

제출문

신양화학 귀하

이 보고서를

「OC-PLEDIA 분변잠혈검출법의 성능평가」

과제의 최종결과보고서로 제출합니다.

2016년 6월 22일

주관연구기관명: 서울아산병원 진단검사의학과

연구책임자: 김미나 (서울아산병원)

<목 차>

I. 연구 결과 요약문

요약 ······ 3
Summary ······ 5

II. 서론 ······ 7

III. 재료 및 방법

1. 시약 및 측정방법 ······ 9
2. 정밀도 평가 ······ 9
3. 직선성 평가 ······ 10
4. 검체 간 오염률 평가 ······ 11
5. PLEDIA와 NS-Prime의 상관성 비교 ······ 11
6. 통계분석 ······ 12

IV. 결과

1. 정밀도 ······ 13
2. 직선성 ······ 13
3. 검체 간 오염률 ······ 13
4. PLEDIA와 NS-Prime의 상관성 ······ 14

V. 고찰 ······ 15

VI. 참고문헌 ······ 19

요약

배경: 최근 정량 면역화학검사의 도입으로 분변잠혈검사의 성능은 매우 향상되었다. 본 연구는 면역화학 분변잠혈검사의 최신 기기인 OC-Sensor PLEDIA (Eiken Chemical Co., Tokyo, Japan)와 NS-Prime (Alfresa Pharma Co., Osaka, Japan)의 분석적 성능을 비교평가하고자 하였다.

방법: 정밀도와 검체 간 교차오염률 평가는 각 제조사에서 제공하는 정도관리 물질과 보정물질의 고농도와 저농도물질을 사용하였고, 직선성 평가는 사람적혈구용혈 헤모글로빈을 0 ~ 1,000 ng/mL 5단계 농도로 준비하여 사용하였다. 상관성 평가를 위해 하루에 50개가 넘지 않는 범위에서 DIANA (Eiken Chemical Co.)의 측정값이 100 ng/mL 이상인 양성 검체를 최대한 많이 수집하는 것을 원칙으로, 일련의 임상검체로 정성적, 정량적 비교를 하였다. EP evaluator Release 8 (David G. Rhoads Assoc., Kennett square, PA, USA)을 이용하여 검사수행능을 평가하였고, 통계 소프트웨어는 SPSS version 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하였다.

결과: 두 검사방법의 반복성, 검사 간, 검사일 간, 중간 변이계수는 모두 5.0% 미만이었으며 검체 간 교차오염률은 0.01% 미만이었다. 직선성 평가의 회귀직선식의 기울기는 PLEDIA에서 0.857, NS-Prime에서 0.594였고 r^2 값은 0.99 이상이였다. 499개의 임상검체 중 양성 검체는 DIANA에서 127개 (25.5%), PLEDIA에서 130개 (26.1%), NS-Prime에서 129개 (25.9%)였고, PLEDIA와 NS-Prime 일치율은 98.4%였다. 정량값 회귀분석에서 PLEDIA는 NS-Prime에 비례하는 직선성을 보였고, $y = 1.0372x + 17.744$ ($r^2 = 0.9064$)으로 NS-Prime보다 높게 편향되었다.

결론: PLEDIA와 NS-Prime은 우수한 분석적 수행능을 보였다. 두 검사방법의 범

주 일치도는 매우 우수하였지만 정량값에서는 PLEDIA보다 NS-Prime가 낮게 측정되었다.

Summary

Background: The performance of fecal occult blood test (FOBT) has recently been improved by introduction of quantitative immunochemical assay. We evaluated two latest systems for immunochemical FOBT; OC- Sensor PLEDIA (Eiken Chemical Co., Tokyo, Japan) and NS-Prime (Alfresa Pharma Co., Osaka, Japan).

Methods: The precision and carry-over rates were evaluated using the quality control materials of two levels and high and low concentration samples prepared from calibrators provided by own manufacturers, respectively. Linearity was measured using five equally-spaced concentrations of human hemoglobin prepared from erythrocyte lysates from 0 to 1,000 ng/mL. Correlation of two systems was analyzed by approximately 50 stool specimens a day based on the results of the current analyzer, OC-Sensor DIANA (Eiken Chemical Co., Tokyo, Japan) to enrich positive samples during 10 consecutive working days.

Results: The coefficient of variations (CV) of repeatability, between-run, between day, intermediate of two levels were <5.0% and carry-over rates were <0.01% in both systems. Linearity slopes were 0.857 for PLEDIA and 0.594 for NS-Prime, respectively, with $r^2 > 0.99$ in both. Total of 499 stool specimens were analyzed and 127 (25.5%), 130 (26.1%), and 129 (25.9%) were positive by DIANA, PLEDIA, and NS-Prime. The agreement between PLEDIA and NS-Prime was 98.4% with only three discrepant results. Quantification of PLEDIA was linear to NS-Prime as $y = 1.0372x + 17.744$ ($r^2 = 0.9064$).

Conclusion: The analytical performance of PLEDIA and NS-Prime warrants the use of diagnostic tests. These two systems show excellent categorical agreement, however quantification of NS-Prime is lower than PLEDIA.

