

정책연구용역사업 최종결과보고서

연구사업명	HPV 유전형 검사 외부정도평가 프로그램 실용화		
발주부서	에이즈.중앙바이러스과	과제담당관	강춘
주관연구 기관	기관명	소재지	대표
	단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단	(우:31116)충청남도 천안시 동남구 단대로 119	김철현
책임연구원	성명	소속 및 부서	직위
	홍성란	병리과	주임과장
총 연구기간	2015.10.01~2016.07.30	총 연구비	70,000 천원
당해연도 연구기간	2015.10.01-2016.07.30	당해연도 연구비	70,000 천원
보안 여부	보안(), 일반(✓)	결과 공개 여부	가(✓), 부()
연구참여자	총12명 [책임연구원 1명, 연구원 6명, 연구보조원 5명, 보조원 명]		
세부사업 여부	해당(), 해당없음(✓) (해당사항 ✓표기)	세부사업 수	총 개

2015 년도 정책연구용역사업의 최종결과보고서를 붙임과 같이 제출합니다.

붙임1. 최종결과보고서 제본 (25부)

2. CD 2매 (HWP, PDF파일, 결과평가의견 반영대비표)

2016년 7월 22일

책임연구원 홍성란 (인 또는 서명)

주관연구기관장 단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단

김철현 (직인)



질병관리본부장 귀하

목 차

I. 연구결과 요약문

(한글) HPV 유전형 검사 외부정도평가 프로그램 실용화

(영문) Practical usage of external quality assurance program for HPV genotyping tests

II. 정책연구용역사업 연구결과

제1장 최종 목표 -----	09
1.1. 목표 -----	09
1. 연구 목표 -----	09
2. 연구 필요성 -----	09
3. 연구 배경 -----	09
1.2. 목표달성도 및 관련분야에 대한 기여도 -----	11
1. 목표달성도 -----	11
2. 관련분야 기여도 -----	13
제2장 국내외 기술 현황 -----	14
2.1. 국내외에서 사용하는 HPV 검사 제품 -----	14
1. 국내제품 -----	14
2. 국외제품 -----	14
2.2. 국내외 HPV 검사 질 관리 -----	15
1. 국내 HPV 검사 질 관리 -----	15
2. 국외 HPV 검사 질 관리 -----	16
제3장 최종 정책연구용역사업 내용 및 방법 -----	20
3.1. 외부정도평가 참여기관 모집 -----	20
3.2. 정도평가용 패널제작 및 안정성, 균질성 평가 -----	21
1. 정도평가용 패널제작 -----	21
2. 패널의 안정성 평가 -----	33
3. 패널의 균질성 평가 -----	42
3.3. 참여기관 배포를 통한 외부 정도평가 진행 -----	43
3.4. HPV 검사현황조사를 위한 설문지의 개발 -----	43

3.5. 검사자료의 수집 및 검사결과 분석	45
1. HPV 검사결과의 분석 방법	45
2. 설문 답변의 분석	46
3.6. 정도평가 결과 검사기관으로 환류	46
별첨 1. 연구 참여 안내문	47
별첨 2. 연구 참가 신청서	48
별첨 3. HPV 유전형검사 외부정도평가 패널 안내문	49
별첨 4. 서약서	50
별첨 5. 검체인수증	51
별첨 6. 결과지	52
별첨 7. 설문지	53
별첨 8. 연구원 pool 등록 신청서	54
별첨 9. 개인정보 활용동의서	55
별첨 10. 패널의 유전자형 회신지	56
제4장 최종 정책연구용역사업 결과	57
4.1. 정도평가용 패널을 이용한 참여기관의 실험 결과 분석	57
1. 참여기관	57
2. 수집된 HPV 검사 결과의 분류	57
3. 기관별 통계분석	58
4. 참여기관의 특성별 통계분석	59
5. 사용한 검사제품별 통계분석	59
6. 정도관리 물질별 결과의 통계분석	64
4.2. 참여기관의 설문답변 분석	71
1. 설문 참여 현황 및 검사실 정보	71
2. 제품의 정보	72
3. HPV 정도관리용 평가물질의 적절성 평가	73
4. HPV 검사 외부 정도평가 실용화	73
4.3. 전문가 회의	75
4.4. 결과의 요약	78
1. 표준물질의 제작결과 요약	78
2. HPV 유전형 검사 외부정도평가 결과 요약	78
3. 설문조사 결과 및 전문가 회의 결과 요약	79

제5장 연구결과 고찰 및 결론	82
5.1. 고찰	82
5.2. 결론	85
제6장 연구성과 및 활용계획	86
6.1. 연구성과	86
6.2. 활용계획	87
제7장 정책연구용역사업 진행과정에서 수집한 해외과학기술정보	90
제8장 기타 중요변경사항	91
제9장 연구비 사용 내역	92
9.1. 연구비 사용 내역	92
9.2. 연구분담표	93
제10장 참고문헌	94
제11장 첨부서류	96

보고서 요약문

연구사업명	HPV 유전형 검사 외부정도평가 프로그램 실용화		
색인어	Human papillomavirus, HPV test, Quality assurance		
주관연구기관	Cheil General Hospital, Dankook University	책임연구원	Sung Ran Hong
연구기간	2015. 10. 01 - 2016. 07. 30		
<p>연구목적: HPV 유전형 검사의 질 향상을 위하여 질병관리본부가 개발한 유전형분석 표준 물질을 활용하여 HPV 유전형 검사 외부정도평가 프로그램을 실용화하는 것이 목적이다.</p> <p>연구방법: 1. HPV 검사 외부정도평가 참여기관 모집, 2. HPV 정도평가용 패널 제작 및 패널의 안정성, 균질성 평가, 3. 검사자료 수집 및 검사결과에 대한 정확도 분석, 4. 설문지 개발 및 설문조사 결과 분석, 5. HPV 유전형 검사 외부정도평가 프로그램의 실용화를 위한 전문가 토의 등의 과정으로 구성하였다.</p> <p>연구결과: 1. 참여기관: 총 33기관이 참여하였고, 이중 대한진단검사의학회 소속기관은 9기관 이었고, 대한병리학회 소속기관은 24기관이었다. 2. 정도관리용 패널: 국내제품의 HPV 감염 검출 최소농도를 고려하여 저농도와 고농도의 단일감염 또는 다중감염의 형태와 HPV 음성을 포함하여 총 24종류로 구성하였다. 제작된 패널을 평가하여 안정성과 균질성을 확인하였다. 3. HPV 외부정도평가: 참가기관의 정확도 평균은 85.9%(39.1~100%), 민감도 평균은 87.4%(36.4~100%), 특이도 평균은 84.9%(0~100%)이었다. 참여기관의 특성별 분석에서 정확도가 종합병원에서 비교적 높았고, 1,000건 이하 기관에서 비교적 낮았다. 검사에 사용된 제품은 DNA Chip방식(48.48%)이 가장 많았다. 제품A의 정확도 평균이 90%로 높은 반면 비교적 위양성률이 높았다. 제품 B와 C는 같은 원리 방법으로 정확도 평균이 각각 69.6%와 99.1% 였다. 제품 D의 정확도 평균은 100%였다. 고농도/저농도의 단일형 HPV 16의 정확도는 100%/93.8%였고, 저농도의 단일형 HPV 18의 정확도는 93.8%였다. 본 연구의 정확성은 전반적으로 2014년의 정확성 보다 높았다. 4. 설문조사: HPV 유전형 외부정도평가 프로그램 개발과 관련하여 외부정도평가용 표준물질에는 HR-HPV 14종 /LR-HPV 2종 전부를 포함, 패널 시료 수는 8종류, 정도관리 평가 주기는 년 1회, 정확성의 정의를 HPV 단일 또는 중복감염 중 한 유형 일치, 정도평가 통과 기준은 점수 80% 이상을 선호하였다. 5. 전문가 토의: 전문가들은 정도관리의 실용화를 위하여 다음의 의견을 제시하였다. 정도관리 운영에 있어 1) HPV 유전형검사는 HPV screening 검사와 달리 별도로 평가, 2) 병리학회와 진단검사의학회 간의 독립적인 EQA가 바람직함: 방법적으로 외부정도관리용 패널 물질을 동일하게 사용하나, 결과에 관한 평가는 해당학회가 개별적으로 평가. EQA 패널물질과 관련하여 3) 음성시료의 다양성이 필요, 4) plasmid recombinant DNA 외에 HPV 16(Caski cell), HPV 18(HeLa cell) 등의 cell line 을 포함하여 시료물질의 개선 및 핵산추출의 정도관리 평가 가능, 5) 정도관리용 패널을 위한 품질평가의 기준마련 제시. 정도관리용 표준물질과 관련하여 6) 향후, 정도</p>			

관리용 표준물질을 다른 region에서 개발. 기타로 7) 본 사업의 연구는 몇 차례 지속되어야 함, 8) HPV 검사자를 대상으로 한 교육프로그램 개발 등이었다.

결론: 본 연구는 HPV genotyping 외부정도관리 평가의 실용화를 위한 국내 첫 시도였다. 본 연구의 결과를 근거로, 정도관리 운영 체계, 정도관리용 패널물질, 정도관리용 표준물질 및 교육 등에 관한 폭 넓은 의견의 합의가 있었다. 한편, 대한병리학회, 대한진단검사의학회와 산부인과학회의 공동 참여로 인하여, 해당 학회가 HPV genotyping 정도관리에 대한 인식을 높일 수 있는 좋은 기회였다. 궁극적으로 양학회의 노력으로 HPV genotyping 외부정도평가를 실용화하기 위한 프로그램을 점진적으로 개발하여 genotyping에 관한 실질적 정도관리를 수행할 것이라 사료된다. 결론적으로 본 연구는 학회에서의 HPV 검사 정도관리에 실질적으로 많은 도움을 줄 수 있다고 사료된다.

Summary

Title of Project	Practical usage of external quality assurance program for HPV genotyping tests		
Key Words	Human papillomavirus, HPV genotyping, Quality Assurance		
Institute	Cheil General Hospital, Dankook University	Project Leader	Sung Ran Hong
Project Period	2015. 10. 01 - 2016. 07. 30		
<p>Objectives: The purpose was to make practical usage of external quality assurance (EQA) for HPV genotyping by using genotyping analysis standard materials, developed by Centers for Disease Control and Prevention, Korea, in order to enhance the quality of HPV genotyping test.</p> <p>Methods: 1) Recruiting laboratories for HPV genotyping EQA, 2) Proficiency panel (PP) for HPV genotyping EQA, 3) EQA data collection and accuracy analysis, 4) Questionnaire development and professionals survey, 5) Professional consensus conference for practical usage of HPV genotyping EQA.</p> <p>Results: 1) Participating laboratories: Total number of thirty three participated. Among them, nine belonged to the Department of Laboratory Medicine, and twenty four belonged to the Department of pathology. 2) EQA proficiency panel: The HPV PP contained 24 types of coded samples including single infection, multiple infections and HPV negatives control. Considering the minimum DNA concentration to detect HPV infection of domestic HPV genotyping products, the PP was composed of two levels of low and high DNA concentration. The stability and homogeneity of the manufactured PP were then confirmed. 3) Results of HPV genotyping EQA: The averages of accuracy, sensitivity, and specificity were 85.9% (39.1~100%), 87.4% (36.4~100%), and 84% (0~100%) respectively. The analysis of characteristics from participating laboratories showed that the accuracy was relatively high in general hospitals, and relatively low in participating laboratories with below 1,000 tests. The most method used HPV genotyping kit for EQA was HPV DNA Chip with 48.48% usage rate. While HPV Kit A showed higher accuracy with average of 90%, they showed low specificity. HPV Kit B and C which were same method products showed wide range of average accuracy of 69.6% and 99.1% respectively. HPV Kit D showed accuracy of 100%. High/low concentration single type HPV 16 showed high accuracy of 100%/93.8%. Low-concentration single type HPV 18 also showed high accuracy of 93.8%. The accuracy of HPV genotyping tests</p>			

in current study was generally higher than that of 2014 validity. **4) Professional survey:** The professional survey on the development for HPV genotyping EQA program showed that followings were preferred: EQA standard materials to include all kinds of 14 HR-HPV types and 2 LR-HPV types, HPV panel to contain 8 kinds of coded samples, annual proficiency testing, accuracy in multiple HPV infections to define only one HPV type detection, satisfactory criteria to attain an overall testing event score of 80% or more. **5) Professional consensus conference:** The professionals (doctors of pathology, laboratory medicine and gynecology) suggested the following opinions. For the operating system of HPV genotyping EQA, 1) Separated evaluation of the HPV genotyping EQA from that of the HPV screening EQA, 2) Need of independent evaluation of EQA results from both department of pathology, and laboratory medicine. For EQA PP materials, 3) Need for variable HPV negative standard materials, 4) PP including HPV 16 (Caski cell) and/or HPV 18 (HeLa cell) cell line as well as plasmid recombinant HPV DNAs, 5) Establishment of standardized quality control of the PP. For standard materials for EQA, 6) HPV standard materials must develop from other regions of HPV genes. For others, 7) Continuous studies of these kinds of experiments, 8) Development of education system for testers to enhance proficiency in HPV genotyping.

Conclusions: The current study is the first domestic study to experiment the practical usage of HPV genotyping EQA. The study result shows that there was a general consensus on the HPV genotyping EQA in the operating system, panel materials, standard materials, and others. This was a good opportunity for the representatives to raise the HPV genotyping EQA awareness, because representatives from societies of pathology, laboratory medicine, and gynecology participated. This study will effectively help the academic societies to perform the HPV genotyping EQA.

정책연구용역사업 연구결과

제1장 최종 목표

1.1. 목표

1. 연구목표

- HPV 유전형 검사의 질향상을 위하여 질병관리본부에서 개발한 HPV 유전형검사용 표준물질을 활용하여 HPV 유전형검사의 외부정도관리평가 프로그램을 실용화하는 것을 목적으로 한다.

2. 필요성

- 자궁경부암은 전세계 여성암의 8%를 차지하고, 우리나라의 경우 15~44세 여성에게 발생하는 암 중 3번째의 높은 치사율을 보이는 공중보건학적으로 중요한 의미를 가지는 질환이다.¹
- 전 세계적으로 자궁경부암은 530,000명이 새롭게 발생되고, 99% 이상이 HPV의 감염과 연관되어있음. HPV 감염의 대부분은 별다른 치료 없이 치유되지만, 약 10% 정도에서는 지속감염의 형태로 존재하고, 이는 수년 후 상피내종양이나 자궁경부암으로 이행될 수 있는 강력한 예측 인자로 받아들여지고 있다.^{2,3}
- 자궁경부암 예방을 위해 미국, 영국 등을 포함한 선진국에서는 청소년을 대상으로 하여 국가필수예방접종 중 하나로 HPV 백신접종을 진행하고 있으며, 미국 FDA에서는 HPV DNA 검사를 자궁경부암 선별검사의 하나로 승인하는 등 자궁경부암의 조기 예방 및 진단을 위한 노력을 기울이고 있다.
- 이와 더불어, 국내 HPV 유전형검사 건수의 증가로 민간 검사기관에 대한 국가차원의 HPV 감염 및 유전형에 대한 검사결과의 정확도에 대한 품질관리가 절실히 요구되어지고 있다.
- 선행연구의 일환으로 2014년도에 HPV 유전형검사 외부정도관리평가 프로그램 개발과제가 수행되었으며, 개발된 프로그램 활용과 추가 사업수행을 통해 HPV 검사기관에 대한 외부정도관리평가 프로그램의 실용화 방안을 마련하고자 한다.

3. 연구배경

- 전 세계적으로 여성 사망의 주요 원인 질환의 하나인 자궁경부암의 주요 발병인자는 Human Papillomaviruses (HPVs)로, 현재까지 118종의 HPVs가 알려져 있다. 이 중 약 40여종이 사람에게 감염을 일으키며, 암을 유발하는 고위험군과 생식기 사마귀등을 일으키는 저위험군으로 분류하며, 고위험 유전형 HPV의 지속감염이 자궁경부암의 가장 큰 위험요인으로 알려져 있다.^{4,5}
- HPV 감염 빈도는 지역 및 문화에 따라 다양하고, 연구방법에 따라 다르다. 전 세계적으로 자궁경부암을 일으키는 HPV 감염률은 11.4%에 이르며, 우리나라에서의 다기관 연구는 정상과 비정상 세포에서 각각 약 16%와 78%의 HPV 감염 빈도를 보였고, 우리

나라의 다른 연구는 약 10%에서 약 35%로 다양한 빈도를 보고하였다.^{6,7} 이와 같은 다양한 빈도는 조사대상이나 HPV 검사방법의 차이에서 온 결과라고 짐작할 수 있다..

- 자궁경부암 선별검사로 가장 널리 쓰이고 있는 Pap 검사는 저렴하고 효과적인 방법으로 자궁경부암의 유병율과 사망률의 감소에 지대한 공헌을 하였다.⁸ 그러나 Pap 검사는 자체 제한성으로 인한 피할 수 없는 위음성률을 지니고 있으며, 또한 암 발생의 가장 중요한 요인인 HPV 감염 여부를 진단하지 못하는 맹점이 있다.
- 이를 극복하기 위해 자궁경부암 검진방법으로 널리 알려진 Pap 검사 외에 HPV 유전형 검사를 실시하고 있다. Pap smear와 HPV 유전형 검사를 동시에 실시했을 때, 자궁경부암 발견 예측도가 Pap 검사나 HPV 유전형 검사를 단독으로 했을 때 보다 높게 나타나는 연구 결과로 HPV 검사의 중요성이 인식되었다.^{9,10} 이에 HPV 검사를 Pap 세포검사와 함께 병행하는 것이 효과적이고, 자궁경부암 선별검사의 한 방법으로 이용하기를 권유하고 있다.
- HPV 검사법은 Nucleic acids hybridization assays, Signal amplification assays, Nucleic acids amplification assays 세가지 방식으로 나뉜다. 첫 번째 검사법은 고전적인 방법으로 southern blot, In situ hybridization 등이 속한다. 두 번째 검사법은 현재 우리나라에서도 많이 사용되고 있고 미국 FDA에서 승인한 제품인 hc-2의 방식으로, 검사법이 간단하고 HPV 존재 유무 뿐 아니라 반정량 분석이 가능한 장점이 있으나,^{11,12} 대량의 검사물을 처리하지 못하는 점, 아형 별 genotyping이 안되는 점, 저위험군 HPV와 교차반응이 보고되는 점 등의 단점이 있다. 세 번째 검사법은 현재 시판되고 있는 대다수의 HPV 유전자형 검사제품들의 방법으로 중합효소연쇄반응(PCR)법을 근간으로 한다. 민감도가 높고 HPV의 각 유전자형을 판별하는 장점이 있지만 위양성의 위험이 따른다. 대표적으로 microarray법(DNA Chip), Papillocheck, PCR-RFLP, RT-PCR, Linear Array, INNO-LiPA, Luminex 등이 속한다.
- 우리나라의 경우, HPV 유전자형검사를 위해서 개발된 제품들의 대부분이 HPV L1 gene을 근간으로 개발되었고, KFDA 허가 후 상용화 되고 있는 제품으로는 DNA Chip방법이 대부분으로 바이오메트릭스테크놀로지(BMT)사의 9G DNA Kit, 안국바이오사의 HPV Genotyping chip Kit(구 바이오매드랩 제품), MY HPV Chip Kit(구 마이진 제품), 파나진사의 PANAAarray HPV Chip kit, 굿젠사의 GG HPV Genotyping Chip Kit가 있으며, RT-PCR 방법으로는 씨젠의 AnyplexII28, Luminex법으로는 인포피아의 Gene Finder, Linear Array법으로는 LG생명의 Advensure HPV GenoBlot Assay 등이 있다.
- 문헌에 의하면, 우리나라에서 개발된 genotyping tests인 HPV DNA Chip 제품은 임상적으로 유용한 검사법으로, hc-2 검사법과 비교하였을 때 HR-HPVs 발견에 대한 민감도가 비슷하거나, 높거나 낮은 빈도를 보였다.¹³⁻¹⁷ 2014년에 수행했던 사전연구 결과는 국내에서 상용화된 제품 간의 정확도, 민감도, 특이도 등이 다양하였다.
- 정확한 HPV 검사결과를 위하여 각 병원에서 시행되고 있는 HPV 검사결과에 대한 주기적이고 지속적인 정도관리가 필요하다.¹⁸⁻¹⁹ HPV 검사를 제 이차 선별검사법으로 사용하든, 또는 Pap 검사와 병행하여 비정상세포를 대상으로 사용하든, 어떠한 형태의 자궁경부암 선별검사로 이용하기 위해서는 정도관리가 필요하다. 그러나 HPV 검사에 관한 정도관리가 Pap 세포검사의 정도관리에 비해 아직 널리 실행되지 않고 있

으며, 이에 관한 문헌보고도 많지 않은 실정이다.

1.2. 목표달성도 및 관련분야에 대한 기여도

1. 목표달성도

가. HPV 유전형 검사 외부정도관리평가 시스템 구축

- HPV 유전형 정도관리평가 프로그램의 실용화를 위하여 HPV DNA 검사를 수행하고 있는 진단검사의학회 및 대한임상검사정도관리협회와 대한병리학회에서 추천한 전문의 선생님을 중심으로 HPV DNA 검사 외부정도관리평가 시스템을 구축하였다.
- 구축된 외부정도관리평가 시스템을 이용하여 양 학회의 HPV 외부정도관리에 참여하는 기관을 대상으로 본 연구에 참여할 기관 모집 및 HPV 유전형 검사 외부정도관리결과와 설문조사 결과에 관한 평가를 실시하였다.
- 검사결과와 통계처리와 외부정도평가용 패널제작과 관련된 외부 전문가를 자문으로 초청하여 내실을 기하였다.

나. HPV 검사 외부정도평가 참여기관 모집

- 참여기관은 최소 50기관 참여를 목적으로 하였으나, 실제 참여기관은 진단검사의학과 9기관, 병리과 24 기관으로 총 33 기관이 참여하였다.
- 참여 기관은 HPV DNA L1 gene을 이용하여 국내에서 개발된 HPV 검사제품을 사용하고 있으며, 대한진단검사의학회 및 대한병리학회 소속 정도관리위원회 네트워크를 이용하여 모집하였고, 참가기관의 구성은 종합전문병원, 종합병원, 수탁전문기관 등 특성별 모든 기관이 참여하였고, 본 연구의 목적에 잘 부합하는 기관이 참여하였다.
- 목적했던 50기관을 모집하지 못한 이유는 다음과 같았다: 1) 선행연구의 일환으로 2014년도에 실시했던 “HPV 유전형검사 외부정도관리평가 프로그램 개발”과제에 참여했던 기관의 일부는 동일한 HPV 검사제품을 사용하거나 2) 또는 HPV genotyping이 아닌 HPV 검사제품으로 변경한 경우, 3) 해당기관의 상황에 따라 24종류의 패널을 연구용으로 사용하기 어려운 경우, 4) 해당기관의 인력 수급에 갑작스런 어려움으로 참여하지 못한 경우 등의 여러 가지 이유가 있었다.
- 그러나 이번의 참여 기관에 소위 big five의 대형 병원과 수탁기관이 참여하였음은 큰 수확이었고, 이는 학회의 정도관리 네트워크를 이용한 결과라 여겨진다.

다. HPV 정도평가용 패널 제작 및 패널의 안정성, 균질성 평가

(1) 제공된 정도평가물질 확인

- 질병관리본부로부터 제공받은 16종 HPV 유전형 재조합 DNA는 2013년 연구과제 <HPV 유전형 분석검사용 정도평가물질 특성분석>에서 sequencing, RT-PCR 등 다양한 분자생물학적 기법을 통하여 적합함을 확인하였고, 소규모 blind test를 통하여 정도관리 물질로서 사용가능함을 확인하였다. 본 과제에서는 농도와 순도 및 전기영동 분석을 통하여 정도평가 물질로 적합함을 재확인하였다.

(2) 정도평가용 패널 제작

- 질병관리본부가 제공한 모든 16종의 HPV 유전형과 HPV 음성자궁경부세포 (C33A)에

서 추출한 genomic DNA를 이용하여 24종류의 패널을 제작하였다. HPV 유전형의 임상적 위험도나 국내 빈도를 고려하여 패널의 HPV 농도는 저농도 (50copies/ μ l (0.25 fg/ μ l)), 고농도 (1,000copies/ μ l (5 fg/ μ l))로 배합하였으며, 단일유형 또는 다중유형의 형태로 패널 제작을 완성하였다. HPV 음성자궁경부세포 (C33A)는 저농도 (1ng/ μ l), 고농도 (10ng/ μ l)의 2종류를 제작하였다. 제공된 패널은 HPV 16종 전부와 음성을 포함하였고, HPV 유형에 위험성과 빈도를 고려하여 패널을 구성하였다.

- 다중유형 형태의 패널 제작은 cervical cancer에서 중요한 HPV 16과 18은 저농도로 포함되었고, 그 외 고위험군은 고병변 (HSIL) 또는 cervical cancer에서 상위 5위에 속하는 유전자형으로 고농도로 포함되었다. 또한 HPV 유전자간 유사성을 참고하여, HPV 검사수행 시 간섭현상이 결과에 영향을 주는 것을 최소화하였다.

(3) 패널의 안정성, 균질성 평가

- 시간의 경과에 따른 온도조건별 안정성을 SYBR Green RT-PCR과 Chip실험을 통하여 수행하였고, Ct값을 분석하여 패널의 안정성 여부를 확인하였다.
- 참여기관에서 패널을 전달받고 시험을 수행하기까지의 기간을 약 2주(15일)로 가정하여, 패널을 실온, 냉장, 냉동(-20 $^{\circ}$ C)에 보관하면서 3일 간격으로 안정성을 시험하였다. 패널이 전달될 때 냉동 유지를 위하여 드라이아이스를 사용하기 때문에, 패널을 드라이아이스에 보관하면서 2일이 지난 시점의 안정성도 확인하였다.
- 내용은 동일하지만 시료의 순서만 다른 3가지 유형(A, B, C 유형)의 패널을 각 유형별로 10개 세트 이상 준비한 후 각 유형에서 한 세트씩 무작위로 선정하여 비교한 결과 모두 균질함을 확인하였다. 또한 유효성이 확인된 패널을 Reference Lab. 여덟 기관에 냉동상태로 당일 배송하였고, blind test로 얻은 결과를 분석하여 패널의 적합성을 확인하였다.
- 유효성, 안정성 및 균질성 등이 모두 확인된 패널은 참여기관에 배포하기 1주일 전 SYBR Green RT-PCR과 Chip실험을 통하여 안정성을 재확인하였고 결과는 적합하였다.

(4) 참고검사실에서의 패널 물질의 정확성 평가

- 정도평가용 패널의 정확성을 평가하기 위하여 2014년도에 우수한 성적을 얻은 기관을 참고검사실을 선정하여 패널 물질을 평가하였다. 평가결과는 Ref.1, 2, 3, 5의 기관별 일치도는 100%이며, Ref.4.는 95.8%, Ref.6.은 91.7%이다. Ref.7과 Ref.8.은 재검 전에는 각각 87.5%, 79.1%이며, 재검 후에는 95.8%와 83.3%였다.
- 유전자형 별 일치도에서 정확도가 80%이하로는 No.15 (75%)과 No.24 (62.5%) 였고, 나머지 시료는 80% 이상의 일치도를 보였다: (1) No.15는 HPV 유전자형이 56인 시료로 제품 A를 사용할 경우 검출률이 매우 낮았음을 2014년에 확인 한 바 있으며, 다른 제품을 사용하는 나머지 참여기관에서의 일치율이 100%로 패널시료의 문제가 아니라고 판단하였다. (2) No.24는 HPV 음성시료로 C33A에서 추출된 DNA를 사용하여 50ng/rxn 농도로 제작되었다. 검사 수행 시 발생 할 수 있는 여러 요인으로 인하여 위양성이 발생했을 가능성이 있으므로, Ref.7과 Ref.8에 해당시료의 재검을 요청하였다. 또한, 동일 DNA를 사용하여 5ng/rxn으로 제작된 No.23의 재검도 함께 요청하였다. 그 결과 No.24의 일치도는 최종 87.5%, No.23은 100%였다. 이와 같은 결과로 제

작성된 패널은 정도관리용으로 배포하기에 적합하다고 판단하였다.

라. 설문지개발 및 이를 활용한 설문조사

- 국내 HPV 유전형 검사 현황 파악 및 개발을 위하여 ① 참여기관 검사실 정보, ② 제공된 HPV 유전형검사 정도평가물질 평가, ③ HPV 외부정도평가 프로그램 실용화 등 3가지 항목에 관한 설문지를 DB 형식으로 개발 완료하였다.
- 설문지를 회수하여 분석한 결과, 설문지의 설문 문항이 적절하였으며, 국내 HPV 검사에 관한 현황을 파악할 수 있었고, 또한 HPV 외부정도평가 프로그램 실용화에 대한 전문가 의견을 수렴할 수 있었다.

마. 검사자료 수집 및 검사결과에 대한 일치율 및 정확도 분석

- 총 30기관 중 3개 기관은 서로 다른 검사기법으로 복수 참가하여 33개의 HPV 정도관리 물질 검사결과가 모두 반영되었다. 33개 검사결과에 대한 정확도, 민감도, 특이도, 위음성을, 위양성을, 양성예측도와 음성예측도 등의 일치율 분석통계를 완료하였다.
- 일치율은 기관 특성별, 사용 제품별, HPV 유전자형별로 구분하여 분석하였고, 이를 통하여 국내 HPV 검사현황을 파악 할 수 있었다.

바. 정도평가 결과 검사기관으로 환류

- 참여한 총 33기관에게 해당기관이 수행한 패널의 표준물질에 관한 정보와 일치도 결과 환류를 이메일을 통하여 2016년 6월 21일에 일괄 발송하였다.

사. 향후 HPV 검사의 질 관리에 관한 정책방안 제시

- 수집된 HPV 유전형 검사 외부정도관리 평가 및 설문조사 결과와 외부정도평가 프로그램 실용화에 대한 전문가 의견을 바탕으로, 본 연구원이면서 학회를 대표하는 HPV 검사 전문가와 토의를 통하여 HPV 검사의 질 관리의 실용화를 위한 현실적인 정책방안을 제시하였다.

