

## Affinity Column Mediated Immunometric Assay를 이용한 혈중 Tacrolimus 농도 검사법의 평가

정재우<sup>1</sup> · 안동희<sup>1</sup> · 송정환<sup>2</sup> · 정희정<sup>1</sup> · 박해일<sup>3</sup> · 이우창<sup>1</sup> · 전사일<sup>1</sup> · 민원기<sup>1</sup>

울산의대 서울아산병원 진단검사의학과<sup>1</sup>, 서울대학교 의과대학 검사의학교실<sup>2</sup>, 가톨릭대학교 의과대학 진단검사의학교실<sup>3</sup>

### Performance Evaluation of Affinity Column Mediated Immunometric Assay for Tacrolimus

Jae-Woo Chung, M.D.<sup>1</sup>, Dongheui An, M.D.<sup>1</sup>, Junghan Song, M.D.<sup>2</sup>, Hee-Jung Chung, M.D.<sup>1</sup>, Hae-Il Park, M.D.<sup>3</sup>,  
Woochang Lee, M.D.<sup>1</sup>, Sail Chun, M.D.<sup>1</sup>, and Won-Ki Min, M.D.<sup>1</sup>

Department of Laboratory Medicine<sup>1</sup>, University of Ulsan College of Medicine, Asan Medical Center, Seoul; Department of Laboratory Medicine<sup>2</sup>, Seoul National University College of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine<sup>3</sup>, The Catholic University of Korea, College of Medicine, Seoul, Korea

**Background** : Therapeutic drug monitoring (TDM) of tacrolimus is essential because of narrow therapeutic range and poor correlation of dose to blood concentration. Affinity Column Mediated Immunometric Assay (ACMIA) does not require a pretreatment steps in measurement of tacrolimus. In this study, we evaluated the performance of tacrolimus assay using ACMIA (Dimension RxL Max, Dade Behring).

**Methods** : The imprecision, the linearity and the detection limits and the interferences by bilirubin and chyle, and correlation with hematocrit for tacrolimus by ACMIA were evaluated according to Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines EP5-A2, EP6-A, EP17-A, EP9-A2, and EP7-A2. Method comparison studies with microparticle enzyme immunoassay (MEIA) (IMx Tacrolimus II, Abbott Laboratories) and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) (Waters 2795 Quattro micro API, Micromass) were also performed.

**Results** : The total imprecision for low, middle and high level was 12.8%, 9.0% and 6.7%, respectively. The range of tacrolimus from 3.1 ng/mL to 35.4 ng/mL showed a clinically relevant linearity. The limit of detection and the functional sensitivity were 0.24 ng/mL and 0.72 ng/mL, respectively. Tacrolimus concentration measurement (Tac-CM) with ACMIA did not show significant interferences with bile and chyle and also did not show significant correlation with hematocrit. In comparison study for Tac-CM with MEIA and LC-MS/MS, Tac-CM with ACMIA showed a good correlation with MEIA ( $r=0.950$ ) and LC-MS/MS ( $r=0.946$ ).

**Conclusions** : The imprecision, linearity, detection limits, interference and correlation of Tac-CM with ACMIA were suitable for clinical use. Tac-CM with ACMIA could reduce turn around time and help clinicians to manage transplant patients on immunosuppressant therapy. (*Korean J Lab Med* 2009;29:415-22)

**Key Words** : Tacrolimus, Affinity column mediated immunometric assay, Therapeutic drug monitoring

Received : September 3, 2008  
Revision received : August 11, 2009  
Accepted : August 24, 2009

Manuscript No : KJLM2167

Corresponding author : Sail Chun, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center,  
University of Ulsan, 388-1 Pungnap 2-dong, Songpa-gu, Seoul  
138-736, Korea  
Tel : +82-2-3010-4513, Fax : +82-2-478-0884  
E-mail : sailchun@amc.seoul.kr

## 서론

Tacrolimus는 1994년 간 이식 후 거부 반응의 예방 목적의

사용에 대해 미국 FDA의 공인을 받은 면역억제제로서[1], 현재는 간 이외의 다른 고형 장기 및 조혈모세포 이식 후 광범위하게 사용되고 있는 약제이다[2, 3]. Tacrolimus는 T 림프구 내 calcineurin의 활성을 억제함으로써 면역억제작용을 나타내며, 약효가 cyclosporine에 비해 10-100배 더 높다[4]. 하지만 적정 치료 농도 범위가 좁고 약물용량에 대한 혈중농도의 상관 관계가 나빠며, cytochrome P450을 통해 대사되는 다른 약물과의 상호작용 등이 나타나기 때문에, 혈중약물농도 측정을 통한 치료적 약물 농도 모니터링(therapeutic drug monitoring, TDM)이 필수적이다[1-10].

