

External Quality Assessment and Clinical Laboratory Guidelines for Serum Protein and Immunofixation Electrophoresis in Korea

Jooyoung Cho¹, Dong Hyun Lee¹, Jisu Jeon¹, John Hoon Rim², Jong-Han Lee¹, and Juwon Kim¹

¹Department of Laboratory Medicine, Wonju Severance Christian Hospital, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju;

²Department of Laboratory Medicine, Severance Hospital, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Corresponding author:

Jooyoung Cho
Department of Laboratory Medicine,
Wonju Severance Christian Hospital,
Yonsei University Wonju College of
Medicine, 20 Ilsan-ro, Wonju 26426,
Korea
Tel +82-33-741-1595
E-mail purelove0927@yonsei.ac.kr

Received: October 27, 2023

Revised: November 27, 2023

Accepted: November 28, 2023

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Background: This study implemented an external quality assessment (EQA) of serum protein electrophoresis (SPEP) and immunofixation electrophoresis/immunotyping (IFE/IT) tests and aimed to present domestic guidelines regarding the interpretation report.

Methods: We conducted the EQA of SPEP and IFE/IT tests similar to the proficiency testing (PT) program of the Korean Association of External Quality Assessment (KEQAS). We prepared four test samples by pooling residual serum specimens, according to the SPEP pattern, and the existence and isotype of monoclonal proteins. Each test sample was aliquoted and sent to 29 clinical laboratories, each laboratory conducted SPEP and IFE/IT tests and returned quantitative values and interpretation reports.

Results: Variations in the quantitative values (g/dL) of each fraction and ratios (%) of each fraction to total protein were observed. The differences between the electrophoresis methods or manufacturers were not statistically significant. Of the four EQA samples, two samples had a monoclonal protein, and the presence and absence of monoclonal protein and isotypes were consistent in all participating institutions. However, there were statistically significant differences in the numerical values and ratios of monoclonal proteins between institutions.

Conclusions: This study examined the possibility of SPEP and IFE/IT tests being included in the PT program of the KEQAS, and we identified what should be supplemented for future assessments. Furthermore, we have presented the guidelines regarding SPEP and IFE/IT tests in Korea for the first time, and further studies are required to establish the EQA programs and standardized guidelines.

(Lab Med Qual Assur 2024;46:43-54)

Key Words Serum protein electrophoresis, Immunofixation electrophoresis, Immunotyping, External quality assessment, Proficiency testing program, Korean Association of External Quality Assessment

서론

혈청단백 전기영동(serum protein electrophoresis, SPEP)

검사는 혈청단백을 전기장 내에서의 물리적 성상(physical properties)에 따라 5-6개의 주요 분획(fraction)으로 분리하여 이의 증감 양상을 분석하는 검사이다[1-3]. 임상검사실에서

의 SPEP 검사는 단클론성 단백질(monoclonal protein)의 검출(detection) 및 정량(quantitation)을, 면역고정 전기영동(immunofixation electrophoresis, IFE) 혹은 면역표현형(immunotyping, IT) 검사는 개별형(isotype) 판정을 주 목적으로 하며[4-8], 특히 형질세포질환(plasma cell disorder) 및 림프 증식성질환(lymphoproliferative disorder)의 진단 및 추적관찰에 유용한 검사이다[3,9-11]. 그러나 이들 전기영동검사에 있어서 국내·외적으로 아직까지 분획, 정량, 판독에 대한 표준화된 지침이 존재하지 않아 검사실 간 큰 차이를 보인다는 한계가 있으며 [6,7,10,12], 본 연구진이 이전에 실시한 국내 설문조사 결과를 통해서도 전기영동검사에 대한 표준화 및 일치화된 판독지침의 마련의 필요성을 환기시킬 수 있었다[13]. 또한 외부정도관리도 해결해야 할 과제인데, 아직 대한진단검사정도관리협회(‘대한임상검사정도관리협회’에서 변경)의 신빙도조사사업의 평가종목에는 전기영동검사가 포함되어 있지 않다. 물론 College of American Pathologists (CAP) 숙련도 평가프로그램에서는 SPE-A, B라는 이름으로 이루어지고는 있지만[14], 국내에서의 참여기관은 상대적으로 적고, 대부분의 기관에서는 검사실 간 숙련도 평가(inter-laboratory proficiency test)로 대체하고 있는 실정이다[13]. 이에 본 연구진은 지난 연구에서 국내 12개 기관을 대상으로 전기영동검사의 외부정도관리에 대한 파일럿 연구(pilot study)를 시행하였으며[15], 이를 통해 국내 외부정도관리 시행을 위한 기초 자료를 제시한 바 있다. 해당 연구는 기존 연구에 대한 후속연구로, 대한진단검사정도관리협회 신빙도조사사업과 최대한 유사한 방법으로 실제 외부정도관리를 시행하여 앞으로 전기영동검사 종목이 실제로 신빙도조사사업 종목에 편입되기 위해 어떠한 점을 보완해야 할지를 분석하고, 추가적으로 전기영동검사에 대한 국내 지침을 제안하고자 한다.

재료 및 방법

1. 대상 및 기간

2023년 7월과 8월에 걸쳐 대한진단검사정도관리협회 회원기관의 임상화학분과 관련 전문의에게 이메일을 발송하여 연구 참여에 대한 자발적인 설문회신을 받았으며, 총 29개 기관에서 자발적인 참여 의사를 밝혔다. 연구 참여기관의 기본 정보로 기관의 소재 지역, 종별 형태, 병상 수 등을 조사하였고, 각 기관의 전기영동 관련 기본사항에 대해 설문조사도 실시하였다. 이들 기관을 대상으로 외부정도관리용 검체를 제조 및 배포하여 연구를 시행하였다.

2. 외부정도관리 검체 제조 및 배포

2023년 5월부터 8월까지 원주세브란스기독병원 진단검사의

학과에서 통상적인 SPEP 검사를 시행하고 남은 잔여 검체에 대해 검체량 및 이들의 전기영동 패턴, 단클론성 단백질 유무, 그리고 단클론성 단백질이 있을 경우 개별형과 위치에 따라 검체들을 분류하여 -70°C 냉동 보관하였다. 이들 검체들을 동일 분류끼리 혼합(pooling)하여 총 4개의 연구용 외부정도관리물질을 제조하였다. 제조된 검체는 각각 29개씩 소분(aliquot)하여 1.5 mL 마이크로 튜브에 담았으며 재검 등에 대비하여 각 튜브당 검체량은 최소 0.8 mL 이상이 되도록 하였다. 제조된 외부정도관리물질은 -70°C 로 냉동하였다가 같은 날 동시에 국내 29개 참여기관에 일괄 배송하였다. 택배는 스티로폼 박스 내에 드라이아이스, 아이스팩, 완충재를 이용하여 냉동 발송하였으며, 모든 기관에서 발송 익일에 정상 수령하였다. 각 참가기관에서의 각 단백질 분획의 정량값, 그리고 총 단백질(total protein)에 대한 각 단백질 분획의 비율(%)은 각 기관에서 사용하는 단위 및 소수점 아래 표시 자릿수까지 보고하도록 요청하였다. 본 연구는 원주세브란스기독병원 연구윤리심의위원회(institutional review board)의 승인을 받아 잔여 검체에 대한 동의서를 면제받아 진행하였다(CR323314).