2. 관련분야 기여도

- HPV 감염 및 유전형검사에 대한 체계적이고 지속적인 정도관리평가를 통하여 HPV 검사에 대한 국가 및 학회차원의 정도관리 방안을 수립하는데 활용될 수 있을 것으로 사료된다.
- HPV 검사기관들에 대한 질 향상으로 국민들에게 정확한 검사 결과를 제공함으로써 국민 건강을 향상시키고 불필요한 의료경비를 절감시키는 효과가 있을 것으로 사료된다.
- 병원 등 민간기관에 대한 효율적인 HPV 검사의 질 관리를 위한 방안 수립에 활용될 수 있을 것으로 사료된다.
- HPV 검사에 사용되는 국내 진단법에 대한 성능 검사 및 품질 개선을 유도 하는데 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

제2장 국내의 기술 현황

2.1. 국내외에서 사용하는 HPV 검사 제품

1. 국내제품

- 현재까지 우리나라에서는 HC2와 genotyping의 검사법을 많이 사용해 왔다. 우리나라에서 개발된 HPV genotyping은 20~40종의 HPV 유전형을 진단할 수 있는 HPV 진단용 DNA Chip제품들이 개발되어 식품의약품안전처의 허가를 받아 시판되고 있으며 HPV 진단을 위해 많은 병원에서 사용하고 있다. 현재 국내에서 HPV DNA Chip방법으로 개발되어 상용화된 genotyping test 제품들은 2004년 마이진(Mygene)사의 첫 출시 이후로 2007년도에는 바이오코아 (Biocore)사, 굿젠(Goodgene)사, 바이오메드랩 (Biomedilab)사, 2009년도에는 파나진 (Panagene)사, 2010년도에는 바이오메트릭스테크놀로지 (BMT)사 등이 제품을 개발하여 생산하고 있다. HPV DNA Chip방법에 의한 HPV genotyping test는 PCR 후 DNA Chip위에서 교잡시켜 발현을 스캐너로 검색하는 방법이다. HPV 감염유무 뿐만 아니라 자궁경부암을 일으키는 고위험군 HPV에 대해 각 아형 (type) 별로 진단하여 암 발생 예측 등 향후 치료와 HPV 예방백신 접종 등에 유용하게 사용할 수 있다. 대량의 검체를 처리할 수 있는 장점이 있지만, 고가의 스캐너를 사용해야 하는 점, KFDA인증을 취득했지만 검사의 정확도에 대한 국제적인 인정을 받지 못한 점 등이 단점으로 꼽힌다. 문헌에 의하면 검사 결과의 정확도가 비슷하거나 비교적 낮게 보고되었다.¹⁶⁻¹⁷
- 이외에도 최근에 국내에서는 여러 회사에서 RT-PCR, RFMP, Linear Array, HPV DNA Chip, Luminex (bead) 방법의 제품 생산 등으로 검사의 정확도를 높이고자 노력하고 있다.

2. 국외제품

- 미국에서는 1990년대 초부터 개발된 HPV DNA 검사제품을 사용하면서 국내와는 달리 HPV genotyping 방법보다는 HPV 감염 여부만을 알 수 있는 검사법을 사용해 왔다. 미국 식약청(FDA)에서 승인되어 전 세계적으로 가장 널리 사용되고 있는 HPV 검사법은 Qiagen 회사의 HC2 HPV Test (HC2)로 chemiluminescent detection 방법을 이용한다.
- HC2는 자궁경부 세포 DNA에 고위험군 및 저위험군 HPV RNA probe mixture를 혼성화하여 RNA-DNA 중합체를 만든 다음 이를 면역항체와 화학발광물질을 이용하여, 양성 및 음성 대조군에 대한 발광량과 샘플의 발광량의 상대적인 수치를 분석함으로써 HPV DNA를 정량하는 방법이다.²⁰
- HC2는 13개의 고위험군의 감염에 대해 90% 이상의 민감도를 보이고,¹¹ 검사법이 간단하며 HPV 존재 유무 뿐만 아니라 반정량 분석이 가능한 장점이 있다.¹² 그러나 대량의 검사물을 처리하지 못하는 점, 아형 별 genotyping이 안되는 점, 저위험군 HPV와 교차반응의 보고가 있으며, 또한 PCR에 의해 증폭하는 과정이 없기 때문에 검사의 민감도가 떨어지는 단점이 있다.
- 이러한 아형 별 genotyping이 안 되는 단점을 개선하기 위하여, 최근에는 Qiagen사의 18종의 HR-HPV를 genotyping 할 수 있는 HPV Genotyping HR Test, Roche사의 HPV 16

과 HPV 18의 genotyping을 포함하여 14종의 HR-HPV를 탐지할 수 있는 cobas®4800 HPV Test, Abbott사의 HPV 16 및 HPV 18의 genotyping과 14종의 HR-HPV genotyping을 탐지하는 Real-Time High Risk HPV 등이 개발되었다. 그 외에도 홍콩 HybriBio사의 13종의 HR-HPV를 탐지할 수 있는 HPV Real-Time PCR Kit series 개발, BD사의 총 14종의 HR-HPV를 탐지할 수 있는 BD™ HPV-GT Assay, 벨기에의 INNOGENETICS사에서 18종의 HR-HPV를 포함하여 28종의 HPV DNA genotyping을 위한 INNO-LiPA HPV Genotyping 등이 개발되었다.

- 문헌에 의하면, 상기에 기술한 제품의 일부를 포함하여 약 30가지 이상의 검사방법이 개발되어 사용되고 있다.¹⁸ 이들 제품 각각의 민감도와 특이도 등의 정확도가 다양하고, 또한 각 제품이 발견하는 HPV 유전형이 다르다. HPV DNA genotyping은 주로 연구나 역학에서 많이 사용하고 있는 반면, 임상적으로 중요한 HPV 16/18 유형을 검출하는 type specific genotyping은 실제 임상에서 주로 사용하고 있다. 따라서 제품 중 HR genotypes에 더하여 HPV 16/18 유형을 검출하는 type specific genotyping 제품이 개발되었다.

List of commercial assay for HPV testing currently available high-risk; low-risk

Assay	Company	Detects	Can identify human papillomavirus 16 and 18
Abbott RealTime High Risk HPV	Abbott	14 genotypes (HR)	Yes
ProDect Chip HPV Typing	Bcs Biotech S.P.A.	24 genotypes (HR and LR)	Yes
NucliSENS EasyQ HPV	Biomerieux	5 genotypes (HR)- mRNA	Yes
HPV-DNA Qualitative Assay	Catch by Gene	15 genotypes (HR)	No
REBA HPV-ID	M&D, Inc.	25 genotypes (HR and LR)	Yes
LCD Array HPV 3.5	Chipron	32 genotypes (HR and LR)	Yes
Genpoint Tm HPV Test	Dako-Oxoid	13 genotypes (HR)	Yes
PapType	Genera Biosystems	14 genotypes (HR)	Yes
AID HPV Screening Kit	GenoID	49 genotypes (HR and LR)	No
AID HPV Typing Kit	GenoID	14 genotypes (HR)	Yes
AID STD Assay	GenoID	14 genotypes (HR)	No
Reveal HPV Real-Time HPV Detection Kit	GenoID	19 genotypes (HR and LR)	No
Array Papillomavirus	Genomica	35 genotypes (HR and LR)	Yes
Aptima	Gen-Probe	14 genotypes (HR)- mRNA	Yes
Papillocheck	Greiner BioOne	24 genotypes (HR and LR)	Yes
Cervista HPV HR Test [^]	Hologic	14 genotypes (HR)	Yes
Linear ArrayExtra HPV Genotyping Kit	Innogenetics	28 genotypes (HR and LR)	Yes
HPV OncoTect	Invirion Diagnostics	HR E6 and E7 mRNA expression in cells	No
Genesquare- HPV	Kurabo Industries	23 genotypes (HR and LR)	Yes
BIOPAP QTS HPV Kit	Loxo	6 genotypes (HR)	Yes
fHPV typing	molGENTIX	15 genotypes (HR and LR)	Yes
Luminex HPV Genotyping	Multimetrix/Progen	24 genotypes (HR and LR)	Yes
Care HPV	Qiagen	14 genotypes (HR)	No
Consensus HPV Typing Kit	Qiagen	18 genotypes (HR and LR)	Yes
Hybrid Capture 2 [^]	Qiagen	13 genotypes (HR)	No
Luminex HPV Assay	Qiagen	17 genotypes (HR and LR)	Yes
Amplicor HPV Test	Roche	13 genotypes (HR)	No
COBAS 4800 HPV Test	Roche	14 genotypes (HR)	Yes
Linear Array HPV Genotyping Test	Roche	37 genotypes (HR and LR)	Yes
Seeplex HPV Genotyping	Seegene	20 genotypes (HR and LR)	Yes
PCR Human Papillomavirus Detection Set	Takara Mirus Bio	7 genotypes (HR and LR)	Yes
Viroactiv	Virofem	8 genotypes (HR)	No

[^]Food and Drug Administration approved.

2.2. 국내외 HPV 검사 질관리 현황

1. 국내 HPV 검사 질관리

- 한국식품의약품안전처에서는 HPV 제품허가를 위하여 HPV DNA의 표준물질을 사용하고 있다. 인유두종 바이러스 L1 DNA (코드번호 : 08/023, Version 1.0, 50ng/vial)

는 HPV 41종 유전형 (HPV 3, 6, 10, 11, 16, 18, 26, 27, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 81, 84) L1 지역의 일부인 450bp (MY11/MY09 primer 증폭지역)를 포함하고 있다. 이는 HPV 검사실의 질 관리를 위한 것이 아니라, 품목허가를 신청한 HPV DNA 검사 kit의 성능과 효능을 평가하는 목적으로 사용되고 있다.

- 대한임상검사정도관리협회는 HPV 검사기관을 대상으로 연 2회의 외부정도관리 (질 관리) 평가를 실시하고 있다. 정도평가용의 표준물질로는 HPV 16 양성 자궁경부세포 (Caski cell) 및 HPV 18 양성 자궁경부세포 (HeLa cell)와 HPV 음성세포를 사용하고 있으며, 이들 물질을 blind 상태로 HPV 검사실에 제공하여 HPV DNA 검사의 정도평가를 하고 있다. 2013년도에 실시한 외부정도관리평가 현황을 보면, 제1차와 2차에 참여한 기관은 각각 41기관과 39기관이었으나, 한 기관에서 2가지 이상의 방법을 이용하여 HPV 검사를 하고 있는 관계로 각각 46과 45기관으로 평가되었다. 참여기관이 사용한 HPV 검사방법으로는 Qiagen HC2가 가장 많았고, HPV DNA L1 gene에서 생성된 HPV DNA Chip 방법이 2번째로 많았다. 그 외에 Simple PCR, RFMP assay 방법과 HPV의 E6 gene에서 개발된 제품을 사용하는 기관도 있었다. 정도평가의 결과는 제1차와 2차에서 모든 기관이 100%의 정확성을 나타내었다.
- 대한병리학회에서는 2013년도부터 HPV 실시하고 있다. 질 관리를 위하여 WHO HPV LabNet의 HPV 16 또는 HPV 18과 HPV 음성의 표준물질을 이용하였다. 2013년도에 참여한 기관은 총 51기관이었고, 이 중 43기관이 HPV DNA Chip 방법을 사용하였고, 7기관이 Qiagen HC2, 1기관이 HPV의 E6 gene에서 개발된 제품을 이용하였다. 정도평가의 결과는 제1차와 2차에서 모든 기관이 100%의 정확성을 나타내었다.
- 질병관리본부는 HPV 검사의 정도평가를 위하여 HPV 유전형 재조합 DNA 물질을 2012년도에 개발하였다. 개발된 HPV 유전형 재조합 DNA 정도평가용 물질은 HPV DNA L1 gene에서 생성된 것으로, 고위험 HPV 14종 (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68b)과 저위험 HPV 2종 (HPV 06, 11)의 총 HPV 16종으로 구성되어 있다. 개발된 16종의 HPV 유전형 재조합 DNA 물질이 표준물질로서 적합한지를 평가하기위한 국책 연구에서 HPV 유전형 검사의 정도평가물질로 활용하기에 유용한 것으로 확인되었다. 또한 HPV 유전형검사에 대한 외부정도평가의 예비연구로 소수의 HPV 검사실을 대상으로 blind test 및 설문조사를 실시한 결과, 개발된 물질이 정도평가물질로 사용하기에 적합하다는 것을 확인하였다.
- 현재 국내에서 사용하는 HPV genotyping 검사법 중 HPV DNA L1 gene에서 개발된 HPV DNA Chip을 많이 사용하고 있고, 또한 국내에서 개발된 Real time PCR, Linear Array, Luminex, RFMP 등의 다른 HPV 제품도 HPV DNA L1 region에서 개발된 것이므로, 질병관리본부가 개발한 HPV 유전형 재조합 DNA 물질은 국내 실정에 맞는 HPV 유전형 정도평가 프로그램을 개발하는데 적합한 물질이라고 생각한다.

2. 국외 HPV 검사 질관리

- 영국의 경우를 보면, 2003년 National Cervical Screening programme LBC/HPV Triage Pilot Study는 이미 잘 짜여진 Pap 세포검사의 정도관리에 근거하여 HPV 검사의 정도관리 프로그램 개발의 가능성을 제시하였다.²¹ 그 후 2005년에 HPV 검사를

위한 정도관리 프로그램 개발에 대한 논문을 보고하였다. 이들은 a) 내부정도관리를 위한 known HPV의 임상표본의 제공, b) 외부정도관리를 위한 unknown HPV panel의 제공, c) reference Lab. 에서의 재검을 위한 표본 재제출, d) reference Lab. 에서의 표본 이송 중의 문제를 점검하기 위한 표본 재제출 등의 방법으로 정도관리 프로그램을 확립하였다.

- 미국에서의 HPV 외부 질 평가는 College of American Pathologists (CAP)가 주관이 되어 실시하고 있으며,²² Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) 1988에 미국 연방 정부의 규제 기준을 모두 적용하여 기술한 사항에 법적 근거를 두고 있다.²³ HPV 검사에 관한 외부 질 평가에 관한 내규는 ① HPV 검사를 분자방법으로 실시하는 모든 검사실은 검사에 관한 허가를 필수로 하며, 매년 CAP 질 평가에 참여한다. 만약 검사실이 HPV 검사만 실시한다면, 년 3회 각각 5개의 샘플로 구성된 테스트 이벤트에 참여한다. ② 종합적 평가 점수가 최소한 80 percent가 안되면 평가실패로 unsatisfactory performance로 판정하여 0 점을 부여한다. 숙련도시험에서 인증을 받기 위해서는, 한 프로그램은 매 테스트 이벤트 당 최소 5개의 샘플을 제공해야 하고, 매해 당 거의 동일한 주기로 적어도 3번의 테스트 이벤트가 있어야 한다. CAP의 human papillomavirus Survey (CHPV)는 CLIA 요청 (한 프로그램은 연 3회의 이벤트와 매 이벤트마다 5개의 샘플시험)에 부응하고 있다. 이 프로그램은 특정 운송/방부제 매체유형의 사용으로 미국에서만 사용할 수 있는 유일한 HPV 숙련도 시험이다. 질 조사의 목적은 HR-HPV가 ‘양성’ 또는 ‘음성’을 결정하는데 있다. CHPV에는 4가지 다른 모듈이 있어, 검사실이 받고자 원하는 샘플유형을 선택할 수 있다. 3가지 샘플유형을 받은 검사실은 CHPV*에 등록 할 수 있다. (* CHPVJ includes five samples (15 annually) of each transport media type over the course of the year.)
- 체코 공화국: 체코 공화국에서는 HPV 검사와 관련하여 외부 질 관리 (EQA)가 잘 조직화되어 있고, 국립보건위생국 소속 역학 및 미생물학 센터의 인증 부서 (AD-CEM)가 운영하고 있다. 1998년 국립보건위생국은 HPV 검사결과를 향상시키고 HPV 검사의 임상적 유용성을 알려주기 위하여 국립참고연구소(National Reference Laboratory)를 창립하였고, 2000년에 HPV 검사의 외부 질 관리를 처음 실시하면서 5개의 자궁경부세포 시료를 검사실에 보낸 이후에 참여 검사실은 급속하게 증가하였다. HPV 검사의 외부 질 관리 참가는 자발적인 참여이다. 2003년 이후에는 PCR-based diagnostic kits를 제공하였다. 이러한 노력으로 HPV 검사결과의 정확성이 높아졌고, 동시에 검사실에서 사용하는 HPV 검사제품의 변화로 검사방법이 표준화되었다. 체코에서의 HPV 검사 외부 질 관리는 유용한 것으로 밝혀졌다.¹⁸
- 세계보건기구(WHO)는 최첨단의 강력한 검사실 지원을 통하여 효과적인 감시와 관찰을 실시함으로써 검사실의 질 향상을 위하여 2005년에 HPV Laboratory Network (LabNet)을 구축하였고, 그 당시에 전 세계의 지역별로 9개의 우수한 Lab을 Reference Lab으로 지정하였다. Reference Lab은 필요에 의하여 더 지정될 수 있다. WHO의 목적은 검사과정을 표준화하고, HPV LabNet을 세계화하는 데 있으며, 이를 위하여 ① 새로운 기술정보, ② 기술에 관한 조언 및 지도, ③ 검사실 실무교육과 질 관리 프로그램 등을 제공하고 있다.²⁴ 전 세계적으로 HPV 검사에 관하여 항상 문제가 되는 것은 신뢰할 만한 검사실서비스이다. 이에 WHO HPV LabNet은 HPV 검사

의 숙련도 질 관리를 위하여 2008년에 14개의 HR-HPVs와 2개의 LR-HPVs를 포함하는 총 16유형의 HPV DNA plasmids (HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68a and 68b)를 표준물질로 제작하여 전 세계의 검사실에 공개하였다.^{25,26} WHO는 매년 1회 HPV HPV LabNet의 HPV DNA Proficiency Study를 통해 총 46종의 HPV 유전형 정도평가용 패널을 전 세계 HPV 검사실에 blind 상태로 제공하고 있고, 46종의 패널은 43종의 plasmids 물질이고, 1종의 음성, 2종의 자궁경부암종 세포선에서 추출된 물질로 구성되어 있다(Table 4). 제공하는 패널의 표준물질의 농도는 저, 중, 고농도 농도로 5IU (international Unit), 50IU, 500IU/5 μ l를 제공한다. 숙련도 평가를 위한 필요조건으로는 ① HPV 16 and HPV 18 유형을 50IU/5 μ l에서 발견해야하며, ② 그 외 다른 HPV 유전형을 500 IU/5 μ l의 농도에서 발견해야 하며, ③ 단독감염과 중복감염 모두를 발견해야 하며, ④ 두 개 이상의 위양성은 분석에서 제외한다. 즉 특이도 >97% 이어야 한다. 현재 전 세계적으로 미국, 아프리카, 지중해지역, 유럽, 남동아시아, 서태평양지역 등에서 61개의 검사실이 참여하고 있고, 우리나라에서도 참여하는 기관이 있다.

WHO가 제공한 HPV 46 종류의 패널 예

Randomised Panel ID	HPV type(s) in the panel	Content (IU/GE per 5 μ l)	Your results PCR- DNA Chip 5 μ l input volume
1	16	500	16
2	16	50	16
3	16	5	16
4	18	500	18
5	18	50	18
6	18	5	18
7	6	500	6
8	6	50	6
9	11	500	11
10	11	50	11
11	31	500	31
12	31	50	31
13	33	500	33
14	33	50	33
15	35	500	35
16	35	50	35
17	39	500	39
18	39	50	39
19	45	500	45
20	45	50	45
21	51	500	51
22	51	50	51
23	52	500	52
24	52	50	negative
25	56	500	56
26	56	50	56
27	58	500	58

28	58	50	58
29	59	500	59
30	59	50	59
31	66	500	66
32	66	50	66
33	68	500	68
34	68	50	68
35	16, 45, 51, 33	500	16, 45, 51, 33
36	16, 45, 51, 33	50	16, 45, 51, 33
37	11, 18, 31, 52	500	11, 18, 31, 52
38	11, 18, 31, 52	50	11, 18, 31, 52
39	35, 39, 59, 66, 68b	500	35, 39, 59, 66, 68b
40	35, 39, 59, 66, 68b	50	35, 39, 59, 66, 68b
41	6, 56, 58, 68a	500	6, 56, 58, 68a
42	6, 56, 58, 68a	50	6, 56, 58, 68a
43	None	0	negative
A	HPV 16 positive cells	25	16
B	HPV negative cells	0	negative
C	HPV 16 positive cells	2,500	16

제3장. 최종연구내용 및 방법

▶ 연구의 추진과정 개요

구 분 사 업 내 용	월 별 추 진 일 정									
	1 15.10	2 15.11	3 15.12	4 16.01	5 16.02	6 16.03	7 16.04	8 16.05	9 16.06	10 16.07
1. HPV DNA 검사 외부정도평가 구축										
2. 외부정도평가 참여기관 모집										
3. 정도평가용 패널 제작 및 균질성 안정성 평가										
4. 패널 배포 및 외부정도평가 진행										
5. HPV 유전형 검사를 위한 설문지 개발 및 설문조사										
6. 검사자료 수집 및 검사결과 분석										
7. 정도평가 결과 검사기관으로 환류										
8. 향후 정도평가 프로그램 실용화를 위한 정책적 적용방안 제언										

3.1. 외부정도평가 참여기관 모집

2015.12.15 ~ 2016.04.22 동안 정도관리 물질을 이용하여 실험을 수행할 참여기관을 모집하기 위하여 연구 참여 안내문 (별첨1)을 배포하고, 연구 참여 신청서 (별첨2)를 접수하였다. 총 30기관 중 3개 기관은 서로 다른 검사기법으로 복수 참가하여 총 33기관으로 간주하였고, 대한 진단검사학회 소속은 9기관이고 대한 세포병리학회 소속은 24기관이었다.

1. 대한진단검사학회의 참여기관

번호	기관구분	병상수
진검1	수탁기관	
진검2	종합전문병원	830
진검3	수탁기관	
진검4	수탁기관	
진검5	종합전문병원	1500
진검6	수탁기관	
진검7	종합전문병원	1300
진검8	수탁기관	
진검9	수탁기관	

2. 대한세포병리학회의 참여기관

번호	기관구분	병상수
병리1	종합전문병원	1000
병리2	종합전문병원	1000
병리3	종합병원	495
병리4	종합전문병원	699
병리5	종합병원	746
병리6	종합전문병원	800
병리7	종합전문병원	850~900
병리8	종합전문병원	850~900
병리9	종합전문병원	1048
병리10	종합병원	100
병리11	종합전문병원	2300
병리12	종합전문병원	670
병리13	종합전문병원	2500
병리14	종합전문병원	700
병리15	종합전문병원	2000
병리16	종합전문병원	1040
병리17	종합전문병원	950
병리18	종합전문병원	990
병리19	종합병원	400
병리20	종합전문병원	1500
병리21	종합전문병원	850
병리22	종합전문병원	500
병리23	종합전문병원	578
병리24	종합병원	556

3.2. 정도평가용 패널제작 및 안정성, 균질성 평가

1. 정도평가용 패널제작

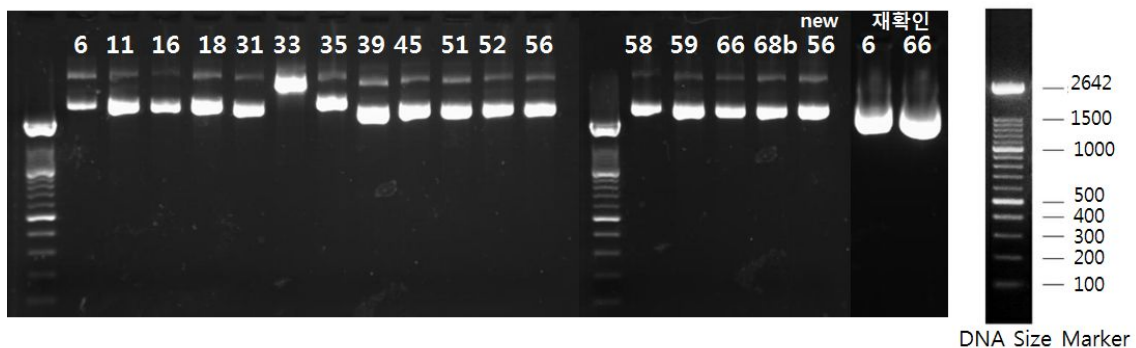
가. 원액의 확인

질병관리본부로부터 제공받은 16종 HPV 유전형 재조합 DNA (High Risk - 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68b/ Low Risk - 6, 11)는 2012.10.16~2013.04.15에 본 기관에서 수행한 연구과제인 <HPV 유전형 분석검사용 정도평가물질 특성분석>에서 다양한 분자생물학적 기법을 통하여 적합함을 확인하였고, 본 과제에서는 농도와 순도 및 전기영동 분석을 통하여 정도평가 물질로 적합함을 재확인하였다.

(1) 16종 HPV 유전형 재조합 DNA의 농도 및 순도(Purity)측정

sample name	HPV 유전형	농도(ng/ul)	A260/ A280	A260/ A230	Volume
KNIH-1	HPV 6	77	1.87	1.75	50~60ul
KNIH-2	HPV 11	262.7	1.87	2.02	50~60ul
KNIH-3	HPV 16	201.4	1.87	2.17	50~60ul
KNIH-4	HPV 18	330.9	1.89	2.17	50~60ul
KNIH-5	HPV 31	236.8	1.89	2.23	50~60ul
KNIH-6	HPV 33	326.7	1.89	2.26	50~60ul
KNIH-7	HPV 35	277.8	1.88	2.17	50~60ul
KNIH-8	HPV 39	393.6	1.89	2.27	50~60ul
KNIH-9	HPV 45	309.5	1.89	2.26	50~60ul
KNIH-10	HPV 51	237.3	1.88	2.2	50~60ul
KNIH-11	HPV 52	253.4	1.88	2.06	50~60ul
KNIH-12	HPV 56	288.7	1.88	2.07	50~60ul
KNIH-13	HPV 58	210.1	1.88	2.19	50~60ul
KNIH-14	HPV 59	316.2	1.88	2.12	50~60ul
KNIH-15	HPV 66	198.9	1.86	2.03	50~60ul
KNIH-16	HPV 68b	228.3	1.88	2.15	50~60ul
KNIH-17	HPV 56 new	313.6	1.89	2.26	50~60ul
KNIH-1 (재수령)	HPV 6	970	1.88	2.02	90~100ul
KNIH-15 (재수령)	HPV 66	2900	1.87	2.17	90~100ul

(2) 16종 HPV 유전형 재조합 DNA의 전기영동 분석



- 16종 HPV 유전형 재조합 DNA를 분광광도계를 이용하여 농도와 순도를 측정하고, 1% agarose gel에 전기 영동한 결과 정도관리 평가물질로 사용되기에 적합함을 확인하였다.

나. 패널의 제작

- 패널에 사용된 HPV 유전자형에는 질병관리본부가 제공한 16종의 모든 HPV 유전형을 포함하였다. 고위험군 14종과 저위험군 2종으로 구성하였다.
- 임상시료와 유사하게 제작하기 위하여 HPV 음성자궁경부세포 (C33A)에서 추출한

genomic DNA를 질병관리본부로부터 제공받아 모든 패널에 혼합하였다.

- 본 연구에 사용할 패널의 시료 수는 2014.02.01~2014.12.31에 수행한 <HPV 유전형 검사 외부정도평가 프로그램 개발>의 설문조사를 반영하여 24시료로 구성하였다.
- HPV 농도는 저농도와 고농도로 배합하였으며, 단일감염 또는 다중 감염형태로 조성하였다.
- 패널의 양은 20 μ l로, HPV 유전자형 검사가 PCR법을 토대로 하는 점을 고려하여 PCR 1회 반응 당 5 μ l를 사용하도록 제작하였다.
- 약 60세트를 동시에 제작하였다. 40여개는 참여기관 배포용이며, 20여개는 배포될 패널 간에 발생할 수 있는 오차를 최소화 하기 위하여 패널의 균질성 및 안정성 평가에 사용하였다.

(1) 패널의 구성 조건

구성 조건	설정 내용
HPV의 유전자형	Low Risk - 6, 11 High Risk - 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68b
패널의 형태	<ul style="list-style-type: none"> ① HPV 재조합 DNA구조 : pGEM-T easy vector(3015bp)에 HPV L1 전체 유전자(~1.5kb)가 삽입되어있는 형태 ② HPV 재조합 DNA와 1ng/μl 농도의 HPV 음성 자궁경부세포 (C33A) 유래 DNA가 혼합된 형태 ③ 최소 농도 설정의 기준 : 각 제조사별 cut off 농도를 고려하여 250copies로 설정함 ④ HPV 재조합 DNA를 저농도, 고농도로 구성 <ul style="list-style-type: none"> - 저농도: 50copies/μl (0.25 fg/μl) - 고농도: 1,000copies/μl (5 fg/μl) ⑤ HPV 재조합 DNA를 단일 감염형태, 다중 감염형태로 혼합 또는 비감염(음성)형태로 구성 <ul style="list-style-type: none"> - 단일감염형태: 1종의 HPV 재조합 DNA로만 구성 - 다중감염형태: 2종의 HPV 재조합 DNA로 구성 되었으며 동일한 tube에 포함. - 비감염형태: C33A유래 HPV 음성 DNA, 농도 1ng/μl와 10ng/μl.
패널의 종류	24개 시료로 배열이 다른 A, B, C 형태
패널의 양 (Volume)	<ul style="list-style-type: none"> ① 20μl/vial, 기관별 1set (24개 시료) 씩 제공. ② HPV 검사로 5μl사용, Internal control 검사로 5μl사용

(2) 패널에 포함된 시료의 목적

No.	HPV type(s)	Total (copies/5 μ l)	시료의 목적
1	HPV 6	5000	①
2	HPV 11	5000	
3	HPV 16	5000	②
4	HPV 31	5000	
5	HPV 33	5000	
6	HPV 35	5000	
7	HPV 39	5000	
8	HPV 45	5000	
9	HPV 51	5000	
10	HPV 52	5000	
11	HPV 58	5000	
12	HPV 59	5000	
13	HPV 66	5000	
14	HPV 68	5000	
15	HPV 56 (기존)	5000	③
16	HPV 56 (뉴)	5000	④
17	HPV 16	250	⑤
18	HPV 18	250	
19	HPV 16/33	250/5000	⑥
20	HPV 16/58	250/5000	
21	HPV 18/31	250/5000	
22	HPV 18/35	250/5000	
23	Negative	5ng (C33A DNA)	⑦
24	Negative	50ng (C33A DNA)	

- ① 저위험군 HPV, 고농도, 단일감염형 반영하였다.
- ② 고위험군 HPV, 고농도, 단일감염형 반영하였다.
- ③ 고위험군 HPV, 고농도, 단일감염형을 반영한 것으로, 2014.02.01~2014.12.31에 수행한 <HPV 유전형 검사 외부정도평가 프로그램 개발>의 정도관리물질 평가 중 특정 제품에서 검출을 하지 못한 HPV 56형 재조합 플라스미드가 포함되었다.
- ④ 고위험군 HPV, 고농도, 단일감염형을 반영한 것으로, 기존 HPV 56형과 시퀀스의 차이가 있는 새로운 HPV 56형 재조합 플라스미드가 포함되었다.
- ⑤ 고위험군 HPV, 저농도, 단일감염형을 반영한 것으로 cervical cancer 환자에서 다빈도로 검출된 상위 두 개의 유전자형인 16 (54.6%), 18 (15.9%)형이 포함되었다. (WHO Information Center, 2010년 참고).
- ⑥ 고위험군 HPV, 다중감염형을 반영한 것으로 cervical cancer에서 중요한 HPV 16과 18은 저농도로 포함되고, 그 외 고위험군은 고병변(HSIL) 또는 cervical cancer에서 상위 5위에 속하는 유전자형으로 고농도로 포함됨. 또한 HPV 유전자간 유사성을 참고하여, HPV 검사수행시 간섭형상이 결과에 영향을 주는 것을 최소화하였다.
- ⑦ HPV 음성시료를 반영한 것으로, C33A 세포주에서 추출한 Human genonic DNA이며 DNA의 농도를 달리하였다.

