
혈액응고시간분석기 안전성 및 성능 시험방법 가이드라인

2017. 3



식품의약품안전처
식품의약품안전평가원

의료제품연구부 의료기기연구과

이 가이드라인은 혈액응고시간분석기의 안전성 및 분석적 성능 시험방법에 대한 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것으로, 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아님

※ 가이드라인이란 대외적으로 특정한 사안 등에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것임(식품의약품안전처 지침 등의 관리에 관한 규정(식약처 예규))

※ 본 가이드라인에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 의료제품연구부 의료기기연구과에 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4919

팩스번호: 043-719-4900



❏ 서 문

1. 제품의 개요	1
1.1 정의 및 구성	1
1.2 개발 현황	3
2. 적용범위	5
3. 시험 적용 규격	7
3.1 안전성 평가 적용 규격	7
3.2 성능 평가 적용 규격	9
4. 안전성 및 성능 평가 시험 항목	10
4.1 안전성 평가 시험 항목	10
4.2 성능 평가 시험 항목	12
5. 안전성 및 성능 평가 시험 방법	13
5.1 안전성 평가 시험 방법	13
5.2 성능 평가 시험 방법	18
6. 안전성 및 성능 평가 시험 항목 요약	31
7. 참고 문헌	33
8. 붙임	34
A. 권장 및 주의 사항	34
B. 용어 정의	35
C. 성능평가 기록지 및 평가표 예시	38

서 문

혈액응고검사는 체내 지혈 작용을 측정하여 환자의 출혈 질환 여부를 확인하는 의료기기로서 현재 다수의 의료기관에서 사용되고 있다. 혈액응고검사는 검사 원리에 있어서 다른 정량적 임상검사들과 구별되는 독특한 특성을 지닌다. 혈액응고 작용을 시험관 내에서 유발하고 이에 따라 형성되는 혈액응고의 형성을 간접적으로 측정하는 검사 원리를 기반으로 하며, 이를 통해 혈액응고에 작용하는 다양한 효소들과 그 보조인자의 활성을 종합적으로 측정한다. 이러한 측정 방법의 특수성으로 인해 다른 임상검사실의 정량 검사들에 비해 다른 질적 특성을 보이거나 현재까지 이에 대한 안전성과 분석적 성능을 시험할 수 있는 과학적 근거는 마련되어 있지 않은 상황이다.

이에 식품의약품안전평가원에서는 혈액응고시간분석기의 성능에 대한 시험 방법 가이드라인을 개발하였다. 본 가이드라인은 허가·심사를 위한 과학적 시험 방법을 제시하고, 제조업체와 의료기기 시험검사기관에 성능 확인을 위한 구체적인 시험방법 가이드라인을 제공하고자 한다.

본 가이드라인에서는 국제적으로 합의된 규격인 국제 진단검사표준 및 임상검사실품질협회(Clinical & Laboratory Standards Institute, CLSI)의 의료기기 시험방법을 반영하였다. 또한, 제조업체 기술향상 및 의료기기 시험검사기관의 참고자료로 사용될 수 있도록 작성되어 향후 우리나라 의료기기 국제 경쟁력 향상을 위한 유용한 평가도구가 될 것으로 기대한다.

앞으로도 우리 원은 의료기기 가이드라인을 지속적으로 발간하여 국민의 안전과 의료기기 산업 발전을 적극 지원하여 우리나라 의료기기 국제 경쟁력 향상을 위해 힘쓰고자 한다.

1

제품의 개요

1.1 정의 및 구성

혈액 응고 검사는 출혈 질환에 대한 선별 검사로, 혈소판과 응고인자 중 어느 것에 양적으로 또는 기능적으로 문제가 있는지 선별하는 검사이다. 혈액 응고 검사 항목으로는 출혈 시간(BT, bleeding time), 프로트롬빈 시간(PT, prothrombin time), 활성화 부분트롬보플라스틴 시간(aPTT, activated partial thromboplastin time)이 있다. 출혈 시간은 피하혈관에서 약 5mm 정도의 길이에 1mm 정도의 깊이로 절한 후 출혈이 멈출 때까지의 시간을 말하고, 프로트롬빈 시간은 혈장에 트롬보플라스틴(tissue thromboplastin), 인지질(phospholipids), 칼슘이온을 첨가한 후 응고가 생길 때까지의 시간을 말한다. 마지막으로 활성화 부분트롬보플라스틴 시간은 혈장에 표면활성제(surface activator: kaloin, ellagic acid, celite 등), 인지질(phospholipids), 칼슘이온을 첨가 후 응고가 생길 때까지의 시간을 말한다.

혈액응고시간분석기는 환자의 혈액을 채취한 후 장비 내에 삽입하여 혈액의 응고시간을 측정하고 혈액응고인자들의 활동을 분석하는 장비로써, 프로트롬빈 시간, 활성화 부분트롬보플라스틴 시간 등을 측정하여 혈우병¹⁾, 자반병²⁾, 혈소판 증가증, 혈소판 무력증 등의 다양한 출혈 질환들을 진단한다.

혈액응고시간분석기는 측정 및 검사 방식에 따라 크게 두 가지로 나뉘며 [표 1]에 나타내었다. 헌혈원, 대형 병원 등에서 검사하는 방식인 임상 지원 검사실(Central Lab) 방식과 현장검사 또는 환자가 집에서 스스로 검사/관리 하는 등 다양한 장소에서 검사하는 방식인 환자 자가 검사(PST, Patient Self-testing) & 환자 자가 관리(PMS, Patient Self-management)가 있다.

1) 혈우병(hemophilia) : X 염색체에 위치한 유전자의 돌연변이로 인해 혈액 내 응고인자가 부족하게 되어 발생하는 출혈성 질환

2) 자반병(purpura) : 전신의 피하나 점막에 출혈이 일어나서 자색의 작은 반점[紫斑]이 생기는 병

[표 1] 혈액응고시간 분석 장비의 구분

	임상 지원 검사실 (Central Lab)	환자 자가 검사 (PST, Patient Self-testing) & 환자 자가 관리 (PMS, Patient Self-management)
구분		
제품 수명 주기 (PCL, Product Life Cycle)	성숙기 ~ 쇠퇴기	도입기 ~ 성장기

혈액응고분석기는 대부분 광학적 응고 검출방법(photo-optical clot detection method)을 적용하며, 아래의 2가지(Optical Detection Method, Percentage Detection Method) 방법으로 혈액응고시간을 측정한다.

1) 광 검출 방식 (Optical Detection Method)

발광 다이오드 (LED)에서 생성된 빛이 검체에 닿으면 굴절 및 산란을 일으키며, 산란된 광을 수광부의 다이오드로가 흡수한다. 수광부에서 흡수된 산란광의 강도를 전기적 신호로 변환시키고, 마이크로프로세서는 이 신호를 검체의 응고시간으로 산출함으로써 응고시간 (clotting time)을 결정한다.

2) 산란광 백분율 검출 방식 (Percentage Detection Method)

시약이 검체에 첨가된 직후의 산란광 강도를 0%로 정의하고 검체가 완전히 응고반응이 종료되었을 때의 산란광 강도를 100%로 정의하면 (혈액응고과 산란광 원리), 응고시간을 응고곡선으로부터 구할 수 있다. 이 검사방법은 산란광 강도의 변화가 크게 나타나지 않는 검체의 응고시간측정이 가능하므로 산란광 강도의 변화가 크지 않아 거의 감지할 수 없거나 응고시간이 연장되는 저섬유소원 혈장 검체를 효율적으로 측정할 수 있다.

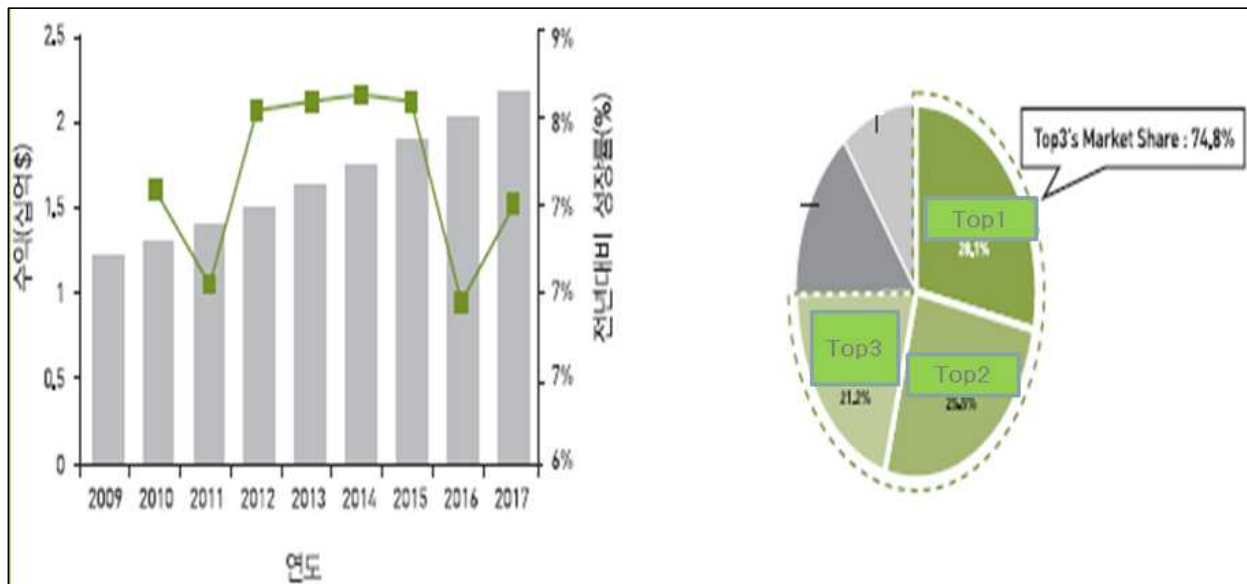
※ 혈액응고와 산란광 (Coagulation and Scattered Light)

검체와 시약이 혼합된 직후의 산란광 강도는 낮으며, 혈액응고과정이 진행됨에 따라 산란광의 강도가 급격히 증가한다. 그 후 혈액응고반응이 종료되는 시점에는 산란광의 강도는 안정화되는 과정을 겪는다. 혈액응고시간분석기는 이러한 산란광 강도의 변화를 저장하여 응고곡선을 출력한다.