Key words: Fecal occult blood test, Immunochemical, Quantification, Precision, Linearity,

Correlation

서론

식생활 문화의 서구화로 한국인에서 대장암이 현저하게 증가하는 추세이며, 2014년 대장암은 전체 암 발생의 3위를 차지하였다. 국내에서는 2004년부터 국가 암 검진사업 목표에 대장암이 포함되었고 2015년에 45~80세 무증상 성인을 대상으로 1년이나 2년마다 분변잠혈검사를 기본적인 대장암 선별검사로 시행하도록 개정되었다. 유럽에서 대단위 무작위배정 비교임상시험을 했을 때 분변잠혈검사는 대장암 사망률을 15-33% 감소시키며 비용효과적인 것으로 보고되어 있다[1]. 하지만 분변잠혈검사의 대장암에 대한 민감도와 특이도는 검사법에 따라 큰 차이를 보인다[2-4]. 2014년에 국내 임상검사실에서 분변잠혈검사의 질관리 효과 분석 연구로 수행한 보고에서 우수검사실 인증 기관에서 분변잠혈검사의 양성률이 3.01%인 반면, 미인증 기관에서는 양성률이 8.64%로 현저하게 높았고 대장암 선별에 위양성률이 2.90%와 8.51%로 큰 차이를 보였다[5]. 같은 해 실시된 국내 신빙도 조사에서 분변잠혈검사 시약은 제품에 따라 양성률과 정량값에 큰 차이가 있었다[6]. 이로서 분변잠혈검사 질관리의 중요성을 알 수 있다.

분변잠혈검사는 생화학적 방법인 guaiac법과 면역화학법으로 구분한다. Guaiac법은 대변 내의 peroxidase 활성도를 측정하는 방법으로 식이에 따라 섭취하는 음식의 peroxidase 활성도에 의해 위양성을 유발할 수 있는 단점이 있다[7]. 이에 비해 면역화학법은 사람 헤모글로빈에 특이한 항체를 사용하기 때문에 대장 출혈에 특이적이고 식이제한으로부터 자유롭다. 또한 guaiac법에 비해서 높은 민감도와 특이도를 보이며[8], 정량이 가능해서 임계치를 설정하여 양성 판정을 객관적으로 할 수 있다. 국내에서는 최근 임상검사실에서 10여종의 자동화된 정량 분변잠혈검사가 도입되어 사용 중이나[6], 성능평가는 부족하며 OC-Sensor 시리즈(Eiken

Chemical Co., Tokyo, Japan) 중 NEO (Eiken Chemical Co.)에 대한 성능평가 논문만 있다[9].

OC-Sensor 시리즈는 폴리에틸렌 라텍스 입자를 사용하므로 660 nm에서 비탁법(turbidimetry)으로 측정하는데 비해[10], NS 시리즈(Alfresa Pharma Co., Osaka, Japan)는 금콜로이드 입자를 사용하여 540-700 nm에서 비색법(colorimetry)으로 측정하는 점이 다르다[11]. 두 시리즈의 최신 자동화 검사인 OC-Sensor PLEDIA (Eiken Chemical Co.)와 NS-Prime (Alfresa Pharma Co., Osaka, Japan)는 한번에 200개와 100개의 검체를 장착해 시간당 320, 300 검체를 처리할 수 있어서 대용량 검사실에 적합하다. 이 연구는 두 장비를 이용해서 검사했을 때 분석적 성능을 비교평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시약 및 측정방법

OC-Sensor PLEDIA는 OC-Sensor DIANA latex 시약(Eiken Chemical Co.)을 사용하고, NS-Prime은 i-FOBT Hemoglobin NS-Plus 시약(Alfresa Pharma Co.)을 사용하였다. 두 검사법 모두 검체는 시약 제조사가 공급하는 채변봉의 흡이 있는 부분으로 분변 검체의 표면을 5-6군데 찍어서 채취하여 검사하였다. 이는 분변 약 10 mg에 해당한다. 채변봉을 전용용기에 넣고 용기 내의 완충액 2 mL에 충분히 현탁되도록 상하로 강하게 흔들어 준다. 용기를 검체대에 장착하면 기기가 자동화된 일련의 과정을 진행하였다. 두 검사에서 양성으로 판정하는 기준은 모두 100 ng/mL으로 이는 1 g의 분변 중 20 µg의 헤모글로빈 양에 해당하는 양이다. PLEDIA는 1,000 ng/mL 미만이면 정량보고를 하고 1,000 ng/mL 이상은 over-range로 보고하는 반면, NS-Prime은 1,200 ng/mL을 상한으로 하고 그 이상일 때 자동회석하며 정량을 하였다. 이 연구에서 정량값을 비교하기 위해 두 검사 모두 1,000 ng/mL 이상은 $\geq 1,000$ ng/mL로 표시하였다.