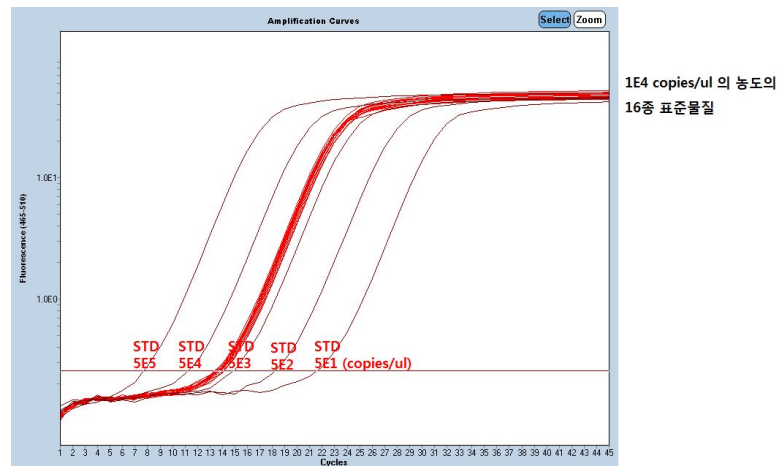
(3) 패널의 구성

번호	A 유형		B 유형		C 유형	
	HPV type(s)	Content (copies/rxn)	HPV type(s)	Content (copies/rxn)	HPV type(s)	Content (copies/rxn)
1	6	5000	59	5000	45	5000
2	35	5000	31	5000	16,33	250/5000
3	56 (기준)	5000	18,31	250/5000	6	5000
4	18,31	250/5000	45	5000	Negative	5ng/rxn (C33A DNA)
5	11	5000	16	250	59	5000
6	16	5000	56 (뉴)	5000	51	5000
7	Negative	5ng/rxn (C33A DNA)	Negative	5ng/rxn (C33A DNA)	68	5000
8	58	5000	18	250	56 (뉴)	5000
9	45	5000	35	5000	16	250
10	68	5000	18,35	250/5000	18,31	250/5000
11	16,33	250/5000	68	5000	39	5000
12	66	5000	Negative	50ng/rxn (C33A DNA)	18	250
13	52	5000	51	5000	66	5000
14	51	5000	11	5000	52	5000
15	31	5000	16,58	250/5000	56 (기준)	5000
16	16,58	250/5000	6	5000	16,58	250/5000
17	33	5000	16	5000	58	5000
18	16	250	58	5000	11	5000
19	59	5000	66	5000	33	5000
20	Negative	50ng/rxn (C33A DNA)	16,33	250/5000	31	5000
21	18	250	33	5000	16	5000
22	56 (뉴)	5000	39	5000	35	5000
23	39	5000	52	5000	18,35	250/5000
24	18,35	250/5000	56 (기준)	5000	Negative	50ng/rxn (C33A DNA)

○ 24개 패널의 순서 배치에 따라 A, B, C 유형으로 구분하였다.

(4) 고농도액 (Stock Solution)의 준비 및 패널의 제작

16종을 동일한 농도인 1×10^4 Copies/ μ l로 희석하여 패널제작에 필요한 고농도액 (Stock Solution)을 준비한 후, 이를 이용하여 24종의 패널을 제작하였다.



- 16종의 HPV 유전형 재조합 DNA는 농도 및 길이를 이용하여 다음 계산식으로 Copy수를 계산하였다.
(추출된 디엔에이의 양 $\times 6.022 \times 10^{23}$) / (플라스미드의 길이 $\times 1 \times 10^9 \times 650$)
- 계산에 근거하여 1×10^6 Copies/ μ l로 희석된 재조합 DNA를 계단 희석한 표준물질과 함께 SYBR Green Quantification RT-PCR 하여 목적한 농도로 희석되었는지 확인하였다.
- 확인이 완료된 Stock Solution을 이용해 목적한 패널을 제작하였다.

다. 패널의 유효성 평가

(1) 패널의 농도검증

패널에 포함된 HPV 유전자형은 약 1.5kb의 L1지역이 cloning vector에 재조합되어 있는 형태로, vector에는 공통적으로 beta-lactamase 시퀀스가 포함되어 있다. beta-lactamase primer로 RT-PCR을 수행 시, HPV 유전자형의 종류와 관계없이 vector의 copy수를 정량할 수 있으므로 이를 이용하여 SYBR Green Quantification RT-PCR을 수행하여 패널의 농도를 검증 하였다.

번호	HPV 유전자형	Ct	평균	SD	CV%
No.01	6	20.52	20.60	0.26	1.28%
No.02	11	20.44			
No.03	16	20.77			
No.04	31	20.42			
No.05	33	20.99			
No.06	35	20.85			
No.07	39	20.56			
No.08	45	20.33			
No.09	51	20.52			
No.10	52	20.12			
No.11	58	20.64			
No.12	59	21.04			
No.13	66	21.02			
No.14	68	20.47			
No.15	56 (기존)	20.48			
No.16	56 (뉴)	20.48			
No.17	저농도16	25.18	25.22	0.05	0.20%
No.18	저농도18	25.25			
No.19	16,33	21.13	20.69	0.31	1.48%
No.20	16,58	20.46			
No.21	18,31	20.66			
No.22	18,35	20.51			
No.23	저농도Negative	—	—	—	—
No.24	고농도Negative	—	—	—	—

- 고농도의 경우 Ct 값의 분포가 20.60 ± 0.26 , CV%는 1.28%로 목적인 5,000 copies/rxn (1,000copies/ μ l)임을 확인하였다. (2014년의 경우 고농도의 Ct 분포는 20.03 ± 0.5 , CV%는 약 1.3%임)
- 저농도의 경우 Ct 값의 분포가 25.22 ± 0.05 , CV%는 0.2%로 목적인 250 copies/rxn (50copies/ μ l)임을 확인하였다. (2014년의 경우 저농도의 Ct 분포는 25.7 ± 0.5 , CV%는 약 1%임)
- 혼합형의 경우 Ct 값의 분포가 20.69 ± 0.31 , CV%는 1.48%로 약 5,000 copies/rxn (1,000copies/ μ l)임을 확인하였다. (2014년과 비교 수치 없음)

(2) 패널의 유전자형 검증

① TaqMan- RT PCR을 이용한 검증

2012. 10. 16 ~ 2013. 04. 15에 질병관리본부에서 주관한 연구과제인 <HPV 유전형 분석 검사용 정도평가물질 특성분석>에서 유효성을 검증하기 위하여 사용된 유전자형 특이 primer와 probe를 이용하여 TaqMan-RT PCR을 수행함으로써, 패널에 포함된 유전자형이 목적인 유전자형임을 검증하였다.

② HPV DNA Chip을 이용한 검증

패널에 포함된 16종의 HPV를 검출할 수 있는 Cheil HPV DNA Chip Kit를 사용하여 실험하였을 때, 패널에 포함된 유전자형임을 검증하였다.

* 참고 <Cheil HPV DNA Chip Kit>의 사용법

a. HPV와 HBB의 RT-PCR

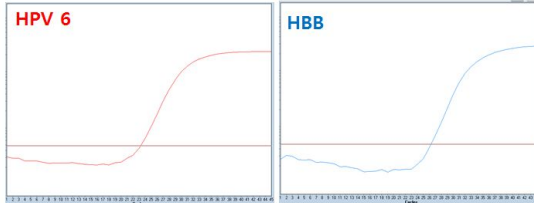
=> Template는 사용량으로 제시된 5 μ l를 사용함.

b. RT-PCR 산물을 Chip slide에 교잡반응

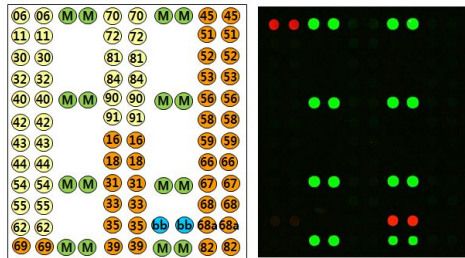
c. Chip slide의 세척 및 건조

d. 스캐닝 및 분석

시료1. HPV 6 단일 감염형

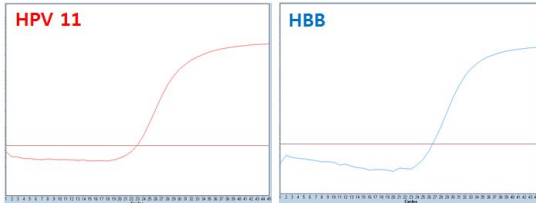


<TaqMan RT-PCR 결과>

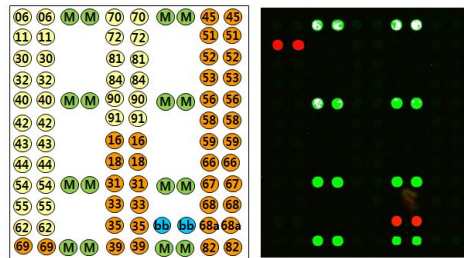


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료2. HPV 11 단일 감염형

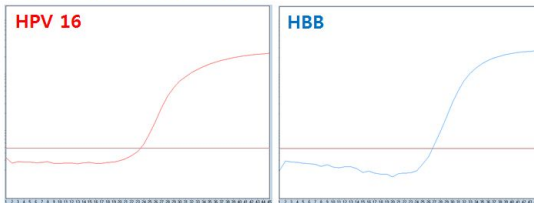


<TaqMan RT-PCR 결과>

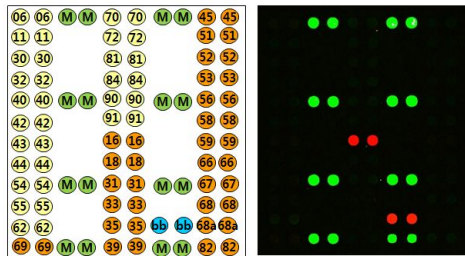


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료3. HPV 16 단일 감염형

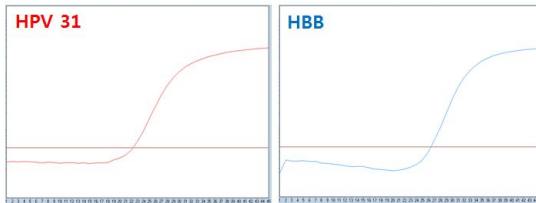


<TaqMan RT-PCR 결과>

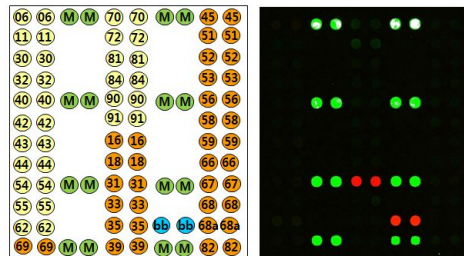


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료4. HPV 31 단일 감염형

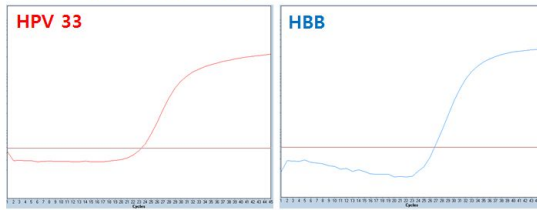


<TaqMan RT-PCR 결과>

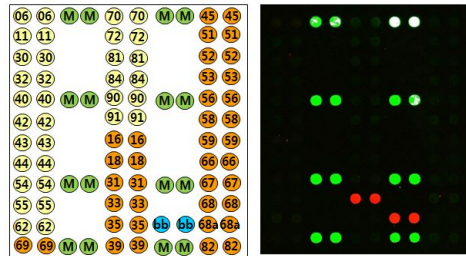


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료5. HPV 33 단일 감염형

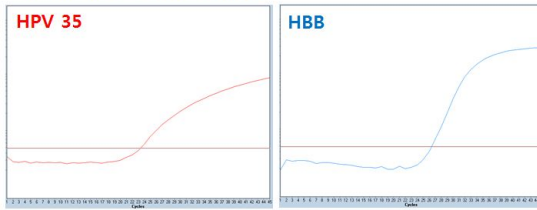


<TaqMan RT-PCR 결과>

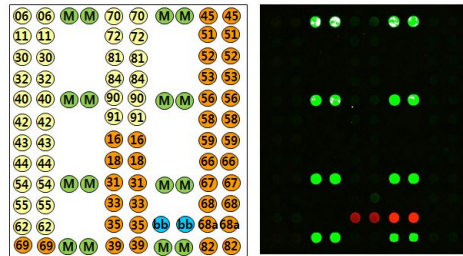


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료6. HPV 35 단일 감염형

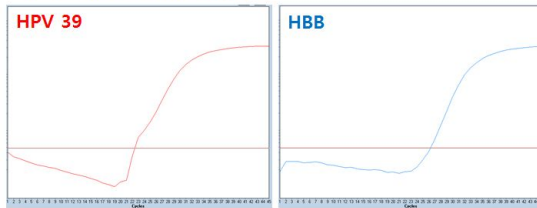


<TaqMan RT-PCR 결과>

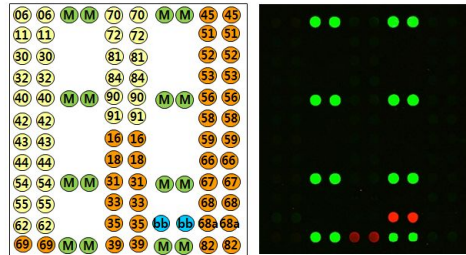


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료7. HPV 39 단일 감염형

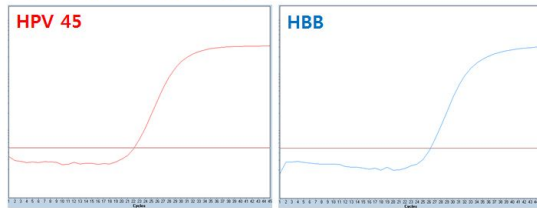


<TaqMan RT-PCR 결과>

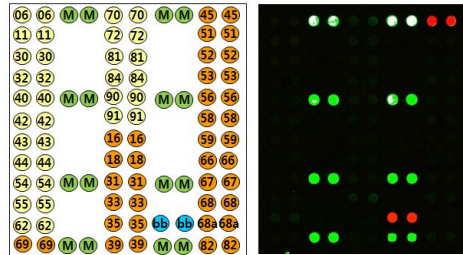


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료8. HPV 45 단일 감염형

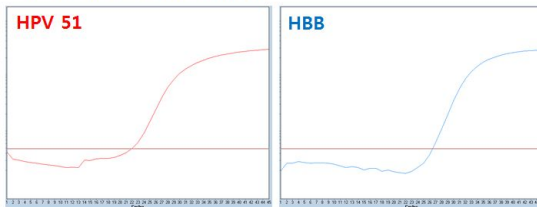


<TaqMan RT-PCR 결과>

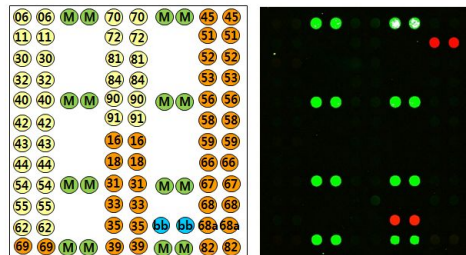


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료9. HPV 51 단일 감염형

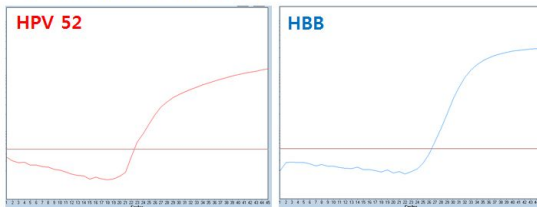


<TaqMan RT-PCR 결과>

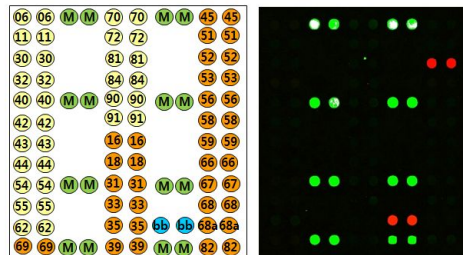


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료10. HPV 52 단일 감염형

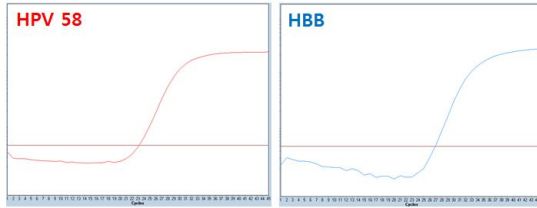


<TaqMan RT-PCR 결과>

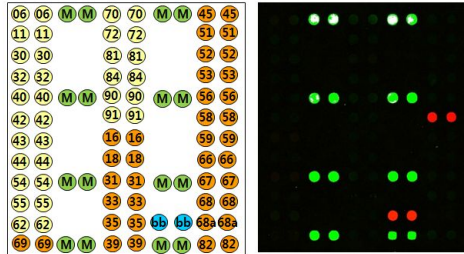


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료11. HPV 58 단일 감염형

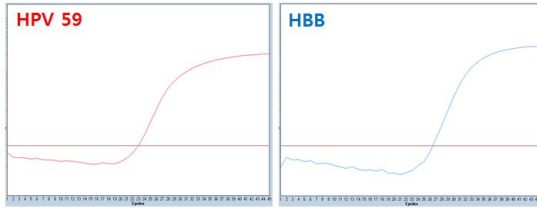


<TaqMan RT-PCR 결과>

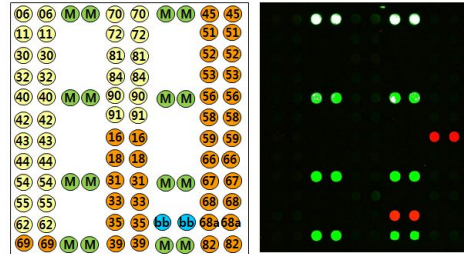


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료12. HPV 59 단일 감염형

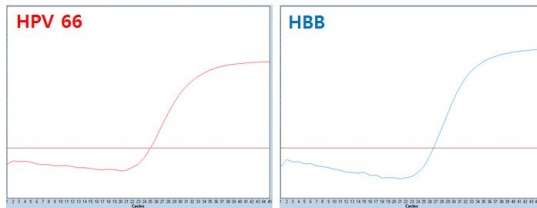


<TaqMan RT-PCR 결과>

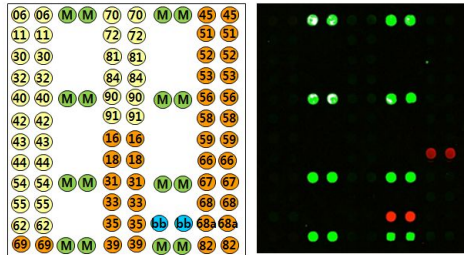


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료13. HPV 66 단일 감염형

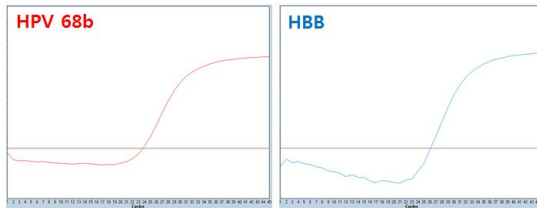


<TaqMan RT-PCR 결과>

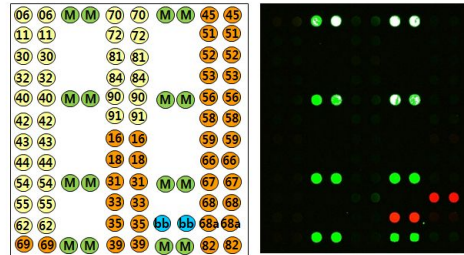


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료14. HPV 68b 단일 감염형

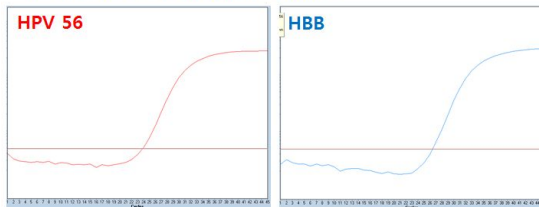


<TaqMan RT-PCR 결과>

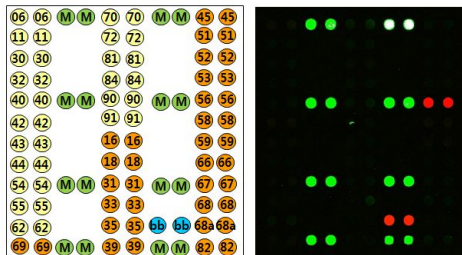


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료15. HPV 56(기준) 단일 감염형

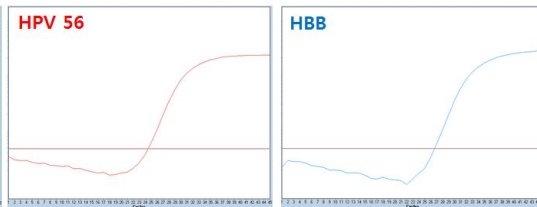


<TaqMan RT-PCR 결과>

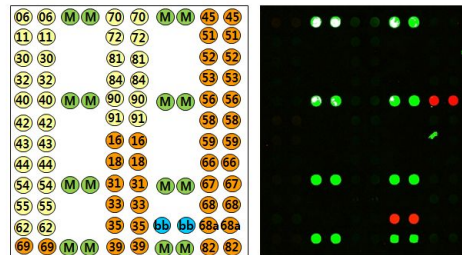


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료16. HPV 56(재) 단일 감염형

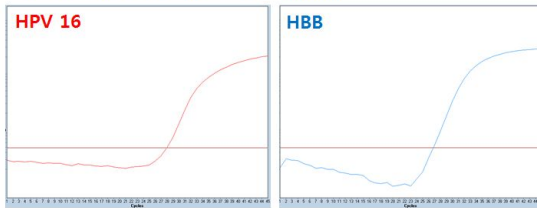


<TaqMan RT-PCR 결과>

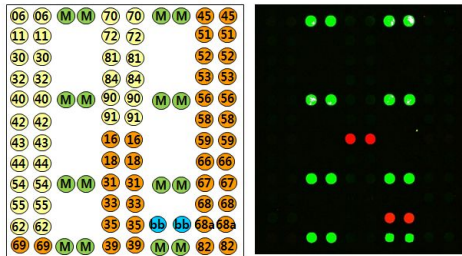


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료17. HPV 16 저농도 단일 감염형

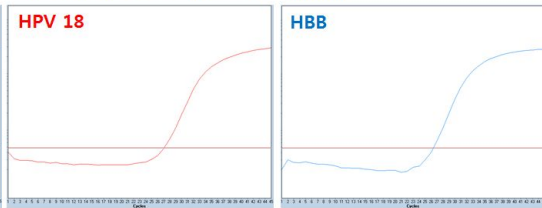


<TaqMan RT-PCR 결과>

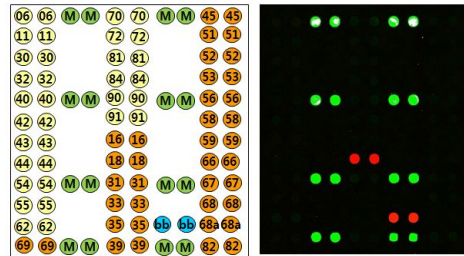


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료18. HPV 18 저농도 단일 감염형

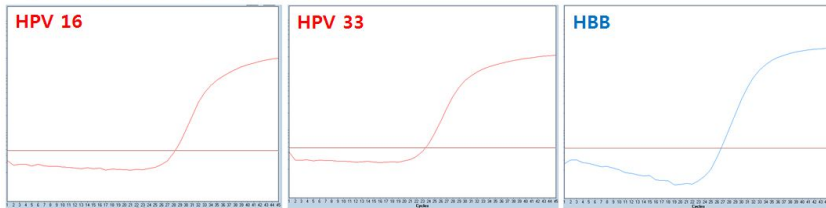


<TaqMan RT-PCR 결과>

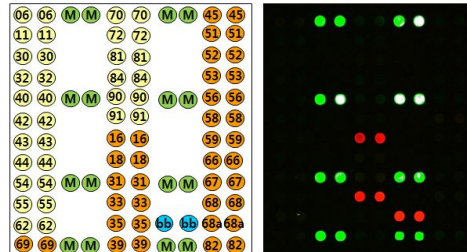


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료19. HPV 16 & 33 다중 감염형

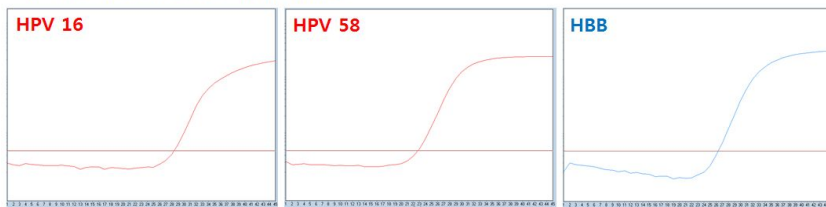


<TaqMan RT-PCR 결과>

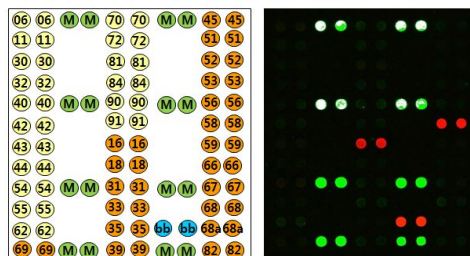


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료20. HPV 16 & 58 다중 감염형

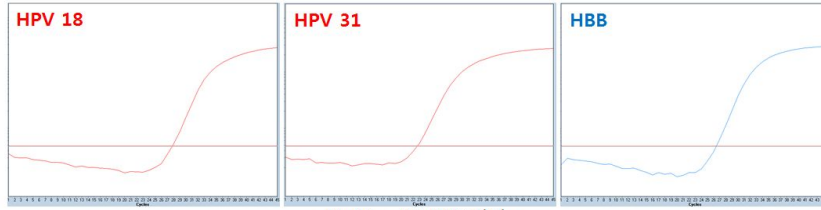


<TaqMan RT-PCR 결과>

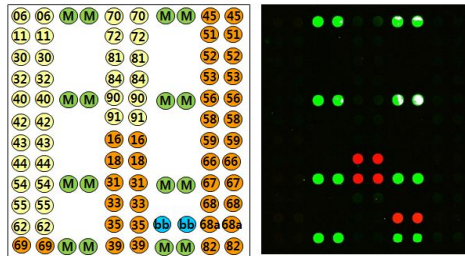


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료21. HPV 18 & 31 다중 감염형

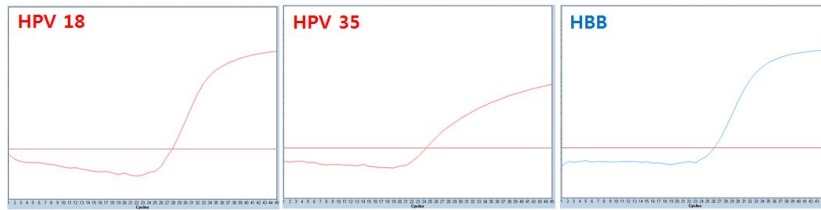


<TaqMan RT-PCR 결과>

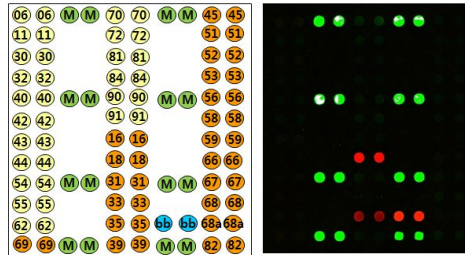


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료22. HPV 18 & 35 다중 감염형

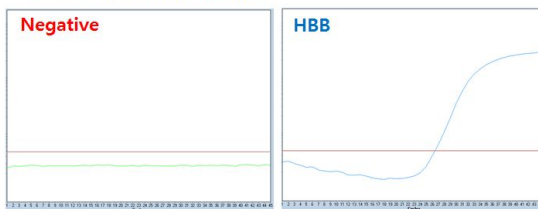


<TaqMan RT-PCR 결과>

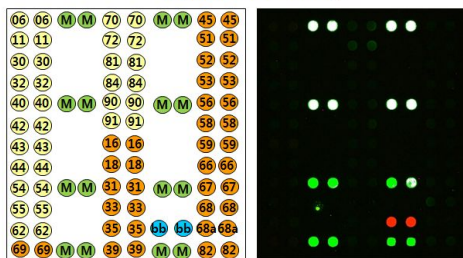


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

시료23. HPV 음성-비감염형

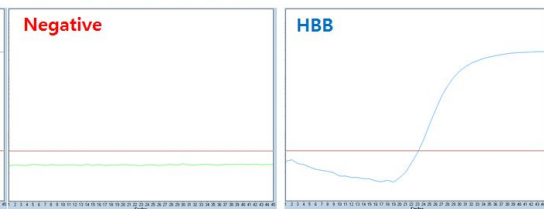


<TaqMan RT-PCR 결과>

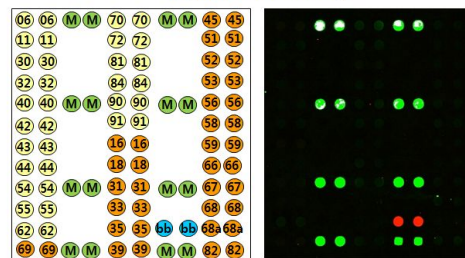


<Cheil HPV DNA Chip 결과>

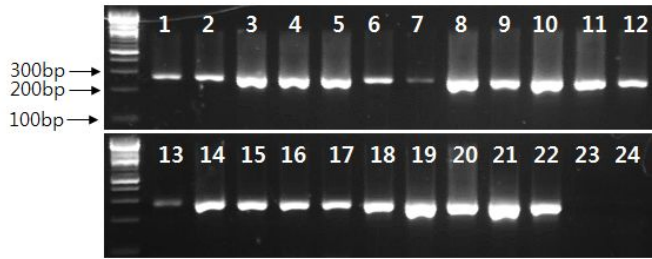
시료24. HPV 음성-비감염형



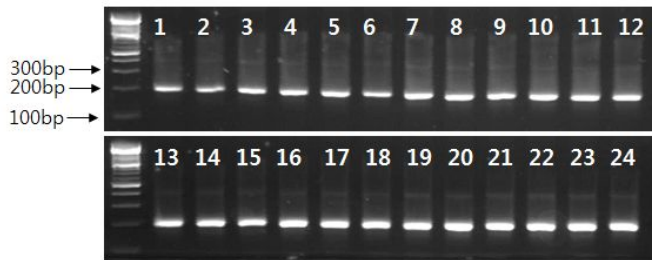
<TaqMan RT-PCR 결과>



<Cheil HPV DNA Chip 결과>



HPV RT-PCR products



HBB RT-PCR products

번호	HPV 유전자형	농도 (/rxn)
No.01	6	5000 copies
No.02	11	
No.03	16	
No.04	31	
No.05	33	
No.06	35	
No.07	39	
No.08	45	
No.09	51	
No.10	52	
No.11	58	
No.12	59	
No.13	66	
No.14	68	
No.15	56 (기준)	
No.16	56 (재)	
No.17	저농도16	250 copies
No.18	저농도18	
No.19	16,33	250/5000 copies
No.20	16,58	
No.21	18,31	
No.22	18,35	
No.23	Negative	5ng (C33A)
No.24	Negative	50ng (C33A)

- 모든 패널에 목적인 유전자형이 포함되어 있음을 확인하였다.
- 모든 패널에 목적인 유전자형 외의 오염 유전자가 없음을 확인하였다.
- 패널에 포함되어 있는 Human genomic DNA의 human beta globin (이하 HBB로 표기)지역을 Internal control 지역으로 사용하였으며, 이는 실험과정의 정상적인 수행 뿐 아니라, 모든 패널에 Human genomic DNA가 포함되어 있음을 반영하였다.
- Cheil HPV DNA Chip Kit의 RT-PCR 산물을 2% agarose gel에 전기영동 하였을 때, 모든 패널에서 HPV와 HBB가 증폭됨을 확인하였다.

