

숙련도시험 스킴 운영계획서

- 진단검사의학 분야 -

(혈장(plasma)에서의 EGFR 유전자 돌연변이 검출)
PT-2019-34

1. 목 적

KS Q ISO 15189 메디컬시험기관 인정제도 운영요령에 따라 KOLAS 인정 메디컬시험기관은 2회/1년 숙련도시험을 실시하여야 하며, 해당 메디컬시험기관의 진단검사의학(분자유전학검사 종양세포유전학 검사) 인정 등 활성화를 통하여 국내 진단검사의학 분야에 대한 공인시험기관 및 관련 분석기관에 대한 능력 및 문제점을 파악하고 개선하여 시험결과에 대한 품질보증 등 시험기관의 시험 능력을 향상시켜 국가 경쟁력을 높이는데 있다.

2. 숙련도시험 프로그램명

- 혈장(plasma)에서의 EGFR 유전자 돌연변이 검출

3. 숙련도시험 운영기관

- 숙련도시험운영기관

- 기관명 : 대한임상검사정도관리협회
- 주 소 : 서울 송파구 법원로 11길, 현대지식산업센터 B동 406호
- 담당자 : 사업국장 전사일 / 이은숙
- 전 화 : 02-744-6841
- E-mail : keqas1@keqas.org

- 숙련도시험 아이템 제조 및 균질성·안정성 시험 수행에 대한 위탁기관

- 기관명 : 울산의대 서울아산병원
- 주 소 : 서울 송파구 올림픽로 43길 88
- 담당자 : 진단검사의학과 분자유전 이우창
- 전 화 : 02-3010-4506
- E-mail : wleel@amc.seoul.kr 또는 woochang.leel@gmail.com

4. 숙련도시험 아이템(안-구매 및 자가제조 예정)

○ Horizon Discovery Multiplex I cfDNA Reference Standard Set HD780

HORIZON DISCOVERY

Product Insert

Research Use Only

Set Cat No: HD780

Batch: 28256

Template: 6135 USR-01 (V-03)

Multiplex I cfDNA Reference Standard Set

Product Handling:
Horizon Diagnostics recommends quantifying the material using preferred laboratory method and instrumentation prior to use.

Origin of Material:

- Horizon Diagnostics uses a proprietary genome engineering platform to precisely engineer mutations within human cancer cell lines.
- The cell line DNA is fragmented to an average fragment length of 160 bp which resembles cfDNA extracted from plasma.
- Additional information can be found on Product Specification Sheet (6135 PSS) on the website for this catalogue number.

Allelic Frequency Verification Data:

- Data is provided in Table 1-4. These values represent only the QC assays performed by Horizon using an input of 100 ng and are an average of 4 replicates (WT Conc (copies/μl) and Mutant Conc (copies/μl) values rounded to whole numbers, with the exception of 100% Multiplex I wt Mutant Conc (copies/μl) which is reported to 1 decimal place).
- Whole-exome sequencing data from the wild type cell lines, RKO and SW48, are available upon registration at: www.horizondiscovery.com/exomedata

Table 1: 5% Multiplex I cfDNA Reference Standard (Part No.: HD777)

Gene	Variant	Amplicon size (bp)	Expected AF (%)	WT Conc (copies/μl)	Mutant Conc (copies/μl)	Total Conc (copies/μl)
EGFR	T790M	117.0	5.0	1908	99	2007
EGFR	delE746-A750	110/95	5.0	2216	142	2358
EGFR	L858R	78.0	5.0	3736	188	3924
EGFR	V769-D770insASV	122/131	5.0	1976	84	2060
NRAS	Q61K	83.0	6.3	3092	210	3302
NRAS	A59T	66.0	6.3	3552	207	3759
PIK3CA	E545K	81.0	6.3	3016	188	3204
KRAS	G12D	80.0	6.3	2836	191	3027

Table 2: 1% Multiplex I cfDNA Reference Standard (Part No.: HD778)