1.2 개발 현황

1. 지혈 진단(Hemostasis diagnosis) 시장




지혈 진단은 혈액 응고 진단을 의미하며, 출혈성 질환 및 혈소판 장애, 자가면역 상태를 진단하는데 유용하게 사용된다. 2012년 기준 지혈응고 시장은 14.8억 달러 규모로 전체 체외진단장비 시장의 3.2%를 점유하고 있으며 시장은 작지만 혈액 항응고 치료제 등의 개발로 비교적 빠른 성장을 보이고 있는 추세이다. 2017년까지 연평균 7.8%로 증가하여 21.5억 달러 규모로 성장할 전망이다. 2013년 이후 새로운 혈액 항응고 치료제의 개발로 인한 시장 성장이 예상된다. 지혈 관련 환자가 연평균 1.5%씩 증가하고 있음에 따라 지혈 진단 시장의 성장은 지속될 전망으로 세계 Top 3 기업의 점유율은 2012년 74.8%에 이른다.



* 출처 : Frost&Sullivan, Analysis of the Global in Vitro Diagnostics Market(2012)

2. 개발 및 사용 현황

현재 대부분의 검사실에서 혈액응고시간 분석을 위해 다양한 자동화된 기기를 사용하고 있고, 최근에 소개된 기기들은 다양한 원리의 방법을 동시에 진행할 수 있는 시스템을 갖추고 있어서 많은 항목의 혈액응고시간 분석 검사가 실시간으로 수행될 수 있다. 그러나 기기마다 검체 분석 시 사용 방법이 다소 차이가 있고 같은 분석방법을 쓴다고 해도 사용하는 시약이나 여러 요인들에 의해 결과치가 영향을 받을 수 있으므로 새로운 혈액응고시간 자동분석기가 검사실에 도입되려면 기기의 경제성, 효율성, 신속성 등과 함께 기능성을 고려해야 하며 기존 기기와의 상관성을 평가하는 것을 권고한다. 또한, 최근 국내에서도 혈액응고시간 자동분석기 평가에 대한 많은 보고가 증가하고 있는 상황이다. [그림 2]에서는 다양한 병원용 혈액응고시간 분석기의 종류를 나타내었다.

제품		
회사 구분	A 사	B 사
제품		
회사 구분	C 사	D 사

[그림 2] 다양한 병원용 혈액응고시간 분석기

혈액응고시간분석기는 식품의약품안전처 고시 제2017-6호 「의료기기 품목 및 품목별 등급에 관한 규정」에 따라 대분류 ‘A. 기구 기계’, 중분류 ‘A22000 혈액 검사용 기기’에 속하며, A22080.01. 표 2에서와 같이 혈액응고시간분석기로 분류된다. 혈액응고시간분석기에 사용되는 시약은 혈액응고시간분석기기 자체에 포함되어 있지 않고 D01040.01. 혈액응고일반 검사시약 및 D01050.01. 혈액응고검사시약으로써 대분류 ‘D. 체외진단용 시약’, 중분류 ‘D01000 혈액 검사용 시약’에 속한다.

[표 2] 혈액응고시간분석기 관련 국내 적용 범위

중분류	소분류	품목명	영문	정의	등급
A22000	A22080.01	혈액응고 시간분석기	Haematology analyser, thrombosis	전혈에서 응고에 요하는 시간을 측정하는 기기. 정맥혈 또는 모세혈의 PT (Prothrombin Time)을 측정하여 레이저 광도계 등으로 광도를 측정한다.	1
D01000	D01040.01	혈액응고 일반검사시약	IVD reagents for hemostasis and thrombosis, non-essential tests for clinical decision	의학적 결정을 내리는데 단독으로 사용되지 않는 시약으로 혈액응고인자, 혈액응고인자 분해산물, vWF assay, Anti-thrombin, Protein C & S, Lupus anticoagulant, Platelet factor 4, β -thromboglobulin test 등의 출혈 및 혈전 질환 검사 시 사용되는 시약(임상증상 및 증후, 다른 검사결과 참조 필요, Fibrinogen, FDP, D-dimer 검사 등 3등급 혈액응고검사시약 제외)	2

D01000	D01050.01	혈액응고 검사시약	IVD reagents for hemostasis and thrombosis, essential tests for clinical decision	의학적 결정을 내리는데 단독으로 사용될 수 있는 시약으로 PT, aPTT, Thrombin time, Fibrinogen, Platelet function test, Anti-factor Xa, ACT, LMWH, Fibrinolysis test(FDP, D-dimer) 등의 검사 시 사용되는 시약	3
--------	-----------	--------------	---	---	---

혈액응고시간분석기는 혈액 응고의 이상 여부를 측정하기 위해 응고 시간 측정 및 관련된 인자를 분석하는 장치로 질병의 진단, 치료 및 예후 판정을 가능하게 한다. 항 응고 치료를 받고 있는 환자는 미국(유방암 수술, 혈전환자)이 가장 많으며 유럽, 일본, 아랍권, 남미, 중국, 동남아 등이며, 현재 우리나라의 경우 경구용 항응고제를 복용해야 하는 환자가 약 50만 명이며 심장관련 수술을 연 4만 건 이상 시행한다. 따라서 국내에서 시행되는 혈액 응고시간 분석 검사는 연간 약 600만 건 정도로 추정되고 있다. 또한 혈액응고시간 분석 검사가 필요한 혈관성 질환이 고령화로 인해 지속적으로 증가하고 있으며, 장비의 수요 또한 증가하고 있음에 따라 장비에 대한 안정성 및 성능이 확보되어 정확한 측정이 이루어져야 한다.

본 가이드라인에서는 전혈에서 응고에 요하는 시간을 측정하는 기기, 정맥혈 또는 모세혈의 프로트롬빈 시간(PT, Prothrombin Time)을 측정하여 레이저 광도계 등으로 광도를 측정하는 병원용 혈액응고시간분석기를 대상으로 성능 평가 시험방법 가이드라인을 마련하여 의료기기의 품질관리에 도움을 주고자 하며 신속한 허가·심사와 국민의 보건 향상에 활용하고자 한다.

단, 본 성능 시험방법 가이드라인은 휴대용 혈액응고 측정시스템³⁾에 대한 평가에는 적용되지 않는다.

3) 휴대용 혈액응고 측정시스템의 경우 식품의약품안전처 「휴대용 혈액응고 측정시스템 안전성·성능 및 임상시험계획서 평가 가이드라인(발간등록번호 11-1471057-000230-01)」 참조

3.1 안전성 평가 적용 규격

1. 전기·기계적 안전성 관련 규격

혈액응고시간분석기에 적용 가능한 국내의 전기·기계적 안전성 기준규격으로는 [표 3]과 같이 식품의약품안전처 고시 『의료기기 전기·기계적 안전에 관한 공통기준규격』이 있다. 국외 규격으로는 국제전기기술위원회(International Electro-technical Commission; IEC)의 『IEC 61010-1-1:2010, Safety requirements for electrical equipment for measurement, control, and laboratory use - Part 1: General requirements』, 『IEC 61010-2-101:2015, Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use - Part 2-101: Particular requirements for in vitro diagnostic (IVD) medical equipment』, 『IEC 61010-2-081-1:2015, Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use - Part 2-081: Particular requirements for automatic and semi-automatic laboratory equipment for analysis and other purposes』가 전기·기계적 안전성 규격으로 적용이 가능하다.

[표 3] 전기·기계적 안전성 적용 규격 현황

	발행 기관	적용 규격
국내	식품의약품 안전처	의료기기의 전기·기계적 안전에 관한 공통기준규격
국외	IEC	IEC 61010-1, Safety requirements for electrical equipment for measurement, control, and laboratory use - Part 1: General requirements
		IEC 61010-2-101, Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use - Part 2-101: Particular requirements for in vitro diagnostic (IVD) medical equipment

		IEC 61010-2-081, Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use - Part 2-081: Particular requirements for automatic and semi-automatic laboratory equipment for analysis and other purposes
--	--	---

2. 전자파 안전성 관련 규격

혈액응고시간분석기에 적용 가능한 국내 전자파 안전성 기준규격으로는 [표 4]와 같이 식품의약품안전처 고시 『의료기기의 전자파 안전에 관한 공통기준규격』이 있다. 국외 규격으로는 국제전기기술위원회(International Electro-technical Commission; IEC)의 『IEC 61326-1:2012, Electrical equipment for measurement, control and laboratory use - EMC requirements - Part 1: General requirements』 『IEC 61326-2-6:2012, Electrical equipment for measurement, control and laboratory use - EMC requirements - Part 2-6: Particular requirements - In vitro diagnostic (IVD) medical equipment』가 전자파 안전성 규격으로 적용 가능하다.

[표 4] 전자파 안전성 적용 규격 현황

	발행 기관	적용 규격
국내	식품의약품안전처	의료기기의 전자파 안전에 관한 공통기준규격
국외	IEC	IEC 61326-1, Electrical equipment for measurement, control and laboratory use - EMC requirements - Part 1: General requirements
		IEC 61326-2-6, Electrical equipment for measurement, control and laboratory use - EMC requirements - Part 2-6: Particular requirements - In vitro diagnostic (IVD) medical equipment

3.2 성능 평가 적용 규격

혈액응고시간분석기의 성능 평가 대하여 [표 5]에서와 같이 미국 FDA 혈액응고시간분석기 가이드라인은 국제진단검사표준 및 임상검사실험품질협회(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 체외진단용 의료기기 평가 방법의 성능평가를 권고하고 있다. 그에 따라 적용 가능한 기준 규격으로는 정밀도 평가에 관련된 『CLSI EP05-A3, Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline』, 직선성 평가와 관련된 『CLSI EP06-A, Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach』, 『CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline』, 정확도 및 동등성 평가에 관련된 『CLSI EP15-A3, User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline』, 『CLSI H30-A2, Procedure for the Determination of Fibrinogen in Plasma』, 검체 간 상호오염도에 관련된 『CLSI H47-A2, One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test』, 『CLSI H57-A, Protocol for the Evaluation, Validation, and Implementation of Coagulometers』를 성능평가 규격 설정시 참고할 수 있으며 이외에도 제조자가 품질 요구 사항에 충족함을 입증할 수 있는 경우에는 대체방법을 사용할 수 있다.

