



**분변잠혈 검사시약 성능평가  
시험방법 가이드라인  
(민원인 안내서)**

**2018. 2**



**식품의약품안전처  
식품의약품안전평가원**

**의료제품연구부 의료기기연구과**

## 지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭

분변잡혈 검사시약 성능평가 시험방법 가이드라인(민원인 안내서)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

<b>등록대상 여부</b>	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서·안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 : _____ )	
	<input type="checkbox"/> 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.		
<b>지침서·안내서 구분</b>	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(☞ <b>지침서</b> ) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예(☞ <b>안내서</b> ) <input type="checkbox"/> 아니오
<b>기타 확인 사항</b>	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
<p>상기 사항에 대하여 확인하였음.</p> <p>2018 년 2 월 7 일</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;"> <p>담당자 확 인(부서장)</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>이 승 노 김 미 정</p> </div> </div>		

본 안내서는 분변잠혈 검사시약 성능평가 시험방법에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식 ('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한 본 안내서는 2017년 12월 31일 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ "민원인 안내서"란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

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

전화번호: 043-719-4919

팩스번호: 043-719-4900



# 목 차

I. 서론 .....	1
1. 제품의 개요 .....	1
2. 품목 분류 체계 .....	3
3. 적용 규격 및 범위 .....	4
II. 용어 정의 .....	5
III. 성능평가 시험 항목 .....	10
IV. 성능평가 시험 방법 .....	11
1. 검체 및 시약 준비 .....	11
2. 민감도(판정기준치) .....	12
3. 민감도(최소검출한계) .....	15
4. 정밀도 .....	17
5. 특이도 .....	20
6. 상관성 .....	23
VI. 참고문헌 .....	26
VII. 붙임 .....	27
1. 검정성검사의 정밀도 평가 실시예 .....	27
2. 일치율 측정의 신뢰구간 산정 .....	28
3. 정성검사의 상관성 평가 실시예 .....	29
4. 간섭반응 및 교차반응 물질 예시 .....	31

# 서 문

식생활 문화의 서구화로 한국인에게서 대장암이 현저하게 증가하는 추세이며, 2014년 대장암은 전체 암 발생의 3위를 차지하였다. 우리나라에서는 2004년부터 국가암검진 사업을 통해 만 50세 이상 남녀에게 1년 간격으로 분변잠혈검사(FOBT, Fecal Occult Blood Test)를 실시하고 있으며, 조기에 암을 발견하여 빠른 치료를 통해 환자 생존율을 높이는데 기여하고 있다.

분변잠혈 검사시약(IVD reagents for fecal occult blood)은 사람의 분변에서 육안적으로 식별되지 않는 소량의 혈액을 검출하여 소화기관 내의 출혈 여부를 확인하는 체외진단용 의료기기로 대장암 선별을 위한 일차 검사로서 널리 이용되고 있다. 최근 인허가 신청이 급증하고 있으며, 미국 FDA 및 유럽의약청(EMA, European Medicines Agency)은 엄격한 프로토콜을 만들어 규제를 강화하고 있음에도 불구하고 관련 기준 및 가이드라인 등이 확립되지 않음에 따라 제조사별로 상이한 기준 및 방법 등을 통해 성능을 평가하고 있는 것으로 나타났다.

이에 식품의약품안전평가원에서는 검사비용이 저렴하고 검사시간이 신속하여 대장암 자가진단키트로 널리 사용되고 있는 면역크로마토그래피법을 이용한 분변잠혈 검사시약의 성능평가 가이드라인 개발을 통해, 국내 의료기기 제조업체 및 시험검사기관에 정보를 제공하고, 관련 체외진단 의료기기 산업의 기술 및 품질 향상에 기여할 목적으로 국제조화된 성능평가 기준 및 시험법을 제시하고자 한다.

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

## 1. 제품의 개요

### 가. 정의 및 구성

분변잠혈 검사(Fecal Occult Blood Test, FOBT)는 분변 내 존재하는 소량의 혈액을 검출하여 소화기관 내의 출혈 여부를 확인하는 검사로, 대장암을 조기 발견하여 사망률을 감소시킬 수 있음이 증명된 검사이다. 간단하고 비침습적이며 비용이 저렴하여 대장암 선별을 위한 일차 검사로서 널리 이용되고 있으며, 측정원리(방법)에 따라 크게 화학적 방법과 면역학적 방법으로 구분된다.

화학적 방법인 guaiac 법은 guaiac 이 포함된 종이가 산화 반응 시 청색으로 발색 되는 것을 확인하여 분변 내 존재하는 혈액소의 가성과산화효소(pseudoperoxidase)의 활성을 측정하는 검사이다. 이 방법은 과산화효소(peroxidase)를 포함하는 식이와 위장관 출혈을 유발할 수 있는 약물에 의한 위양성 반응 등의 문제로 인해, 검사 전에는 반드시 식이 제한 및 약물 섭취 등에 대한 조사가 이루어져야 하므로 국가암검진 사업에 사용하기에는 부적합한 것으로 알려져 있다.

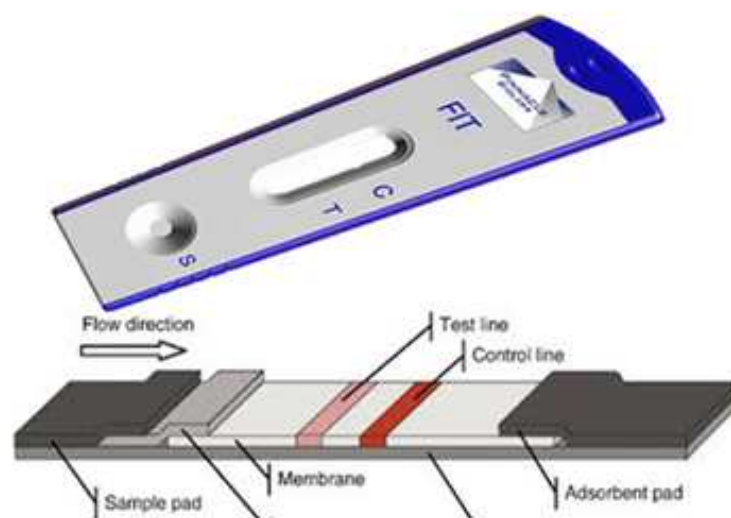
이러한 단점을 보완하기 위해 사람의 혈액소에 특이적인 항체를 이용하는 방법인 면역학적 방법 (Fecal Immunochemical Test, FIT)이 개발되었으며, 면역크로마토그래피법, 응집법을 이용한 정성검사 방법과 혼탁측정법 또는 비색법을 이용한 정량검사 방법으로 구분된다. 면역학적 방법을 이용한 검사는 식이 제한이 필요 없고 화학적 방법보다 민감도와 양성 예측도가 우수하여 최근에는 이를 이용한 분변잠혈 검사 시약 및 장비가 보편화되고 있다.

## 나. 면역크로마토그래피법을 이용한 분변잠혈 검사시약

면역크로마토그래피법 (Immunochromatographic Assay)을 이용한 분변잠혈 검사시약은 사람의 분변에서 혈색소를 면역크로마토그래피법으로 정성하여 소화기관 병변 진단에 도움을 주는 체외진단용 의료기기로, 기존 면역화학적 방법에서 수행하던 여러 단계의 발색과정을 금 콜로이드를 이용함으로써 별도의 장비나 추가 조작 없이 빠른 시간 내에 질병의 유무를 확인할 수 있다.

헤모글로빈에 대한 항체의 선택적인 결합을 이용하는 면역 반응과 모세관 현상으로 시료를 이동시키는 크로마토그래피법을 응용하며, 다음과 같은 원리로 측정된다.