Gene	Variant	Amplicon size (bp)	Expected AF (%)	WT Conc (copies/μl)	Mutant Conc (copies/μl)	Total Conc (copies/μl)
EGFR	T790M	117.0	1.0	1984	20	2004
EGFR	delE746-A750	110/95	1.0	2284	28	2312
EGFR	L858R	78.0	1.0	3884	32	3916
EGFR	V769-D770insASV	122/131	1.0	1980	16	1996
NRAS	Q61K	83.0	1.3	3268	36	3304
NRAS	A59T	66.0	1.3	3880	44	3924
PIK3CA	E545K	81.0	1.3	3228	39	3267
KRAS	G12D	80.0	1.3	2964	35	2999

○ Horizon Discovery Multiplex I cfDNA Reference Standard의 속성

- 유전자 조합된 DNA를 평균 160 bp 정도의 크기로 분쇄해서 혈장에서 추출하는 cell-free DNA와 유사한 성상을 가짐
- 각 검체의 mutant copy 수가 실험적으로 검증되어 있음.
- Tris-EDTA buffer에 안정화된 상태로 공급됨

○ 자가 제조: 폐암 환자가 아닌 정상인의 혈장에 DNA standard를 희석하여 제조

- 1) 건강한 정상인의 공여 혈장에 Horizon의 cfDNA wild type standard를 희석하여 음성 물질 제조
- 2) 건강한 정상인의 공여 혈장에 Horizon의 cfDNA 1% standard를 희석하여 low copy 양성 물질 제조
- 3) 건강한 정상인의 공여 혈장에 Horizon의 cfDNA 5% standard를 희석하여 high copy 양성 물질 제조

○ 자가 제조 시 고려할 사항

- 검사 시약 제조사가 제시하는 측정 가능범위(limit of detection, LOD)와 Horizon 표준물질 설명서에 명시된 실험적으로 검증된 mutant copy수를 참조하여 검체 혼합 비율(공여 혈장과 standard 검체)을 계산할 예정임.
- 검사법 및 검출 대상 변이에 따라 차이는 있으나 임상검사실에서 주로 사용하는 Roche cobas v2의 LOD는 100 copy/mL plasma 이하이므로 검사법에서 권고하는 2 mL 혈장에 변이를 가지는 DNA가 200 copy 이상 존재해야 함. Horizon 스탠다드에는 5%, 1% 물질에 약 100 copy/uL DNA, 20 copy/uL DNA의 mutant DNA가 포함되어 있음.
- 따라서 각 혈장 검체에 포함된 mutant DNA의 양이 200 copy를 넘도록 해야 하는데 핵산 추출 효율이 100%가 아닐 수 있으므로 때 실제 포함하는 mutant DNA의 양은 실험적 검증을 통해 검증해야 함. 실험적 검증을 통해 안정적으로 일관성 있는 결과를 얻을 수 있는 혈장과 표준물질의 조성을 결정하여 검체를 제조할 예정임.

5. 분야 및 시험방법

○ 메디컬분야 분야

(2.분자유전학 - 2.03 종양 세포유전학)

- 1) 대 상 : EGFR exon 검사(Exon 18-21)
- 2) 시험법 : 일상적으로 사용하는 방법 또는 국제표준, 국가표준, 단체표준 및 유효성이 입증된 방법 적용
- 3) 측정기 : 실시간유전자증폭장치(real-time PCR machine)
- 4) 측정자 : 해당 기관의 시험요원이 측정대상에 대해 측정

○ 특성치 범위

개발아이템에 대한 측정 범위

구 분	변이 검출 범위(T790M, Exon 19 del, L858R, Exon 20 insertion)
Sample 1	Mutant Not Detected (음성)
Sample 2	각 변이별 copy 수에 따라 가변적(음성 혹은 양성)
Sample 3	Mutant All Detected (high copy 양성)

*검출 대상 변이의 copy 수는 실험적으로 결정할 예정임.