2. 패널의 안정성 평가

시간의 경과에 따른 온도조건별 안정성을 SYBR Green RT-PCR 실험을 통하여 확인하였다. 참여기관에서 패널을 전달받고 시험을 수행하기까지의 기간을 약 2주(15일)로 가정하여, 패널을 실온, 냉장, 냉동(-20℃)에 보관하면서 3일 간격으로 안정성을 시험하였다. 또한 안정성과 균질성이 확인된 패널을 Reference Lab. 여덟 기관에 냉동상태로 당일배송 하였고, blind test로 얻은 결과를 분석하여 패널의 적합성을 확인하였다. 배포용으로 적합함이 확인된 패널은 참여기관에 배포하기 1주일 전 SYBR Green RT-PCR과 Chip실험을 통하여 안정성을 재 확인후 배포하였다.

가. 시간의 경과에 따른 온도조건별 안정성

각 시점별로 시료를 취하여 HPV,HBB - SYBR Green RT-PCR을 수행하였고, Ct값을 분석하여 패널의 안정성 여부를 확인하였다.

(1) HPV,HBB - SYBR Green RT-PCR의 Ct값

조건1. 실온에서 보관

date No.	실온-HPV Ct						실온-HBB Ct					
	0D	3D	6D	9D	12D	15D	0D	3D	6D	9D	12D	15D
No.1	36.71	35.69	36.27	35.5	35.29	35.99	24.76	24.77	24.39	24.53	25.68	24.85
No.2	34.48	33.6	33.96	32.97	33.59	34.84	25.01	24.64	23.93	24.48	26.31	24.67
No.3	31.77	30.69	31.42	30.69	31.38	31.42	24.84	24.51	24.35	24.53	25.91	25.4
No.4	29.68	28.6	29.7	29.43	28.6	29.23	24.86	24.69	24.61	24.61	25.81	25.38
No.5	30.47	29.34	29.92	29.36	29.56	31.24	24.82	23.95	24.62	25.04	25.92	25.44
No.6	37.8	36.75	37.41	37.58	37.48	39.26	24.95	23.9	24.4	25.31	26.31	24.39
No.7	40.6	39.52	40.73	40.23	39.75	40.48	24.95	23.75	24.47	24.64	25.87	24.43
No.8	29.84	28.75	29.46	28.65	28.69	28.85	24.91	24.51	24.77	25.38	26.34	24.72
No.9	35.4	34.75	35.53	34.38	34.47	35.65	24.76	24.58	24.57	24.79	25.98	24.72
No.10	29.56	29.27	29.42	28.84	28.57	29.46	24.92	24.57	23.79	24.58	25.63	24.74
No.11	28.96	27.98	28.83	28.41	27.81	28.91	24.74	23.9	23.95	25.4	25.65	24.9
No.12	36.54	36	36.97	36.34	36.35	36.65	25.08	24.35	24.61	24.7	25.87	25.23
No.13	40.15	38.85	39.43	39.4	39.26	39.47	24.8	24.57	23.97	24.88	25.8	24.69
No.14	33.26	31.99	33.3	32.68	32.5	32.47	24.98	24.34	24.49	24.47	25.79	24.21
No.15	35.55	34.36	34.7	34.64	34.54	35.59	24.92	24.56	24.59	24.66	25.83	24.74
No.16	35.18	34.45	35.7	34.85	34.51	34.64	25.03	24.68	24.46	24.97	25.95	23.97
No.17	36.5	36.41	36.26	35.73	36.31	36.86	25.07	24.31	23.92	24.75	26.25	24.77
No.18	33.87	33.24	33.76	33.54	33.38	33.95	24.88	23.84	23.95	24.85	25.75	24.78
No.19	30.48	29.29	29.4	29.38	29.37	30.36	24.85	24.47	24.33	24.87	25.79	25.44
No.20	28.6	27.79	28.69	28.62	27.84	29.17	24.96	24.47	24.43	24.57	25.79	24.71
No.21	29.5	28.56	29.18	28.67	28.38	29.52	24.87	24.65	24.43	24.8	25.91	24.72
No.22	33.55	32.77	34.34	33.56	33.18	33.85	25.18	24.46	24.46	25.25	25.67	24.85
No.23	—	—	—	—	—	—	25.04	24.14	24.36	24.97	26.7	24.48
No.24	—	—	—	—	—	—	22.42	22.22	22.23	21.82	23.52	22.29

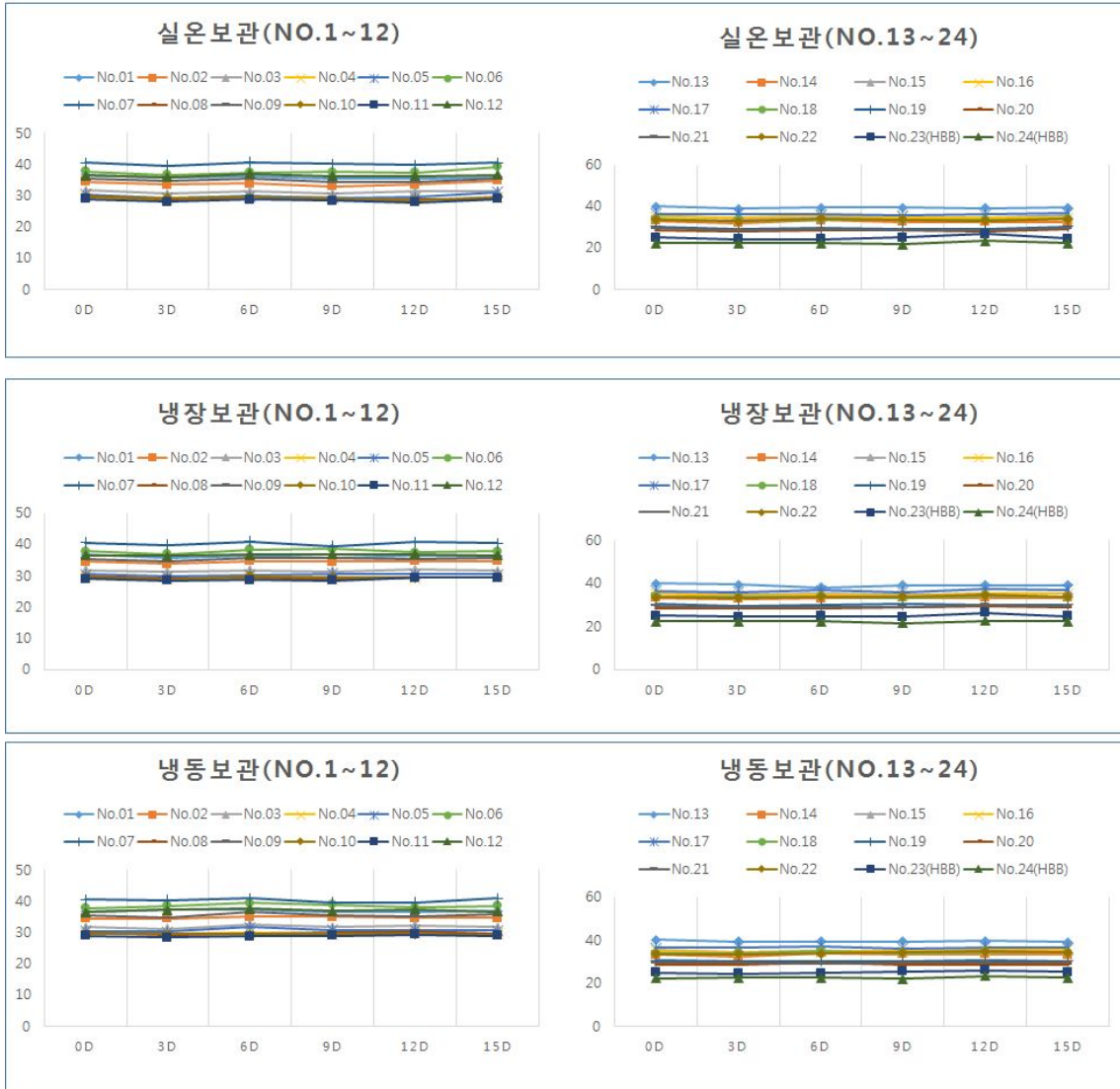
조건2. 냉장에서 보관 (RT-PCR의 Ct값)

date No.	냉장-HPV Ct						냉장-HBB Ct					
	0D	3D	6D	9D	12D	15D	0D	3D	6D	9D	12D	15D
No.1	36.71	35.59	36.49	35.73	36.42	36.2	24.76	24.63	24.48	25.44	26	24.61
No.2	34.48	33.75	34.71	34.52	34.77	34.73	25.01	24.34	24.82	25.58	26.78	25.36
No.3	31.77	31.29	31.81	31.47	31.94	31.54	24.84	23.89	24.74	25.51	25.55	24.7
No.4	29.68	28.99	29.57	28.92	29.45	29.59	24.86	24.4	24.74	25.55	25.96	25.39
No.5	30.47	29.74	30.29	30.64	30.45	30.42	24.82	24.53	24.5	25.21	26.5	24.97
No.6	37.8	36.94	38.35	38.65	37.55	37.91	24.95	24.64	24.49	25.4	26.73	24.7
No.7	40.6	39.91	40.92	39.46	40.85	40.43	24.95	24.62	24.41	24.8	25.68	24.75
No.8	29.84	29.22	29.53	28.9	29.65	29.58	24.91	24.91	24.76	24.93	26.38	25.37
No.9	35.4	34.72	35.6	35.61	35.46	35.72	24.76	24.46	24.64	25.43	26.42	25.34
No.10	29.56	28.74	29.85	29.52	29.42	29.56	24.92	24.58	23.84	24.8	26.66	24.97
No.11	28.96	28.44	28.56	28.43	29.29	29.31	24.74	24.65	24.73	25.45	26.49	24.71
No.12	36.54	36.42	36.7	36.96	36.9	36.61	25.08	24.49	25.52	25.37	25.98	24.98
No.13	40.15	39.42	38.11	39.15	39.21	39.38	24.8	24.45	24.75	24.89	26.43	24.57
No.14	33.26	32.71	33.19	33.38	33.35	33.32	24.98	24.55	24.46	24.87	26.71	24.76
No.15	35.55	34.6	35.43	34.66	35.46	35.46	24.92	24.45	24.83	25.45	26.46	24.91
No.16	35.18	34.39	34.98	34.56	35.22	35.27	25.03	24.68	24.93	25.28	26.56	25.4
No.17	36.5	36.16	36.92	36.07	37.32	37.04	25.07	24.48	25.44	24.52	26.46	25.57
No.18	33.87	33.64	33.94	33.47	34.55	33.69	24.88	24.71	24.76	24.93	26.37	24.95
No.19	30.48	29.51	29.82	30.37	30.29	30.26	24.85	24.29	24.66	25.08	26.67	24.97
No.20	28.6	28.17	28.6	28.75	29.47	28.75	24.96	24.41	24.69	24.93	26.53	25.48
No.21	29.5	28.77	28.84	28.99	30.28	29.65	24.87	24.53	25.4	25.52	26.32	25.46
No.22	33.55	33.31	33.96	33.85	34.62	33.97	25.18	24.55	25.36	25.28	26.45	24.98
No.23	--	--	--	--	--	--	25.04	24.62	24.74	24.45	26.32	24.7
No.24	--	--	--	--	--	--	22.42	22.38	22.43	21.66	22.72	22.4

조건3. 냉동에서 15일 보관 (RT-PCR의 Ct값)

date No.	냉동-HPV Ct						냉동-HBB Ct					
	0D	3D	6D	9D	12D	15D	0D	3D	6D	9D	12D	15D
No.1	36.71	37.24	37.3	36.43	36.46	36.78	24.76	24.51	24.36	24.86	26.52	25.66
No.2	34.48	34.38	34.98	34.96	34.57	34.61	25.01	24.44	24.9	24.75	26.57	25.66
No.3	31.77	31.24	32.63	31.76	32.34	31.68	24.84	24.51	25.25	25.44	26.21	24.92
No.4	29.68	29.69	29.95	29.53	29.78	29.75	24.86	24.61	24.7	25.8	26.43	25.66
No.5	30.47	30.27	31.63	30.77	30.82	30.69	24.82	24.37	24.95	25.39	26.41	25.11
No.6	37.8	38.56	39.43	38.94	37.98	38.53	24.95	24.79	25.43	25.6	26.37	24.41
No.7	40.6	40.34	40.92	39.52	39.54	40.97	24.95	23.97	24.76	24.65	26.27	24.89
No.8	29.84	29.36	29.51	29.94	30.45	29.71	24.91	24.5	24.88	25.36	25.85	25.48
No.9	35.4	34.73	36.51	35.39	35.18	35.79	24.76	24.43	24.67	25.68	26.4	24.66
No.10	29.56	29.55	29.46	29.44	29.45	29.38	24.92	24.37	24.78	24.39	26.3	24.96
No.11	28.96	28.48	28.79	28.92	29.28	28.96	24.74	24.63	24.82	24.59	26.4	25.54
No.12	36.54	37.28	37.58	36.94	37.42	36.75	25.08	24.57	24.83	25.66	26.37	25.41
No.13	40.15	39.42	39.47	39.44	39.62	39.11	24.8	24.57	24.84	25.39	25.75	24.66
No.14	33.26	32.57	34.17	33.6	33.46	33.33	24.98	24.49	24.63	25.68	25.97	24.69
No.15	35.55	34.56	34.76	34.5	35.59	35.48	24.92	24.51	24.62	25.33	26.59	25.37
No.16	35.18	34.56	34.85	34.79	35.46	35.62	25.03	24.56	24.63	24.95	25.78	24.8
No.17	36.5	36.73	37.36	36.2	36.71	36.39	25.07	24.7	25.05	25.21	25.89	24.58
No.18	33.87	33.99	34.94	33.97	34.63	34.38	24.88	24.48	24.8	24.86	26.37	24.65
No.19	30.48	30.3	30.35	30.34	30.51	30.39	24.85	24.59	24.84	25.45	26.94	24.51
No.20	28.6	28.46	29.56	28.85	28.65	28.85	24.96	24.64	24.99	25.59	26.64	25.48
No.21	29.5	29.52	29.25	29.54	29.74	29.74	24.87	24.61	24.72	25.44	26.83	24.59
No.22	33.55	33.58	33.73	34.41	34.99	34.33	25.18	24.55	24.81	24.99	26.87	25.26
No.23	—	—	—	—	—	—	25.04	24.44	24.63	25.49	25.96	25.31
No.24	—	—	—	—	—	—	22.42	22.49	22.59	21.94	23.3	22.71

(2) HPV-RT PCR의 Ct값의 변동 양상 (그래프 분석)



(3) 변동계수(CV%) 분석

패널 번호	HPV 유형	농도 (copies/rxn)	HPV (Ct)			HBB (Ct)		
			평균	SD	CV	평균	SD	CV
No.1	HPV 6	5000	36.26	0.60	1.6%	25.00	0.65	2.6%
No.2	HPV 11	5000	34.34	0.59	1.7%	25.14	0.83	3.3%
No.3	HPV 16	5000	31.57	0.51	1.6%	25.02	0.62	2.5%
No.4	HPV 31	5000	29.40	0.42	1.4%	25.20	0.62	2.5%
No.5	HPV 33	5000	30.35	0.65	2.1%	25.11	0.70	2.8%
No.6	HPV 35	5000	38.07	0.79	2.1%	25.11	0.82	3.3%
No.7	HPV 39	5000	40.26	0.56	1.4%	24.81	0.65	2.6%
No.8	HPV 45	5000	29.38	0.51	1.7%	25.19	0.59	2.3%
No.9	HPV 51	5000	35.31	0.57	1.6%	25.10	0.69	2.7%
No.10	HPV 52	5000	29.34	0.34	1.1%	24.87	0.77	3.1%
No.11	HPV 58	5000	28.71	0.44	1.5%	25.03	0.74	3.0%
No.12	HPV 59	5000	36.78	0.42	1.1%	25.19	0.59	2.3%
No.13	HPV 66	5000	39.31	0.42	1.1%	24.94	0.61	2.5%
No.14	HPV 68	5000	33.08	0.54	1.6%	24.94	0.71	2.8%
No.15	HPV 56 (기존)	5000	34.99	0.48	1.4%	25.11	0.68	2.7%
No.16	HPV 56 (뉴)	5000	34.94	0.42	1.2%	25.04	0.64	2.5%
No.17	HPV 16	250	36.56	0.46	1.3%	25.06	0.71	2.8%
No.18	HPV 18	250	33.93	0.48	1.4%	24.93	0.70	2.8%
No.19	HPV 16/33	250/5000	30.03	0.47	1.6%	25.11	0.78	3.1%
No.20	HPV 16/58	250/5000	28.68	0.49	1.7%	25.14	0.71	2.8%
No.21	HPV 18/31	250/5000	29.26	0.52	1.8%	25.18	0.71	2.8%
No.22	HPV 18/35	250/5000	33.88	0.57	1.7%	25.19	0.68	2.7%
No.23	Negative (C33A DNA)	5ng/rxn	—	—	—	25.02	0.75	3.0%
No.24	Negative (C33A DNA)	50ng/rxn	—	—	—	22.45	0.48	2.1%

- 온도별로 보관하면서 정해진 시점에 시료들을 취하여 SYBR Green RT-PCR을 수행하고, 모든 PCR 산물을 Cheil HPV DNA Chip에 교잡반응 시켰을 때, 목적인 유전자를 모두 검출하였다.
- 보관온도별로 날짜를 달리하여 1회씩 시료를 취하였기 때문에 그룹을 나누어 분석하는데 어려움이 있으며, 이를 대체하여, 조건별 HPV RT-PCR의 Ct결과 값의 패턴을 그래프로 확인 한 결과 시간의 경과에 따른 상향 또는 하향 없이 수평을 유지하였다. 즉, 시료에 포함된 DNA가 분해 또는 농축 없이 안정적으로 보관되었음을 확인하였다.
- RT-PCR의 결과값의 평균과 SD를 이용하여 변동계수(CV%)를 구했을 때 모두 5%미

만으로 이는 실험간에 발생할 수 있는 오차라고 생각된다.

- 참여기관에 패널을 배포 후, 사용자가 가이드라인에 따르지 않고 패널을 보관하더라도 최소 15일간 안정성에는 문제가 없다고 판단하였다.
- * 사용자 가이드라인: 배송된 패널은 -20℃이하 냉동보관

나. 참고검사실(Reference Lab.)을 통한 적합성 평가

(1) 참고검사실의 선정

2014년 HPV 검사실의 현황 분석을 통해 정도관리 성적이 우수한 곳을 대상으로 하고, 다수의 제품을 반영할 수 있도록 여덟 개 기관을 참고검사실로 선정하였다.

(2) 패널평가의 기준

참고검사실의 80% 이상에서 결과의 일치율을 보이는 경우 패널이 배포용으로 적합하다고 판정하였다. 우리나라의 세포유전분야와 미국 CAP(College of American pathologists)의 경우, 인증을 위한 기준으로 종합적 평가 점수를 일치도 80%이상으로 사용하고 있는 바, 참고검사실을 통한 패널 평가의 적합성 기준도 일치도 80%이상으로 설정하였다.

HPV type(s) in the panel		제품 I	제품 C		제품 D		제품 A			유전자형별 일치도
		Ref.1.	Ref.2.	Ref.3.	Ref.4.	Ref.5.	Ref.6.	Ref.7.	Ref.8.	
No.01	6	6	6	6	6	6	6	6	6,16	87.5%
No.02	11	11	11	11	11	11	11	11	11	100%
No.03	16	16	16	16	16	16	16	16	16	100%
No.04	31	31	31	31	31	31	31	31	31,58	87.5%
No.05	33	33	33	33	33	33	33	33	33	100%
No.06	35	35	35	35	35	35	35	35	35	100%
No.07	39	39	39	39	39	39	39	39	39	100%
No.08	45	45	45	45	45	45	45	45	45	100%
No.09	51	51	51	51	51	51	51	51	16,51	87.5%
No.10	52	52	52	52	52	52	52	52	52	100%
No.11	58	58	58	58	58	58	58	58	35,58	87.5%
No.12	59	59	59	59	59	59	59	59	59	100%
No.13	66	66	66	66	66	66	66	66	66	100%
No.14	68	68	68	68	68	68	68	68	68	100%
No.15	56(기존)	56	56	56	56	56	N	N	56	75%
No.16	56(뉴)	56	56	56	56	56	N	56	56	87.5%
No.17	16(저)	16	16	16	16	16	16	16	16	100%
No.18	18(저)	18	18	18	18	18	18	18	18	100%
No.19	16,33	16,33	16,33	16,33	16,33	16,33	16,33	16,33	16,33	100%
No.20	16,58	16,58	16,58	16,58	16,58	16,58	16,58	16,58	16,58	100%
No.21	18,31	18,31	18,31	18,31	18,31	18,31	18,31	18,31	18,31	100%
No.22	18,35	18,35	18,35	18,35	18,35	18,35	18,35	18,35	18,35	100%
No.23	N(저)	N	N	N	N	N	N	16(N)	N(N)	87.5% (100%)*
No.24	N(고)	N	N	N	6	N	N	66(N)	6,16(N)	62.5% (87.5%)*
기관별 일치도		100.0%	100.0%	100.0%	95.8%	100.0%	91.7%	87.5% (95.8%)*	79.1% (83.3%)*	

* 재검 후 일치도

- 제품들의 작용원리는 제품 I의 경우 Linear array, 제품 C는 DNA Chip, 제품 D는 Luminex (bead), 제품 A는 Real time PCR 방법이며, 참고검사실의 해당제품 사용 기관은 각각 1기관, 2기관, 2기관, 3기관이다.
- Ref.6.은 수탁기관이며, 나머지 7개 참고검사실은 대학병원 또는 종합병원에 속하는 진단검사 의학과 2기관과 병리과 5기관이다.
- Ref.1, 2, 3, 5의 기관별 일치도는 100%이며, Ref.4.는 95.8%, Ref.6.은 91.7%이다. Ref.7 과 Ref.8.은 재검 전에는 각각 87.5%, 79.1%이며, 재검 후에는 95.8%와 83.3%였다.
- 유전자형 별 일치도는 No.15가 75%, No.24는 62.5%로 80%이하였고, 나머지 시료는 80% 이상의 일치도를 보였으며 배포하는데 적합하다고 판단하였다.
- 유전자형 별 일치도가 80%이하를 보이는 No.15는 HPV 유전자형이 56인 시료로 제품 A를 사용할 경우 검출률이 매우 낮음을 2014년에 확인 한 바 있으며, 다른 제품을 사용하는 나머지 참여기관에서의 일치율이 100%로 패널시료의 문제라고 판단할 수 없으므로 배포하기로 하였다.

- 유전자형 별 일치도가 80%이하인 No.24는 HPV 음성시료로 C33A에서 추출된 DNA를 사용하여 50ng/rxn 농도로 제작되었다. 검사 수행 시 발생할 수 있는 여러 요인으로 위양성이 발생했을 가능성이 있으므로, Ref.7과 Ref.8에 해당시료의 재검을 요청하였다. 또한, 동일 DNA를 사용하여 5ng/rxn으로 제작된 No.23의 재검도 함께 요청하였다. 그 결과 No.24의 일치도는 최종 87.5%, No.23은 100%였으므로 배포하기에 적합하다고 판정하였다.

다. 안정성의 재확인

패널을 모든 참여기관에 배포하기 1일 전, -70℃에 보관되어 있는 패널의 안정성을 재확인하기 위하여 SYBR Green RT-PCR과 Chip을 이용하여 확인하였다. 적합성을 판단하기 위한 참고값은 안정성 실험(0d, 3d, 6d, 9d, 12d, 15d에서 실온, 냉장, 냉동보관조건)에서 얻어진 Ct값의 평균±2SD로 설정하였다.

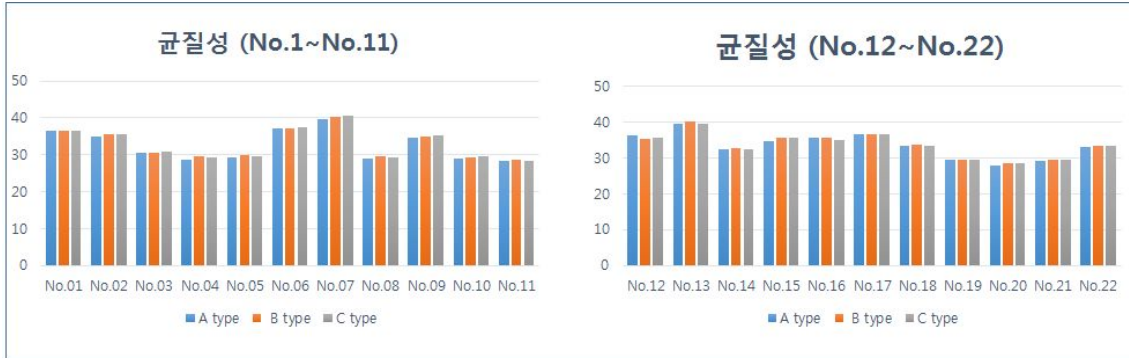
HPV type(s) in the panel		HPV			HBB			배포 적합성
		Ct	참고값		Ct	참고값		
			평균-2sd	평균+2sd		평균-2sd	평균+2sd	
No.01	6	36.95	35.07	37.45	25.02	23.70	26.31	적합
No.02	11	35.54	33.16	35.51	25.26	23.47	26.81	적합
No.03	16	31.21	30.56	32.58	25.62	23.77	26.26	적합
No.04	31	29.54	28.57	30.24	25.12	23.96	26.44	적합
No.05	33	29.75	29.06	31.64	25.45	23.70	26.52	적합
No.06	35	37.38	36.49	39.65	25.55	23.48	26.75	적합
No.07	39	40.47	39.13	41.39	25.09	23.50	26.11	적합
No.08	45	29.6	28.36	30.40	25.17	24.01	26.37	적합
No.09	51	34.76	34.17	36.44	24.37	23.72	26.47	적합
No.10	52	29.63	28.67	30.02	25.17	23.33	26.40	적합
No.11	58	28.89	27.83	29.59	25.58	23.55	26.52	적합
No.12	59	36.51	35.94	37.61	25.04	24.01	26.37	적합
No.13	66	39.51	38.46	40.15	25.3	23.71	26.16	적합
No.14	68	32.8	31.99	34.17	25.33	23.52	26.36	적합
No.15	56(기준)	35.66	34.03	35.95	25.28	23.76	26.47	적합
No.16	56(뉴)	35.61	34.09	35.79	25.28	23.76	26.31	적합
No.17	16(저)	36.7	35.64	37.48	25.12	23.64	26.48	적합
No.18	18(저)	33.42	32.98	34.89	25.26	23.53	26.34	적합
No.19	16,33	29.57	29.09	30.96	25.43	23.54	26.68	적합
No.20	16,58	28.71	27.71	29.65	23.98	23.72	26.57	적합
No.21	18,31	29.28	28.22	30.30	24.29	23.76	26.59	적합
No.22	18,35	33.7	32.74	35.01	25.26	23.83	26.54	적합
No.23	N(저)	—	—	—	25.18	23.53	26.51	적합
No.24	N(고)	—	—	—	22.42	21.49	23.40	적합

- -70℃에 보관되어 있는 패널을 무작위로 선택하여 실험한 결과, 모든 시료가 참고치 안에 포함됨으로 배포하기에 적합하다고 판단하였다.

3. 패널의 균질성 평가

냉동 조건에서 보관중인 A, B, C 유형의 패널을 각각 1세트씩 동일 날에 무작위로 취하여 HPV-SYBR Green RT PCR과 Chip 실험을 수행하였다.

가. HPV-RT PCR의 Ct값의 그래프 분석



나. HPV-RT PCR의 Ct값 및 분석값

HPV type(s) in the panel	A type	B type	C type	평균	SD	CV	
No.01	6	36.49	36.39	36.38	36.4	0.06	0.17%
No.02	11	34.96	35.61	35.5	35.4	0.35	0.98%
No.03	16	30.63	30.68	30.96	30.8	0.18	0.58%
No.04	31	28.8	29.46	29.41	29.2	0.37	1.26%
No.05	33	29.34	29.88	29.5	29.6	0.28	0.94%
No.06	35	37.26	37.28	37.43	37.3	0.09	0.25%
No.07	39	39.51	40.3	40.56	40.1	0.55	1.36%
No.08	45	28.98	29.53	29.42	29.3	0.29	0.99%
No.09	51	34.59	34.94	35.26	34.9	0.34	0.96%
No.10	52	28.85	29.42	29.59	29.3	0.39	1.32%
No.11	58	28.2	28.76	28.37	28.4	0.29	1.01%
No.12	59	36.25	35.23	35.65	35.7	0.51	1.44%
No.13	66	39.4	40.33	39.64	39.8	0.48	1.21%
No.14	68	32.34	32.87	32.52	32.6	0.27	0.83%
No.15	56(기준)	34.84	35.78	35.77	35.5	0.54	1.52%
No.16	56(뉴)	35.64	35.79	34.92	35.5	0.47	1.31%
No.17	16(저)	36.63	36.71	36.47	36.6	0.12	0.33%
No.18	18(저)	33.37	33.56	33.46	33.5	0.10	0.28%
No.19	16,33	29.44	29.48	29.6	29.5	0.08	0.28%
No.20	16,58	27.84	28.54	28.54	28.3	0.40	1.43%
No.21	18,31	29.27	29.5	29.55	29.4	0.15	0.51%
No.22	18,35	32.99	33.33	33.43	33.3	0.23	0.69%
No.23	N(저)	—	—	—	—	—	—
No.24	N(고)	—	—	—	—	—	—

○ A,B,C 유형에서 얻어진 Ct값의 평균과 SD를 이용하여 변동계수(CV%)를 분석한 결과 모두 5%미만으로 균질함을 확인하였다.