3. 통계 처리

외부정도관리에 대해 각 기관에서 측정된 SPEP 결과값은 각 단백질 분획별로 통계 처리하였다. 총 단백을 비롯하여 알부민(albumin), 알파(alpha)-1, 2, 베타(beta)-1, 2, 감마(gamma) 글로불린(globulin)의 정량값(g/dL)과 총 단백질 대비 비율(ratio, %)은 물론, 총 알파(alpha-1, 2의 합), 총 베타(beta-1, 2의 합), 베타-감마(beta와 gamma의 합), 그리고 총 글로불린(alpha, beta, gamma의 합)을 계산하여 이 역시 통계 처리하였다. 추가적으로 단클론성 단백질이 검출되는 검체의 경우 단클론성 단백질의 정량값과 비율 역시 통계적으로 비교하였다. 지난 파일럿 연구와 같이 단클론성 단백질의 수치(numeric) 값에 대해 정량 방법별로 나누어 비교하였다[15]. 통계프로그램으로는 Analyse-it 버전 6.15 소프트웨어(Analyse-it Software Ltd., Reeds, UK)를 Microsoft Excel 2019 프로그램(Microsoft Corp., Redmond, WA, USA)에 탑재하여 이용하였으며, *P*값이 0.05보다 작을 경우 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과

1. 연구 참여기관 현황

본 연구에 참여한 국내 29개 기관 중 25기관(86.2%)이 의료기관이었고, 전문수탁기관이 4기관(13.8%)이었다. 의료기관의 종별로는 상급종합병원 17기관(58.6%), 종합병원 및 병원급 의료기관 8기관(27.6%)이었고, 병상규모로는 500-1,000병상 15

Table 1. Responses to the questionnaire examining the status of SPEP and IFE/IT tests conducted by participating institutions for the external quality assessment program

Questions	Answer no. (%)
1. How many SPEP and IFE/IT tests are performed per month in your laboratory?	
Once a week	4 (13.8)
Twice a week	11 (37.9)
Three or 4 times a week	2 (6.9)
Every weekday	12 (41.4)
2. Does your laboratory routinely conduct SPEP and IFE/IT tests for externally referred samples from other institutions?	
Yes	8 (27.6)
No	17 (58.6)
Yes, but only for samples from our own affiliated or partner hospitals	4 (13.8)
3. How many SPEP and IFE/IT tests are performed per month in your laboratory?	
Equal or less than 100 tests	
SPEP	7 (24.1)
IFE/IT*	12 (41.4)
101–200 tests	
SPEP	5 (17.2)
IFE/IT*	5 (17.2)
201–300 tests	
SPEP	3 (10.3)
IFE/IT*	1 (3.4)
201–500 tests	
SPEP	2 (6.9)
IFE/IT*	1 (3.4)
More than 500 tests	
SPEP	12 (41.4)
IFE/IT*	9 (31.0)
4. Which method is used by your laboratory for SPEP and IFE/IT tests?	
Capillary zone electrophoresis	
SPEP	21 (72.4)
IFE/IT*	11 (37.9)
Agarose gel electrophoresis	
SPEP	7 (24.1)
IFE/IT*	11 (37.9)
Re-test by AGE if necessary after CZE	
SPEP	1 (3.4)
IFE/IT*	6 (20.7)

(Continued on next page)

Table 1. Continued

Questions	Answer no. (%)
5. In which of the following methods do you quantify a monoclonal protein?*	
Standard perpendicular drop method	16 (55.2)
Corrected perpendicular drop method	6 (20.7)
Tangent skimming method	7 (24.1)
6. When a monoclonal paraprotein is detected, in which of the following terms do you report?	
M-peak	8 (27.6)
Monoclonal peak	4 (13.8)
M-protein	5 (17.2)
Monoclonal protein	3 (10.3)
M-spike	6 (20.7)
Others†	3 (10.3)
7. What is the limit of quantitation of a monoclonal paraprotein in your laboratory?	
0.01 g/dL	7 (24.1)
0.02 g/dL	3 (10.3)
0.1 g/dL	10 (34.5)
0.2 g/dL	2 (6.9)
Others‡	7 (24.1)
8. What are the decimal places (1st or 2nd) of the quantities (g/dL) and ratios (%) for each fraction in your laboratory?	
1st decimal place	
Quantity (g/dL)	16 (55.2)
Ratio (%)	27 (93.1)
2nd decimal place	
Quantity (g/dL)	13 (44.8)
Ratio (%)	2 (6.9)
9. What is the name of the instrument your laboratory uses for the SPEP and IFE/IT tests?	
Sebia (n=25, 86.2%)	
Capillarys 2	3 (10.3)
Capillarys 2 Flex Piercing	7 (24.1)
Capillarys 3	3 (10.3)
Capillarys 3 Octa	5 (17.2)
Capillarys 3 Tera	4 (13.8)
Hydrasis 2	3 (10.3)
Helena laboratory (n=4, 13.8%)	
Spife 3000	3 (10.3)
Titan Gel	1 (3.4)

Abbreviations: SPEP, serum protein electrophoresis; IFE, immunofixation electrophoresis; IT, immunotyping; AGE, agarose gel electrophoresis; CZE, capillary zone electrophoresis.

*One laboratory performs only SPEP but not IFE/IT for routine testing. †Monoclonal immunoglobulin, or paraprotein. ‡0.017 g/dL, 0.025 g/dL, 0.05 g/dL, or no limitations were set.

기관(51.7%), 1,000-2,000병상 8기관(27.6%), 2,000병상 이상 2기관(6.9%)이었다. 29개 참여기관의 소재지는 수도권 20기관(69.0%), 영남권 5기관(17.2%), 호남권과 강원권 각 2기관(6.9%)의 순이었으며, 충청권과 제주권에서는 참여기관이 없었다. 비록 본 연구진의 이전 연구와 비교하여 12기관(41.4%)이 달랐지만 이미 이전 연구에서 전기영동검사의 국내 현황에 대한 설문조사를 시행하였기에 금번 연구에서는 외부정도관리 참여기관에 대한 간단한 전기영동검사 시행현황에 대한 간단한 설문조사만을 시행하였으며, 그 결과는 Table 1과 같다.