2007년 College of American Pathologists (CAP)의 CSM survey Immunosuppressive Drugs Participant Summary Report [11, 12] 및 2006년 대한임상검사정도관리협회 TDM 분과위원회의 TDM 검사 실행도 조사 결과보고[13]에 참여한 기관 중 80% 이상이 microparticle enzyme immunoassay (MEIA)를 이용한 IMx analyzer (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA)를 사용하여 tacrolimus의 혈중농도 측정 결과를 보고하였다. 하지만 MEIA는 검체의 전처리 과정이 필수적일 뿐만 아니라, tacrolimus 대사산물 및 적혈구용적률(hematocrit)에 의해 tacrolimus의 혈중농도 측정에 간섭현상이 일어나는 등의 검사 수행능에 대한 여러 가지 제한점이 보고되고 있다[1, 4, 7-10]. 이에 저자들은 전처리가 필요없는 새로운 면역학적 측정방법인 affinity column mediated immunoassay (ACMIA)를 이용한 Flex TACR (Dimension RxL Max, Dade Behring, Malburg, Germany)의 tacrolimus 혈중농도 측정 수행능을 CLSI (Clinical and laboratory standards institute)의 지침에 기반하여 정밀도, 정확성, 직선성, 다른 기기와 상관성, 측정범위 및 생화학·혈액검사 항목에 의한 간섭 등에 대하여 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 정밀도(precision) 평가

세 가지 농도의 정도관리물질(Level 2 [Lot No 52552], Level 3 [Lot No 52553], Level 4 [Lot No 52554], TACR Flex® Lot FA8026, Dade Behring, Newark, DE, USA)과 tacrolimus 혈중농도가 20 ng/mL 이상인 환자의 혈액을 합하여 구성된 검체 등 총 4가지 농도를 대상으로 CLSI EP5-A2 [14]에 따라, 각 농도에 대해 1일 2회, 1회 2번씩 주 5일간 4주동안 ACMIA로 tacrolimus 농도를 반복 측정하였다. 측정 결과는 EP Evaluator

Release 7 (David G. Rhoads Assoc., Kennett square, PA, USA)을 이용하여 검사 내(within run) 정밀도, 검사 간(between run) 정밀도, 검사일 간(between day) 정밀도, 총(total) 정밀도에 대해 평가하였다.

### 2. 직선성(linearity) 평가

CLSI EP6-A [15]에 따라 Dimension TACR CAL Lot 7JD-001 (Dade Behring) level 2 (3.1 ng/mL)과 level 5 (35.4 ng/mL)를 혼합하여 5가지 농도의 pool을 준비하였다. 이들 농도의 범위는 혈중 tacrolimus의 치료범위[1]와 제조사가 제시한 측정 가능범위(analytical measurement range)를 참고하여 결정하였으며, 각각의 농도에서 ACMIA로 2회 반복 측정하여 얻은 값을 EP\_Suite version 6.0 (MarChem Associates Inc., Concord, MA, USA)에 입력하여 가장 잘 맞는 다항식(best-fit polynomial)을 구하였다. 1차식이 나오는 경우 직선성이 유지되는 것으로 판정하고, 다항식이 나오는 경우에는 Martin 등의 문헌[16]에 기초하여 임상적으로 의미가 있는 수준의 비직선성인지의 여부를 판단하였다.

### 3. 측정한계 평가

CLSI EP17-A [17]에 준하여, 건강한 tacrolimus 미사용자의 혈액을 ACMIA로 20회 반복 측정하여 계산된 평균 값에 표준편차의 2배를 더한 값을 최소농도 검출한계(limit of detection, LOD)로 정하였다. 생물학적 민감도(biological sensitivity, biological detection limit)는 Dimension TACR CAL Lot 7BD025 (Dade Behring) level 1 (0.0 ng/mL)과 level 2 (2.7 ng/mL)를 1:1로 혼합한 spike 용액을 ACMIA로 20회 반복 측정하여 SD를 구한 후, LOD 값에 새로이 구한 spike 용액의 SD값의 2배를 더하여 결정하였다[18]. 기능적 민감도(functional sensitivity)는 Dimension TACR CAL Lot 7BD025 level 1과 level 2를 단계적으로 혼합하여 0.0 ng/mL부터 2.7 ng/mL 사이에 5개의 값을 갖도록 한 후 ACMIA로 10회 반복 측정하여 변이계수가 20% 이내로 되는 최소농도로 정하였다[18].

