서 본 연구는 경제성이 높은 fixed tip을 사용하면서도 carryover를 방지할 수 있는 방법을 개선하고자 한다.

실험재료 및 방법 : 자동분주기(Tecan)를 이용하여 HBs Ag, HBs Ab, HBc Ab(IgG) 검사를 대상으로 실행하였으며, fixed tip 방식의 분주시스템으로 일반 환자의 검체 분주 후에 생리식염수를 분주 할 수 있도록 배치하였다. 세척 단계는 0.25mol/L NaOH용액을 이용하였으며, 생리식염수의 검사 결과 cpm을 측정하여 carryover의 발생 유무를 확인하였다. 또한 3가지 검사를 0.25 mol/L NaOH 용액이 검사에 미치는 영향을 분석하였다.

결과 : 생리식염수 결과는 100% 음성결과를 보였으며, 0.25 mol/L NaOH를 세척액으로 사용한 fixed tip에서 검체 분주 시 환자 혈청은 HBc Ab (IgG)검사에서 cut-off zone (cut-off±10%)을 제외한 모든 결과에서 기존 외래보고 결과와 동일한 값을 얻었다.

결론 : 생리식염수 검사결과 100% 음성을 보인 것은 실험에서 사용한 세척액으로 fixed tip을 세척하는 방법이 carry-

over를 방지할 수 있고, 이로 인해 발생하는 위양성을 방지할 수 있었다. 또한, 환자 검체의 결과 값이 기존 보고 결과와 일치함으로써 0.25 mol/L NaOH 용액이 간염 검사결과에 영향을 끼치지 않음을 확인하였다. 따라서 본 실험에서 실시한 방법이 disposable tip보다 상대적으로 경제적인 fixed tip을 사용하면서도 carryover가 없는 정확한 결과를 얻을 수 있는 효과적인 방안을 알 수 있다.

REFERENCES

1. Chantal J. Fregeau, C Marc Lett, Jim Elliott, Jim Elliott. Automated processing of forensic casework samples using robotic workstations equipped with nondisposable tips: contamination prevention. *Journal of Forensic Sciences* 2008 May;53(3):632-651.
2. Kinney TD, Meville RS. Automation in clinical laboratories. *Lab Invest* 1967; 16:803-811.
3. Felder RA, Boyd JC, Savory J, Margrey K, Martinez A, Vaughn D. Robotics in the clinical laboratory. *Clin Lab Med* 1988;8:699-711.
4. Brennan JE, Severns ML, Kline LM, Epley KM. Considerations in the use of laboratory robots: aspects of safety and accuracy. *Vox Sang* 1988;54:115-122.
5. Hassan MAM, Issac D. Utilization of a computer-controlled laboratory workstation (Biomek 1000) in routine radioimmunoassay laboratory. *Comput Biol Med* 1990;20:185-191.
6. Armbruster DA, Alexander DB. Sample to sample carryover: a source of analytical laboratory error and its relevance to integrated clinical chemistry. immunoassay systems. *Clin Chim Acta* 2006; 373:37-43.
7. Severns ML, Brennan JE, Kline LM, Epley KM. pette cleaning in automated systems. *J Autom Chem* 1986;8:135-141
8. Sarkozi L, Simson E, Ramanathan L. The effects of total laboratory automation on the management of a clinical chemistry laboratory. Retrospective analysis of 36 years. *Clin Chim Acta* 2003;329:89-94.
9. Byrne KM, Fruchey IR, Bailey AM, Emanuel PA. Automated biological agent testing systems. *Expert Rev Mol Diagn* 2003;3: 759-768.