



임상검사실에서의 액체크로마토그래피-질량분석을 위한 권고안: 제3편. 질 보증

Recommendations for Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in the Clinical Laboratory: Part III. Quality Assurance

김세림^{1*} · 이상국^{2*} · 문수영³ · 박형두⁴ · 송상훈⁵ · 이경훈⁶ · 최현정⁷ · 이수연⁴; 대한임상화학회 임상질량분석연구위원회
Serim Kim, M.D.¹, Sang-Guk Lee, M.D.², Soo Young Moon, M.D.³, Hyung-Doo Park, M.D.⁴, Sang Hoon Song, M.D.⁵,
Kyunghoon Lee, M.D.⁶, Hyun-Jung Choi, M.D.⁷, Soo-Youn Lee, M.D.⁴; Clinical Mass Spectrometry Research Committee
of the Korean Society of Clinical Chemistry

녹십자의료재단 진단검사의학부¹, 연세대학교 의과대학 진단검사의학과², 부산대학교병원 진단검사의학과³, 성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 진단검사의학과⁴, 서울대학교 의과대학 서울대학교병원 진단검사의학과⁵, 서울대학교 의과대학 분당서울대학교병원 진단검사의학과⁶, 전남대학교 의과대학 진단검사의학교실⁷

Department of Laboratory Medicine¹, Green Cross Laboratories, Yongin; Department of Laboratory Medicine², Yonsei University College of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine³, Pusan National University Hospital, Busan; Department of Laboratory Medicine and Genetics⁴, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine⁵, Seoul National University College of Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul; Department of Laboratory Medicine⁶, Seoul National University College of Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam; Department of Laboratory Medicine⁷, Chonnam National University Medical School and Hospital, Gwangju, Korea

The use of liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) in clinical laboratories is increasing and is likely to expand into even more clinical venues in the future. Mass spectrometry is the standard method for analyte identification in the clinical chemistry field; however, differences in mass spectrometry protocols and handling affect the accuracy and reliability of these tests and prevent direct comparisons of results between laboratories. For example, the results of laboratories using LC-MS/MS methods are less likely to be reproducible than those of laboratories using conventional, automated methods. This is due to inadequate handling of the equipment and/or poor quality control after the implementation of the method, which may result in unnecessary medical expenditures or even adverse outcomes for the patients. Unfortunately, guidelines to monitor the accuracy of LC-MS/MS-based clinical tests are still lacking. In general, the quality control methods used in conventional clinical tests could also be applied to LC-MS/MS. However, additional quality control methods specific to LC-MS/MS techniques must be continuously employed to maintain the same quality level achieved during method development and verification. This report is intended to help clinical laboratories that operate LC-MS/MS improve the accuracy and reliability of their testing by providing guidance for quality assurance and improvement, based on a collection of existing guidelines and expert opinions from the literature.

Key Words: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry, Recommendation, Clinical testing, Quality assurance, Quality control, Post-implementation monitoring, Clinical laboratories

Corresponding author: Soo-Youn Lee, M.D., Ph.D.

<https://orcid.org/0000-0001-7595-4042>

Department of Laboratory Medicine and Genetics, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, 81 Irwon-ro, Gangnam-gu, Seoul 06351, Korea

Tel: +82-2-3410-1834, Fax: +82-2-3410-2719, E-mail: sy117.lee@samsung.com

*이 논문은 두 저자가 공동 1저자로 참여하였음.

Received: June 14, 2019

Revision received: August 19, 2019

Accepted: September 18, 2019

This article is available from <https://www.labmedonline.org>

© 2020, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서론

임상검사실에서의 액체크로마토그래피-탠덤질량분석기(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)의 활용은 점차 늘어나고 있으며, 앞으로 더욱 다양한 임상검사 분야로 확대될 가능성이 높다. 일반적으로 임상화학 분야 대부분의 검사항목에 있어서 질량분석 검사법은 표준 측정법으로 알려져 있지만, 질량분석법을 사용한다는 사실만으로 검사의 정확도 및 신뢰성을 담보하기는 어렵다. 실제로 LC-MS/MS 검사법이 기존 자동화검사법보다 오히려 더 큰 검사실 간의 결과 차이를 보일 수 있다. 이는 검사 도입 이후 질량분석장비의 운용 및 검사의 품질 관리가 미

흡하거나 부적절한 상황에서 발생할 수 있으며, 이로 인하여 환자에게는 불필요한 의료비 지출이나 불리한 결과가 발생할 수 있다.

임상검사실은 검사실 질관리시스템(quality management system)의 구축을 통하여 일정 수준 이상의 질 목표(quality goal)를 만족하기 위하여 노력하여야 한다. 질관리시스템의 중요한 구성요소 중 2가지는 정도관리(quality control, QC)와 질 보증(quality assurance, QA)이다. 일반적으로 QC는 질 목표 달성 여부를 평가하는 과정으로 오류를 사전에 찾아내는 것을 목적으로 한다. LC-MS/MS 검사법에서는 QC를 통해 보정(calibration)의 적절성을 평가하고, 측정불확도(measurement uncertainty)가 의도한 임상적 목표를 달성하기 위한 범위 이내인지를 평가 한다. 이보다 넓은 의미의 QA는 검체의 전처리 단계에서부터 결과 보고 및 해석까지 검사의 전체 단계에 대한 계획적이고 체계적인 감시(monitoring) 활동들로 정의할 수 있다[1]. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)는 미국 FDA (Food and Drug Administration)에서 승인을 획득한 통상적인 검사 방법들에 대한 다양한 질관리 가이드라인들을 제시하고 있다. 하지만, LC-MS/MS 검사법을 이용한 임상 검사들의 검사법 도입 후의 질관리 감시(post-implementation monitoring)에 대한 지침은 아직도 부족한 상태이다. 통상적인 검사에 적용되는 질관리 방법이 LC-MS/MS를 이용한 검사에 그대로 적용될 수 있는 부분도 있지만, LC-MS/MS의 특성을 고려한 특징적인 질관리 활동을 추가함으로써 검사법 개발 및 검증 당시의 분석 성능이 지속적으로 유지되도록 관리하는 것이 필요하다[2].

이 권고안은 기존의 권고안을 포함한 문헌 및 전문가들의 의견수집을 기반으로 LC-MS/MS를 운영하는 임상 검사실의 질 보증 및 개선을 위한 방향을 제시함으로써, 일상적인 임상 검사실 환경에서 LC-MS/MS 검사의 정확성과 신뢰성을 향상시키는데 도움을 주고자 마련되었다.

이 권고안의 도입부에서는 다른 검사에서도 사용되는 일반적 내부정도관리 방법의 LC-MS/MS 검사법에서의 적용에 대해 간략하게 소개하고, 이어서 LC-MS/MS 검사법에 특징적인 주요 질관리 지표와 주기적 점검 및 평가 항목들, 그리고 마지막으로 LC-MS/MS 검사법을 이용한 임상 검사 항목들에 대한 외부정도관리에 대하여 기술하고자 한다.