### 4. 상관성(correlation) 평가

CLSI EP9-A2 [19]에 맞추어 ACMIA로 tacrolimus 혈중농도를 측정한 결과와 기존 검사실에서 사용 중인 MEIA 및 liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/

MS) (Waters 2795 Quattromicro API, Micromass, Manchester, UK)로 측정된 결과와의 상관성을 비교하였다. 검체 선정은 tacrolimus 검사가 의뢰된 환자 검체를 대상으로 5 ng/mL 미만 20%, 5–10 ng/mL 20%, 10–15 ng/mL: 20%, 15–20 ng/mL 20%, 20–25 ng/mL: 10%, 25 ng/mL 초과 10%가 되도록 100개의 검체를 구성한 뒤, 3가지 방법으로 2회씩 반복 측정하였다. 각각의 검사법 간의 회귀방정식과 상관계수를 EP Evaluator Release 7와 SPSS (version 13.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 구하였고, MedCalc (version 10.4.8, MedCalc Software, Broekstraat 52, Mariakerke, Belgium)를 이용하여 Bland-Altman 분석을 시행하였다.

### 5. 빌리루빈과 유리(chyle)에 의한 간섭 효과 및 적혈구용적률과 tacrolimus 측정치의 상관 관계 평가

유리형과 포합형 빌리루빈 및 유리에 의한 간섭의 정도를 평가하고자 Interference check A plus (Sysmex corporation, Kobe, Japan)를 제조사의 지침에 따라 빌리루빈과 유리의 농도가 각각 10 mg/dL와 1050 FTU (formazine turbidity unit)가 되도록 spike 용액과 빌리루빈과 유리가 포함되어 있지 않은 blank 용액을 만들고, 여기에 tacrolimus (Fujisawa Pharmaceutical, Osaka, Japan)를 첨가하여 tacrolimus 농도가 7.5 ng/mL이 되도록 검체를 제조하였다. 검체의 tacrolimus 농도를 ACMIA로 각각 5회씩 측정하여 CLSI EP7-A2 [20]에 준하여 간섭효과를 평가하였다.

또한 적혈구용적률의 tacrolimus 농도 측정에 대한 영향을 알아보기로 약물을 복용하지 않은 정상인의 혈액을 채취하여 적혈구를 분리하고 생리식염수로 3회 세척한 후, 다시 생리식염수로 단계별로 희석하여 15–60% 범위의 적혈구용적률을 갖도록 8단계의 검체를 준비하였다[7]. 여기에 tacrolimus를 첨가하여 최종 농도가 7.5 ng/mL 및 20.0 ng/mL이 되도록 만들고, 각

단계의 tacrolimus 농도를 ACMIA로 2회씩 측정하여, 적혈구용적률과 tacrolimus 측정치의 상관 관계를 SPSS의 Spearman 상관분석을 시행하여 평가하였다.

## 결 과

### 1. 정밀도

총 변이계수는 낮은 농도(level I)에서부터 각각 12.8%와 9.0%, 6.7%, 5.0%의 순이었다. 각 농도별 검사 내 변이계수, 검사 간 변이계수 및 검사일 간 변이계수는 Table 1과 같다.

### 2. 직선성

측정이 이뤄진 tacrolimus 농도 3.1 ng/mL부터 35.4 ng/mL

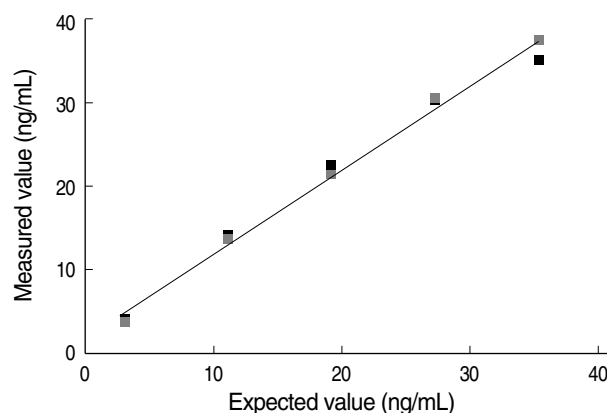


Fig. 1. Linearity of ACMIA for tacrolimus.  
Abbreviation: See Table 1.

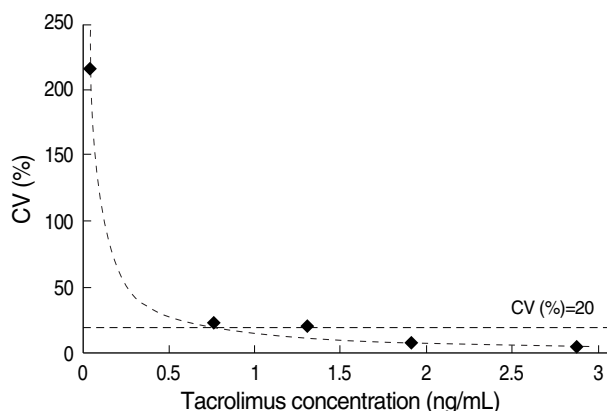


Fig. 2. The functional sensitivity of tacrolimus measurement using ACMIA.  
Abbreviation: See Table 1.

