

현장검사용 멀티스트립 리더기의 개발 및 평가

Development and evaluation of the multi-strip reader for point of care testing

김진*, 전우람*, 박승우**, 이창률***, 이다현***, 최인택***, 김주연***, 서인범***
한림대학교 정보전자공과대학 컴퓨터공학과*, 강원대학교 의학전문대학원 신경외과**, 진단검사의학교실***

Jin Kim(jinkim@hallym.ac.kr)*, Wooram Jeon(jwr@hallym.ac.kr)*,
Seoung Woo Park(nsped@kangwon.ac.kr)**, Chang Youl Lee(doclcy@hallym.or.kr)**,
Da-Hyeon Lee(shine4020@daum.net)***, In-Taek Choi(intaxi@kangwon.ac.kr)***,
Ju Yeon Kim(piruna81@naver.com)***, In Bum Suh(bloodmd@kangwon.ac.kr)***

요약

현장검사는 환자가 있는 즉석에서 검사하여 결과를 알 수 있으며 신속하고 경제적으로 시행할 수 있는 장점이 있어 널리 이용되고 있다. 특히 면역크로마토그래피법을 이용한 검사 항목은 편리하게 쓰이고 있으나 오류가 발생하여 재확인 할 경우, 판독선이 시간이 경과됨에 따라 재확인이 불가능한 단점이 있고 반응이 약한 경우 판독자에 따라 오류가 생길 수 있다. 이에 검사에 쓰이는 다양한 현장검사용 스트립의 판독이 가능하고 화상을 저장할 수 있는 기능을 가진 멀티 스트립 리더기를 개발하였고, 요 임신검사가 의뢰된 검체를 대상으로 개발된 멀티 스트립 리더기를 평가한 결과 100% 일치된 결과를 보였다. 본 연구에서 개발된 멀티 스트립 리더기는 실제 임상에서 편리하고 경제적으로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

■ 중심어 : | 현장검사 | 스트립 | 리더기 | 진단 |

Abstract

Point of care testing (POCT) is could be easily and economically performed and was widely used. In particular, the test items using immune chromatographic method has been conveniently used. But when an error occurs, we should reaffirmed the test results, but we could not reaffirm because the test line is disappeared as the time pass, and the test results are different between laboratory workers. Therefore, we developed multi-strip reader which can store images for the test results and can interpretate the test results automatically. Then we evaluated newly developed multi-strip reader for urine pregnancy test, the test results of the multi-strip reader was 100% matched with the previously results. Our newly developed multi-strip reader was convenient and economic, and will be widely used in many laboratories.

■ keyword : | Point of Care Testing | Strip | Reader | Diagnosis |

I. 서론

현장검사(Point-of-Care Test, POCT)는 환자가 있는 현장에서 혈액, 체액 및 소변 등의 분석을 바로 수행하여 즉석에서 결과를 알 수 있으며 신속하고 경제적으로

로 시행할 수 있는 장점[1]이 있어 세균[2], 바이러스 등의 항원, 항체 검사[3], 약물 중독 검사, 임신 반응 검사 등[4] 광범위하게 이루어지고 있다.

