



병원체 검출을 위한 다중 분자유전검사의 검정 권고안

Recommendations for Verification of Multiplex Nucleic Acid Assays for Pathogen Detection

노경호¹ · 김영아¹ · 이혁민²

Kyoung Ho Roh, M.D.¹, Young Ah Kim, M.D.¹, Hyukmin Lee, M.D.²

국민건강보험 일산병원 진단검사의학과¹, 연세대학교 의과대학 진단검사의학과²

Department of Laboratory Medicine¹, National Health Insurance Service Ilsan Hospital, Goyang; Department of Laboratory Medicine², Yonsei College of Medicine, Seoul, Korea

Verification of a new molecular test is needed to provide objective evidence that it meets specific requirements when performed by a laboratory technician. A multiple nucleic acid assay requires a more complex process because it simultaneously detects two or more targets. We provide useful recommendations for the verification of the multiple nucleic acid assay to detect pathogens.

Key Words: Verification, Multiplex, Nucleic acid, Assay, Pathogen

서론

분자유전검사는 검사의학에서 가장 빠르게 성장하는 분야 중 하나로 초기에는 단일 목표를 확인하거나 양을 측정하는 검사가 널리 사용되었지만 최근에는 다중분석이 보편화되었다. 다중분석은 검체 준비, 신호의 증폭, 검출 및 해석의 과정에서 두 가지 이상의 표적을 동시에 검출하는 것으로 정의되며, 정확한 결과를 얻기 위해서는 검체의 순도, 검체 투입, 시약 및 플랫폼을 좀 더 엄격히 관리하여야 한다[1]. 다중분석에서는 흔히 다수의 정도관리 물질, 더 복잡한 성능 평가 및 데이터 분석 알고리즘 및 더 복잡한 결과 보고 등이 필요하다[1].

검사실에서 새로운 다중 분자유전검사법을 도입할 때에는 환자에게 사용하기 적절한 검사성능을 가지고 있는지 검정(verification)

할 필요가 있다. 흔히 검증(validation)과 검정을 혼동하기 쉬운데, 검증은 특정 요구사항이 의도된 용도에 적합한 확인으로 주로 시험 개발자가 수행하는데 반해 검정은 특정 항목이 특정 요구사항을 충족한다는 객관적 증거의 제공을 목적으로 검사실의 검사자가 시행하게 된다[2].

저자들은 병원체 검출을 위한 다중 정성적 실시간효소연쇄반응법의 검정 권고안을 제공하고자 국내의 인증 및 심의 관련 문헌과 국외의 지침서를 선택하여 검토하였다. 여기에는 재단법인 진단검사의학재단에서 개발한 분자진단검사 분야의 우수검사실 신입인증 심사점검표[3], 식품의약품안전처의 체외진단의료기기 허가·신고·심사 등에 관한 규정[4], Association for Molecular Pathology (AMP)에서 제공하는 ‘Molecular Diagnostic Assay Validation’ [5] 및 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)에서 개발한 MM17 ‘Validation and verification of multiplex nucleic acid assays’ 2판[6]이 포함된다.

진단검사의학재단 검사실 신입평가

국내에서는 대한진단검사의학회와 진단검사의학재단에서 제공하는 우수검사실 신입인증 심사를 통하여 체외진단검사의 신뢰도를 확보하고 표준화하고 있다. 분자진단검사 분야의 인증에서는 외부정도관리, 내부정도관리, 검사수행전후 평가, 기구 및 장비, 인력, 시설 및 환경, 안전에 대한 지침이 있다[3]. 인증 요건은 진단의학 검사의 질적 신뢰성을 유지하는 것이 목적이므로 정확히 일치

Corresponding author: Young Ah Kim, M.D., Ph.D.

<https://orcid.org/0000-0002-9624-0126>

Department of Laboratory Medicine, National Health Insurance Service Ilsan Hospital, 100 Ilsan-ro, Ilsandong-gu, Goyang 10444, Korea
Tel: +82-31-900-0908, Fax: +82-31-900-0925, E-mail: yakim@nhimc.or.kr

Received: June 29, 2021

Revision received: August 4, 2021

Accepted: August 4, 2021

This article is available from <https://www.labmedonline.org>

© 2022, Laboratory Medicine Online

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://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.