2. 정밀도 평가

두 검사의 고농도(level 1)와 저농도(level 2)의 정도관리 물질로 각각의 정밀도를 평가하였다. PLEDIA는 OC-Control LV1 (Eiken Chemical Co.)과 LV2 (Eiken Chemical Co.)로, NS-Prime은 Nescauto Hemo Plus Control H (Alfresa Pharma Co.)와 L (Alfresa Pharma Co.)을 각각 고농도와 저농도 물질로 사용하였다. PLEDIA 제조회사에서 제공하는 고농도 정도관리 물질의 정도관리 허용범위는 382-516 ng/mL, 저농도 정도관리 물질을 정도관리 허용범위는 122-175 ng/mL였으며, NS-Prime 제조회사에서

제공하는 고농도 정도관리 물질의 정도관리 허용범위는 201-321 ng/mL, 저농도 정도관리 물질을 정도관리 허용범위는 67-127 ng/mL였다. OC-Sensor 정도관리 물질은 액상으로 라벨에 기재되어 있는 날짜까지 유효한 반면 Nescauto Hemo Plus Control은 동결건조되어 매 검사일 완충액과 혼합하여 사용하도록 되어있다. 정밀도 평가를 위해서 Nescauto Hemo Plus Control을 20일 동안 사용할 수 있도록 정도관리 물질을 한번 제조한 후 40개씩 분주하여 -70 °C에 냉동하여 사용하였다.

반복성 (repeatability), 검사 간 (between-run), 검사일 간 (between-day), 중간 (intermediate) 정밀도를 평가하였고 각각의 물질을 20일간 하루 중 오전과 오후에 한번 씩 두 번을 측정하여 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP05-A2와 EP05-A3에 제시된 방법에 따라 정밀도를 평가하였다[12, 13]. 두 검사는 보정의 유효성이 한 달로 동일해서 정밀도 평가 기간 동안 추가 보정 없이 진행되었다.

3. 직선성 평가

EDTA에 채혈된 혈액을 이용해 사람 헤모글로빈 성분의 직선성 평가물질을 제조하였다. 전혈을 원심분리하여 혈장을 제거하고 증류수로 3번의 세척과정 후에 원래와 동일 양 만큼을 증류수로 보충하였다. 하룻밤 동안 얼리고 녹이는 과정을 통해 적혈구를 용혈시킨 후 상청액을 얻어서 자동혈구분석기 XE 2100 (Sysmex, Chuo-ku, Kobe, Japan)으로 헤모글로빈 농도를 측정하였다. PLEDIA의 정량한계인 1,000 ng/mL과 NS-Prime의 정량한계인 1,200 ng/mL을 고려하여 1,000 ng/mL을 최고 농도로 직선성을 평가하였다. 이를 각 검사의 제조사에서 제공하는 완충액으로 희석하여 예측치 1,000 ng/mL인 시료를 만들고 CLSI EP06-A2에 따라 시료와 완충

액의 비율을 각각 4:0, 3:1, 2:2, 1:3, 0:4로 5단계 농도를 준비하여 각각에 대하여 4회씩 반복 측정하여 구한 평균치로부터 회귀직선식을 구하였다[14].

4. 검체 간 교차오염률 평가

두 검사의 보정물질을 2배 그리고 10배 희석하여 각각 고농도와 저농도 물질을 제조하였다. PLEDIA의 보정물질 농도는 1,000 ng/mL, NS-Prime의 보정물질 농도는 1,500 ng/mL이다. CLSI EP10-A3에 따라 고농도 물질(H1, H2, H3, H4)을 4번 연속 측정한 후 저농도 물질(L1, L2, L3, L4)을 4번 연속 측정하였고, $\{L1-(L3+L4)/2 \times 100\} / \{(H3+H2)/2 - (L3+L4)/2\}$ 으로 교차오염률을 구하였다[15].

5. PLEDIA와 NS-Prime의 상관성 비교

499검체를 수집하여 각각의 검체를 DIANA, PLEDIA, NS-Prime 세 검사로 각각 측정하여 분석한 후 그 결과에 대해 CLSI EP09-A3에 따라 상관성 및 일치도 평가를 실시하였다[16]. 하루에 50개가 넘지 않는 범위에서 DIANA의 측정값이 100 ng/mL 이상인 양성 검체를 최대한 많이 수집하는 것을 원칙으로 하였다. 정량값의 상관성 분석을 위해 PLEDIA와 NS-Prime에서 1,000 ng/mL 이상일 때는 1,000 ng/mL으로 표시하고 회귀방정식과 상관계수(coefficient of correlation, r)를 산출하였다. 상관계수(r)가 0.975 이상 혹은 r^2 이 0.95 이상이면 상관성이 우수하다고 판단하였다[16].

또한 100 ng/mL를 기준으로 한 PLEDIA와 NS-Prime의 양성, 음성 결과를 2 x 2 표를 그려 비교한 후 카이제곱검정을 실시하였다. P값이 0.05 이하일 때 두 검사의 연관성이 있다고 판단하고 또한 Kappa값을 구해 일치도를 판단하였다.

6. 통계분석

EP evaluator Release 8 (David G. Rhoads Assoc., Kennett square, PA, USA)을 이용하여 검사수행능을 평가하였고, 통계소프트웨어는 SPSS version 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하였다.