[표 5] 성능 평가 적용 규격 현황

발행 기관	적용 규격
Clinical and Laboratory Standards Institute	CLSI EP05-A3, Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline
	CLSI EP06-A, Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach
	CLSI EP15-A3, User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline
	CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline
	CLSI H30-A2, Procedure for the Determination of Fibrinogen in Plasma
	CLSI H47-A2, One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test
	CLSI H57-A, Protocol for the Evaluation, Validation, and Implementation of Coagulometers

4.1 안전성 평가 시험 항목

1. 전기·기계적 안전에 관한 시험

전기·기계적 안전성 시험 항목은 [표 6]에서와 같이 식품의약품안전처 고시 「의료기기의 전기·기계적 안전에 관한 공통기준규격」의 제외진단용 분석기기에 대한 전기·기계적 안전에 관한 공통기준규격인 별표 7의 시험방법을 따른다. 그 중 크게 10가지 항목을 선정하였으며, 세부사항으로 25가지 항목을 선정하였다. 그러나 제품의 특성에 따라 시험 항목들은 가감될 수 있다.

[표 6] 안전성 평가 시험 항목

의료기기의 전기·기계적 안전에 관한 공통기준규격(식약처 고시) 별표 7		
전기·기계적 안전성 평가 항목	시험 내용	관련 규격
시험	단일 고장 상태에서의 시험	4.4
표시와 문서	주전원	5.1.3
	표시의 내구성	5.3
전기충격에 대한 보호	접촉가능 부분 일반적 조사	6.2.1
	위험 충전부 위에 있는 개구부	6.2.2
	접촉 가능 부분의 허용 한계	6.3.1 ~ 6.3.2
	플러그 연결형 기기의 보호 접속 임피던스	6.5.1.3
	전압 시험	6.8.4
기계적 위해요인에 대한 보호	안전성	7.3
충격과 충돌에 대한 기계적 내성	외장 강성 시험 (정적 시험)	8.1.1
	동적 시험	8.1.2
화재 확산 방지	화재 확산 방지	9.1 ~ 9.3
기기 온도 한계치와 내열성	과열시험	10.1 ~ 10.2
	비금속성 외장 및 절연재료	10.5.2 ~ 10.5.3

유체로 인한 위해요인 방지	유체로 인한 위해요인 방지	11.3 ~ 11.4 11.7.2
레이저 광원 등 복사, 음압 및 초음파 압력에 대한 보호	레이저 광원	12.6
연동 장치에 의한 보호	조작자 보호 인터록 장치의 신뢰성	15.3

2. 전자파 안전에 관한 시험

혈액응고시간분석기의 전자파 안전성 평가 시험 항목은 [표 7]에서와 같이 식품의약품안전처 고시 「의료기기의 전자파 안전에 관한 공통기준규격」 및 IEC 61326-1, IEC 61326-2-6을 따른다. 그러나 제품의 특성에 따라 시험 항목들은 가감될 수 있다.

[표 7] 전자파 안전성 평가 시험 항목

의료기기의 전자파 안전에 관한 공통기준규격(식약처 고시)		
전자파 안전성 평가 항목	시험 내용	관련 규격
전자파 장애 (간섭)	전자파장해 (간섭)의 허용 기준	5장
	측정 요건	6장
	시험장 측정을 위한 특별 규정(9kHz~1GHz)	7장
	방사 측정 : 1GHz~18GHz	8장
	설치장소 에서의 측정	9장
	안전 예방 조치	10장
	기기의 적합성 평가	11장
전자파 보호(내성)	일반요구사항	1장 4절
	표식, 표시 및 문서	1장 5절
	전자파적합성	2장 6절
IEC (International Electro-technical Commission)		
IEC 61326-1	Control 및 Laboratory에서 적용되는 전자파 안전에 관한 공통 규격	
IEC 61326-2-6	체외진단장비의 관련 전자파 안전에 관한 개별규격	

4.2 성능 평가 시험 항목

혈액응고시간분석기의 성능평가 시험의 주요 항목은 체외진단검사 장비와 관련된 4가지의 CLSI 가이드라인을 참고하였다. 성능 평가 시험 항목은 아래 [표 8]에서 제시하는 예시를 참고하여 품목의 특성에 따라 업체에서 자율적으로 설정할 수 있다.

[표 8] 성능 평가 시험 항목 예시

성능평가 항목	시험 내용	관련 규격
정밀도 평가	1) 각 검사 항목 측정 결과의 재현성 평가 2) 정도관리 물질을 사용해 일정 기간 반복 측정 3) 반복 측정 결과로써 각 정도관리 물질에 대한 CV를 도출하여 기준과 비교	CLSI EP05-A3
기기 간 동등성 평가	혈액응고시간분석기 기준장비와의 기기 간 비교를 통해 측정값 간의 동등성 확인	CLSI EP15-A3 CLSI H57-A CLSI H47-A
직선성 평가	1) 정량 검사인 Fibrinogen 측정에 해당되는 시험이며 측정 범위 내에서 정량적 직선성 확인 2) 예상농도와 측정값 간의 차이가 허용 범위이내에 드는지 확인	CLSI EP17-A2 CLSI H57-A CLSI H47-A2 CLSI EP06-A
검체 간 상호오염도	검체 간 상호오염도 (Carry-over) 평가	CLSI EP05-A3 CLSI H57-A CLSI H47-A2
잠재적 간섭물질 영향평가	혈액응고시간분석기장비의 내·외인성 간섭물질에 대한 영향평가	EP07-A2

5.1 안전성 시험 방법

1. 전기·기계적 안전성

혈액응고시간분석기를 구성하는 모든 전기사용 시스템은 의료기기 전기·기계적 안전에 관한 공통기준규격에 적합하여야 한다. 혈액응고시간분석기는 체외진단기에 포함되므로 의료기기의 전기·기계적 기준규격 별표 7 체외진단용 분석기기에 대한 전기·기계적 안전에 관한 공통기준규격에 있는 시험 방법에 따른다.

[표 9] 전기·기계적 안전성 시험 방법

의료기기의 전기·기계적 안전에 관한 공통기준규격(식약처 고시) 별표 7		
전기·기계적 안전성 시험 항목	시험 내용	참고 절
제 4절 시험		
단일 고장 상태에서의 시험	관련규격의 단일 고장상태 시험조건의 일반요구 사항으로부터 보호임피던스, 단락, 과부하, 절연 등 적용할 수 있는 시험조건에서 적합하여야 한다.	4.4, 6.5.3, 6.8, 14.3, 14.6, 15.3, 7, 8, 11~16
제 5절 표시와 문서		
주전원	측정값은 표시 값의 10%를 초과해서는 안 된다.	5.1.3
표시의 내구성	표시는 조치 후에도 명료하게 읽기 쉬워야 하며, 접착성의 꼬리표가 벗겨지거나 그 테두리가 벗겨져서는 안 된다.	5.1.2~5.2, 5.3
제 6절 전기충격에 대한 보호		
접촉가능 부분 일반적 조사	부품은 테스트 핑거나 핀에 접촉할 수 있다면 혹은 절연덮개가 없는 상태에서 접촉할 수 있다면 접촉 가능한 것으로 간주한다.	6.2.1

위험 충전부 위에 있는 개구부	단일 고장 상태에서의 보호를 위한 추가 안전 측정은 이 시험에 의해서만 접촉 가능하므로 단독으로는 요구되지 않는다. 또한, 이 시험은 단자에는 적용하지 않는다.	6.2.2
접촉 가능 부분의 허용 한계	접촉 가능 부분이 위해 활전부가 아닌 것을 보증하기 위하여 접촉 가능 부분과 기준 시험 접지 간 또는 거리 1.8 m(표면 위나 공간을 지나) 이내의 거리에 있는 기기의 동일 구조 위의 임의의 2개의 접촉 가능 부분 사이의 전압, 전류, 전하 또는 에너지가 정상 상태에서의 값을, 단일 고장 상태에서의 값을 초과해서는 안 된다.	6.3.1~6.3.2
플러그 연결형 기기의 보호 접속 임피던스	접촉 가능 부분과 보호 접지 단자 사이의 임피던스는 0.1 Ω을 초과해서는 안 된다.	6.5.1.3
내전압 시험	시험동안 절연과괴 또는 섬락의 반복이 생겨서는 안 된다.	6.7.1.1, 6.8.4
제 7절 기계적 위해요인에 대한 보호		
안정성	시험 중에 기기는 넘어지지 않아야 한다.	5.2, 7.3
제 8절 충격과 충돌에 대한 기계적 내성		
외장 강성 시험 (정적 시험)	<ol style="list-style-type: none"> 1) 위해 활전부가 되는 부분에 닿을 수 없다. 2) 외장에는 위험을 일으킬 수 있는 균열이 보이지 않는다. 3) 공간 거리가 허용치 이상이고 내부 배선의 절연 물이 손상되지 않는다. 4) 장벽이 손상되지 않았고 풀려있지 않는다. 5) 가동부가 노출되지 않는다. 	8.1.1
동적 시험	눈에 띄게 손상된 창이나 표시부 뒤의 위해 활전부에는 접촉할 수 없어야 하며, 외장의 다른 부분은 기초 절연 요구사항을 충족하여야 한다.	8.1.2