6. 참가 기관(예상)

서울아산병원, 서울대학교병원, 아주대학교병원, 세브란스병원, 서울성모병원 진단검사 의학과 검사실 등 10기관 이상

7. 숙련도시험 아이템

7.1 숙련도시험 아이템 준비

- 숙련도시험 아이템은 제조기관에서 다음과 같이 표준물질 구매 후 제조할 예정이다.
- 숙련도아이템 개발 항목인 종양 세포유전학 검사 중 혈장(plasma)에서의 EGFR mutation 검출 검사를 위해 Horizon Discovery에서 cfDNA Reference Standard를 구입한다. 구매한 표준물질을 건강한 정상인의 혈장에 희석하여 음성 대조물질, low copy 대조물질, 양성대조물질의 세 검체를 준비한다. 숙련도 아이템을 각 기관마다 각 검체(시료) 2.3 mL/바이알(vial)을 임의로 배포한다.

7.2 형태 및 내용물


- 배포된 아이템에는 운영기관에서 구분을 위하여 각 기관별 코드를 부여하여 냉동 (드라이아이스 사용) 상태로 배포된다.
 - 시료형태 : Frozen human plasma
 - 검체수 : 혈장 3개 앰플
 - 용량 : 2.3 mL/바이알(vial)

7.3. 숙련도시험 아이템의 배포 전 취급

- 숙련도시험 아이템은 대한임상검사정도관리협회로 납품되기 전까지는 서울아산병원의 -70℃ 냉동고에 보관한다.
- 냉동 운송을 위하여 드라이아이스로 가득 채운 후 포장한다.
- 계약된 운송업체를 통해 대한임상검사정도관리협회로 이송한다.
- 숙련도시험 운영자는 이송된 검체의 상태와 수량을 확인하여 숙련도시험 아이템 입고대장에 기록한 후, 검체를 -70℃ 이하 냉동고에 보관한다.

7.4. 숙련도시험 아이템의 라벨링

- 숙련도시험 아이템인 3개의 바이알에 각 레벨(level) 표시가 있는 라벨을 붙인다.
- 포장된 플라스틱 박스에는 아래 식별표에 따라 프로그램명, 기관명, Lab. Code, Sample No. 숙련도운영시험기관을 표기한다.
- 숙련도시험 프로그램 식별표는 숙련도시험 아이템 포장박스에 단단히 부착하여 이송 중에 떨어짐을 방지하고, 잘 보이는 곳에 부착한다.

숙련도시험 프로그램 식별표	
프로그램명	혈장(plasma)에서의 EGFR 유전자 돌연변이 검출
기 관 명	
Lab. Code	
Sample No.	
운영기관	 대한임상검사정도관리협회 <small>Korean Association of External Quality Assessment Service</small>

7.5. 숙련도시험 아이템의 포장

- 참가기관별로 3레벨의 숙련도시험 아이템을 각각 1 튜브씩 포장한다.
- 숙련도시험 아이템은 파손을 방지하기 위하여 기포가 있는 비닐 포장지를 이용하여 포장한 후 플라스틱 박스에 넣는다.
- 플라스틱 박스에 숙련도시험 프로그램 식별표를 부착한다.
- 숙련도시험 참가요강을 비닐 봉투에 넣는다.
- 참가요강이 들어 있는 비닐봉투와 숙련도시험 아이템 플라스틱 박스를 스티로폼 박스에 넣는다.

- 냉동 운송을 위하여 드라이아이스로 가득 채운 후 포장한다.

7.6 참가신청

- 본 숙련도시험에 참가를 희망하는 기관은 [부록 2]의 참가요강 [붙임 1]의 ‘숙련도시험 참가신청서’를 작성하여 대한임상검사정도관리협회(이하 “협회”)에 제출하여야 한다.

7.7. 숙련도시험 아이템의 배포

- 숙련도시험 아이템의 운송은 협회와 계약된 택배회사를 이용한다.
- 운영실무자는 숙련도시험아이템 배포 후 참가기관으로부터 수령증을 수령 받고, 미 송부 기관은 e-mail, 전화 등을 사용하여 숙련도시험 아이템이 도착하였음을 확인한다.
- 숙련도시험 아이템 배포 후 1주일이 지나고, 배송 진행의 파악이 안 되는 경우는 해당기관과 연락 후 재 송부한다.
- 운영실무자는 숙련도시험 아이템 발송 후 발송번호(송장 등)를 이용하여 진행사항을 기록관리 한다.