결과

1. 정밀도

반복성 (repeatability), 검사 간 (between-run), 검사일 간 (between-day), 중간 (intermediate) 변이계수는 PLEDIA 460.2 ± 7.7 ng/mL에서 1.4%, 0.4%, 0.9%, 1.7% 이었고 155.8 ± 4.3 ng/mL에서 2.1%, 1.7%, 0.0%, 2.7% 이었다. NS-Prime은 247.9 ± 8.6 ng/mL에서 2.1%, 1.5%, 2.3%, 3.5% 이었고 98.3 ± 3.4 ng/mL에서 2.6%, 1.3%, 1.9%, 3.5% 이었다(Table 1).

2. 직선성

PLEDIA의 직선성은 $y = 0.8569x - 3.20$, $r^2 = 0.9995$, NS-Prime의 직선성은 $y = 0.5936x + 7.85$, $r^2 = 0.9948$ 로 두 방법 모두 직선성은 우수하였으나 자동혈구분석기에서 측정된 헤모글로빈 농도 예측치보다 낮은 헤모글로빈 농도를 보였다(Fig. 1).

3. 검체 간 교차오염률

PLEDIA 고농도 물질을 4번 반복 측정한 값은 626 ng/mL, 603 ng/mL, 642 ng/mL, 605 ng/mL으로 평균 619.0 ± 16.0 ng/mL이었고, PLEDIA 저농도 물질을 4번 반복 측정한 값은 121 ng/mL, 118 ng/mL, 118 ng/mL, 117 ng/mL으로 평균 118.5 ± 1.5 ng/mL으로 검체 간 교차오염률은 0.00693%로 측정되었다. NS-Prime 고농도 물질을 4번 반복 측정한 값은 564 ng/mL, 591 ng/mL, 548 ng/mL, 534 ng/mL으로 평균 559.3 ± 21.2 ng/mL이었고, NS-Prime 저농도 물질을 4번 반복 측정한 값은 126 ng/mL, 125 ng/mL, 124 ng/mL, 124 ng/mL으로 평균 124.8 ± 0.8 ng/mL으로 검체 간 교차오염률은

0.00449%로 측정되어 두 검사 모두에서 0.01% 미만으로 평가되었다.

4. PLEDIA와 NS-Prime의 상관성

499개의 임상 검체 중 100 ng/mL를 기준으로 양성인 검체수는 DIANA, PLEDIA, NS-Prime 각각에서 127 (25.5%), 130 (26.1%), and 129 (25.9%)였고, PLEDIA와 NS-Prime 두 검사 모두에서 양성이 128검체, 음성이 368검체로 일치율은 98.4%였다 ($P < 0.001$)(Table 2). 판독결과가 불일치한 3검체 중 2개는 PLEDIA에서 양성이었고 1개는 NS-Prime에서 양성이었다(Table 3).

499검체 중 70검체가 PLEDIA에서 1,000 ng/mL 이상값으로 측정되었고 그 중 54검체만이 NS-Prime에서 1,000 ng/mL 이상값으로 측정되었다. PLEDIA에서만 1,000 ng/mL이상인 16검체의 NS-Prime으로 측정된 농도는 570.2 ± 175.4 ng/mL였다. NS-Prime에서는 56검체가 1,000 ng/mL 이상값으로 측정되었고, 100,000 ng/mL이상이었던 1검체를 제외하고 평균값은 $6,313.1 \pm 10,855.8$ ng/mL였다. 그 중 PLEDIA에서 54검체가 1,000 ng/mL 이상값이고, 나머지 2검체의 농도는 335 ng/mL와 664 ng/mL였는데 이 검체들의 NS-Prime 값은 1,447 ng/mL과 1,657 ng/mL이었다. 499개의 검체에 대한 정량값 회귀분석에서 PLEDIA는 NS-Prime에 비례하는 직선성을 보였고, $y = 1.0372x + 17.744$ ($r^2 = 0.9064$)으로 NS-Prime보다 높게 편향되었다 (Fig. 2).