제 9절 화재 확산 방지		
화재 확산 방지	<p>기기 외부에 화재가 확산되지 않도록 해야 한다.</p> <p>※ 적합성 검증방법은 관련규격의 [그림 10]의 흐름도를 통하여 검증한다.</p>	4.4, 4.4.4.3, 9.1~9.3, 9.2.1, 9.4, 14.8
제 10절 기기 온도 한계치와 내열성		
과열시험	<p>1) 온도한계치</p> <p>접촉하기 쉬운 표면은 정상 상태에서는 표 15의 값, 혹은 40 °C의 주위 온도에서 주위 온도가 40 °C를 초과하는 경우에는 최대 정격 주위 온도에서 105 °C를 초과하지 않아야 한다.</p> <p>2) 권선의 온도</p> <p>과열로 인해 위해요인이 발생할 수 있는 경우에는 권선 절연 재료의 온도가 정상 상태나 단일 고장 상태에서 표 16의 값을 초과하지 않아야 한다.</p>	4.4.2.4, 4.4.2.9, 4.4.2.10, 5.2, 10.1~10.2, 10.4
비금속성 외장 및 절연재료	<p>1) 비금속성 외장</p> <p>위해 활전부에 접촉할 수 없어야 하며, 기기는 외장 강성 시험과 낙하 시험을 통과하여야 하며, 의심스러운 경우에는 절연 내력 시험(습도 전처리 없음)을 추가로 실시한다.</p> <p>2) 절연재료</p> <p>1시간 후 이 장치를 제거하고 시편을 차가운 물에 담갔을 때 10초 내에 구슬에 의해 생긴 압력흔적의 지름이 2 mm를 초과하지 않아야 한다.</p>	4.3, 6.8, 8.1, 8.2, 10.3, 10.5.1~10.5.3
제 11절 유체로 인한 위해요인 방지		
유체로 인한 위험방지	<p>1) 유출</p> <p>이 처리를 한 후 즉시, 이 기기는 6.8의 전압시험(습도 전처리 없음)을 통과하여야 하며 접촉 가능</p>	6.3.1, 6.8, 11.3~11.4, 11.7.2

	<p>부분은 6.3.1의 한계치를 초과하지 않아야 한다.</p> <p>2) 넘침</p> <p>이 기기는 절연 내력 시험의 전압 시험(습도 전처리 없음)을 통과하여야 하며 접촉 가능 부분은 정상 상태에서의 값의 한계치를 초과하지 않아야 한다.</p>	
제 12절 레이저 광원 등 복사. 음압 및 초음파 압력에 대한 보호		
레이저 광원	제품에 레이저 광원을 사용하는 경우, IEC60825-1의 요구사항에 적합하여야 한다.	12.6
제 15절 연동 장치에 의한 보호		
조작자 보호 인터록 장치의 신뢰성	조작자를 보호하기 위한 인터록 장치는 기기의 예상수명 동안 단일 고장이 발생하거나 위험을 일으킬 가능성이 없어야 하고 스위치 형태의 인터록 장치는 최소한 10,000 동작 사이클로 시험한다.	15.3

2. 전자파 안전성

혈액응고시간분석기를 구성하는 모든 전기를 사용하는 시스템은 의료기기 전자파 안전에 관한 공통기준규격 및 IEC 61326-1, IEC 61326-2-6 에 적합하여야 한다.

[표 10] 전자파 안전성 시험 방법

의료기기의 전자파 안전에 관한 공통기준규격(식약처 고시)		
전자파 안전성 시험 항목	시험 내용	참고 절
전자파 장애 (간섭)		
전자파장애 (간섭)의 허용 기준	시험장에서 측정되는 1종 및 2종 기기, 설치 장소에서 측정되는 1종 및 2종 A급 기기 기준 확인	5장
측정 요건	주변잡음, 측정기기, 주파수 측정, 피시험기기 (EUT)의 배치, 피시험기기의 부하조건 확인	6장

시험장 측정을 위한 특별 규정 (9kHz~1GHz)	전원 단자 장애 전압 측정, 주파수 범위 9kHz ~1GHz 및 30MHz~1GHz 에 대한 방사 시험장 규정 확인	7장
방사 측정 : 1GHz~18GHz	시험 배치, 수신 안테나, 시험장의 확인과 교정, 측정 절차 확인	8장
설치장소 에서의 측정	방사 시험장에서 시험할 수 없는 기기에 대하여 방 위각 방향에서 시행된 측정 횟수는 실제 상황이 되도록 많아야 하지만, 최소한 직교 방향에서 4회 측정하고 불리한 영향을 받는 무선 시스템이 존재 하는 방향에서 측정	9장
안전 예방 조치	ISM 기기는 인체에 유해한 정도의 전자파를 방 출할 가능성이 있으며, 전자파방사 장애 시험을 하기 전에 ISM 기기를 적당한 측정기로 점검	10장
기기의 적합성 평가	대량 생산된 기기의 승인에 대한 통계적 평가, 소량 생산된 기기, 개별 단위로 생산된 기기의 측정 불확도 확인	11장
전자파 보호(내성)		
일반요구사항	ME기기 및 ME시스템의 전자파 적합성에 대한 일 반요구사항, ME기기에 대한 단일고장 조건	1장 4절
표식, 표시 및 문서	ME 기기 또는 ME 기기 부품 외관의 표시, 기술 설명서 확인	1장 5절
전자파적합성	방사, 내성 확인	2장 6절
IEC (International Electro-technical Commission)		
IEC 61326-1	Control 및 Laboratory에서 적용되는 전자파 안전에 관한 공통 규격	
IEC 61326-2-6	체외진단장비의 관련 전자파 안전에 관한 개별규격	

5.2 성능 시험 방법

혈액응고시간분석기의 경우 기준 장비가 따로 지정되어 있지 않아, 기준 장비를 사용할 경우에는 성능 평가를 실시하여 기준에 적합한 장비를 선정하는 것을 권장한다. (성능 평가의 경우 CLSI를 참고하여 진행함을 권장한다.) 또한, 아래에서 제시하는 성능시험 방법 이외에도 제조자가 품질 요구사항을 충족함을 입증할 수 있는 경우에는 대체방법을 사용할 수 있다.

- 기준 장비 : 기 허가 및 신고된 제품 중 성능평가 기준에 적합한 장비
- 시험 장비 : 성능시험 수행 장비(기준 장비와 비교 할 장비)

1. 검체 준비

1.1 전처리 시험 방법

- 1) 정상인으로써 8시간 이상 금식한 자의 혈액(정맥혈)을 진공 채혈관에 채취하여 검체로서 사용한다. (의료기기 채혈 방법에 따라 수행함을 원칙으로 한다.)

※참고

단, 채혈 대상자는 혈액응고시간 측정에 방해가 되는 용혈, 황달, 지방혈증이 없어야 한다.

<예시1>3.2% 또는 3.8% Sodium Citrate tube에 채취된 전혈



※참고

일반 구연산염 튜브 (Citrate tube)는 항응고제의 함량이 Hct 45% 기준으로 되어 있으므로 Hct 55% 이상의 적혈구증다증 환자에서는 항응고제 비율을 조절해야 한다.

- 2) 튜브에 처리되어 있는 항응고제가 충분히 섞일 수 있도록 채혈관을 부드럽게 흔들어 준다.

※참고

검체 보관법

- 혈액검체는 2~4℃나 18~24℃에서 24시간 보관 가능
- 검체에 미분획 헤파린(Unfractionated heparin)이 투여된 경우에는 채혈 후 한 시간 이내에 원심분리 해야 하며, 최소 4시간 이내에 검사를 실시
- 응고인자 검사 시 4시간 이내에 원심분리와 검사가 시행

3) 혈장분리

실온에서 원심분리기를 이용하여 15분간 1,500g을 원심분리한 후 상층부의 혈소판이 거의 없는 혈장(platelet-poor plasma)을 분리한다.

<예시2>혈장분리 과정

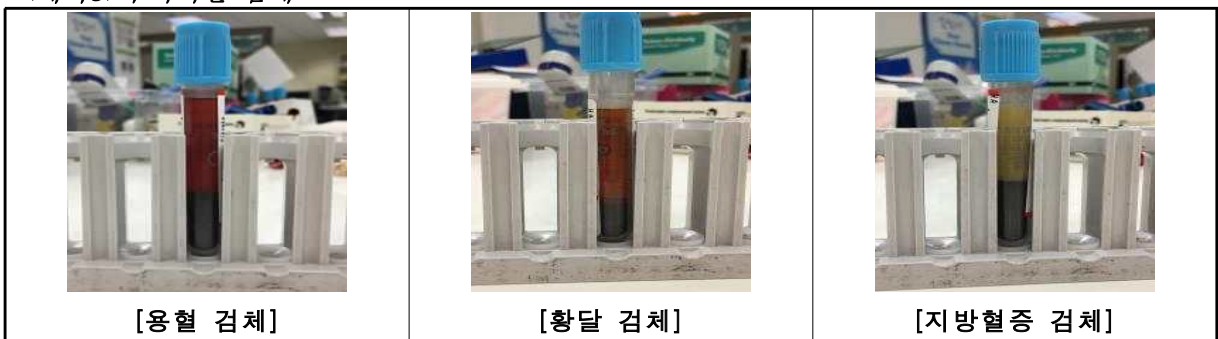


4) 혈액검체 적합성 판정 기준

다음과 같은 검체는 사용할 수 없다.

- 응고된 검체 : 실험 전 응고 되어 버린 검체
- 용혈 검체 : 혈액 내 적혈구가 세포막이 깨진 검체
- 황달, 지방혈증 등의 검체 : 투과도에 영향을 주어 광학적 측정에 간섭을 주는 검체
- 원심분리가 올바르게 되지 않은 검체 : 원심분리 후 분리한 혈장 내 혈소판이 10,000/ μ L를 초과한 것으로 의심되는 검체

<예시3>부적격한 검체



1.2 검체 및 시약

1) 정상인 혈액검체

혈액 응고 질환이 없는 건강한 성인의 검체를 구연산염(citrate) 용액이 들어 있는 시험관에 채혈하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액의 혈장으로 검사한다.
(이때, 검체 : citrate용액 = 1 : 9의 비율로 혼합)

2) 정도관리물질

- 정도관리 물질 level I: 치료 정상범위 내(INR 2.0~4.5) 기댓값을 가진다.
- 정도관리 물질 level II: 치료 정상범위 외(INR 2.0 미만, 4.5 초과) 기댓값을 가진다.
- 정도관리물질을 장비(대조 장비)로 측정한다.

