

효소면역 측정법을 이용한 뇨임신검사법의 평가*

이화여자대학교 의과대학 임상병리과
홍 기 숙·김 옥 경

= Abstract =

Evaluation of Enzyme Immunoassay for Urinary Pregnancy Tests

Ki Sook Hong · Ok Kyoung Kim

Department of Clinical Pathology, College of Medicine, Ewha Womans University

Three new developed enzyme immunoassays(EIA) for urinary pregnancy tests were compared with the three older latex agglutination assays(LATEX) in the urine samples of 138 patients.

The examined kits included EIA (Testpack hCG-Urine, Tandem ICON II hCG Urine, Target hCG) and direct LATEX (Betatex direct, Pregnancy Quick test, Synchron hCG).

The results were as follows :

- 1) The coincidence rate between EIA and direct LATEX is 91%. The coincidence rate between EIA and radioimmunoassay(RIA) is 100%.
- 2) The range of the discrepancy between EIA and LATEX is 79mIU/ml to 855mIU/ml.
- 3) When the EIA is considered to be the standard method, the sensitivity and specificity of Latex are 78% and 100%.
- 4) The hCG of the urine specimen which were found to be negative by EIA and LATEX is below 50mIU/ml.
- 5) There is no false positive result in proteinuria(2+) and bloody urine(1+) in the EIA and Latex.

We conclude EIA is the most sensitive procedure(lowest detection limits) for qualitatively detecting hCG in urine samples secreted by early pregnancy.

서 론

Human chorionic gonadotropin(hCG) 검출은 정상 임신, 자궁외 임신, 절박 유산, 용모성 암종

*본 연구는 1990년도 이화의대 동창회 학술연구조성비 보조에 의한 것임.

등의 진단에 널리 사용되어 오고 있다. 라텍스응집법의 개발로 뇨를 이용하여 빠르고 간편하게 임신의 유무를 알 수 있으나 이 검사들은 hCG 치가 약 500mIU/ml 이상이어야만 검출할 수 있으므로 자궁외 임신의 약 50% 정도만 진단 할 수 있었다. 이에 형광법, 효소법, 방사선 동위원소 등을 이용한

면역 분석법을 개발하여 특이도와 예민도를 증가시키는 노력을 하게 되었다¹⁾²⁾.

저자들은 한국에서 상품화되어 나오기 시작한 효소면역검사 3개 (Tandem ICON II ; Testpack hCG-Urine ; Target hCG)와 라텍스 응집검사 3개 (Betatex,direct ; Pregnancy-Quick ; Synchron hCG, Eiken)를 방사면역분석법과 비교하여 다음의 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

1989년 본원 임상병리과에 뇨임신반응 검사가 의뢰된 138예의 뇨검체에 대해 시행하였다.

2. 연구 방법

연구에 사용한 효소면역검사로는 Testpack hCG-Urine(Abbott사), Tandem ICON II hCG Urine(Hybritech 사), Target hCG(V-Tech 사)를 사용하였고, 라텍스 응집검사로는 Betatex Direct (Omega사), Pregnancy Quick Test(Human사), Synchron hCG(Eiken사)를 사용하였다. 방사면역 검사는 Diagnostic product사 제품을 사용하였다. 각각의 검체에 대해 7가지 검사를 동시에 사용하였고, 각 제품에 명시된 방법으로 시행하고 결과를 판독하였다.

뇨단백 및 혈액에 의한 임신검사 방해여부를 확인하기 위해 뇨단백이 2+ 이상, 적혈구가 1+ 이상인 남성뇨 20 검체를 선택 하여 효소면역 및 라텍스 응집에 의한 임신반응검사를 실시하였다.

연구 결과

효소면역 측정법과 라텍스응집법의 두가지 방법으로 측정된 뇨중 hCG 검사 결과를 보면 효소면역법과 라텍스의 결과가 일치해 보인예는 총 118 예중 107예로서 일치율은 91%이며, 두가지 검사법의 결과가 일치하지 않는 경우는 11예로서 9%이었다. 효소면역법을 표준으로 할때 라텍스의 예민도는 78%, 특이도는 100%이었다(Table 1).