현장검사 항목 중 가장 많이 이용되고 있는 방법은 면역학적 방법을 이용한 것으로 혈장 혹은 혈청 등 검

접수일자 : 2014년 02월 10일

수정일자 : 2014년 02월 26일

심사완료일 : 2014년 02월 28일

교신저자 : 서인범, e-mail : bloodmd@kangwon.ac.kr

체 내의 액체가 이동하여 건조된 시약을 녹이거나 액체 시약이 있는 장소로 이동하여 반응이 이루지는 것이 일반적이다. 여과면역분석법과 이를 경제적으로 만든 디핑시험지봉[5]을 이용한 방법 및 면역크로마토그래피법을 이용한 방법으로 나누어지며 대부분 현장검사용 스트립을 사용하여 환자의 혈액, 체액, 소변 등을 검사할 경우, 스트립에 있는 대조선과 검출선을 검사자가 눈으로 관찰하여 검사결과가 양성 또는 음성인지 판독하게 된다. 눈으로 검출선을 관찰하여 판독하기 때문에 검출선의 강도가 약할 경우에는 검사자에 따라 판독 결과가 달라질 수 있다. 특히 현장검사는 응급으로 검사하여 결과를 보고하는 경우가 많은데 오류가 발생하여 재확인 할 경우, 판독선이 시간이 경과됨에 따라 재확인이 불가능한 단점이 있다. 또한 검사자가 판독한 후에 결과를 기록 또는 컴퓨터에 입력할 때 오류가 생길 수 있으며 추후 오류를 검증하기 어렵다[6].

최근에는 이러한 단점을 보완하기 위해 각 현장검사 키트 회사에서는 자체적으로 검사 결과를 판독하여 컴퓨터에 저장할 수 있는 자동 판독기[7-9]를 개발하여 판매하고 있으나 스트립을 이용한 현장 검사의 판독기는 일부 검사항목에서만 개발되어 있다.

일부 검사항목에서 소개되고 있는 현장검사 판독기는 수많은 현장검사키트 중, 자체 회사의 현장검사키트에만 적용이 가능하고 판독 결과만을 저장하기 때문에 판독선을 재확인할 수 없는 단점이 있다.

본 연구에서는 환자를 진단하기 위하여 사용되는 다양한 현장검사용 스트립의 판독이 가능하고 화상을 저장할 수 있는 기능을 가진 멀티 스트립 리더기를 개발하고, 요 임신검사가 의뢰된 검체를 대상으로 개발된 멀티 스트립 리더기의 정확도를 평가하여 유용성을 보고자 하였다.

II. 본 론

1. 멀티스트립리더기의 고안

1.1 스트립 리더기의 기본 대상

멀티스트립 리더기를 개발하기 위해 현재 가장 많이

검사에 이용되고 있는 소변검사 항목인 용모성선 자극 호르몬(human chorionic gonadotropin, hCG) 스트립을 기본으로 하였다. 소변 hCG 검사는 임신 진단을 스크린하기 위한 검사로서 대개 면역검사법(immunoassay)을 이용하여 검출한다. 면역검사법은 hCG에 특이적으로 결합하는 항체를 이용하여 항원항체 반응을 일으킨 후 이를 여러 표지자를 이용하여 측정한다. 표지자의 종류에 따라 입자면역검사법, 효소면역검사법, 화학발광면역검사법 등의 여러 종류가 있는데 현장검사용으로는 대부분 면역크로마토그래피(immunochromatography) 방법을 이용하여 검출한다. 검체를 주입부에 넣으면 모세관 현상에 의해 측방으로 이동하여 반응 부위에 있는 항체와 결합한 후, 표지자가 부착된 항체가 추가로 결합하여 표지자가 내는 발색 반응을 눈으로 관찰하게 된다.

이러한 임신 진단을 위한 소변 hCG 검사키트는 국, 내외에 수많은 회사들이 개발하여 판매되고 있으며 카트리지 또는 스트립의 모양도 매우 다양한 형태를 갖고 있다[그림 1]. 그러나 모든 소변 hCG 검사키트는 기본적으로 면역크로마토그래피 방법의 원리로 대조선과 검사선을 눈으로 관찰하도록 되어 있다.



그림 1. 다양한 현장검사용 스트립

본 연구에서는 멀티스트립리더기의 초기 플랫폼을 개발하기 위해 (주)녹십자 MS사의 Genedia hCG RAPID 스트립[그림 2]을 이용하였다. 스트립의 사용 방법은 검체 적하 부위에 소변검체 약 0.15±0.03 ml을 떨어뜨리고 반응시간인 3분 정도 기다린 후, 검사선 부위에 색상 유무를 판정한다.



그림 2. (주)녹십자 MS사의 Genedia hCG RAPID

1.2 스트립 리더기의 이미지 프로세싱 처리

촬영된 영상이미지의 원본영상을 복사하여 원본영상과 복사영상으로 구분하고 복사영상을 노이즈제거와 검출선이 선명하게 되도록 흑백화 및 이진화 처리를 하였다[그림 3].

