

체외진단의료기기

1. 품목정보

허가(신고)번호	체외 수인 15-1772 호	
품 목 명	자가면역질환검사시약	
분류번호(등급)	K03010.01 (2)	
모 델 명	CHORUS AMA-M2	
포장단위	용기 등의 기재사항 참조.	
제조번호	용기 등의 기재사항 참조.	
제조연월	용기 등의 기재사항 참조.	
수입원	상 호	아산제약(주)
	주 소	서울특별시 동대문구 청계천로 485
	전화번호	02-3290-5700
	F a x	02-3290-5750
제조사	상 호	Diesse Diagnostica Senese S.p.a.
	(국가)	(이탈리아)

2. 구성

2.1 체외진단의료기기

번호	명 칭	세부 구성
1	CHORUS AMA-M2 Device	#8 : 바코드 부착을 위한 공간
		#7 : 비어있음
		#6 : 미토콘드리아의 M2 항원이 코팅되어있는 마이크로 플레이트 웰(Microplate well)
		#5 : 코팅되어있지 않은 마이크로플레이트 웰
		#4 : TMB substrate
		#3 : 검체 희석액
		#2 : 콘주게이트(Conjugate)
		#1 : 검체 분주 웰
2	CHORUS AMA-M2 Calibrator	단일
3	CHORUS AMA-M2 Positive Control	단일

2.2 별도판매구성품

Washing Buffer Autoimmunity, Cleaning Solution 2000X, Sanitizing Solution, Negative control/Sample diluent

3. 작용원리

3.1 임상적 의의:

원발성 담즙성 간경변(PBC)은 중소형 담관의 만성 염증성 질환이며, 순환하는 M2 자가항체의 존재에 의해 혈청학적으로 식별된다. 항-M2 자가항체는 항 미토콘드리아 항체(AMA)의 그룹에 포함된다. 불균일하게 반응하는 M2 subtype의 특정 AMA는 미토콘드리아 내막에 위치한 α -케토산탈수소효소 복합체의 3가지 연관 단백질로 이동한다. 인식되는 주요 에피토프는 E2 subunit과 피루브산탈수소효소 복합체(PDC)의 X 단백질에 위치해 있다. 또한, AMA-M2-G 자가항체는 동일 복합체의 subunit (E1 α 와 E1 β)을 인식하고, 2-옥소 글루타 탈수소효소복합체(OGDC)와 분지2-옥소 산 탈수소효소 복합체(BCOADC)와 같은 여러 가지 다른 멀티효소 복합체의 E2 subunit을 인식한다. AMA-M2-G의 검출은 PBC 진단에 유용한 기반이 된다.

3.2 작용원리:

AMA-M2 디바이스는 CHORUS 기기에서 M2에 대한 항체 분석을 위한 키트이다. 본 검사는 효소면역결합흡수법(ELISA, Enzyme linked Immunosorbent Assay)을 기초로 하고 있다. 정제된 미토콘드리아의 M2 항원은 고상(solid phase)에 결합되어 있다. 희석된 사람 혈청(검체)과의 배양을 통해 특이 면역글로불린은 항원과 결합한다. 반응하지 않은 단백질들은 세척을 통해 제거하고, 고추냉이 과산화효소(Horse Radish Peroxidase)가 결합되어있는 항-사람 면역글로불린으로 구성된 콘주게이트(Conjugate)와 배양한다. 결합하지 않은 콘주게이트는 제거되고, 과산화효소 기질(Peroxidase substrate)이 더해진다. 검체

안에 존재하는 특이 항체의 농도와 비례하여 발색이 일어난다. 키트에는 CHORUS 기기에서 실험을 수행하기 위한 모든 시약이 포함되어있다.

4. 사용목적

사람 유래 혈청으로부터 미토콘드리아 M2에 대한 IgG 자가항체를 효소면역결합흡수법(Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA)을 이용하여 반정량하고, 원발성 담즙성 간경변(PBC)진단에 도움을 주는 체외진단용 의료기기.

5. 성능

1) 상관성평가 (민감도, 특이도)

40 검체를 DISSE kit와 predicate device의 상관성 시험을 시행하였다.