- 이를 그래프로 분석한 결과 모든 패널이 균질함을 확인하였다.
- RT-PCR 결과 얻어진 PCR 산물을 Cheil HPV DNA Chip에 교잡시켰을 때, 목적인 순서의 유전자형을 모두 확인하였다.

3.3. 참여기관 배포를 통한 외부 정도평가 진행

- 참여기관 모집완료 후, 정도관리 물질을 드라이아이스가 동봉된 상태로 당일 배송하였다.
- 이와 함께 이메일로 HPV 유전형 검사 외부정도평가 패널 안내문 (별첨3), 서약서 (별첨4), 검체인수증 (별첨5), 결과지 양식 (별첨6), 설문지 (별첨7), 연구원 등록 pool (별첨8), 개인정보 활용동의서 (별첨9)와 패널의 유전자형 회신지 (별첨10) 송부하였다.
- 사용자는 시료의 상태를 확인 후 검체인수증과 서약서등 필요서류를 작성하여 메일 또는 우편으로 회신하였다.
- HPV검사가 완료된 기관은 결과지 양식에 검사결과를 기입하여 메일로 회신하였다.
- 필요시 정도관리 물질을 재발송한 후 결과를 회신 받았다.

3.4. HPV 검사현황조사를 위한 설문지의 개발

- 설문지는 기관검사실 및 검사제품 정보, 제공된 HPV 정도관리 물질의 평가, 외부정도평가 프로그램 실용화를 포함하였다.
- 답변은 이메일로 회신 받았으며, HPV 정도관리 물질과 정도관리 방법에 대한 제안 사항을 확인하고 취합하였다.

1. 기관검사실 및 검사제품 정보

검사기관의 정보와 검사자의 정보를 구체적으로 분류 할 수 있도록 설문을 시행하였다.

질문 분류		선택지문
참여기관명	1) 참여기관명	(기술)
병원정보	2) 병원분류	1. 종합전문병원:7개 진료과목 이상,100병상 이상이면서 대학병원인 경우 2. 종합병원: 7개 진료과목 이상, 병상수 100병상 이상인 병원 3. 병원: 병상수 30병상 이상인 병원 4. 의원: 병상수 30병상 미만 5. 수탁전문검사기관
	3) 소속과	1.진단검사의학과 2.병리과
HPV 검사실 정보	4) 검사연간건수	1. 1,000이하 2. 1,001~5,000 3. 5,001~10,000 4. 10,001건 이상
	5) 검사제품명	1.제조사/ 2.제품명/ 3.사용한 제품의 Lot. No. 기술

2. 제공된 HPV 정도관리 물질의 평가

본 과제에서 사용하는 정도관리 물질을 평가하여, 적정한 형태를 찾고 개선점을 알고자 설문을 개발하였다.

질문분류	선택지문
1) 정도평가 수행	1. 제조사의 매뉴얼에 준해서 검사함 2. 제조사의 매뉴얼을 변환하여 검사함
2) 정도평가 물질의 개선사항	1. 개선사항 없음 2. 개선사항 있음 (기술)
3) 패널에 포함된 시료의 수 (24시료)	1. 적정 2. 부적정 (부적정 사유 기술)
4) 표준물질 양 (20 μ l)	1. 적절 2. 부적절 (적절한 검체량: ul)
5) 검사기간 (14 days)	1. 적절 2. 부적절 (적절한 기간: 일)
6) 기타 개선사항	1. 없음 2. 있음 (의견기술)

3. HPV검사 외부정도평가 프로그램 실용화를 위한 제안

향후 정도관리 프로그램에 사용될 수 있는 물질의 적정한 형태를 찾고, 정도평가 시행방법에 대한 의견을 수렴하고자 설문을 개발하였다.

질문분류	선택지문
1) HR-HPV genotypes 질본에서 개발한 HR-HPV 유형은 14가지입니다. 정도평가에 사용할 HR-HPV 유형 결정입니다.	1. HR14종 전부 2. 자궁경부암과 관련된 상위 HR5종 3. HPV16+HPV18 4. 기타: 기술
2) LR-HPV genotypes 질본에서 개발한 LR-HPV 유형은 2가지입니다. 정도관리에 사용할 LR-HPV 유형 결정입니다.	HR-HPV 유형외 1. LR 2종 포함 2. LR 2종 포함안함
3) HPV DNA panel 수 (시료수) 대다수 HPV 키트당 8개가 한 세트로 8배수로 하였습니다.	1. 8종 2. 16종 3. 24종 4. 기타: 숫자기술
4) 정도관리 평가주기	1. 1회/년 2. 2회/년 3. 기타: 기술
5) 정도관리평가 결과의 정확성 평가 방법	정확성 정의: 1. HPV 단일유형과 중복유형 모두 일치 2. HPV 단일유형과 중복유형 중 한 유형이상 일치
6) 정도평가 통과 기준	1. 80%이상 2. 70% 이상 3. 기타 기술
7) 기타의견 (본 연구의 내용을 포함하여 외부정도관리 프로그램개발위한 의견)	(기술)

3.5. HPV검사 외부정도평가 결과의 자료수집 및 결과분석

1. HPV 검사결과의 분석 방법

가. 결과의 수집

- 이메일을 통하여 33기관에서 회신 받은 HPV 검사결과를 분석하였다.
- 패널의 유전자형과 참여기관으로부터 회신 받은 결과를 비교하고, 아래 표와 같이 6가지 유형으로 분류하였다.

분류			예시		
			패널의 유전자형	기관의 결과	실험 판정
유형 1.	일치.		16	16	a
			16, 58	16, 58	a
			N	N	d
유형 2.	불일치1. target과 다른 유전자형을 함께 검출		58	58, 33	b
			16, 58	16, 58, 33	b
유형 3.	불일치2. 양성을 음성으로 판정		31	N	c
유형 4.	불일치3. 혼합형 중 일부만 일치		16, 58	16	c
유형 5.	불일치4. 양성을 다른 유전형으로 판정		58	18	c
유형 6.	불일치5. 음성을 양성으로 판정		N	11	b

나. 통계분석방법

- 아래의 방법으로 참여기관의 검사결과에 대한 민감도, 특이도, 정확도, 위양성과 위음성을, 양성과 음성 예측도를 계산하였다.
- 계산된 결과를 이용하여, 기관 특성별 경향, 제품별 경향, 유전자형별 정확도등을 도출하였다.

진단실험실결과		패널결과(확진)		제공된 검체의 양성 및 음성 결과	
		+	-	+	-
실험결과	+	(a)	(b)		
	-	(c)	(d)		

실험실결과		패널(확진)		제공된 검체의 양성 및 음성 결과	
		+	-	+	-
실험 결과	+	<div style="background-color: yellow; border: 1px solid black; padding: 2px;">완전일치(양성)</div>	<div style="background-color: red; border: 1px solid black; padding: 2px;">불일치5: 음성을 양성으로 판정</div> <div style="background-color: cyan; border: 1px solid black; padding: 2px;">불일치1. target과 다른 유전자형을 함께 검출</div>		
	-	<div style="background-color: orange; border: 1px solid black; padding: 2px;">불일치2: 양성을 음성으로 판정</div> <div style="background-color: green; border: 1px solid black; padding: 2px;">불일치3. 혼합형 중 일부만 일치</div> <div style="background-color: purple; border: 1px solid black; padding: 2px;">불일치4: 양성을 다른 유전형으로 판정</div>	<div style="background-color: yellow; border: 1px solid black; padding: 2px;">완전일치(음성)</div>		

- 진양성(true positive) 검체수: a+c
- 위양성(false positive) 검체수: b
- 위음성(false negative) 검체수: c
- 진음성(true negative) 검체수: b+d

- 민감도(%)= $\{a/(a+c)\} \times 100$
- 특이도(%)= $\{d/(b+d)\} \times 100$
- 정확도(%)= $(a+d)/\text{총검체수} \times 100$
- 위양성율(%)= $(b/\text{총검체수}) \times 100$
- 위음성율(%)= $(c/\text{총검체수}) \times 100$
- 양성예측도= $a/(a+b)$
- 음성예측도= $d/(c+d)$

2. 설문 답변의 분석

30기관 (3개 기관은 서로 다른 제품을 이용하여 중복 참여함)에 속한 연구원들의 설문에 대한 답변을 통계 분석 처리하였다. 문항에 대한 답변의 비율을 계산하고, 기술된 내용들을 파악하였다.

3.6. 정도평가 결과 검사기관으로 환류

모든 참여기관에 패널의 유전자형 회신지 (별첨8.)를 2016년 06월 21일에 이메일로 일괄 발송하였다.

◎ 별첨 1. 연구 참여 안내문

◎ 연구 참여 안내문 ◎

안녕하십니까? 귀 기관의 무궁한 발전을 기원합니다.

HPV 유전형 검사의 질관리를 위하여 질병관리본부가 공고한 "HPV 유전형 검사의 외부정도관리평가 프로그램 실용화"의 과제에 참여할 기관을 모집하고 있습니다.

최근 질병관리본부는 HPV 감염의 정확한 진단 뿐 아니라 유전형 분석검사 정도관리평가를 위한 물질을 확보하고자, 재조합 HPV DNA 16종을 제조하여 정도관리 물질로써의 적합성과 사용가능성을 평가한 바 있습니다. 제조된 재조합 HPV-DNA는 국내 대부분 Chip 제품의 target 지역인 HPV L1 전 지역을 포함한 Plasmid DNA 형태로, HR-HPV 14종과 LR-HPV 2종으로 구성되어 있습니다.

질병관리본부가 공고한 상기 과제에 관하여 대한병리학회, 대한진단검사의학회가 공동 참여하여 본 연구를 실시하고자 합니다.

본 연구의 목적은 질병관리본부에서 개발한 HPV 유전형검사용 표준물질을 활용하여 HPV genotyping 검사의 정도관리평가 프로그램을 실용화함으로써, 대한병리학회와 대한진단검사의학회 및 대한임상검사정도관리협회의 특성에 맞는 HPV 외부정도관리평가 시스템을 구축하는데 목적이 있습니다.

연구 참여는 HPV DNA L1 gene을 이용하여 개발되고 식약처에서 허가된 HPV 검사제품 (예: 안국바이오진단, 굿젠, 램메드, 파나진의 Chip과 씨젠의 Real time-PCR제품, 인포피아, Genematrix, LG생명에서 제조된 HPV DNA 검사 kit 및 그 외 L1 genotyping제품)을 사용하고 있는 검사실을 대상으로 하며, 양 학회 소속기관에서 약 50 기관 정도를 모집 할 계획입니다. 참여기관에는 질병관리본부가 제공한 재조합 DNA 16종류로 구성된 패널물질 24가지를 제공하여 HPV 정도관리평가를 실시할 예정입니다.

연구에 참여하고자 하는 기관은 아래의 신청서를 이용하여 E-mail로 신청해 주시기 바랍니다.

HPV 유전형검사에 대한 지속적이고 체계적인 질 평가 및 관리를 통하여 안전하고 편리한 HPV 검사 환경이 조성되기를 희망합니다.

여러분의 적극적 참여와 고견을 기대합니다. 감사합니다.

책임연구원 단국의대 제일병원 병리과 홍성란

연구원 분당서울대학교병원 진단검사의학과 박경운/분당서울대학교병원 진단검사의학과 황상미

연구원 연세의대 신촌세브란스병원 병리과 조남훈 / 국립암센터 병리과 유종우

<추신: 본 연구는 대한병리학회와 진단검사의학회 및 대한임상검사정도관리협회에서 시행하는 외부정도관리평가와는 관계가 없음을 알립니다.>

◎ 별첨 2. 연구참가 신청서

◎HPV 유전형 검사의 외부정도관리평가 프로그램 실용화 연구 참가신청서 ◎

1. 신청

- 신청기관 :
- 신청인 :
- 전화 :
- E-mail :
- FAX :

2. 참여 기관은 연구 진행을 위하여 다음 사항에 관한 정보를 부탁드립니다.

- 기관구분: 종합전문병원(), 종합병원(), 수탁전문검사기관()

- 병상 수:

- 검사에 사용 중인 HPV 검사 제품명

- HPV 검사 연간 건수:
1,000이하 (), 1,001~5,000 (), 5,001~10,000 (), 10,001~50,000건 ()
50,001건 이상 ()

3. 정도관리 물질을 받을 곳 (퀵배송 예정입니다. 수령 가능한 곳을 적어주세요)

- 주소: _____
- 전화:
- 수령인 :

4. 반송처:

- 주소: 서울시 중구 목정동 1-19 제일병원 병리과 조정숙
- 전화: 02-2000-7664
- E-mail: 조정숙vegaphilia@naver.com
- FAX: 02-2000-7779

감사합니다.

HPV 유전형검사 외부정도평가 패널 안내문

안녕하세요?

귀 기관의 무궁한 발전을 기원하며, 「**HPV 유전형 검사 외부정도평가 프로그램 실용화**」에 참여해주셔서 감사드립니다.

이전에 안내해 드린바와 같이 본 과제 목적은 질병관리본부에서 개발한 HPV 유전형 검사용 표준물질을 활용하여, HPV 유전형 검사의 질 향상을 위한 체계적인 외부정도평가 프로그램을 실용화 하는 것 입니다. 이를 위해 질병관리본부로부터 제공받은 HPV 표준물질을 이용하여 제작한 외부정도평가용 패널 (24개 시료: 단일 혹은 다중 유전형 형태)과 설문지를 송부하오니 유전자 검사 수행 후 그 결과를 회신하여 주시기 바랍니다.

책임연구원 단국대학교 제일병원 홍성란

(전화번호: / 전자우편주소: xxx@naver.com)

□ 검사 시 유의사항

- **패널상태와 처리:** 패널의 각 검체는 인간게놈 DNA에 HPV 재조합 플라스미드가 포함되어있는 형태로 DNA 추출 과정이 필요하지 않습니다.
- **검체 사용량:** 각 반응 당 5ul 씩 사용
EX) HPV PCR 반응 5ul, Internal control PCR반응 5ul 사용
- **보관:** 검체 수령 즉시 냉동보관 후 실험 시 각 기관에서 사용하고 있는 검사법에 따라 분석하십시오. 실험 후 남은 검체는 서약서 내용에 따라 결과 회신 후 폐기하여 주시기 바랍니다.

□ 아래 사항을 부탁드립니다.

- 본 패널 수령시 검체상태 확인 후 **검체 인수증**을 전자우편 (xxxx@naver.com)으로 보내 주시기 바랍니다.
- 본 패널은 귀 실험실의 일상적인 HPV 유전형 검사용 검체와 동일하게 취급하고, HPV 유전자 검사 결과는 검체 수령일로부터 2주 이내 **결과지 양식**에 기록 후 전자우편 (xxxx@naver.com) 으로 보내주시기 바랍니다.
- 본 과제의 보안을 위해 **서약서**에 서명 후 **원본**을 아래 주소로 송부해 주시기 바랍니다
- **연구원 POOL 등록 신청서와 개인정보활용동의서, 개인정보프로필**은 연구에 참여하시는 기관의 연구담당 선생님의 자문비를 위한 서류입니다. 불편하시겠으나, 간단한 작성 후 **통장사본, 신분증사본**과 함께 **원본**을 아래 주소로 송부해주시기 바랍니다

[주소: xxx].

- ※ 본 외부정도평가 프로그램 실용화에 참여하여 주셔서 다시 한번 감사드리며, 문의사항 있으시면 언제든지 연락주시기 바랍니다. 한 가지 분석방법으로 실험을 진행하여 주시기 바랍니다.

서 약 서(참여기관 연구책임자 用)

본인 은(는) 질병관리본부 에이즈·종양바이러스과 에서 수행하는
「 과제명 : HPV 유전형 검사 외부정도평가 프로그램 실용화 」 연구용역
에 참여함에 있어 다음 사항을 준수할 것을 엄숙히 서약한다.

1. 본 연구과제를 수행함에 있어, 제공된 HPV 외부정도평가용 패널물질을 본 연구 목적 이외 다른 용도로 사용하지 않을 것을 서약한다.
2. 제공된 HPV 외부정도평가용 패널물질에 관한 정보나 본 연구의 성과물을 사전 승인 없이 외부에 공개하지 않으며, 연구결과에 대한 회신 후 잔여 패널물질은 모두 폐기할 것을 서약한다.
3. 상기 서약이 지켜지지 않을 경우 동기 여하를 막론하고 그 결과가 반국가적 행위임을 자인하고, 이를 위반하여 발생하는 민·형사상 및 보안상의 책임은 관련 제 법규에 의한 조치에 따를 것을 서약한다.

년 월 일

질병관리본부장 귀하

서약자

소 속

직 급(직위)

성 명

(인)

검 체 인 수 증

『『HPV 유전형 검사 외부정도평가 프로그램 실용화』의 원활한 진행을 위하여 참가 시험기관은 패널을 수령하자마자 검체 상태를 확인 후, 아래 내용을 입력하여 메일이나 우편으로 보내주시기 바랍니다.

검체수령일	2016- ____ - ____
수령기관	
인수자명	(인)
확인자명	(인)
실험자명	

질문1) 24개 검체가 모두 있습니까?

- ① 예 ② 아니오 (개)

질문2) 튜브가 파손되어 배송된 검체가 있습니까?

- ① 예 ② 아니오

질문3) 검체가 냉장상태로 배송되었습니까?

- ① 예 ② 아니오

질문4) 박스내 드라이아이스가 존재하였습니까?

- ① 예 ② 아니오

◎ 별첨 7. 설문지

기관명	병원정보	HPV 검사실 정보		
	병원분류	소속과	검사연간건수	검사제품명
	1. 종합전문병원: 7개 진료과목 이상, 100병상 이상인 대학 병원인 경우 2. 종합병원: 7개 진료과목 이상, 병상수 100병상 이상인 병원 3. 병원: 병상수 30병상 이상인 병원 4. 의원: 병상수 30병상 미만 5. 수탁전문검사기관	1. 진단검사의학과 2. 병리과	1. 1,000이하 2. 1,001~5,000 3. 5,001~10,000 4. 10,001건 이상	1. 제조사/ 2. 제품명/ 3. 사용한 제품의 Lot no. 기술
지문선택				1. 2. 3.

HPV 검사를 위한 제공된 정도관리용 물질 평가						
기관명	정도평가 수행	정도관리평가 물질의 개선사항	패널에 포함된 시료의 수 적정	표준물질 양의 적절성	검사기간의 적절성	기타 개선사항
	1. 제조사의 매뉴얼에 준해서 검사함 2. 제조사의 매뉴얼을 변환하여 검사함	1. 없음 2. 있음 (기술)	1. 패널수 적정 2. 패널수 부적정 (기술)	1. 적절 2. 부적절 (적절한 검체량: ul)	1. 적절 2. 부적절 (적절한 기간: 일)	1. 없음 2. 있음: 의견기술
지문선택						

외부정도관리평가 프로그램 실용화를 위한 제안							
기관명	HR-HPV genotypes: *1	LR-HPV genotypes: *2	HPV DNA panel 수 (시료수)*3	정도관리 평가주기	정도관리평가 결과의 정확성 평가 방법	정도평가 통과 기준	기타의견
	1. HR14종 전부 2. 자궁경부암과 관련된 상위 HR5종 3. HPV16+HPV18 4. 기타: 기술	HR-HPV 유형의 1. LR 2종 포함 2. LR 2종 포함안함	1. 8종 2. 16종 3. 24종 4. 기타: 숫자기술	1. 1회/년 2. 2회/년 3. 기타: 기술	정확성 정의: HPV 단일유형과 중복유형 모두 일치 *4 2. HPV 단일유형과 중복유형 중 한 유형이상 일치 *5	정확도 통과 기준: 1. 80%이상 / 2. 70% 이상 / 3. 기타 기술	본 연구의 내용을 포함하여 외부정도관리 프로그램 실용화를 위한 의견 기술
지문선택							
*1: 일본에서 개발한 HR-HPV 유형은 14가지입니다. 정도평가에 사용할 HR-HPV 유형 결정입니다. *2: 일본에서 개발한 LR-HPV 유형은 2가지입니다. 정도관리에 사용할 LR-HPV 유형 결정입니다. *3: 대다수 HPV 키트당 8개가 한 세트로 8배수로 하였습니다. *4: HPV 단일유형이 일치하고 동시에 중복유형의 모든 유형이 일치하는 경우입니다. *5: HPV 단일유형이 일치하고 동시에 중복유형 중 한 유형 이상이 일치하는 경우입니다.							

◎별첨 8. 연구원 pool 등록신청서

연구원 POOL 등록 신청서

신규추가 정보변경

[인적정보]

연구원 구분	<input type="checkbox"/> 학생연구원		<input type="checkbox"/> 외부연구원	
성명			(영문성명)	
내.외국인 (√ 체크)	내국인, 외국인		주민번호	-
외국인번호	-	외국인 여권번호		거주구분 (√ 체크) 거주, 비거주
생년월일			국적	
남녀구분 (√ 체크)	남자, 여자		휴대전화	
이메일				
주 소				
(영문주소)	※ 외국인 비거주자 필수 작성			
소속			직급	
출신대학명			출신학과명	
출신대학원명			출신전공명	
학위과정			학위상세	
학위취득일자			개인정보수집활용동의 (√ 체크)	여, 부 (개인정보활용동의서 제출)
연구원계열 (√ 체크)	인문, 사회, 이학, 공학, 기타, 의약학(안학), 예체능, 교육(인문), 교육(자연), 교육(사회), 교육(예체능)			
연구원직급 (√ 체크)	교수, 부교수급(박사졸업후 10년이상), 조교수급(박사졸업후 5년이상), 연구전임, 박사졸, 박사과정, 박사수료, 석사졸, 석사과정, 석사수료, 학사졸, 학사과정 이하			

[계좌정보]

은행		예금주	
계좌번호			

※붙임 : 신분증 및 계좌 사본, 개인정보 수집·활용동의서

2016 년 월 일

연구책임자 : 홍 성 란 (인)

산학협력단장 귀하

개인정보 수집·활용 동의서

[동의자]

성명		생년월일	
----	--	------	--

[개인정보 수집·활용 동의]

1. 개인정보 수집·이용목적 : 본인식별절차, 소득세 신고, 제증명서 발급, 각종 공지 및 정보제공
2. 개인정보 수집항목 : 성명, 이메일, 연락처, 주소, 계좌정보, 자격 등록 확인을 위한 사항
3. 개인정보 보유 및 이용기한 : 증빙서류 발급 시까지 활용, 영구보관
4. 동의 거부권리 안내 : 신청인은 본 개인정보 수집 및 활용에 대한 동의를 거부할 수 있으며, 이 경우 불이익은 없으나 해당 신청과 관련된 내용이 불가합니다.

[고유식별정보 처리 동의]

1. 개인정보 수집·이용목적 : 본인식별절차, 소득세 신고, 제증명서 발급
2. 개인정보 수집항목 : 생년월일
3. 개인정보 보유 및 이용기한 : 증빙서류 발급 시까지 활용, 영구보관
4. 동의 거부권리 안내 : 신청인은 본 개인정보 수집 및 활용에 대한 동의를 거부할 수 있으며, 이 경우 불이익은 없으나 해당 신청과 관련된 내용이 불가합니다.

상기 본인은 개인정보 보호법등 관련 법규에 의거하여 개인정보 수집 및 활용에 동의합니다.

2016 년 월 일

동 의 자 : (인)

산학협력단장 귀하

◎별첨 10. 패널의 유전자형 회신지

HPV 유전형 검사 외부정도평가 프로그램 실용화 (질병관리본부)

Panel ID	HPV type(s) in the panel	Content (copies per 5ul)	참여기관명 기입
KNIH 1	6	5000	검출한 유전자형
KNIH 2	11	5000	검출한 유전자형
KNIH 3	16	5000	검출한 유전자형
KNIH 4	31	5000	검출한 유전자형
KNIH 5	33	5000	검출한 유전자형
KNIH 6	35	5000	검출한 유전자형
KNIH 7	39	5000	검출한 유전자형
KNIH 8	45	5000	검출한 유전자형
KNIH 9	51	5000	검출한 유전자형
KNIH 10	52	5000	검출한 유전자형
KNIH 11	58	5000	검출한 유전자형
KNIH 12	59	5000	검출한 유전자형
KNIH 13	66	5000	검출한 유전자형
KNIH 14	68	5000	검출한 유전자형
KNIH 15	56	5000	검출한 유전자형
KNIH 16	56	5000	검출한 유전자형
KNIH 17	16	250	검출한 유전자형
KNIH 18	18	250	검출한 유전자형
KNIH 19	16,33	250/5000	검출한 유전자형
KNIH 20	16,58	250/5000	검출한 유전자형
KNIH 21	18,31	250/5000	검출한 유전자형
KNIH 22	18,35	250/5000	검출한 유전자형
KNIH 23	N	N	검출한 유전자형
KNIH 24	N	N	검출한 유전자형

제4장 최종 연구결과

4.1. 정도평가용 패널을 이용한 참여기관의 실험 결과 분석

1. 참여기관

모집된 30기관 중 3기관에서는 서로 다른 두 종류의 HPV 검사키트를 사용하고 나머지 27기관에서는 한 종류의 HPV 검사키트를 사용하여 실험하였다. 총, 33개의 검사결과를 분석하였다.

2. 수집된 HPV 검사 결과의 분류

통계관련 자문위원 2인의 의견을 수렴하여, 아래 표와 같이 참여기관의 검사결과를 6가지 유형으로 분류하였고 분석을 시행하였다.

- ① 일치. 목적인 유전형을 정확하게 검출한 경우와 음성을 음성으로 진단한 경우 (노란색으로 표시)
- ② 불일치1. 목적인 유전형 외 다른 유전형을 함께 검출한 경우 (파란색으로 표시)
- ③ 불일치2. 양성을 음성으로 판정한 경우 (갈색으로 표시)
- ④ 불일치3. 혼합형인 경우 일부만 일치하게 검출한 경우 (초록색으로 표시)
- ⑤ 불일치4. 목적인 유전형을 다른 유전형으로 잘못 판정한 경우 (보라색으로 표시)
- ⑥ 불일치5. 음성을 양성으로 판정한 경우 (빨간색으로 표시)

분류			예시		
			패널의 유전자형	기관의 결과	실험 판정 분류
유형 1.	일치.	16	16	a	
		16, 58	16, 58	a	
		N	N	a	
유형 2.	불일치1. target과 다른 유전자형을 함께 검출	58	58, 33	b	
		16, 58	16, 58, 33	b	
유형 3.	불일치2. 양성을 음성으로 판정	31	N	c	
유형 4.	불일치3. 혼합형 중 일부만 일치	16, 58	16	c	
유형 5.	불일치4. 양성을 다른 유전형으로 판정	58	18	c	
유형 6.	불일치5. 음성을 양성으로 판정	N	11	b	

3. 기관별 통계분석

결과들을 토대로 정확도, 민감도, 특이도, 위양성율, 위음성율, 양성/음성예측도를 계산하였다.

기관명	정확도	민감도	특이도	위양성율	위음성율	양성예측도	음성예측도
기관 1	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	1.0	1.0
기관 2	82.6%	94.7%	25.0%	12.5%	4.3%	1.0	0.5
기관 3	91.3%	95.2%	50.0%	4.2%	4.3%	1.0	0.5
기관 4	91.3%	90.9%	100.0%	0.0%	8.7%	1.0	0.3
기관 5	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	1.0	1.0
기관 6	65.2%	63.6%	100.0%	0.0%	34.8%	1.0	0.1
기관 7	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	1.0	1.0
기관 8	95.7%	95.5%	100.0%	0.0%	4.3%	1.0	0.5
기관 9	87.0%	95.2%	0.0%	8.3%	4.3%	1.0	0.0
기관 10	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	1.0	1.0
기관 11	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	1.0	1.0
기관 12	73.9%	72.7%	100.0%	0.0%	26.1%	1.0	0.1
기관 13	91.3%	90.9%	100.0%	0.0%	8.7%	1.0	0.3
기관 14	39.1%	36.4%	100.0%	0.0%	60.9%	1.0	0.1
기관 15	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	1.0	1.0
기관 16	69.6%	78.9%	25.0%	12.5%	17.4%	1.0	0.2
기관 17	87.0%	95.0%	33.3%	8.3%	4.3%	1.0	0.5
기관 18	43.5%	40.9%	100.0%	0.0%	56.5%	1.0	0.1
기관 19	95.7%	95.5%	100.0%	0.0%	4.3%	1.0	0.5
기관 20	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	1.0	1.0
기관 21	82.6%	100.0%	20.0%	16.7%	0.0%	1.0	1.0
기관 22	95.7%	95.5%	100.0%	0.0%	4.3%	1.0	0.5
기관 23	87.0%	90.5%	50.0%	4.2%	8.7%	1.0	0.3
기관 24	65.2%	63.6%	100.0%	0.0%	34.8%	1.0	0.1
기관 25	82.6%	81.8%	100.0%	0.0%	17.4%	1.0	0.2
기관 26	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	1.0	1.0
기관 27	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	1.0	1.0
기관 28	78.3%	77.3%	100.0%	0.0%	21.7%	1.0	0.2
기관 29	78.3%	77.3%	100.0%	0.0%	21.7%	1.0	0.2
기관 30	91.3%	90.9%	100.0%	0.0%	8.7%	1.0	0.3
기관 31	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	1.0	1.0
기관 32	95.7%	95.5%	100.0%	0.0%	4.3%	1.0	0.5
기관 33	65.2%	66.7%	100.0%	0.0%	30.4%	1.0	0.1
전체 평균	85.9%	87.4%	84.9%	2.0%	11.9%	1.0	0.5
(95%CI)	(80.2~91.6%)	(81.4~93.4%)	(74.2~95.8%)	(0.4~3.6%)	(6.2~17.6%)	(0.996~1.0)	(0.388~0.654)
최소값	39.1%	36.4%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0	0.0
최고값	100.0%	100.0%	100.0%	16.7%	60.9%	1.0	1.0

- 전체 기관의 정확도의 평균은 85.9%(95% CI= 80.2~91.6%)이고, 민감도는 87.4%(95% CI= 81.4~93.4%), 특이도는 84.9%(95% CI= 74.2~95.8%), 위양성률은 2%(95% CI= 0.4~3.6%), 위음성률은 11.9%(95% CI= 6.2~17.6%)였다.