2. 외부정도관리 결과

본 외부정도관리에 사용된 4개의 검체(EP-23-01-04) 중 2개

검체(EP-23-02, EP-23-04)에서 단클론성 단백질이 검출되었고, 29개 참가기관 모두에서 일치된 결과를 보였다. 또한 IFE/IT 검사를 시행하지 않는 1개 기관을 제외한 28개 기관에서 단클론성 단백질의 개별형 결과 모두 일치하였다(EP-23-02: immunoglobulin G [IgG] lambda type, EP-23-04: IgG kappa type). Fig. 1은 모세관 전기영동법(capillary zone electrophoresis, CZE)을 이용한 외부정도관리 검체의 전기영동 패턴 그림이고, Supplement 1은 EP23-02와 EP-23-04에서 보인 단클론성 단백질에 대한 세부 IT 패턴 그림으로, 원주세브란스기독병원의 Capillarys 2 Flex Piercing (Sebia, Lisses, France) 장비를 이용한 결과이다.

각 단백질 분획에 대한 정량값과 총 단백질에 대한 비율 등의 결과는 대한진단검사정도관리협회 신빙도조사사업의 양식에 맞게 작

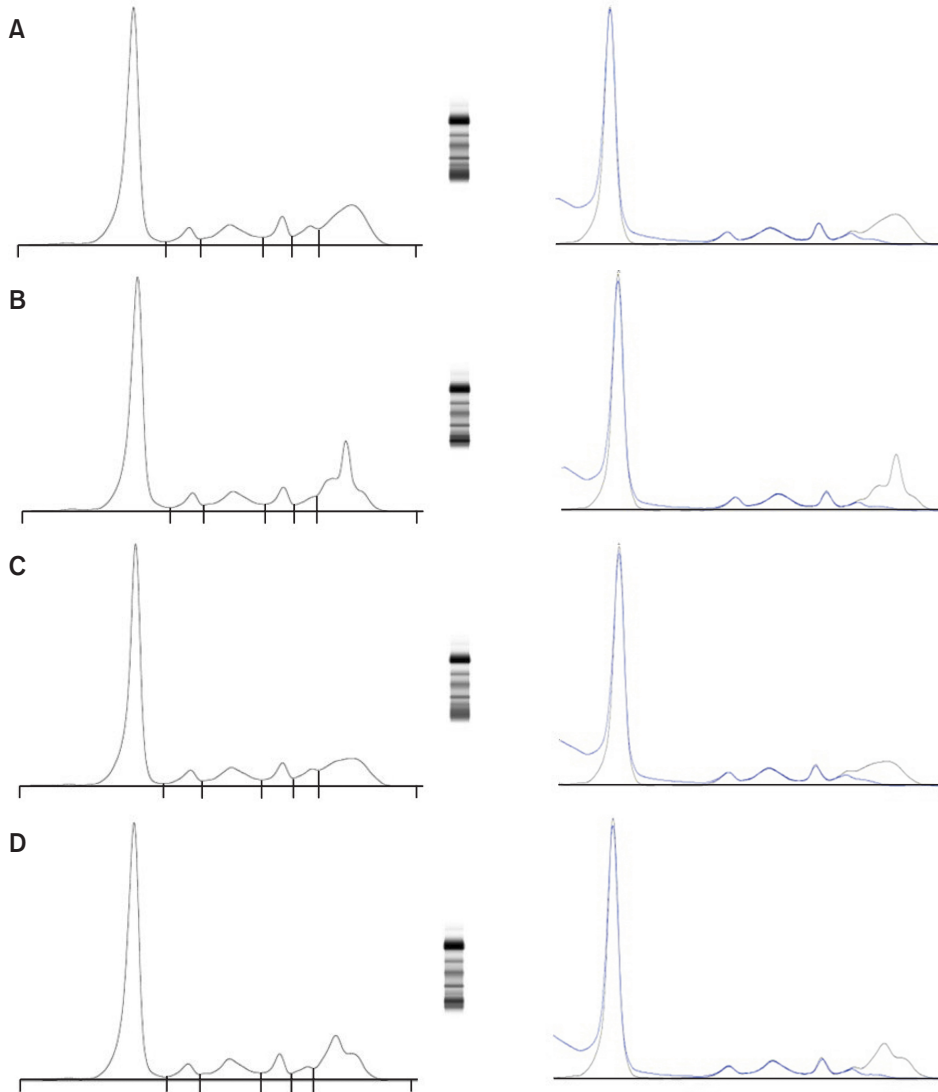


Fig. 1. (A-D) Serum protein electrophoresis (SPEP) (left) and immunotyping (IT) (right) profiles of four samples (EP-23-01 (A), EP-23-02 (B), EP-23-03 (C), and EP-23-04 (D)). The serum electrophoresis patterns displayed in this figure were observed via the Capillarys 2 Flex Piercing analyzer (Sebia, Lisses, France). Monoclonal protein was detected in two of the four test samples (EP-23-02 and EP-23-04), and the detection of monoclonal proteins and the isotyping results (immunoglobulin G [IgG] lambda type for sample EP-23-02 and IgG kappa type for sample EP-23-04) were consistent in all participating laboratories.

A

Albumin (%)									
Specimen	Your result	Group	No.	Mean±SD	CV (%)	Median	Min	Max	SDI
EP-23-01	54.9	All	29	54.8±1.65	3.0	54.7	50.3	61.5	
		Sebia	25	54.9±1.47	2.7	54.7	53.6	61.5	-0.02
		Capillarys 2	10	54.6±0.42	0.8	54.7	53.9	55.1	0.77
EP-23-02	53.3	All	29	53.1±1.68	3.2	53.3	49.1	58.9	
		Sebia	25	53.5±1.39	2.6	53.3	51.1	58.9	-0.11
		Capillarys 2	10	53.0±0.79	1.5	53.2	51.1	53.9	0.44
EP-23-03	53.2	All	29	53.4±1.79	3.4	53.2	49.8	60.7	
		Sebia	25	53.7±0.32	0.6	53.4	52.2	60.7	-1.61
		Capillarys 2	10	53.2±0.23	0.4	53.2	52.2	54.8	0.13
EP-23-04	57.2	All	29	56.8±1.77	3.1	56.9	51.9	63.2	
		Sebia	25	57.2±1.35	2.4	56.9	55.7	63.2	0.03
		Capillarys 2	10	56.7±0.49	0.9	56.8	55.7	57.4	1.02

B

EP-23-01 Albumin (%)						
	No.	Mean±SD	CV (%)	Median	Min	Max
All	29	54.8±1.65	3.0	54.7	50.3	61.5
Sebia	25	54.9±1.47	2.7	54.7	53.6	61.5
Capillarys 2	10	54.6±0.42	0.8	54.7	53.9	55.1
Capillarys 3	12	54.8±0.63	1.2	54.7	53.6	56.0
Hydrasys	3	56.7±4.21	7.4	54.7	53.8	61.5
Helena	4	53.7±2.53	4.7	54.3	50.3	55.8

Fig. 2. An example of the evaluation report sent to each institution (A) and the participant summary for all participating institutions (B). Abbreviations: SD, standard deviation; CV, coefficient of variation; Min, minimal value; Max, maximal value; SDI, standard deviation index.