- i) 금 콜로이드와 검사선(T)에 사람 헤모글로빈에 대한 특이 항체를 결합시켜 준비하고, 양성인 경우 금 콜로이드 접합체가 검체 중의 사람 헤모글로빈과 1차적으로 결합하여 항원-항체 복합체를 생성한다.
- ii) 이 복합체가 모세관 현상으로 멤브레인 위를 이동하면서 검사선에 고정되어 있는 항 헤모글로빈 항체와 결합하여 2차 항원-항체반응이 이루어지면서 육안으로 확인 가능한 적색 또는 보라색의 발색선이 나타난다.
- iii) 양성은 대조선과(C)과 검사선(T)에 색띠가 확인되는 것으로 판정한다.



[그림 1] 면역크로마토그래피법을 이용한 분변잠혈 검사시약

## 2. 품목 분류 체계

국내에서는 식품의약품안전처 고시 제2017-6호 「의료기기 품목 및 품목별 등급에 관한 규정」에 따라 ‘D03020.01. 분변잠혈검사시약’으로 분류되며, 대분류 ‘D. 체외진단용 시약’, 중분류 ‘D03000. 요 또는 분변 검사용 시약’에 포함된다.

[표 1] 분변잠혈 검사시약의 국내 품목 분류

품목분류 번호	품목명	등급	품목 설명
D03020.01	분변잠혈검사시약 IVD reagents for fecal occult blood	2	분변 잠혈 반응검사, 분변 혈색소 정량검사 등의 분변 잠혈 검사 시 사용되는 시약

미국 FDA의 의료기기 분류는 미국 연방규정집인 CFR 21 (Code for Federal Regulation) Parts 862-992에 따라 Class I, Class II, Class III의 3가지 등급으로 구분되며, 분변잠혈 검사시약에 해당하는 Reagent, Occult Blood 및 Guaiac, Reagent는 864 코드로 분류되어 있다. 분변잠혈 검사시약에 해당하는 국외 품목 분류는 [표 2]와 같다.

[표 2] 분변잠혈 검사시약의 국외 품목 분류

구분	품목분류 번호	품목명	등급	품목 설명
FDA	KHE / 864.6550	Reagent, Occult Blood	II	Occult Blood Test
	GGG / 864.6550	Guaiac, Reagent		
GMDN	54533	Fecal Occult Blood IVD, reagent	-	정성적, 정량적인 대변 검사를 통해 잠혈(헤모글로빈) 유무를 파악할 때, 특정한 기능을 담당하기 위해 상위 IVD와 함께 사용하는 물질 또는 반응물

### 3. 적용 규격 및 범위

분변잠혈 검사시약의 성능평가 대하여 [표 3]과 같이 국제진단검사표준 및 임상 검사실품질협회 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 체외진단용 의료기기 평가 방법의 성능평가를 권고하고 있다. 이에 따라 적용 가능한 기준 규격으로는 『CLSI EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance』, 『CLSI EP07-A2, Interference Testing in Clinical Chemistry』, 『CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures』를 성능평가 규격 설정 시 참고할 수 있다. 또한, 이외에도 제조자가 품질 요구사항에 충족함을 입증할 수 있는 경우에는 대체방법을 사용할 수 있다.

[표 3] 성능평가 적용 규격

발행기관	규격번호	규격명	발간일
Clinical and Laboratory Standards Institute	CLSI EP12-A2	<b>User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance</b> This document provides a consistent approach for protocol design and data analysis when evaluating qualitative diagnostic tests. Guidance is provided for both precision and method-comparison studies.	2008
	CLSI EP07-A2	<b>Interference Testing in Clinical Chemistry</b> This document provides background information, guidance, and experimental procedures for investigating, identifying, and characterizing the effects of interfering substances on clinical chemistry test results.	2005
	CLSI EP15-A3	<b>User Verification of Precision and Estimation of Bias</b> This document describes the estimation of imprecision and of bias for clinical laboratory quantitative measurement procedures using a protocol that can be completed within as few as five days.	2014
	CLSI EP17-A2	<b>Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures</b> This document provides guidance for evaluation and documentation of the detection capability of clinical laboratory measurement procedures (ie, limits of blank, detection, and quantitation), for verification of manufacturers' detection capability claims, and for the proper use and interpretation of different detection capability estimates.	2012

본 가이드라인은 정성적 측정방법인 면역크로마토그래피법을 이용한 분변잠혈 검사시약의 성능평가에 적용되며, 진단검사실에서 사용되는 정량분석용 분변 분석기 및 검사시약에 대한 평가에는 적용되지 않는다.

## II

## 용어 정의

본 장의 용어는 이해를 돕기 위해 사용되는 것이므로 단순 참고용이다.

### 항원 (Antigen)

생체 내 항체 생성을 유발하고 그들과 특이적으로 결합할 수 있는 물질

### 항체 (Antibody)

면역계 내에서 항원의 자극에 의하여 혈청이나 조직에 만들어지는 물질

### 항원결정인자 / 에피토프 (Antigenic determinant / epitope)

항원 분자 중 항체가 결합할 수 있는 모든 부위의 총칭으로 특정 항체군을 결정하는 부위의 화학적 구조

### 면역분석법 (Immunoassay)

분석물질에 결합 가능한 특이 항원이나 항체를 이용하는 리간드-결합 분석

- ☞ 항체를 사용하여 물질을 측정하는 검사법으로 면역분석법은 경쟁적 또는 비경쟁적, 고체상 또는 액체상, 동위원소 또는 비동위원소, 항원표지 또는 항체표지, 단일 또는 이중 부위, 균질적 또는 비균질적 방법일 수 있다.

### 정성분석 (Qualitative assay)

분석물질의 농도가 아니라 단지 분석물질이 있고 없음을 알려주는 검사 시스템

- ☞ 양성 검사 결과는 검사신호가 분석 역치를 넘는 것만을 의미하고 판단기준치(cut-off value)는 진단 민감도와 특이도의 인위적 조합에 의해 구해진다.

### 선별검사 (Screening test)

특정질환의 증상이 없어 의학적 주의를 받지 못하는 동물들 중에 해당질환의 고위험군을 발견하여 추가적인 관찰이나 직접적 예방 활동을 하기위한 체계적인 검사

### 진단검사 (Diagnostic test)

특정 질환의 진단, 예방, 치료 또는 개개의 환축에서의 건강이나 건강의 손상 정도를 평가하기 위한 목적

☞ 진단적 검체의 측정 또는 검사를 칭한다.

### 분석물질 (Analyte)

검사실이 수행하는 검사의 물질 또는 구성요소

### 대조물질 (Control / Control material)

체외진단용 시약의 성능을 확인하기 위해 제조된 물질(substance), 재료(material) 또는 물건(article)

### 진양성 결과 (True-positive result)

환축의 질병/보균 상태와 검사의 양성판정이 일치하는 결과

### 진음성 결과 (True-negative result)

환축의 질병/보균 상태와 검사의 음성판정이 일치하는 결과

### 위양성 결과 (False-positive result)

질병이나 증상이 없는 상태에서 이를 시사하는 양성검사 결과

### 위음성 결과 (False-negative result)

양성 환축이나 양성 검체에서의 음성검사 결과

### 신뢰구간 (Confidence interval)

평균, 분율, 비율 등의 변수의 참값이 정해진 확률 범위 내에서 분포할 것으로 예상되는 계산된 구간

## 상관계수 (Correlation coefficient)

측정된 데이터에 대한 두개의 무작위 변수의 공분산(covariance)과 그들의 표준편차의 곱의 비(ratio)

## 참고물질 (Reference material)

- 1) 하나 또는 그 이상의 특성값이 충분히 균일하고 기구의 보정, 측정방법의 평가 또는 물질에 값을 할당하기 위해서 사용되는 물질
- 2) 인증참고물질(CRM)은 기술적으로 입증된 과정에 의해 공인되었고 인증서나 다른 인증기관에 의해 발행된 서류가 있거나 추적 가능한 하나 또는 그 이상의 값을 갖는 참고물질
  - a) 인증참고물질(CRM)은 “인증서가 있는 참고물질로서 하나 또는 그 이상의 특성값이 절차에 따라 공인되며, 그 절차는 특성값이 표현되는 단위의 정확한 구현에 대한 추적을 할 수 있고, 그것에 대해 각 공인된 값은 신뢰의 명시된 수준에서의 불확실성과 함께한다” 라고 정의한다.
  - b) 표준참고물질(SRM)은 인증참고물질(CRM)의 한 이름으로서 과거에 국립표준원(NBS)으로 알려졌던 미국정부기관으로, 국립표준기술연구소(NIST)에 의해 인증되고 배포되는 인증참고물질의 상품명이다.