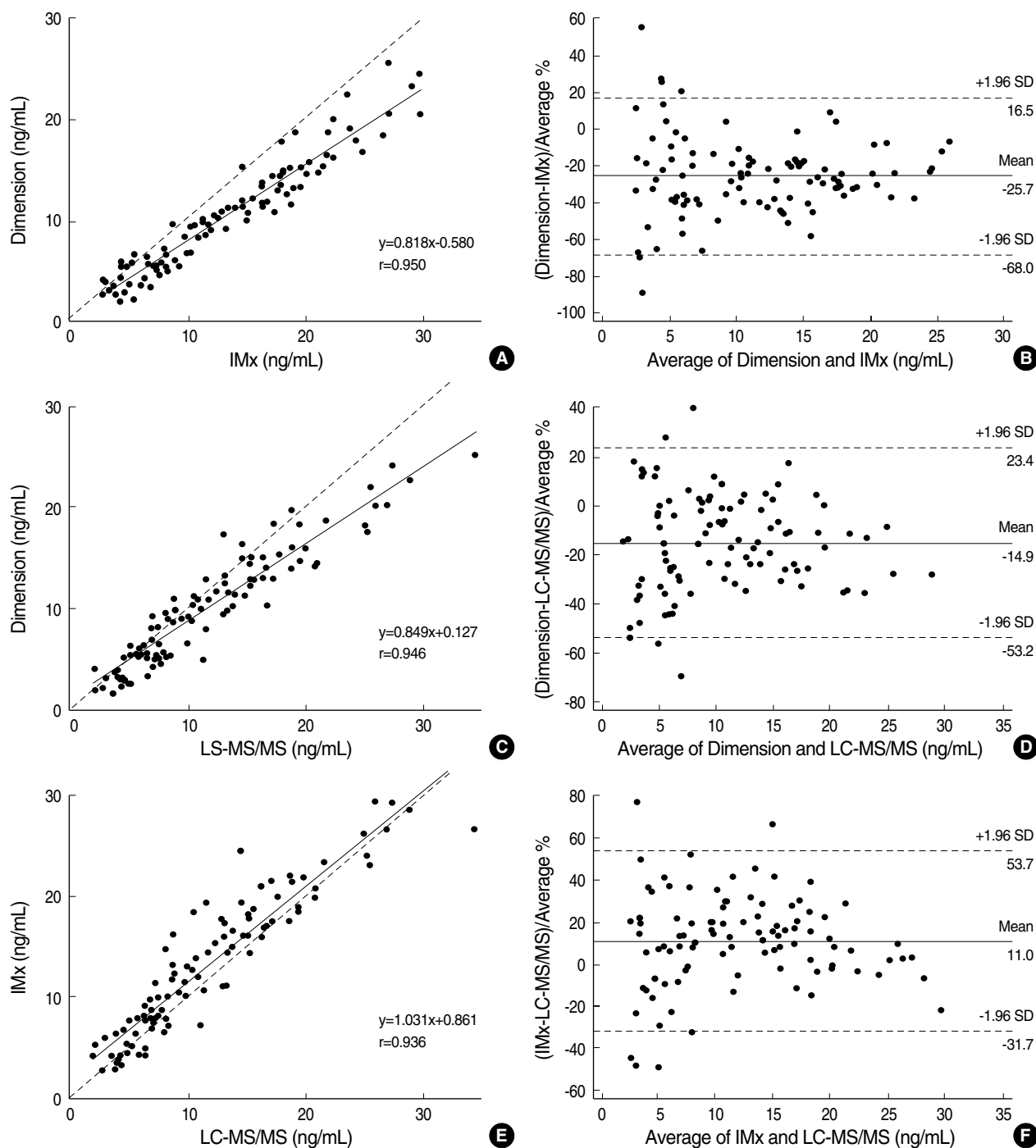
Table 1. Imprecision of ACMIA for tacrolimus

Level	N	Mean (ng/mL)	SD	CV (%)			Total
				Within-run	Between-run	Between-day	
I	20	5.1	0.52	8.8	7.8	4.9	12.8
II	20	11.2	0.77	5.7	6.5	2.4	9.0
III	20	15.5	0.88	5.2	3.1	2.8	6.7
IV	20	23.3	1.15	2.8	3.6	3.1	5.0

Abbreviation: ACMIA, affinity column mediated immunometric assay.

범위에 대해  $y = -0.0091X^2 + 1.3534X - 0.2015$ , 결정계수( $R^2$ )는 0.9994로 2차식이 가장 잘 맞는 다항식으로 분석되었지만, 임

상적으로 의미를 갖는 수준의 비직선성은 나타나지 않았다. 따라서, ACMA의 tacrolimus 측정치는 3.1 ng/mL부터 35.4 ng/



**Fig. 3.** Comparisons of tacrolimus measurements among instruments (n=50, respectively). (A) IMx (MEIA) versus Dimension (ACMA) using Deming regression analysis. (B) Bland-Altman analysis between ACMA and MEIA, (C) LC-MS/MS versus ACMA using Deming regression analysis, (D) Bland-Altman analysis between ACMA and LC-MS/MS, (E) LC-MS/MS versus MEIA using Deming regression analysis and (F) Bland-Altman analysis between MEIA and LC-MS/MS.