※참고

프로트롬빈시간(prothrombin time, PT)는 치료범위인 **국제정상화비율(international normalized ratio, INR)** 2.0 - 3.0 및 국제예민도지수(international sensitivity index) 산출에 필요한 INR 2.0 - 4.5 범위를 아우르는 검체를 선정한다. 부분활성트롬빈시간(activated partial trombin time, aPTT)는 비분획 헤파린 치료 모니터링에 사용되며 정상평균값인 2.0 - 4.0에 해당하는 검체가 포함되도록 한다.

<예시4>정도관리물질



1.3 검체 개수 선정

본 가이드라인에 제시된 검체의 개수는 CLSI의 성능평가 방법을 참고한 권장사항이다.

2. 정밀도 시험

2.1 목 적

동일한 실험실에서 동일자가 일간 반복성, 기기/Lot 간 반복성 및 통합 재현성 시험을 수행하여 측정결과를 표준편차(SD)⁴⁾ 혹은 변동계수(CV%)⁵⁾로 통계 처리하여 결과를 해석한다.

2.2 참고 자료

CLSI 가이드라인 EP5-A3, H57-A

2.3 검체 및 시약 준비

1) 정상혼주혈장

혈액 응고 질환이 없는 건강한 성인의 검체를 구연산염(citrate) 용액이 들어 있는 시험관(이때, 검체 : 구연산염 용액 = 1 : 9의 비율로 혼합)에 채혈하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리된 상층액(혈장)을 사용한다.

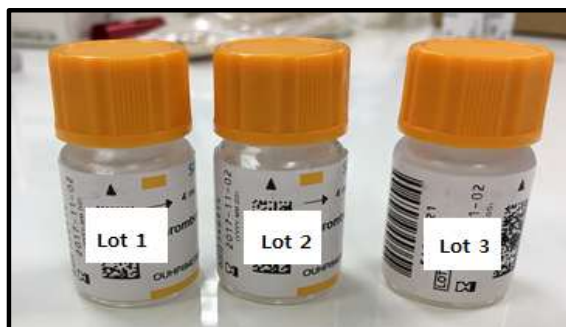
2) 정도관리물질

- 정도관리 물질 level I: 치료 정상범위 내 기댓값을 가지는 물질을 말한다.
- 정도관리 물질 level II: 치료 정상범위 외 기댓값을 가지는 물질을 말한다.

3) Lot 시약

종류가 다른 3가지 종류의 Lot 시약 (재현성 평가 시 이용)을 준비한다.

<예시4> Lot 시약



4) SD(standard deviation) : 자료가 많을 때 자료를 대표하는 하나의 값, 즉 대푯값으로 평균을 많이 사용한다. 산포도의 하나인 표준편차는 자료가 평균을 중심으로 얼마나 퍼져 있는지를 나타내는 대표적인 수치이다. 표준편차의 단위는 자료의 단위와 일치한다.

5) 변동계수 (coefficient of variation, CV) - 음수가 아닌 특징값에 있어서, 표준편차와 평균값의 비율 (ISO 3534 -1) ; 비고 1: 이 비율은 백분율로 표현될 표현될 수 있다 ; 비고 2: 때로는 '분산계수'에 대한 대안으로 "상대적 표준편차"라는 용어가 이용되지만 이는 권장하지 않는다 ; 비고 3: 많은 경우, 분산 계수에 100을 곱한 후 백분율로 표현한다.

2.4 시험 방법

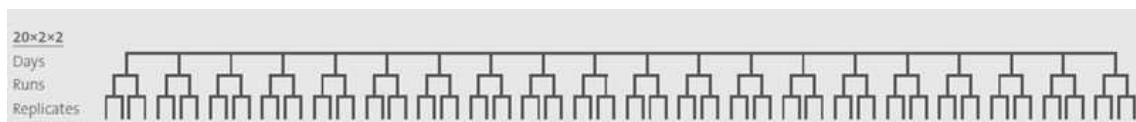
- 1) 혈액응고시간분석기와 혈액검체 및 시약을 준비한다.
- 2) 혈액응고시간분석기의 전원을 켜고 측정 가능 상태를 확인 후 제조사의 구동방법에 따라 작동시킨다. (장비의 구동방법은 제조사의 매뉴얼을 참고한다.)
- 3) 정도관리 물질 level I을 기기에 삽입 후 PT, aPTT를 2회 연속 측정하고 결과를 기록한다(부록 C. [표 1] 정밀도 평가검사 기록지 참고).
- 4) 정도관리 물질 level II를 기기에 삽입 후 PT, aPTT를 2회 연속 측정하고 결과를 기록한다.
- 5) 정상혼주혈장 또한 PT, aPTT를 2회 연속 측정하고 결과를 기록한다.
- 6) 해당 검사를 5일간 오전 오후로 나누어 반복한다. 단, 다중채널의 장비인 경우 20일간 진행한다.(일일 검사 종료 후에는 전원을 끄고 다음날 다시 켜다.)

※참고

검사 진행일 설정 (CLSI 가이드라인 EP5-A3)

Single Site Study

- 20 days × 2 runs/day × 2 replicantes
- Repeatability & within-lab precision



※참고

재현성 시험을 할 경우에는 아래의 사항을 참고하여 진행한다.

- 3종류의 Lot 시약을 준비하여 Lot 마다 실험을 진행한다.
- 검체 및 시약 측정 회수를 5회로 증가하여 진행한다.

2.5 결과 해석

- 1) 각 혈액검체 및 시약 별로 반복성, 시험자 간, 검사실 간, 검사 기기별, Lot 간(시험시약이 있는 경우)의 정밀도 지표를 계산한다(부록 C. [표 2] 정밀도 검사 평가표 참고).
- 2) 각각의 CV% (변동계수)는 FDA와 CLIA에 따라 15% 이내로 허용기준을 권장한다. (참고문헌: "Current databases on biological variation: pros, cons and progress" Scand K Clin Lab Invest 1999; 59:491-500. This database was most recently updated in 2012, 2014.)

3. 기기 간 동등성 시험

3.1 목 적

혈액응고시간분석기의 정확도를 분석하기 위해 기준 장비와의 다른 기기 간 비교를 통해 측정값 간의 동등성을 분석한다.

3.2 참고 자료

CLSI 가이드라인 H57A

3.3 검체 및 시약 준비

- 1) 연구기관 임상 검사실의 잔여 검체를 기준 장비로 분석하여 3가지 그룹으로 나눈다.
- 2) PT 검사 검체: 최소 40개의 검체를 준비한다. 30개의 검체는 INR 2.0 - 4.5 사이에 분포하며, 5개의 검체는 2.0 미만이고 4.5를 초과하는 검체는 5개 이상이어야 한다([표 11] 참고).

[표 11] 동등성 평가를 위한 혈액검체 PT INR과 비율

구간	검체 수	검체비율(%)	PT INR
1	5	20	< 2.0
2	30	60	2.0 - 4.5
3	5	20	> 4.5

- 3) aPTT 검사 검체: 최소 40개의 검체를 준비한다. 그 중 20개는 비분획 헤파린 치료 모니터링에 사용되는 정상 aPTT값을 가지는 검체이며, 그 외의 검체는 정상 aPTT값의 2.0 ~ 4.0 배에 해당하는 검체가 포함되도록 한다([표 12] 참고).

- 4) 3종의 Lot 시약

[표 12] 동등성 평가를 위한 혈액검체 aPPT 와 비율

구간	검체 수	검체비율(%)	aPPT (sec)
1	20	50	26.8 - 40.6
2	10	25	40.6 - 60.0
3	10	25	> 60.0

3.4 시험 방법

- 1) 혈액응고시간분석기(기준 장비, 시험 장비)와 검체를 준비한다.
- 2) 혈액응고시간분석기의 전원을 켜고 측정 가능 상태를 확인 후 제조사의 구동방법에 따라 작동시킨다. (장비의 구동방법은 제조사의 매뉴얼을 참고한다.)
- 3) 1번 Lot 시약을 기준 장비에 장착한다.
- 4) 혈액검체를 기준 장비에 삽입하고, 측정 후 측정값을 기록한다.(부록 C. [표 5] 기기 간 동등성 평가 검사 기록지 참고)
- 5) 혈액검체를 시험 장비에 삽입하고, 측정 후 측정값을 기록한다.
- 6) 남은 39개의 혈액검체에 대해서도 4)-5) 과정을 시행한다.
- 7) 혈액응고시간분석기의 시약을 2번 Lot로 교체 후 4)~6) 과정을 시행한다.
- 8) 혈액응고시간분석기의 시약을 3번 Lot로 교체 후 4)~6) 과정을 시행한다.

3.5 결과 해석

- 1) 자료를 분석하고 허용기준에 따라 확인한다.(부록 C. [표 6] 기기 간 동등성 평가 기록지 참고)
- 2) 대조군과 실험군의 차이가 모두 허용기준에 드는지 확인한다. [표 13]에 PT, aPTT 정확도 평가기준을 나타내었다. 또한 모든 Lot의 시약에서 허용기준에 드는지 확인한다. 측정값 간 동등성 평가는 Passing & Bablok 방식의 회귀분석을 사용해 y절편(Intercept), 기울기(Slope), 기댓값(Expected value)을 구한 후 기댓값(Expected value)이 임상적으로 중요한 결정 값(Decision Level)에서 허용범위(Acceptable performance) 15% 이내로 권장한다.

※참고

PT Decision level의 경우 INR 값으로 환산한다. (부록 A. 권장 및 주의 사항 참고)

[표 13] PT, aPTT 정확도 허용기준

구분	결정 값 (초)			허용기준
	14.0	16.0	30.0	
PT	14.0	16.0	30.0	허용 기준(Acceptable performance)의 15% 이내
aPTT	35.0	45.0	90.0	허용 기준(Acceptable performance)의 15% 이내

Reference : "Current databases on biologic variation: pros, cons and progress" Scand K Clin Lab Invest 1999; 59:491-500

4. 직선성 시험

4.1 목 적

혈액응고인자의 정량적 분석에 있어 직선성이 측정범위에서 안정적으로 나타나는지 확인하기 위한 시험으로, Passing & Bablok 방식의 회귀분석을 사용해 y절편(Intercept), 기울기(Slope), 상관계수(R^2) 값을 구하여 허용오차(total allowable error)에 드는지 확인한다.