LC-MS/MS를 이용한 검사의 질 보증

1. 일상적 정도관리 및 검사수행

1) 내부정도관리물질을 이용한 내부정도관리

(1) 내부정도관리물질의 선정

일반적인 자동 화학 및 면역 분석기를 사용한 정량검사의 경우 최소 2가지 농도의 내부정도관리물질을 사용하여 검사일마다 내

부정도관리를 수행해야 한다. 질량분석기를 이용한 정량검사 또한 2가지 농도 이상의 내부정도관리물질이 필요하며, 특히 질량분석법을 이용한 검사는 측정가능범위가 일반 검사법에 비해 상당히 넓을 수 있기 때문에, 이 경우 3가지 이상 더 많은 농도의 내부정도관리물질을 사용할 것이 추천된다. 만약 3가지 농도의 정도관리물질을 사용한다면, 저농도 물질은 측정가능범위(analytical measurement range, AMR) 하한 값의 3배 정도의 농도를 갖는 물질을, 고농도 물질은 AMR 상한 값 근처의 물질을, 다른 하나는 AMR의 중간 농도 근처의 물질을 사용한다. 그 외에 의학적 결정농도(medical decision point) 근처의 물질, AMR 하한 값 근처의 물질을 추가하여 사용할 수 있다. 내부정도관리물질로서 상품화된 물질을 사용하는 경우가 많은데, 상품화된 물질은 동결건조된 제품이 대부분이고 기질이 환자 검체와 차이가 날 수도 있기 때문에 사용 시 주의가 필요하다[3]. 내부정도관리물질의 검사 시에는 환자 검체와 동일하게 검체 전처리 과정을 수행해야 하며, 이를 통해 전체 분석 과정을 감시할 수 있다.

(2) 허용범위의 설정

질량분석법에서의 정도관리물질의 허용범위 설정은 두 가지 방법 중 선택할 수 있다.

첫번째 방법은 통상적인 검사법에서 일반적으로 권장되는 Levey-Jennings (L-J) chart를 사용하여 Westgard multi-rule을 사용하는 것이다. 이때 허용범위는 검사실에서 자체적으로 설정해야 하며, 5일 이상에 걸쳐 20회 이상 측정하여 평균과 표준편차를 산출한다[4].

두 번째 방법은 목표값으로부터 허용되는 차이를 고정된 비율(fixed percent)로 설정하는 것이다. FDA에서 출간한 Bioanalytical Method Validation Guideline에 따르면 내부정도관리물질은 목표값의 15% 이내의 결과를 보여야 하며, 최소정량한계(lower limit of measuring interval, LLMD) 농도의 경우 20%까지가 허용된다[5]. 일반적으로 가장 많이 사용되는 허용 비율은 목표값의 10-20%이며[6], 개별 검사실에서 측정 항목의 특성에 따라 자체적으로 설정할 수 있다. 고정된 허용 비율을 사용하는 방법의 장점은 사용하기 쉽다는 것이다. 대부분의 LC-MS/MS 소프트웨어는 허용 기준을 초과한 정도관리 결과에 대해 flag을 표시하는 기능을 가지고 있어 검사자가 쉽게 내부정도관리의 실패 여부를 체크할 수 있다. 하지만 내부정도관리 결과의 연속적인 모니터링이 어려워 경향을 파악하기 힘들다는 단점이 있다. 따라서 고정비율을 이용한 방법은 첫 번째 제안한 Levey-Jennings chart를 사용하기 어려운 경우에 한하여 제한적으로 사용할 수 있다.

Table 1. Post-implementation monitoring parameters for LC-MS methodologies [5]

Monitoring Parameter	CLSI-C62A Recommendation
System suitability test	<ul style="list-style-type: none"> • Analysis of system suitability sample at least three times* before each analytical run • Establishment of acceptable criteria for retention time, peak height, peak width, ion ratio, and signal-to-noise ratio
Double blank	<ul style="list-style-type: none"> • Analyte peak area in double blank <20% in peak area for the sample at the LLMI • IS peak area in double blank <5% of peak area for the sample
Blank	<ul style="list-style-type: none"> • Analyte peak area in blank <20% of peak area for the sample at the LLMI
Calibrator accuracy	<ul style="list-style-type: none"> • Bias ≤ 15% for all calibrators above the LLMI, ≤ 20% for LLMI • r² of calibration curve >0.995
IS peak area	<ul style="list-style-type: none"> • Establishment of acceptable criteria for IS peak area range • Comparable IS peak area across calibrators and controls in the same run (CV of 5-10%*) • Consistent IS peak area of calibrators between runs
Retention time (Rt) and/or Relative retention time (RRt)	<ul style="list-style-type: none"> • Rt or RRt in sample within 2.5% of the mean Rt/RRt of the calibrators in the same batch (and between batches)
Ion ratio	<ul style="list-style-type: none"> • Establishment of acceptable criteria for ion ratio • Comparable ion ratio across calibrators in the same run • Comparable mean ion ratio of calibrators between run • Ion ratio in the patient samples within 20%* of the mean ion ratio of the calibrators, if the signal of the qualifier ion is >50% that of the quantifier ion

*These figures are not compulsory, but are recommended.
Abbreviations: IS, internal standard; LLMI, lower limit of measuring interval.

2) LC-MS/MS 검사법의 주요 관리지표(Table 1)

(1) 시스템 적합성 평가(System suitability test, SST)

SST의 목적은 환자 검체 분석을 시행하기 전에 LC-MS/MS 시스템의 성능을 평가하는 것이다. SST에는 분석물질(analyte)과 내부 표준물질(internal standard, IS)이 순수 용매에 녹아 있는 표준용액(reference solution)을 사용하게 된다. SST는 전처리가 필요하지 않으며, 전처리와는 독립적으로 시스템 성능에 대한 정보를 제공해 준다. SST는 장비의 유지보수, 전원 중단, 진공 파괴, 튜닝/질량 보정 후에도 시행하는 것이 권장된다. CLSI-C62A에서는 환자 검체 분석 전 3회 이상의 SST 검체를 사용하여 시스템 성능을 평가할 것을 추천한다[6, 7]. 하지만 현실적으로 임상검사실에서 매 정규 검사 때마다 다양한 SST를 반복적으로 수행하는 것이 어려울 수 있기 때문에 내부정도관리를 통해 시스템 문제를 간접적으로 모니터링하고, 내부정도관리 결과에 문제가 있거나, 장비의 유지보수, 전원 중단, 진공 파괴, 튜닝/질량 보정을 시행한 경우 최소 한 가지 이상의 SST 검체를 사용하여 시스템을 체크할 것을 권장한다. 이때 모니터링이 필요한 관리 지표들로는 정확한 피크의 존재(presence of correct peak), 배경신호(background signal) 및 분석 신호(analyte signal)의 강도(intensity), 피크 해상도(peak resolution), 머무름 시간(retention time, RT), 피크 대칭성(peak symmetry) 등이 있다. 각 지표에 대한 허용범위는 검사법 검증(method verification) 중에 설정해 두어야 한다.

(2) 이중 공시료(Double blank samples) 및 공시료(Blank samples)

이중 공시료는 분석물질과 IS를 어느 것도 포함하지 않은 전처리를 마친 검체를 의미한다. 이중 공시료 검사의 목적은 LC-MS/

MS 시스템의 배경 신호를 모니터링하는 것이다. 또한 이전 분석으로부터의 오염이나 고농도 검체 분석 후의 오염을 평가할 수 있다. 따라서 이중 공시료는 배치(batch)의 시작과 끝, 그리고 고농도의 보정물질(calibrator) 또는 정도관리물질의 분석 후에 검사하는 것이 추천된다. 이중 공시료 분석 시 분석물질에 특이적인 다중반응 모니터링(multiple reaction monitoring, MRM)에서 피크가 나타나지 않아야 한다. 만약 피크가 발생하였고, 이 배경 피크가 분석 물질의 RT 시점에서 보이는 경우, 이 피크의 면적은 LLMI 수준의 농도를 갖는 검체의 피크 면적의 20% 미만이어야 하며, 또한 IS의 RT 시점에서 피크가 보이는 경우, 검체 내 IS 피크 면적의 5% 미만이어야 한다. 이를 통해 검사법이 배경 신호나 오염으로부터 자유롭다는 것을 확인할 수 있다[6].