고찰

본 연구에의 정밀도 평가에서 반복성 (repeatability), 검사 간 (between-run), 검사일 간 (between-day), 중간 (intermediate) 변이계수를 비교했을 때 고농도와 저농도 물질에서 모두 5.0% 미만으로 양호한 결과를 보였다. PLEDIA는 고농도 물질의 총 변이계수가 1.7%로 저농도 물질의 총 변이계수 2.7%에 대해 정밀도가 높았는데, NS-Prime은 총 변이계수가 고농도와 저농도 물질 모두에서 3.5%로 동일하였고 PLEDIA보다 높았다. NS-Prime의 고농도와 저농도 물질 모두 PLEDIA보다 농도가 낮아서 PLEDIA보다 정밀도가 낮게 측정되는 것은 당연하다. 또한 정밀도 평가를 위해 NS-Prime의 정도관리 물질을 한번에 제조한 후 40개를 분주하여 냉동하여 사용하였는데 이는 제조사가 권장하는 방법이 아니기 때문에 정밀도 평가에 영향을 미쳤을 수 있다. 하지만 두 검사의 고농도와 저농도 변이계수는 모두 5.0%이하로 정량검사로서 우수한 수준이었고, OC-Sensor 시리즈 중 NEO와 DIANA를 평가한 논문에서 각각의 반복성이 고농도 물질에서 3.5%, 2.0%, 저농도 물질에서 7.8%, 3.1%이었던 것에 비교하면 정밀도가 높아진 것을 알 수 있다[4, 9]. 또한 HM-JACK (Kyowa Medex Co., Tokyo, Japan)과 OC I (Eiken Chemical Co.)에 대한 이전의 평가 논문에서 각각 사용한 농도범위가 다르기는 하지만, HM-JACK이 양성 검체의 반복성이 고농도 물질에서 2.6%, 저농도 물질에서 4.6%이고[17], OC I이 여러 농도에서 2.0 ~ 4.3%의 반복성을 보이는 것과 비교해도 정밀도가 높아진 것을 알 수 있다[18].

직선성 평가에서 PLEDIA와 NS-Prime은 모든 농도범위에서 각각 r^2 값이 0.9995, 0.9948로 매우 우수한 직선성을 보였다. 이는 이전의 OC-Sensor 시리즈인 NEO를 평가한 논문과 유사하다[9]. 하지만 당시 연구는 회귀직선식의 기울기가 0.9901로

예측치와 측정치가 일치한[9] 반면, 이번 연구에서는 PLEDIA의 기울기가 0.8569이고 NS-Prime은 0.5936으로 낮게 편향되고, NS-Prime은 PLEDIA보다 심한 편향성을 보였다. 이는 국내 신빙도 조사에서 OC-Sensor 시리즈에 비해 NS-Prime 시리즈인 NS-1000와 NS-C의 정량값이 통계적으로 유의하게 낮고, 위음성이 많았던 것[6]과 일치한다. 이전 연구에서 NEO를 평가할 때는 제조사에서 제공하는 OC-Standard (Eiken Chemical Co.)를 완충액으로 희석해서 직선성 평가를 했던 것에 비해 이번 연구에서는 사람적혈구용혈 헤모글로빈을 사용하였기 때문에 이런 편향성을 검출할 수 있었다. 두 제조사의 분변잠혈검사 모두 정량값이 낮게 편향되어 제조사가 제공하는 정도관리 물질로 직선성 평가를 하는 것은 참값으로부터 편향성을 검출하는데는 부적합함을 알 수 있다. 하지만 이 연구와 같이 용혈 헤모글로빈을 사용해서 정량 면역화학 분변잠혈검사 세가지 HemSp-MagStream HT (Fujirebio Inc. Tokyo, Japan), DIANA, FOB Gold-SENTiFOB (Sentinel Diagnostics SpA)의 직선성 평가를 했던 이전 연구에서 FOB Gold-SENTiFOB는 기울기가 1.30으로 높게 편향된 직선성을 보여서[4], 검사법에 따라 참값에 비해 높거나 낮은 편향이 발생할 수 있음을 알 수 있다. 하지만 그 연구에서 DIANA는 기울기 1.06으로 측정치가 예측치에 가장 근접한 검사였던 것에 비해 동일 시약을 사용하는 PLEDIA가 낮은 편향을 보이고 있어서 OC-Sensor DIANA 시약 자체보다 새로운 자동화 기기에 의한 계통오류의 가능성을 시사한다. PLEDIA와 NS-Prime의 임계치가 100 ng/mL로 동일함에도 양성과 음성으로 판정하는 범주 일치도(categorical agreement)는 매우 우수해서 참값에 낮게 편향되어 발생하는 오차가 정성적인 판정에 미치는 영향은 적은 것으로 판단하였다. 하지만 2014년 국내 검사실의 신빙도 조사에서 포함된 분변잠혈검사들의 정량값은 양성 판정에 영향을 줄 정도로 큰 편차를

보인 검사법이 있었고, 이 중 NS-Prime의 이전 버전인 NS-1000 (Alfresa Pharma Co.)은 양성 검사물질의 평균치가 매우 낮아서 위음성 범주에 해당하는 값이 많았던 것에 비교하면[6], NS-Prime의 정량 정확도는 크게 개선되었다고 할 수 있다.