## 검출한계 (Limit of detection, LoD)

주어진 측정 방법에 의해 검출될 수 있는 분석물질의 최소량으로서 정성분석에 있어서 키트에서 양성으로 구분하는 측정 가능한 가장 낮은 농도

## 판정기준치 (Cut-off value)

정성검사에서는 경계치 이상을 양성으로, 경계치 미만을 음성으로 보고할 수 있는 경계값, 정량검사에서는 측정 결과가 임상적 또는 분석적 결정점(Decision point)의 위 또는 아래에 있는지(양성 또는 음성) 결정하는데 사용되는 측정물질의 정량값

## 역가 (Titer)

주어진 시스템에서 정해진 결과를 내는데 필요한 희석율에 상당하는 수치 또는 주어진 조건하에 방사표지 분석물질의 특정 백분율이 결합하는 항체의 희석율

☞ 역가는 주로 분석물질 농도에 비례

## 정밀도 (Precision)

규정된 조건 하에서 얻어진 독립적인 검사결과들 가운데 일치도의 근접성

☞ 정밀도는 전형적으로 수치로 표현되지 않지만 비정밀도는 반복 측정값 결과들의 ‘표준편차’ 또는 ‘변이계수’ 라는 용어로 정량적으로 표현

## 반복성 (Repeatability)

동일한 방법으로 동일한 측정대상을 같은 조건에서 비교적 짧은 시간에 반복 측정한 경우, 개개의 측정치가 일치하는 정도

## 재현성 (Reproducibility)

다른 측정조건에서 수행된 동일한 측정물의 결과값 사이의 일치도의 근접성

## 특이도 (Specificity)

측정하고자 하는 물질만 정확히 동정하거나 정량하고, 검체 내 다른 간섭현상이나 영향을 미치는 물질은 측정되지 않는 분석법의 능력

## 간섭 (Interference)

분석물질의 농도나 강도가 명백함에도 검출시약이나 신호 자체에 비특이적으로 반응하는 물질의 존재로 인해 일어나는 인위적인 증가나 감소

☞ 검출 시스템의 비특이성에서 기인하기도 하고, 반응지시약 반응의 억제, 분석 대상의 억제 또는 검체에 의해 발생하는 바이어스의 다른 원인에 기인하기도 함

## 교차반응 (Cross-reactivity)

항원 이외에 공유되었거나, 유사한 또는 동일한 항원결정기를 가진 항원과 항체가 반응하는 현상

## 정확도 (Accuracy)

측정치와 참값 사이의 일치도

- ☞ 평가대상 검사법에 의한 다수의 연속적인 결과값들에서 얻은 평균값과 공인된 참고값 (accepted reference value) 사이의 일치 근접도(closeness of agreement)

## 비정밀도 (Imprecision)

특별한 조건 하에서 얻어진 측정값의 독립적 결과들의 분산

- ☞ 표준편차나 변이계수 등의 숫자로 표시

## 비특이도 (Nonspecificity)

분석하려는 물질 외에 다른 물질과 항원이 반응하는 정도

- ☞ 비특이도는 보통 분석물질이 아닌 물질에 결합하고, 반응하는 항체, 효소, ionophore, 시약에 의해 발생한다.

## 임상적 민감도 (Clinical sensitivity)

특정질환을 가지고 있는 사람들 중 검사 결과가 양성으로 나오는 비율

## 임상적 특이도 (Clinical specificity)

특정질환을 가지고 있지 않은 사람들 중 검사 결과가 음성으로 나오는 비율

### Ⅲ

## 성능평가 시험 항목

분변잠혈 검사시약의 성능에 관한 평가는 본 가이드라인에서 제시한 평가 항목 및 시험 방법을 따르며, 성능에 관한 시험 항목별 기준, 적용 규격 및 방법은 [표 4]와 같다. 단, 제품의 특성에 따라 시험 항목은 변경될 수 있으며, 판정기준치 또는 최소검출한계 측정을 통해 민감도를 평가할 수 있다.

[표 4] 분변잠혈 검사시약의 성능에 관한 평가 항목

순번	시험 항목	시험 내용	관련 규격
1	민감도	[판정기준치] <ul style="list-style-type: none"> <li>· 정성검사에서 사용되는 역치</li> <li>· 동일 샘플 반복 측정 시, 50%는 양성, 50%는 음성을 보이는 분석물질의 농도 측정</li> </ul>	CLSI EP12-A2
		[최소검출한계] <ul style="list-style-type: none"> <li>· 주어진 측정 방법에 의해 검출될 수 있는 분석물질의 최소량</li> <li>· 최소검출한계 근처 농도에서 최소 20번 이상 반복 측정 시 95% 검출율을 보이는 최저 농도 측정</li> </ul>	CLSI EP17-A2
2	정밀도	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 판정기준치 근처 분석물질의 농도 검증</li> <li>· 규정된 조건하에서 얻어진 측정 결과 간의 일치도 평가</li> </ul>	CLSI EP12-A2
3	특이도	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 동물 헤모글로빈, 식이 물질, 약물 및 화장실 용수 등의 간섭반응 및 교차반응 물질에 대한 영향평가</li> </ul>	CLSI EP07-A2
4	상관성	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 검사법 간 비교를 통해 측정값 간 동등성을 분석하기 위한 시험</li> </ul>	CLSI EP12-A2

# V

## 성능평가 시험 방법

본 장에서는 분변잠혈 검사시약의 성능평가를 위한 시험 항목별 시험 방법에 대해 상세히 설명하고자 한다. 단, 아래에서 제시하는 성능시험 방법 이외에도 제조자가 품질 요구사항을 충족함을 입증할 수 있는 경우에는 대체방법을 사용할 수 있다.

### 1. 검체 및 시약 준비

#### 1) 검체의 준비

- ① 분변검체 : 사람의 신선한 분변을 검체로 사용한다.
- ② 혈액검체 : 농축적혈구 혹은 측정대상이 되는 검체와 동일한 기질 혹은 호환되는 기질의 검체를 사용한다.
- ③ 정도관리물질 및 표준물질 : 상용화된 혹은 제조사에서 공급하는 정도관리물질 및 표준물질을 이용한다.

[표 5] 검체의 준비 예시



#### [참고] 분변검체 채취 및 주의사항

- ㉠ 월경 또는 3일 전에는 검체를 채취하지 않고, 치질 또는 혈뇨가 있는 환자의 경우 위양성의 결과가 나타날 수 있으며, 검사 2일 전에는 과도한 음주 또는 아스피린과 같은 약물 과용은 소화관의 출혈을 야기할 수 있으므로 주의하여야 한다.
- ㉡ 검체를 여러 번 동결·해동시킬 시 위음성 또는 위양성을 초래할 수 있으며, 상온에 오래 보관된 검체는 미생물 오염 등으로 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 사용하지 않는다.
- ㉢ 채취한 검체는 신선한 상태에서 신속하게 검사하고, 나머지 검체는 4℃에서 보관한다.
- ㉣ 사람의 신선한 분변을 검체로 사용하고, 분변 채취는 채변봉으로 분변의 표면과 내부를 폭넓게 문지르거나, 여러 위치를 깊게 찌러서 채변봉의 끝부분에 채취한다.

#### 2) 시약의 준비

면역크로마토그래피법을 이용한 정성분석용 검사시약을 준비한다.

## 2. 민감도 (판정기준치, cut-off value)

### 1) 시험 목적

정성검사에서 사용되는 역치<sup>1)</sup>

### 2) 적용 규격

「CLSI EP12-A2」 User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, 2<sup>nd</sup> Edition

### 3) 시험 조건

#### ① 검체의 준비

농축적혈구 또는 측정 대상이 되는 검체와 호환되는 기질의 검체를 이용한다.

