

화학발광자동면역분석기 Vitros ECI[®] 를 이용한 TSH, Free Triiodothyronine, Free Thyroxine 및 Estradiol 검사 평가

용동은 · 선영규* · 이건수 · 김정호 · 권오현

연세대학교 의과대학 임상병리과학교실, 건강관리공단 일산병원 임상병리과*

Evaluation of the TSH, Free Triiodothyronine, Free Thyroxine and Estradiol Test of the Vitros ECI[®] Immunodiagnostic System

Donggeun Yong, M.D., Young Kyu Sun, M.D.,* Keonsoo Yi, M.D., Jeong-Ho Kim, M.D., and Oh Hun Kwon, M.D.

Department of Clinical Pathology, Yonsei University Medical College, Seoul; Department of Clinical Pathology,*
National Health Insurance Corporation Ilsan Hospital, Ilsan, Korea

Background : The analytical performance of the Vitros ECI[®] Immunodiagnostic System on the thyroid stimulating hormone (TSH), free triiodothyronine (FT3), free thyroxine (FT4) and estradiol (E2) assays, which are based on electrochemical luminescence to replace the radioimmunoassay was evaluated.

Methods : The precision as measured by the NCCLS protocol and a comparison of the method were done for each TSH, FT3, FT4, and E2 assay. The functional sensitivity and linearity tests were performed for both TSH and E2. The free hormone validity test was performed for both the FT3 and FT4.

Results : All four analytes showed an acceptable precision. The functional sensitivities of TSH and E2 were 0.007 mIU/L, and 87 pmol/L, respectively. TSH and E2 showed excellent linearity up to 78 mIU/mL, and up to 7,700 pmol/L, respectively. The free hormone validity test showed acceptable results demonstrating accurate free hormone determination. The E2 showed a significant proportional bias requiring an adjustment of the reference range. However, the other analytes showed good agreement with a slight proportional bias.

Conclusions : The TSH, FT3, FT4, and E2 assay by Vitros ECI[®] exhibited excellent performance overcoming the drawbacks of a conventional radioimmunoassay. (*Korean J Clin Pathol* 2002; 22: 95-100)

Key words : Chemiluminescence immunoassay, TSH, Free triiodothyronine, Free thyroxine, Estradiol

서 론

방사선면역검사(radioimmunoassay, RIA)는 1960년 Yalow 등[1]이 최초로 도입한 후, 뛰어난 민감도로 인해 임상 검사실에서 많이 이용되었다. 그러나 시약의 유효기간이 짧고, 방사성 동위원소의 위험성과 폐기물 처리문제, 그리고 검사 자동화가 어려운 검사법이다.

최근 이러한 단점을 개선하고, 방사선면역검사 수준이나 그 이

접 수 : 2001년 12월 20일

접수번호 : KJCP1558

수정본접수 : 2002년 3월 25일

교신저자 : 권 오 현

우 120-752 서울시 서대문구 신촌동 134

연세대학교 의과대학 임상병리과학교실

전화 : 02-361-5861, Fax : 02-393-3320

E-mail : kohkoh@yumc.yonsei.ac.kr

상의 민감도를 보이는 화학발광면역검사법(electrochemiluminescence immunoassay)를 이용한 여러 가지 자동화 기기가 소개되어 임상 검사실에서 사용되고 있다[2]. 이 중에서 Vitros ECI[®] Immunodiagnostic System은 전자동 임의순응식 화학발광면역 분석기기(full automated random access electrochemiluminescence immunoassay)로서 특히 free thyroxine (FT4) 검사의 정확성이 우수한 것으로 평가되고 있다[3-5]. 국내에서는 안 등 [6]이 이미 Vitros ECI[®]를 이용하여 여러 종목 검사에 대한 평가를 한 바 있으나, 본 연구에서는 thyroid stimulating hormone (TSH), free triiodothyronine (FT3), FT4 및 estradiol (E2) 검사를 평가하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

기기는 Vitros ECI[®] (Ortho-Clinical Diagnostics, Raritan, NJ, USA)을 사용하였고, TSH, FT3, FT4 및 E2를 평가 종목으로 하였다. 이 기기는 streptavidin이 부착된 작은 플라스틱 용기를 고정상으로 사용하고, biotin이 표지된 특이 항체와 horseradish peroxidase가 표지된 conjugate를 부착하여 넣고, luminogenic substrate를 신호표지자로 사용하였다. TSH, FT4, FT3는 방사면역법 검사(Radim, Pomezia, Italy)와, 그리고 E2는 역시 방사면역법 검사(Biodata, Roma, Italy)와 각각 비교하였다. 또한 유사한 화학발광면역 분석기인 ELECSYS 2010 (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany)을 비교 기종으로 사용하였다.