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	14	2	16
	-	1	23	24
	Total	15	25	40

민감도 : 93.3% (CI_{95%} : 70.0~98.7)

특이도 : 92.0% (CI_{95%} : 74.9~97.7)

2) 판정기준치

15.0 AU/ml

3) 최소검출한계

128OD (<3.0AU/ml)

4) 측정범위

3개의 고농도의 검체를 8개의 농도로 계단 희석하여 시험한 결과, 3.0~251.0AU/ml 범위에서 실측치와 예측치 사이에 직선성이 유지되었다.

Sample	Sample A			Sample B			Sample C		
	Expected (AU/ml)	Obtained (mean Au/ml)	Recovery %	Expected (AU/ml)	Obtained (mean Au/ml)	Recovery %	Expected (AU/ml)	Obtained (mean Au/ml)	Recovery %
1	251.0	251.0	100.0	210.0	210.0	100.0	226.0	226.0	100.0
2	209.2	236.6	113.1	175.0	199.6	114.1	188.3	210.6	111.8
3	167.3	205.3	122.7	140.0	168.2	120.1	150.7	184.7	122.6
4	125.5	155.8	124.1	105.0	120.5	114.8	113.0	139.8	123.7
5	62.8	71.3	113.5	52.5	55.1	105.0	56.5	60.3	106.7
6	31.4	35.8	114.0	26.3	30.1	114.4	28.3	26.1	92.9
7	15.7	16.2	103.2	13.1	14.2	108.4	14.1	13.8	97.9
8	3.0	3.2	106.7	3.0	3.3	110.0	3.0	3.0	100.0

5) 교차반응

다음과 같은 항원을 포함하는 검체로 교차반응을 시험한 결과 모두 12.0AU/ml미만의 결과를 나타낸다. (음성 예상치<12.0AU/ml)

- Parietal cells (5)
- Glomerular basement membrane (6)
- Liver-Kidney microsomes (5)
- ANA (5)

그러므로 본 kit는 PCA, GBM, LKM, ANA 항원을 포함하는 혈청과 교차반응을 일으키지 않는다.

6) 간섭물질

체외진단의료기기

5검체 (2 negative, 1 Cut-off, 2 Positive)를 사용하여 4종류의 간섭물질에 관한 시험을 진행하였으며, 아래와 같은 간섭물질을 3가지 다른 농도로 spike하여 시험을 실시하였다.

- Rheumatoid Factor (44-220 IU/ml)
- Bilirubin (4.5-45 mg/dl)
- Lipoprotein (10-250 mg/dl)
- Hemoglobin (5-30 mg/ml)

시험결과 위와 같은 간섭물질을 함유한 검체와 함유하지 않은 검체사이의 차이는 모두 허용치(<15%)이내이므로 위와 같은 간섭물질은 본 시험에 영향을 미치지 않는다.

7) 정밀도

9개의 서로 다른 농도(음성3, 판정 기준치 주변값3, 양성3)의 샘플을 이용하여 정밀도를 시험한 결과 다음의 결과를 얻었다.

① 반복성

Sample	Within-run Precision		Between-run Precision	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	5.3	6.6	5.2	12.1
2	7.9	8.5	7.7	10.4
3	10.2	6.8	9.9	8.2
4	13.0	8.7	13.5	4.1
5	15.2	4.6	14.9	3.5
6	17.1	6.4	17.5	4.1
7	28.6	8.7	26.6	8.3
8	60.0	9.4	57.8	9.1
9	145.2	3.3	140.0	4.1

•within-run precision: 동일한 장비로 1lot의 kit를 사용하여 9개 검체에 대하여 1일에 9번 반복 측정된 결과 모두 $CV \leq 15\%$ 결과 값으로 허용치를 만족한다.

•Between-run precision: 동일한 장비로 1lot의 kit를 사용하여 1일에 1번 8일동안 반복 측정된 결과 모두 $CV \leq 15\%$ 결과 값으로 허용치를 만족한다.