Abbreviations: MEIA, microparticle enzyme immunoassay; ACMA, affinity column mediated immunometric assay; LC-MS/MS, liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

mL까지에 대해 직선성을 나타내는 것으로 분석하였다(Fig. 1).

### 3. 측정한계 설정

Tacrolimus 미투약자 혈액의 반복측정에서 ACMA의 tacrolimus 최소농도 검출 한계는 0.24 ng/mL이었고, 생물학적 민감도는 0.71 ng/mL, 기능적 민감도는 0.72 ng/mL이었다(Fig. 2).

### 4. 상관성

MEIA (x)의 tacrolimus 측정치에 대한 ACMA (y)의 회귀방정식은  $y=0.818x-0.580$ , 상관계수(r)는 0.950이었고, ACMA 측정치는 IMx 측정치보다 평균 -25.7%의 bias를 나타내었다. LC-MS/MS (x)에 대한 ACMA (y)의 회귀방정식은  $y=0.849x+0.127$ , 상관계수는 0.946이었으며, ACMA 측정치는 LC-MS/MS 측정치에 비해 평균 -14.9%의 bias를 나타내었다. LC-MS/MS (x)에 대한 IMx (y)의 회귀방정식은  $y=1.031x+0.861$ , 상관계수는 0.936이었고, IMx 측정치는 LC-MS/MS 측정치에 비해 평균 +11.0%의 bias를 나타내었다(Fig. 3).

### 5. 빌리루빈과 유미에 의한 간섭 효과 및 적혈구용적률과 tacrolimus 측정치의 상관 관계 평가

유리형과 포합형 빌리루빈 및 유미가 각각 첨가된 spike 용액의 tacrolimus 측정치는 각각  $6.6 \pm 0.4$  ng/mL,  $8.0 \pm 0.8$  ng/mL,  $8.1 \pm 0.5$  ng/mL로 blank 용액의 각각  $7.1 \pm 0.2$  ng/mL,

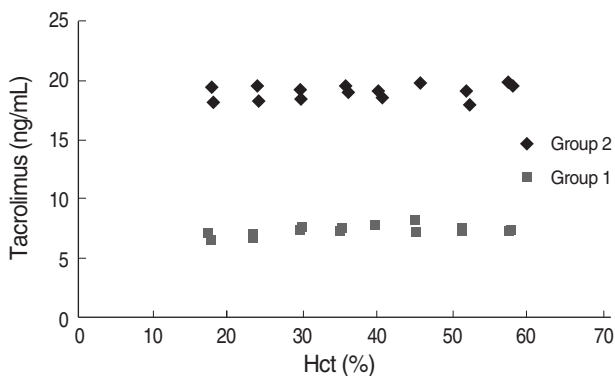


Fig. 4. Relationship between hematocrit and tacrolimus concentrations. Group 1, target concentration 7.5 ng/mL ( $y=0.019x+6.624$ ,  $r^2=0.178$ ,  $P=0.118$ ); group 2, target concentration 20.0 ng/mL ( $y=0.011x+18.675$ ,  $r^2=0.059$ ,  $P=0.344$ ). Abbreviation: Hct, hematocrit.

$7.5 \pm 0.8$  ng/mL,  $7.4 \pm 0.4$  ng/mL로 통계적으로 의미 있는 차이를 나타내지 않아서, 빌리루빈과 유미에 의한 간섭효과를 배제할 수 있었다.

적혈구용적률 증가에 따른 tacrolimus 검사값의 상관관계 분석에서 저농도(7.5 ng/mL)의 결정계수는 0.178 ( $P=0.118$ ), 고농도(20.0 ng/mL)의 결정계수는 0.059 ( $P=0.344$ )으로 적혈구용적률의 변화와 tacrolimus 검사값 간에는 의미 있는 상관성이 나타나지 않았다(Fig. 4).