공시료는 분석물질은 없지만 IS는 포함하고 있는 전처리를 마친 검체를 의미한다. 공시료는 IS의 분해(IS에서 중수소의 가수분해 등으로 인한)로 인해 분석물질의 피크 면적이 증가하는 오류를 확인하기 위한 목적으로 사용된다. 공시료에서 검체의 분석물질의 RT 시점에 배경 피크가 보이는 경우에도 역시 이 피크의 면적은 LLMI 수준의 농도를 갖는 검체의 피크 면적의 20% 미만이어야 한다[6].

(3) RT 감시

RT의 이동은 흔히 컬럼 온도의 변화, LC 펌프의 이상으로 인한 유속의 변화, 이동상의 변질이나 증발 등으로 인한 화학적 조성의 변화, 또는 분석 물질 내 불순물에 의한 컬럼 내 침착 등이 원인이 될 수 있으며, 따라서 이를 일정하게 유지시키는 것은 분석의 정확성에 대한 지표로서 중요하다. 분석 중에는 모든 피크에 대한 RT를

감시하여야 한다. RT의 허용범위는 검사법 검증 시에 정해져야 하며, 표준검사지침서에 명기되어 QA의 일부로 사용되어야 한다. RT는 동일한 수행(run) 내에서 일정하게 유지되는 것이 중요하지만 수행과 수행 사이에서도 모니터링 되어야 한다. 이는 RT의 변화가 시간에 따른 경향성이 있는지를 관찰하기 위한 목적이다. 분석물질의 RT 외에 분석물질과 IS의 RT의 상대적 비율(relative retention time, RRt)도 추가적인 모니터링 지표가 될 수 있으나[6, 8], 보편적으로 많이 사용되지는 않고 있다.

(4) IS 피크 면적 감시

개별 환자 검체에서의 IS 피크 면적은 다양할 수 있으며, 추출 과정의 차이 또는 간섭물질의 존재 및 정도를 반영할 수 있다. 하지만 IS 피크 면적의 차이가 IS를 첨가하는 과정에서 발생한 오류 때문일 수도 있으므로 환자 검체에 대한 IS 피크 면적의 허용범위, 즉 IS 피크 면적의 상한 및 하한은 검사법 개발 단계에서 정해져야 한다. 환자 검체들을 혼주(pooling)하여 만든 보정물질이나 정도관리물질은 기질의 특성이 동일하기 때문에 IS 피크 면적의 변화가 개별 환자 검체들보다 적다. 따라서 수행 내에서의 보정물질과 정도관리물질 간의 IS 피크 면적은 유사해야 한다. 이들 물질에서 IS 피크 면적의 변이계수 백분율(%CV)은 미리 정해진 목표값보다 적어야 하며 CLSI-C62A에서는 5-10% 사이의 목표값을 추천한다. 하지만 이 목표값이 절대적인 수치는 아니며 검사실마다 그리고 검사항목마다 적절한 기준을 정하여 모니터링 할 수 있다. 수행 간에는 IS 피크 면적의 변이가 발생할 수 있는데, 이는 컬럼이나 시스템 조건의 변화를 반영할 수 있다. 특정 환자 검체에서의 IS 피크 면적의 큰 차이는 중복된 IS의 첨가나 오염을 시사할 수 있고 재검사를 통해 오류 여부를 확인해야 한다. 만약 검체 전처리 과정이 복잡하거나 대사체가 존재할 경우, 검체마다 IS 피크 면적의 변이는 더 심하게 나타날 수 있다.

IS 피크 면적은 수행 내에서 일정하게 유지되는 것이 가장 중요하지만, 수행과 수행 사이에서도 일정하게 지속되는 것이 좋다. IS 피크 면적의 점진적인 감소는 IS의 변성, 이온화 감소, 검출기(detector)의 성능 저하 또는 검사법이나 시약의 문제 발생 등을 반영한다. 피크 면적의 감소가 IS에 국한된 것인지 분석물질에도 함께 나타나는 문제인지를 살펴보는 것이 원인을 파악하는데 도움이 될 수 있다.

(5) 보정물질의 정확도

보정물질의 기대값 대비 측정값의 허용오차는 LLMI 초과의 모든 값에서 15% 미만이어야 하며, LLMI에 해당하는 값에서는 20% 미만이어야 한다[5, 6]. 특정 분석물질에 대해서는 더 엄격한 기준이 적합할 수 있는데, 이런 경우 허용기준은 생물학적 변이, 전문가

그룹에 의한 임상지침, 각 국가의 규정에 의해 설정될 수 있다. 개별 보정물질 측정값이 허용오차를 벗어났을 때 해당 보정물질을 제외하는 기준이나, 제외할 수 있는 보정물질의 최대 수가 정해져 있어야 한다. 가장 높거나 낮은 농도의 보정물질도 보정선(calibration curve)에서 제외될 수 있고, 남은 범위에서 생성된 보정선을 이용하여 해당 범위의 결과값을 보고할 수 있다.

보정물질의 피크 면적은 수행과 수행 간에 일정하게 유지되는 것이 좋다. 연속된 수행에서의 보정물질 피크 면적의 점진적인 감소는 보정물질의 변성을 시사한다. IS나 정도관리물질에서도 동일한 현상이 나타나는지를 검토하여 문제가 보정물질에 국한된 것인지 일반적인 문제인지 감별하는 것이 필요하다. 보정물질에 국한된 문제라면 검사결과에 비울적인 오차를 유발할 수 있기 때문에 심각한 문제일 수 있다. 각 보정물질에서 분석물질과 IS의 피크 면적 비율을 미리 정해진 범위 내에서 관리하는 것도 보정물질 측정의 오차를 방지하는 방법이다.

(6) 보정선 기울기 감시

보정선 기울기의 감시는 각 분석 수행마다 시행되어야 하고 미리 정해진 허용범위 내에 있는지, 또한 보정선의 결정계수(r^2)는 0.995를 초과하는지를 확인한 후 환자 검체의 결과가 보고되어야 한다. 보정선 기울기가 허용범위 내에 드는 것은 환자 결과를 보고하기 위한 필수 조건이지만 충분조건은 아니다. 정도관리물질의 결과, RT 감시 결과, IS 신호 강도도 모두 허용범위 이내에 들어야 한다. 지속적으로 기울기의 감소가 나타날 경우 보정물질의 손상 또는 검출기 민감도의 감소가 원인일 수 있다.

(7) 이온 비율(lon ratio) 감시

이온 비율은 정량이온(quantifier)과 정성이온(qualifier)의 피크 면적 간의 비율을 의미한다. 이온비율 감시는 검사의 선택성(selectivity)을 검증하는데 중요하다. 분석물질과 IS 모두 수행 내, 수행 사이에서 이온 비율이 일정하게 유지되어야 하고, 각 환자의 검체를 분석할 때 간섭이 있었는지를 결정하기 위해서 반드시 모니터링 되어야 한다. 각 분석물질에 대한 이온 비율의 허용범위는 검사법 개발 시에 설정되어 있어야 한다. 대부분의 질량분석기 제조사들은 이온 비율을 자동으로 산출해 주는 컴퓨터 소프트웨어를 제공해 준다. 만약 특정 검체에서의 이온 비율이 허용범위를 벗어났을 때는 자동경고 메시지가 표시되어야 하고, 이는 간섭물질의 존재를 알려주는 척도가 된다. 수행 사이에 보정물질의 이온 비율의 유의한 변화가 있을 경우 이온화 과정의 문제를 시사하며, 문제를 찾아 교정하는 과정이 필요하다. 만약 정량 이온의 피크 면적이 상당히 작고 정성 이온의 피크가 나타나지 않는 검체가 있다면 결과를 보고할지를 결정하기 위해 검사실 책임자의 결과 검토가 반드시

시 필요하다[6]. 독성학 검사에서는 정량이온과 정성이온이 반드시 관찰되어야 하고, 두 개의 이온 피크 중 하나라도 관찰되지 않는다면 결과를 보고해서는 안 된다.