4. 참여기관의 특성별 통계분석

참여기관의 특성이 HPV를 검출하는 결과에 어떠한 영향을 주었는지를 확인하기 위하여, 첫째, 기관의 형태에 따라 종합전문병원, 종합병원, 수탁기관으로 분류하고, 분류된 기관 별로 정확도, 민감도, 특이도, 위양성, 위음성을 분석하였다. 둘째, 연간 검사건수에 따라 1000건 이하, 1000~5000건, 5000~10,000건, 10,000건 이상 검사 기관으로 분류하였고 동일하게 분석하였다.

가. 참여기관의 형태별 분석

기관형태별 (기관수)	정확도					민감도 평균	특이도 평균	위양성 평균	위음성 평균
	평균	최저	최고	SD	CV				
종합전문병원 (22)	84.8%	39.1%	100.0%	17.5%	20.6%	87.0%	79.7%	2.8%	12.3%
종합병원 (5)	91.3%	65.2%	100.0%	15.1%	16.5%	91.8%	90.0%	0.8%	7.8%
수탁기관 (6)	85.5%	65.2%	100.0%	12.8%	15.0%	85.4%	100.0%	0.0%	13.8%

- 종합전문병원 22기관, 종합병원은 5기관, 수탁기관은 6기관으로 분류되었으며, 정확도의 평균은 각각 84.8%, 91.3%, 85.5%로 종합병원의 정확도가 비교적 높았다.

나. 참여기관의 검사건수별 분석

기관형태별 (기관수)	정확도					민감도 평균	특이도 평균	위양성 평균	위음성 평균
	평균	최저	최고	SD	CV				
1000건 이하 (9)	76.8%	39.1%	100.0%	18.6%	24.2%	76.7%	88.9%	0.9%	22.2%
1001~5000건 (12)	87.7%	43.5%	100.0%	17.0%	19.4%	91.3%	75.3%	4.2%	8.0%
5001~10,000건 (5)	95.7%	87.0%	100.0%	5.3%	5.6%	97.2%	80.0%	1.7%	2.6%
10001건 이상 (7)	87.6%	65.2%	100.0%	12.9%	14.7%	87.4%	100.0%	0.0%	11.8%

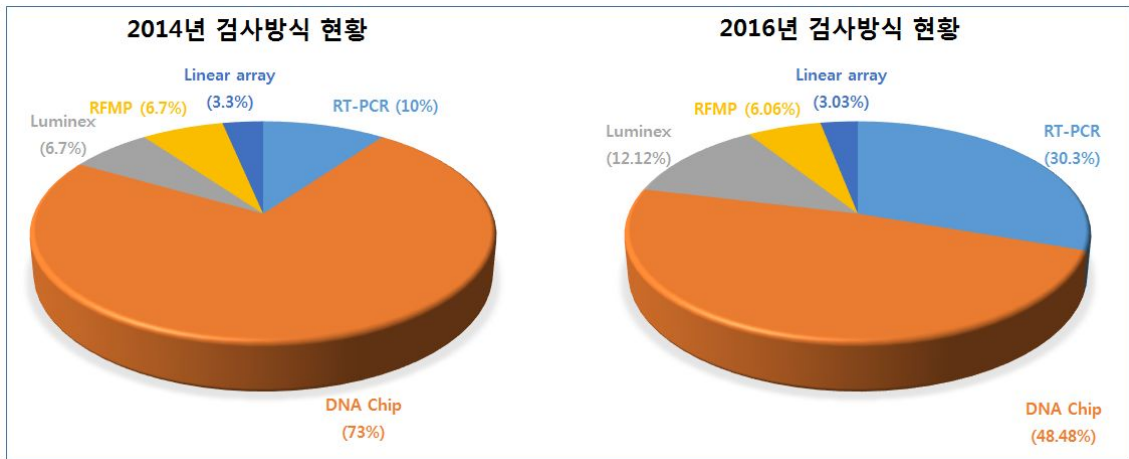
- 검사건수가 1,000건 이하는 9기관, 1,001~5,000건은 12기관, 5,001~10,000건은 5기관, 10,001건 이상을 검사하는 기관은 7기관으로, 정확도의 평균은 각각 76.8%, 87.7%, 95.7%, 87.6%로 조사되었다.

5. 사용한 HPV 검사 제품별 통계분석

가. HPV검사 EQA에 사용된 제품 현황

본 과제의 정도관리 물질을 이용한 HPV 검사에 사용된 제품의 현황을 다음과 같이 분석하였다.

작용원리	사용기관수	종합전문 병원	종합병원	수탁기관	사용 비율
DNA Chip 1	6	4	1	1	18.18%
DNA Chip 2	5	3	2	0	15.15%
DNA Chip 3	2	2	0	0	6.06%
DNA Chip 4	2	2	0	0	6.06%
DNA Chip 5	1	1	0	0	3.03%
RT-PCR	10	7	1	2	30.30%
Luminex (bead)	4	2	1	1	12.12%
RFMP	2	0	0	2	6.06%
Linear array	1	1	0	0	3.03%
	33	22	5	6	100%



- 검사에 사용된 제품의 약 48.48%가 DNA Chip 방식으로 가장 많았고, RT-PCR 방식이 30.3%, Luminex-bead 방식이 12.12%, RFMP 방식이 6.06%, Linear array 방식이 3.03%였다.
- 2014년에 본 과제에서 조사된 현황과 비교하였을 때, DNA Chip 방식이 73%에서 48.48%로 약 25% 감소하였고, RT-PCR 방식이 10%에서 30.3%로 약 20% 증가하였다.
- 본 현황은 본 과제의 정도관리물질을 이용하여 유전자형을 검출할 수 있는 33개 참여기관의 HPV Genotyping Kit 사용에 관한 것으로, HPV의 검출 지역이 다르거나 Genotyping kit가 아닌 제품들을 포괄한 데이터는 차이가 있을 것이라고 생각된다.

나. HPV검사 EQA에 사용한 학회별 제품 빈도

작용원리	병리과	진단검사의학과
DNA Chip 1	5 (20.8%)	1 (11.1%)
DNA Chip 2	5 (20.8%)	0
DNA Chip 3	1 (4.2%)	1 (11.1%)
DNA Chip 4	2 (8.3%)	0
DNA Chip 5	1 (4.2%)	0
RT-PCR	8 (33.3%)	2 (22.2%)
Luminex (bead)	2 (8.3%)	2 (22.2%)
RFMP	0	2 (22.2%)
Linear array	0	1 (11.1%)
합계	24	9
Chip 빈도	58.3%	22.2%

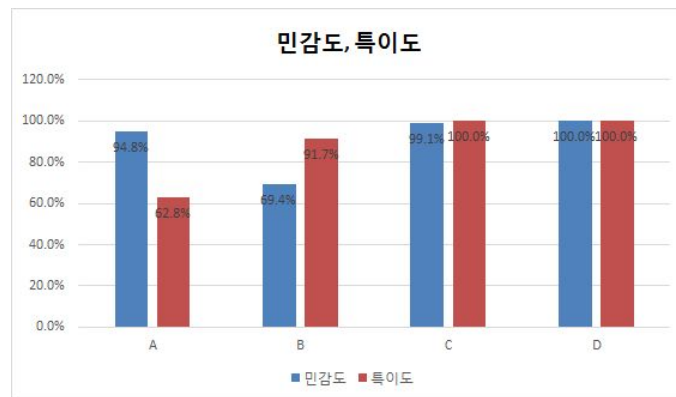
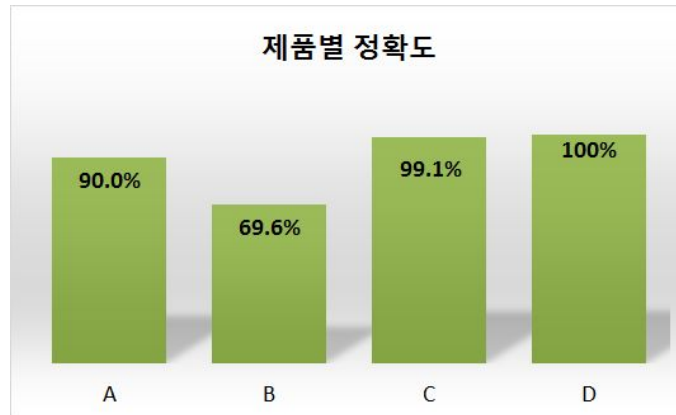
- 병리과는 단일 품목으로는 RT-PCR의 작용원리의 제품을 33.3%로 가장 많이 사용하였고, 작용원리에 의하면 HPV DNA Chip 방법이 58.3%로 가장 많이 사용하였다.
- 진단검사의학과는 다양한 제품을 고루 사용하고 있었다. HPV DNA Chip 방법은 22.2%로 상대적으로 낮은 빈도로 사용하였다.

다. 사용제품별 통계분석

사용한 제품에 따라 HPV를 검출하는 결과의 차이를 알기 위하여, 첫째, 동일제품이 4개 이상인 25 기관을 대상으로 정확도, 민감도, 특이도, 위양성율, 위음성율을 제품별로 분석하여 표와 그래프로 나타내었다. 동일제품이 2개 이하인 8 기관의 제품별 분석을 하였으나 표와 그래프로 나타내지 않았다. 둘째, 실험상 오류로 인한 위양성 결과가 제품별 정확도 계산에 영향을 줄 수 있다는 견해가 있기 때문에 이를 고려하여, 위양성이 2개 이상인 기관의 결과는 배제하고 분석하였다.

① 33기관 중 25기관의 사용제품별 분석

제품명	정확도					민감도 평균	특이도 평균	위양성 평균	위음성 평균	양성에 측도 평균	음성에 측도 평균
	평균	최저	최고	SD	CV						
제품 A	90.0%	82.6%	95.7%	5.0%	5.60%	94.8%	62.8%	5.0%	4.8%	1.00	0.47
제품 B	69.6%	43.5%	91.3%	17.4%	25.00%	69.4%	91.7%	0.7%	29.0%	1.00	0.18
제품 C	99.1%	95.7%	100.0%	1.9%	1.96%	99.1%	100.0%	0.0%	0.9%	1.00	0.90
제품 D	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.00%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	1.00	1.00

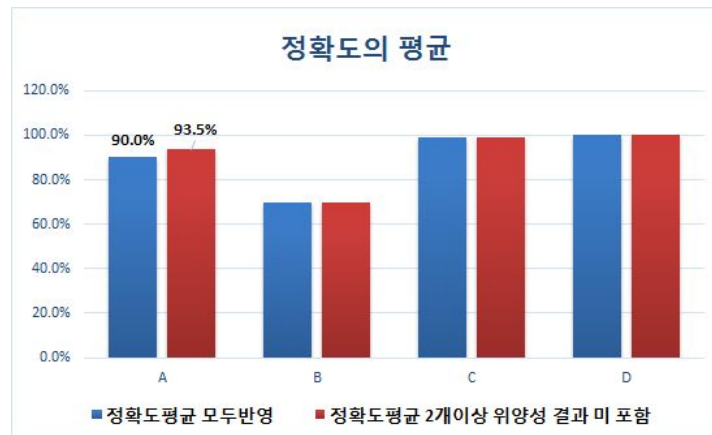


- 제품 A~D의 정확도의 범위는 가장 낮은 값이 43.5%, 가장 높은 값이 100%였다.
- 제품 A는 높은 민감도에 비하여 특이도가 낮은 경향을 보였다.
- 제품 B는 정확도와 민감도가 낮은 경향을 보였다.
- 제품 C와 D는 정확도, 민감도, 특이도에서 공히 높은 성적을 보였다.
- 동일제품이 2개 이하인 기관이 사용한 제품별 정확도는 39.1%~100%이었다.
- 제품별로 분석 값이 경향성을 보이지만, 동일기관에서 동일 시료를 이용한 반복시험이 이루어지지 않았기 때문에 제품의 성능이라고 판단하기는 어려울 것으로 사료된다.

② 2개 이상의 위양성을 배제한 28개 기관의 제품별 통계 수치

2개 이상의 위양성을 보인 기관은 총 5개 기관으로 분석에서 제외하고, 나머지 28개 기관을 대상으로 정확도등을 계산하였다.

제품명	정확도					민감도 평균	특이도 평균	위양성 평균	위음성 평균	양성예 측도 평균	음성예 측도 평균
	평균	최저	최고	SD	CV						
제품 A	93.5%	90.9%	100.0%	1.7%	1.82%	93.9%	91.7%	0.7%	5.8%	1.00	0.44
제품 B	69.6%	43.5%	91.3%	17.4%	25.00%	69.4%	91.7%	0.7%	29.0%	1.00	0.18
제품 C	99.1%	95.7%	100.0%	1.9%	1.96%	99.1%	100.0%	0.0%	0.9%	1.00	0.90
제품 D	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.00%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	1.00	1.00



○ 2개 이상의 위양성을 배제한 결과, 제품 A의 정확도가 보다 높게 반영되었다.

다. 제품의 제조번호 (Lot.No)별 차이

동일 제품의 제조번호가 다른 경우 HPV 검사 결과에 차이가 있는지 알아보기 위하여 제품의 제조번호별 정확도, 민감도, 특이도의 평균을 분석하였다. 제품 A, B, C외 나머지 제품을 사용하는 기관의 경우, 동일한 Lot. No.의 제품이 없었으므로 분석에서 제외하였으며, 제품 A의 Lot. No. a-3과 제품 B의 b-3, b-4를 사용한 기관 또한 각각 1기관으로 분석에서 제외하였다.

제품명	제조번호 (Lot. No.)	정확도	민감도	특이도	정확도 평균	민감도 평균	특이도 평균
제품 A	a-1	95.7%	95.5%	100.0%	95.7%	95.5%	100.0%
		95.7%	95.5%	100.0%			
		95.7%	95.5%	100.0%			
	a-2	82.6%	94.7%	25.0%	87.0%	95.2%	38.1%
		91.3%	95.2%	50.0%			
		87.0%	95.2%	0.0%			
		91.3%	90.9%	100.0%			
87.0%		95.0%	33.3%				
82.6%	100.0%	20.0%					
제품 B	b-1	65.2%	63.6%	100.0%	54.3%	52.3%	100.0%
		43.5%	40.9%	100.0%			
	b-2	87.0%	90.5%	50.0%	76.1%	77.1%	75.0%
		65.2%	63.6%	100.0%			
제품 C	c-1	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
		100.0%	100.0%	100.0%			
	c-2	95.7%	95.5%	100.0%	98.6%	98.5%	100.0%
		100.0%	100.0%	100.0%			
		100.0%	100.0%	100.0%			

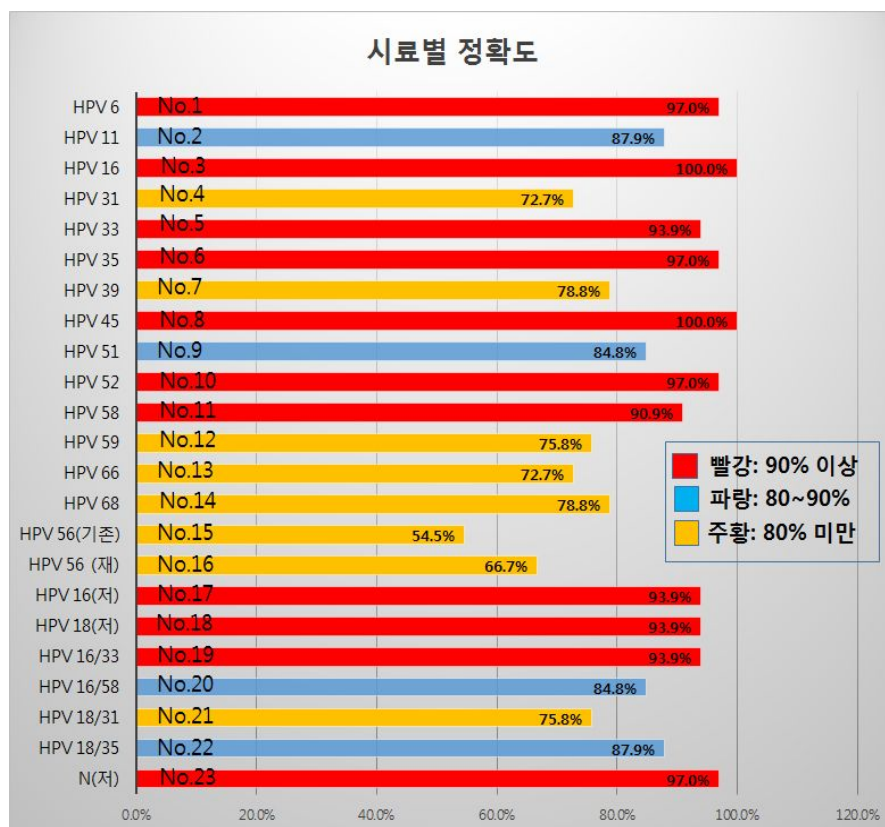
- 제품A의 a-1, a-2의 정확도는 각각 95.7%, 87%로 다소 차이가 있었으며, 민감도는 95.5%, 95.2%이고, 특이도는 100%, 38.1%였다.
- 제품B의 b-1, b-2는 정확도는 각각 54.3%, 76.1%로 차이가 있었으며, 민감도는 52.3%, 77.1%이고, 특이도는 100%, 75.0%였다.
- 제품C의 c-1, c-2는 정확도, 민감도, 특이도 모두 비교적 높게 확인되었다.

6. 정도관리 물질별 결과의 통계분석

가. 패널에 포함된 각 시료의 정확도

패널에 포함된 시료는 16개의 HPV 유전자형이 저농도, 고농도, 단일형, 혼합형, 음성형으로 구성되어 있으며, 시료별로 결과의 정확성을 분석하여 어떠한 경향이 있는지를 파악하였다.

패널의 시료번호	HPV 유형	농도 (copies/rxn)	일치 기관수	정확도
No.1	HPV 6	5000	32	97.0%
No.2	HPV 11	5000	29	87.9%
No.3	HPV 16	5000	33	100.0%
No.4	HPV 31	5000	24	72.7%
No.5	HPV 33	5000	31	93.9%
No.6	HPV 35	5000	31	97.0%
No.7	HPV 39	5000	26	78.8%
No.8	HPV 45	5000	33	100.0%
No.9	HPV 51	5000	28	84.8%
No.10	HPV 52	5000	32	97.0%
No.11	HPV 58	5000	29	90.9%
No.12	HPV 59	5000	25	75.8%
No.13	HPV 66	5000	24	72.7%
No.14	HPV 68	5000	25	78.8%
No.15	HPV 56 (기존)	5000	17	54.5%
No.16	HPV 56 (뉴)	5000	22	66.7%
No.17	HPV 16	250	31	93.9%
No.18	HPV 18	250	31	93.9%
No.19	HPV 16/33	250/5000	30	93.9%
No.20	HPV 16/58	250/5000	28	84.8%
No.21	HPV 18/31	250/5000	24	75.8%
No.22	HPV 18/35	250/5000	28	87.9%
No.23	Negative (C33A DNA)	5ng/rxn	32	97.0%



- 시료 No.1, 3, 5, 6, 8, 10, 11, 17, 18, 19는 정확하게 검출된 비율이 90.9~100%로 매우 높았다.
- 시료 No.2, 9, 20, 22는 정확하게 검출된 비율이 84.8~87.9%로 비교적 높았다.
- 시료 No.4, 7, 12, 13, 14, 15, 16, 21은 정확하게 검출된 비율이 54.5~78.8%로 비교적 낮았다. 특히, HPV 56(기준)이 포함된 시료인 No.15는 정확도가 54.5%로 가장 낮았다.
- HPV 18과 31이 포함된 혼합형 시료인 No. 21의 정확도는 혼합형 시료 중 가장 낮은 75.8%의 정확도를 보였다.
- HPV(-) human genome DNA만 포함 되어있는 No.23을 정확하게 판정한 경우는 97%였다.
- No.24를 음성으로 정확하게 판정한 경우는 80%미만므로, 분석에서 제외시켰다.

나. HPV 16, 18의 검출률

HPV 16과 18은 자궁경부암과 가장 밀접한 유전자형으로 정확한 검출이 보다 중요한 유전자형이다. 이에 HPV 16과 18이 포함된 시료를 대상으로 검출된 빈도를 분석하였고, HPV 16과 18이 포함되지 않은 시료대상으로는 위양성으로 검출된 빈도를 분석하였다. 이와 더불어 혼합형 시료에 포함된 고위험군 유전자형의 검출률도 함께 분석하였다. 동일제품이 4개 이상인 기관을 대상으로 평가하였다.

(1) HPV 16, 18이 포함된 시료에서의 검출빈도

시료 번호	HPV 유형	제품 A	제품 B	제품 C	제품 D
No.03	HPV 16	100%	100%	100%	100%
No.17	HPV 16 (저)	100%	100%	80%	100%
No.19 혼합형	HPV 16 HPV 33혼합	100%	83%	100%	100%
No.20 혼합형	HPV 16 HPV 58혼합	100%	83%	100%	100%
No.18	HPV 18 (저)	100%	100%	100%	100%
No.21 혼합형	HPV 18 HPV 31 혼합	100%	100%	100%	100%
No.22 혼합형	HPV 18 HPV 35 혼합	100%	100%	100%	100%

- HPV 16이 포함된 시료는 단일형으로 No.3과 17이고, 혼합형으로는 No.19, 20이다. 단일형 시료에서 고농도 HPV 16은 검출률이 100%였고, 저농도 HPV 16 검출률은 제품 C를 제외하고 모두 100%였다.
- 동일한 농도의 HPV 16이 다른 유전자형의 HPV와 혼합되어있는 시료에서는 제품 B에서 검출률이 감소하는 경향을 보였다.

- HPV 18이 포함된 시료는 단일형으로 No.18이고, 혼합형으로는 No.21, 22이다. 단일형 시료에서 HPV 18의 검출률은 100%였다.

(2) HPV 16, 18이 없는 시료에서의 HPV 16, 18 검출빈도

HPV 유형	검출빈도/해당제품으로 검사한 시료 수 (백분율)			
	제품 A	제품 B	제품 C	제품 D
HPV 16	6/190 (3.2%)	0/114	0/95	0/76
HPV 18	0/200	0/120	0/100	0/80

- HPV 16과 18이 포함되지 않은 시료에서 HPV 16또는 18이 검출되는 빈도를 분석했을 때, 제품 A는 HPV 16 검출빈도가 3.2%였고, 나머지 제품에서는 두 유전자형 모두 검출되지 않았다.

다. 혼합형 시료의 고위험군 HPV유전자의 검출률

시료 번호	HPV 유형	제품 A	제품 B	제품 C	제품 D
No.4	HPV 31 단일형	100%	33%	100%	100%
No.21	HPV 31 혼합형	100%	33%	100%	100%
No.7	HPV 33 단일형	100%	83%	100%	100%
No.19	HPV 33 혼합형	100%	83%	100%	100%
No.8	HPV 35 단일형	100%	100%	100%	100%
No.22	HPV 35 혼합형	100%	100%	100%	100%
No.15	HPV 58 단일형	100%	83%	100%	100%
No.20	HPV 58 혼합형	100%	100%	100%	100%

- 동일한 농도의 HPV 유전자형을 단일형 또는 혼합형 시료에서 검출되는 비율을 분석하였을 때, 대부분 검출률의 차이가 크지 않았다.
- HPV 33의 경우는 단일형과 혼합형의 검출률 차이가 없었다.
- HPV 58은 제품 B에서 단일형은 Others로 혼합형에서는 58로 결과가 보고되어 혼합형에서 검출률이 보다 높은 것으로 분석되었다.

라. 패널의 유전자형별 정확도 차이

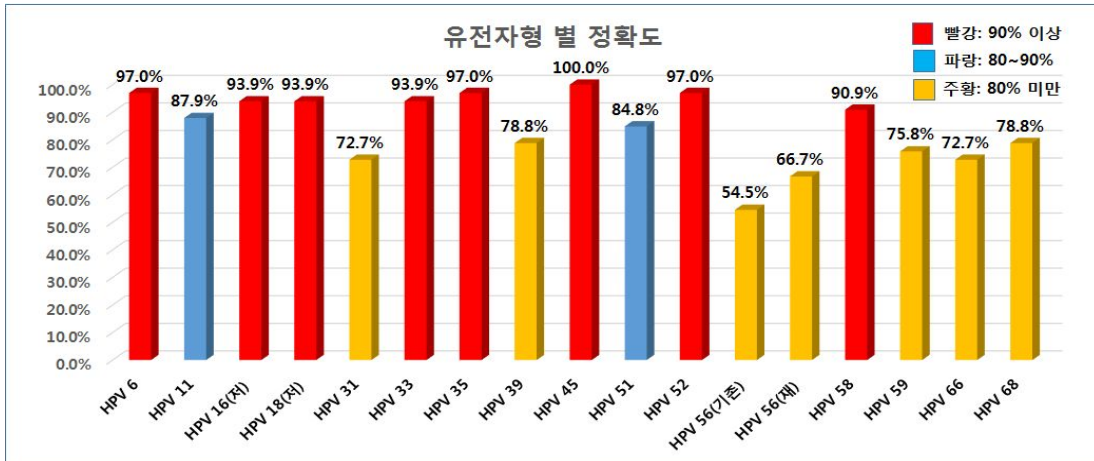
유전자형별로 정확도의 차이를 보기 위하여, 첫째, 단일형 시료를 대상으로 유전자형의 정확도 평균을 분석하여 표와 그래프로 나타내었고, 둘째, 이를 보다 세분화 하여 사용

한 제품에 따라 유전자형의 정확도 차이를 분석하였다. 이때, HPV 16과 18은 250 copies/rxn 농도의 단일형 시료를 대상으로 분석하였다.

(1) 패널의 유전자형별 정확도 (단일형)

	저위험군		고위험군						
	HPV 6	HPV 11	HPV 16 (고)	HPV 16 (저)	HPV 18 (저)	HPV 31	HPV 33	HPV 35	HPV 39
정확도	97.0%	87.9%	100%	93.9%	93.9%	72.7%	93.9%	97.0%	78.8%

	고위험군								
	HPV 45	HPV 51	HPV 52	HPV 56 (기존)	HPV 56 (뉴)	HPV 58	HPV 59	HPV66	HPV68
정확도	100.0%	84.8%	97.0%	54.5%	66.7%	90.9%	75.8%	72.7%	78.8%



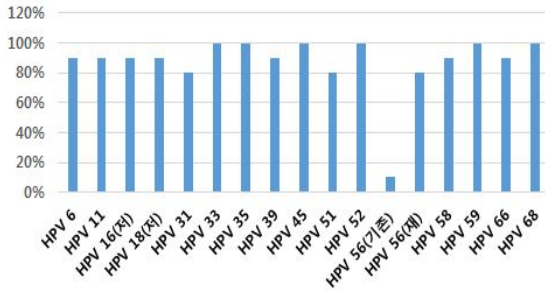
- HPV 6, 16, 18, 33, 35, 45, 52, 58은 정확도가 90%이상으로 높았으며, HPV 11, 51은 정확도가 80%~90%로 비교적 안정적이었다.
- HPV 31, 39, 56, 59, 66, 68은 정확도가 80%미만으로 비교적 낮았다.
- HPV 56은 2014년도 정도관리에 사용된 기존형태와 몇 개의 시퀀스가 다른 새로운 형태 모두에서 정확도가 80%미만으로 낮았다.

(2) 제품별 유전자형의 정확도 (단일형)

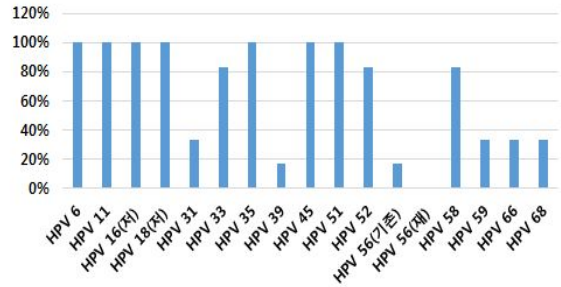
제품별로 16개 HPV 유전자형의 정확도를 비교 분석하였다.

유전자형	목적 유전자형을 정확히 검출한 기관수/해당제품을 사용한 전체 기관수			
	제품 A	제품 B	제품 C	제품 D
6	9/10	6/6	5/5	4/4
11	9/10	6/6	5/5	4/4
16(고)	10/10	6/6	4/5	4/4
16(저)	9/10	6/6	5/5	4/4
18(저)	9/10	6/6	5/5	4/4
31	8/10	2/6	5/5	4/4
33	10/10	5/6	5/5	4/4
35	10/10	6/6	5/5	4/4
39	9/10	1/6	5/5	4/4
45	10/10	6/6	5/5	4/4
51	8/10	6/6	5/5	4/4
52	10/10	5/6	5/5	4/4
56(기존)	1/10	1/6	5/5	4/4
56(뉴)	8/10	0/5	5/5	4/4
58	9/10	5/6	5/5	4/4
59	10/10	2/6	5/5	4/4
66	9/10	2/6	5/5	4/4
68	10/10	2/6	5/5	4/4

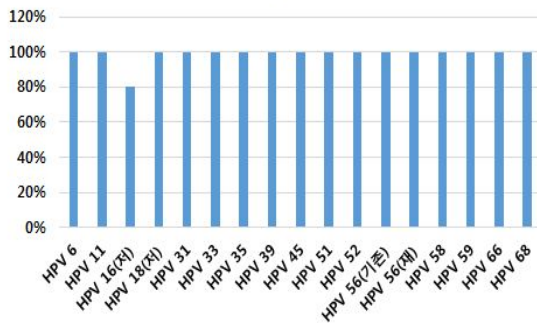
제품 A



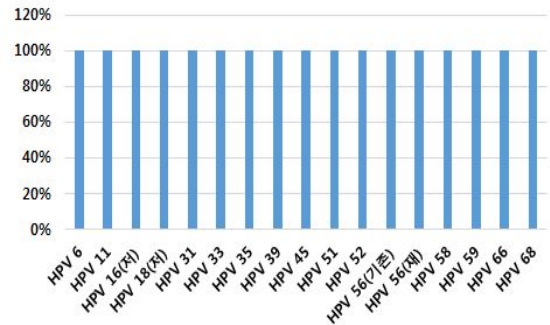
제품 B



제품 C



제품 D



- 제품 C, D는 16종의 HPV 모두 80%이상의 정확도를 보였다.
- 제품 A는 두 가지 형태의 HPV 56중에서 기존 평가되었던 HPV 56의 정확도가 10%로 매우 낮았고, 그 외 유전자형은 80%이상의 정확도를 보였다.
- 제품 B는 HPV 31, 39, 56(기존, 신형), 59, 66, 68에서 40% 미만의 정확도를 보였다.

