

Original Article

자동분주기의 이월오염 평가

서울특별시보라매병원 핵의학과
이현주 · 민경선 · 신선영 · 우재룡 · 이호영

Evaluation of Carryover Contamination on Autopipetting System

Hyun Ju Lee, Gyung Sun Min, Sun Young Shin, Jae Ryong Woo, Ho Young Lee
Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Boramae Hospital, Seoul, Korea

Purpose: Autopipetting system is an efficient automated equipment pipetting patient samples and reagents for rapid and accurate test. However, it can cause carryover between high concentration sample and low concentration sample. We evaluated carryover contamination of TECAN freedom Evo 100 autopipetting system. **Materials and Method:** We studied carryover contamination of α -fetoprotein (AFP) and carcinoembryonic antigen (CEA) test on TECAN freedom Evo 100 autopipetting system. Very low concentration control samples were pipetted for comparison to the contaminated very low concentration samples. Then, The contaminated very low concentration samples were pipetted following the high concentration samples were pipetted alternately. The difference of low concentration samples represents carryover. The target value to decide carryover was 1ppm (parts per million). **Results:** For AFP, the mean values of the uncontaminated control samples and the contaminated samples were less than 0.6 IU/mL (the limit of detection (LoD)). Carryover did not occur even though the high concentration sample which value was 650000 IU/mL. For CEA, the values of the low concentration control samples and the contaminated samples were less than 0.2 ng/mL (LoD). Carryover did not occur even though the high concentration sample which value was 65,000 ng/mL. **Conclusions:** Sample carryover was not found on TECAN freedom Evo 100 autopipetting system for AFP, CEA. However, carryover is a potential problem with automated instruments and robotic pipetting systems. Therefore, Clinical laboratories must periodically verify carryover contamination for the accurate and confidential test results. (Korean J Nucl Med Technol 2009;13(3):189-192)

Key Words: Carryover, 1 ppm, Limit of detection

서 론

핵의학 검사실에서는 임상 신속한 검사 결과 보고 요청에 부응하여 환자검체와 검사시약을 효율적으로 분주하는 자동분주기의 도입이 증가하고 있다. 대부분의 자동분주기는 sample probe를 선택할 수 있는데 대부분의 병원에서는 소모품 비용 등을 고려하여 disposable tip보다는 fixed probe

pipetting system을 설치한다. 그러나 이 tip은 검체를 분주할 때 tip 내외부에 잔여물이 있을 가능성이 있다. 또한 이러한 잔여물이 다음 pipetting cycle로 이월(carryover)되어 이월오염(carryover contamination)을 발생시킬 수 있다. 이월오염이란 임상 검사에서 계속 측정 시 처음 측정치가 차기 측정치의 결과에 영향을 미치는 것을 말한다.¹⁾ 미국 병리학회 검사실 인증계획(CAP LAP)의 검사실 인증심사에서는 특수화학, 임상화학, 독물학, 요화학, 면역혈청, 혈액학 등의 분야에서 이월오염 영향의 평가 자료를 준비하도록 요구하고 있으며, EP10-A2, EP21-A와 같은 CLSI guideline과 ECCLS guideline은 검체의 이월오염에 대해 다루고 있다.²⁻⁶⁾ 핵의학 검사실에서도 자동화장비가 보편화되면서 장비의 이월오염 확인은 장비를 평가할 때 중요한 부분이 되었다.

• Received: August 9, 2009. Accepted: September 8, 2009.
• Corresponding author: Ho Young Lee
Department of Nuclear Medicine, Seoul National University, Boramae Hospital, Boramae Road, Dongjak-gu, Seoul, 156-707, Korea
Tel: +82-2-870-2591, Fax: +82-2-831-0780
E-mail: debobkr@gmail.com

이번 연구는 자동분주기를 이용하여 α -fetoprotein (AFP) 과 carcinoembryonic antigen (CEA) 검사를 시행할 때 매우 높은 고농도 검체로 인한 검체간 이월오염 발생여부를 확인하였다.