3) 기타 고려 사항

(1) 다중 측정

여러 가지 성분에 대한 동시 분석이 가능하다는 것이 질량분석법의 중요한 장점 중 하나이다. 신생아선별검사에서는 수십 가지의 아미노산 및 아실카르니틴 성분이 포함되며, 약물 검사에 있어서도 한 가지 성분만을 대상으로 하는 경우는 거의 없고 여러 가지 약제 성분들 및 관련 대사체들을 함께 측정할 수 있도록 검사법을 개발하게 될 것이다. 하지만, 다중 측정과 관련하여 특별한 고려가 필요한 사항들도 있다. 이를테면, 각 성분에 대해 검체 전처리 시의 회수율이나 기질 효과가 다를 수 있고 표준 물질 하나로 동시 분석하는 모든 성분의 정량을 모두 해결하기는 어려울 것이다. 보정선과 정도관리물질은 각각의 측정대상 항목들에 대해 임상적으로 의미 있는 농도가 포함되도록 준비가 되어야 할 것이다. 한 가지 성분에 대해 정도관리 결과 상 문제가 발견되었을 때, 동시에 검사가 이루어진 다른 성분들에 대한 검사결과는 유효한 것으로 허용할 경우도 있겠으나, 관련 대사체 성분들에 대해서는 허용하지 않도록 한다[4]. LC-MS/MS를 이용한 신생아선별검사의 경우 다중동시 측정을 감안한 별도의 정도관리 허용기준과 관리가 필요할 것이며 이에 대해서는 CLSI NBS04 [9]를 참조하여 각 검사실에서 지침을 마련하기 바란다.

(2) 배치 크기(Batch size)

각 검사법에 대해서 해당 보정선과 정도관리가 유효하며 검체오염이 없고 일정한 IS 신호강도가 유지된다고 볼 수 있는 검사 배치의 최대한의 크기를 사전에 평가하여 결정해 둘 필요가 있다. 검사물량이 많거나 크로마토그래피 시간이 길어서 전체 분석소요시간이 긴 경우 특히 신경을 써야 할 부분이며, 검사물량과 검사주기도 감안해서 적절한 배치 크기로 계획 및 평가한다. 검사물량의 증가로 예상보다 배치 크기가 커지면 검체 처리과정부터 실수나 사무적 오류가 발생할 가능성도 높아지므로 검사주기를 단축하여 배치 크기를 줄이는 방법도 고려할 수 있다[3, 6].

(3) 수행 순서(Run order)

검체 측정 순서는 매우 중요한 사항이며, 이에 대한 원칙과 실행 기록은 검사실 인증에서 요구하는 사항 중의 하나이다[9, 10]. 모든 배치에는 환자 검체와 함께 공시료, 보정물질, 정도관리물질이 포함되어야 하며 해당 검사 배치 내 상황을 파악할 수 있도록 적절한 순서로 검사가 진행될 수 있는 방법을 취한다. 예로, 공시료는

배치 처음과 고농도 보정물질 다음에 넣어서 검사하면 기저 크로마토그램과 LLMI, 잔효를 확인할 수 있겠다. 정도관리물질은 환자 검체 분석 전과 후, 그리고 배치가 클 경우 중간에도 삽입하면 검사 진행 과정 상의 동향 파악에 유리할 것이다.

(4) 재분석

재분석이 필요한 상황으로는 정량범위한계 초과, 보정 또는 정도관리 상 문제 발생, 크로마토그램 이상, 장비 오류나 고장, 검체 처리과정의 문제가 의심되거나, 검체량 부족으로 시료 주입에 문제가 발생한 경우, 임상적 상황과 맞지 않는 결과를 보일 때 등이 있겠다[5, 16, 17]. 임상검사실에서는 전문의 지도감독 하에 재분석에 대한 기준과 결과 보고에 대한 원칙을 사전에 정립해 두고 이에 따라 검사를 수행하는 물론, 재분석 상황이 발생한 경우 그 사유와 일시, 조치 방법 등에 대하여 기록을 남긴다.

(5) 사무적 오류

질량분석 검사들은 검사에 사용되는 시약 및 용매의 조제에서부터, 검체 처리 및 취급, 결과 분석과 보고에 이르기까지 대부분의 과정에서 수작업 의존도가 높으며 여러 복잡한 단계를 거치기 때문에 자동화 검사들에 비해 사무적 오류의 발생 가능성이 상당히 높다. 각 단계에서 레이블(label) 표기와 확인에 각별한 주의를 기울이도록 한다. 결과 보고 단계에서는 변화치(delta value) 검색 및 경고치(panic value) 확인이 중요하며, 향후 바코드 인식 및 자동화 분석시스템이 개발 적용되고 결과 보고의 전산화가 이루어진다면 사무적 오류 예방에 도움이 될 것이다[6].

2. 주기적 점검 및 평가 항목

1) 장비 유지관리

(1) 질량 보정(Mass calibration) 및 튜닝(Tuning)

질량 보정 및 튜닝은 질량분석 장비의 유지 관리에 있어서 핵심적 역할을 하며, 일반적으로 동시에 수행된다[2]. 질량 보정이란 특정 이온 피크에 정확한 질량 값을 할당하는 절차를 말하며 질량 보정용 표준 용액을 주입하여 수행한다. 튜닝은 피크 강도를 최적화하기 위해 전압 및 가스 유량과 같은 장비 변수를 조정하는 절차를 의미한다. 보통 질량 보정에 사용되는 물질은 양이온 및 음이온 모드 모두에서 적용 가능해야 하며, 전체 기기 질량 범위 또는 주요 분석에 사용될 질량 범위를 포괄하는 이온을 생성해야 하며, 기억 효과(memory effect)나 비휘발성 물질의 도입을 통한 이온 발생원(ion source) 오염을 일으키지 않아야 한다. 주로 사용되는 표준 용액으로는 polypropylene glycol (PPG), polyethylene glycol (PEG) 등의 고분자 물질, perfluoroalkyl triazines, 단백질, 알칼리 금속염, 폴리테트라 및 아세테이트염 등이 있다[11]. 질량 보정 및

튜닝은 매일 시행하거나 제조사의 권장 주기대로 실시하는 것이 권장된다[10]. 일반적으로 장비에 자동 튜닝 기능이 있는 경우 매일 튜닝이 가능하나, 그렇지 않을 경우 일반적으로 제조사에서 시행하는 예방적 유지보수 시에 질량 보정 및 튜닝을 함께 시행하는 경우가 많은데, 필요한 주기는 분석 질량의 정확도 및 장비 상태에 따라 달라질 수 있으므로, 검사실에서 자체적으로 설정하는 편이 좋다. 예를 들어, 펩티드와 단백질의 정확한 질량 측정을 위해서는 매일 확인하는 것이 좋으나, 작은 분자의 정량 분석은 장비 성능에 따라 상대적으로 주기를 더 길게 설정할 수도 있다[12].