#### ② 장비 및 시약의 준비

분변잠혈 검사시약, 혈구계산기를 준비한다.

[표 6] 검체, 장비 및 시약의 준비 예시



1) 정성적 검사에 대하여 결과가 양성으로 보고되는 값이며 결과가 음성으로 보고되는 값 미만인 역치

구 분	의학용어집	진단검사 의학용어집	정 의
cut-off (point, value)	결정점	(판정) 기준치	1) 정성검사에서 이하는 음성으로, 이상은 양성으로 해석하는 검사결과의 포인트 NOTE: 정성검사에서 컷오프는 의학적 결정 포인트이다. 이분된 정성 또는 일반적인 범위로 해석되는 정성검사에서는 컷오프를 선택할 수도 있다. 2) 같은 샘플을 여러 번 반복 측정할 때 50%는 음성 50%는 양성을 보이는 분석물질 농도.

2) A22060.01 혈구계산기 [1] Haematology analyser, cell-quantifying, manual 혈액 내 백혈구, 적혈구, 혈소판 등을 계수하는 기구. 수동식, 전기식, 광학식계수법이 있다

#### 4) 시험 방법

① 분변잠혈 검사시약, 검체 및 희석액을 준비한다.

\* 비고 : 모든 검체와 시약은 시험 시작 30분 전에 실온에 두어 실온화(18~23℃) 시키고, 검사용 디바이스는 사용 전까지 은박과우치 또는 포장지를 개봉하지 않는다.

② 준비된 검체를 추정되는 판정기준 전후의 농도 값을 포함하여 최소 5단계 이상 희석한다.

③ 단계 희석한 각 검체를 검사시약을 이용하여 분변잠혈 검사를 실시한다.

㉠ 검사용 디바이스를 건조하고, 편평한 곳에 둔다.

㉡ 분변 검체가 추출된 검체희석병의 아래 뚜껑을 열어 검사용 디바이스의 검체 점적 부위에 2~3 방울(약 100 $\mu$ l)을 떨어뜨린다.

㉢ 검체 적하 후 검체용 패드에 완전히 스며든 다음 반응판의 마지막까지 확산 될 때까지 기다린다. 3~10분후 대조선(C)이 완전히 변하게 되면 즉시 판독한다.

\* 비고 : 검사 개시 10분 이후 나타나는 결과는 판정에 포함시키지 않는다.

④ 최소 40개 이상의 검사시약을 이용하여 ③번 단계를 반복한다.

⑤ ④번 단계에서 총 40회 중 양성 횟수가 14~26회(35%~65%)이면 준비한 C<sub>50</sub> 농도가 적절한 것으로 판단하여 정밀도 평가를 수행한다.

⑥ ⑤번 단계에서 양성 횟수가 13회 이하이거나 27회 이상일 경우 준비한 C<sub>50</sub> 농도가 부적절한 것으로 판단하여, 새로운 검체를 준비하여 ②~⑤번 단계를 반복한다.

[참고] CLSI EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance(2008)

<반복 측정 횟수>

- 통계적 신뢰도를 고려하여 선정한 횟수로, 측정 횟수를 40회 이하로 평가할 수 있다.
- 단, 측정 횟수를 40회 이하로 성능평가를 수행할 경우, 이에 대한 통계적 신뢰도를 확보해야 한다.

<컷오프(Cutoff)에 근접한 피분석물 농도>

- 제조사는 임상적 민감도와 특이도에 기반을 두어 판정기준치 농도를 수립하는 것을 권장하며, 결정된 판정기준치는 사용자가 변경할 수 없다.
- 정확한 컷오프 농도의 검체를 이용하여 일련의 다수 반복 평가를 실시하는 경우, 해당 평가의 50%는 음성, 50%는 양성으로 판독된다. 하지만 실험실마다 피분석물 농도가 컷오프에 인접하여 다소 다를 수 있으므로, 본 안내서에서는 각 실험실에 대한 다소 다른 피분석물 농도를 C<sub>50</sub>으로 정의한다.

## 5) 결과 제시

- ① 판정기준치는 ng/ml로 표기하는 것을 권장한다.
- ② 정성검사에서는 민감도 평가를 위해 검출한계(Limit of Detection, LoD) 또는 배경한계(Limit of Blank, LoB)로 대신할 수 있으나 검증자료를 제시하여야 한다.
- ③ 측정항목, 측정원리, 판독방법 등에 따라 판정기준치의 설정 방법이 달라질 수 있으므로 전문가 그룹의 자문 등을 거칠 것을 권장한다.
- ④ 관련 규격을 적용할 수 없는 경우, 제조원에서 설정한 측정범위를 증빙하기 위한 평가방법 및 기준을 제시하여야 한다.

### 3. 민감도 (최소검출한계, Limit of Detection)

#### 1) 시험 목적

측정 방법에 의해 검출될 수 있는 분석물질의 최소 농도

#### 2) 적용 규격

「CLSI EP17-A2」 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, 2<sup>nd</sup> Edition

#### 3) 시험 조건

##### ① 검체의 준비

농축적혈구 또는 측정 대상이 되는 검체와 호환되는 기질의 검체를 이용한다.

##### ② 장비 및 시약의 준비

분변잠혈 검사시약, 혈구계산기를 준비한다.

[표 7] 검체, 장비 및 시약의 준비 예시



#### 4) 시험 방법

##### ① 분변잠혈 검사시약, 검체 및 희석액을 준비한다.

\* 비고 : 모든 검체와 시약은 시험 시작 30분 전에 실온에 두어 실온화(18~23℃) 시키고, 검사용 디바이스는 사용 전까지 은박과우치 또는 포장지를 개봉하지 않는다.

##### ② 준비된 검체를 추정되는 검출한계 전후의 농도 값을 포함하여 최소 5단계 이상 희석한다.

- ③ 검사시약을 이용하여 분변잠혈 검사를 실시한다.
  - ㉠ 검사용 디바이스를 건조하고, 편평한 곳에 둔다.
  - ㉡ 분변 검체가 추출된 검체희석병의 아래 뚜껑을 열어 검사용 디바이스의 검체 점적 부위에 2~3 방울(약 100 $\mu$ l)을 떨어뜨린다.
  - ㉢ 검체 적하 후 검체용 패드에 완전히 스며든 다음 반응판의 마지막까지 확산 될 때까지 기다린다. 3~10분후 대조선(C)이 완전히 변하게 되면 즉시 판독한다.
- \* 비고 : 검사 개시 10분 이후 나타나는 결과는 판정에 포함시키지 않는다.
- ④ 단계 희석한 각 검체별로 최소 2회 이상 반복 측정한다.
- ⑤ 최소검출한계 근처 농도에서는 측정 횟수를 증가시켜 최소 20회 이상 반복 측정하여 95% 이상 양성 판독율을 나타내는 헤모글로빈 농도를 제시한다.
- ⑥ 검출한계에 영향을 줄 수 있는 여러 변수를 고려하기 위해 검사일은 3일 이상, 측정 시 2번 이상 반복 검사를 권장한다.

[참고] CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (2012)

<시험 프로토콜>

- 최소검출한계는 극소량의 검체를 검사하여 질병의 존재 여부와 독소, 오염 및 발암 물질의 유무를 판별하기 위해 사용되고 있다.
- 측정 방법에는 classical, precision profile 및 probit 접근법이 있으며, 전통적인 방법의 경우 화학 및 면역화학 측정 과정에 널리 사용되고 있다.
- pobit 접근법은 검출율(전체 반복 시험 중 양성 횟수)로 평가되는 측정 절차에 유용하다.

<probit 접근법에 따른 최소 시험설계>

- 준비된 양성검체를 추정되는 검출한계 전후의 농도 값을 포함하여 최소 5단계 이상 희석하여, 각 검체당 하루에 20회 이상 반복 측정하는 것을 권장한다.