Table 1. 우수검사실 신임인증 심사점검표: 분자진단검사(2020년)[3]

항목	내용	배점
90.303.441	시약이 다른 회사 제품으로 변경되거나 시약의 lot 번호가 변경될 때 환자결과를 비교 평가하는가?	8
90.401.140	Calibrator의 lot가 변경되는 경우 환자결과를 비교 평가하는가?	4
90.404.820	다량의 DNA가 필요한 경우, 핵산의 양이 측정되는가?	4
90.404.830	필요한 경우, 젤 전기영동이나 이와 유사한 방법을 이용하여 고분자량 DNA의 질(완전성)을 확인하는가?	4
90.404.840	필요한 경우, RNA의 질(완전성)이 평가되는가?	4
90.404.850	필요한 경우, 제한효소 처리과정의 질(완전성)이 확인되는가?	2
90.404.860	모든 핵산증폭반응에서 추출 실패나 저해물질에 의한 위음성 반응을 검출하기 위해 내부대조도 함께 반응시키는가?	4
90.405.320	분자진단검사의 최종 결과가 다른 검사결과 또는 임상양상과 다른 경우, 비교 분석되고 필요하다면 수정조치를 취하는가?	2
90.502.060	검사장비에 부착된 자동 피펫 system의 carryover를 평가하는가?	4
90.504.100	일반장비 및 검사장비의 온도점검이 매일 또는 검사시행일마다 이루어지고 있는가?	1
90.601.902	Thermocycler 각 well의 온도가 장비도입 시에 점검되고 이후로도 주기적으로 점검되는가?	8
90.604.902	매일 또는 사용일마다 기기의 background level을 점검하고 이를 기록하는가?	2
90.604.903	Background level의 허용범위가 문서화되어 있는가?	1
90.608.902	증폭산물의 용해온도 차이를 이용하여 분석하는 경우, 증폭산물을 구분할 수 있는 적절한 온도범위가 설정되고 유지되는가?	4
90.608.904	Threshold cycle (Ct값)을 이용하여 target을 정량하는 경우, calibration과 QC에 대한 올바른 지침이 있고, 지침대로 질관리를 수행하는가?	4

하지는 않지만, 검사실에서 새로운 다중 분자유전검사법을 도입할 때 도움이 될만한 내용을 Table 1에 정리하였다.

내용을 간단히 살펴보면 신규 장비 도입시 DNA 적절성 평가(항목 90.404.820과 90.404.830), 자동 피펫 시스템의 carry over 평가(항목 90.502.060), thermocycler 각 well의 온도 점검(항목 90.601.902), 기기의 background level 확인(항목 90.604.902) 및 적절한 온도 범위 유지 점검(항목 90.608.902)을 검정 항목에 포함하는 것이 좋겠다. 또한 시약의 lot 관리(항목 90.303.441), calibrator lot 관리(항목 90.401.140), 및 내부대조(항목 90.404.860) 등은 통상적인 정도관리에 참고할 수 있겠다. 시약이 다른 회사 제품으로 변경되거나 시약의 lot 번호가 변경될 때 환자결과를 비교 평가(항목 90.303.441)를 따라 진단검사의학과 전문의는 새로운 시약을 사용하기 전에 적절한 수의 환자 검체를 사용해 기존 검사 또는 비교 검사와 같이 평가하고 그 결과를 문서로 남기고 서명해야 한다.

식품의약품안전처 체외진단의료기기 허가·신고·심사 등에 관한 규정

식품의약품안전처에서 요구하는 성능시험에 관한 자료는 질병의 진단 등의 목적으로 사용되는 체외진단의료기기의 유효성을 입증하기 위한 것으로 해당 제품의 분석적 성능, 임상적 성능, 품질 관리 시험에 관한 자료, 표준물질 및 검체 보관 등을 포함하고 있다[4].