Table 2. The summary of ratios (%) of each fraction and monoclonal paraprotein (if present) according to the institutions

Variable	EP-23-01		EP-23-02		EP-23-03		EP-23-04	
	Mean±SD	CV (%)	Mean±SD	CV (%)	Mean±SD	CV (%)	Mean±SD	CV (%)
Albumin	54.76±1.65	3.0	53.12±1.68	3.2	53.36±1.79	3.4	56.83±1.77	3.1
α1-globulin	4.39±0.66	14.9	4.12±0.65	15.7	4.01±0.46	11.5	4.09±0.50	12.2
α2-globulin	9.95±0.68	6.9	9.29±1.10	11.9	9.65±0.61	6.3	9.58±0.65	6.8
α-globulin	14.34±0.84	5.9	13.42±1.45	10.8	13.66±0.77	5.7	13.67±0.77	5.6
β1-globulin	6.19±0.73	11.8	5.86±1.04	17.7	6.27±0.74	11.9	5.84±0.68	11.7
β2-globulin	5.13±0.26	5.1	4.23±1.56	37.0	5.04±0.32	6.3	3.95±0.22	5.6
β-globulin	11.16±0.86	7.7	9.88±2.01	20.3	11.24±0.90	8.0	9.81±0.96	9.8
γ-globulin	19.75±0.85	4.3	23.58±1.76	7.5	21.73±1.09	5.0	19.69±0.82	4.1
β-γ-globulin	30.91±1.59	5.1	33.47±2.37	7.1	32.98±1.72	5.2	29.50±1.59	5.4
Globulin	45.24±1.65	3.7	46.88±1.69	3.6	46.64±1.79	3.8	43.17±1.77	4.1
M-protein	-	-	11.38±5.40	47.4	-	-	8.30±4.62	55.6

For each sample, the sum of the percentages of each protein fraction is 100%, and the quantitation of monoclonal proteins was further performed separately.

Abbreviations: SD, standard deviation; CV, coefficient of variation; M-protein, monoclonal protein.

성하여 각 참여기관에 개별 발송하였으며[16], Fig. 2A와 같이 각 기기 회사 및 세부기기별로 표준편차지수(standard deviation index)도 개별 제공하였다. 또한 Fig. 2B와 같이 전체 참가기관 요

약보고서(participant summary)는 전체 참가기관에 일괄적으로 제공하였다.

Table 2는 외부정도관리 검체에 대해 기관별로 보고한 총 단

Table 3. The statistical profiles of each monoclonal protein detected in samples EP-23-02 and EP-23-04 according to the quantitation method

Variable	No.	Mean±SD	CV (%)	Median	Min	Max	P-value
EP-23-02							0.001*
Standard perpendicular drop method	16	14.36±5.32	37.0	12.8	3.0	21.9	
Corrected perpendicular drop method	6	9.45±1.98	20.9	10.4	5.5	10.6	
Tangent skimming method	7	6.22±1.91	30.7	5.6	4.1	9.9	
Total	29	11.38±5.40	47.4	10.5	3.0	21.9	
EP-23-04†							0.002*
Standard perpendicular drop method	16	10.60±4.49	42.4	10.0	3.0	19.6	
Corrected perpendicular drop method	6	8.15±0.92	11.3	8.3	6.9	9.1	
Tangent skimming method	6	3.68±1.29	35.1	4.3	1.3	4.7	
Total	28	8.30±4.62	55.6	7.6	1.3	19.6	

Abbreviations: SD, standard deviation; CV, coefficient of variation; Min, minimal value; Max, maximal value.

*P<0.05 represents the statistical significance. †One laboratory did not report the value of monoclonal protein for sample EP-23-04.

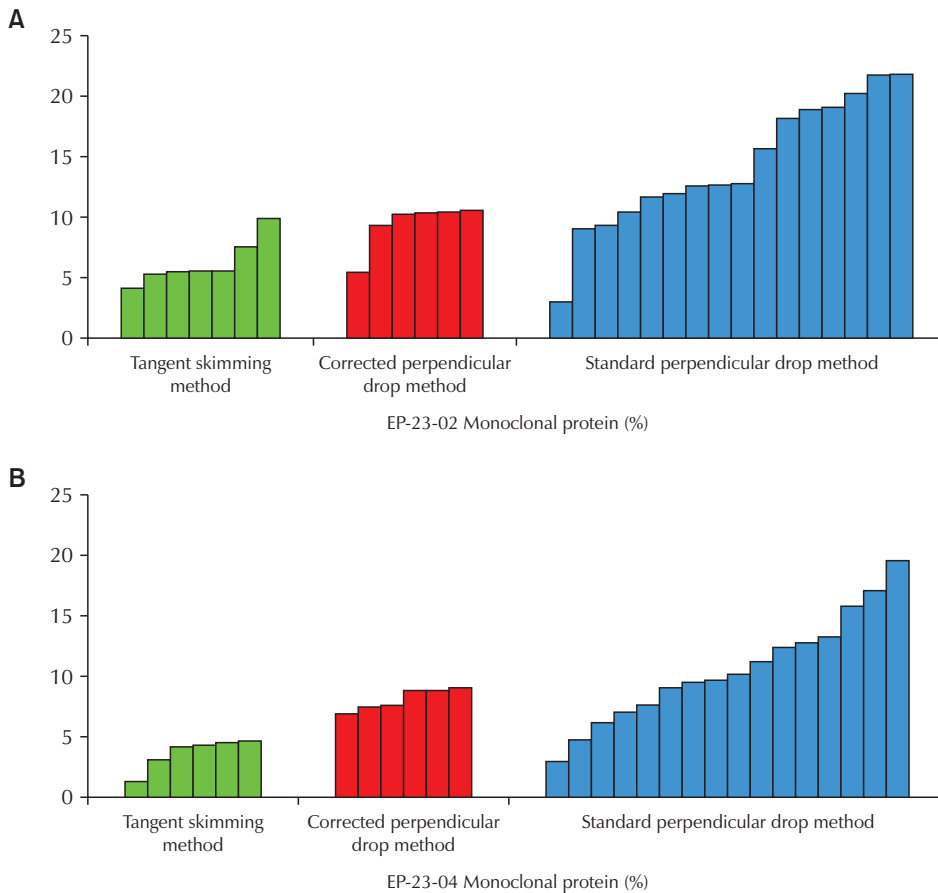


Fig. 3. The distribution of participating institutions according to the quantitation method for monoclonal protein in samples EP-23-02 (A) and EP-23-04 (B). In each subgroup, the ratios (%) were arranged in an ascending order.