2. 방법

1) 정밀도(Precision)

NCCLS 지침[7]에 의거하여 TSH, FT4, FT3 및 E2에 대한 정밀도 검사를 시행하였다. 고, 중, 저농도의 인혈청을 모아 정도 관리물질로 사용하였다. Calibration interval인 28일 중 20일을 균등한 분포를 가지도록 선정하여 검사간에 2시간이상의 간격을 두고, 오전과 오후, 각각 2회씩 정도관리물질을 검사하였다. 검사 차례내(within-run), 검사차례간(between-run) 및 일간(between-day) 정밀도는 NCCLS 평가 방법을 따라 시행하였다.

2) 기능적 민감도(Functional sensitivity)

TSH와 E2에 대하여 기능적 민감도를 측정하였다. 환자 3명의 검체를 TSH-free plasma matrix와 estradiol-free plasma matrix로 각각 5배 희석하였다. TSH-free plasma matrix와 estradiol-free plasma matrix는 각각 영국 Ortho 회사로부터 기증 받은 것으로 사용하였다. Calibration interval 중 10회의 검사

차례(run)에 걸쳐 환자 3명의 희석검체와 원래 검체를 TSH와 E2에 대하여 반복하여 측정하였다. 이러한 검사차례간 %CV와 TSH 및 estradiol의 농도간에 X의 누승관계 추세선을 그려 20%CV인 TSH 및 E2 농도를 기능적 민감도로 정하였다.

3) 직선성

TSH 및 E2의 직선성을 검사하였다. 검체는 고농도와 저농도의 TSH 검체를 서로의 양을 달리해 혼합하여 각각 3회 반복하여 측정하였다. 계산상 예측치와 반복검사상의 평균값을 그래프에 나타내고, 회귀방정식을 구하였다[8].

4) 유리 호르몬 검정(Free hormone validity)

평가기간 중 하루를 정해 시행하였다. 갑상선 기능이 정상인(euthyroid) 검체를 HEPES (Sigma Chemical; Cat. No. H3375, St. Louis, MO, USA) 완충액(10 mmol/L, pH 7.4)으로 각각 4회 serial dilution하여 FT4와 FT3를 반복하여 측정하였다.

5) 참고 방법과의 상관성

TSH, FT4, FT3 및 E2에 대하여 Vitros ECI[®], ELECSYS 2010 및 방사선면역측정법 사이의 상관성을 비교하였다.

(1) TSH

총 91검체를 ECI와 Elecsys TSH assay, Radim 등으로 측정하였다. 이중 한쪽에서라도 검사 한계치를 넘거나 검사를 시행하지 않은 검체를 제외한, 76 및 82검체의 결과에 대하여 각각 통계 처리하였다.

(2) FT4

총 91검체를 ECI와 Elecsys 및 Radim으로 비교 측정하였다. 이중 한쪽에서라도 검사를 시행하지 않았거나 FT4가 80 pmol/L 이상인 검체를 제외한, 83 및 84검체의 결과에 대하여 각각 통계 처리하였다.

(3) FT3

총 91검체를 ECI와 Elecsys 및 Radim으로 측정하였다. 이중 한쪽에서라도 검사한계치를 넘거나 혹은 검사를 시행하지 않은 검체를 제외한, 78 및 82검체의 결과에 대하여 각각 통계 처리하였다.

(3) Estradiol (E2)

총 61검체를 ECI와 Elecsys 및 Biodata로 측정하였다. 이중 한쪽에서라도 검사를 시행하지 않은 검체를 제외한, 59 및 61검체에 대하여 통계 처리하였다.

6) 통계 처리

검사 방법간의 비교를 위해 Deming regression, Pearson cor-

relation을 시행하였고, 통계프로그램은 Microsoft Excel 97과 Analyse-it Software (Version 1.61, Leeds, England)을 사용하였다.