검사일	반복 횟수	검사시약 로트	양성검체
3일	20회	2종	3종

- 제조자는 충분한 수의 측정 결과를 제공하기 위해 최소 시험설계 항목별 요소 및 횟수 등을 추가/확장할 수 있다.

## 5) 결과 제시

- ① 민감도 평가를 위해 판정기준치 대신 최소검출한계로 대신할 수 있으나 검증 자료를 제시하여야 한다.
- ② 통계적으로 유효한 검출 한계치와 설정에 사용된 검체 종류, 검체 수, 반복 횟수, 계산법 등을 함께 제시한다.

## 4. 정밀도

---

### 1) 시험 목적

컷오프에 근접한 피분석물 농도에 대한 정밀도 평가

### 2) 적용 규격

「CLSI EP12-A2」 User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, 2<sup>nd</sup> Edition

### 3) 시험 조건

#### ① 검체의 준비

- ㉠ 상용화된 또는 제조사에서 공급하는 정도관리물질 및 표준물질을 이용한다.
- ㉡  $C_{50}^{3)}$  및  $C_{50} \pm 20\%$  농도의 검체 3종을 준비한다.

#### ② 장비 및 시약의 준비

분변잠혈 검사시약, 혈구계산기를 준비한다.

[표 8] 검체의 준비 예시

---

(1)  $C_{50}$  농도의 검체를 준비한다.

(2)  $C_{50}$  에서 +20% 이상 및 -20% 이하\* 농도의 검체를 각각 준비한다.

\*  $\pm 20\%$ 는 기준으로 잡은 범위이므로 경우에 따라 변경 가능하다.

(3) 동일 검체에서 최소 40회\* 이상 검사를 수행하기 위해 충분한 양의 검체를 준비한다.

\* 통계적 신뢰도를 고려하여 선정한 횟수로, 측정 횟수를 40회 이하로 평가할 수도 있다.

단, 측정 횟수를 40회 이하로 성능평가를 수행할 경우, 이에 대한 통계적 신뢰도를 확보해야 한다.

---

---

3)  $C_{50}$ 은 동일 샘플을 반복 측정 시 50%는 양성, 50%는 음성을 보이는 분석물질의 농도로, 판정기준치 기준 및 평가방법에 따라 확인된  $C_{50}$  및  $C_{50} \pm 20\%$  농도의 검체 3종을 준비하여 정밀도 평가를 실시한다.

#### 4) 시험 방법

- ① 분변잠혈 검사시약 및 검체( $C_{50}$ ,  $C_{50} +20\%$ ,  $C_{50} -20\%$ ) 3종을 준비한다.  
\* 비고 : 모든 검체와 시약은 시험 시작 30분 전에 실온에 두어 실온화(18~23°C) 시키고, 검사용 디바이스는 사용 전까지 은박과우치 또는 포장지를 개봉하지 않는다.
- ②  $C_{50}$  검체를 검사용 디바이스의 점적 부위에 2~3 방울(약 100 $\mu$ l)을 떨어뜨린다.
- ③ 검체 적하 후 검체용 패드에 완전히 스며든 다음 반응관의 마지막까지 확산될 때까지 기다린다. 3~10분후 대조선(C)이 완전히 변하게 되면 즉시 판독한다.  
\* 비고 : 검사 개시 10분 이후 나타나는 결과는 판정에 포함시키지 않는다.
- ④ 최소 40개 이상의 검사시약을 이용하여 ②~③번 단계를 반복한다.
- ⑤ 총 40회 중 14~26회(35-65%)가 양성이면 준비한  $C_{50}$  검체가 적절한 것으로 판단하여  $C_{50} \pm 20\%$  검증 단계로 넘어간다.
- ⑥  $C_{50} \pm 20\%$  검증 단계 역시  $C_{50} \pm 20\%$  검체 각각을 40회 측정된 결과 양성(음성) 횟수가 36회(90%) 이상일 경우  $C_{50} -20\% \leq C_5 - C_{95}$  구간<sup>4)</sup>  $\leq C_{50} +20\%$  임이 검증된 것으로 판단할 수 있다.
- ⑦ ⑥번 단계에서 음성(양성) 횟수가 35회 이하일 경우  $C_{50} -20\%$ ( $C_{50} +20\%$ )보다 더 낮은(높은) 농도의 검체를 준비하여 정밀도를 평가한다.

[참고] CLSI EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test (2008)

< $C_{50}$  근접 농도에 대한 정밀도 평가 분석 - 일반사항>

- ① 본 안내서에서는 정밀도를 “규정된 조건하에서 얻어진 측정 결과 간의 일치도”로 정의한다. 정밀도는 수치적인 값을 가질 수 없으나 높음, 중간, 낮음으로 정성적으로 결정되어도 된다.
- ② 판정기준치 부근의 정밀도에 영향을 미치는 원인은 검사법마다 다르며, 검체 종류 또는 검체의 운송, 저장조건, 검사자, 주변온도, 로트 간 변동, 상이한 준비작업, 판독시간 등이 포함될 수 있다.
- ③ 양성 및 음성 결과의 비율이  $C_{50}$  부근의 실제 분석물질 농도의 함수로써 변화가 기대되는 방법을 보여주는 비정밀도 곡선을 이용하여 정밀도 평가가 가능하다.  $C_5$  미만의 농도를 가진 검체에 대한 반복된 결과는 일관되게 음성일 것이며,  $C_{95}$  초과 농도를 가진 검체에 대한 반복된 결과는 일관되게 양성일 것이다.  $C_5 - C_{95}$  구간이나 일관된 양성 또는 음성 결과에 요구되는 농도 범위를 정의할 수 없으나 그 범위가  $C_{50}$ 으로부터 규정된 농도(예시  $\pm 20\%$ ) 이내이거나 바깥인지 여부를 확인하여 정성검사의 정밀도를 평가할 수 있다.

#### 4) 『 $C_5 - C_{95}$ 구간』이란? 결정치(cutoff) 부근의 분석물질 농도 범위

- 이 구간 밖의 관측 결과는 일관되게 음성(농도( $C_5$ ))이거나 양성(농도( $C_{95}$ ))을 보이며, 이 구간 안쪽 농도에서의 관측치는 비정밀도로 인해 일관된 결과를 기대할 수 없음
- 알파벳 C는 농도(concentration)를 나타내며, 아래첨자(5, 50 또는 95)는 양성인 결과의 백분율을 의미

<C<sub>50</sub> 근접 농도에 대한 정밀도 평가 분석 - 평가절차>

① 준비된 C<sub>50</sub> 은 정확한가?

- 40회 반복 검사 중 14개에서 26개의 양성 결과(35%~65%)가 관찰되었다면, 준비된 C<sub>50</sub> 은 타당하다고 결론지을 수 있다.

② -20%에서 +20% 농도 구간이 C<sub>5</sub>-C<sub>95</sub> 구간을 경계로 하고 있는가?

- 만일 +20%의 검체 농도에서 양성 결과가 36/40(90%) 이상이고, -20% 검체 농도에서 음성 결과가 36/40(90%) 이상이라면, +20%에서 -20% 농도 범위가 C<sub>5</sub>-C<sub>95</sub> 구간을 포함한다는 결론에 모순되지 않는다. 즉, C<sub>50</sub> 으로부터 20% 농도 차이를 보이는 검체들이 일관된 결과를 나타내는 것을 기대할 수 있다.

5) 결과 제시

- ① 세 가지 검체를 최소 40개 이상의 검사시약을 이용하여 평가하고 각각의 검체에서 양성 및 음성 결과의 비율을 결정한다.
- ② 정성검사의 경우 검체별 결과 일치율을 %로 기재한다.
- ③ 검체를 준비하거나 정밀도 시험 설계 시, 검토대상 후보방법에 고유한 변동원을 고려하여 이를 시험에 포함시켜야 한다. 이러한 변동원의 일부에는 평가에 포함된 검사실 수, 검사자 수, 수행일 수, 수행 횟수, 장비 수, 보정 간격 수, 보정물질 및 시약 lot 개수 등이 포함될 수 있다.