### 고 찰

체내로 흡수된 tacrolimus는 95% 이상이 적혈구 내에 분포하기 때문에 혈중농도 측정을 위해서는 용혈과정이 필수적이다. 새로 도입되고 있는 Flex TACR (Dimension RxL Max, Dade Behring)은 적혈구 내 tacrolimus의 유리 과정이 기기 내에서 시약과 초음파처리(ultrasonification)에 의해 이뤄지기 때문에 검사소요시간 및 검사실 내 업무량의 감소가 가능하고 정밀도를 향상시킬 수 있다는 장점이 있다. 실제 본 연구에서 ACMA법으로 측정된 tacrolimus의 정밀도는 각각의 농도에서의 총 변이계수를 15% 이내로 규정한 미국 식품의약국(Food and Drug Administration)의 지침[21]을 만족하였다. 또한 각각의 tacrolimus 농도별 ACMA 측정치의 총변이계수는 현재 임상화학 검사실에서 사용 중인 IMx의 저·중·고농도의 정도관리물질(Tacrolimus II controls, Lot No 54596 M200, Abbott, Wiesbaden, Germany)에 대한 총변이계수(15.7%, 8.5%, 7.8%)보다 저·고농도에서 낮은 값을 나타냈으며, Napoli 등의 연구[9]에서 보고한 MEIA에서의 저·중·고농도의 총 변이계수 12.9%, 8.8%, 9.3%에 비해서도 역시 저·고농도에서 낮은 값을 나타내었다. 이와 더불어 ACMA의 tacrolimus 최소농도 검출 한계는 0.24 ng/mL이었고, 기능적 민감도는 0.72 ng/mL로 분석되어 일반적인 혈중 tacrolimus 치료범위의 하한값인 5.0 ng/mL [1]보다 낮았고, 기기회사에서 제공하고 있는 MEIA법의 최소농도 검출 한계 1.20 ng/mL, 기능적 민감도 2.40 ng/mL보다 낮은 값을 나타내었다.

실험 전 ACMA 측정치는 MEIA에 대해서 negative bias를 나타낼 것으로 예측했었다. 이는 MEIA가 대사물질에 대해서도 반응성을 나타내기 때문에 다른 면역학적 방법인 cloned enzyme donor immunoassay MS 방법보다 약 20% 높은 측정치를 나타냈다는 보고[4]와 ACMA가 enzyme multiplied immunoassay에 대해서 negative bias를 보였다는 기존 보고[22]에 근거하였으며, 본 연구에서도 ACMA와 MEIA의 상관분석

을 통해 이를 확인할 수 있었다. 또한 같은 이유로 ACMIA는 MEIA보다 LC-MS/MS에 대해 높은 상관관계를 가질 것으로 예상했었고, 실제 ACMIA의 LC-MS/MS에 대한 상관관계수는 0.946으로 MEIA의 LC-MS/MS에 대한 상관관계수 0.936보다 높은 값을 가졌다. 이는 최근 발표된 다른 문헌의 ACMIA와 MEIA의 LC-MS/MS에 대한 상관관계수 0.90, 0.83과 일치하는 결과이었다[23]. 그러나 ACMIA의 측정치가 LC-MS/MS에 대해 negative bias를 나타낸 점은 면역학적 측정법이 tacrolimus 대사체에 대해서 비특이적인 항원-항체반응이 나타날 수 있기 때문에[4, 9, 24, 25] 특이적인 검사법인 LC-MS/MS에 비해 tacrolimus 농도가 높게 측정되며[24, 26], 역시 면역학적 측정법의 하나인 ACMIA도 LC-MS/MS에 대해 positive bias를 가질 것으로 예측했었던 연구 전 가설과 반대되는 결과였다. 하지만, 350여 개 이상의 기관이 참여하여 본 연구와 비슷한 시기에 시행된 2007년 CAP CSM-B의 participant survey [11]에서는 이번 실험 결과와 일치하는 ACMIA MS, MEIA의 순서로 tacrolimus 측정치가 높게 보고되었다. CAP survey 결과의 경우 회귀분석을 통한 검사법 간의 상관관계를 알아본 것이 아니라는 점에서 본 연구 결과와 직접적인 비교를 하는 것은 한계가 있지만, ACMIA의 LC-MS/MS에 대한 negative bias 분석 결과를 간접적으로 뒷받침할 수 있는 근거가 될 수 있다고 생각된다. 따라서 검사법 간의 상관관계를 단정하기는 아직 이를 것으로 생각되며, 향후 추가 연구를 통한 정확한 상관관계 분석 및 이를 통한 bias 교정이 필요할 것으로 판단된다.

MEIA는 적혈구용적률 증가에 따라 tacrolimus 측정치가 감소하는 음의 간섭현상이 알려져 있다[7, 9]. 또한 25% 이하의 낮은 적혈구용적률을 갖는 환자의 검체에서는 enzyme-linked immunosorbent assay보다 tacrolimus의 농도가 높게 측정된다고 보고되어[27], 일부에서는 적혈구용적률이 30% 이하인 환자에서의 tacrolimus 혈중 농도 측정은 MEIA 이외의 검사법을 사용하도록 권고하고 있다[10]. ACMIA에서는 적혈구용적률에 의해 tacrolimus의 측정치가 통계적으로 유의한 수준의 차이를 나타내지 않았다. 따라서, 적혈구용적률에 대한 고려 없이 tacrolimus 혈중 농도의 보고를 보다 신속하고 신빙성있게 시행할 수 있을 것으로 생각되며, 특히 tacrolimus의 투약이 이루어지는 장기 이식환자의 대부분이 만성적인 빈혈을 나타낸다는 점에 비추보았을 때, 그 유용성은 더욱 크다고 할 수 있다.