결 과

1. 정밀도

NCCLS법에 의해 산출된 정밀도는 TSH검사의 경우 5.4% 이내였고, FT4는 5.8% 이내, FT3는 3.9% 이내, 그리고 E2는 7.7% 이내이었다(Table 1).

2. 기능적 민감도(Functional sensitivity)

TSH의 기능적 민감도는 0.007 mIU/L이었고(Fig. 1), E2의 기능적 민감도는 87 pmol/L이었다(Fig. 2).

3. 직선성

TSH는 직선성 검증을 통해 78 mIU/mL까지 측정 가능하였다(Fig. 3). E2는 직선성검증을 통해 7,700 pmol/L까지 측정 가능하였다(Fig. 4).

4. 유리 호르몬 검정(Free hormone validity)

갑상선 기능이 정상인 검체를 각각 4회 희석하여 측정한 결과 FT4와 FT3 각각 >8.5 pmol/L, >4 pmol/L로 감소되지 않았다(Fig. 5).

5. 참고방법과의 상관성

TSH, FT4, FT3, E2에 대하여 Vitros ECi[®]과 ELECSYS 2010 및 방사면역검사법 사이에 0.83-1.79의 기울기로 비례오차를 발견하였고, 특히 E2의 경우에는 1.48-1.79의 비례오차가 있었다(Table 2).

Table 1. Precision results of four items of immunoassay over a single 28 day calibration interval

Item	Control level	Mean value	Precision (% CV)			
			Within-run	Between-run	Between-day	Total
TSH (mIU/L)	Low	0.08	1.69	4.10	5.39	6.99
	Medium	1.94	1.14	2.51	2.38	3.64
	High	28.00	1.13	1.40	1.89	2.61
FT4 (pmol/L)	Low	6.85	5.55	5.78	0.00	8.02
	Medium	17.50	1.98	5.25	0.00	5.61
	High	56.30	2.25	3.20	1.51	4.19
FT3 (pmol/L)	Low	3.87	2.57	2.75	3.44	5.10
	Medium	7.09	1.66	1.61	2.20	3.20
	High	21.50	3.42	1.07	3.82	5.24
E2 (pmol/L)	Low	197.00	7.61	6.43	0.00	9.97
	Medium	1384.00	3.84	4.39	3.66	6.90
	High	4850.00	1.52	3.72	2.86	4.94

Abbreviations: TSH, thyroid stimulating hormone; FT4, free thyroxine; FT3, free triiodothyronine; E2, estradiol.

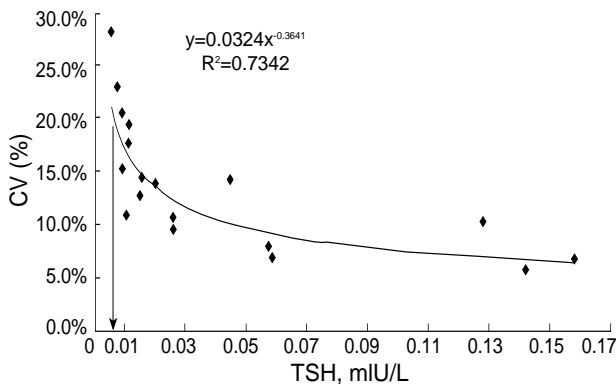


Fig. 1. Functional sensitivity of TSH shows 0.007 mIU/L at the level of 20% coefficient of interassay variation.

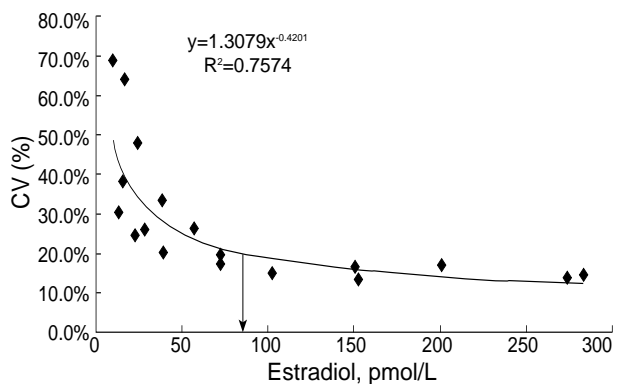


Fig. 2. Functional sensitivity of estradiol shows 87 mol/L at the level of 20% coefficient of interassay variation.