흑백화는 각 R, G, B의 밝기를 반영한 공식을 사용하여 원본영상을 흑백영상으로 만든다. 이진화는 단순 이진화를 사용하여 노이즈 발생을 줄였다. OpenCV에서 지원하는 함수들을 사용하였는데 흑백화는 cvCvtColor()함수, 이진화는 cvThreshold()함수를 사용하였다.

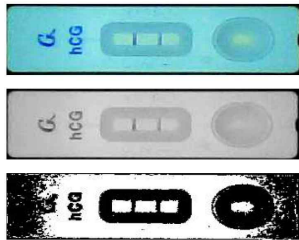


그림 3. 원본영상(상), 흑백화 처리 영상(중), 이진화 처리 영상(하)

검출선의 유,무를 확인하기 위한 민감도를 높이기 위해서 영상을 확대하고 검출선이 선명하게 되도록 오프셋 이진화를 이용하여 cvThreshold()의 매개변수값을 수정하였다.

1.3 멀티 스트립 리더기의 알고리즘

사용되고 있는 스트립의 모양 및 형태는 매우 다양한 형태를 갖고 있다. 다양한 모양의 스트립을 판독하기 위해서는 리더기 자체 스트립 삽입부와 영상을 캡처하는 영역이 넓어야 한다. 이 경우 스트립의 대조선과 판독선의 위치는 영상 캡처하는 부위에 다양하게 나타나게 된다. 캡처된 영상에서 사용자가 대조선 부위와 판독선 부위를 지정하도록 한 후, 이를 기준으로 영상 프

로세싱이 되도록 함으로써 멀티 스트립 리더기를 완성하였다.

2. 멀티스트립리더기의 평가

소변 hCG 검사가 의뢰된 검체 중, 양성 검체 50개, 약양성 검체 8개 및 음성 검체 20개 총 78개를 이용하여 평가 한 결과, 눈으로 판독한 결과와 100% 일치하였다 [표 1]. 재현성 평가를 위해 약양성 검체 중, 제일 약하게 판독된 검체를 대상으로 10회 연속 판독한 결과 모두 양성으로 판독되었다.

표 1. 용모성선 자극호르몬(human chorionic gonadotropin, hCG) 스트립의 판독 결과 비교

Urine hCG		판독기		Total
		양성	음성	
수기법	양성	50		50
	약양성	8		8
	음성		20	20
	Total	58	20	78

III. 고찰 및 결론

현장검사는 환자열 검사, 진료실검사, 분산검사(alternative-site testing)등[10]의 용어로 알려져 있으며, 기존의 검사실이 아닌 환자가 있는 곳에서 검체의 전처리 없이 실시간으로 시행하여 진단 및 치료에 이용할 수 있는 검사를 통칭한다. 현장검사는 시험지봉을 이용한 요검사, 임신검사 및 혈당검사를 실시하게 되면서 일반화 되었다.

최근에는 검사실의 다양한 검사 항목에서 이용되고 있는데, 임신검사와 경구용 항응고제를 복용하는 환자 감시를 위한 프로트롬빈 시간[11], 혈액가스분석[12], 심근경색을 진단하기 위한 심장효소[13], 일반혈액검사[14], 일반화학검사[14], 소변검사, 면역크로마토그리피법을 이용한 감염증(HBV, HCV, HIV, H. pylori, 결핵균, 말라리아, 장티푸스, 매독, 임질, Streptococcus A, Rotavirus, Chlamydia, Influenza)의 항원 및 항체[2] 및 혈중약물농도분석, 전해질 검사, 잠혈검사, 젓산검사 등 [15]이 시행되고 있다.

현장검사는 적은 양의 검체로 손쉽게 검사를 실시하여 실시간으로 결과를 얻어 신속하게 진단 및 치료에 이용할 수 있는 장점이 있으나 검사 비용이 중앙검사실에 비해 높고, 검사의 질 관리가 어려우며, 아직은 측정 가능한 검사종목이 제한되어 있어 다양한 검사에 이용이 어렵다는 단점이 있다.