② 재현성

Sample	Precision between batches		Precision between instruments	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	4.7	7.7	4.7	5.5
2	7.7	9.1	7.7	0.8
3	9.2	4.9	9.1	4.9
4	13.1	5.3	13.1	1.3
5	15.2	6.6	15.2	2.0
6	17.6	2.3	17.6	0.3
7	30.9	9.0	30.9	4.2
8	61.4	7.7	61.4	2.8
9	139.9	4.6	139.9	3.0

•Precision between batches: 3종류의 장비로 3lot의 kit를 사용하여 9개 검체에 대하여 6일 동안 반복 측정된 결과 모두 $CV \leq 15\%$ 결과 값으로 허용치를 만족한다.

(각 장비로 2틀 동안 시험을 진행)

•Precision between instruments: 3종류의 장비로 3lot의 kit를 사용하여 9개 검체에 대하여 6일 동안 반복 측정된 결과 모두 $CV \leq 15\%$ 결과 값으로 허용치를 만족한다.

(각 장비로 2틀 동안 시험을 진행)

정밀도 시험동안 얻어진 수치는 모두 허용치($CV \leq 15\%$)안의 결과로서 반복성과 재현성을 만족한다.

6. 사용방법

6.1 검체 준비 및 저장방법

검체는 정상적인 정맥 채혈에서 분리한 혈청(Serum)을 사용한다. 검체는 우수실험실 관리기준(Good Laboratory Practice, GLP)의 지침에 따라 처리한다. 신선 혈청은 $2 \sim 8^{\circ} \text{C}$ 의 냉장에서 4일간 보관할 수 있고, -20°C 의 냉동에서 장기간 보관이 가능하다. 이 경우 최대 3년까지 해동할 수 있다. 검체는 자동 서리제거 기능을 지닌 냉동고에 보관하지 않는다. 해동된 검체는 사용 전 주의하여 흔들어준다. 열불화성화는 잘못된 결과를 나타낼 수 있다. 또한 미생물오염은 검체 품질에 막대한 영향을 끼쳐 결과의 오류를 초래할 수 있다.

6.2 검사 전 준비 과정

1) 해당 장비의 준비과정

검사 전 준비는 장비 매뉴얼을 참고한다.

2) 시약

사용 전 디바이스들은 모두 실내온도($18 \sim 30^{\circ} \text{C}$)에 가져다 놓고, 1시간 안에 사용한다.

(1) 디바이스

사용 전 실온과 같게 만든 후, 패키지를 열고 필요한 디바이스를 꺼낸다; 꺼내고 남은 디바이스들은 실리카 겔(Silica gel)과 함께 다시 백(bag)에 넣고, 공기를 뺀 후 입구를 단아 봉한다. $2 \sim 8^{\circ} \text{C}$ 에서 보관한다.

(2) Calibrator

바로 사용 가능함

(3) Positive Control

바로 사용 가능함

(4) Washing Buffer Autoimmunity

증류수로 1:50 비율로 희석 후 장비에 장착

(5) Cleaning Solution 2000X

증류수로 1:2000 비율로 희석 후 장비에 장착

(6) Sanitizing Solution

증류수로 1:1000 비율로 희석 후 장비에 장착

(7) Negative control/Sample diluent

사용 전 실온과 같게 하여 사용한다.

6.3 검사 과정

CHORUS TRIO ([1], 서울 체외 수신 09-442 호)의 장비 매뉴얼을 참고한다.

- 1) 패키지(측면에 pressure-closure 장치 되어있음)를 개봉한 뒤, 필요한 만큼의 디바이스를 꺼낸다. 여분은 포장재에 넣고 공기를 빼낸 뒤 밀봉한다.
- 2) 사용자 매뉴얼의 검사 시의 주의사항(Analytical Warnings, 1번과 8번)에 명시된 사항을 참고하여 디바이스의 상태를 확인한다.
- 3) 희석하지 않은 검체를 키트의 1번 웰(Well)에 500 μ l 분주한다. 키트의 로트가 변경될 시에는 Calibration을 위한 디바이스를 준비한다.
- 4) 디바이스를 CHORUS 기기에 투입한다. (필요 시)Calibration을 진행한다. CHORUS 사용설명서에 따라 검사를 진행한다.

6.4 결과 판정

Chorus 기기는 내부에 저장된 표준곡선(lot-dependent)에 따라 계산된 AU/ml로 결과를 표현한다.