4.2 참고 자료

CLSI 가이드라인 EP17-A2

4.3 검체 및 시약 준비

- 1) 기준 장비로 측정된 정상 검체를 준비한다.
- 2) 검체를 단계적으로 희석하여 5개 농도의 검체를 제조한다.
- 3) 검체 희석 방법([표 14] 참고)

검체 1 - 처음 준비했던 원 검체

검체 2 - 검체 1과 검체 3을 1:1로 혼합해서 만든 검체

검체 3 - 검체 1과 검체 5를 1:1로 혼합해서 만든 검체

검체 4 - 검체 3과 검체 5를 1:1로 혼합해서 만든 검체

검체 5 - 생리 식염수(Normal saline)

[표 14] 직선성 평가 검체 제조의 예시

농도	예상 농도	희석 방법
1(고농도)	500 mg/dL	원 검체
2	375 mg/dL	1 + 3
3	250 mg/dL	1 + 5
4	125 mg/dL	3 + 5
5(저농도)	0.0 g/dL	Normal saline

4.4 시험 방법

- 1) 혈액응고시간분석기(기준 장비, 시험 장비)와 농도가 다른 검체 5개를 준비한다.
- 2) 혈액응고시간분석기(기준 장비, 시험 장비)의 전원을 켜고 측정 가능 상태를 확인 후 제조사의 구동방법에 따라 작동시킨다. (장비의 구동방법은 제조사의 매뉴얼을 참고한다.)
- 3) 기준 장비를 이용하여 검체 1의 혈액 응고 인자(Fibrinogen)를 측정한다.
- 4) 3)의 검사를 마친 검체를 시험 장비로 옮겨 2회 연속 측정한다.
- 5) 남은 4개의 검체에 대해서 2) - 5) 과정을 반복한다.

4.5 결과 해석

- 1) 그래프 작성을 통하여 측정 농도와 예상 농도의 상관성을 평가한다. Passing & Bablok 방식의 회귀분석을 사용해 y절편(Intercept), 기울기(Slope), 상관계수(R^2) 값을 구하여 허용기준(Acceptable standards)에 드는지 확인한다(부록 C. [그림 1] 직선성 평가 예시 참고).
- 2) 명확한 허용 기준은 제시되지 않으나 $R^2=0.95$ 이상을 유지함을 권장한다.

5. 검체 간 상호오염도(Carryover) 시험

5.1 목 적

검사 시 이전 검체가 측정기 내에 잔존하여 다음 검사에 영향을 미칠 수 있으므로, 그 정도를 정량적 방법으로 분석한다.

5.2 참고 자료

CLSI 가이드라인 EP5-A3

5.3 검체 준비

기준 장비를 이용하여 정상 검체(고농도 물질, aPTT 30초 이하) 및 비정상 검체 (저농도 물질, aPTT 50 초 이상)를 설정하거나, 상용 표준품(정상 및 비정상 검체)을 이용하여 시험한다.

5.4 시험 방법

※참고

검체 오염도는 기기 내 잔존하는 검체 여부를 판단하는 것으로 Lot별 차이를 고려하지 않아도 된다.

- 1) 혈액응고시간분석기(기준 장비)와 정상, 비정상 검체를 준비한다.
- 2) 혈액응고시간분석기(기준 장비)의 전원을 켜고 측정 가능 상태를 확인 후 제조사의 구동방법에 따라 작동시킨다. (장비의 구동방법은 제조사의 매뉴얼을 참고한다.)
- 3) 기준 장비에 정상 검체를 삽입하고 3번 연속 측정 한 후, 곧 바로 비정상 검체로 교체하여 3번 연속 측정한다.
- 4) 3)을 10회 반복한다.
- 5) 순서를 바꿔 비정상 검체를 3번 연속 측정 한 후, 곧 바로 정상 검체로 교체하여 3번 연속 측정한다.
- 6) 5)를 10회 반복한다.

5.5 결과 해석

- 1) 정상 검체(고농도 물질)의 3번 연속 측정값을 H1, H2, H3으로 기록한다.
- 2) 비정상 검체(저농도 물질)의 3번 연속 측정값을 L1, L2, L3으로 기록한다.
- 3) 검체간 상호오염도는 $(L1-L3)/(H3-L3) * 100$ 으로 구한다(부록 C. [표 8] 검체 간 상호오염도 검사 기록지 참고).
- 4) 계산된 상호오염도는 15% 미만이어야 한다.

6. 잠재적 간섭물질 영향 시험

6.1 목 적

혈액응고시간분석기의 내·외인성 간섭물질에 대한 영향력을 분석하기 위해, 시험군과 대조군의 농도를 측정하여 측정값의 차이를 비교한다.

6.2 참고 자료

CLSI 가이드라인 EP7-A2

6.3 혈액검체 준비

- 1) 기준 장비를 이용하여 혈액 응고 정상 및 이상 검체를 준비한다.
- 2) 정상 및 이상 검체를 각각 2개 구간으로 나누어 시험군과 대조군을 제조한다([표 15] 참고).

[표 15] 혈액검체 준비의 예시

PT (sec)		시 료
정상 검체	12.0	정상 검체, 시험군
		정상 검체, 대조군
이상 검체	36.0	이상 검체, 시험군
		이상 검체, 대조군

- 3) 시험군에는 간섭물질 용액 및 용질을 첨가하고, 대조군에는 용질만 첨가한다. (이때, 용질은 간섭물질을 용해하기 위해 사용하는 물질이며, 검체의 희석을 막기 위해 최소한을 첨가한다.)

※참고

시료 기질의 변화를 최소화하기 위해 혈액 시료는 최소로 희석한다.

[표 16] 시험간섭물질 리스트

간섭물질	저농도	고농도
요산 (Uric acid)	3 mg/dL	9 mg/dL
트리글리세라이드 (Triglyceride)	150 mg/dL	500 mg/dL
비결합빌리루빈 (Unconjugated Bilirubin)	1 mg/dL	15 mg/dL

※참고

혈액응고시간분석기의 성능 확인에 사용되는 간섭물질이 부재하여, 개인용 혈당 측정시스템 평가 시 사용되는 잠재적 간섭물질 24종 중 대표물질을 선정하여 사용하는 것을 권장한다.

6.4 시험 방법

- 1) 혈액응고시간분석기(기준 장비, 시험 장비)와 검체를 준비한다.
- 2) 혈액응고시간분석기(기준 장비)의 전원을 켜고 측정 가능 상태를 확인 후 제조사의 구동방법에 따라 작동시킨다. (장비의 구동방법은 제조사의 매뉴얼을 참고한다.)
- 3) 기준장비를 이용하여 정상 검체의 시험군을 2회 연속 측정하고 그 결과를 기록한다.
- 4) 정상 검체의 대조군으로 교체하여 2회 연속 측정하고 그 결과를 기록한다.
- 5) 이상 검체의 시험군으로 교체하여 2회 연속 측정하고 그 결과를 기록한다.
- 6) 이상 검체의 대조군으로 교체하여 2회 연속 측정하고 그 결과를 기록한다.
- 7) 3)~5)의 검사를 시험 장비에 동일하게 시행하고 측정값을 기록한다.

6.5 결과 해석

- 1) 모든 검체에 대하여 실험이 완료되면 [표 17]과 같이 허용기준에 따라 분석한다.

[표 17] 간접물질 영향평가 허용기준

구 분	시험군 측정 결과 평균과 대조군 측정 결과 평균의 차이
정상 검체, PT 12.0 (sec)	허용 기준(Acceptable performance)의 15% 이내
이상 검체, PT 36.0 (sec)	허용 기준(Acceptable performance)의 15% 이내

※참고

허용기준을 초과하는 간섭효과가 발견될 경우에 아래를 참고하여 재실험 한다.

- 허용기준을 초과하는 간섭효과가 발견되면 간섭물질 농도에 따른 간섭 정도를 결정하기 위해 투여-응답 기법(dose-response series)을 사용한다.

- 1) 기준을 충족하는 최대 간섭물질 농도를 계산한다.
- 2) 간섭물질 농도가 가장 높은 검체와 대조 검체의 혼합물로부터 간섭물질 농도의 투여-응답 기법을 적용하여 재평가 한다. [표 17]에는 간접물질 영향평가 허용기준을 나타내었다.

- 2) 또한, 잠재적 간섭물질 영향 시험을 실시 할 각 물질에 대하여, 다음과 같이 데이터 분석을 통해 각 시약 Lot에 대한 개별적 결과를 제시해야 한다(부록 C. [표 9] 잠재적 간섭물질 영향 평가표 참고).

- (1) 각 검체에 대하여 혈액응고 측정값의 평균 및 표준편차를 제시한다.

- (2) 시험군의 평균값과 대조군의 평균값의 차이를 제시한다.
- (3) 용량 반응 시험을 실시하는 경우, 성능 기준을 초과하는 간접 물질의 농도를 산정해야 한다.
- (4) 각 혼합물과 혼합물 조성에 사용된 두 가지 검체에 대하여 혈색소 측정값의 평균 및 표준편차를 산출해야 한다.
- (5) 허용가능성 기준을 초과하는 간접 물질 농도를 산출하고 그 결과를 사용설명서에 제시해야 한다.
- (6) 다음 정보를 연구 보고서에 포함시켜야 한다.
- 가. 잠재적 간접에 대하여 평가된 물질의 목록, 시험 농도 및 선정 근거
- 나. 상기에 제시된 잠재적 물질을 모두 평가하지 않은 정당한 근거
- 다. 다음을 포함하는 연구 결과 및 결론
- 간접 시험 농도
 - 각 검체의 혈액응고 기준 값
 - 용량 반응 평가를 실시한 경우에는 ‘부록 C’ [그림 2]와 같이 x축에 시험 물질 농도를 y축에는 시험 결과와 대조 결과 간의 차이를 도식화하고 최대 허용 간접 한계를 점선으로 표시한 결과의 도식적 표현

혈액응고시간분석기는 아래의 [표 18]에 제시된 시험항목을 적용한다. 다만, 제품의 특성에 따라 시험 항목은 변경될 수 있다.