7.8 수령 및 보고

- 본 숙련도프로그램에 참가한 메디컬시험기관 및 진단검사의학 검사실 등은 숙련도시험 아이템을 수령하는 즉시 내용물의 수량, 종류와 훼손 여부를 확인한 후 ‘수령증(붙임 2)’을 작성하여 수령 후 3일 내에 협회로 이메일 송부(서명된 스캔본)하여야 한다. 파손품 또는 결함이 확인된 숙련도시험 아이템은 발생 시 신속한 연락 후 교환을 원칙으로 한다.

7.9 취급 및 주의

- 아이템 수령 직후 숙련도시험 아이템의 훼손 여부를 반드시 확인한다.
- 이 검체는 귀 시험실의 일상적인 혈장 EGFR 돌연변이 검사용 검체와 동일하게 취급하여 가능한 빨리 검사를 실시한다.
- 이 검체 내에 혹시라도 잠재적인 다른 감염원의 존재를 부정할 수 없으므로, 일반적인 「검체취급안전규정」 절차에 따라 검체를 다루어야 한다.
- 검체는 받는 즉시 냉동(-20℃ 이하) 보관하며, 검사 직전 해동하여 검사한다.

7.10. 숙련도시험 아이템 사용 방법 및 검사

- 해당 검체(시료)를 측정(분석) 전에 실온(20-25℃)에서 충분히 해동한다.
- 해동이 확인되면 부드럽게 흔들어 주거나, 롤러 믹스(10분) 등을 이용하여 내용물이 충분히 혼합되도록 한다.
- 검사실에서 사용하는 핵산 추출 방법을 사용하여 cell free DNA를 추출한다.
- 검사실에서 사용하는 검사법으로 EGFR 돌연변이 여부를 검사한다.
- 결과는 검체당 양성/음성으로 표기하며 검사법이 제공하는 지표가 있을 경우(예, Roche cobas v2의 SQI value), 그 값들을 함께 표기한다.

8. 결과 제출

- 제출 결과는 양성 혹은 음성으로 작성하여야 한다.
- 시험 결과를 포함하여 사용된 장비의 조건(시험 방법 및 시험 장비 등)을 ‘결과보고서(붙임 3, 4)’에 상세히 기술하여야 하며, 결과보고서에서 요구하는 모든 데이터를 기입하여야 한다. ‘결과보고서(붙임 3)’ 작성 및 송부 시, 다음 사항을 준수하여야 한다.
 - 시험자 및 책임자 서명 필수 - 반드시 서명이 포함된 보고서를 이메일로 발송한다.
- 각 시험기관은 아이টে을 받고 시험 절차에 따라 분석된 시험 결과(결과보고서 및 참고 자료)를 아이টে을 받은 날로부터 2주 이내에 협회에 제출하여야 한다.
- 숙련도시험 완료 기일 이내에 결과 보고서가 제출되지 않을 경우, 또한 참가기관 간 결과에 대해 공모한 내용이 적발된 경우 이 숙련도시험에 참가하지 않은 것으로 처리한다.

9. 수행도 평가 기준(안)

- 검체의 product insert에 제시된 mutant DNA의 copy 수와 검사법 제조사에서 제공하는 검출 한계(limit of detection)에 근거하여 수행도를 평가한다.
- 각 검체별로 예상되는 결과는 다음과 같이 요약할 수 있다.

검체 \ 변이	T790M	Exon 19 del	L858R	Exon 20 insertion
음성	음성	음성	음성	음성
Low copy 양성	각 변이별 copy 수에 따라 가변적(음성 혹은 양성)			
High copy 양성	양성	양성	양성	양성

○ 검체 별 판정 기준(안)

1) 음성 검체

모두 음성으로 나온 경우에 만족으로 판정한다.

2) Low copy 양성 검체

(1) 참가 기관의 80% 이상이 일치하는 결과를 보고한 경우

- 그 값을 기준으로 판정한다.