## 5. 특이도

### 1) 시험 목적

측정하고자 하는 물질만 측정되고 검체 내 다른 물질은 측정되지 않는 분석법의 능력

### 2) 적용 규격

「CLSI EP07-A2」 Interference Testing in Clinical Chemistry, 2<sup>nd</sup> Edition

### 3) 시험 조건

#### ① 검체의 준비

- ㉠ 측정대상이 되는 검체와 동일한 기질 또는 호환되는 기질의 검체를 이용한다.
- ㉡ 간섭물질을 혼합하거나 임상검체 중 간섭물질의 농도가 높은 검체를 이용한다.

#### ② 장비 및 시약의 준비

- ㉠ 분변잠혈 검사시약
- ㉡ 혈구계산기

#### ③ 간섭반응 및 교차반응 물질

- ㉠ 간섭반응 및 교차반응 물질은 내부 또는 외부 요인일 수 있고 측정법에 따라 다양하므로, 결과에 영향을 미칠 것으로 예측되는 물질에 대한 특이도 반응을 고려한다.

[참 고] Guidance for Industry and FDA Staff - Review Criteria for the Qualitative Assessment of Fecal Occult Blood In Vitro Diagnostic Devices (2007)

- 제조자는 면역학적으로 관련된 물질이 시험을 방해하지 않는다는 것을 증명할 것을 권고
- 돼지, 닭, 말, 토끼, 염소, 양, 생선 등의 헤모글로빈을 이용한 특이도 평가 시 양성 반응을 나타낼 경우, 포장 삽입물의 주의사항에 검사 전 해당 음식을 섭취하지 않도록 경고할 것을 권고
- 제조사는 화장실 용수에서 흔히 발견되는 잠재적 간섭 여부를 확인하기 위해 화장실 용수를 이용한 특이도 평가를 수행할 것을 권장

- ㉡ 분변잠혈 검사시약의 특이도 평가를 위한 간섭반응 및 교차반응 물질이 명확히 제시되지 않아, 국내외 가이드라인, 허가증 등을 참고하여 성능평가가 필요한 물질을 선별하였으며, [표 6] 과 같이 선정된 물질에 대한 간섭반응 및 교차반응 여부를 평가할 것을 권장한다.

[표 9] 간섭반응 및 교차반응 물질 예시

구분	물질	시험 내용	비고
교차 반응	동물 헤모글로빈 및 조직	돼지, 소, 닭, 말, 토끼, 염소, 양, 생선 등의 동물 헤모글로빈 및 조직에 의한 교차반응 여부 평가	
간섭 반응	식이, 약물	과산화효소(oxidase)를 포함하는 식이물질과 위장관 출혈을 유발할 수 있는 아스피린, 비스테로이드성 항염증제와 같은 약물에 의한 위양성 또는 비타민 C 복용에 의한 위음성 반응 여부 평가	
	화장실 용수	화장실 용수 및 오염물질에 대한 간섭반응 여부 평가	

#### 4) 시험 방법

① 분변잠혈 검사시약, 검체 및 희석액과 간섭반응 및 교차반응 물질을 준비한다.

\* 비고 : 모든 검체와 시약은 시험 시작 30분 전에 실온에 두어 실온화(18~23°C) 시키고, 검사용 디바이스는 사용 전까지 은박과우치 또는 포장지를 개봉하지 않는다.

② 동일 검체를 반으로 나누어 시험검체(T) 및 대조검체(C)를 제조한다.

㉠ 시험검체를 제조하기 위해, 간섭물질 용액을 검체에 첨가한다.

㉡ 대조검체를 제조하기 위해, 간섭물질을 용해하기 위해 사용된 동일한 부피의 희석액을 검체에 첨가한다.

[표 10] 시험검체 및 대조검체 준비의 예시

구분	검체	비고
양성검체	[시험검체] 양성검체 + 간섭/교차반응 물질	
	[대조검체] 양성검체 + blank 물질	
음성검체	[시험검체] 음성검체 + 간섭/교차반응 물질	
	[대조검체] 음성검체 + blank 물질	

③ 특이도 평가를 위해 시험검체(T)와 대조검체(C)를 교대로 최소 3회 이상 반복 측정한다.

④ 시험검체(T)와 대조검체(C)의 결과를 비교한다.

[참고] CLSI EP07-A2, Interference Testing in Clinical Chemistry (2005)

<간섭 시험 농도>

- 간섭반응 및 교차반응 물질의 농도는 임상적으로 나타날 수 있는 고농도를 사용할 것을 권장한다.
- 양성 및 음성 효과는 서로 다른 메카니즘에서 발생할 수 있기 때문에 각 물질은 두 가지 서로 다른 농도에서 최소 3회 이상 반복 시험하는 것을 권장한다.

## 5) 결과 제시

- ① 간섭 및 교차반응은 측정항목, 측정원리, 검체 유형, 처리시약 등에 따라 다양하므로 해당 검사 결과에 영향을 줄 수 있는 인자에 대해 검토하고 자료를 제시한다.
- ② 간섭 및 교차반응이 확인된 물질의 경우 해당 물질의 종류, 구체적 농도 및 결과 차이를 제시하고, 이를 주의사항에 반드시 기록하여야 한다.
- ③ 고농도의 간섭물질에 영향을 받지 않는 경우 더 이상의 평가를 시행하지 않아도 되고, 영향을 받는 경우에는 간섭물질의 농도에 따른 영향을 평가하기 위해 용량-반응 검사(dose-response test)를 실시하는 것을 권장한다.

## 6. 상관성

### 1) 시험 목적

검사법 간 비교를 통해 측정값 간의 동등성을 분석하기 위한 시험

### 2) 적용 규격

「CLSI EP12-A2」 User Protocol for Evaluation of Qualitative Test, 2<sup>nd</sup> Edition

### 3) 시험 조건

#### ① 검체의 준비

- ㉠ 신선한 분변검체를 연령대나 성별의 구분 없이 고르게 분포하도록 선별 수집하고, 모든 검체는 2시간 이내에 평가 검사 및 참고 검사를 통해 상관성 평가를 실시한다.
- ㉡ 민감도를 비교하기 위한 최소한 50개의 양성 검체 및 특이도를 비교하기 위한 최소한 50개의 음성 검체가 포함되어야한다.

[표 11] 검체의 준비 예시

[고형 분변] 검체희석병 상캡에 부착된 검체채취봉으로 검사하고자 하는 분변의 서로 다른 위치를 찍어서 분변(15~20mg)을 충분히 채취한다.

[액상 분변] 검체희석병 상캡에 부착된 검체채취봉을 검사하고자 하는 분변에 충분히 적신다.



#### ② 장비 및 시약의 준비

분변잠혈 검사시약, 참고 검사용 장비 혹은 시약(예를 들어 면역학적 정량 분석용 분변분석기, 정성분석용 검사시약 등)을 준비한다.

#### 4) 시험 방법

① 분변잠혈 검사시약, 참고 검사용 장비(혹은 시약) 및 분변검체를 준비한다.

\* 비고 : 모든 검체와 시약은 시험 시작 30분 전에 실온에 두어 실온화(18~23℃) 시키고, 검사용 디바이스는 사용 전까지 은박과우치 또는 포장지를 개봉하지 않는다.

② 분변용기 뚜껑에 부착되어 있는 채변 스틱으로 농, 혈액, 점액이 많은 부위를 택하여 분변의 5~6개소를 찢어서 강낭콩 크기 정도의 분변을 채취한다.

③ 참고 검사용 장비(혹은 시약)를 이용하여 참고 검사를 실시한다.

\* 비고 : 해당 제품과 측정원리 및 항목이 유사한 기허가 제품을 선정하여 상관성 평가를 실시한다.

④ 면역크로마토그래피법을 이용한 분변잠혈 검사시약을 이용하여 평가 검사를 실시한다.

㉠ 검사용 디바이스를 건조하고, 편평한 곳에 둔다.