마. 패널의 유형별 통계분석

패널 간 차이가 HPV를 검출하는 결과에 영향을 주었는지를 확인하기 위하여 패널의 유형별로 기관을 분류하여 정확도, 민감도, 특이도, 위양성, 위음성을 분석하였다.

패널유형 (정확도 높은 제품 사용 기관/기관수)	정확도 평균	민감도 평균	특이도 평균	위양성 평균	위음성 평균
A 유형	90.9%	93.0%	73.3%	2.5%	6.5%
B 유형	85.9%	86.3%	93.8%	1.0%	13.0%
C 유형	81.4%	83.5%	85.9%	2.7%	15.4%

A형 배포기관	정확도	민감도	특이도	위양성율	위음성율
기관3	91.3%	95.2%	50.0%	4.2%	4.3%
기관6	65.2%	63.6%	100.0%	0.0%	34.8%
기관11	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
기관17	87.0%	95.0%	33.3%	8.3%	4.3%
기관23	87.0%	90.5%	50.0%	4.2%	8.7%
기관26	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
기관30	91.3%	90.9%	100.0%	0.0%	8.7%
기관31	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
기관20	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
기관9	87.0%	95.2%	0.0%	8.3%	4.3%
평균	90.9%	93.0%	73.3%	2.5%	6.5%

B형 배포기관	정확도	민감도	특이도	위양성율	위음성율
기관1	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
기관7	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
기관10	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
기관15	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
기관22	95.7%	95.5%	100.0%	0.0%	4.3%
기관27	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
기관12	73.9%	72.7%	100.0%	0.0%	26.1%
기관18	43.5%	40.9%	100.0%	0.0%	56.5%
기관29	78.3%	77.3%	100.0%	0.0%	21.7%
기관4	91.3%	90.9%	100.0%	0.0%	8.7%
기관24	65.2%	63.6%	100.0%	0.0%	34.8%
기관2	82.6%	94.7%	25.0%	12.5%	4.3%
평균	85.9%	86.3%	93.8%	1.0%	13.0%

C형 배포기관	정확도	민감도	특이도	위양성율	위음성율
기관8	95.7%	95.5%	100.0%	0.0%	4.3%
기관13	91.3%	90.9%	100.0%	0.0%	8.7%
기관16	69.6%	78.9%	25.0%	12.5%	17.4%
기관19	95.7%	95.5%	100.0%	0.0%	4.3%
기관25	82.6%	81.8%	100.0%	0.0%	17.4%
기관32	95.7%	95.5%	100.0%	0.0%	4.3%
기관21	82.6%	100.0%	20.0%	16.7%	0.0%
기관5	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
진검4	78.3%	77.3%	100.0%	0.0%	21.7%
기관14	39.1%	36.4%	100.0%	0.0%	60.9%
기관33	65.2%	66.7%	100.0%	0.0%	30.4%
평균	81.4%	83.5%	85.9%	2.7%	15.4%

- 참여기관에 배포한 결과를 취합한 정확도의 평균은 A, B, C 유형이 각각 90.9%, 85.9%, 81.4% 였다.
- 패널 A, B, C유형은 동일한 배치(batch)로 제작되었으며, 시료의 배열만 달리한 후 보관한 것으로 균질성 시험을 통하여 적합함을 확인한 바 있다.

4.2. 참여기관의 설문답변 분석

총 30기관 중 3개 기관은 서로 다른 검사기법으로 복수 참가하여 33개의 HPV 정도관리 물질 검사결과가 모두 반영되었고, 설문은 검사실 정보와 제품정보가 포함된 문항에서는 33답변, 그 외 문항은 동일기관에서 동일인의 답변으로 30기관에 대한 답변을 반영하였다.

1. 설문참여 현황 및 검사실 정보

설문에 참여한 기관의 HPV 검사실 종류, 검사건수, 참여제품등을 파악하고 분류하여 설문 참여 현황과 HPV 검사실 현황을 분석하였다.

가. 검사실 종류

병원분류	검사실 종류	병리과	진단검사 의학과	합계
종합전문병원: 7개 진료과목 이상,100병상 이상이면서 대학병원인 경우		19 (58%)	3 (9%)	22 (67%)
종합병원: 7개 진료과목 이상, 병상수 100병상 이상인 병원		5 (15%)	0	5 (15%)
병원: 병상수 30병상 이상인 병원		0	0	0
의원: 병상수 30병상 미만		0	0	0
수탁전문검사기관		0	6 (18%)	6 (18%)
Total		24 (73%)	9 (27%)	33 (100%)

- 병리과 소속의 경우 종합전문병원 58%, 종합병원 15%로, 총 73%였고, 진단검사 의학과 소속의 경우 종합전문병원 9%, 수탁전문기관이 18% 참여하였다.
- 종합전문병원에서의 전체 참여는 67%, 종합병원은 15%, 수탁전문기관은 18%였다.

나. 검사건수

병원분류 \ 검사건수	1,000 이하	1,001 ~5,000	5,001 ~10,000	10,001 이상	합계
종합전문병원: 7개 진료과목 이상,100병상 이상이면서 대학병원인 경우	7 (21.2%)	10 (30.3%)	5 (15.2%)	0	22 (66.7%)
종합병원: 7개 진료과목 이상, 병상수 100병상 이상인 병원	2 (6.1%)	2 (6.1%)	0	1 (3.0%)	5 (15.2%)
병원: 병상수 30병상 이상인 병원	0	0	0	0	0
의원: 병상수 30병상 미만	0	0	0	0	0
수탁전문검사기관	0	0	0	6 (18.2%)	6 (18.2%)
Total	9 (27.3%)	12 (36.4%)	5 (15.2%)	7 (21.2%)	33 (100%)

- 검사건수가 1,000이하는 27.3%, 1,001~5,000은 36.4%, 5,001~10,000은 15.2%이고 10,001 이상은 21.2% 였다.
- 10,001건 이상의 대량 검사는 대부분 수탁전문검사기관에서 수행하고 있으며, 종합전문병원과 종합병원은 대체로 10,000건 이하의 검사를 수행하고 있는 것으로 조사되었다.

2. 제품의 정보

이번 연구에서 사용한 제품의 명칭, 제조사, 제조번호(Lot No.)에 대한 정보를 수집하였다.

제품명	사용기관수	포함된 제조번호 종류
제품 A	10	a-1 : 3개
		a-2 : 6개
		a-3 : 1개
제품 B	6	b-1 : 2개
		b-2 : 2개
		b-3 : 1개
		b-4 : 1개
제품 C	5	c-1 : 2개
		c-2 : 3개
제품 D	4	4 종류
제품 E	2	2 종류
제품 F	2	2 종류
제품 G	2	2 종류
제품 H	1	1 종류
제품 I	1	1 종류
합계	33	

- 단일제품인 H와 I를 제외한 나머지는 제조번호가 2 종류 이상이었고, 이는 Lot 간 변이를 분석하는데 정보로 이용되었다.

3. HPV 정도관리용 평가물질의 적절성 평가

본 연구과제에서 제작한 표준물질이 HPV 정도관리물질로서 사용하기에 적합한지를 표준물질의 양(volume), 개수, 검사기간의 적절성 등의 질문을 통하여 분석하였다.

설문 항목	그렇다 (n)	그렇지 않다	
		(n)	이유
1) 정도평가 수행시 제조사의 매뉴얼에 준해서 검사하였는가?	33/33 (100%)	0/33 (0%)	
2) 정도평가 물질의 개선사항 없는가?	28/30 (93%)	2/30 (7%)	테스트 후 검사실에 오염/ 시료양 적음
3) 패널에 포함된 시료의 수 24개는 적정인가?	24/30 (80%)	6/30 (20%)	시료수가 많음
4) 표준물질 양 20 μ l가 적정인가?	24/30 (80%)	6/30 (20%)	30 μ l이상이 다수
5) 검사기간은 2주가 적정인가?	27/30 (90%)	3/30 (10%)	4주, 2주일 이상
6) 기타개선사항	제품 별로 사용하는 샘플의 양이 다름에 대한 정확한 사용량 기준을 제시		
	검체를 담은 vial의 입구가 좁고 너무 깊어서 검체간 오염의 우려가 많음.		
	추출된 DNA 가 아닌 원 검체를 이용한 핵산추출법부터 정도관리가 필요함		

- 모든 참여기관에서 제조사의 매뉴얼에 준해서 검사를 수행하였다.
- 표준물질의 시료수는 24개가 제공되었고, 80%는 적정하다고 답변한 반면, 20%는 시료수가 많다고 답변하였다.
- 표준물질의 양은 20 μ l가 제공되었고, 80%가 적정하다고 답변한 반면, 20%는 대부분 30 μ l이상으로 증량을 해야 한다고 답변하였다.
- 검사기간은 2주로 제한하였고, 90%가 적정하다고 답변한 반면, 10%는 대부분 2~4주로 기간을 늘리는 것을 제안하였다.
- 기타 개선사항으로는, 제품별 사용하는 샘플의 양을 명확하게 제시하고, 검체간 오염방지를 위하여 시료를 담은 vial 변경, DNA 형태가 아닌 원검체를 이용한 정도관리가 필요하다는 의견을 제시하였다.

4. HPV 검사 외부 정도평가 실용화

HPV 검사 외부 정도관리 프로그램을 실용화하기 위하여, 첫째, 정도평가 물질의 종류, 둘째, 정도평가 결과의 정확성 기준, 셋째, 기타의견에 관하여 설문하였다.

가. 평가물질의 종류

설문 항목	선택지문	답변수			
		종합전문 (20기관)	종합 병원 (5기관)	수탁 기관 (5기관)	합계 (30기관)
1) HR-HPV genotypes	1. HR14종 전부	12 (40%)	5 (16.7%)	3 (10%)	20 (66.7%)
	2. 자궁경부암과 관련된 상 위 HR5종	8 (26.7%)	0	0	8 (26.7%)
	3. HPV16+HPV18	0	0	0	0
	4. 기타 기술 내용	0	0	2 (6.7%)	2 (6.7%)
2) LR-HPV genotypes	1. LR2종 포함	15 (50%)	3 (10%)	4 (13.3%)	22 (73.3%)
	2. LR2종 포함 안함	5 (16.7%)	2 (6.7%)	1 (3.3%)	8 (26.7%)
3) HPV DNA panel에 포함되는 시료의 수	1. 8종	9 (30%)	1 (3.3%)	1 (3.3%)	11 (36.7%)
	2. 16종	6 (20%)	1 (3.3%)	1 (3.3%)	8 (26.7%)
	3. 24종	3 (10%)	2 (6.7%)	2 (6.7%)	7 (23.3%)
	4. 기타 기술 내용	2 (6.7%)	1 (3.3%)	1 (3.3%)	4 (13.3%)
		4종,32종	19종	28종	

- 평가물질은 고위험군에 속하는 14종 (Type 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68)의 유전자형을 모두 포함해야한다는 답변이 66.7%였고, 저위험군에 속하는 2종 (Type 6, 11)의 유전자형도 함께 포함하여야 한다는 답변이 73.3%였다.
- 평가물질은 8종이 적합하다는 의견이 36.7%였고, 16종이 적합하다는 의견은 226.7%, 24종이 적합하다는 의견도 23.3%로 비슷하였다. 기타의견은 4종, 19종, 28종, 32종이 있었다.
- 평가물질은 16종의 유전자형을 모두 충족해야 하는 반면, 경제적 또는 시간적 여건으로 시료수는 8종의 요구가 가장 많은 것으로 분석되었다. 상충되는 요구를 적절히 반영시킬 수 있는 정도관리 프로그램의 개발에 대한 고찰이 필요하다.

나. 정도평가 결과의 정확성 기준 및 방법

	선택지문	답변수			
		종합전문 (20기관)	종합 병원 (5기관)	수탁 기관 (5기관)	합계 (30기관)
4) 정도평가주기	1. 1회/년	14 (46.7%)	3 (10.0%)	1 (3.3%)	18 (60.0%)
	2. 2회/년	5 (16.7%)	2 (6.7%)	4 (13.3%)	11 (36.7%)
	3. 기타 :의견기술 1회/3년	1 (3.3%)	0	0	1 (3.3%)
5) 정도관리평가 결과의 정확성 평가 방법	1. HPV 단일유형과 중복 유형 모두 일치	3 (10.0%)	3 (10.0%)	2 (6.7%)	8 (26.7%)
	2. HPV 단일유형과 중복 유형 중 한 유형이상 일치	17 (56.7%)	2 (6.7%)	3 (10.0%)	22 (73.3%)
	3. 기타 (기술)	0	0	0	0
6) 정도평가 통과 기준	1. 80% 이상	13 (43.3%)	5 (16.7%)	4 (13.3%)	22 (73.3%)
	2. 70% 이상	7 (23.3%)	0	1 (3.3%)	8 (26.7%)
	3. 기타 기술	0	0	0	0
7) 기타의견	자궁경부암과 관련된 상위 HR5종만 정도 평가 통과 기준 80% 적용				
	평가방법상, 복수의 HPV 유전자형 감염검체의 경우, 주요(고위험) HPV 유전자형의 검출을 정확성 기준으로 하는 것을 제안함				

- 정도관리 프로그램의 주기는 연간 1회가 적합하다는 답변이 60%였고, 2회가 적합하다는 답변은 36.7% 였다. 기타, 3년 1회가 적합하다는 의견이 있었다.
- 정확성을 정의하는 질문에서 중복유형 중 한 유형이상 일치하는 경우도 정확하다고 판정하는 의견이 73.3%였다.
- 정도평가의 통과 기준은 정확도가 80% 이상이어야 한다는 의견이 73.3%였다.
- 기타의견으로는 자궁경부암과 관련된 상위 HR5종만 정도 평가 통과기준 80%를 적용하자는 것과, 중복유형 시료에서의 평가는 고위험 유전자형의 검출을 기준으로 평가하자는 의견이 있었다.

4.3. 정도평가 프로그램 실용화를 위한 정책적 적용방안 제언을 위한 전문가회의

1. 진단검사의학과, 병리과 및 산부인과 관련 전문가 의견

가. 병리과 및 진단검사의학과 양 학회의 HPV 검사 평가 현황

- 병리과: 숙련도 평가의 일부로 HPV test (HPV16/18/음성 시료)를 실시하고, fail인 경우 (1회 재검기회 있음) 감점 처리하며, 숙련도 외부정도관리평가의 인증에 일부 반영함.
- 진단검사의학과: 정도관리 종류가 다양함
 - Routine, 학회자체평가, 관주도하에 특정 PI가 있는 평가가 있음

- HPV의 경우 대한임상정도관리협회에서 평가 (HPV16/18/음성 cell) 하며, 내부 및 외부 정도관리평가의 인증에 간접적으로 반영하고 있음.

2. 정도관리의 필요성

- 질병관리본부:
 - 국내에서 HPV genotyping 검사를 실시하므로 검사의 질 향상 차원에서 외부정도평가가 필요함. 이를 위하여 질병관리본부는 국내 정도관리를 위하여 정도관리 물질을 잘 만드는 것이 필요함. 그러나 현재 정도관리 방법에 있어 임상과 및 진단검사의학과, 병리과 간의 입장이 조금씩 다름. 이에 학회 간의 정도관리에 관한 의견 정리가 필요하고, 질병관리본부는 의견 정리 상황에 따라 역할을 결정할 수 있음.
- 임상 의사:
 - Genotyping의 임상적 중요성은 HPV16, 18에 국한됨.
 - HPV DNA genotyping kit 의 사후관리의 중요성이 더 크다는 의견.
- 병리과:
 - HPV16, 18외 genotyping의 정도관리 평가가 필요함.
 - Genotyping은 우리나라만의 특징적인 HPV DNA Chip 방법이 형성 되어있고, 이러한 방법을 사용한지 15년이나 되었는데 정도관리가 늦은 감이 있음 (HPV genotyping은 사각지대이며 정도관리가 반드시 필요함.)
- 진단검사의학과:
 - 일부 기관에서 Genotyping을 실시하기 때문에 HPV16, 18만 평가하는 것은 의미가 없음. 그러나 Genotyping 전부를 평가하기보다는 의미 있는 유형의 평가가 바람직함.
 - 정도관리 결과의 해석 시 특정제품의 우수성 또는 저하가 강조되어서는 안 되지만, 이를 계기로 성능이 낮은 제품 (특히, 특정 유전자를 잡지 못하는 경우)은 시장 경쟁원리에 의한 도태나 성능개선이 될 수 있는 좋은 기회가 될 수 있음.

3. 정도관리 운영

가. HPV 유전형검사 외부정도관리평가 실시 방법:

- 독립적인 EQ.A가 바람직함: 질병관리본부의 주도하에 특정 PI를 통하여 외부정도관리용 패널 물질을 동일하게 사용하나, 결과에 관한 평가는 해당학회가 개별적으로 평가하는 것이 주된 의견이었음
- 병리과와 진단검사의학과 모두 HPV 16/18에 국한하지 않은 전향적 방법 선호함.
 - 병리과:
 - => HPV16, 18외 다른 type의 genotyping의 정도관리 평가 필요함.
 - => 임상적 의미 있는 적은 수의 물질로 시범사업 시작하다가 확대하는 것을 고려함. 이 중 HPV 16/18에만 점수를 부여하고 나머지 타입은 연구베이스로 이용. 그러나 사업을 시작하면 질 향상은 있겠으나 일이 매우 많아짐을 우려함.
 - => 외부정도평가 빈도가 연간 2회에 동의하는 의견 있었음.
 - 진단검사의학과:
 - => HPV16, 18외 의미 있는 유형의 평가가 바람직함.

- => 제품별 특성을 고려하여, 정도관리에서 100점을 맞아야 한다거나 또는 어떤 제품이 전체적으로 좋다는 인식은 위험.
- => 시료의 개수를 줄이고 1년에 2회 이상 실시하는 것을 고려해야함. 시료 수가 너무 많아서 검사현장에서 어려움을 많이 느낌.
- 임상 의사: Genotyping의 임상적 중요성은 HPV16, 18에 국한됨.
- 외부정도관리에 사용하는 패널의 물질과 결과에 관한 평가 모두 개별적으로 하자는 의견도 있었음.

나. HPV 유전형검사를 별도로 할 것인지, 아니면 HPV screening PCR Kit 및 외국산 제품을 통합하여 정도관리 평가를 할 것인지?

- HPV 유전형검사를 별도로 평가하는 것에 동의하였음.
- HPV 검사의 외부정도관리 평가의 활성화를 위하여 별도의 기구를 만들어 정도관리 평가를 하자는 의견 있었음.

4. 정도관리용 물질

- 가. 향후, 정도관리용 표준물질로 HPV gene의 다른 region에 대한 개발이 필요함.
- 나. HPV 유전형 평가를 위하여 새로운 정도관리용 물질개발을 기다릴 건지 아니면, 기존 표준물질을 사용할 건지?

- 물질개발에는 많은 시간 소요가 예상되며, 또한 지금 사용하고 있는 국내 HPV genotyping 제품이 L1 gene에서 개발되었기 때문에 기존의 표준물질을 이용한 HPV 유전형 정도평가 실시가 가능하다고 동의함.

다. 패널 제작

- 패널 제작에 있어 기존 표준물질인 plasmid recombinant DNA 외에 HPV 16(Caski cell), HPV 18(HeLa cell) 등의 cell line을 포함하면 시료물질이 개선될 것이며 또한 핵산추출의 정도관리 평가가 가능함.
- 정도관리용 CELL을 보내는 경우는 매우 신중해야하며, DNA extraction 과정의 점검에 대한 부분은 분리해서 관리하는 것이 본 정도관리를 운용하는데 용이해 보임.
- 음성시료의 다양성이 필요함.

라. 정도관리용 특정 물질 관련

정도관리용 특정 물질이 범용으로 사용하기 어려운 경우 제품별로 적절한 표준물질을 제작하여 공급하는 것이 필요하다는 의견이 있었음: 그러나 HPV 유전형은 40종류 이상 다양하고 이들 간 교차반응이 있을 수 있으므로 정도관리에서 제품별 물질제작에 어려움이 있음. 따라서 이와 같은 경우에는 학회에서의 적절한 평가와 시장원리에 따르는 것이 타당함.

5. 기타

- 학회에서 HPV 유전형검사 외부정도관리평가 실시할 경우, 정도관리 물질은 질병관리본부에서 제공하는 것이 타당하며, 사후 제작비는 고려되어야함
- 향후, 이번 사업과 같은 연구는 몇 차례 계속되어야 함.
- 기관의 HPV 검사자를 대상으로 한 교육프로그램이 질병관리본부에서 가능한지를 문의하였고, 질병관리본부 측에서는 여러 방법을 모색해보자고 함.

- HPV 검사 키트의 동일제품 사용 시 기관별 일치도의 차이가 있음. 그 원인에 관한 분석이 필요하다는 의견이 있었음. 그러나 이를 파악하기 위해서는 실험한 기관의 실험실 환경과 검사자의 숙련도 등을 조사해야 하는데 본 연구에서는 실험실 실태조사를 할 수 있는 여건이 아니었음.

4.4. 결과의 요약

1. 표준물질의 제작 결과 요약

- 가. 다양한 분자생물학적 방법을 통하여 질병관리로부터 제공받은 표준물질의 원액이 적합함을 확인하였고, 패널의 목적에 맞게 원액을 희석하고 조합하였다.
- 나. 제작된 패널은 TaqMan RT-PCR 방법과 SYBR Green RT-PCR방법등을 이용하여 희석된 농도 및 포함된 HPV 유전자형이 목적에 맞음을 확인하였다.
- 다. 시료의 종류는 동일하지만 순서가 다른 A, B, C 유형의 패널중 각 1set의 패널을 무작위 선정하여 균질성을 확인하였을 때, CV%가 5%미만으로 균질함을 확인하였다.
- 라. 패널을 실온, 냉장, 냉동(-20℃)에 보관하며 3일 간격으로 15일동안 안정성을 확인하였을 때, CV%가 5%미만으로 균질함을 확인하였고, 참여기관 배포전 안정성에 문제가 없음을 재확인 하였다.
- 마. 참고검사실(Reference Lab.) 8기관을 통한 적합성 평가 결과, 패널 24개중 2개의 시료가 80%미만의 일치도를 보였다. 이중 한 개는 HPV 56으로 일부 제품에서 미검출됨을 감안하여 배포가 적합하다고 판단하였고, 나머지 1개 시료는 재검사 결과 일치도가 87.5%였으므로 배포가 적합하다고 판단하였다. 즉, 24개 시료 모두 배포가 적합하였다.

2. HPV 유전형 검사 외부정도평가 결과 요약

가. 참여기관의 결과분석

모든 기관의 정확도 평균은 85.9%(39.1~100%95% CI= 80.2~91.6%), 민감도 평균은 87.4%(36.4~100%95% CI= 81.4~93.4%), 특이도 평균은 84.9%(0~100%95% CI= 74.2~95.8%), 위양성률의 평균은 2%(0~16.7%95% CI= 0.4~3.6%), 위음성률의 평균은 11.9%(0~60.9%95% CI= 6.2~17.6%) 이었다.

나. 참여기관의 특성별

- (1) 참여기관의 특성별 분석: 종합전문병원 22기관, 종합병원은 5기관, 수탁기관은 6기관이었으며, 정확도 평균은 각각 84.8%, 91.3%, 85.5%로 종합병원의 정확도가 비교적 높았다.
- (2) 검사건수가 1,000건 이하는 9기관, 1,000~5,000건은 12기관, 5,000~10,000건은 5기관, 10,000건 이상을 검사하는 기관은 7기관으로, 정확도의 평균은 각각 76.8%, 87.7%, 95.7%, 87.6%로 1,000건 이하 기관에서 정확도가 비교적 낮았다.

다. 제품별 분석

- (1) 검사에 사용된 제품은 DNA Chip방식(48.48%)이 가장 많았고, RT-PCR 방식(30.3%), Luminex-bead 방식(12.12%), RFMP 방식(6.06%), Linear array 방식(3.03%) 순이었다.

- (2) 동일제품을 4개이상 사용하는 기관을 대상으로 정확도, 민감도, 특이도 등을 계산하였을 때, 제품별로 분석 값이 경향성을 보이지만, 동일기관에서 동일 시료를 이용한 반복시험이 이루어지지 않았기 때문에 제품의 성능이라고 판단하기는 어려울 것으로 사료된다.

라. 정도관리 물질별 결과의 통계분석

- (1) 5000 copies/rxn의 농도의 HPV 16이 포함된 시료의 정확도는 100%였으며, 250 copies/rxn 농도의 HPV 16과 18이 단일형으로 포함된 시료의 정확도는 모두 93.9%였다.
- (2) 5000 copies/rxn의 농도의 저위험군 HPV 6과 11의 정확도는 각각 97%, 87.9%였다.
- (3) HPV16과 18을 제외한 나머지 고위험군 HPV중 5000 copies/rxn의 농도의 단일형 시료의 정확도가 90% 이상인 유전자형은 HPV 33, 35, 45, 52, 58이며, 80~90%인 유전자형은 HPV 51이며, 80% 미만인 유전자형은 HPV 31, 39, 56(기존), 56(뉴), 59, 66, 68이었다.
- (4) 혼합형 시료에서의 250 copies/rxn농도의 HPV 16의 검출률의 범위는 0~100%였으며, 동일농도의 HPV 18의 검출률의 범위는 50~100%였다.
- (5) 혼합형 시료에서 5000 copies/rxn의 농도의 고위험군 HPV 검출률은 단일형과 혼합형에서의 차이가 대부분 없었지만, 몇몇 제품에서는 50~100%의 큰 차이를 보였다.

3. 설문조사 및 전문가 회의 결과 요약

가. 설문조사 요약

(1) 참여자와 기관 정보

- 총 30기관 중 3개 기관은 서로 다른 검사기법으로 복수 참가하여 33개의 HPV 정도관리 물질 검사결과가 모두 반영되었고, 설문은 검사실 정보와 제품정보가 포함된 문항에서는 33답변, 그 외 문항은 동일기관에서 동일인의 답변으로 30기관에 대한 답변을 반영하였다.
- 병리와 소속의 경우 종합전문병원 58%, 종합병원 15%로, 총 73%였고, 진단검사 의학과 소속의 경우 종합전문병원 9%, 수탁전문기관이 18% 참여하였다.
- 검사건수가 1,000이하는 27.3%, 1,001~5,000은 36.4%, 5,001~10,000은 15.2%이고 10,001이상은 21.2%였다.

(2) 제품의 정보

- 총 9종류의 제품(A~I)이 참여하였으며, 중복되는 Lot. No.가 포함된 제품은 세 종류였다.

(3) HPV 정도관리를 평가물질의 적절성 평가

- 전체적으로 제공한 패널의 종류, 농도, 양과 검사기간 등이 적절하다고 평가하였다.
- 개선사항으로는, 제품별 사용하는 샘플의 양을 명확하게 제시하고, 검체간 오염방지를 위하여 시료를 담은 vial 변경, DNA 형태가 아닌 원검체를 이용한 정도관리가 필요하다는 의견을 제시하였다.

(4) HPV 유전형검사 외부정도평가 개발

- 평가물질은 고위험군에 속하는 14종(Type 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68)과 저위험군에 속하는 2종(Type 6, 11)의 유전자형을 모두 포함해야 한다는 답변이 많았다.
- 평가물질은 8종이 적합하다는 의견이 많았으며, 16종과 24종이 적합하다는 의견이 비슷하였다.
- 중복유형 중 한 유형이상 일치하는 경우도 정확하다고 판정하는 의견(73.3%)이 많았다.
- 정도평가의 통과 기준은 정확도가 80%이상이어야 한다는 의견이 우세하였다.
- 정도관리 프로그램의 주기는 연간 1회가 적합하다는 답변(60%)이 많았다.
- 기타의견으로는 자궁경부암과 관련된 상위 HR5종만 정도 평가 통과기준 80%를 적용하자는 것과, 중복유형 시료에서의 평가는 고위험 유전자형의 검출을 기준으로 평가하자는 의견이 있었다.

나. 전문가회의 요약

(1) 병리과 및 진단검사의학과 양 학회의 HPV 검사 평가 현황

- 양 학회에서 HPV16/18/음성 시료에 관하여 HPV test에 관한 정도관리를 실시하고 있음. fail인 경우 (1회 재검기회 있음) 감점 처리하며, 숙련도 외부정도관리평가의 인증에 일부 반영함.
- 양 학회에서 정도관리 평가 결과는 정도관리평가의 인증에 간접적으로 반영하고 있음.

(2) 정도관리의 필요성

- 질병관리본부:
국내에서 HPV genotyping 검사를 실시하므로 검사의 질 향상 차원에서 외부정도평가가 필요함. 이를 위하여 질병관리본부는 국내 정도관리를 위하여 정도관리 물질을 잘 만드는 것이 필요함. 그러나 현재 정도관리 방법에 있어 임상과 및 진단검사의학과, 병리과 간의 입장이 조금씩 다름. 이에 학회 간의 정도관리에 관한 의견 정리가 필요하고, 질병관리본부는 의견 정리 상황에 따라 역할을 결정할 수 있음.
- 임상 의사: HPV DNA genotyping kit 의 사후관리의 중요성이 더 크다는 의견.
- 병리과와 진단검사의학과:
 - Genotyping은 우리나라만의 특징적인 HPV DNA Chip 방법이 형성 되어있고, 이러한 방법을 사용한지 15년이나 되었는데 정도관리가 늦은 감이 있음
 - 정도관리 결과의 해석 시 특정제품의 우수성 또는 저하가 강조되어서는 안 되지만, 이를 계기로 성능이 낮은 제품 (특히, 특정 유전자를 잡지 못하는 경우)은 시장경제원리에 의한 도태나 성능개선이 될 수 있는 좋은 기회가 될 수 있음.

(3) 정도관리 운영

- HPV 유전형검사 외부정도관리평가 실시 방법:
 - ① 독립적인 EQ.A가 바람직함: 질병관리본부의 주도하에 특정 PI를 통하여 외부정도관리용 패넬 물질을 동일하게 사용하나, 결과에 관한 평가는 해당학회가 개별적으로 평가하는 것이 주된 의견이었음
 - ② 병리과와 진단과 모두 HPV 16/18에 국한하지 않은 전향적 방법 선호함.

- 병리과:

=> 임상적으로 의미있는 적은 수의 물질로 시범사업 후 확장 고려함.

=> HPV 16/18에만 평가점수를 부여하고 나머지 타입은 연구베이스로 이용.

=> 외부정도평가 빈도가 연간 2회에 동의하는 의견 있었음.

- 진단검사의학과:

=> HPV16, 18의 의미 있는 유형의 평가가 바람직함.

=> 시료의 개수를 줄이고 1년에 2회 이상 실시하는 것을 고려해야함.

- 임상 의사: Genotyping의 임상적 중요성은 HPV16, 18에 국한됨.

- HPV 유전형검사를 별도로 할 것인지, 아니면 HPV screening PCR Kit 및 외국산 제품을 통합하여 정도관리 평가를 할 것인지?