(2) 장비의 예방적 유지보수(Preventive maintenance, PM)

유지 보수는 프로브(probe) 위치 조정 같은 사소한 것에서부터 전체적인 유지 관리에 이르기까지 다양하다. 중요한 전반적인 PM은 며칠 간의 작업이 필요하며, 장비를 정지시키고, 이온 교환, 부분 해체 및 광범위한 청소 작업이 필요할 수 있다. 이는 주로 반기 또는 매년마다 정기적인 교육을 받은 제조사의 전문 기술자에 의해 수행된다. 정기적 PM 시에 일반적으로 현재 소프트웨어 또는 하드웨어 업그레이드 역시 이루어진다. 하지만 이러한 정기 PM은 검사실 직원이 자체적으로 수행하는 일상적인 유지 관리 작업을 전부 대체하지는 않는다. 각 검사실은 임상 검사실에서의 경험과 제조업체의 권고 등을 반영하여 자체적인 유지 보수 지침서를 개발해야 한다. 일상적인 유지 관리방법은 환자 검체 유형과 전처리, 검체의 양 및 장비의 사용 빈도에 따라 달라질 수 있다. 예를 들면, 일반적으로 임상검사실 환경에서는 진공, 질소 및 충돌 가스(collison gas) 압력을 매일 점검하며, 정확도, 피크 폭, 신호 강도 및 질량 보정에 대한 모니터링 또한 매일 실시하는 것이 권장된다. 이온 발생원은 앞단 부분 조립을 포함해서 매주 청소하는 것이 권장된다[8]. 보조 시스템에 대한 일반적 확인사항으로는 진공 펌프 오일 교환 및 컴퓨터 디스크 관리가 있는데, 이는 매달 또는 분기별 일정한 간격으로 시행해야 한다. 시스템 소프트웨어 및 검사 방법 파일의 손실은 검사실 운영 및 환자 진료에 큰 부정적인 영향을 미칠 수 있으므로, 컴퓨터 백업 시스템은 어떤 형태로든 구현하는 것이 좋다. 유지 보수 및 문제 해결 작업은 수행될 때마다 문서화해야 하며, 이러한 기록은 유지 보수 지침서에 더해질 필요가 있는 변경 사항을 확인하기 위해 주기적으로 검토되어야 한다[9].

2) 시약 및 재료 변경 시 평가

(1) 컬럼(Column) 변경 시 평가

초기 분석방법 검증 시 사용된 컬럼과 동일한 조건(제조업체 및 고정상 유형)의 새로운 컬럼으로 변경하는 경우 시약 로트(lot) 변경으로 간주되어야 한다. 다른 고정상이나 다른 제조업체의 컬럼을 사용하려면 이때에는 새로운 분석법 검증이 필요하다. 동일한

조건의 새 컬럼으로 변경 시 유효성 검증은 HPLC 또는 MS 조건을 변경하지 않고 이전에 분석되었던 동일한 기질의 환자 검체 최소 5 개 이상을 분석하여 수행할 수 있다[2]. 이때 환자 검체의 농도는 전 분석범위에 걸쳐 있어야 한다. 적당한 환자 검체를 얻을 수 없는 경우에는 독립적인 직선성 평가를 수행해야 한다[12]. 유효성 검증 시험의 허용 기준은 사전에 설정된 크로마토그래피 허용 기준(예: RT, 배경 신호, 피크의 면적/높이, 해상도 및 부정확한 피크 없음) 및 분석적 성능 요구사항에 근거해야 한다.

(2) 시약 변경 시 평가

새로운 내부정도관리물질, 보정물질 및 시약은 CLSI 문서 C24에 따라 임상적 사용에 적합한 지에 대하여 검증되어야 하며, 기본적으로 내부정도관리물질, 보정 물질 및 모든 시약의 로트 변경 시에는 CLSI 문서 EP26에 따른 평가 방법을 사용할 수 있다[4, 6, 14].

새로운 보정물질 사용으로 인해 환자 검체 결과가 임상적으로 유의미한 변화를 일으키지 않도록 새로운 로트의 보정물질(상품화된 물질은 물론 자가제조 물질도 포함됨)은 검증되어야 한다. 새로운 로트의 보정물질은 이전 보정물질을 사용하여 보정이 된 분석법으로 환자 검체를 분석한 후 새 로트를 사용하여 분석법을 보정하여 동일한 환자 검체를 재분석하여 검증하게 되는데, 이 때 기존 및 새 로트에 대한 환자 결과의 차이를 분석방법 검증 중에 확립된 분석 수행능 기대치에 기초하여 미리 결정된 허용 기준과 비교할 수 있다. 또 다른 방법으로는 이전 로트를 사용하여 보정한 후 새 로트의 보정물질을 값이 알려지지 않은 환자 검체로 간주하여 분석할 수 있다. 이 때에도 새 로트의 보정물질을 측정된 결과 값과 기대값과의 차이를 미리 설정된 허용 기준과 비교할 수 있다.

임상 질량 분석을 위한 시약에 있어서 “신규 로트(new lot)”에 대한 정의를 내리기가 어려운 경우도 있다. 예를 들면 이동상의 다른 모든 성분이 동일하면서 formic acid와 같은 한가지 성분의 로트가 변경될 때 이를 신규 시약 로트로 간주해야 하는지, 또는 모든 구성 성분의 로트 번호가 변경되지 않는 조건 하에서의 이동상을 신규로 제조하는 경우, 이를 신규 시약 로트로 간주해야 할 것인지 결정하는 것은 종종 어려운 문제일 수 있다. 이에 대하여 각 검사실은 시약 성분을 변경함으로써 예상되는, 분석능에 미치는 영향에 근거하여 신규 로트를 정의할 것이 권장된다[6]. 즉, 분석 성능에 상당한 영향을 주는 것으로 평가가 되는 시약 성분의 로트가 변경되었을 경우, 검사실에서는 이것을 시약 로트 변경으로 정의할 수 있다. 검사법에 사용되는 모든 시약 구성 요소 및 컬럼에 대한 임상 영향 평가(clinical outcome assessment, COA)는 검사실에서 관리해야 하며, 모든 새로운 로트의 구성 요소에 대한 사용 시작 일자 기록해야 한다.

3) 장비 간, 방법 간 비교

(1) 다수의 질량분석 장비 간 평가

분석 의뢰 건수 및 소요시간(turn-around time, TAT) 때문에 동일한 검사를 여러 질량분석기에서 동시에 수행해야 하는 경우가 종종 있다. 각각의 질량분석 시스템은 동일한 제조업체에서 만든 동일한 모델인 경우에도 고유하게 생각해야 하며, 각각의 장비에서 모든 분석방법 검증을 독립적으로 실시하는 것이 가장 이상적이나, 이보다 제한된 검증 방법이 허용될 수도 있는데, 이때에는 분석 성능의 실질적인 차이가 발생할 가능성이 낮은 경우에만 정당화될 수 있다. 제한적 검증의 최소 요구사항은 LLMI, 정확도, 정밀도(precision) 및 AMR에 대한 평가이며[6], 이에 대한 결정과 시행은 검사실 책임자의 재량에 달려있다.