백에 대한 각 단백질 분획의 비율(%) 값의 평균(mean), 표준편차(standard deviation), 변이계수(coefficient of variation, CV)를 정리한 것이다. 각 검체마다 각 단백질 분획의 백분율의 합은 100%이고, 단클론성 단백질의 정량은 추가로 따로 이루어졌다. 총 단백질에 대한 알부민과 총 글로불린의 비율은 대체적으로 비슷하였고(CV 5% 이하), EP-23-02를 제외한 검체에서 알파, 베타, 감마 글로불린의 비율은 CV 10% 이하로 양호하였으나, 세부 구획별로 나누었을 때에는 기관별로 그 차이가 크음을 알 수 있었다. 다만, CZE와 아가로스 겔 전기영동법(agarose gel electrophoresis, AGE)을 이용한 기관 간에 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다(data not shown).

단클론성 단백질의 CV%는 EP-23-02의 경우 47.4%, EP-23-04의 경우 55.6%를 보여 그 차이가 더욱 두드러졌다. 두 검체 모두에서 표준수직작도법(standard perpendicular drop method, SPD), 교정수직작도법(corrected perpendicular drop method, CPD), 접선절삭법(tangent skimming method, TS)의 순으로 단클론성 단백질의 수치 값이 높은 것으로 나타났으며, 이는 모두 통계적으로 유의한 차이를 보였다(Table 3). 세 가지 정량방법 모두 기관별 CV%가 컸으나, CPD의 경우 상대적으로 낮은 CV%를 보였다. Fig. 3은 단클론성 단백질의 정량법에 따른 각 기관의 단클론성 단백질 비율값(%)의 분포를 각 정량방법별로 오름차순으로 정리한 그래프이다.

고찰

SPEP 및 IFE/IT 검사는 다양한 질병의 진단 및 치료 경과 모니터링에 사용되지만, 특히 단클론성 단백질 검출 및 정량에 있어서 더욱 유용하고, 실제로 여러 임상 가이드라인에서 전기영동검사를 단클론성 감마병증(monoclonal gammopathy)에서의 주요 검사 중에 하나로 제시하고 있다[17,18].

하지만 자동화 장비를 이용한 생화학검사와는 달리, 전기영동검사는 각 단백질 분획의 구획 및 판독 보고서 작성에 있어서 검사실 인력의 직접적인 판독을 요하기 때문에 검사실 내 지침이나 검사실 인력의 전문성 혹은 숙련도 등의 요인에 의해 차이가 필연적으로 발생할 수밖에 없다[6,7]. 그런데 이러한 차이에 의해 단클론성 감마병증의 진단, 치료, 예후 등에 대한 모니터링 과정에 영향을 받을 수 있기 때문에[19], 담당 인력에 대한 체계적인 교육은 물론이고 판독에 대한 일치화 및 표준화된 가이드라인 제시가 필요하다[2,7,20].

한편, 전기영동검사의 외부정도관리도 해결해야 할 과제인데, 국외의 관련 연구에서는 검사실 간 차이가 크다는 것을 알 수 있으며[21-23], 특히 아직 대한진단검사정도관리협회 신빙도조사사업

에는 전기영동검사 항목이 포함되어 있지 않다[16]. 이는 여러 가지 이유가 있을 텐데, 전기영동검사가 노동집약적이고 판독인력의 전문성을 요하기 때문인 것도 있고[6], 실제로 의료기관 내의 임상 검사실에서 전기영동검사를 하는 경우는 주로 대학병원 혹은 일정 규모 이상의 종합병원인 경우가 많고[13], 그 외 많은 의료기관에서는 기관 내에서 직접 시행하지 않고 전문수탁기관으로 검사를 위탁 의뢰하는 경우가 많은 것이 원인일 수도 있다. 또한 각 단백질 분획의 정량과 판독 보고서 등에 있어서 표준화된 지침이 없어 검사실 간 표준화가 되어 있지 않다는 것도 그 원인 중 하나이다.

본 연구진은 지난 연구에서 국내 기관들을 대상으로 SPEP 검사 및 IFE/IT 검사의 국내 현황에 대한 설문조사를 시행하였는데, 각 단백질 분획의 구획 및 정량방법, 판독 보고서 기재방식, 정도관리 등의 세부 사항에서 기관별 차이가 큰 것으로 나타났으며[13], 국내 검사실 실정에 맞는 가이드라인 제시가 필요함을 알 수 있었다. 또한 외부정도관리에 대한 파일럿 연구를 진행하였는데[15], 비록 사용된 혼합(pooled) 검체의 단클론성 단백질의 위치가 다소 명확하지 않고 참가기관이 12기관밖에 되지 않은 한계점이 있긴 하였으나 국내 전기영동검사의 외부정도관리에 대한 첫 시도였다는 점에 그 의의가 있었다.

본 연구는 지난 연구에 대한 후속연구로, 전기영동검사에 대한 외부정도관리를 대한진단검사정도관리협회 신빙도조사사업과 유사한 방법으로 시행 및 분석하였으며, 이를 통해 향후 전기영동검사가 신빙도조사사업 항목에 포함될 가능성, 그리고 만일 포함될 경우 어떠한 방법으로 이루어져야 할지에 대해 알아보았다.

본 연구진의 지난 설문조사 연구에 참여한 기관 중 금번 외부정도관리 연구에도 참여한 기관은 17기관(58.6%)이었고, 지난 파일럿 연구에 참여한 기관 중 금번 연구에도 참여한 기관은 9기관(31.0%)이었다. 참여기관의 전기영동검사 현황에 대한 간단한 설문조사 결과를 리뷰해보면, 전기영동검사를 주종 매일(월-금) 시행하는 기관이 12기관(41.4%)이고, 전기영동검사 건수가 500건 이상이 되는 기관이 SPEP 검사 12기관(41.4%), IFE/IT 검사 9기관(31.0%)으로, 본 연구진의 지난 설문조사 연구에 비해 높은 검사빈도 및 월간 건수를 보였는데[13], 이는 지난 연구에서는 전문수탁기관의 참여가 이루어지지 못하였으나 금번 연구에서는 4기관(13.8%)이 참여한 영향으로 보인다. 단클론성 단백질에 대한 용어(terminology), 검출한계(limit of detection)는 지난 연구결과와 마찬가지로 기관별로 상이하였는데, 각 단백질 분획의 정량값의 단위는 29개 기관 모두에서 g/dL로 표기하였으며, 표기 자릿수는 소수점 아래 첫째 자리 16기관(55.2%), 소수점 아래 둘째 자리 13기관(44.8%)으로 비슷하였으나, 총 단백질에 대한 분율 표기는 소수점 아래 첫째 자리가 27기관(93.1%)으로 대부분을 차지하였다.