실험재료 및 방법

1. 검사기기 및 대상

장비는 도입 시 제조사와 본원 검사실 환경에 맞는 Liquid handling parameter가 구축되었고 probe 내의 단백질 침전물 등의 부착을 방지하기위해 teflon이 코팅된 fixed probe가 장착된 TECAN사의 Freedom Evo 100 자동분주기를 사용하였다. 고농도 검체로 AFP 검사에는 약 650,000 IU/mL 고농도를 보인 환자검체의 혼합혈청을, CEA 검사에는 kit 표준액과 같은 물질인 약 65,000 ng/mL 고농도 표준액을 사용하였다. 저농도 검체는 각 검사의 0표준액을 사용하였다.

2. 대상시약

AFP 측정에는 CIS사의 Biointernational AFP IRMA kit를 이용하였다. 또한 CEA 측정에는 CEA IRMA tube RIAKEY[®]를 사용하였다.

3. 연구방법

실험은 다음과 같은 방법으로 시행하였다. 먼저 reference 가 되는 오염이 안 된 저농도 검체(0표준액)를 연속 분주한다. 그런 후 고농도 검체를 분주한 다음 저농도 검체를 연속 3회

분주하는 과정을 교대로 반복한다. 고농도 검체 다음에 분주되는 저농도 검체는 오염이 예상되는 검체이다. 검체 분주 후 각 검사 방법에 따라 반응, 세척 후에 Packard cobra γ -counter 를 이용하여 농도값을 측정하였다.³⁾

4. 결과분석

이월오염 여부를 평가하기 위하여 오염이 안 된 저농도 검체와 오염이 예상되는 저농도 검체값의 각각의 평균값을 구하였다. 저농도 검체값 간의 차이는 이월오염을 나타낸다. 저농도 검체값의 평균값이 각 검사의 최소 검출 농도(limit of detection)값 이하면 이월오염은 나타나지 않은 것으로 보았다. 만약 오염이 예상되는 저농도 검체의 평균값이 더 크다면 그 차이를 계산한다. 그 차이는 이월오염을 나타낸다. 나타난 이월오염을 각 검사의 1 ppm의 carryover target 농도값과 비교하고 그이상이면 1 ppm 이상의 이월오염이 나타난 것으로 보았다. 1 ppm의 carryover target 농도값은 이월오염 검사에 사용한 고농도 검체값의 1000000분의 1 (10^{-6})이다(Table 1). 나타난 이월오염이 1 ppm의 carryover target 농도값 이하이면 이월오염은 임상적으로 무의미하다고 보았다.

결 과

AFP 검사와 CEA 검사의 오염이 안된 저농도 검체값과 오염이 예상되는 저농도 검체값의 평균값은 모두 0.6 IU/mL 이하 0.2 ng/mL 이하로 1 ppm의 carryover target 농도값과 비교할 필요없이 각 검사의 최소 검출 농도값 이하로 나타났다(Table 2). 본원에 도입된 TECAN 사의 Freedom Evo 100 자동분주기에서는 AFP 약 650,000 IU/mL와 CEA 약 65,000 ng/mL의 고농도 검체에서는 이월오염이 나타나지 않았다.

고 찰

장비의 이월오염 측정방법은 검사실에 따라 다양한 pro-

Table 1. 1 ppm Carryover target value of AFP, CEA

	고농도 검체 농도값	Carryover target 농도값(1 ppm)
AFP	650,000 IU/mL	0.65 IU/mL
CEA	65,000 ng/mL	0.065 ng/mL

Table 2. AFP, CEA carryover results

	Mean result (n=12)				
	오염 안 된 저농도검체	고농도 검체	오염이 예상되는 저농도 검체		
			1 st	2 nd	3 rd
AFP IU/mL	< 0.6	650,000	< 0.6	< 0.6	< 0.6
CEA ng/mL	< 0.2	65,000	< 0.2	< 0.2	< 0.2

TOCOL이 있다. 다음과 같은 protocol들이 있다. 주로 3개의 고농도(H) 검체와 3개의 저농도(L) 검체를 연속해서 교대로 분주하여 $\{(L1-L3)/(H3-L3)\} \times 100\%$ 와 같은 공식에 의해 검체간 이월률(carryover rate)을 구하였다.^{1,2,7-9)} 대부분 자동분석기의 이월율은 1~2% 이하로, 이것은 통상적으로 routine 분석 결과에서 의미있는 에러를 발생시키지 않는다고 보았다.^{8,9)} 또한 실험시 reference가 되는 저농도 검체 평균값과 고농도 검체 다음 분주된 저농도 검체 평균값을 비교하여 $\pm 5\%$ 를 확인하는 방법도 있다.^{10,11)} 실험시 검체는 환자혈청 또는 표준액, 생리식염수 등을 사용하였다.