Table 2. Summaries of method comparison

Analyte	Comparative method	n	Slope	Intercept	R	P
TSH (mIU/L)	ECLIA	76	0.83 (0.77-0.90)*	-0.18 (-1.34-0.98)	0.95	<0.001
	RIA	82	0.97 (0.94-0.99)	0.29 (-0.05-0.65)	0.99	<0.001
FT4 (pmol/L)	ECLIA	83	1.10 (1.03-1.18)	1.15 (-0.87-3.18)	0.96	<0.001
	RIA	84	1.18 (1.11-1.25)	-1.3 (-3.24-0.63)	0.96	<0.001
FT3 (pmol/L)	ECLIA	78	0.83 (0.79-0.87)	1.07 (0.62-1.52)	0.98	<0.001
	RIA	82	1.41 (1.27-1.55)	-1.02 (-2.09-0.05)	0.92	<0.001
E2 (pmol/mL)	ECLIA	59	1.48 (1.41-1.56)	-130.55 (-277.46-16.36)	0.98	<0.001
	RIA	61	1.79 (1.57-2.00)	86.24 (-247.75-420.24)	0.91	<0.001

*95% confidence interval.

Abbreviations: ECLIA, electrochemiluminescence; RIA, radioimmunoassay.

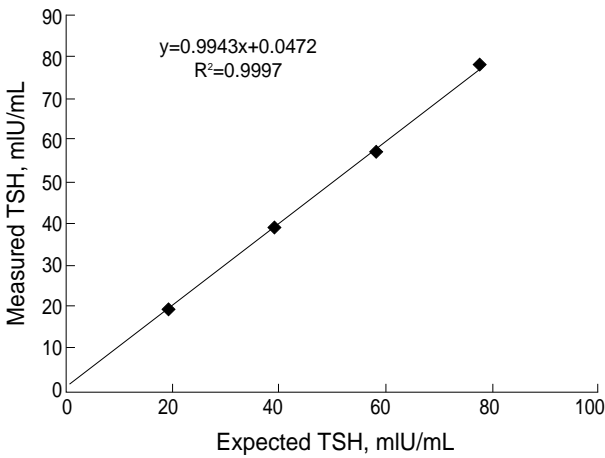


Fig. 3. Linearity test of TSH.

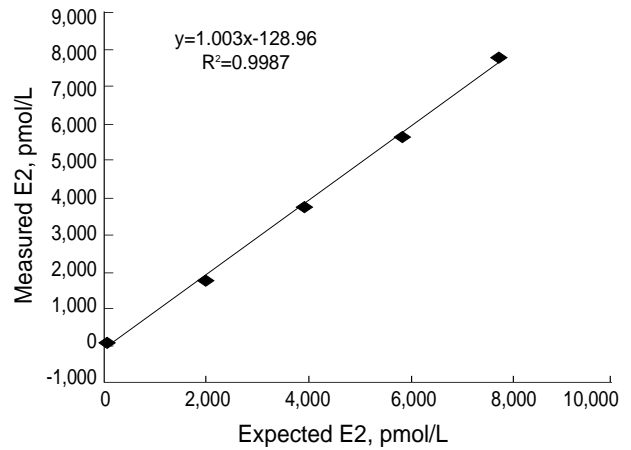


Fig. 4. Linearity test of estradiol.

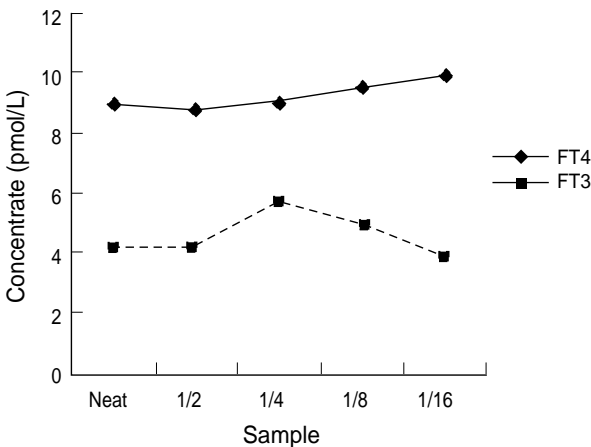


Fig. 5. Free hormone level changes in diluted samples.