임상검체에 대한 PLEDIA와 NS-Prime의 정량값은 두 검사 간 상관성이 $r^2=0.9064$ 로 높은 상관성을 보였다. 회귀 분석에서 NS-Prime은 PLEDIA보다 17.744 ng/mL만큼 낮은 쪽으로 기울었는데 이는 같은 검체에서 NS-Prime의 농도가 PLEDIA보다 더 낮게 측정되었음을 의미하고, 두 검사의 직선성 평가와 일치하는 결과였다. 하지만 두 검사 간 양성과 음성 판독의 불일치는 3검체에 불과하였고, 이 중 2검체만 NS-Prime에서 음성으로 판독되었다. 판독이 불일치한 3검체는 동일한 제조사의 시약을 사용하는 DIANA와 PLEDIA의 정량값을 비교했을 때 NS-Prime보다 높은 유사성을 보여 대변검체 채취로 기인한 불확실성[19]만으로는 설명할 수 없었다. 세가지 정량 면역화학 분별잠혈검사를 비교한 논문에서도 세 검사간 성능에는 큰 차이를 보였는데 그 중에서 DIANA의 정밀도와 직선성이 가장 우수했다[4]. 이 결과에서 NS-Prime이 낮게 측정되는 경향이 있기 때문에 낮은 농도에서 불일치가 발생한 것으로 해석할 수 있다. 또한 DIANA와 PLEDIA의 정량값이 71 ng/mL과 101 ng/mL이었던 검체는 임계치 100 ng/mL을 기준으로 보면 판정의 불일치가 발생하기 때문에 저농도의 양성 검체는 검체 채취에서 발생하는 불확실성이 판정결과에 영향을 줄 수 있다는 것을 보여준다[9]. 대변검체는 균일하지 않기 때문에 검체 채취 방법이 검사 오류의 중요한 요인이 된다[10].

PLEDIA와 NS-Prime는 측정 최대치가 1,000 ng/mL과 1,200 ng/mL로서 그 이상값은 희석하는 과정을 요한다. PLEDIA의 경우 검체를 다시 장착해서 15배 또는 250배 범위에서 희석배수를 지정하면 기기가 희석하여 측정하는 반면, NS-Prime은

1,200 ng/mL 이상일 때 재장착이 필요없이 기기에서 자동회석해서 측정한다. 이번 연구의 상관성 분석에서 PLEDIA에서 1,000 ng/mL 이상인 고농도 검체 16개는 NS-Prime에서는 1,000 ng/mL 이하로 측정된 반면 NS-Prime에서 1,000 ng/mL 이상인 56검체 중 54검체가 PLEDIA에서 1,000 ng/mL 이상으로 측정되어 PLEDIA에 비해 NS-Prime 정량검사는 저농도로 편향된다는 것을 보여준다. 면역화학법은 고도로 높은 농도 검체에서 오히려 낮게 측정되어 음성값을 보이는 hook effect가 있을 수 있다[20]. NS-Prime에서 1,000 ng/mL 이상일 때 PLEDIA에서 낮게 측정된 것은 2검체에 불과했고, NS-Prime에서 훨씬 더 높은 농도값을 보인 검체들이 PLEDIA에서 모두 1,000 ng/mL 이상으로 측정되어 PLEDIA는 hook effect에 의한 위음성 가능성은 매우 낮다고 판단되었다.

PLEDIA와 NS-Prime은 분변잠혈검사에서 우수한 정밀도, 직선성을 보여주었고, 검체 간 교차오염률도 낮아 두 검사의 분석적 성능은 우수하였다. 다만 두 검사의 상관성분석에서 같은 검체의 농도가 PLEDIA보다 NS-Prime에서 더 낮게 측정된 점에 대해서는 추가적인 연구가 더 필요할 것으로 판단하였다.

감사

본 연구에 사용된 연구비와 시약을 제공해주신 신양화학 (서울아산병원IRB 2015-1152)과 아산제약 (서울아산병원IRB 2015-1153)에 감사 드립니다.

참고문헌

1. von Karsa L, Patnick J, Segnan N, Atkin W, Halloran S, Lansdorp-Vogelaar I, et al. European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis: overview and introduction to the full supplement publication. *Endoscopy* 2013;45:51-9.
2. Kwon JH, Choi MG, Suh JP, Chang JH, Nam KW, Park HS, et al. The significance of fecal occult blood testing to screen for colon cancer. *Korean Journal of Gastrointestinal Endoscopy* 2007;35:68-73.
3. Lim JU, Bae NY, Song WK, Cha JM, Lee JI. The Significance of Fecal Immunochemical Test to Screen for Colorectal Cancer in National Cancer Screening Program. *Intest Res* 2010;8:126-134.
4. Lamph S, Bennitt W, Brannon C, Halloran S. Evaluation report: immunochemical faecal occult blood tests. United Kingdom: National Health Service: Purchasing and Supply Agency 2009.
5. 이유경. 진단검사의 표준화와 건강보험 재정영향 분석연구. http://www.prism.go.kr/homepage/researchCommon/retrieveResearchDetailPopup.do?research_id=1351000-201500177 2014.
6. Jeon CH, Lee AJ, Kim KD. Annual Report on External Quality Assessment Scheme for Urinalysis and Faecal Occult Blood Testing in Korea (2014). *Journal of Laboratory Medicine and Quality Assurance* 2015;37:179-89.
7. Allison JE. Colon Cancer Screening Guidelines 2005: the fecal occult blood test option has become a better FIT. *Gastroenterology* 2005;129:745-8.
8. Allison JE, Tekawa IS, Ransom LJ, Adrain AL. A comparison of fecal occult-blood tests for colorectal-cancer screening. *N Engl J Med* 1996;334:155-9.