[표 18] 혈액응고시간분석기의 평가 항목

순번	시험 항목		시험 개요 및 방법	비고
1	전기·기계적 안전에 관한 시험		전기·기계적 안전에 관한 공통기준규격의 별표 7 제외진단용 분석기기에 대한 전기·기계적 안전에 관한 공통기준규격을 따른다.	
2	전자파 안전에 관한 시험		의료기기의 전자파 안전에 관한 공통기준규격 및 IEC 61326-1, IEC 61326-2-6을 따른다.	
3	성능 시험	정밀도 시험	혈액응고시간분석기의 정밀성평가. 동일한 실험실에서 동일자가 일간 반복성 및 검사자간, 검사실 간, 기기/Lot 간 시험을 수행하여 측정결과를 확인한다.	
4		기기 간 동등성 시험	혈액응고시간분석기의 기준 장비와의 동등성을 평가하여 장비의 정확성을 측정한다.	
5		직선성 시험	혈액응고인자의 정량적 평가에 있어 직선성이 측정범위에서 안정적으로 나타나는지 확인하기 위한 목적이다.	

6		<p>검체 간 상호오염도 시험</p>	<p>이전 검체가 검사기 내에 잔존하여 검사에 영향을 미칠 수 있으므로 그 정도를 평가한다.</p>	
7		<p>잠재적 간섭물질 영향 시험</p>	<p>혈액응고시간분석기의 내·외인성 간섭물질 영향평가를 확인한다.</p>	

- [1] 「의료기기의 전기·기계적 안전에 관한 공통기준규격」 식품의약품안전처 고시 제 2015-115호
- [2] IEC 61010-1:2001 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control, and laboratory use - Part 1: General requirements
- [3] IEC 61010-2-101:2015 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use - Part 2-101: Particular requirements for in vitro diagnostic (IVD) medical equipment
- [4] IEC 61010-2-081:2015 Safety requirements for electrical equipment for measurement, control and laboratory use - Part 2-081: Particular requirements for automatic and semi-automatic laboratory equipment for analysis and other purposes
- [5] 「의료기기의 전자파 안전에 관한 공통기준규격」 식품의약품안전처 고시 제2015-6호
- [6] IEC 61326-1 Electrical equipment for measurement, control and laboratory use - EMC requirements - Part 1: General requirements
- [7] IEC 61326-2-6 Electrical equipment for measurement, control and laboratory use - EMC requirements - Part 2-6: Particular requirements - In vitro diagnostic (IVD) medical equipment
- [8] CLSI EP05-A3:2014 - Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline
- [9] CLSI EP06-A:2003 — Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach
- [10] CLSI EP15-A3:2014 — User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline
- [11] CLSI EP17-A2:2012 — Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline
- [12] CLSI H47-A2:2008 - One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test
- [13] CLSI H57-A:2008 - Protocol for the Evaluation, Validation, and Implementation of Coagulometers
- [14] CLSI guideline EP07-A2: Interference Testing in Clinical Chemistry, 2nd Edition

○ PT, INR

- 1) 일반적으로 프로트롬빈 시간(PT)은 경구 항응고 치료를 모니터하는 데 사용된다.
- 2) 세계보건기구(World Health Organization, WHO)에서는 국제 정상화 비율(International Normalized Ratio, INR)로 PT 값을 보고할 것을 권장한다.
- 3) INR은 다음 공식을 사용하여 국제 민감도 지수(International Sensitivity Index, ISI) 및 정상 환자의 프로트롬빈 시간 평균값(mean normal prothrombin time, MNPT)를 통해 계산된다.

$$INR = \frac{PT}{MNPT} \times ISI$$

- 4) 제조자가 각 트롬보플라스틴(thromboplastin) 로트에 대한 해당 ISI 값을 제공한다.
- 5) 그러나 검사실별 조건 및 특정 사용기기에 따라 ISI 값이 달라질 수 있다. 따라서 해당 지역에서 측정된 ISI를 사용할 것을 권장한다.
- 6) MNPT는 20명 이상의 건강한 성인을 대상으로 한 PT의 기하평균으로, 국제 혈전증·지혈학회(International Society on Thrombosis and Haemostasis, ISTH)의 규정을 준수한다.
- 7) PT Multi Calibrator는 6가지 레벨의 칼리브레이션용 혈장을 통해 시약을 사용하여 INR 및 Normal %를 계산하여 PT를 보고할 수 있는 기준 곡선을 설정할 수 있다.
- 8) 기준 곡선을 사용하면 환자 검체에 대해 직접 계산하는 Direct INR을 적용할 수 있다. (국소 INR 칼리브레이션, 칼리브레이션용 혈장 절차)
- 9) 지정된 값을 사용하여 다음과 같은 경우 PT-Multi Calibrator를 사용할 수 있다. Direct INR 곡선을 이용하여 PT INR을 보고하는 경우. 국소 INR 칼리브레이션)
- 10) PT Norm %를 보고하는 경우 또한 PT-Multi Calibrator를 사용하여 검사실별, 기기별, 시약별 ISI와 MNPT를 설정할 수 있다.

* 출처 : CLSI H57-A ‘Protocol for the evaluation, validation, and implementation of coagulometers; Approved Guideline’

1 혈액응고시간분석기 (Haematology analyser, thrombosis)

전혈에서 응고에 요하는 시간을 측정하는 기기로 정맥혈 또는 모세혈의 PT (Prothrombin Time)를 측정하여 레이저 광도계 등으로 광도를 측정한다.

2 응고인자 (Coagulation factor)

혈액응고를 만들어 내기 위해 상호작용하는 혈액혈장 구성요소들 중의 하나이다.

3 항응고제 (Anticoagulant)

혈액응고를 저해하는 물질의 총칭. 생리적인 것과 병적인 것이 있으며, 일반적으로 4종류로 분류된다.

- 1) 혈액에 첨가함으로써 응고를 저지하는 항응혈제
- 2) 혈액에 존재하는 활성형 혈액응고인자에 대한 혈액의 생리적 항응혈소
- 3) 병적 상태에서 후천적으로 출현하여 가역적, 비가역적으로 혈액응고인자의 활성을 억제하는 항응혈 물질
- 4) 경구 투여에 의해 응혈인자의 활성을 저해하는 항응혈 약제

4 혈소판 증가증 (Thrombocytosis)

체내에서 지혈에 중요한 역할을 하는 혈소판이 과생산되는 상태를 말한다. 보통 증상은 없으며, 심한 혈소판 증가증의 경우 혈관의 폐색과 순환부전에 의한 뇌경색 등의 증상이 발생할 수 있다.

5 혈소판 무력증 (Thrombasthenia)

혈소판의 수는 정상이나 기능에 이상이 있어 생기는 선천성 출혈성 질환을 말한다. 혈소판막단백질 IIb-IIIa(GP IIb-IIIa)의 결손 또는 질적 이상으로 혈소판 응집에 필요한 피브리노겐 수용체가 발현하지 않기 때문에 혈소판 응집이 일어나지 않고 출혈을 보이는 질환이다.

6 섬유소원 (Fibrinogen)

글로불린에 속하는 단백질로 섬유소원이라고도 한다. 척추동물의 혈장 속에 존재하며, 사람인 경우에는 1L 속에 2~4g 함유되어 있다. 혈액응고의 중심적 역할을 하며, 효소 트롬빈에 의하여 불용성인 피브린이 된다.

7 트롬보플라스틴 (Thromboplastin)

조직인자와 응고성 인지질을 포함한 시약(WHO 880); 비고 1 : 널리 상용화된 트롬보플라스틴들은 포유류의 조직들로부터 조제된 천연추출물이며, 그 속에는 조직인자가 미량성분 들어있으며 인지질을 포함하고 있다; 비고 2 : 첨가된 염화칼슘이 있든 없든 조직 추출물만을 구성한 의료용 트롬보플라스틴 함유제는 “무첨가의”로 일컬어진다. 조제된 물질이 흡수된 소혈청을 추가인자 V와 피브리노겐의 근원으로써 포함할 때, 이를 “혼합된”으로 지칭한다, 비고 3 : 트롬보플라스틴이 유래된 조직 근원(예 : 인간, 소, 토끼 뇌/폐 혹은 인체 태반)에 따라서 트롬보플라스틴은 여러 종류로 분류될 수 있다; 비고 4 : 재조합된 인간 트롬보플라스틴 시약들의 조직인자성분은 재조합된 DNA 기술로 대장균, 효모균, 곤충세포에서 만들어져서 체외에서 제거된다.

8 프로트롬빈 시간 (Prothrombin time, PT)

조직 트롬보플라스틴과 최적량의 염화칼슘이 표본에 추가된 후 혈장 표본에 섬유소 응괴가 형성되기까지의 소요시간(단위 : 초); 비고 1 : WHO에서는 PT를 다음과 같이

정의한다 : PT(조직인자 유발성 응고 시간)-트롬보플라스틴 제제와 적당량의 칼슘 이온이 존재할 때 혈장(또는 전혈) 표본의 응고시간(WHO 880); 비고 2 : ISO는 이 용어를 “트롬보플라스틴 시약 물질에 노출된 후 혈액 검체의 응고에 소요되는 시간”으로 정의하고 있다. (ISO 17593)

9 활성화부분트롬보플라스틴시간 측정법 (Activated partial thrombo-plastin time, aPTT)

적당 양의 염화칼슘과 부분 트롬보플라스틴 시약(인지질 및 접촉 활성화제)이 표본과 혼합된 후 섬유소가 응고하여 혈장 표본을 형성하는데 필요한 시간(단위 : 초); 비고 : APTT에서는 고유 응고 경로 및 공통 응고 경로를 측정한다.