고찰

저자들은 화학발광 면역검사법을 적용한 Vitros Eci®의 TSH, FT4, FT3 및 E2에 대한 검사능을 평가하였다. 정밀도를 볼 때

TSH의 경우 모두 8.1% 미만이었고, 저농도 FT4의 검사차레내, 검사차레간 정밀도와 중농도 FT4의 검사차레간 정밀도가 6% 미만으로 만족할 만하였다. 전체적으로 TSH의 경우 2.61-6.99%, FT4의 경우 4.19-8.02%, FT3의 경우 3.20-5.24% 그리고 estradiol의 경우 4.94-9.97%의 정밀도를 보여 만족할 만하였다 (Table 1).

기능적 민감도는 TSH는 0.007 mIU/L로 0.01-0.02 mIU/L인 3세대 TSH 검사의 기준[9, 10]을 만족하였다. 따라서 2세대 TSH 검사시약보다 10배 이상 민감하여 thyrotoxicosis와 정상인을 99% 이상 구별할 수 있는 유용한 검사법[11]으로 생각되었다. 혈청 내 E2 측정은 기능적 불임(functional infertility) 진단 [12]과 배란예측에 유용하다[13]. 혈청 E2는 정상 여성에서 폐경 후 51 pmol/L 이하로 감소하여 기존의 방사면역법 검사나 EIA의 최소검출농도 측정범위를 벗어난다[14]. 본 평가에서 E2에 대한 Vitros Eci의 functional sensitivity는 55 pmol/L로서, 방사면역검사법, EIA 방법의 검출한계농도[14]보다 더 낮은 농도까지 측정할 수 있었다.

혈청내 유리 갑상선 호르몬은 총 갑상선호르몬 농도와 혈청 내 갑상선 호르몬 결합 단백질의 농도의 영향을 받는다. 또 생리적 활

성형이기에 총 갑상선호르몬 농도보다 실제 갑상선기능을 잘 반영하는 것으로 받아들여지고 있다. 유리 호르몬 검정은 임상적으로 혈청 내 갑상선 호르몬 결합능의 변화가 있을 수 있는 familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia, T4 혹은 T3에 대한 자가 항체가 있는 환자들의 실제 갑상선 기능을 평가하는데 유용하다 [15, 16]. 본 평가에서 euthyroid 검체를 각각 4회 회석하여 측정된 결과, FT4와 FT3 모두 감소되지 않아서 free hormone 측정에 신뢰성이 확인되었다. 본 연구에서는 시행하지 않았으나 다른 기관에서 평가한 바에 의하면 FT4 검사의 정확성이 우수한 것으로 평가된 바 있다[3-5](Fig. 1).

TSH, FT4, FT3, estradiol에 대하여 Vitros ECI[®]과 ELECSYS 2010의 상관성을 평가한 결과 Table 2와 같이 대부분은 약간의 비례 오차 또는 항시오차가 있어서 교체에는 큰 문제가 없을 것으로 보였다. 다만, E2의 경우에는 참고범위 재설정이 필요할 정도로 비례 오차가 있었고 이는 사용한 참고물질 등에 의한 차이로 생각되었다. 이상의 결과로 보아 Vitros ECI[®]에 의한 TSH, FT3, FT4 및 E2 검사 방법은 임상적으로 방사면역검사법 등 기존의 방법을 대체하며, 자동화할 수 있고, 특히 유리 호르몬 농도 검사의 정확도는 우수한 것으로 평가되었다.

요 약

배경 : 임상 검사실에서는 자동화 및 간편성의 요구가 커지는 한편 정확도, 민감도 및 직선성이 우수한 검사 방법이 요구된다. 저자들은 방사선면역측정법(방사면역검사법)을 대체할 만한 화학발광 면역검사법을 적용한 Vitros ECI[®] Immunodiagnostic System에 의한 TSH, FT4, FT3 및 estradiol 검사를 평가하였다.

방법 : TSH, free triiodothyronine (FT3), free thyroxine (FT4) 및 estradiol (E2)을 평가 대상으로 하였다. NCCLS기준에 의한 정밀도를 측정하였고, Elecsys 2010 및 방사면역검사법을 기준으로 비교 분석하였다. TSH와 E2에 대하여는 기능적 민감도와 직선성을 측정하였다. FT4 및 FT3에 대해서는 배수 희석법에 의한 유리 호르몬 검정을 실시하였다.