현장검사기에 이용되는 기본 장치는 측정하려는 물질과 반응하는 반응단위와 신호를 감지하는 신호감지단위로 나누어 진다. 반응단위는 반응방식에 따라 효소 등을 이용한 일반화학반응 또는 항원, 항체를 이용한 면역반응을 이용하여 측정한다.

면역학적 방법을 이용한 현장검사는 혈장 혹은 혈청 등 검체 내의 액체가 이동하여 건조된 시약을 녹이거나 액체 시약이 있는 장소로 이동하여 반응이 이루어지는 것이 일반적이다. hCG검사에서 건조 시약이 다공성 기질 내부에 시약이 있을 경우, 검체 내의 액체가 기질을 관통하는 여과면역분석법과 이를 경제적으로 만든 디핑시험지봉을 이용한 방법 및 면역크로마토프레피법을 이용한 방법으로 나누어진다.

1세대 검사인 여과면역분석법은 다공성 기질에 고정되어 있는 항hCG 항체에 흡수패드가 부착되어 있어 검체를 떨어뜨리게 되면 hCG는 항hCG와 결합을 하고 나머지는 다공성 기질을 통과하여 흡수패드에 흡수된다. 세척완충액과 alkaline phosphatase가 표지된 항hCG 항체를 떨어뜨리게 되면 발색반응이 나타난다.

디핑시험지봉은 시험지봉 끝에 항체가 고정되어 있고 검체가 들어있는 반응용기에 담근 후, 세척 완충액이 들어 있는 반응용기 및 표지자, 발색자가 들어 있는 반응 용기에 순차적으로 반응시킨다.

면역크로마토프레피법은 각 단계의 반응이 한번에 일어나는데 니트로셀룰로스막 또는 유리섬유로 이루어진(lateral flow)에 의한 결합형과 비결합형의 분리 및 발색이 동시에 반응을 하고 검체주입부, 흡수대, 결합부 및 검출부로 이루어져 있다. 면역크로마토프레피법은 hCG 검사를 비롯하여 HBs Ag/Ab, influenza A, B, H1N1, H.pylori Ab등의 감염질환, CK-MB, myoglobin, troponin I, troponin T 등의 심장표지자 검사, PSA, AFP, CEA 등 암표지자[16] 및 잠혈검사 등[17]에 이용

되고 있다.

현재 간편하게 이용하고 있는 면역크로마토프레피법의 판독은 대부분 눈으로 검출선을 관찰하여 판독하도록 되어 있다. 면역크로마토프레피법을 더 민감하게 검출하기 위해 형광 표지자를 이용하여 자동 리더기로 판독하는 검사법이 소개되고 있다. 그러나 검사 항목에 따라 차이는 있지만 실제 민감하게 검출된 검사결과가 임상적으로 더 정확한 지는 아직까지 확실하지 않다.

본 연구에서는 다양한 면역크로마토프레피법을 판독하기 위해 사용자가 대조선과 검출선의 영역을 지정한 후, 이미지 프로세싱 처리를 거쳐 판독하게 함으로써 다양한 검사 키트에 적용이 가능하게 되었다.

특정 키트에 대한 리더기는 그 제품에서만 사용할 수 있지만 본 멀티리더기는 다양한 키트에 적용이 가능하여 실제 병원에서 검사항목은 다양하고 검사 건수가 적을 경우 본 멀티리더기의 도입은 편리하고 경제적인 장점이 있다.

본 연구에서는 소변 hCG에 대해서 평가를 하여 100% 일치된 결과를 얻었지만 실제 임상적으로 사용하기 위해서는 약양성에서 검출선의 민감도를 임상 결과와 비교하여 보정할 필요가 있으며 다양한 모양의 스트립에 적용하여 평가를 해야 할 것이다.