㉡ 분변 검체가 추출된 검체희석병의 아래 뚜껑을 열어 검사용 디바이스의 검체 점적 부위(S)에 2~3 방울(약 100 $\mu$ l)을 떨어뜨린다.

㉢ 검체 적하 후 검체용 패드에 완전히 스며든 다음 반응판의 마지막까지 확산 될 때까지 기다린다. 3~10분후 대조선(C)이 완전히 변하게 되면 즉시 판독한다.

\* 비고 : 검사 개시 10분 이후 나타나는 결과는 판정에 포함시키지 않는다.

⑤ 모든 검체는 2시간 이내에 참고 검사(③번 단계) 및 평가 검사(④번 단계)를 실시한다.

⑥ 최소 10~20일 동안 ①~⑤번 단계를 반복 수행한다.

⑦ 상관성을 평가하기 위한 최소한의 지침으로, 50개의 양성 및 음성 검체가 얻어질 때까지 검사를 지속할 것을 권장한다.

## 5) 결과 제시

- ① 참고 검사와 평가 검사 간 결과 비교를 통해 측정값 간 일치율을 평가한다.
- ② [표 12]와 같이 2 X 2 분할표를 이용하여 총 일치율, 양성 및 음성 일치율을 제시한다.

- 총 일치율 =  $100 \times (a+d)/N$
- 양성 일치율(후보검사법) =  $100 \times a/(a+c)$
- 음성 일치율(후보검사법) =  $100 \times d/(b+d)$

[표 12] 2 X 2 분할표

구분		참고 검사		합계
		양성	음성	
평가 검사	양성	a	b	a + b
	음성	c	d	c + d
합계		a + c	b + d	N

- ③ 검사법 간의 평가 결과가 불일치한 경우, 대상 환자의 의무기록을 검토하여 소화기계 출혈 가능성 여부 등을 확인하고 이에 대한 자료(불일치의 원인 분석에 대한 자료)를 제공하여야 한다.

[참고] CLSI EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test (2008)

<검사법 간 비교>

① 일반사항

- 검사법 간 비교 평가 시, 두 가지 이상의 검사법에 의하여 동일한 검체를 이용하여 검사하고 그 결과를 비교한다.
- 검사법 간 비교 평가를 통해 산출된 결과인 양성 일치율과 음성 일치율은 정확도가 아니라 후보 검사법과 참고 검사법의 일치도가 반영된 결과로, 후보 검사법의 정확성에 대한 정보는 직접적으로 추정될 수 없다. 대신, 검사실의 타당한 목적이 후보 검사법 그리고 참고 검사법과 충분히 일치하는지를 입증하기 위한 것이다.

② 검체 수

- 최소한 50개의 양성 검체가 얻어질 때까지 검사가 지속되어야 한다. 후보 검사법의 특이도를 결정하기 위해서는 참고 검사법을 이용하여 적어도 50개의 음성 검체를 얻어야 한다.

② 검사 기간

- 10~20일 동안 매일 수행되어야 하며, 여러날 동안 나누어 검사를 실시한다.

- [1] CLSI guideline EP12-A2: User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved guidelines, 2nd Edition, 2008
- [2] CLSI guideline EP17-A2: Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, 2nd Edition, 2004
- [3] CLSI guideline EP07-A2: Interference Testing in Clinical Chemistry, 2nd Edition, 2005
- [4] Guidance for Industry and FDA Staff - Review Criteria for the Qualitative Assessment of Fecal Occult Blood In Vitro Diagnostic Devices, 2007
- [5] European Guidelines for Quality Assurance in Colorectal Cancer Screening and Diagnosis, 2010
- [6] 식품의약품안전처 고시 제2017-6호 「의료기기 품목 및 품목별 등급에 관한 규정」
- [7] 보건복지부 대장암 검진 질 지침, 2014
- [8] 지식경제부 기술표준원, 체외 진단 검사 의학 분야에서 정성검사의 성능 평가 방법, 2017
- [9] 식품의약품안전처 고시 제2016 - 786호 「의료기기 품목 및 품목별 등급에 관한 규정」

## 1. 정성검사의 정밀도 평가 실시예

### <C<sub>50</sub> 수치가 50 ng/ml 인 분변잠혈 검사시약의 정밀도 평가>

먼저 준비된 C<sub>50</sub> 검체의 농도(50 ng/ml)가 정확한가를 확인하기 위해 정성분석용 분변잠혈 검사시약을 이용하여 동일한 C<sub>50</sub> 검체를 40회 반복 측정된 결과 양성 50% 및 음성 50%가 나타났다.

C<sub>50</sub> 농도의 +20%(60 ng/ml) 검체를 40회 반복 측정된 결과 양성률이 100%이고, -20%(40 ng/ml) 검체를 40회 반복 측정된 결과 음성률이 100%를 나타냈다. +20% 검체 농도에서 36/40(90%) 이상 양성 결과와 -20% 검체 농도에서 36/40(90%) 이상 음성 결과가 나타남에 따라 -20%에서 +20% 검체 농도는 C<sub>5</sub>-C<sub>95</sub> 구간<sup>5)</sup>을 포함한다는 결론이 가능하다.

동일한 평가방법을 통해 다른 결과가 관찰되는 것을 가정해보자. C<sub>50</sub> 농도의 +20%(60 ng/ml) 검체가 34/40(85%) 양성 결과를 보이고, C<sub>50</sub> 농도의 -20%(40 ng/ml) 검체가 40/40(100%) 음성 결과를 보였다. +20% 검체 농도에서 36/40(90%) 보다 낮은 양성 결과(34/40)를 보인 반면 -20% 검체 농도에서 36/40(90%) 이상의 음성 결과(40/40)가 관측됨에 따라 부분적으로만 C<sub>5</sub>-C<sub>95</sub> 구간 내에 있다고 결론을 내릴 수 있다. 40 ng/ml 이하 농도의 검체는 본 평가방법으로 일관된 결과를 기대될 수 있으나, 60 ng/ml 이상 농도의 검체에서는 일관된 결과를 기대할 수 없다. 따라서, C<sub>50</sub> 으로부터 더 넓은 범위의 % 농도를 가진 검체(예를 들어 30%)를 이용한 평가가 요구된다.

5) 『C<sub>5</sub>-C<sub>95</sub> 구간』이란? 결정치(cutoff) 부근의 분석물질 농도 범위

- 이 구간 밖의 관측 결과는 일관되게 음성(농도<C<sub>5</sub>)이거나 양성(농도>C<sub>95</sub>)을 보이며, 이 구간 안쪽 농도에서의 관측치는 비정밀도로 인해 일관된 결과를 기대할 수 없음
- 알파벳 C는 농도(concentration)를 나타내며, 아래첨자(5, 50 또는 95)는 양성인 결과의 백분율을 의미

## 2. 일치율 측정의 신뢰구간 산정

총 일치율의 95% 신뢰구간은 다음과 같이 계산된다.

<수식 1>

$$[100\% \times (Q_1 - Q_2)/Q_3, 100\% \times (Q_1 + Q_2)/Q_3]$$

여기서 정량  $Q_1, Q_2$  및  $Q_3$  는 아래 공식을 사용하여 계산된다.

$$Q_1 = 2 \times (a + d) + 1.96^2 = 2 \times (a + d) + 3.84$$

$$Q_2 = 1.96 \sqrt{1.96^2 + 4 \times (a + d) \times (b + c) / n} = 1.96 \sqrt{3.84 + 4 \times (a + d) \times (b + c) / n}$$

$$Q_3 = 2(n + 1.96^2) = 2n + 7.68$$

관찰된 비교방법 결과에서 양성일치율과 음성일치율의 95% 신뢰구간은 <수식 1>을 이용하여 계산할 수 있으며, 1.96 은 95% 신뢰도에 해당하는 표준 정규분포로부터 도출된 값이다.

양성일치율의 95% 스코어 신뢰구간은 <수식 2>와 같이 계산된다.