결과 : 정밀도는 네 항목 모두 우수하였고, TSH 및 E2의 기능적 민감도는 각각 0.007 mIU/L 및 87 pmol/L이었다. TSH는 최소 78 mIU/mL까지, E2는 최소 7,700 pmol/L까지 직선성이 유지되었다. 유리 호르몬 검정에서도 FT4와 FT3 각각 >8.5 pmol/L, >4 pmol/L로 감소되지 않았다. 참고방법과 상관성비교에서 TSH, FT4 및 FT3는 기울기 0.83-1.41의 비례오차를 보였고, E2의 경우 기울기 1.48-1.79의 비례오차가 있었다.

결론 : Vitros ECI[®]에 의한 TSH, FT3, FT4 및 E2 검사는 우수한 성능을 보여서, 기존의 방사면역검사법의 단점을 극복할 수 있는 방법으로 평가되었다.

감 사

Ortho-Clinical Diagnostics 사의 Dr. Andrew J. Beard 및 (주) 한국존슨앤드존슨올쏘의 이승복 과장의 도움에 감사드립니다.

참고문헌

1. Yalow RS and Berson SA. *Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. J Clin Invest* 1960; 39: 1157-75.
2. Hendriks HA, Kortlandt W, Verweij WM. *Standardized comparison of processing capacity and efficiency of five new-generation immunoassay analyzers. Clin Chem* 2000; 46: 105-11.
3. Christofides ND, Wilkinson E, Stoddart M, Ray DC, Beckett GJ. *Assessment of serum thyroxine binding capacity-dependent biases in free thyroxine assays. Clin Chem* 1999; 45: 520-5.
4. Saw S, Sethi S, Aw TC. *Technical evaluation of thyroid assays on the Vitros ECI. Clin Chem* 1999; 45: 578-80.
5. Sapin R. *Serum thyroxine binding capacity-dependent bias in five free thyroxine immunoassays: assessment with serum dilution experiments and impact on diagnostic performance. Clin Biochem* 2001; 34: 367-71.
6. 안지영, 장철웅, 최태운. 화학발광 자동면역분석기 Vitros ECI의 평가. *임상병리와 정도관리* 2000; 22: 203-12.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices. NCCLS tentative guideline EP5-T2. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1992.*
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of linearity of quantitative analytical methods. NCCLS tentative guideline EP6-P. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1992.*
9. Browning MC, Ford RP, Callaghan SJ, Fraser CG. *Intra- and interindividual biological variation of five analytes used in assessing thyroid function: implications for necessary standards of performance and the interpretation of results. Clin Chem*, 1986; 32: 962-6.
10. Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M, MacKenzie F, Beckett GJ, Wilkinson E. *Interlaboratory/intermethod differences in functional sensitivity of immunometric assays of thyrotropin (TSH) and impact on reliability of measurement of subnormal concentrations of TSH. Clin Chem* 1995; 41: 367-74.
11. Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M. *Current status and performance goals for serum thyrotropin (TSH) assays. Clin Chem* 1996; 42: 140-5.
12. Nicoloff JT and Spencer CA. *Clinical review 12: The use and misuse of the sensitive thyrotropin assays. J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71: 553-8.
13. Haning RV Jr, Levin RM, Behrman HR, Kase NG, Speroff L. *Plasma estradiol window and urinary estriol glucuronide determinations for moni-*

- toring menotropin induction of ovulation. Obstet Gynecol 1979; 54: 442-7.*
14. Roger M, Grenier J, Houlbert C, Castanier M, Feinstein MC, Scholler R. *Rapid radioimmunoassays of plasma LH and estradiol-17 β , for the prediction of ovulation. J Steroid Biochem 1980; 12: 403-10.*
15. Sato H, Mochizuki H, Tomita Y, Kanamori T. *Enhancement of the sensitivity of a chemiluminescent immunoassay for estradiol based on haptent heterology. Clin Biochem 1996; 29: 509-13.*
16. Ekins R. *Validity of analog free thyroxine immunoassays. Clin Chem 1987; 33: 2137-44.*
17. Ekins R. *Analytic measurements of free thyroxine. Clin Lab Med 1993; 13: 599-630.*