장비 간 상관성 평가는 적어도 매 6개월마다 수행되어야 하며, CLSI 문서 EP09에 따라 비교할 수 있다[10, 11, 15]. 평가를 시행할 때 주의할 사항은 같은 동결-해동 주기 및 입증된 안정성 조건(실온, 전처리 후 안정성 등) 내의 환자 검체를 분석해야 한다는 것이다. 두 장비에서 각각 분석된 검체의 결과는 회귀 분석(일반적으로 데밍 회귀 분석)에 의해 평가된다. 일반적으로 허용되는 기울기는 0.9-1.1이며, 상관계수(r) 값이 0.95 이상인 경우 양호한 상관 관계로 판단한다. 동일한 기종의 장비와 동일한 내부정도관리물질(제조사, 로트 번호 동일)을 사용하는 경우에는 내부정도관리 자료를 장비 간 비교에 이용할 수도 있지만 이는 환자 검체를 사용하지 못하는 경우에 한하여 제한적으로 사용할 것을 권장한다[3]. 각 장비에서 두 가지 농도의, 동일 로트의 정도관리물질을 각각 분석한 결과는 이미 일별 변동성이 반영된 자료로서 동일 기종의 장비 간 비교에 비교적 적합하게 사용될 수 있다. 여러 기기에서 얻은 환자 검체 혹은 내부정도관리물질 분석 결과 간 허용 가능한 편차는 검사 항목 별로 설정된 생물학적 변동 등에 근거한 허용가능한 오차범위(desirable allowable error) 등으로부터 설정된 분석적 성능평가 기준, 또는 결과의 임상적 사용에 근거해야 하나, 통상적으로 10% 미만을 허용기준으로 삼는 경우도 있다[6]. 허용 기준을 넘어서는 장비를 보정하는 방법으로는 이온화 전위(ionization potentials) 등을 이용하여 장비를 조정하는 것, 즉 계산식에서의 상대반응계수(relative response factor, RRF)를 조정하거나 각 장비마다 다른 결정치(cut off)를 적용하는 것이 있다.

(2) 검사실 내 다른 검사법 간 평가

서로 다른 분석법으로 동일한 검사를 시행할 경우, 검사법 간 상관성 평가는 검사법 검증 이후로도 매 6개월마다 수행하는 것이 권장되며, CLSI 문서 EP31에 따라 수행할 수 있다[10, 11, 18]. 검사법 간 비교 시에도 역시 교환가능성(commutability)에 대한 추가 확인이 필요 없는 환자 검체를 사용하는 것이 권장되나, 양성 검체

를 구하기 어렵고 특히 인증 표준 물질(certified reference material, CRM) 또한 없는 경우, 사용된 평가용 물질의 교환가능성을 보장하기 위한 보정용 표준품에 대한 평가가 포함되어야 한다. 일반적으로, 질량분석법은 측정 가능한 기질이 다양하나, 면역 측정법 등은 대부분 측정 가능한 기질에 제한점이 많다. 솟으로 제거한 혈청이나 유기용매는 특정 검사법에서는 정확한 회수율(recovery)을 제공하지 못할 수 있다. 검사법 간 비교에서 유의한 차이를 보이는 경우, 그 원인을 확인할 때에는 다음의 사항을 유의해야 한다. 우선, 모든 결과가 각 분석의 AMR 내에 있음을 확인해야 한다. AMR을 벗어난 검체 결과는 분석에서 제외해야 한다. 또한 면역 측정법의 간섭 현상 또는 HPLC-UV 분석법의 비선택성과 같은 특정 기술에 내재된 결함에 대한 이해가 특정 이상치 결과를 설명하는데 도움이 될 수 있다.

4) 기타 주기적 필수 평가 항목

모든 정량 검사의 AMR은 검사법 도입 시와, 매 6개월마다 평가하도록 권장되고 있다. 그 밖에도 주요 시약의 로트 변경 시 환자 검체 및 정도관리물질 결과가 허용 범위에 들어오지 않았을 경우, 장비의 주요 부품 교체 시에도 AMR 검증을 실시하여야 한다[10, 11].

LC-MS/MS 시스템 내에서 잔효(carryover)의 원인이 될 수 있는 몇 가지 잠재적 오염원이 있지만, 가장 일반적인 출처는 자동분주기(autosampler)의 주입 포트, 특히 전기분무 이온화(electrospray ionization, ESI) 소스로 연결되는 관(tubing)이다. 따라서 질량분석기의 자동분주기에 대한 잔효 역시 6개월마다 평가하도록 권장되며, 그 외에도 대규모 기기 점검 혹은 보수 후에는 반드시 평가하도록 권장된다[10, 11].

주기적 정확도 평가 역시, 최소 6개월마다 또는 새로운 로트의 보정 물질을 사용할 때 수행할 것이 권장된다. 가능한 경우, 미국 국립표준기술연구소(National Institute of Standards and Technology, NIST) 또는 JCTLM (Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine)에 나열된 참고 검사법으로부터 추적 가능한 값이 지정된 보정물질의 사용이 권장된다. 교환 가능한 CRM이 있는 경우, 검사실은 자체 제조된 보정물질이나 NIST 또는 JCTLM에 나열된 참고검사법으로부터 추적할 수 없는 상품화된 보정물질에 대한 교정 값을 할당하여 추적 가능성(traceability)을 검증해야 한다(추적 가능성 및 측정법의 표준화에 대한 보다 많은 내용은 CLSI 문서 EP32를 참조). 6개월 단위로 표준화 프로그램 - 예: 미국 질병통제예방센터(Centers for Disease Control and Prevention, CDC), NIST - 또는 정확도 기반 외부정도관리 프로그램 - 예: 덴마크 External Quality Assessment Scheme, 미국 병리학회(College of American Pathologists, CAP) 등 - 에 참여하여 보정 물질의 추적 가능성을 확인하는 것이 강력하게 권장된다[6].

Table 2. External proficiency testing programs

Program	Test item	website	
Korean Association of External Quality Assessment Service(KAEQAS) Proficiency Testing	Basic ct Extended newborn screening for inherited metabolic disorders	http://eqas.keqas.org/	
Newborn screening	Amino acid profile		
Amino acids	Organic acid profile		
Organic acids	Catecholamines (plasma, urine)		
Special metabolites	Metanephrines (plasma, urine)		
	Methylmalonic acid		
	Vanillylmandelic acid		
Immunosuppressive drugs	Cyclosporine, tacrolimus, sirolimus, everolimus, mycophenolic acid		
College of American Pathologists (CAP) Proficiency Testing	25-hydroxy vitamin D		http://www.cap.org/
Vitamin D (VTD)	25-hydroxy vitamin D		
Accuracy-Based Vitamin D (ABVD)	1,25 dihydroxyvitamin D, vitamin A, vitamin E		
Bone Markers and Vitamins (BMV)	Cyclosporine, tacrolimus, sirolimus		
CAP/AAACC Immunosuppressive Drugs (CS)	Everolimus		
Everolimus (EV)	Mycophenolic acid		
Mycophenolic acid (MPA)	Clozapine, gabapentin, lacosamide, lamotrigine, levetiracetam, oxcarbazepine metabolite, pregabalin, rufinamide, terflunomide, topiramate, zonisamide		
Therapeutic Drug Monitoring - Extended (ZE)	Amitriptyline, desipramine, imipramine, nortriptyline		
Therapeutic Drug Monitoring - Special (ZI)	3-methoxytyramines, 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA), 17-ketosteroids, dopamine, epinephrine, homovanillic acid (HVA), metamphetamine, norepinephrine, normetanephrine, vanillylmandelic acid, cortisol, aldosterone		
Urine Chemistry - Special (NX)	Cortisol, testosterone, estradiol		
Accuracy-Based Testosterone, Estradiol (ABS)	Acylcarnitines, amino acids, carnitine, glycosaminoglycans, organic acids	(continued to the next page)	
Salivary Cortisol (SALC)	Homocysteine		
Biochemical Genetics (BGL)			
Homocysteine (HMS)			
Toxicology (T)			
Urine Toxicology (UT)			
CAP/AAACC Urine Drug Testing, Screening (UDS)			
CAP/AAACC Forensic Urine Drug Testing, Confirmatory (UDC)			
Oral Fluid for Drugs of Abuse (OFD)			
Serum Drug Screening (SDS)			
CAP/AAACC Alcohol/Volatiles (AL)	Acetone, ethanol, ethylene glycol, isopropanol, methanol		
Ethanol Biomarkers (ETB)	Ethyl glucuronide, ethyl sulfate		
Nicotine and Tobacco Alkaloids (NTA)	Anabasine, cotinine, nicotine		