검사실에서 ACMIA로 tacrolimus 농도를 측정하게 될 경우가 가장 기대되는 점은 검사소요시간(turn around time)의 단축일 것이다. 기존 검사법인 MEIA의 경우, 적혈구 용혈 및 원심 분리까지의 전처리 과정이 수작업으로 약 30분에 걸쳐 진행되

어야 하고, 이후 기기 내에서의 약물 농도 측정이 한 번에 최대 24검체가 가능하였다. 따라서, 검사 의뢰가 많은 검사실에서는 신속한 검사결과와 보고를 위해 많은 검사자와 여러 대의 기기를 필요로 했었다. 반면, ACMIA의 경우, 전처리 과정이 기계 내에서 약 15분 내에 시행되고, 최대 60검체까지 동시에 검사가 가능하여, MEIA에 비해 보다 많은 검체를 보다 신속하게 처리할 수 있을 것으로 판단된다.

ACMIA를 이용한 Dimension RxL Max는 전처리가 필요없이 간편하고 동시에 기존의 MEIA의 장점인 빠른 검체처리속도를 향상시키면서[1], 적혈구용적률에 의한 간섭에 큰 영향을 받지 않으면서 TDM 검사를 수행할 수 있을 것으로 기대된다. 또한, ACMIA의 tacrolimus 측정결과는 TDM 지침에 부합하는 수준의 정밀도를 가지고 있었으며, 임상적으로 의미 있는 농도 범위에서 우수한 직선성, 그보다 낮은 값의 최소농도 검출 한계 값과 기능적 민감도가 확인되었고, MEIA의 LC-MS/MS에 대한 상관관계수보다 큰 값을 가졌다. 향후 임상검사실에서 tacrolimus 측정검사에 적용이 가능할 것으로 생각되며, 신속하고 신빙성 있는 결과보고를 통해 이식 환자의 진료에 도움을 줄 수 있으리라 예상된다.

## 요 약

**배경 :** Tacrolimus는 적정 치료농도범위가 좁고 약물용량과 혈중농도의 상관 관계가 낮아 혈중약물농도 측정을 통한 감시가 필수적이다. 전처리 과정이 필요없는 Affinity Column Mediated Immunometric Assay (ACMIA)를 이용한 Dimension RxL Max (Dade Behring)의 tacrolimus 혈중농도측정에 대한 수행능을 평가하고자 하였다.

**방법 :** Clinical and Laboratory Standards Institute 지침에 준하여 ACMIA를 이용한 tacrolimus 혈중농도측정에 대해 정밀도, 직선성, 검출한계를 분석하고, 빌리루빈과 chyle 및 적혈구용적률에 대한 간섭현상을 평가하였다. 또한 microparticle enzyme immunoassay (MEIA) (IMx Tacrolimus II, Abbott Laboratories)와 liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) (Waters 2795 Quattro micro API, Micromass)의 tacrolimus 측정 결과와 ACMIA에 의한 측정 결과와의 상관관계를 분석하였다.

**결과 :** 저 · 중 · 고농도의 총 변이계수는 각각 12.8%, 9.0%, 6.7%였고, tacrolimus 농도 3.1 ng/mL부터 35.4 ng/mL에서 직선성을 보였다. 최소농도 검출 한계는 0.24 ng/mL, 기능적 민감도는 0.72 ng/mL이었으며, 빌리루빈과 chyle에 대해 간



섭효과를 나타나지 않았고, 적혈구용적률 변화에 따른 tacrolimus 검사값의 영향은 미미하였다. ACMIA에 의한 tacrolimus 측정치는 MEIA와는 0.950, LC-MS/MS에 대해서는 0.946의 상관계수를 나타내었다.

**결론 :** ACMIA에 의한 tacrolimus 측정은 정밀도, 직선성, 측정한계, 다른 물질에 의한 간섭 및 MEIA와 LC-MS/MS에 대한 상관성 항목에 대해 만족스러운 검사 수행능을 보였다. 따라서 기존 검사법보다 빠른 시간 안에 신빙성 있는 검사결과와 보고가 가능하여 이식 환자의 진료에 도움을 줄 수 있으리라 예상된다.