성능에 관한 자료는 크게 분석적 성능시험, 임상적 성능시험 자료로 구분할 수 있으며 분석적 성능시험에는 분석적민감도(판정 기준치, 측정범위, 검출한계(lower limit of detection), 공란한계, 최소정량한계 등), 분석적특이도(교차반응, 간섭 등), 정밀도(preci-

sion, 반복성, 재현성 등) 및 정확도(accuracy, 회수율 등)가 있다.

분석적 성능시험에 사용한 표준물질이 판매하는 상용제품이나 국제표준품인 경우는 증명 자료를 제출하고 내부표준물질은 그 출처와 결과치를 설정한 근거자료를 제출한다.

임상적 성능시험 자료는 임상적 성능시험 예수 결정의 통계적 타당성 등 임상적 성능시험 방법, 임상적 성능시험 성적 등 임상적 성능시험 결과, 의학적 원리에 기준하여 임상적 유의성이 있음을 입증하는 자료 등 임상적 성능 평가를 입증할 수 있는 자료를 제출해야 한다[4].

상관성은 기존의 허가인증 받은 제품과의 비교시험성적서로 확인할 수 있는데, 기존에 허가된 방법 혹은 검증된 참고방법(reference method)을 이용하여 증명된 검체 또는 국제표준물질 등을 사용하여 평가한다[2]. 검사실에서는 검정 평가 자료와 비교하기 위하여 제조사로부터 필요한 자료를 요청할 필요가 있다.

Association for Molecular Pathology (AMP) 지침

AMP에서는 ‘Molecular Diagnostic Assay Validation’이란 제목으로 분자유전검사의 검증에 관한 가이드라인을 제시하고 있다. 병원체 검출을 위한 다중 분자유전검사의 검정에 국한된 내용은 아니지만 US Food and Drug Administration (FDA)에서 승인한 검사에 필요한 요구 조건을 정확도, 정밀도, 보고범위, 참고범위 및 선형범위(linear range)로 제안하고 있다[5]. 만일 FDA 승인된 검사를 변형하거나 FDA 비승인 검사의 경우 위의 평가 외에도 분석 민감도(analytical sensitivity)와 분석 특이도(analytical specificity)를 평가해야 하며, 필요한 경우 검체의 안정성과 잔효(carry over)의 평가도 추천된다[5].

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 지침

CLSI의 MM17 ‘Validation and verification of multiplex nucleic acid assays’ 2판에서는 다중 분자유전검사의 검증 및 검정을 다루고 있다[6]. 여기서는 병원체 검출을 위한 다중 분자유전검사의 검정에 적용할 수 있는 내용을 검토해 본다.

1. 병원체 검출을 위한 검체

미생물 감염은 세균, 바이러스, 결핵균, 진균 및 기생충에 의하며, 이를 진단하기 위해서는 전혈, 혈장, 혈청, 객담, 비인두 세척액, 비인두 면봉 검체, 비강흡인, 기관지폐포 세척, 기관 내 흡인, 자궁경부 면봉 검체, 요도 면봉 검체, 뇌척수액, 배양 세포, 소변, 대변, 및 미생물 분리주 등의 다양한 검체를 이용하게 된다. 효과적인 감염진단을 위하여서는 감염위치, 병원체의 병원성 및 병원체 농도에 따라 적절한 검체의 종류를 선택해야 한다. 또한 DNA와 RNA 바이러스의 중복감염과 집락화된 상재균의 존재를 고려할 필요가 있다.

검정을 위한 검체는 일반적으로 환자 검사 목적과 동일한 검체를 사용하는 것이 좋으며, 분석에 적합한 핵산을 추출할 수 있도록 검체수송 도구 내 항응고제, 안정제, 검체 보관 및 검체 배송 조건을 확인할 필요가 있다. 병원성 여부를 알 수 없으므로 검체는 항상 표준지침을 지켜 안전하게 취급하여야 한다.

2. 핵산의 추출

핵산은 다양한 검체 유형(예: 혈청, 비인두 면봉 검체) 또는 생체(예: DNA 바이러스, RNA 바이러스, 세균)에 따라 추출되는 정도가 다르므로 각각을 평가할 필요가 있다. 병원체 검출을 위한 다중 분자유전검사에서 핵산이 중요한 이유는 증폭 산물의 길이와 구아닌-시토신 함량이 증폭 조건의 성능에 영향을 미칠 수 있으며, 염기서열 특이 프라이머와 탐색자의 상호작용은 부합 성능을 결정하기 때문이다.