Table 2. Continued

Program	Test item	website
Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Laboratory Quality Assurance and Standardization Programs	Amino acids, acylcarnitines and succinylacetone (SUAC)	https://www.cdc.gov/labstandards
Newborn Screening Quality Assurance Program (NSOAP)	Lysosomal storage disorder 2nd-tier Congenital adrenal hyperplasia, maple syrup urine disease (MSUD), methylmalonic/propionic acidemia and homocystinuria	
Hormone Standardization Program (Host)	Steroid hormones	
Vitamin A Laboratory - External Quality Assurance (VITAL-EOA)	Vitamin A	
Vitamin D Standardization-Certification Program (VDSCP)	25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D	
LGC Standard Proficiency Testing	Cyclosporine, tacrolimus, sirolimus, everolimus, mycophenolic acid	https://www.lgcstandards.com/
Immunosuppressant (IPT)	Antiepileptic drugs mixture, Cardiac drugs mixture, Analgesic mixture, Drugs for the treatment of substance related disorders 1 and 2, Psychoactive drugs, Smoking related drug, Immunosuppressive drugs	
Therapeutic Drugs (TDM)	Teicoplanin	
Therapeutic Drugs-Antibiotics (ANTIBIOTICS)	Quantitative analysis: - Blood (carboxyhemoglobin, ethanol, paracetamol and salicylic acid) - Serum (ethanol, paracetamol and salicylic acid) - Urine (gammahydroxybutyrate (GHB) and ethanol)	
Toxicology (TOX)	- Lyophilized serum samples for a range of drugs Toxicology case studies: - Human serum and urine test material accompanied by a clinical or forensic scenario requiring interpretation Toxicology in blood: - Human blood for quantitative measurement of specified analytes (opioids, benzodiazepines, tricyclics, selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs), antipsychotics and other compounds that may be monitored in cases of drug overdose) Toxic alcohols - Acetone, ethanol, ethylene glycol, isopropanol (IPA), methanol	
Drugs of Abuse in Hair (DAH)		
Drugs of Abuse in Oral Fluid (DOF)		
Drugs of Abuse in Urine (DAU)		
Kwaliteitsbewaking Klinische Geneesmiddelanalyse en Toxicologie (KKG) Quality Assessment	Ethanol, ethylene glycol, GHB, methanol Ibuprofen, paracetamol, salicylic acid Carbamazepine, carbamazepine-10,11-epoxide (CBZ-E), ethosuximide, phenobarbital, phenytoin, lamotrigine, levetiracetam, monohydroxycarbazepine, valproic acid Fluconazole, itraconazole, hydroxyitraconazole, voriconazole, posaconazole, flucytosine	http://kkg.nl/
Alcohols/GHB		
Analgesic drugs		
Anti-epileptic drugs		
Antifungal drugs		

(continued to the next page)

Table 2. Continued

Program	Test item	website
Antituberculosis drugs, Antiviral drugs	Ethambutol, isoniazid, levofloxacin, linezolid, moxifloxacin, pyrazinamid, rifampicin Acyclovir, ganciclovir, ribavirin	
Benzodiazepines Cardiac drugs, Psychotherapeutic drugs	Clobazam, desmethyloclobazam, clonazepam, midazolam, 1-, and 4-hydroxymidazolam Amiodarone, desethylamiodarone, caffeine, digoxin, flecainide, theophylline Amitriptyline, nortriptyline, clozapine, clomipramin, desmethyloclopramine, imipramine, desipramine, lithium, zucloper- tixol, fluoxetine, desmethylfluoxetine, fluvoxamine, mirtazapine, desmethylmirtazapine, paroxetine, quetiapine, aripipra- zol, citalopram, desmethylcitalopram, olanzapine, risperidone, hydroxyrisperidol, haloperidol, sertraline, N-desmeth- ylsertraline, venlafaxine, O-desmethylvenlafaxine	
Thiopurines Drugs of Abuse Toxicology Various drugs	6-thioguanine, 6-methylmercaptopurine Amphetamines, opiates, cannabinoids, cocaine, benzodiazepines, ethanol, methadone, barbiturates and other drugs Imatinib, Flucloraxilline, Infliximab, Adalimumab, Meropenem, Metoprolol, Warfarin, Acenocoumarol, etc.	http://www.deqas.org/ www.g-euas.de
Vitamin D External Quality Assessment Scheme (DEQAS) German External Quality Assessment Scheme (G-EQAS)	25 hydroxyvitamin D and 1,25 dihydroxyvitamin D cotinine, nicotine, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNA1)	http://www.deqas.org/ www.g-euas.de
European Research Network for evaluation and improvement of screening, Diagnosis and treatment of Inherited disorders of Metabolism (ERNDIM) External Quality Assurance Scheme Acylcarnitines (ACS, ACDB) Amino acids (QTAS, QTOU) Organic acids (QLOU) Special assay in dried blood spots (SADB)	Acylcarnitines in dried blood spots/serum Amino acid profile in serum/urine Organic acid profile in urine Allo-isoleucine, homocysteine, isoleucine, leucine, methionine, phenylalanine, succinylacetone, tyrosine, valine, free carni- tine (Co)	https://erndim.org/ home/gascheme.asp
The Royal College of Pathologists of Australia Quality Assurance Programs (RCPAQAP) Endocrine: Steroids	Aldosterone, androstenedione, cortisol, dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S), progesterone, testosterone, estradiol, vi- tamin D3, etc.	https://rcpaqap.com. au/
Qualitative & Quantitative Drug Testing On-site Urine Toxicology Screening Oral Fluid Toxicology Screening Plasma metanephri- nes Biogenic amines Immunosuppressants Special Drugs Vitamins	Amphetamines, benzodiazepines, cannabis metabolites, cocaine metabolites, opiates Amphetamines, benzodiazepines, cannabis metabolites, cocaine metabolites, opiates Metanephrine, normetanephrine, 3-methoxythylamine Catecholamines, HVA, VMA, 5HIAA, metanephri- nes, serotonin Cyclosporine, sirolimus Amiodarone, clozapine, mycophenolate, methotrexate, tricyclic antidepressants, anti-fungals Vitamin A, E, B6, beta-carotene, total carotenoids, methylmalonic acid	

기타 주기적 평가가 필요한 부분은 결정치 검증 및 조정인데, 이는 특히 신생아 선별검사 등의 선별검사에서 중요한 사항이다. 초반 결정치는 질병을 가진 환자와 정상인의 농도 분포 및 질병의 유병률을 고려하여 99.0%에서 99.999% 사이에서 결정을 할 수 있으며, 이후로 위양성률 및 위음성률을 6개월 혹은 1년 단위로 주기적으로 감시하여 이들이 기대수준보다 높아지거나 낮아지는 경우 결정치를 조정하는 것이 권장된다[9]. 이 외에도 검사장비의 주요 변동사항이 있는 경우, 검사 방법 혹은 IS 등의 변동이 발생하는 경우 등에서 반드시 결정치를 검증하여야 한다.