효소면역법 및 라텍스법 모두에서 양성 결과를

Table 1. Comparison of urine hCG in 118 clinical specimens by enzyme immunoassays(EIA) and latex agglutination tests(LATEX)

	EIA +	EIA -	Total
Latex +	40	0	40
Latex -	11	67	78
Total	51	67	118

sensitivity of urine hCG-Latex test; 78.4% (40/51)

specificity of urine hCG-Latex test; 100% (67/67)

나타낸 40예를 방사면역법으로 정량검사 하였을때 1예만 제외하고 725 mIU/ml 이상 이었다. 효소면역법과 라텍스의 결과가 일치하지 않는 11예의 뇨중 hCG의 값은 79mIU/ml 부터 855 mIU/ml 까지 다양하였으며 이들 모두에서 효소면역법에 의한 결과는 양성이었고 라텍스의 결과는 Eiken 이 45%, Betatex가 9%, Pregnancy Quick 이 18%에서 양성을 나타내었다. 효소면역법 및 라텍스검사 모두에서 음성결과를 나타낸 67예는 방사면역검사에서 모두 50mIU/ml 이하였다(Fig.1).

뇨중의 단백이나 혈액에의한 위양성의 결과를 검토하기위해 남성뇨중 뇨단백이 2+(100mg/dl) 이상, 혈액이 1+이상인 뇨 20검체를 모아서 효소면역 검사및 라텍스 검사를 한결과 모두 음성을 나타내었다.

각각의 검사들을 최저검출한계치, 검사소요시간, 전체검사단계수, 표식효소, 결과판독등을 비교하여 보았다(Table 2). 최저검출한계치는 효소면역검사중 Tandem ICON II hCG Urine이 20 mIU/ml로서 가장 예민하였고, Target hCG와 Testpack hCG-Urine 이 50mIU/ml이었다. 라텍스 검사는 Eiken이 210mIU/ml, Betatex가 500mIU/ml, Pregnancy Quick Test 가 600mIU/ml이었다. 검사소요시간은 효소면역검사는 모두 4분정도, 라텍스 검사는 2분정도가 소요되었고, 전체검사 단계는 효소면역검사가 6과정, 라텍스가 2과정이었다. 표식효소로는 Testpack hCG-Urine과 Tandem ICON II hCG-Urine 이 alkaline phosphatase를 썼고, Target hCG가 horseradish peroxidase를 사용하였다. 결과판독상 Testpack hCG-Urine은 +(plus)또는 -(minus)로 나오며 Tandem ICON II는 양성 참고 영역과 검사영역이 있어 양성참고 영역보다 검사영역의 청색원이 짙으면