자동화 장비를 사용하여 핵산을 추출할 경우 잠재적 잔효와 오염의 문제를 고려해야 한다. 잔효는 환자시료 분석과정에서 고농도 분석 측정값의 시료가 다음에 측정되는 저농도 분석 값에 영향을 주는 것이다. 에어로졸 장벽이 있는 일회용 팁, 일회용 플레이트 및 밀봉된 시약 카트리지를 사용하는 핵산 추출용 시약을 사용하면 잔효를 줄일 수 있다. 또한 사용하기 전 추출 키트에 다중 핵산 검사에 포함된 표적 핵산이 존재하는지 시험할 필요가 있다.

추출에서 얻은 핵산의 양과 순도는 다중분석에서 매우 중요하므로 A260/A280 비율로 순도를 측정하고 형광 시약을 사용하여 정량화한다. A260/A280 비율은 파장 260 nm에서 핵산 용액의 흡

광도를 같은 용액의 280 nm에서의 흡광도로 나눈 값으로 분광법을 이용해 핵산 순도를 평가하는 방법으로 1.8 이상의 비율이면, DNA 용액 내의 오염을 무시할 수 있고, 2.0 이상의 비율이면 RNA 용액 내의 오염을 무시할 수 있다.

핵산은 추출 과정과 보관 중에 분해되기 쉽기 때문에 반복적인 동결 해동을 피한다. 장기간 보관 후에는 사용하기 전에 겔전기영동 등으로 핵산의 무결성(integrity)을 평가하는 것이 필요하다.

3. 정도관리(Quality control)

검사 성능을 추적할 때는 적절한 정도관리를 포함해야 하며, 이때에는 내부 정도관리와 외부 정도관리를 서로 보완하여 사용한다. 내부 정도관리에 실패하는 원인으로는 장비 오작동, 최적화되지 않은 시약, 반응 웰에 존재하는 중합효소 활성도 및 검체 매트릭스 내 억제 물질 등이 있다.

4. 분석적 성능평가(Analytical performance)

분석적 성능평가에는 정확도, 재현성, 검출한계, 간섭효과(interference), 분석 민감도 및 분석 특이도 등이 포함된다. 여기에서는 검정의 예로 MM17 지침에 실려있는 정성적 다중 실시간중합효소 연쇄반응법으로 influenza virus A, influenza virus B, respiratory syncytial virus (RSV), adenovirus, human metapneumovirus (hMPV), parainfluenza viruses 1형에서 4형(PIV-1 to PIV-4) 및 rhinovirus의 총 10 종류의 바이러스를 정성적으로 검출하는 다중 호흡기 바이러스 패널의 검정을 소개한다.

1) 분석 민감도

분석 민감도는 대상 측정량을 검출하는 시험의 능력으로, 흔히 분석 물질의 최소량인 검출한계의 설정을 포함한다. 검출한계는 통계적으로 배경 또는 음성 검체와 구별할 수 있는 분석물의 측정량이 가장 낮은 검체를 이용하여 95%의 양성률 보이는 농도이다. 본 예에서는 Table 2와 같이 음성 환자 검체에 표적을 희석한 것을 첨가한 스파이크 검체(spiking sample)를 만들어 표적의 검출한계를 확인하며, 두 개 이상의 분석 물질을 첨가한 검체 모음을 사용하였다. 평가를 위해서 Table 3에서와 같이 각 모음의 10배 연속 희

Table 2. The examples of spiked sample pools [6]

Pool	Target
1	Influenza virus A, PIV-2, rhinovirus
2	Influenza virus B, PIV-4, RSV
3	hMPV, PIV-1
4	Adenovirus, PIV-3

Abbreviations: hMPV, human metapneumovirus; PIV-1, parainfluenza virus type 1; PIV-2, parainfluenza virus type 2; PIV-3, parainfluenza virus type 3; PIV-4, parainfluenza virus type 4; RSV, respiratory syncytial virus.