(2) 참가 기관의 80% 이상이 일치하는 결과를 보이지 않은 경우

- Not graded로 판정을 하지 않는다

3) High copy 양성 검체

모두 양성으로 나온 경우에 만족으로 판정한다.

10. 프로그램 일정(안)

내 용		일정
숙련도시험 운영 계획서 작성 및 아이템 선정		8월
숙련도아이템 준비		9월 중순
숙련도 아이템 제조 및 평가	균질성 시험	9월 말~10월 초
	안정성 시험	
숙련도시험 참가신청 접수		9월23일~10월11일
숙련도시험 아이템 발송		10월28일
참가기관 결과입력기간		10월28일~11월8일
통계 및 결과보고서 작성		11월
숙련도시험 결과 검토		12월 초
최종 결과보고서 배포		12월 말

※상기 일정은 숙련도시험 프로그램 운영상 변경될 수 있음.

11. 기타사항

- 결과의 공모 혹은 위조가 의심될 시 참가자나 적용된 결과는 폐기하고, 차후 숙련도시험 프로그램의 참가에 제한을 둘 수 있다.

- 부 록 1. 숙련도시험 아이템의 균질성 및 안정성
2. 참가요강

[부록 1]

< 숙련도시험 아이템의 균질성 및 안정성 >

□ Horizon Discovery의 cfDNA Reference Standard Product Insert

HORIZON DISCOVERY

Product Insert

Research Use Only

Set Cat No: HD780

Batch: 28256

Template: 6135 USR-01 (V-03)

Multiplex I cfDNA Reference Standard Set

Product Handling:
Horizon Diagnostics recommends quantifying the material using preferred laboratory method and instrumentation prior to use.

Origin of Material:

- Horizon Diagnostics uses a proprietary genome engineering platform to precisely engineer mutations within human cancer cell lines.
- The cell line DNA is fragmented to an average fragment length of 160 bp which resembles cfDNA extracted from plasma.
- Additional information can be found on Product Specification Sheet (6135 PSS) on the website for this catalogue number.

Allelic Frequency Verification Data:

- Data is provided in Table 1-4. These values represent only the QC assays performed by Horizon using an input of 100 ng and are an average of 4 replicates (WT Conc (copies/μl) and Mutant Conc (copies/μl) values rounded to whole numbers, with the exception of 100% Multiplex I wt Mutant Conc (copies/μl) which is reported to 1 decimal place).
- Whole-exome sequencing data from the wild type cell lines, RKO and SW48, are available upon registration at: www.horizondiscovery.com/exomedata

Table 1: 5% Multiplex I cfDNA Reference Standard (Part No.: HD777)

Gene	Variant	Amplicon size (bp)	Expected AF (%)	WT Conc (copies/μl)	Mutant Conc (copies/μl)	Total Conc (copies/μl)
EGFR	T790M	117.0	5.0	1908	99	2007
EGFR	delE746-A750	110/95	5.0	2216	142	2358
EGFR	L858R	78.0	5.0	3736	188	3924
EGFR	V769-D770insASV	122/131	5.0	1976	84	2060
NRAS	Q61K	83.0	6.3	3092	210	3302
NRAS	A59T	66.0	6.3	3552	207	3759
PIK3CA	E545K	81.0	6.3	3016	188	3204
KRAS	G12D	80.0	6.3	2836	191	3027

Table 2: 1% Multiplex I cfDNA Reference Standard (Part No.: HD778)

Gene	Variant	Amplicon size (bp)	Expected AF (%)	WT Conc (copies/μl)	Mutant Conc (copies/μl)	Total Conc (copies/μl)
EGFR	T790M	117.0	1.0	1964	20	2004
EGFR	delE746-A750	110/95	1.0	2264	28	2312
EGFR	L858R	78.0	1.0	3884	32	3916
EGFR	V769-D770insASV	122/131	1.0	1980	16	1996
NRAS	Q61K	83.0	1.3	3268	36	3304
NRAS	A59T	66.0	1.3	3880	44	3924
PIK3CA	E545K	81.0	1.3	3228	39	3267
KRAS	G12D	80.0	1.3	2964	35	2999