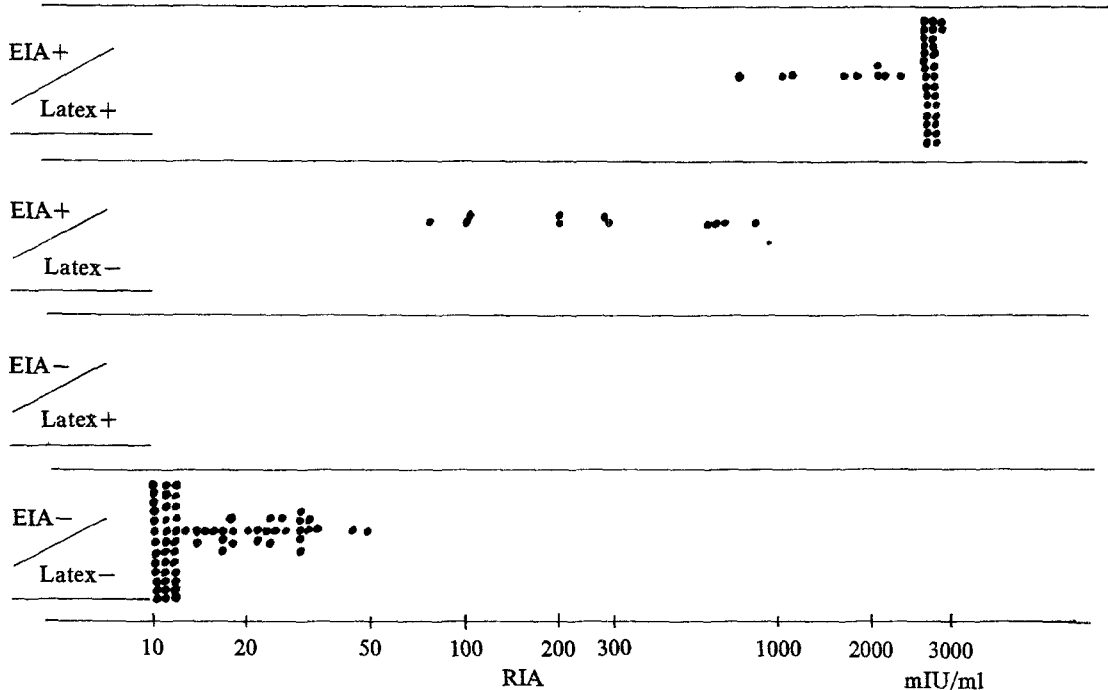


Fig. 1. Triple measurement of hCG by enzyme immunoassay(EIA), latex agglutination(Latex), radioimmunoassay(RIA).

50mIU/ml 이상을, 열으면 50mIU/ml 이하를 나타내어 반정량이 가능하였다. Target hCG-Urine은 둘째의 원과 중심에 점이 나타나면 양성, 둘째에 원만 있으면 음성을 표시하였다.

라텍스 검사들은 직접 라텍스법을 사용하였으므로 임신의 경우는 응집, 비임신의 경우는 비응집으로 나타났다.

고 찰

Human chorionic gonadotropin(hCG)는 정상 임신에서 배란후 6~9일에 증가 되어 1.4~2일마다 배수로 증가된다. 착상후 1주에 50mIU/ml로 보고되고, 생리예정일 첫날에 100mIU/ml 이상이된다. 뇨와 혈청의 hCG치는 서로 평행하기때문에 뇨임신검사는 혈청검사만큼 유효하다³⁾⁴⁾⁵⁾.

Asheim과 Zondek가 임신부의 뇨에서 "A-Z" 검사를 발전시킨이후⁶⁾ 이검사는 40년이상 임신 반응검사의 표준이 되어왔다.

1960년대에 Wide 와 Gemzell에의해 임신면역 반응검사가 연구되었고⁷⁾, 이에는 혈구응집억제검사와 라텍스 응집검사가 있다. 라텍스 응집검사는 다른 glycoprotein홀몬인 Luteinizing 홀몬과 상호 반응 할 수 있으며 예민도는 200~2000mIU/ml에 달한다⁸⁻¹²⁾. 따라서 상당수의 자궁외 임신을 놓치게 되었다¹³⁾.

1970년대 초기에 방사면역 측정법에 의한 연구가 개발되었고 예민도를 5mIU/ml 까지 낮추었다. 이 검사는 경쟁적 이중항체검사로써 I¹²⁵로 부착된 베타-hCG를 사용하고 방사능 계측기로서 검출할수 있다¹⁴⁾. 이들 검사는 예민도와 특이도가 높지만 시간이 오래걸리고, 큰장비가 필요하여 소규모병원에서의 시행과 응급검사로서는 적당하지 않았다¹⁵⁾¹⁶⁾.

한국의 경우 대부분의 병원에서 뇨임신검사는 라텍스법을 사용하고 있어서 자궁외임신의경우 50~60%만이 양성으로 나와 좀더 예민도가 높은 검사가 요구되고있다¹⁷⁻²¹⁾.