9. Kim JH, Chung HJ, Yoon NS, Pyo YJ, Bae HG, Kim MN. Evaluation of the OC-SENSOR neo system for testing fecal occult blood. *Korean J Lab Med* 2007;27:210-5.
10. Horiuchi Y, Masubuchi J, Oikawa S, Matsuda R, Hishinuma A, Ieiri T. Evaluation of fully automated fecal occult blood analyzer OC-SENSOR neo and OC-SENSOR II. *Jap Assoc Clin Lab Auto* 2003;28:40-6.
11. Okuyama Y, Doi Y, Matsuyama N, Uchino M, Yamamoto T. A novel sol particle immunoassay for fecal calprotectin in inflammatory bowel disease patients. *Clinica Chimica Acta* 2016;456:1-6.
12. Tholen DW, Kallner A, Kennedy JW, Krouwer JS, Meier K. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline—second edition. CLSI document EP5-A2: Clinical and Laboratory Standards Institute 2004.
13. McEnroe R, Durham A, Goldford M, Kondratovich M, Lababidi S, Magari R, et al. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures: approved guideline. In: CLSI document EP5-A3. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
14. Daniel W, Martin K, Astles J. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach; approved guideline. CLSI document EP6-A2: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003.
15. Krouwer JS, Cembrowski GS, Tholen DW. Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory measurement procedures; approved guideline: CLSI document EP10-A3: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006.
16. Budd J, Durham A, Gwise T, Iriarte B, Kallner A, Linnet K, et al. Measurem

ent procedure comparison and bias estimation using subject samples, approved guideline. CLSI document EP09-A3: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013.

17. Hong SB, Kim HS, Park HS, Lee DH. Evaluation of the HM-JACK Automatic Analyzer for Fecal Occult Blood Test. *Journal of Laboratory Medicine and Quality Assurance* 2002;24:221-4.
18. Kim DC, Cho SS, Song J, Kim EC, Kim JQ. Evaluation of the OC-SENSOR (Automatic Measuring Apparatus) for Immunological Fecal Occult Blood Test. *Journal of Clinical Pathology and Quality Control* 1998;20:281-7.
19. González AG, Herrador MÁ. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2007;26:227-38.
20. Schiettecatte J, Anckaert E, Smits J. Interferences in immunoassays. *Adv Immunoass Technol* 2012.

Legend

Table 1. Analytical imprecision of OC-Sensor PLEDIA and NS-Prime

Analyzer	Level	Mean (ng/mL)	SD (ng/mL)	CV (%)			
				Repeatability	Between-run	Between-day	Intermediate
OC-Sensor PLEDIA	Level 1	460.2	7.7	1.4	0.4	0.9	1.7
	Level 2	155.8	4.3	2.1	1.7	0.0	2.7
NS-Prime	Level 1	247.9	8.6	2.1	1.5	2.3	3.5
	Level 2	98.3	3.4	2.6	1.3	1.9	3.5

Table 2. Correlation of OC-Sensor PLEDIA and NS-Prime using 499 clinical specimens

		NS-Prime		
		Positive	Negative	Total
PLEDIA	Positive	128	2	130
	Negative	1	368	369
	Total	129	370	499

Table 3. Discrepanct results between OC-Sensor DIANA, OC-Sensor PLEDIA, and NS-Prime in 499 clinical specimens

Sample No.	Hb concentrations (ng/mL) measured by		
	OC-Sensor DIANA	OC-Sensor PLEDIA	NS-Pime
36	71 (negative)	101 (positive)	50 (negative)
63	215 (positive)	227 (positive)	95 (negative)
183	62 (negative)	83 (negative)	143 (positive)