외부정도관리 검체에 대해 기관별로 보고한 각 단백질 분획의 정

량값과 총 단백질에 대한 비율(%) 모두에 대해 통계 처리를 하였는데, 기관별로 각 단백질 분획의 정량값(g/dL) 차이가 총 단백질에 대한 비율(%)보다 크게 나타났다. 이는 일단 전기영동검사를 통해 총 단백질에 대한 각 단백질 분획의 비율(%)을 구하고, 해당 기관이 보유한 자동화 생화학 장비로 측정된 총 단백질의 값(g/dL)를 곱하여 각 단백질의 정량값을 계산함으로써 제공하기 때문으로, 총 단백질이 차이를 보이면 필연적으로 각 분획의 추정값도 차이를 보일 수밖에 없다. 대한진단검사정도관리협회 신빙도조사사업의 일반화학 종목의 전체 참가기관 요약 보고서를 보아도 총 단백질에 있어서 기관간, 제조사별 차이가 10% 이상 벌어지는 경우가 있다[16]. 물론 CAP SPE-A, B의 경우 정량값에 대해서도 분석 보고서를 제공하고 있지만[14], CAP survey는 전 세계적으로 실시하기 때문에 참가기관 수가 많아 통계적으로 어느 정도 안정된 결과를 보이기 때문에 고려할 수도 있다. 다만, 국내의 경우 전기영동검사를 시행하는 기관 수가 적을 것으로 예상되어, 향후 신빙도조사사업 종목으로 시행하더라도 정량값이 아닌 비율값(%)으로 비교하는 것이 현실적일 것으로 보이며 금번 연구결과도 비율값(%)에 대한 비교 결과를 제시하였다. 아니면 각 단백질 분획의 계산값을 평가항목에 포함시키기 위해 총 단백질의 값을 미리 제시하고 이를 대입하여 각 단백질 분획의 정량값을 계산하도록 하는 방법도 있겠다.

전기영동 방식으로는 CZE가 가장 많았고, 기기로는 Sebia사 기기를 이용하는 기관이 25기관(CZE 22기관, AGE 3기관), Helena사 기기(AGE법)를 이용하는 기관이 4기관이었다. 한편, 기기 제조사별, 그리고 전기영동법별로도 총 단백질에 대한 단클론성 단백질 비율(%)도 비교하였는데, CZE와 AGE 간에(EP-23-02: 12.0% vs. 9.4%, $P=0.265$; EP-23-04: 8.5% vs. 8.8%, $P=0.890$), 그리고 Sebia사와 Helena사(Helena Laboratories, Beaumont, TX, USA) 기기 간에는(EP-23-02: 12.0% vs. 7.4%, $P=0.095$; EP-23-04: 8.7% vs. 7.5%, $P=0.650$) 통계적으로 의미 있는 차이는 없었다. CZE와 AGE 간의 기술적 차이는 크지만 전기영동 패턴은 비슷한 경향성을 보이며[2], 실제 기존 연구에서도 CZE와 AGE의 분석적, 임상적으로 동등한 것으로 나타났다[9]. 한편, Sebia사와 Helena사의 기기 간에서는 기존 연구는 물론[24,25], 본 연구결과에서도 의미 있는 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다. 각 단백질 분획별 결과도 비슷한 경향을 보였는데, 전체 평가결과 요약에서도 알 수 있듯이 알부민과 총 글로불린은 물론, 알파, 베타, 감마 등의 분획에서도 CV 10% 이하로 양호한 차이를 보였으나, 세부 분획(알파-1, 2, 베타-1, 2)에서는 기관 간 큰 차이를 보이는 것으로 나타났다. 기존의 외부정도관리 연구에서도 기관 간 CV는 20%대 혹은 30%대까지 이를 정도로 큰 것으로 나타났는데[23], 이는 아직 전기영동검사의 분획, 정량, 보고방법에 있어서 표준화나 일치화된 지침이 없기 때문인 것으로 생각된다.

정량방법에 따른 단클론성 단백질의 값은 이전 결과와 마찬가지로 SPD, CPD, TM의 순서대로 나타났는데[15], 이번 연구에서도 비슷한 경향을 보였다. SPD의 경우 단클론성 단백질이 위치한 영역의 기저 다클론성 영역(baseline polyclonal region)까지 과다추정(overstimation)할 우려가 있으나[8,22,26], 가장 일반적으로 많이 쓰이는 정량법이고[27,28], 호주-뉴질랜드의 권고안 또한 이를 지지한다[10]. CPD는 기저 다클론성 영역을 감안하여 SPD보다 좁게 단클론성 영역을 정량하는 방법이지만 주관적이고 정확성 문제가 있고[8], TS는 SPD나 CPD에 비해 낮은 편향(negative bias)을 보이는 경향이 있기 때문에, 특히 낮은 농도의 다클론성 단백질이 있는 검체에서 유의해야 한다[4].

본 연구는 본 연구진의 지난 연구에 비해 참가기관의 수가 많아졌음에도 불구하고 같은 정량법 내의 편차 역시 여전히 높은 것으로 나타났다. 물론 이에겐 검체 자체의 문제도 있는데, 최대한 같은 영역에 단클론성 단백질을 보이는 검체들끼리 혼합(pooling)하려 했음에도 불구하고 1개의 날카로운 피크(sharp peak)를 보이는 것이 아니라 하나의 날카로운 피크와 그 옆의 낮은 피크를 보였으며, 각 기관에서 낮은 피크 역시 정량 대상으로 삼을지, 혹은 기저 다클론성 영역으로 해석했을 지에 따라서 큰 차이를 보였을 가능성이 있다. 물론 단클론성 단백질에서의 변이계수가 워낙 커서 표준편차지수는 거의 모든 기관에서 ± 2 이내로 나타났지만, 앞으로 신빙도조사사업에서 실제로 전기영동검사를 다룰 경우에는 검체의 피크에 더욱 유의하여 많은 수의 잔여 검체를 확보할 뿐만 아니라 피크의 질(quality)이 우수하고 단클론성 단백질의 정량값이 높은 검체를 확보하여 혼합을 진행해야 할 것이다. 이렇듯 본 연구를 통해 시범적으로 시행한 전기영동검사의 외부정도관리를 통해 앞으로 해당 종목이 신빙도조사사업 항목에 포함되기 위해서 보완 및 극복해야 할 과제에 대해 알 수 있었다.