과거 RIA장비에서는 Digoxin 검사 시 표준액 검체(8.0 ng/mL, 0.5 ng/mL)를 교대로 분주하여 CV% 변화를 보았고,¹²⁾ Methotrexate 검사 시 표준액(100 ug/L와 Ostd)검체를 교대로 분주하여 평균값, SD, CV%의 변화를 확인하였으며¹³⁾ T4 검사 시 3개의 고농도 검체와 3개의 저농도 검체를 교대로 측정 후 평균값, SD, P (unpaired t) 값을 확인하여 오염 안 된 검체값과 오염이 예상되는 검체값을 비교하였을 때 몇 %의 변화가 있는지 보았다.¹⁴⁾ 최소 6배 이상의 농도차이가 있는 검체를 이용하여 T4, T3, TSH 검사의 이월오염을 확인한 방법도 있었다.¹⁵⁾

이번 연구에 참고한 논문은 장비에서 실제 환자 검체에서 나타날 수 있는 매우 높은 고농도 검체를 장비에 분주하여 다음에 분주되는 최소 검출 농도 이하의 저농도 검체에 이월오염이 발생했는지 확인하고 나타난 이월오염이 허용 ppm이하인지 증명하는 실험이다.³⁾ 면역혈청 검사에서는 이월오염의 허용범위가 백만분의 일(1 ppm)로 10 ppm까지 허용이 가능하다고 본다.¹⁾ 이 실험은 나타난 이월오염이 1 ppm 이하인지 확인하기 위해 계획되었고 실험 결과 0표준액인 저농도 검체의 평균값이 모두 최소 검출 농도값 이하로 나왔으므로 이월오염이 발생하지 않은 것으로 판단된다.

결 론

핵의학 검사의 자동화장비는 1976년 기술의 노동집약성을 줄이고 검체의 작업처리량을 증가시키며 정밀도를 향상시키기 위해 미국에서 상업화된 이후 많은 연구가 있었다.^{14,15)} 특히, fixed tip을 사용하는 자동화기기의 문제점인 이월오염은 피할 수 없는 문제로 장비 제조사는 이월오염 가능성을 제거하기 위해 probe와 washing system을 연구해왔다.¹⁶⁾ 이월오염의 원인은 증류수나 생리식염수의 세척용액의 흡입, probe의 잔존하는 량과 관련되며, 이것은 다량의 희석액으로 시료

probe의 내외부 표면을 세척하여 검사과정에서 줄일 수 있는 것으로 본다.^{2,17,18)} 이번 연구에서는 AFP 약 650,000 IU/mL와 CEA 약 65,000 ng/mL의 검체에서 이월오염이 나타나지 않았으나, 검사자는 검사결과 보고서 고농도 검체가 다음의 환자 검사결과에 안정성에 영향을 줄 수 있음을 주시하고 이월오염을 확인하기 위해 주기적으로 장비관리와 이월오염 검사를 시행하여야한다.

요 약

목적 : 자동분주기의 fixed probe pipetting system은 검체 분주시 probe 내외부의 잔여물이 다음 pipetting cycle로 이월되어 처음 측정치가 차기 측정치의 결과에 영향을 미치는 이월오염(carryover contamination)을 발생시킬 수 있다. 이번 연구는 본원에 도입된 TECAN사의 Freedom Evo 100 자동분주기의 α -fetoprotein (AFP)과 carcinoembryonic antigen (CEA) 검사 시 검체간 이월오염 발생을 확인하였다.

방법 : reference가 되는 오염이 안 된 저농도 검체를 연속 분주한다. 그런 후 고농도 검체를 분주한 다음 오염이 예상되는 저농도 검체를 연속 3회 분주하는 과정을 교대로 반복한다. 오염이 안 된 저농도 검체와 오염이 예상되는 저농도 검체값의 각 평균값을 서로 비교하여보고 각 저농도 검체값이 최소 검출 농도 이하인지 확인하고 만약 저농도 검체값간의 평균값이 차이가 있다면 그 차이가 1 ppm 이하의 carryover target 농도값 이하인지 확인한다.