Table 2. Assay performance characteristics of the seven pregnancy test kits evaluated

	Enzyme immunoassays			Latex agglutination assays			Radioimmunoassay
	Testpack hCG-Urine	Tandem ICON II hCG Urine	Target hCG	Betatex Direct	Pregnancy Quick test	Synchron hCG-Eiken	Diagnostic Product
Stated sensitivity* (mIU/ml)	50	20	50	500	600	210	5
Pregnancy (n = 51)							
positive (%)	51/51(100)	48/48(100)	31/31(100)	41/48(85.4)	42/48(87.5)	45/51(88.2)	51/51(100)
negative (%)	0/51(0)	0/48(0)	0/31(0)	7/48(14.6)	6/48(12.5)	6/51(11.8)	0/51(0)
Nonpregnancy (n = 67)							
positive (%)	0/61(0)	0/35(0)	0/67(0)	0/67(0)	0/67(0)	0/67(0)	0/67(0)
negative (%)	67/67(100)	35/35(100)	67/67(100)	67/67(100)	67/67(100)	67/67(100)	67/67(100)
assay time, min	4	4	4	2	2	2	90
total steps	6	6	6	2	2	2	10
labeled material	alkaline phosphatase	alkaline phosphatase	horseradish peroxidase	latex	latex	latex	I ¹²⁵
result							
pregnancy + (plus)	blue dot in positive reference zone & test zone	blue dot in positive reference zone & test zone	blue dot in center and blue circle	agglutination	agglutination	agglutination	gamma counter reading
nonpregnancy - (minus)	blue dot in positive reference zone only	blue dot in positive reference zone only	blue circle only	no agglutination	no agglutination	no agglutination	

*The manufacturer's stated sensitivity

현재로서 가장 기대할만한 검사인 효소면역 측정법의 원리는 우선 단일클론 항 hCG항체가 고형상(예로 여과지)에 부착이된다. 환자의 뇨를 여과지에 부으면 그곳에 부착된 항체가 검체에 있는 hCG의 알파-subunit와 결합된다. 그 후 2차 항 hCG단일클론항체와 연결된 용액을 첨가하면 뇨 hCG의 베타-subunit 에가서 결합한다. 마지막으로 alkaline phosphatase 에 대한 염색성 기질을 첨가한다. hCG가 있으면 색깔이 나타나게 된다. 이검사의 최저검출 한계는 제조회사에 따라 다르지만 20~50mIU/ml로 보고되고 있어서²²⁻²⁵⁾ 자궁의 임신 및 조기임신을 진단하는 매우좋은 검사로 보고 되고 있다. 또한 방사면역 측정법과도 97% 이상에서 일치하고 있다고 한다²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾.

본 연구에서 라텍스검사에서 음성, 효소법에서 양성으로 나온검체는 9%로서 이를 방사면역법으로 정량하였을때 그범위는 79mIU/ml 부터 855 mIU/ml이었고 효소법과 방사면역법과의 일치율은 100%였다.

Cartwright등은²²⁾ 효소면역법에서 몇가지 문제점을 제시했는데 이에는 결과판의 색깔이 뇨중의 다른 물질에 의해 간섭받을 수 있다는것, 시간과 온도를 지키는것이 중요하다는점, 검사단계수가 많은점 등을 지적하였다. 이는 모든 효소면역 검사법이 가지고 있는 문제점으로서 제조회사에서 제시한 방법을 잘 따르면 문제는 해결되리라 생각된다. 다만 효소면역검사가 종래의 라텍스 검사보다 가격면에서 높으므로 문제가 되는것 같으나, 라텍스의 결과로서 반복검사및 다른 보조검사를 하는것등을 염두에 둘때 별문제가 되지 않을 것이다.

노임신반응검사중 단백뇨나 혈액으로인한 가양성의 결과가 보고²⁹⁾³⁰⁾³¹⁾되고 있어서 본 연구에서는 20예의 남자의 단백뇨와 혈뇨를 골라서 검사하였으나 모두 음성이었다.

이상을 종합 해볼때 최저검출한계가 낮고, 예민도와 특이도가 높으며, 별다른 검사장비도 필요치 않아서 자궁의 임신이나 조기임신등의 진단에 필요한 응급검사로서 유용하게 사용 될 것으로 판단된다.