시험 결과는 다음에 따라 해석될 수 있다.

- 음성(NEGATIVE) : 결과가 $< 12.0 \text{ AU/ml}$ 일 때
 판정보류(DOUBTFUL) : 결과가 $12.0 \sim 18.0 \text{ AU/ml}$ 일 때
 양성(POSITIVE) : 결과가 $> 18.0 \text{ AU/ml}$ 일 때

체외진단의료기기

결과가 판정보류일 경우 재검한다. 다시 판정보류로 나올 경우, 새로운 검체를 채취한다.

용기 등의 기재사항 참조.

※ 결과판정상의 주의

본 검사의 결과는 임상적 평가나 다른 진단 절차에 따른 가능한 모든 정보와 함께 해석되어야 한다.

6.5 정도관리

검사 결과의 유효성 확인을 위해 양성 컨트롤을 이용한다. 실험은 사용 설명서에 따라 진행한다. 양성 컨트롤 값이 허용기준 범위를 벗어날 때에는 Calibration을 실시해야 한다. 이전 결과 값이 자동적으로 조정된다.

7. 사용 시 주의사항

- 1) 체외진단용으로만 사용한다.
- 2) 입으로 피켓하지 않는다. 검사물을 다룰 때에는 일회용장갑과 보호안경을 착용한다. CHORUS 자동분석기에 디바이스를 장착할 때에는 손을 깨끗이 씻는다.
- 3) 피부나 눈에 위의 시약이 닿았을 경우 물로 충분히 씻어낸다.
- 4) 중화된 산과 액체 폐기물은 오염제거를 위해 충분한 양의 차아염소산 나트륨 용액에 담그고 최종농도가 1.0%가 되도록 한다. 효과적인 오염제거를 위해서는 1%의 차아염소산 나트륨 용액에 30분 침전시킨다.
- 5) 감염의 잠재적 가능성이 있는 물질을 얼렸을 경우, 재빨리 화장지나 일회용 종이 수건으로 닦아낸다. 실험을 재개하기에 앞서 1.0% 농도의 차아염소산 나트륨으로 닦아낸다. 오염제거에 사용한 장갑 등 모든 물체는 생물 위해 가능성이 있는 폐기물과 똑같이 다룬다. 차아염소산 나트륨을 함유한 물질을 고압 멸균하지 않는다.
- 6) 기질액(4번 Well)이 무색이 아닐 경우, 해당 디바이스는 폐기한다.
- 7) 웰(Well)에 검체를 넣을 때 완전히 바닥으로 분주되었는지 확인한다.
- 8) 디바이스의 시약을 확인하고 깨진 디바이스는 없는지 확인한다. 시약 유출이 있는 디바이스는 사용하지 않는다.
- 9) 본 제품은 의료용면역형광분석장치(K01050) CHORUS TRIO (서울 체외 수신 09-442 호)에 장착하여 사용한다. CHORUS TRIO 이외의 장비에서는 사용하지 않도록 한다.
- 10) CHORUS 자동분석기가 올바르게 설치되어 있는지 확인한다. (CHORUS 사용자 매뉴얼 참고).
- 11) 기기의 정확한 인식을 위해 핸들 부위의 바코드는 변경하지 않는다.
- 12) 결함이 있는 바코드는 기기에 수동으로 입력할 수 있다.
- 13) 디바이스를 저장할 때 또는 사용할 때에, 강한 빛이나 차아염소산염(Hypochlorite) 기체에 노출시키지 않는다.
- 14) 심하게 용혈 되었거나 미생물에 의해 감염된 검체는 오류의 원인이 될 수 있다.
- 15) 키트를 CHORUS 기기에 넣기 전에 반응 웰(reaction well, #6)에 이물질은 없는지 확인한다..
- 16) 유효기간이 지난 디바이스는 사용하지 않는다.
- 17) 기기에 Washing Buffer Autoimmunity(REF 86004)가 연결되었는지 확인한다.
- 18) 키트 내 구성품 중에는 사람의 혈액에서 유래된 성분이 포함되어 있다. 모든 사람 유래 물질들은 잠재적인 감염원으로 인지하여 취급해야 한다.

8. 저장방법 및 사용기한