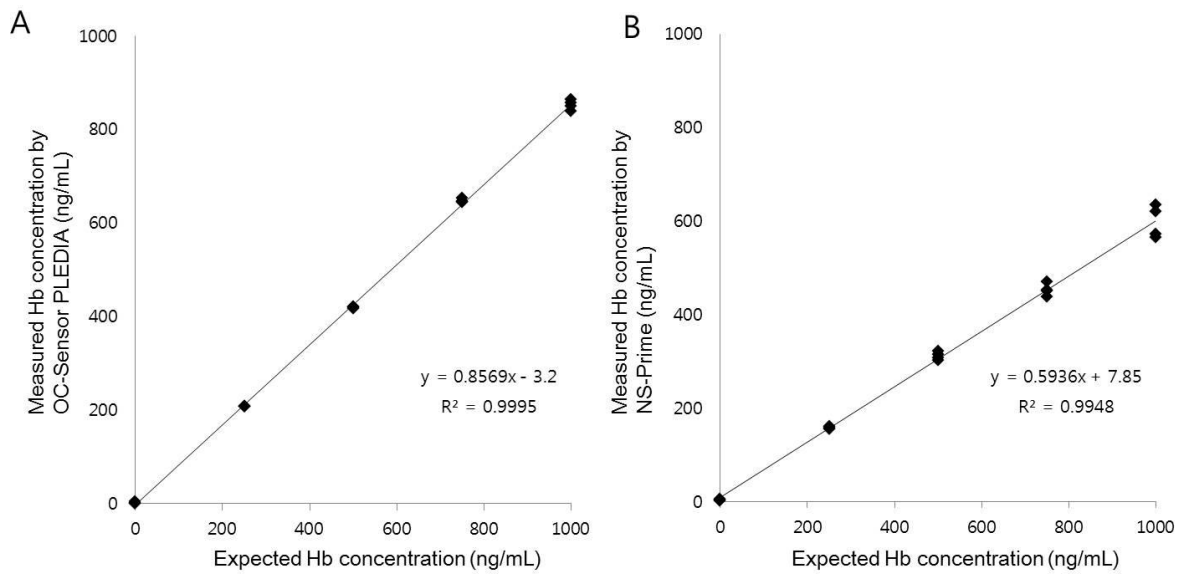


Figure 1. Linearity analysis of OC-Sensor PLEDIA (A) and NS-Prime (B) using human hemoglobin prepared from erythrocyte lysates. The trend line was determined by a linear regression of the measured Hb concentrations with target Hb concentrations.

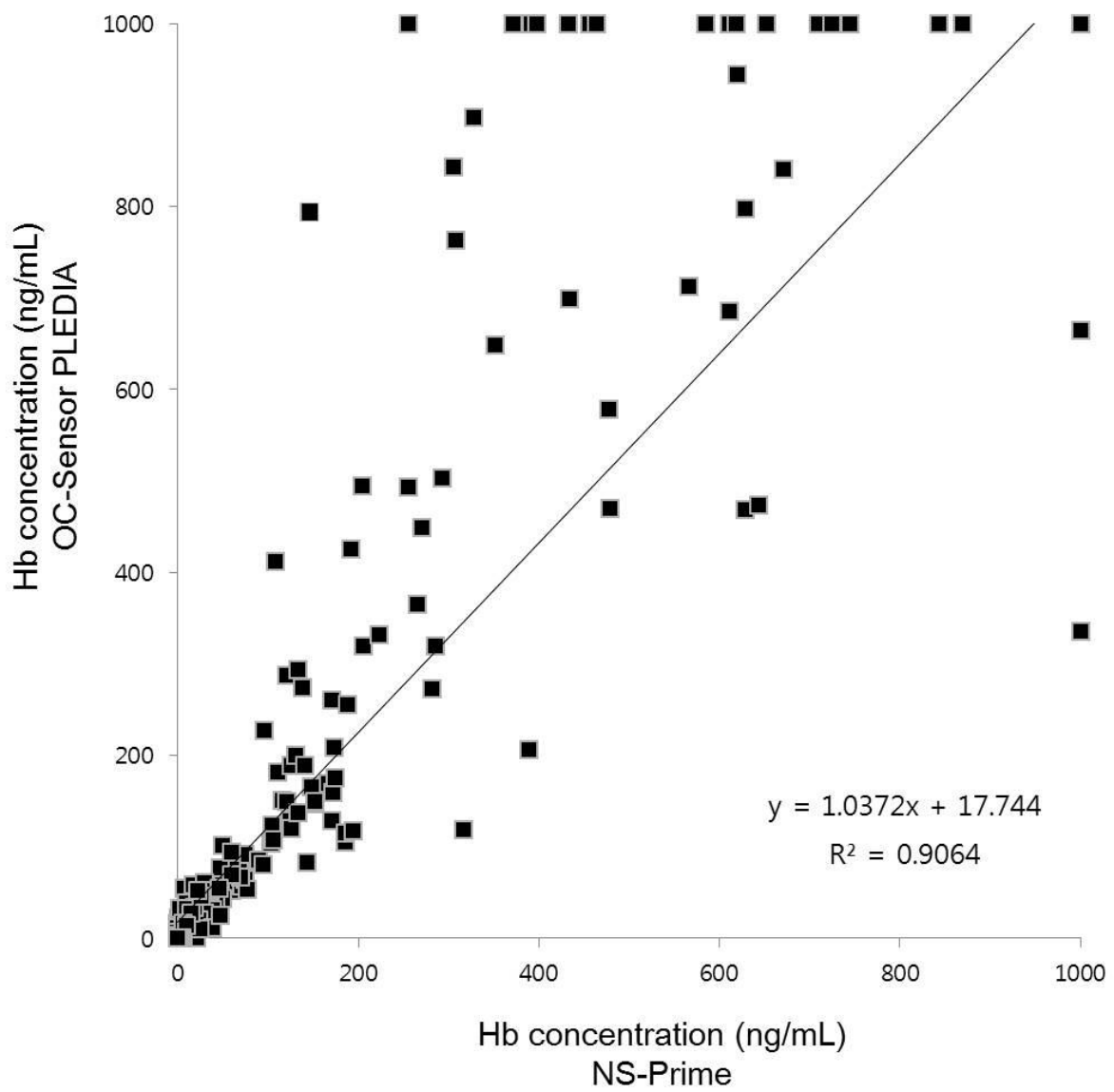


Figure 2. The correlation of Hb concentrations quantified by OC-Sensor and NS-Prime.