결 론

노임신반응검사 가운데 가장발전된 형태인 효소면역측정법을 종래에 사용해오고 있던 라텍스 응집법과 비교하고 또한 이를 방사면역측정법으로 정량하여 효소면역측정법의 임상적 유용성을 검토하였다.

1) 효소면역측정법과 라텍스검사의 일치율은 91%이며 불일치율은 9% 이었고, 효소면역측정법과 방사면역측정법 사이의 일치율은 100%로 나타났다.

2) 효소면역검사와 라텍스검사의 불일치를 보인 범위는 79mIU/ml 부터 855mIU/ml이었다.

3) 효소면역측정법을 기준으로 하였을 때 라텍스검사의 예민도는 78%, 특이도는 100%를 나타내었다.

4) 효소면역측정법 및 라텍스검사에서 모두 음성을 나타낸 뇨검체들의 hCG는 50mIU/ml 이하였다.

5) 뇨단백 2+ 이상, 뇨혈액 1+ 이상의 검체에서 효소면역 및 라텍스응집 두검사 모두에서 가양성이 없었다.

이상의 결과를 종합해볼때 노임신반응검사에서 효소면역측정법은 조기 임신 및 자궁의 임신등의 낮은 hCG값을 측정하는 새로운 세대의 검사법이 될 수 있을 것으로 사료된다.

References

- 1) Seppala M, Tontti K, Stenman UH, Chard T : Use of a rapid hCG-beta-subunit radioimmunoassay in acute gynecological emergencies. *Lancet* 1980i : 165-166
- 2) Stenman U-H, Alftan H, Myllynen L, Seppala M : Ultrarapid and highly sensitive time-resolved fluoroimmunoassay for chorionic gonadotrophin. *Lancet* 1983 : ii : 647-649
- 3) Collins WP : Early pregnancy test. *British Journal of Obstetrics and Gynecology* 1990 : 97 : 204-207
- 4) Fle tcher JL : Update on pregnancy testing. *Primary Care* 1986 : 13 : 667-677