3. 외부정도관리

1) 외부 신빙도조사 프로그램

질량분석법을 이용한 임상검사의 정확도 평가와 기관 간 및 검사법 간 비교를 위해서는 외부정도관리 신빙도조사 프로그램을 적극적으로 찾아보고 참여할 것이 권고된다[6, 10, 11]. 질량분석 임상검사항목들에 대한 대표적인 국내외 신빙도조사 프로그램들은 Table 2에 정리하였다. 각 프로그램에 포함된 검사항목과 검체의 종류 및 개수, 시행 주기, 참여기관 수, 결과 판정 및 보고 방식, 참가비용 및 운송 비용 등에 대한 상세 검토 후 참가 여부를 결정하도록 한다. 결과에 대한 세부적 통계나 판정이 제공되지 않는다든지 해당 검사법에 대한 비교 집단이 부적절한 경우 등 외부 신빙도조사를 통해 얻을 수 있는 정보가 매우 제한적일 경우도 있다. 따라서, 단순히 허용범위와 합격 여부를 판정하는 것으로는 부족하며, 신빙도조사 결과를 검토하고 해석하는 데 있어서 보다 세심한 주의를 기울여야 한다. 정확도 기반의 신빙도조사인 경우는 집단 평균값과의 비교보다는 목적값(target value) 확인이 중요할 수 있다. 검사실에서 보고한 이전의 결과값들에 대한 시계열적 검토를 통해 치우침(shift)이나 추세(trend)를 확인하는 것도 의미가 있다. 만일 평균값 대비 항상 양 또는 음의 오차가 발견된다면 CRM 혹은 NIST 표준물질을 활용한다든가, 보정 및 전처리나 검사법상의 문제점이 없는지 확인하는 등 적절한 조치를 취하도록 한다.

2) 외부 신빙도조사 프로그램이 없는 경우

대중적인 검사항목이 아닌 경우 아예 외부정도관리 프로그램이 제공되지 않거나, 동일 검사법을 사용하는 참여기관 수가 너무 적어 외부 신빙도조사가 실제로는 큰 도움이 되지 않을 가능성도 있다. 이러한 경우에는 반드시 검사실 자체적으로 외부 신빙도조사를 대체할 수 있는 방안을 강구할 필요가 있겠다. 예를 들면, 타 검사실과의 비교, 검사자 간 비교, 다른 검사방법과의 비교, 참고물질이나 다른 보정물질 분석, 보관된 임상 검체를 사용한 주기적 검증, 환자검사결과 분석, 연관 검사결과 및 임상적 타당성 확인 등이다[19]. 대체 프로그램은 연 2회 이상 시행하여야 하며, 전문의의

판단에 따라 적절한 검체의 종류 및 개수, 농도 구간, 허용범위 등을 사전에 정의하고 표준 지침을 문서화하여 그에 따라 시행하도록 한다.

요 약

임상검사실에서의 액체크로마토그래피-탠덤질량분석기(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)의 활용은 점차 늘어나고 있으며 앞으로 더욱 다양한 임상검사 분야로 확대될 가능성이 높다. 일반적으로 임상화학 분야의 대부분의 검사항목에 있어서 질량분석법이 표준측정법으로 알려져 있지만, 질량분석법을 사용한다는 사실 만으로 검사의 정확도 및 신뢰성을 담보하기는 어렵다. 실제로 LC-MS/MS 검사법이 기존 자동화검사법보다 오히려 더 큰 검사실 간의 결과 차이를 보일 수 있다. 이는 검사 도입 이후 질량분석 장비의 운용 및 검사의 품질 관리가 미흡하거나 부적절한 상황에서 발생할 수 있으며, 이로 인하여 환자에게는 불필요한 의료비 지출이나 불리한 결과가 발생할 수 있다. 하지만, LC-MS/MS를 이용한 임상 검사들의 검사법 도입 후의 질관리 감시(post-implementation monitoring)에 대한 지침은 아직도 부족한 상태이다. 통상적으로 임상검사에 적용되는 질관리 방법이 LC-MS/MS를 이용한 검사에 그대로 적용될 수 있는 부분도 있지만, LC-MS/MS 검사의 특성을 고려한 추가적인 질관리 방법을 통해 많은 시간과 노력을 통해 완성한 검사법이 개발 및 검증 당시와 동일한 질 수준을 유지할 수 있도록 지속적으로 관리하는 것이 필요하다. 이 권고안은 기존의 권고안을 포함한 문헌 및 전문가들의 의견 수집을 기반으로 LC-MS/MS를 운영하는 임상 검사실의 질 보증 및 개선을 위한 방향을 제시함으로써, 일상적인 임상 검사실 환경에서 LC-MS/MS 검사의 정확성 및 신뢰성을 향상시키는데 도움을 주고자 마련되었다.

감사의 글

본 연구는 대한임상화학회 임상질량분석연구위원회의 지원에 의하여 이루어진 것임.

REFERENCES

1. International Organization for Standardization (ISO). Quality management systems – Fundamentals and vocabulary. ISO 9000. ISO/TC 176/SC 1: International Organization for Standardization, 2015.
2. Lynch KL. LC-MS/MS quality assurance in production. American Association for Clinical Chemistry. Clinical Laboratory News. <https://www.>

- aacc.org/publications/cln/articles/2017/may/mass-spectrometry-quality-assurance-in-production-the-real-work-begins-after-validation (Updated on May 2017).
3. Rifai N, Horvath AR, et al. eds. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 6th ed. St. Louis, MO: Elsevier, 2018: 266-326.
 4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Statistical quality control for quantitative measurement procedures: Principles and definitions; Approved guideline-4th edition. CLSI guideline C24-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016.
 5. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administrations. Bioanalytical method validation; Guidance for industry. Docket No. FDA-2013-D-1020. Silver Spring, MD: Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administrations, 2013. <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf> (Updated on May 2018).
 6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Liquid chromatography-mass spectrometry methods; Approved guideline. CLSI guideline C62-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
 7. Briscoe CJ, Stiles MR, Hage DS. System suitability in bioanalytical LC/MS/MS. *J Pharm Biomed Anal.* 2007;44:484-91.
 8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Mass spectrometry in the clinical laboratory: General principles and guidance, Approved guideline. CLSI guideline C50-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007.
 9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Newborn screening by tandem mass spectrometry, Approved guideline-2nd edition. CLSI guideline NBS04. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.
 10. The College of American Pathologists. Accreditation program checklists-2019 edition. <https://documents.cap.org/documents/2019-CAP-accreditation-checklist-summary.pdf> (Updated on Sep. 2019). The College of American Pathologists, 2019.
 11. Laboratory Medicine Foundation (LMF). Accreditation program checklists; clinical chemistry. Laboratory Medicine Foundation, 2019.
 12. Garofolo F. LC-MS instrument calibration. In: Chan CC, Lam H, et al. eds. Analytical method validation and instrument performance verification. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2004:197-220.
 13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A statistical approach, approved guideline. CLSI document EP06-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003.
 14. Clinical and Laboratory Standards Institute. User evaluation of between-reagent lot variation, Approved guideline. CLSI document EP26-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013.
 15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples, Approved guideline-3rd edition. CLSI guideline EP09c. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.
 16. Ministry of Food and Drug Safety. Guideline on bioanalytical method validation. Administrative publication 11-1471000-000028-01. Choengju; Ministry of Food and Drug Safety, 2013. http://www.nifds.go.kr/brd/m_15/down.do?brd_id=167&seq=7018&data_tp=A&file_seq=1 (Updated by Dec. 2013).
 17. European Medicines Agency. Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2**. London: Committee for Medicinal Products for Human Use, European Medicines Agency. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation_en.pdf (Updated on Jun. 2015).
 18. Clinical and Laboratory Standards Institute. Verification of comparability of patient results within one health care system, Approved guideline (interim revision). CLSI document EP31-A-IR. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.
 19. Clinical and Laboratory Standards Institute. Using proficiency testing and alternative assessment to improve medical laboratory quality, Approved guideline-3rd edition. CLSI guideline QMS24. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016.