적으로 시험하고, 각 희석에서 3회 반복한다. 표준편차가 일반적인 검사실 조건들에서 검사 성능을 반영하도록 여러 날 동안 평가하는 것이 필요하다.

Table 3. The estimation of positive percentage and detection limit for each pool [6]

Target	1:1 dilution	1:10 dilution	1:100 dilution	1:1,000 dilution	Pool
Influenza virus A	100	100*	67	0	Pool 1
PIV-2	100	100*	0	0	Pool 1
Rhinovirus	100	100	100*	33	Pool 1
Influenza virus B	100	100	100*	33	Pool 2
PIV-4	100*	33	33	0	Pool 2
RSV	100	100*	33	33	Pool 2
hMPV	100*	67	0	0	Pool 3
PIV-1	100	100	100*	67	Pool 3
Adenovirus	100	100	100	100*	Pool 4
PIV-3	100	100	100*	33	Pool 4

Bold*: Estimated detection limit.

Abbreviations: hMPV, human metapneumovirus; PIV-1, parainfluenza virus type 1; PIV-2, parainfluenza virus type 2; PIV-3, parainfluenza virus type 3; PIV-4, parainfluenza virus type 4; RSV, respiratory syncytial virus.

2) 정밀도

정밀도는 특정 조건 하에서 동일하거나 유사한 대상의 반복 측정값의 일치도를 말한다. 정밀도는 표준편차, 분산 또는 변이계수와 같은 비정밀도(imprecision)로 표시되며, 표준편차가 크면 정밀도가 낮다. PCR에서는 기준 주기(cycle threshold)를 구할 수 있는데 이는 증폭산물이 검출되기 위해 필요한 주기 수를 말하며, 통상적으로 이 값이 낮을수록 최초 주형에 대한 복제수(copy number)가 가장 많다. 정성적 시험이라도 기준 주기 같은 정량적인 결과가 숨어 있는 경우 평균, 표준편차 및 변이계수를 측정해야 한다. Table 4에서는 반복성 및 재현성을 평가하기 위하여 정상 실험실 운영 조건에서 2회 반복 측정하여 20일간 시험하여 변동성을 관찰한 것을 정리하였다. 정성적 검사의 경우 최소검출농도 부근의 농도, 중간 농도, 고농도를 사용하여 매일 각 표적에 대한 반복 검사의 평균을 구한다.

3) 분석 특이도

분석 특이도는 목표 측정 물질의 양만 측정하는 능력으로, 병원체 검출을 위한 다중 분자유전검사에서는 각 검체에서 존재할 수

Table 4. Examples of calculation of the reference cycle value and precision for each pool [6]

Test day	Pool 1			Pool 2			Pool 3		Pool 4	
	Influenza virus A	PIV-2	Rhinovirus	Influenza virus B	PIV-4	RSV	hMPV	PIV-1	Adenovirus	PIV-3
1	25.5*	31.2	28.2	31.2	31.2	28.2	25.5	31.2	28.2	25.5
2	26.1	31.5	28.5	31.5	31.5	28.5	26.1	31.5	28.5	26.1
3	26.3	30.9	29.0	31.3	31.0	28.1	25.8	30.9	28.5	25.5
4	26.2	31.0	28.1	31.2	31.3	28.2	26.0	31.5	28.2	25.7
5	25.8	31.3	28.1	30.9	30.9	28.5	26.1	30.9	28.5	25.8
6	25.8	30.9	28.5	31.5	31.3	28.3	25.5	31.3	28.1	25.5
7	26.0	31.1	28.2	30.9	31.2	28.2	25.5	31.0	28.2	26.0
8	26.1	31.3	28.5	31.1	31.2	28.5	25.7	31.3	28.2	26.1
9	26.0	31.3	28.1	30.9	30.9	28.1	25.8	30.9	28.5	26.0
10	25.8	31.2	28.2	31.0	31.5	28.1	25.5	31.3	28.3	26.1
11	25.5	30.9	28.5	31.3	30.9	28.5	25.5	31.3	28.2	25.7
12	25.5	31.5	28.3	31.2	31.3	28.5	26.2	31.2	28.5	25.8
13	25.7	31.2	28.5	31.2	31.2	28.3	25.8	31.0	28.5	25.5
14	25.3	30.9	29.1	30.9	30.9	29.1	25.3	30.9	29.1	25.3
15	25.2	31.1	28.5	31.1	31.1	28.5	25.2	31.1	28.5	25.2
16	25.8	30.9	28.1	31.0	31.2	28.2	25.5	31.2	28.2	25.5
17	25.5	31.3	28.2	31.3	31.5	28.5	26.1	31.5	28.5	26.1
18	25.5	31.3	28.5	30.9	30.9	28.5	25.5	30.9	29.0	25.8
19	26.2	31.2	28.3	31.3	31.5	28.2	25.7	31.0	28.1	26.0
20	25.8	31.0	28.2	31.2	30.9	28.5	25.8	31.3	28.1	26.1
Mean	25.8	31.2	28.4	31.1	31.2	28.4	25.7	31.2	28.4	25.8
SD	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.3	0.3
% CV	1.2	0.6	1.0	0.6	0.7	0.8	1.1	0.7	1.0	1.1