- 5) Norman RJ, Buck RH, Rom L, Joubert SM : *Blood or urine measurement of human chorionic gonadotrophin for detection of ectopic pregnancy ; A comparative study of quantitative and qualitative methods in both fluids. Obstetrics and Gynecology 1988 ; 71 : 315-318*
- 6) Aschheim S, Zondek B : *Klin Wschr 1977 ; 6 : 1322 Quoted in Wide L and Gemzell CA, Op. Cit, 265*
- 7) Wide L, Gemzell CA : *An immunological pregnancy test. Acta Endocrinologica 1970 ; 35 : 261-267*
- 8) Lamb EJ : *Immunologic pregnancy tests ; Evaluation of pregnosticon Dri-Dot and pregnosticon accu-spheres. Obstetrics and Gynecology 1972 ; 39 : 665-672*
- 9) Horwitz CA, Polesky H, Odenbrett P, Gronli M, Horowitz A, Diamond R, Ward PCG : *Clinical and immunologic study of a direct agglutination test for pregnancy (Mechanism of interference including prozoning and circulating macroglobulins). Am J Obstet Gynecol 1971 ; 111 : 808-819*
- 10) Haskins AL : *Quantitative assay of human chorionic gonadotrophin ; A comparison of immunoassay and bioassay. Am J Obstet and Gynecol 1967 ; 97 : 777-786*
- 11) Kerber IJ, Inclan P, Fowler EA, Davis K, Fish SA : *Immunologic tests for Pregnancy ; A comparison. Obstetrics and Gynecology 1970 ; 36 : 37-43*
- 12) Driscoll SG, Strauss WF, Alba M, Altschue HS, Hager HJ : *Evaluation of a new slide test for pregnancy. Am J obstet Gynecol 1971 ; 110 : 1083-1090*
- 13) Porres JM, D Ambra C, Garrity F : *Comparison of eight kits for the diagnosis of pregnancy. Am J Clin Pathol 1975 ; 64 : 452-463*
- 14) Vaitukaitis JL, Braunstein GD, Ross GT : *A radioimmunoassay which specifically measures human chorionic gonadotrophin in the presence of human lutenizing hormone. Am J Obstet Gynecol 1972 ; 113 : 751-758*
- 15) Rosal TP, Saxana BB, Landesman R : *Application of a radioreceptor assay of human chorionic gonadotrophin in the diagnosis of early abortion. Fertility and Sterility 1975 ; 26 : 1105-1112*
- 16) Batzer FR, Weiner S, Corson SL, Schlaff S, Otis C : *Landmarks during the first forty two days gestation demonstrated by the beta subunit of human chorionic gonadotrophin and ultrasound. Am J Obstet Gynecol 1983 ; 146 : 973-979*
- 17) 강의권 · 한광수 · 최원배 · 김현찬 : 자궁의 임신의 혈청 베타-hCG치, 요임신반응검사 및 자궁내막의 병리조직 소견. *대한산부회지 1986 ; 29 : 218-225*
- 18) 이광현 · 박석용 · 유재득 · 안덕호 : 자궁의 임신에 있어서 베타 hCG 측정의 의의. *대한산부회지 1987 ; 30 : 184-191*
- 19) 조영제 · 이의섭 · 이춘근 · 김종직 : 자궁의 임신의 조기진단을 위한 베타 hCG의 의의. *대한산부회지 1988 ; 31 : 770-776*
- 20) 박건남 · 진정자 · 장은주 · 김동진 : 자궁의 임신의 진단에 있어서 요임신반응검사의 기여도와 혈청내 베타 hCG의 진단적 가치. *대한산부회지 1989 ; 32 : 834-841*
- 21) 하재철 · 유우국 · 이기환 · 권선호 · 강길전 ; 자궁의 임신에 있어서 베타 hCG의 진단적 가치. *대한산부회지 1985 ; 28 : 375-381*
- 22) Cartwright PS, Victory DF, Wong SW, Dao AH : *Evaluation of the new generation of urinary pregnancy tests. Am J Obstet Gynecol 1985 ; 153 : 730-731*
- 23) Herbert CM, Hill GA, Maxon WS : *Use of a sensitive urine pregnancy test before endometrial biopsies taken in the late luteal phase. Fertility and Sterility 1990 ; 53 : 162-164*
- 24) Strobel JL, Rinke ML, Hussa RO : *"Tandem ICON hCG" urine pregnancy test evaluated. Clin Chem 1985 ; 31 : 492-493*
- 25) Valkirs GE, Barton R : *Immunoconcentration™ - a new format for solid-phase immunoassays. Clin Chem 1985 ; 31 : 1427-1431*
- 26) Weerasinghe DSL, BA LS, Cooke R, Flower J, Hutton JD : *A sensitive qualitative pregnancy test (ICON) and ultrasound in the diagnosis of ectopic pregnancy. NZ Med J 1989 ; 102 : 549-551*
- 27) Norman RJ, Reddi K, Kemp M, Joubert SM, Patel F : *Sensitive urine tests and human chorionic gonadotrophin secreted during ectopic pregnancy. British Medical Journal 1986 ; 292 : 590-591*
- 28) Buck RH, Norman RJ, Reddi K, Moodley J, Joubert SM : *Various methods for determining urinary choriogonadotrophin evaluated for the early diagnosis of ectopic pregnancy. Clin Chem 1986 ; 32 : 879-882*

- 29) Kountz DS, Kolander SA, Rozovsky A : *False positive urinary pregnancy test in the nephrotic syndrome. N Eng Med J 1989 : 16 : 1416*
- 30) Arkin C, Noto TA : *A false positive immunologic pregnancy test with tubo-ovarian abscess. Am J Clin Pathol 1972 : 58 : 314-316*
- 31) Horwitz CA, Garmezzy I, Lyon F, Hensley M, Burke MD : *A comparative study of five immunologic pregnancy tests ; An analysis of 1863 cases. Am J Clin Pathol 1972 : 58 : 305-313*