10 국제정상화비율 (International normalized ratio. INR)

분석에 사용된 트롬보플라스틴의 역가에 대하여 표준화(또는 정규화)된 정상 집단(MNPT)에 대한 비율로 표시되는 환자의 프로트롬빈 시간(PT) 검사 결과(ISO/DIS 17593에서 개정); 비고 : $INR = (Plasma\ PT - rMNPT)^{ISI}$

11 국제민감도지수(International sensitivity index, ISI)

결합 트롬보플라스틴의 첫 번째 IRP(International Reference Preparation)에 관하여, 경구 항응혈제로 유발된 결합에 대한 프로트롬빈 시간 시스템에서 반응성의 정량적인 측정치(WHO 880); 비고 : 트롬보플라스틴/계측기에 고유한 ISI 및 generic ISI 참고

* 이 양식은 참고용이며, 제품에 맞게 재구성할 수 있음

1 정밀도 시험

[표 1] 정밀도 시험 검사 기록지

기기명				
검체	정도관리물질 level I			
날짜	오전		오후	
	1회	2회	1회	2회
1				
2				
.				
.				
20				

※ 비고 : 혈액검체 및 시약 당 1일간 4개의 측정결과를 얻으므로 20일간 80개의 측정결과를 얻게 된다. 변동계수 10% 내에서 95% 이상의 신뢰도를 갖는다.

[표 2] 정밀도 시험 결과 작성표

샘플		반복성	검사 간	일 간	합계
정상혼주혈장	Mean (sec)				
	SD				
	CV (%)				

※ 비고 : 각각의 CV% (변동계수)는 FDA와 CLIA에 따라 15% 이내로 허용기준을 삼는다.

1 정밀도 시험 - 재현성 시험

[표 3] 재현성 시험 검사 기록지

sample		정상혼주혈장														
day	Lot 1					Lot 2					Lot 3					
	R1	R2	R3	R4	R5	R1	R2	R3	R4	R5	R1	R2	R3	R4	R5	
1																
2																
3																
4																
5																

※ 비고 : 검체 당 1일간 3개의 Lot 시약으로 15개의 측정결과를 얻으므로 5일간 75개의 측정결과를 얻게 된다. 변동계수 10% 내에서 95% 이상의 신뢰도를 갖는다.

[표 4] 재현성 시험 결과 작성표

샘플		반복성	lot 간	일 간	합계
정상혼주혈장	Mean (sec)				
	SD				
	CV (%)				

※ 비고 : 각각의 CV% (변동계수)는 FDA와 CLIA에 방침에 따라 15% 이내로 허용기준을 삼는다.

2 기기 간 동등성 시험

[표 5] 기기 간 동등성 시험 검사 기록지

평가장비번호 및 lot번호	A		
	1 lot		
	측정값 (PT INR)		
검체 구간	검체번호	기준장비	평가장비
1	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
2	1		
	2		
	3		
·	·	·	·
·	·	·	·
	30		
3	1		
	2		
	3		
	4		
	5		

[표 6] 기기 간 동등성 시험 기록지

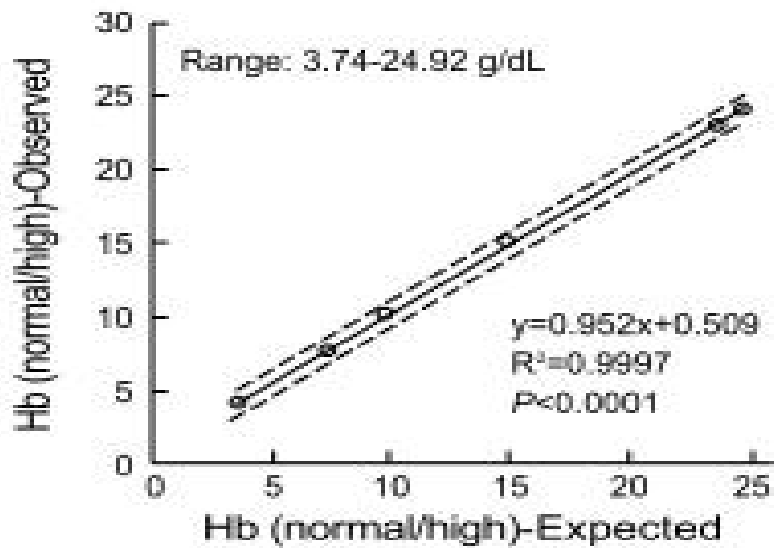
	결정 값	허용 기준(%)	하한 값	상한 값	기울 기	y절편	기댓값	결정여부
aPPT	35.0	15.0						허용
	45.0	15.0						허용
	90.0	15.0						허용

※ 비고 : Passing & Bablok 방식의 회귀분석을 사용해 구한 결정 값(Decision level)에서의 허용 기준(Expected Value)이 하한값(Low limit)과 상한값(High limit) 사이에 포함되어야 한다.

3 직선성 시험

[표 7] 직선성 시험 기록 제시 예

측정기기	A	
	측정 Fibrinogen 농도	Fibrinogen 예상 농도
1	500 mg/dL	500 mg/dL
2	373 mg/dL	375 mg/dL
3	250 mg/dL	250 mg/dL
4	124 mg/dL	125 mg/dL
5	0.1 mg/dL	0.0 mg/dL



[그림 1] 직선성 시험 예

※ 비고 : Passing & Bablok 방식의 회귀분석을 사용해 y절편(Intercept), 기울기(Slope), 상관계수(R^2) 값을 구하여 허용오차에 드는지 확인한다.

4 검체 간 상호오염도 시험

[표 8] 검체 간 상호오염도 시험 검사 기록지

횟수	H1	H2	H3	L1	L2	L3	L1-L3	H3-L3	(L1-L3)/(H3-L3) (%)
1									
2									
3									
4									
.									
10									

※ 비고 : 상호 오염도는 15% 미만이어야 한다.

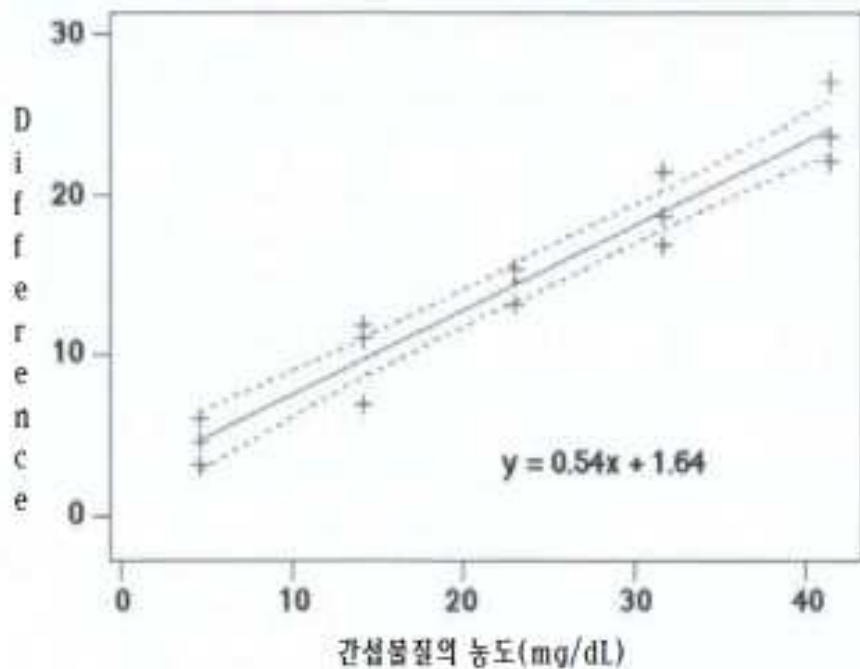
5 잠재적 간섭물질 영향 시험

[표 9] 잠재적 간섭물질 영향 시험 평가표

Data Sheet			
분석대상 (Analyte)	PT	간섭물질 (Test substance)	Bilirubin
농도 (Concentration)	12.0 sec	농도 (Concentration)	2 mg/dL
정밀도 (Precision (%))	1%	허용 한계 (Acceptable limit)	15%
계측기 (Instrument)	XN	시약번호 (Reagent Lot#)	B211234
기록 결과 (Record results)			
대조군(Control)		시험군(Test)	
C1		T1	
C2		T2	
계산값 (Calculate)			
	대조군(Control)		시험군(Test)
평균 (Mean)			
표준편차 (Std. Dev.)			
변동계수 (C.V)			
Bias			
초 (sec)			
%			

[표 10] 잠재적 간섭물질 영향 시험 결과 제시 예(PT 시약의 간섭 한계 농도)

분석물 (Assay)	Hemoglobin	Triglyceride	Bilirubin
PT	≤500 mg/dL	≤1000 mg/dL	≤50 mg/dL
Fibrinogen derived	≤500 mg/dL	≤600 mg/dL	≤50 mg/dL



- x축 : 시험하는 간섭물질의 농도
- y축 : 시험 결과와 대조 결과 간의 차이
- 점선 : 최대 허용 간섭 한계 (양 및 음의 한계)

[그림 2] 용량 반응 평가를 실시한 경우의 간섭물질 시험 결과 그래프 예

혈액응고시간분석기 안전성 및 성능 시험방법 가이드라인

발행일 2017년 3월

발행인 손여원

편집위원장 서경원

편집위원 박창원, 민혜경, 이인수, 유시형, 이승노, 김재영, 김보라

도움주신분 송재우

발행처 식품의약품안전평가원 의료제품연구부 의료기기연구과

본 가이드라인은 2016년도 식품의약품안전처의 연구개발사업 (혈액응고시간분석기의 평가 가이드라인 개발 연구, 16171미래평352)의 결과를 활용하였습니다.



363-700 충북 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187 오송보건의료행정타운

식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 의료기기연구과

TEL : 043) 719-4905 FAX : 043) 719-4900

<http://www.mfds.go.kr> (식품의약품안전처)

<http://nifds.go.kr> (식품의약품안전평가원)

“내가 지킨 청렴실천 모아지면 청렴사회”