*The mean of calculated reference cycle.

Abbreviations: hMPV, human metapneumovirus; PIV-1, parainfluenza virus type 1; PIV-2, parainfluenza virus type 2; PIV-3, parainfluenza virus type 3; PIV-4, parainfluenza virus type 4; RSV, respiratory syncytial virus; SD, standard deviation; % CV, percent coefficient of variation.

있는 정상 세균총 혹은 병원체로 제한한다. 특이도는 진음성/(진음성 + 위양성)×100으로 계산한다.

4) 간섭

간섭 물질은 시험 시스템에서 환자 검체의 내인성(예: 혈액 성분, 산성 다당류) 혹은 외인성(예: 탈크, 항응고제)으로 유래하는 물질로 위양성 또는 위음성의 부정확한 결과를 초래할 수 있다. 간섭의 평가는 잠재적 간섭 물질이 증폭되는지 확인하는 것이며, 잠재적으로 반응하는 물질을 스파이크한 정도관리 물질 등으로 검사한다. 관심 있는 측정치 농도는 감염성 질환 분자유전 분석에서 보고 가능한 범위 중 가장 낮은 농도로 하고, 간섭 물질은 실제 검체에 있을 것으로 예상하는 최고 농도로 하는 것을 추천한다.

5) 정확도

정확도는 측정된 값과 측정량의 참값 간의 일치도를 말한다. 정확도의 평가는 최소 20개 이상의 양성 및 10개 이상의 음성 검체를 포함한 총 30개의 검체를 검사하고, 양성과 음성은 참고방법으로 결정한다[4]. 잘 확립된 참고방법이 없는 경우, 음성 검체에 참고 물질을 첨가한 스파이크 검체를 사용할 수 있다. 정성적 분석의 경우 민감도는 진양성/(진양성 + 위음성)×100으로 계산하고, 특이도는 진음성/(진음성 + 위양성)×100으로 계산한다.

5. 참고치

일반적으로 병원체는 정상 모집단에서 검출되지 않으므로 참고치는 별도의 평가가 필요하지 않으며, 통상적으로 ‘검출 없음’으로 한다.

6. 임상적 성능평가(Clinical performance)

임상적 타당성 및 효용성을 확립하기 위하여 임상적 성능평가를 수행한다. 임상적 성능평가에는 진단적 민감도(diagnostic sensitivity), 진단적 특이도(diagnostic specificity), 양성예측도(positive predictive value), 음성예측도(negative predictive value)가 있다.

진단적 민감도는 질병을 가진 피험자에서 시험을 하여 결과가 양성인 확률 혹은 질병이 의심되는 피험자에게 양성 결과를 내는 검사 능력으로 임상적 진양성을 임상적 진양성과 위음성의 합으로 나눈 것으로 구한다. 진단적 특이도는 질환이 없는 피험자에서 시험에서 결과가 음성인 확률 또는 질병에 걸리지 않은 피험자에게 음성 결과를 내는 능력으로 임상적 진음성을 임상적 진음성 및 임상적 위양성의 합으로 나눈 것이다. 양성예측도는 참고표준에 의해 결정되는 양성 결과를 가지는 관심질환을 가진 환자 비율로 100×진양성/(진양성 + 위양성)으로 계산한다. 음성예측도는 참고표준에 의해 결정되는 음성 결과를 가지는 관심 질환이 없는 환자

비율로 100×진음성/(진음성 + 위음성)이다.