1. 지침 제안

1) 판독 보고서에 대한 전반적인 사항

판독 보고서는 판독 기관명, 판독자 및 확인자 이름을 포함해야 한다. 전기영동 패턴에 대한 그림이나 그래프는 필수는 아니지만 전산을 통해 보여주는 것이 좋다. 다만, 지난 설문조사 연구에서 전기영동 패턴을 보여주는 기관이 전체의 45%로 나타난 것과 같이[13], 각 기관의 전산환경에 따라 구현 가능성 여부가 다르기에 일괄적으로 권장하기는 어렵고 각 기관의 자율로 맡겨야 할 것이다. 검사방법으로는 CZE와 AGE 모두 사용 가능하다[10]. 단클론성 단백질이 검출될 경우 SPEP 보고서에는 검출 여부와 정량값, 그리고 총 단백질에 대한 비율(%)을 명시하고, IFE/IT 보고서에는 개별형을 명시한다. IFE/IT 처방이 없는 초진 환자의 경우 임상 진료

과에 의뢰하여 추가처방의 필요성을 설명하여 처방이 이루어지도록 하고, 만일 상황상 어려울 경우 판독 보고서에 IFE/IT 등의 추가 검사가 필요하다는 문구(comment)를 명시해야 한다[7].

2) 각 구획의 보고방식

생화학 측정장비로 구한 총 단백질의 경우 국내 대부분의 기관에서 g/dL의 단위로 소수점 아래 첫째 자리까지 표기하므로[16], 전기영동검사 판독 보고서에서도 이와 같이 한다. 전기영동 패턴에 따라 각 단백질 분획을 구획하고 나서 총 단백질에 대한 해당 분획의 비율(%)은 본 연구결과와 같이 대부분의 기관에서 사용하는 소수점 아래 첫째 자리까지 표기하는 것을 권장한다. 각 단백질 분획의 계산값은 국외 가이드라인에서는 g/L의 단위로 제시하되 정수 표기를 권장하지만[7,10,19,27], 국내에서는 국내 실정에 맞게 g/dL의 단위로 표기하고, 소수점 아래 자릿수는 각 기관의 재량에 따라 첫째 혹은 둘째 자리까지 표기하되 동일 기관 내에서는 일관적으로 표기한다. 각 구획은 가급적 알부민, 알파-1, 알파-2, 베타-1, 베타-2, 감마의 6개 구획으로 나누어 보고하되, 각 기관의 기기에서 베타-1, 2를 구분하지 않고 베타로만 보고하는 경우, 혹은 베타-1, 2의 세부 분획에서의 비정밀도가 좋지 않은 경우에는 알부민, 알파-1, 알파-2, 베타, 감마의 5개 구획으로 나누어 보고한다[7].

3) 단클론성 단백질의 보고방식

호주-뉴질랜드 가이드라인에서는 이상단백(paraprotein)을 권장하고[10], 그 외 국외 가이드라인에서는 단클론성 면역글로불린(예를 들어 monoclonal IgG kappa)을 권장하지만[7,19,27], 국내 현황조사에서는 단클론성 단백질에 대해 대표적으로 많이 쓰이는 용어가 없으며 기관별로 사용하는 용어가 상이하므로[13], 이에 대한 검토 및 통일이 필요하나, M-단백 또는 M-피크 등의 약어 사용은 가급적 지양하고, 캐나다 가이드라인의 권고에 맞추어 단클론성 단백질 혹은 단클론성 면역글로불린 등의 용어 사용을 제시한다[7]. 이클론성(biclonal) 단백질의 경우 두 개의 피크의 총 정량값과 비율은 물론 각 피크마다의 수치, 그리고 개별형을 각각 보고한다. 단클론성 단백질에 대한 추적검사를 시행하는 경우 이전에 발견되었던(previously known) 단클론성 단백질이 여전히 검출되었는지[19], 아니면 이번에는 검출이 안 되었거나 IFE/IT상에서만 보이는지 여부를 서술한다.

단클론성 단백질의 정량에 있어서 국외 가이드라인에서는 10 g/L (=1 g/dL) 이하일 경우 소수점 아래 첫째 자리까지, 10 g/L (=1 g/dL) 이상일 경우 정수로 제시하도록 되어 있고, 1 g/L (=0.1 g/dL) 이하일 경우 결과값의 신뢰성이 낮기 때문에 보고하지 않거나 ‘검출한계 미만’으로 명시하도록 되어 있다[7,10,19,27]. 국내의 경우 지난 설문조사에서 검출한계를 0.1 g/dL로 응답한 경우가

약 38%로 가장 많았으나 과반에 이르지 못하였고, 심지어 검출한계를 설정하지 않은 경우도 무려 약 21%나 되었다[13]. 국외 가이드라인과 맞게 정량한계를 0.1 g/dL로 하는 것이 좋을 듯 하나 각 기관의 상황에 맞게 적용하고, 다만 판독 보고서에 반드시 정량한계를 명시해야 한다. 단클론성 단백질이 검출 안 될(not detected) 경우에도 정량한계 미만의 단클론성 단백질 존재할 가능성이 있다는 것을 문구에 넣는 것 또한 권장된다. 단클론성 단백질이 검출은 되었으나 정량한계 미만의 값(g/dL)을 보이는 경우에는 ‘검출되었으나 정량한계 미만(detected, but less than the limit of quantitation)’ 혹은 ‘IFE/IT에서만 보임(visible only by IFE/IT)’ 등의 문구로 추가 설명을 넣는 것이 권장된다[10].

2. 결론

본 연구진은 지난 연구에서 SPEP 및 IFE/IT 검사의 국내 현황에 대한 설문조사 연구를 통해 전기영동검사의 국내 현황에 대해 조사하고, 이를 분석하여 국내에서의 전기영동검사에 대한 가이드라인 제시의 필요성을 파악하고 앞으로의 방향 제시를 위한 기초 자료를 마련하였으며, 파일럿 연구로 외부정도관리를 시도하였다. 그리고 금번 외부정도관리 연구를 통해 앞으로 전기영동검사가 대한진단검사정도관리협회 신빙도조사사업 종목에 포함되기 위하여 단클론성 단백질의 질 및 각 단백질 분획의 평가방법 등에 있어서 어떠한 점을 보완해야 할 지에 대해 알 수 있었으며, 이들 연구결과들을 토대로 전기영동검사에 대한 국내 가이드라인을 처음 제시하였다. 본 연구진의 해당 연구결과를 통해 향후에 신빙도조사사업에 전기영동검사를 실시하고, 제안한 본 지침이 향후 표준안을 설정하는 바탕이 되어 궁극적으로 환자 진료에 긍정적인 방향으로 나아가기를 기대한다.

감사의 글

본 연구는 2023년 대한진단검사정도관리협회(‘대한임상검사정도관리협회’에서 변경) 학술연구비 지원에 의해 이루어졌다(2023-5).