<수식 2>

$$[100 \times (Q_{1,ppa} - Q_{2,ppa}) / Q_{3,ppa}, 100 \times (Q_{1,ppa} + Q_{2,ppa}) / Q_{3,ppa}]$$

여기서 정량  $Q_{1,ppa}, Q_{2,ppa}, Q_{3,ppa}$  는 아래 공식을 사용하여 계산된다.

$$Q_{1,ppa} = 2 \times a + 1.96^2 = 2 \times a + 3.84$$

$$Q_{2,ppa} = 1.96 \sqrt{1.96^2 + 4 \times ac / (a + c)} = 1.96 \sqrt{3.84 + 4 \times ac / (a + c)}$$

$$Q_{3,ppa} = 2(a + c + 1.96^2) = 2(a + c) + 7.68$$

음성일치율의 95% 스코어 신뢰구간은 <수식 3>과 같이 계산된다.

<수식 3>

$$[100 \times (Q_{1,npa} - Q_{2,npa}) / Q_{3,npa}, 100 \times (Q_{1,npa} + Q_{2,npa}) / Q_{3,npa}]$$

여기서 정량  $Q_{1,npa}, Q_{2,npa}, Q_{3,npa}$  는 아래 공식을 사용하여 계산된다.

$$Q_{1,npa} = 2 \times d + 1.96^2 = 2 \times d + 3.84$$

$$Q_{2,npa} = 1.96 \sqrt{1.96^2 + 4 \times bd / (b + d)} = 1.96 \sqrt{3.84 + 4 \times bd / (b + d)}$$

$$Q_{3,npa} = 2(b + d + 1.96^2) = 2(b + d) + 7.68$$

### 3. 정성검사의 상관성 평가 실시예

정성분석용 분변잠혈 검사시약(평가 검사법)과 정량분석용 분변분석기(참고 검사법) 간 비교를 통해 측정값 간의 동등성을 분석하기 위한 실험을 실시하였다. 다음과 같이 2X2 분할표를 이용하여 총 일치율, 양성 및 음성 일치율을 제시하였다([표 12] 참고).

[표 16] 2 X 2 분할표

구 분		참고 검사법 (면역학적 정량분석법)		합 계
		양 성	음 성	
평가 검사법 (면역학적 정성분석법)	양 성	285	15	300
	음 성	14	222	236
합 계		299	237	536

- 양성 일치율(면역크로마토그래피법 검사시약/분변분석기) =  $100 \times 285 / (285+14) = 95.3\%$
- 음성 일치율(면역크로마토그래피법 검사시약/분변분석기) =  $100 \times 222 / (15+222) = 93.7\%$
- 총 일치율 =  $100 \times (285+222) / 536 = 94.6\%$

양성 일치율의 정확한 95% 신뢰한계는 92.3% 에서 97.4% 이다.

95% 스코어 신뢰한계는 92.3% 에서 97.2% 로, <수식 2>를 이용한 95% 스코어 신뢰한계의 계산은 다음과 같다.

$$Q_{1,ppa} = 2 \times 285 + 3.84 = 537.84$$

$$Q_{2,ppa} = 1.96 \sqrt{3.84 + 4 \times 285 \times 14 / 299} = 14.826$$

$$Q_{3,ppa} = 2 \times 299 + 7.68 = 605.68$$

- 하한 :  $100 \times (Q_{1,ppa} - Q_{2,ppa}) / Q_{3,ppa} = 100 \times (537.84 - 14.826) / 605.68 = 92.3\%$
- 상한 :  $100 \times (Q_{1,ppa} + Q_{2,ppa}) / Q_{3,ppa} = 100 \times (537.84 + 14.826) / 605.68 = 97.2\%$

음성 일치율의 정확한 95% 신뢰한계는 89.8% 에서 96.4% 이다  
 95% 스코어 신뢰한계는 89.8% 에서 96.1% 로, <수식 3>을 이용한 95% 스코어  
 신뢰한계의 계산은 다음과 같다.

$$Q_{1,npa} = 2 \times 222 + 3.84 = 447.84$$

$$Q_{2,npa} = 1.96 \sqrt{3.84 + 4 \times 15 \times 222 / 237} = 15.187$$

$$Q_{3,npa} = 2 \times 237 + 7.68 = 481.68$$

- 하한 :  $100 \times (Q_{1,npa} - Q_{2,npa}) / Q_{3,npa} = 100 \times (447.84 - 15.187) / 481.68 = 89.8\%$
- 상한 :  $100 \times (Q_{1,npa} + Q_{2,npa}) / Q_{3,npa} = 100 \times (447.84 + 15.187) / 481.68 = 96.1\%$

총 일치율의 정확한 95% 신뢰한계는 92.3% 에서 96.4% 이다.  
 95% 스코어 신뢰한계는 92.3% 에서 96.2% 로, <수식 1>을 이용한 95% 스코어  
 신뢰한계의 계산은 다음과 같다.

$$Q_1 = 2 \times 507 + 3.84 = 1017.84$$

$$Q_2 = 1.96 \sqrt{3.84 + 4 \times 507 \times 29 / 536} = 20.887$$

$$Q_3 = 2 \times 536 + 7.68 = 1079.68$$

- 하한 :  $100 \times (Q_1 - Q_2) / Q_3 = 100 \times (1017.84 - 20.887) / 1079.68 = 92.3\%$
- 상한 :  $100 \times (Q_1 + Q_2) / Q_3 = 100 \times (1017.84 + 20.887) / 1079.68 = 96.2\%$

#### 4. 간섭반응 및 교차반응 물질 예시

분변잠혈 검사시약의 특이도 평가를 위한 간섭반응 및 교차반응 물질이 명확히 제시되지 않아, 국내외 가이드스, 허가증 등을 참고하여 성능평가가 필요한 물질 일부를 선별하였으며, [표 7]과 같이 선정된 물질에 대한 간섭반응 및 교차반응 여부를 평가할 것을 권장한다. 단, 아래에서 제시하는 물질 및 농도 이외에도 제조자가 품질 요구사항을 충족함을 입증할 수 있는 경우에는 대체물질을 사용할 수 있다.

[표 7] 간섭반응 및 교차반응 물질 예시

순번	물질명	농도	비고
1	Hemoglobin from Beef	500 ug/ml	
2	Hemoglobin from Horse	500 ug/ml	
3	Hemoglobin from Chicken	500 ug/ml	
4	Hemoglobin from Fish	500 ug/ml	
5	Hemoglobin from Rabbit	500 ug/ml	
6	Hemoglobin from Pork	500 ug/ml	
7	Hemoglobin from Goat	500 ug/ml	
8	Hemoglobin from Sheep	500 ug/ml	
9	Bilirubin	500 ug/ml	
10	Bovine Serum Albumin	2,000 ug/ml	
11	Vitamin C (Ascorbic Acid)	500 ug/ml	
12	Uric Acid	1 mg/ml	
13	Horseradish Peroxidase	20 mg/ml	
14	양배추	500 ug/ml	
15	무	500 ug/ml	
16	당근	500 ug/ml	
17	브로콜리	500 ug/ml	
18	화장실용수	-	

## 분변잠혈 검사시약 성능평가 시험방법 가이드라인(민원인 안내서)

---

발행일 2018년 2월

발행인 이선희

편집위원장 서경원

편집위원 김미정, 이인수, 이승노, 김보라, 김지은

도움주신분 고신대학교 이운형

발행처 식품의약품안전평가원 의료제품연구부 의료기기연구과

본 가이드라인은 2017년도 식품의약품안전처의 연구개발사업 (분변잠혈 검사시약 성능평가 시험방법 가이드라인 개발 연구, 17171의평연363)의 결과를 활용하였습니다.



식품의약품안전처  
식품의약품안전평가원

363-700 충북 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187 오송보건의료행정타운

식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 의료기기연구과

TEL : 043) 719-4919 FAX : 043) 719-4900

<http://www.mfds.go.kr> (식품의약품안전처)

<http://nifds.go.kr> (식품의약품안전평가원)

“내가 지킨 청렴실천 모아지면 청렴사회”