임상적 검정은 검사실 책임자의 재량으로 수행할 수 있으며, 양성과 음성 환자의 의무기록 검토를 포함할 수 있다. 임상적 검정에 중요한 변수로는 표적의 지역 유행률, 숙주 요인 및 감염성 질환의 집단발병 등이 있다. 임상적 검정이 현실적으로 어려운 경우 동로간 심사를 거친 간행물을 이용할 수 있다.

7. 검정 자료의 판정

검정 평가의 요약에는 분석의 설계, 수행된 연구 및 관련된 결과를 간략하게 제시해야 한다. 검정 계획서를 작성할 때 검정의 허용 기준을 미리 검사실에서 정립한다. 예를 들면 통상적으로 검정 중인 시험과 기준 시험 사이의 일치도를 각 표적과 모든 표적에 대해 90% 이상으로 사용할 수 있다. 다만 측정량에 대한 허용 가능한 성능을 입증하는 것은 불가능할 수 있으며, 일부 측정량의 성능이 불량한 경우 환자군에서 임상적 유의성과 기대 효과 내에서 성능 평가를 해석해야 한다.

결론

저자들은 기존의 문헌을 검토 후 병원체 검출을 위해 새로운 다중 분자유전검사의 도입 시 다음과 같은 최소한의 검정의 권고안을 제안한다.

1. 검사법 확인을 위해 사용 목적, 표적, 검사원리, 예상 검사 성능 등을 검토한다.
2. 임상적 유용성은 문헌 검토로 유행률, 진단 민감도 및 진단 특이도 등을 확인한다.
3. 성능평가 검정을 위해 정확도, 정밀도, 참고치, 분석 민감도, 분석 특이도 및 핵산 추출 절차를 평가한다. 각 항목의 구체적인 방법은 CLSI 가이드라인을 따른다.
4. 마지막으로 검사지침, 보고형식, 검체 및 정도관리에 관한 문서를 작성한다.

요약

새로운 분자진단 검사를 도입할 때에는 검정을 통해 검사자의 특정 요구 사항을 충족한다는 객관적인 증거를 제시할 필요가 있다. 다중 핵산 분석은 두 개 이상의 대상을 동시에 검출하므로 더 복잡한 검정 과정이 요구된다. 저자들은 병원체 검출을 위한 다중 핵산 분석을 검정할 때 도움이 될 수 있는 권장사항을 제공하고자 한다.

이해관계

저자들은 본 연구와 관련하여 어떠한 이해 관계도 없음을 밝힙니다.

감사의 글

2020년도 대한진단유전학회 학술위원들의 검토와 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Huang HS, Tsai CL, Chang J, Hsu TC, Lin S, Lee CC. Multiplex PCR system for the rapid diagnosis of respiratory virus infection: systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2018;24:1055-63.
2. Rabenau HF, Kessler HH, Kortenbusch M, Steinhorst A, Raggam RB, Berger A. Verification and validation of diagnostic laboratory tests in clinical virology. *J Clin Virol* 2007;40:93-8.
3. Laboratory Medicine Foundation. Accreditation checklists-Diagnostic Genetics. http://lmf.or.kr/sub/catalog.php?boardid=board_CLSI&operation=view&no=130&start=0&search_str=&Sname=&Ssubject=&Scontents=&CatNo=65&head=# (Updated on Apr 2021).
4. National Institute of Food and Drug Safety Evaluation. Guidance for regulations on approval, application, and evaluation of in vitro diagnostics. Osong, Korea: National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, 2020.
5. Association for Molecular Pathology. Molecular diagnostic assay validation. <https://www.amp.org/AMP/assets/File/resources/201503032014AssayValidationWhitePaper.pdf?pass=46> (Updated on Sep 2014)
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Validation and verification of multiplex nucleic acid assays. 2nd ed. CLSI guideline MM17. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.