ORCID

Jooyoung Cho	https://orcid.org/0000-0002-9628-2334
Dong Hyun Lee	https://orcid.org/0000-0003-4307-7959
Jisu Jeon	https://orcid.org/0009-0007-3895-1214
John Hoon Rim	https://orcid.org/0000-0001-6825-8479
Jong-Han Lee	https://orcid.org/0000-0003-4036-8443
Juwon Kim	https://orcid.org/0000-0003-2010-4491

SUPPLEMENTARY MATERIALS

Supplementary materials can be found via <https://doi.org/10.15263/jlmqa.2024.46.1.43>.

REFERENCES

1. Chan PC, Chen Y, Randell EW; Monoclonal Gammopathy Interest Group (MGIG), Canadian Society of Clinical Chemists. On the path to evidence-based reporting of serum protein electrophoresis patterns in the absence of a discernible monoclonal protein: a critical review of literature and practice suggestions. *Clin Biochem* 2018;51:29-37.
2. Kim HK, Park SH, Lim JH, Jeong J, Lee SH. Technical considerations and miscellaneous findings on electrophoretograms of serum protein capillary electrophoresis. *Lab Med Online* 2023;13:263-74.
3. O'Connell TX, Horita TJ, Kasravi B. Understanding and interpreting serum protein electrophoresis. *Am Fam Physician* 2005;71:105-12.
4. Turner KA, Frinack JL, Ettore MW, Tate JR, Graziani MS, Jacobs JF, et al. An international multi-center serum protein electrophoresis accuracy and M-protein isotyping study. Part I: factors impacting limit of quantitation of serum protein electrophoresis. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:533-46.
5. Jacobs JFM, Turner KA, Graziani MS, Frinack JL, Ettore MW, Tate JR, et al. An international multi-center serum protein electrophoresis accuracy and M-protein isotyping study. Part II: limit of detection and follow-up of patients with small M-proteins. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:547-59.
6. Tate JR, Smith JD, Wijeratne N, Mollee P. Proposed addendum to 2012 recommendations for standardised reporting of protein electrophoresis in Australia and New Zealand. *Clin Biochem Rev* 2019;40:23-30.
7. Booth RA, McCudden CR, Balion CM, Blasutig IM, Bouhtiauy I, Rodriguez-Capote K, et al. Candidate recommendations for protein electrophoresis reporting from the Canadian Society of Clinical Chemists Monoclonal Gammopathy Working Group. *Clin Biochem* 2018;51:10-20.
8. Keren DF, Schroeder L. Challenges of measuring monoclonal proteins in serum. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:947-61.
9. McCudden CR, Mathews SP, Hainsworth SA, Chapman JF, Hammett-Stabler CA, Willis MS, et al. Performance comparison of capillary and agarose gel electrophoresis for the identification and characterization of monoclonal immunoglobulins. *Am J Clin Pathol* 2008;129:451-8.
10. Tate J, Caldwell G, Daly J, Gillis D, Jenkins M, Jovanovich S, et al. Recommendations for standardized reporting of protein electrophoresis in Australia and New Zealand. *Ann Clin Biochem* 2012;49(Pt 3):242-56.
11. Genzen JR, Murray DL, Abel G, Meng QH, Baltaro RJ, Rhoads DD, et al. Screening and diagnosis of monoclonal gammopathies: an international survey of laboratory practice. *Arch Pathol Lab Med* 2018;142:507-15.
12. Moss MA. Moving towards harmonized reporting of serum and urine protein electrophoresis. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:973-9.
13. Cho J, Lee DH, Rim JH, Lee SG, Kim Y, Kim JH. Current status of serum protein and immunofixation electrophoresis from 29 hospitals in Korea. *Lab Med Online* 2022;12:91-9.
14. College of American Pathologists. 2023 Surveys and anatomic pathologic education programs. <https://documents.cap.org/documents/2023-cap-surveys-catalog.pdf> (Accessed February 10, 2024).
15. Cho J, Lee DH, Rim JH, Lee SG. External quality assessment of serum protein and immunofixation electrophoresis in Korea. *Lab Med Online* 2022;12:122-8.
16. Proficiency testing program. Seoul: Korean Association of External Quality Assessment Service, 2023.

17. Kumar S, Paiva B, Anderson KC, Durie B, Landgren O, Moreau P, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2016; 17:e328-46.
18. Garderet L, D'Souza A, Jacobs P, van Biezen A, Schonland S, Kroeger N, et al. Response assessment in myeloma: practical manual on consistent reporting in an era of dramatic therapeutic advances. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017;23:1193-202.
19. McCudden CR, Booth RA, Lin DC, McCurdy A, Rupani N, Kew A. Synoptic reporting for protein electrophoresis and immunofixation. *Clin Biochem* 2018;51:21-8.
20. Inman Z, Martin H, Chubb SA. Reporting of quantitative protein electrophoresis in Australia and New Zealand: a call for standardisation. *Clin Biochem Rev* 2009;30:141-51.
21. Zhang L, Van Campenhout C, Devleeschouwer N, Libeer JC, Albert A. Statistical analysis of serum protein electrophoresis results in external quality assessment schemes. *Accredit Qual Assur* 2008;13:149-55.
22. Willrich MA, Long TA, Bashleben C, Fink SL, Rudolf JW, Peterson D, et al. Performance of perpendicular drop versus tangent skimming gating of M-protein in proficiency testing challenges. *Clin Chem Lab Med* 2020;59:e19-22.
23. de Kat Angelino CM, Jacobs JF. External quality assessment of M-protein diagnostics: a realistic impression of the accuracy and precision of M-protein quantification. *Clin Chem Lab Med* 2021;59:1063-8.
24. Tate JR, Keren DF, Mollee P. A global call to arms for clinical laboratories: harmonised quantification and reporting of monoclonal proteins. *Clin Biochem* 2018;51:4-9.
25. Miller JJ, Taher J, Kulasingam V, Chan PC. To skim or splice?: comparing the quantification of M-proteins using two peak-integration protocols across multiple electrophoresis platforms. *Clin Biochem* 2022;102:44-9.
26. Segulja D, Maticic D, Barisic K, Rogic D. A novel approach for more precise quantification of M-protein using variables derived from immunosubtraction electropherogram and associated biochemistry analytes. *Biochem Med (Zagreb)* 2022;32:030701.
27. Sthaneshwar P, Thambiah SC, Mat Salleh MJ, Nasuruddin DN, Ahmad Zabidi NF, Jelani AM, et al. Survey on serum protein electrophoresis and recommendations for standardised reporting. *Malays J Pathol* 2021;43:281-90.
28. Schild C, Wermuth B, Trapp-Chiappini D, Egger F, Nuoffer JM. Reliability of M protein quantification: comparison of two peak integration methods on Capillarys 2. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:876-7.