### 참고문헌

- Jusko WJ, Thomson AW, Fung J, McMaster P, Wong SH, Zylber-Katz E, et al. Consensus document: therapeutic monitoring of tacrolimus (FK-506). *Ther Drug Monit* 1995;17:606-14.
- Peters DH, Fitton A, Plosker GL, Faulds D. Tacrolimus. A review of its pharmacology, and therapeutic potential in hepatic and renal transplantation. *Drugs* 1993;46:746-94.
- Nakagawa H, Etoh T, Ishibashi Y, Higaki Y, Kawashima M, Torii H, et al. Tacrolimus ointment for atopic dermatitis. *Lancet* 1994;344:883.
- Westley IS, Taylor PJ, Salm P, Morris RG. Cloned enzyme donor immunoassay tacrolimus assay compared with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and microparticle enzyme immunoassay in liver and renal transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2007;29:584-91.
- Ghoshal AK and Soldin SJ. Evaluation of the Dade Behring Dimension RxL: integrated chemistry system-pediatric reference ranges. *Clin Chim Acta* 2003;331:135-46.
- Keown PA. New concepts in cyclosporine monitoring. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002;11:619-26.
- Kuzuya T, Ogura Y, Motegi Y, Moriyama N, Nabeshima T. Interference of hematocrit in the tacrolimus II microparticle enzyme immunoassay. *Ther Drug Monit* 2002;24:507-11.
- LeGatt DF, Shalabay CE, Cheng SB. The EMIT 2000 tacrolimus assay: an application protocol for the Beckman Synchron LX20 PRO analyzer. *Clin Biochem* 2004;37:1022-30.
- Napoli KL. Is microparticle enzyme-linked immunoassay (MEIA) reliable for use in tacrolimus TDM? Comparison of MEIA to liquid chromatography with mass spectrometric detection using longitudinal trough samples from transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2006;28:491-504.
- Taylor PJ and Morris RG. Tacrolimus measurement by microparticle enzyme immunoassay II. *Ther Drug Monit* 2003;25:259-60.
- CSM-B surveys: Immunosuppressive drugs participant summary report, AACC/CAP 2007.
- CSM-A surveys: Immunosuppressive drugs participant summary report, AACC/CAP 2007.
- Kim JH, Kim BK, Lee SY, Chun S, Kwon GC, Yoon Y, et al. Annual report on external quality assessment in therapeutic drug monitoring in Korea (2006). *J Lab Med Qual Assur* 2007;29:121-35. (김정호, 김병광, 이수연, 전사일, 권계철, 윤여민 등. TDM검사 신빙도조사 결과 보고(2006). 임상검사와 정도관리 2007;29:121-35.)
- Clinical and Laboratory Standard Institute. Evaluation of the precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline-second edition (EP5-A2). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2004.
- Clinical and Laboratory Standard Institute. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A statistical approach; approved guideline (EP6-A). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003.
- Kroll MH, Praestgaard J, Michaliszyn E, Styer PE. Evaluation of the extent of nonlinearity in reportable range studies. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:1331-8.
- Clinical and Laboratory Standard Institute. Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation; approved guideline (EP17-A). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2004.
- Westgard JO. Method validation-the detection limit experiment. <http://www.westgard.com/lesson29.htm> (Updated on Jun 2009)
- Clinical and Laboratory Standard Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline-second edition (EP9-A2). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2002.
- Clinical and Laboratory Standard Institute. Interference testing in clinical chemistry; approved guideline-second edition (EP7-A2). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Veterinary Medicine (CVM). <http://www.fda.gov/downloads/>

- Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070107.pdf (accessed September 2009)
22. Dorizzi RM, Cocco C, Rizzotti P. Tacrolimus assays; new tools for new tests and for old problems. *Clin Chim Acta* 2008;387:177-8.
23. Griffey MA, Hock KG, Kilgore DC, Wei TQ, Duh SH, Christenson R, et al. Performance of a no-pretreatment tacrolimus assay on the Dade Behring Dimension RxL clinical chemistry analyzer. *Clin Chim Acta* 2007;384:48-51.
24. Cogill JL, Taylor PJ, Westley IS, Morris RG, Lynch SV, Johnson AG. Evaluation of the tacrolimus II microparticle enzyme immunoassay (MEIA II) in liver and renal transplant recipients. *Clin Chem* 1998;44:1942-6.
25. Iwasaki K, Shiraga T, Matsuda H, Nagase K, Tokuma Y, Hata T, et al. Further metabolism of FK506 (tacrolimus). Identification and biological activities of the metabolites oxidized at multiple sites of FK506. *Drug Metab Dispos* 1995;23:28-34.
26. Ghoshal AK and Soldin SJ. IMx tacrolimus II assay: is it reliable at low blood concentrations? A comparison with tandem MS/MS. *Clin Biochem* 2002;35:389-92.
27. Tomita T, Homma M, Yuzawa K, Ohkohchi N, Hori T, Kaneko M, et al. Effects of hematocrit value on microparticle enzyme immunoassay of tacrolimus concentration in therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit* 2005;27:94-7.