본 연구 결과, 다양한 현장검사용 스트립의 판독이 가능하고 화상을 저장할 수 있는 기능을 가진 멀티 스트립 리더기를 개발하였고, 요 임신검사가 의뢰된 검체를 대상으로 개발된 멀티 스트립 리더기를 평가한 결과 100% 일치된 결과를 보였다. 개발된 멀티 스트립 리더기는 실제 임상에서 편리하고 경제적으로 사용될 수 있을 것으로 생각된다. 추가적으로 민감도 보정을 위한 임상적인 평가와 다양한 스트립에 실제 적용하여 결과의 정확도의 입증에 필요하다.

참 고 문 헌

- [1] E. Lee-Lewandrowski and K. Lewandrowski, "Perspectives on cost and outcomes for point-of-care testing," Clin Lab Med, Vol.29,

- No.3, pp.479-489, 2009.
- [2] B. A. Kazi, G. J. Buffone, P. A. Revell, L. Chandramohan, M. D. Dowlin, and A. T. Cruz, "Performance characteristics of urinalyses for the diagnosis of pediatric urinary tract infection," *Am J Emerg Med*, Vol.31, No.9, pp.1405-1407, 2013.
- [3] C. C. Blyth, R. Booy, and D. E. Dwyer, "Point of care testing: diagnosis outside the virology laboratory," *Methods Mol Biol*, Vol.665, pp.415-433, 2011.
- [4] G. S. Moraes, R. D. Amaral Cristovam, and R. F. Savaris, "Comparative analysis of the accuracy of urinary hCG tests in vitro," *Rev Assoc Med Bras*, Vol.57, No.5, pp.516-522, 2011.
- [5] J. B. JEPSON and I. SMITH, "Multiple dipping procedures in paper chromatography: a specific test for hydroxy-proline," *Nature*, Vol.172, No.4389, pp.1100-1101, 1953.
- [6] C. P. Price, "Point-of-care testing. Impact on medical outcomes," *Clin Lab Med*, Vol.21, No.2, pp.285-303, 2001.
- [7] S. W. Oh, J. D. Moon, S. Y. Park, H. J. Jang, J. H. Kim, and K. B. Nahm, "Evaluation of fluorescence hs-CRP immunoassay for point-of-care testing," *Clin Chim Acta*, Vol.356, No.1, pp.172-177, 2005.
- [8] A. Kupstat, M. U. Kumke, and N. Hildebrandt, "Toward sensitive, quantitative point-of-care testing (POCT) of protein markers: miniaturization of a homogeneous time-resolved fluoroimmunoassay for prostate-specific antigen detection. *Analyst*," Vol.136, No.5, pp.1029-1035, 2011.
- [9] M. T. Font, M. C. Brichs, M. C. Álvarez, J. M. Olivella, J. S. Turó, and M. P. Fernández, "Capillary HbA1c determination on type 2 diabetes patients in a primary health centre," *Aten Primaria*, Vol.43, No.10, pp.536-543, 2011.
- [10] D. M. Bush, "The U.S. Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs: current status and future considerations," *Forensic Sci Int*, Vol.174, No.2, pp.111-119, 2008.
- [11] C. M. Curtis, G. J. Kost, R. F. Louie, R. J. Sonu, E. B. Ammirati, and S. Sumner, "Point of care hematology and coagulation testing in primary, rural emergency, and disaster care scenarios," *Point Care*, Vol.11, No.2, pp.140-145, 2012.
- [12] M. Rambaldi, M. Baranzoni, P. Coppolecchia, J. N. Moschello, and F. Novaco, "Blood gas and patient safety: considerations based on experience developed in accordance with the Risk Management perspective," *Clin Chem Lab Med*, Vol.45, No.6, pp.774-780, 2007.
- [13] U. Friess and M. Stark, "Cardiac markers: a clear cause for point-of-care testing," *Anal Bioanal Chem*, Vol.393, No.5, pp.1453-1462, 2009.
- [14] V. Pecoraro, L. Germagnoli, and G. Banfi, "Point-of-care testing: where is the evidence? A systematic survey," *Clin Chem Lab Med*, Vol.52, No.3, pp.313-324, 2014.
- [15] D. Loewenstein, C. Stake, and M. Cichon, "Assessment of using fingerstick blood sample with i-STAT point-of-care device for cardiac troponin I assay," *Am J Emerg Med*, Vol.31, No.8, pp.1236-1239, 2013.
- [16] A. Rasooly and J. Jacobson, "Development of biosensors for cancer clinical testing," *Biosens Bioelectron*, Vol.21, No.10, pp.1851-1858, 2006.
- [17] E. Lee-Lewandrowski, K. Gregory, and K. Lewandrowski, "Point of care testing in a large urban academic medical center: evolving test menu and clinical applications," *Clin Chim Acta*, Vol.411, No.21, pp.1799-1805, 2010.