결과 : AFP 약 650,000 IU/mL와 CEA 약 65,000 ng/mL의 고농도 검체에서는 오염이 안 된 저농도 검체값과 오염이 예상되는 저농도 검체값의 평균값 모두 각 검사의 최소 검출 농도값 이하로 이월오염이 나타나지 않았다.

결론 : 이번 연구에서 사용한 AFP와 CEA의 고농도 검체에서는 이월오염이 나타나지 않았지만 검사자는 검사결과 보고서 고농도 검체가 다음 환자 검사결과에 안정성에 영향을 줄 수 있음을 주시하고 이월오염을 확인하기 위해 주기적인 장비관리와 이월오염 측정을 시행하여야한다.

REFERENCES

1. 문해란, 장상우. 6 시그마 정도 관리: 인종중심의 정도관리. P434, 퍼넬 흥, 서울, 2004.
2. 장상우, 김남용, 류재기, 정동진, 김기유, 박용원, 추경복. 이월오염에 대한 연구. *대한임상 검사학회지* 2005;37(3):178-184.
3. Armbruster DA, Alexander DB. Sample to sample carry over: A source of analytical laboratory error and its relevance to integrated

- clinical chemistry/immuno assay systems. *Clinica Chimica Acta* 2006;373:37-43.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory methods, EP10-A2, Wayne, PA; NCCLS; 2002. p.5.
 5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Estimation of total analytical error for clinical laboratory methods, EP21-A. Wayne, PA; NCCLS; 2003.
 6. European Committee for Clinical Laboratory Standards. Guidelines for evaluation of analyzers. Clinical Chemistry. Beuth Verlag Berline: Koln ECCLS; 1986.p.1-32.
 7. HAECKEL R , Proposals for the description and measurement of carry-over effects in clinical chemistry. *Pure&Appl. Chem* 1991; 63(2):301-306.
 8. Broughton P.M.G. Carry-over in automatic analysers. *Journal of Automatic Chemistry* 1984;6(2):94-95.
 9. Brugués JM, Roche NG, Espinosa JR, Rius MC, Sastre FG. Evaluation of Ciba Corning ACS:180™ Automated Immunoassay System. *Clin Chem* 1994;40(3):407-410.
 10. Muser J, Bienvenu J, Blanckaert N, Brandslund I, Delattre J, Soffiati G, Swaminathan R, Maggini S, Mastall H. Inter-Laboratory Evaluation of the COBAS INTEGRA®400 Analytical System. *Clin Chem Lab Med* 2001;39(6):539-559.
 11. Redondo FL, Bermudez P, Cocco C, Colella F, Grazian MS, Fiehn W, Hierl T, LeMoél G, Belliard AM, Liebel M, McQueen MJ, Stockmann W. Evaluation of Cobas Integra®800 under Simulated Routine Conditions in Six Laboratories. *Clin Chem Lab Med* 2003;41(3):365-381.
 12. Greenwood H, Landon J, Forrest GC. Radioimmunoassay for Digoxin with a fully Automated Continuous-Flow System. *Clin Chem* 1977;23(10):1868-1872.
 13. Kamel R, Landon J, Forrest GC. A Fully Automated, Continuous-Flow Radioimmunoassay for Methotrexate. *Clin Chem* 1980;26(1):97-100.
 14. Chen IW, Maxon HR, Heminger LA, Ellis KS, Volle CP. Evaluation and Comparison of Two Fully Automated Radioassay Systems with Distinctly Different Modes of Analysis. *The Journal of Nuclear Medicine* 1980;21:1162-1168.
 15. Duffy MJ, Tuttlebee J, O'Sullivan F, Davis MA. Evaluation of assays for thyroxine, triiodotyronine and thyroid-stimulating hormone on the ARIA II automated radioimmunoassay instrument. *Journal of Automatic Chemistry* 1983;5(1):43-44.
 16. Boneno J, Fokakis M, Armbruster D. Reagent Carryover Studies: Proventing Analytical Error with Open Clinical Chemistry Systems. *Laboratory Medicine* 2005;36(11):705-710.
 17. Kaplan LA. Pesce AJ. Clinical Chemistry, CV Mosby Company, p.298, Saint Louis, 1996
 18. Tietz NW. Textbook of Clinical Chemistry, p.246, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.