① HPV 유전형검사를 별도로 평가하는 것에 동의하였음.

② HPV 검사의 외부정도관리 평가의 활성화를 위하여 별도의 기구를 만들어 정도관리 평가를 하자는 의견 있었음.

(4) 정도관리 물질

- 향후, 정도관리용 표준물질로 다른 region에 대한 개발이 필요함.

- 그러나 물질개발에는 많은 시간 소요가 예상되므로, 지금 사용하고 있는 국내 HPV genotyping 제품이 L1 gene에서 개발되었기 때문에 기존의 표준물질을 이용한 HPV 유전형 정도평가 실시가 가능하다고 동의함.

- 패널 제작

- ① 패널 제작에 있어 기존 표준물질인 plasmid recombinant DNA 외에 HPV 16(Caski cell), HPV 18(HeLa cell) 등의 cell line을 포함하면 시료물질이 개선될 것이며 또한 핵산추출의 정도관리 평가가 가능함.

- ② 음성시료의 다양성이 필요함.

(5) 기타

- 향후, 이번 사업과 같은 연구는 몇 차례 계속되어야 함.

- 기관의 HPV 검사자를 대상으로 한 교육프로그램이 질병관리본부에서 가능한지를 문의하였고, 질병관리본부 측에서는 여러 방법을 모색해보자고 함.

- HPV 검사 키트의 동일제품 사용 시 기관별 일치도의 차이가 있음. 그 원인에 관한 분석이 필요하다는 의견이 있었음. 그러나 이를 파악하기 위해서는 실험한 기관의 실험실 환경과 검사자의 숙련도 등을 조사해야 하는데 본 연구에서는 실험실 실태조사를 할 수 있는 여건이 아니었음.

제5장 연구결과 고찰 및 결론

5.1. 고찰

1. HPV 유전형검사 외부정도평가 필요성

- 현재 우리나라에서 HPV 검사와 관련하여 시행하고 있는 정도관리는 진단검사의학회 및 대한임상검사정도관리협회와 대한병리학회가 실시하고 있으며, 정도관리 프로그램으로 HPV 16, HPV18과 HPV 음성 시료를 이용하여 외부정도관리 평가를 하고 있다. 병리학회의 정도관리 평가 결과의 예를 보면, 참여한 전 기관이 HPV 16 또는 HPV 18에 관하여 거의 100%의 정확도를 보였다.
- 그러나 진단검사의학과와 병리과 소속 기관으로 HPV 정도관리에 참여하는 기관 중 진단검사의학과 51% (21/41기관), 병리과의 84% (43/51기관) 가 이와 같이 많은 기관에서 HPV 유전형 키트를 사용하고 있다.
- 또한 우리나라에서 개발된 HPV 유전형 키트는 20~40종의 많은 종류의 HPV 유전형을 진단할 수 있다. HPV 키트가 식품의약품안전청의 허가를 받아 시판되고 있지만, 국내에서 상용화된 유전형 검사 제품 간의 민감도 및 위음성도가 다양하였고, 실험방법이 상당히 예민하여 위양성이나 재현성의 어려움이 있을 수 있으므로 HPV 유전형 검사의 정도 관리가 절대적으로 필요하다.

2. HPV 검사 외부정도평가 참여기관 모집

- 참여기관은 최소 50기관 참여를 목적으로 하였으나, 실제 참여기관은 진단검사의학과 9기관, 병리과 24 기관으로 총 33 기관이 참여하였다.
- 참여 기관은 HPV DNA L1 gene을 이용하여 국내에서 개발된 HPV 검사제품을 사용하고 있으며, 대한진단검사의학회 및 대한병리학회 소속 정도관리위원회 네트워크를 이용하여 모집하였고, 참가기관의 구성은 종합전문병원, 종합병원, 수탁전문기관 등 특성별 모든 기관이 참여하였고, 본 연구의 목적에 잘 부합하는 기관이 참여하였다.
- 목적했던 50기관을 모집하지 못한 이유는 다음과 같았다: 1) 선행연구의 일환으로 2014년도에 실시했던 “HPV 유전형검사 외부정도관리평가 프로그램 개발”과제에 참여했던 기관의 일부는 동일한 HPV 검사제품을 사용하거나 2) 또는 HPV genotyping이 아닌 HPV 검사제품으로 변경한 경우, 3) 해당기관의 상황에 따라 24 종류의 패널을 연구용으로 사용하기 어려운 경우, 4) 해당기관의 인력 수급에 갑작스런 어려움으로 참여하지 못한 경우 등의 여러 가지 이유가 있었다.
- 그러나 이번의 참여 기관에 소위 big five의 대형 병원과 수탁기관이 참여하였음은 큰 수확이었고, 이는 학회의 정도관리 네트워크를 이용한 결과라 여겨진다.

3. HPV 유전형검사 외부정도평가용 패널제작

- 질병관리본부가 제공한 모든 16종의 HPV 유전형과 HPV 음성자궁경부세포 (C33A)에서 추출한 genomic DNA를 이용하여 24종류의 패널을 제작하였다. 정도평가용 패널의 정확성을 평가하기 위하여 2014년도에 우수한 성적을 얻은 여덟 기관을 참고검사실 (Ref.)을 선정하여 패널 물질을 평가하였다. Ref.7과 Ref.8.은 고농도 음성시료에서 각각 HPV 66과 HPV 6.16 의 위양성을 보였다. 검사 수행 시 발생 할 수 있는 여러

요인으로 인하여 위양성이 발생했을 가능성이 있으므로, Ref.7과 Ref.8에 해당시료의 재검을 요청하였다. 또한 동일 DNA를 사용하여 저농도 음성시료 재검도 함께 요청하였다. 그 결과 저농도 음성시료에서의 정확도는 100%였고, 고농도 음성시료에서의 정확도는 최종 87.5%이므로 배포하기에 적합하다고 판단하였다.

- 그러나 나머지 25기관에서 실시한 외부정도평가의 결과에서 고농도 음성시료의 경우 다수의 위양성의 검출되었다. 이는 여러 요인으로 인한 위양성이 발생했을 가능성이 있으므로 분석에서 제외하였다.
- 이번을 경험으로 C33A의 음성 세포주를 이용해도 copy수가 많은 경우 다양한 위양성 결과를 보임을 알 수 있었다. 향후 HPV 정도관리물질의 음성 DNA 시료의 개선이 필요하며, 이를 위하여 C33A 세포주가 아닌 HPV 음성 세포주 또는 DNA 등의 고려와 음성 DNA 시료 농도를 저농도(5ng/rxn)로 고정하는 것이 필요하다고 사료된다.

4. 통계처리

- 본 연구와 관련된 통계처리 방법에 있어 정확도만 있어도 충분함, 황금표준이 없으므로 정확도와 kappa value 만 의미가 있음, 황금표준이 있다면 two by two table에 입각한 다양한 통계수치를 구할 수 있음 등의 의견이 분분하여, 통계관련 전문가의 자문을 구하였다.
- 본 연구는 HPV 유전형분석 표준물질의 황금표준이 존재하므로 two by two table에 입각하여 다양한 통계수치를 구할 수 있음을 확인하였다. 통계수치로 정확도, 민감도, 특이도, 위음성율, 위양성율, 양성예측도, 음성예측도와 95% 신뢰구간을 구하였다.

5. HPV 유전형검사 외부정도평가용 결과에 관한 고찰

- 참여한 전체 기관의 일치도를 살펴보면, 정확도 평균은 85.9%(39.1~100%), 민감도 평균은 87.4%(36.4~100%), 특이도 평균은 84.9%(0~100%), 위양성율은 2.0%(0-16.7%), 위음성율은 11.9%(0-60.9%)이었다. 이와 같은 결과를 2014년도 HPV 검사 외부정도평가 결과 [정확도 평균: 79%(53~100%), 민감도 평균: 81%(50~100%), 특이도 평균: 73%(0~100%), 위양성율: 5%(0-34%), 위음성율: 17%(0-47%)]와 비교해 보았을 때, 2014년도 보다 HPV 검사의 정도관리가 향상되었음을 알 수 있었다.
- 외부정도평가에 사용된 제품에서 DNA Chip방식 (48.48%)이 가장 많았다. 두 번째로 많이 사용한 방법은 RT-PCR (30.30%)이었고, Luminex-bead 방식 (12.12%)을 세 번째로 많이 사용하였다. 2014년도의 현황과 비교하였을 때, DNA Chip 방식의 사용 빈도가 73%에서 48.48%로 약 25% 감소하였고, 반면 RT-PCR 방식은 10%에서 30.3%로 약 20% 증가하였다. 또한 학회별로 HPV 검사키트를 사용하는 빈도에 차이가 있었다.
- 33기관 중 10기관이 정확도 100%를 보였다. 이를 2014년도의 선행연구와 비교해보면 본 연구에서 제품의 성능과 숙련도에서 향상되었을 뿐 아니라, 표준물질도 양호한 상태를 알 수 있었다.
- 참여기관의 특성별 분석에서 정확도가 종합병원 (91.3%)에서 상대적으로 높았고, 검사건수가 1,000건 이하 기관 (76.8%)에서 상대적으로 낮았다. 이는 2014년도 HPV 검사 외부정도평가 결과와 유사하였다.
- 참여기관 수가 적어 제한성은 있었지만, 제품의 제조번호별 차이에 따른 정확성, 민감

도, 특이도를 두 개의 제조번호별로 비교해 보자면, 제품A (각각 95.7% vs. 87.0%, 95.5% vs. 95.2%, 100% vs. 38.1%)와 제품B (각각 54.3% vs. 76.1%, 52.3% vs. 76.1%, 100% vs. 75%)는 제조번호별 차이가 있었고, 제품C는 (각각 100% vs. 98.6%, 100% vs. 98.5%, 100% vs. 100%)차이가 없었다. 따라서 제조번호별 결과의 차이는 생산된 시기에 따른 제품 차이, 제품의 고유 특성 등도 영향을 주겠지만, 검사를 실시하는 기관의 환경이나 숙련도 등도 영향을 줄 수 있는 여건이라 사료된다.

- 정도관리 단일형 HPV 유전자형별 정확도를 살펴보면, HPV 6 (97%), 16고농도 (100%), 16저농도 (93.9%), 18저농도 (93.9%), 33 (93.9%), 35 (97.0%), 45 (100%), 52 (97.0%), 58 (90.9%)은 정확도가 90%이상으로 높았으며, HPV 11 (87.9%), 51 (84.8%)은 정확도가 80%~90%로 비교적 안정적이었다. 특히 임상적으로 중요한 HPV 16 (100%-93.9%)과 18 (93.9%)의 정확성은 WHO가 실행한 정도평가 결과 (HPV 16/18: 95%/87%) 보다 높은 정확성을 보였다.
- HPV 31 (72.7%), 39 (78.8%), 56기존 (54.5%), 56뉴 (66.7%), 59 (75.8%), 66 (72.7%), 68 (78.8%)은 정확도가 80%미만으로 비교적 낮았다. HPV 56은 2014년도 정도관리에 사용된 기존형태와 몇 개의 시퀀스가 다른 새로운 형태 모두에서 정확도가 70%미만으로 낮았다. HPV 56의 잘못된 결과는 음성이나 other 유형으로 검출되었고, 특히 제품에 따라 정확성에서 큰 차이를 나타내었다. 따라서 향후 HPV 56 형에 관한 토의가 필요하다.

6. HPV 유전형검사 외부정도평가 개발과 관련된 설문조사 결과 고찰

- 설문조사에 병리과 소속 경우 종합전문병원 58%, 종합병원 15%로 총 73%였고, 진단검사 의학과 소속 경우 종합전문병원 9%, 수탁전문기관이 18%로 27% 참여하였다. HPV 유전형 외부정도평가 프로그램 실용화와 관련하여 외부정도평가용 표준물질에는 HR-HPV 14종/LR-HPV 2종 전부를 포함, 패널 시료 수는 8종류, 정도관리 평가 주기는 년 1회, 정확성의 정의를 HPV 단일 또는 중복감염 중 한 유형 일치, 정도평가 통과 기준은 점수 80% 이상을 선호하였다. 이상의 결과는 2014년도 설문조사 결과와 유사하였다.

7. 전문가 토의

가. 병리과 및 진단검사의학과 양 학회의 HPV 검사 평가 현황

- 양 학회에서 HPV16/18/음성에 관하여 HPV test에 관한 정도관리를 실시하고 있음.
- 양 학회에서 정도관리평가 결과는 정도관리평가의 인증에 간접적으로 반영하고 있음.

나. 정도관리의 실용화를 위하여 다음의 의견이 있었다.

- 정도관리 운영에 있어 병리과와 진단검사의학과는 1) HPV 유전형검사는 HPV screening 검사와 달리 별도로 평가, 2) 학회 간의 독립적인 EQ.A가 바람직하고, 3) 방법적으로 외부정도관리용 패널 물질을 동일하게 사용하나, 결과에 관한 평가는 해당학회가 개별적으로 평가에 동의하였다.
- 정도관리용 물질과 관련하여 1) 음성시료의 다양성이 필요, 2) plasmid recombinant DNA 외에 HPV 16(Caski cell), HPV 18(HeLa cell) 등의 cell line을 포함하면 시료물질도의 개선과 핵산추출의 정도관리 평가 가능, 3) 향후, 정도관리용 표준물질을 다른

region에서 개발이 필요함 등에 동의하였다.

- 기타로 1) 본 사업의 연구는 몇 차례 계속되어야 함, 2) HPV 검사자를 대상으로 한 교육프로그램 개발, 8) 정도관리용 패널을 위한 품질평가의 기준 마련 제시 등이었다.

5.2. 결론

- 본 연구와 2014년도의 HPV 검사 정도관리의 결과를 비교하였을 때, 선행연구와 본 연구에서 정도관리 결과에 대하여 엄격한 통과기준을 평가한 바가 없었지만, 본 연구의 HPV 검사결과 통계수치가 2014년도 보다 전반적으로 좋은 성과를 보였다. 이를 통하여 정도관리용 유전형 표준물질을 이용하여 정도관리를 실시하는 그 자체가 HPV 검사의 정확성을 높일 수 방법이란 것을 알 수 있었다.
- 본 연구는 HPV genotyping 외부정도관리 평가의 실용화를 위한 국내 첫 시도로 HPV 검사의 외부정도평가, 설문조사와 전문가 회의를 토대로 정도관리 운영 체계, 정도관리용 물질의 개선 및 정도관리용 패널의 품질평가의 기준 마련 제시 등에 관한 폭 넓은 의견이 있었다. 또한 대한병리학회, 대한진단검사의학회와 산부인과학회가 공동 참여하였으므로, 관련 학회는 HPV genotyping 정도관리에 대한 인식을 높일 수 있는 좋은 기회였고, 따라서 정도관리 프로그램에 쉽게 접근할 수 있을 것으로 사료된다.
- HPV 유전형 검사 정도관리 프로그램 실용화를 위한 초기 연구로 자발적 참여를 유도하고, 자체적 개선을 할 수 있도록 하는 것에 우선순위를 두는 것이 바람직하다고 사료된다.
- 그러나 현재의 병리과와 진단검사의학과는 HPV16/18/음성 시료를 이용하여 외부정도관리평가의 결과를 간접적으로 인증에 일부 반영하고 있으므로, HPV genotyping을 하는 기관도 현행 제도를 접목하여 최소한 HPV16/18/음성 시료에 한하여 평가를 받는 것이 타당하다.
- 본 연구의 결과는 학회에서의 HPV 검사 정도관리에 실질적으로 많은 도움을 줄 수 있다고 사료된다.
- 궁극적으로 병리과와 진단검사의학과 소속 학회의 노력으로 HPV genotyping 외부정도평가를 실용화하기 위한 프로그램을 점진적으로 개발하여 genotyping에 관한 실질적 정도관리를 수행할 것이라 사료된다.

제6장 연구성과 및 활용계획

6.1 연구성과

정책연구용역 사업명	HPV 유전형 검사 외부정도평가 프로그램 실용화
책임연구원	홍성란 / 제일병원 단국대학교 / 병리학

가. 연구논문

번호	논문제목	저자명	저널명	집(권)	페이지	Impact factor	국내/국외	SCI 여부
1								
2								

나. 학술발표

번호	발표제목	발표형태	발표자	학회명	연월일	발표지	국내/국제
1							
2							

다. 지적재산권

번호	출원/등록	특허명	출원(등록)인	출원(등록)국	출원(등록)번호	IPC분류
1						
2						

라. 정책제안 및 활용

<p>○ HPV 유전형검사의 외부정도관리 평가의 실용화를 통하여</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) HPV 검사에 대한 국가 및 학회 차원의 질관리에 따른 질향상 유도 2) HPV 검사기관들에 대한 질 향상으로 국민들에게 정확한 검사 결과 제공 가능 3) HPV 검사에 사용되는 국내 진단법에 대한 성능 검사 및 품질 개선 유도 4) HPV 정도평가용 표준물질의 개선 및 개발 발전에 기여 5) 궁극적으로 국민건강의 향상과 불필요한 의료비 절감 등을 성취할 수 있다.

마. 타연구/차기연구에 활용

- 표준화물질의 일부 개선 필요합니다. 본 연구에서 문제가 되었던 고농도의 음성대조군에 대한 대안이 필요하다. 또한 HPV 56과 관련하여 기존의 것과 새로 개발된 것에 큰 차이가 없으므로 개선이 필요하다.
- 궁극적으로 양 학회의 노력으로 HPV genotyping EQA 실용화를 위한 프로그램이 순차적으로 개발되어 실질적 정도관리를 수행할 것이라 사료된다.

바. 언론홍보 및 대국민교육

- 해당 없음

사 기타

- 해당 없음

6.2 활용계획(연구사업 종료 후)

정책연구용역 사업명	HPV 유전형 검사 외부정도평가 프로그램 실용화
책임연구원	홍성란 / 제일병원 단국대학교 / 병리학

가. 연구논문

번호	논문제목	저자명	저널명	집(권)	페이지	Impact factor	국내/국외	SCI 여부
1								
2								

나. 학술발표

번호	발표제목	발표형태	발표자	학회명	연월일	발표지	국내/국제
1							
2							

다. 지적재산권

번호	출원/등록	특허명	출원(등록)인	출원(등록)국	출원(등록)번호	IPC분류
1						
2						

라. 정책제안 및 활용

- HPV 유전형검사의 외부정도관리 평가의 실용화를 통하여
 - 1) HPV 검사에 대한 국가 및 학회 차원의 질관리에 따른 질향상 유도
 - 2) HPV 검사기관들에 대한 질 향상으로 국민들에게 정확한 검사 결과 제공 가능
 - 3) HPV 검사에 사용되는 국내 진단법에 대한 성능 검사 및 품질 개선 유도
 - 4) HPV 정도평가용 표준물질의 개선 및 개발 발전에 기여
 - 5) 궁극적으로 국민건강의 향상과 불필요한 의료비 절감 등을 성취할 수 있다.

마. 타연구/차기연구에 활용

※ 차기연구에 활용

- 학회가 HPV유전형 검사 외부정도평가를 실용화 할 때까지 지속적으로 지원하는 것이 필요하다. 상기 성과에서와 같이 지속적인 정도평가 결과를 통하여 제품에 대한 성능 파악, 숙련도의 향상과 표준물질의 개선 등으로 자연스럽게 HPV 검사의 정확성이 좋아질 것으로 사료된다.
- HPV genotyping 외부정도관리 평가의 실용화 내용을 현실화하기 위하여 차기연구에 활용할 것을 다음과 같이 제안한다.

I. HPV 유전형검사 외부정도관리 평가 프로그램의 실용화 2

- 1) **HPV 유전형검사 외부정도관리평가 실시**에 있어 양학회가 독립적인 외부정도평가를 실시한다. 방법적으로 질병관리본부의 주도하에 특정 PI를 통하여 외부정도관리용 패널 물질을 동일하게 사용하나, 결과에 관한 평가는 해당학회가 개별적으로 평가하는 것을 주된 목적으로 한다.
- 2) **HPV 유전형검사의 정의**에는 국내의 genotyping 외에 외국 제품의 genotyping도 포함 할 수 있다.
- 3) **정도관리평가용 패널 물질**에는 질병관리본부가 개발한 것 외에 HPV16/18의 cell line을 포함하여 핵산추출의 정도관리 평가를 동시에 평가한다.

II. 정도관리용 패널의 품질평가를 위한 기준 마련에 관한 연구

- 1) 본 과제에서 불확실한 패널검증의 기준 및 제품 효능의 불확실성과 불확실한 숙련도는 정도관리물질의 효율성과 실용화를 평가하는데 있어 문제점으로 거론되었다
- 2) 이에, 보다 **정확한 패널의 품질평가**를 위하여, 각 단계별 시험방법과 평가의 기준을 마련하는 것이 선행되어야 할 것으로 생각된다.
- 3) 특히, 정도관리가 양 학회의 인증 또는 숙련도 평가와 밀접한 관계가 있는바, reference kit을 이용한 시험자간/제품 Lot 간 등의 다양한 요인의 차이를 두고 재현성을 실험함으로써, 발생 가능한 결과의 양상을 파악하고 이를 정도 관리평가에 반영하는 것이 필요하다.

바. 언론홍보 및 대국민교육

해당 없음

사. 기타

- 국내의 자체적인 표준화물질을 제작해서 이를 활용하는 방안이 매우 이상적이며, 이를 검증하는 본 연구 결과물로 향후 양 학회가 이 물질을 채택하는 것이 가장 중요한 활용방안이다. 더욱이, 80%이상의 정확도를 보이는 신뢰성이 확보되는 표준화물질은 지속적 활용을 해야 할 것이며, 그 이하의 정확도를 보이는 표준화물질 또한 국내 유전자형에 관한 보고 및 질 향상에 활용되어야 한다.
- 이를 위해서는 이를 안내하는 (전문가모임/공청회) 절차가 반드시 필요하며, 학회의 정도관리 담당자와 함께 논의를 하는 포럼이 여러 차례 필요하다.
- 병리학회, 세포학회, 진단검사의학회, 정도관리협회의 정도관리 담당 임원들은 물론, 산부인과 조기암검진 담당자, 세포병리학회의 스크리너, 업체의 QC담당자들이 모두 참여해야 하며 필요하다면 각각의 모임도 계획해야 한다.
- 그 외에 다양한 HPV 검사제품에 대하여 정도관리를 용이하게 할 수 있도록 폭넓은 타겟 지역을 포함한 정도평가용 표준물질의 개발이 필요하다. 특히 L1 다음으로 많이 사용되는 E6/E7을 포함한 표준물질의 활용도는 보다 높을 것으로 사료된다.
- 학회관련자에게 HPV유전형 검사 외부정도평가에 관한 인식을 확실히 하기 위해서는 학회의 정도관리 임원들과 심포지움이나 포럼 등의 모임을 갖는 것이 필요하다.
- 어려우시겠지만, 식약처와 협의하여 HPV 검사 제품과 숙련도 평가를 동시에 할 수 있는 연구의 기회가 있기를 희망한다.
- 숙련도 향상을 위하여 질병관리본부에서 기본적인 교육 프로그램 개설을 요청한다.

제7장 정책연구용역사업 진행과정에서 수집한 해외과학기술정보

○ 없음

제8장 기타 중요변경사항

- 참여 연구원변경: 변경전 11명, 변경 후 12명(유종우 연구원)
- 연구비 변경: 여비 367,000원 감소, 시약및 연구용재료비 2,309,176원 감소,
임차료 302,000 원 감소, 교통통신비 771,824원 감소, 회의비 3,750,000원 증가

제9장 연구비 사용 내역 및 연구원 분담표

9.1 연구비 사용 내역

구분	계약금액(원)	집행금액(원)	잔액(원)	비고
○ 인건비소계	27,139,629	27,139,629	0	
○ 경비소계	33,466,735	33,466,462	0	
여비	173,000	173,000	0	
유인물비	450,000	450,000	0	
전산처리비	-	-		
시약 및 연구용 재료비	11,929,559	11,929,559	0	
회의비	17,250,000	17,250,000	0	
임차료	250,000	250,000	0	
교통통신비	848,176	848,176	0	
위탁정산수수료	366,000	332,727	33,273	
○ 연구활동비	2,200,000	2,200,000	0	
○ 일반관리비	3,030,000	3,030,000	0	
○ 부가세	6,363,636	6,363,636	0	
계	70,000,000	69,966,727	33,273	

9.2 연구분담표

구 분	소 속	직 위	성 명	성 별	분 담 내 용	인 건 비 지 급 여 부	참 여 율 (%)
책임연구원	단국대 제일병원	교수	홍성란	여	연구총괄	지급	18
연구원	연세대학교	교수	조남훈	남	대한병리학회 정도관리 총괄	지급	12
연구원	분당서울 대학교병원	교수	박경운	남	대한진단검사의학회 정도관리 총괄	지급	12
연구원	단국대 제일병원	교수	김태진	남	외부정도평가 정책제시	지급	4
연구원	고려대 구로병원	교수	이재관	남	외부정도평가 정책제시	지급	4
연구원	국립암센터	책임 의사	유종우	남	세포병리학회 정도관리 총괄	지급	12
연구원	분당서울 대학교병원	조교수	황상미	여	대한진단검사의학회 정도관리 지원	지급	4
연구보 조원	연세대학교	조교	강숙희	여	대한병리학회 정도관리 지원	지급	4
연구보 조원	단국대 제일병원	선임	정미선	여	정도관리 지원 총괄	지급	11
연구보 조원	단국대 제일병원	연구원	서현희	여	정도관리 물질 제작 및 연구비 관련	지급	11
연구보 조원	단국대 제일병원	연구원	김영준	남	정도관리 물질 배포	지급	6
연구보 조원	단국대 제일병원	대리	조정숙	여	회의진행	지급	2
계							100%

제10장 참고문헌

1. Lung KW, Won YJ, Kong HJ, Oh CM, Seo HG, Lee JS. Cancer statistics in Korea: incidence, mortality, survival and prevalence in 2010. *Cancer Res Treat.* 2013;45:1-14.
2. Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M, Nazeyrollas P, Gabriel R, Quereux C, Birembaut P. Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women. *Br J Cancer.* 2001;84:1616-1623.
3. Wallin KL, Wiklund F, Angström T, Bergman F, Stendahl U, Wadell G, Hallmans G, Dillner J. Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. *N Engl J Med.* 1999;341:1633-8.
4. Anil K, Chaturvedi, Hormuzd A, Katki, Allan Hildesheim,1 Ana Cecilia Rodriguez, Wim Quint, Mark Schiffman, Leen-Jan Van Doorn, Carolina Porras, Sholom Wacholder, Paula Gonzalez, Mark E. Sherman,1 and Rolando Herrero2 for the CVT Group. Human Papillomavirus Infection with Multiple Types: Pattern of Coinfection and Risk of Cervical Disease. *JID* 2011;203:910-20.
5. Solomon D, Schiffman M, Tarone R; ALTS Study group. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:293-9.
6. Hong SR, Kim IS, Kim DW, *et al.* Prevalence genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in Korean women: a multicenter study. *Korean J Pathol* 2009; 43: 342-50.
7. HPV and Cervical Cancer in the World. 2007 Report. Vaccine 25S. WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer.
8. Cramer DW. The role of cervical cytology in the declining morbidity and mortality of cervical cancer. *Cancer* 1974;34:2018-27.
9. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Virology. Classification of papillomaviruses. 2004 Jun 20;324(1):17-27.
10. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, *et al.* Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N England J Med* 2003; 348: 518-27.
11. Kang WD, Kim CH, Cho MK, Kim JW, Kim YH, Choi HS, Kim SM. Comparison of the hybrid capture II assay with the human papillomavirus DNA chip test for the detection of high-grade cervical lesions. *Int J Gynecol Cancer.* 2009;19:924-8.
12. Castle PE1, Wheeler CM, Solomon D, Schiffman M, Peyton CL; ALTS Group. Interlaboratory reliability of Hybrid Capture 2. *Am J Clin Pathol.* 2004 Aug;122(2):238-45.
13. Lee GY, Kim SM, Rim SY, Choi HS, Park CS, Nam JH. Human papillomavirus (HPV) genotyping by HPV DNA chip in cervical cancer and precancerous lesions. *Int J Gynecol Cancer.* 2005;15:81-7.
14. Song SH, Hong JH, Kwak SH, Lee JK, Kim MK. Clinical performance assessment of

- five human papillomavirus DNA tests using liquid-based cytology samples. *J Obstet Gynaecol Res.*2012;38:408-14.
15. Park S, Kang Y, Kim DG, Kim EC, Park SS, Seong MW. Comparison of the analytical and clinical performances of Abbott RealTime High Risk HPV, Hybrid Capture 2, and DNA Chip assays in gynecology patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;76:432-6.
 16. Lee GY, Kim SM, Rim SY, Choi HS, Park CS, Nam JH. Human papillomavirus (HPV) genotyping by HPV DNA chip in cervical cancer and precancerous lesions. *Int J Gynecol Cancer.*2005;15(1):81-7.
 17. Park KS, Kim JY, Ki CS, Lee NY. Comparison of the digene HPV genotyping LQ test and the PANArray HPV genotyping chip for detection of high-risk or probable high-risk human papillomavirus genotypes. *Ann Lab Med.*2014 Jul;34(4):279-85.
 18. Tabrizi SN. Quality assessment for human papillomavirus testing. *Sex Health.* 2010 Sep;7(3):335-7.
 19. Tachezy R¹, Smahelová J. Quality assurance of human papillomavirus testing. *Coll Antropol.* 2007 Apr;31 Suppl 2:61-5.
 20. Impramin C. Abstract presented at 92nd General meeting of the American Society of Microbiology. 1992.
 21. CAP HPV Survey meets CLIA requirement. <http://www.cap.org/apps/cap> > HPV proficient test.
 22. CLIA, subpart H, section 493.831 Standard; Virology. <http://wwwn.cdc.gov/clia/>.
 23. Ferguson M1, Wilkinson DE, Zhou T. WHO meeting on the standardization of HPV assays and the role of the WHO HPV Laboratory Network in supporting vaccine introduction held on 24-25 January 2008, Geneva, Switzerland. *Vaccine* 2008;27:337-347.
 24. Carina Eklund, Tiequn Zhou, and Joakim Dillner for the WHO Human Papillomavirus Laboratory Network. Global Proficiency Study of Human Papillomavirus Genotyping. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 2010;48:4147 - 4155.
 25. Eklund C1, Zhou T, Dillner J; WHO Human Papillomavirus Laboratory Network. Global proficiency study of human papillomavirus genotyping. *J Clin Microbiol.* 2010;48:4147-55.
 26. Human Papillomavirus and Related Cancers. 2010. WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer.

제11장 첨부서류

- 첨부서류 없음

질병관리본부 정책연구용역사업 최종결과보고서

2016년 7월 22일

발행처 : 질병관리본부

이 보고서는 질병관리본부 정책연구용역사업 최종결과보고서로,
상업적인 목적으로 사용하거나 판매할 수 없습니다.