저자 소개

김 진(Jin Kim)

정회원



- 1984년 2월 : 고려대학교 물리학과(이학사)
- 1990년 2월 : Michigan State University, Computer Science (공학석사)
- 1996년 2월 : Michigan State

University, Computer Science(공학박사)

- 1997년 3월 ~ 2000년 8월 : 건국대학교 전산과학과 교수
- 2000년 9월 ~ 현재 : 한림대학교 컴퓨터공학과 교수
<관심분야> : 생물정보학, 영상처리, 알고리즘

전 우 램(Wooram Jeon)

정회원



- 2014년 2월 : 한림대학교 컴퓨터공학과(석사)
- 2014년 2월 ~ 현재 : 한림대학교 컴퓨터공학과(박사)

<관심분야> : 생물정보학, 영상처리, 알고리즘

박 승 우(Seoung Woo Park)

정회원



- 1989년 2월 : 연세대학교 의과대학(의학사)
- 2000년 2월 : 아주대학교 의과대학 신경외과(의학석사)
- 2004년 2월 : 아주대학교 의과대학 신경외과(의학박사)

- 2002년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 의학전문대학원 교수
<관심분야> : 신경외과학, 멀티미디어

이 창 룰(Chang Youl Lee)

정회원



- 1998년 2월 : 연세대학교 의과대학(의학사)
- 2002년 8월 : 연세대학교 의과대학(의학석사)
- 2011년 2월 : 강원대학교 의과대학(의학박사수료)

- 2007년 6월 ~ 현재 : 한림대학교 의학대학 교수
<관심분야> : 호흡기내과, 멀티미디어

이 다 현(Da-Hyeon Lee)

정회원



- 2012년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 대학원 의학과(박사과정)
- 2011년 8월 : 강원대학교 교육대학원(교육학석사)
- 2012년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 무용학과 외래교수

<관심분야> : 진단검사의학, 멀티미디어

최 인 택(In-Taek Choi)

정회원



- 2012년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 대학원 의학과(박사과정)
- 2012년 2월 : 강원대학교 대학원 의학과(의학석사)
- 2012년 3월 ~ 현재 : 광주대학교 보건의료관리학과 외래교수

<관심분야> : 진단검사의학, 멀티미디어

김 주 연(Ju Yeon Kim)

정회원

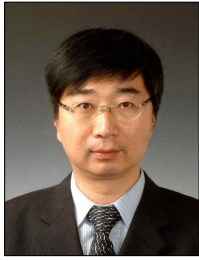


- 2007년 2월 : 고려대학교 의과대학(의학사)
- 2010년 8월 : 고려대학교 대학원 의학과(의학석사)
- 2012년 3월 ~ 2012년 7월 : 고려대학교병원 임상강사

- 2012년 8월 ~ 2013년 7월 : 강원대학교병원 임상강사
- 2013년 8월 ~ 현재 : 강원대학교병원 임상전임강사
<관심분야> : 수혈의학, 혈액학, 미생물학

서 인 범(In Bum Suh)

정회원



- 1992년 2월 : 고려대학교 의과대학(의학사)
 - 1999년 9월 : 고려대학교 의과대학(의학석사)
 - 2002년 3월 : 고려대학교 의과대학(의학박사)
 - 2002년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 의학전문대학원 교수
 - 2008년 2월 ~ 현재 : (주)대한임상의학센터 대표이사
- <관심분야> : 진단검사의학, 멀티미디어