Table 3: 0.1% Multiplex I cfDNA Reference Standard (Part No.: HD779)

Gene	Variant	Amplicon size (bp)	Expected AF (%)	WT Conc (copies/μl)	Mutant Conc (copies/μl)	Total Conc (copies/μl)
EGFR	T790M	117.0	0.10	2204	3	2207
EGFR	delE746-A750	110/95	0.10	2440	2	2442
EGFR	L858R	78.0	0.10	4248	4	4252
EGFR	V769-D770insASV	122/131	0.10	2172	1	2173
NRAS	Q61K	83.0	0.13	3484	3	3487
NRAS	A59T	66.0	0.13	4076	6	4082
PIK3CA	E545K	81.0	0.13	3432	5	3437
KRAS	G12D	80.0	0.13	3136	5	3141

Table 4: 100% Multiplex I wt cfDNA Reference Standard (Part No.: HD776)

Gene	Variant	Amplicon size (bp)	Expected AF (%)	WT Conc (copies/μl)	Mutant Conc (copies/μl)	Total Conc (copies/μl)
EGFR	T790M	117.0	0.00	2216	0.8	2217
EGFR	delE746-A750	110/95	0.00	2408	0.0	2408
EGFR	L858R	78.0	0.00	4208	0.0	4208
EGFR	V769-D770insASV	122/131	0.00	2144	0.0	2144
NRAS	Q61K	83.0	0.00	3348	0.2	3348
NRAS	A59T	66.0	0.00	4012	1.5	4014
PIK3CA	E545K	81.0	0.00	3336	0.8	3337
KRAS	G12D	80.0	0.00	3032	0.8	3033

Table 1-4: Allelic frequency and copy number data collected by Droplet Digital™ PCR (ddPCR). Other endogenous variants are present, however only the data presented is tested within each batch. *Not verified for expected AF, due to assay background, however variant was detected by ddPCR. †Not verified for expected AF, due to QC assay used demonstrated probe competition with NRAS Q61K, however variant was detected by ddPCR.

- 10 -

□ 제조 후 균질성 및 안정성 시험

○ 안정성 검사

- 표준물질 제조 후 2개월 이내에 소모되기 때문에 장기 안정성 검사는 실시하지 않음.
- 검체 제조 후에 모든 검체를 -70°C 에 냉동보관함.
- 제조 당일 냉동 후 2시간 이상 경과한 뒤에 각 레벨별로 4 검체 씩을 냉장고로 옮겨서 보관함.
- 안정성 평가를 위해 다음과 같이 테스트함.
 - 한 검체씩을 제조 당일에 검사하여 baseline으로 삼는다.
 - 제조 후 24시간, 48시간, 72시간 후 각 레벨 당 한 검체에 대해 검사를 시행함.
- 검체 선택 시 임의로(분주 순서 상 연속되지 않은) 튜브를 선택하는 것을 원칙으로 한다.
- 평가기준
 - ① 음성 검체는 모든 검체에서 모든 변이에 대해 음성이어야 함.
 - ② Low copy 양성 검체는 검체 별로 변이마다 다른 값을 보일 것으로 예상됨. 따라서 각 검체의 일관성 여부를 확인할 예정임.
 - ③ High copy 양성 검체는 모든 검체에서 모든 변이가 양성 결과를 보여야 함.

○ 균질성 검사

- 검체 제조 후에 -70°C 에 냉동보관한 검체들의 균질성을 평가함.
- 평가 일정: 각 레벨의 검체를 하루에 2개 씩 3일간 검사하여 세 레벨 각각 6개 씩의 검체에 대한 균질성을 평가함.
- 평가 내용: 핵산 추출 및 검사 실시 후 결과
- 평가기준
 - ① 음성 검체는 모든 검체에서 모든 변이에 대해 음성이어야 함.
 - ② Low copy 양성 검체는 검체 별로 변이마다 다른 값을 보일 것으로 예상됨. 따라서 각 검체의 일관성 여부를 확인할 예정임.
 - ③ High copy 양성 검체는 모든 검체에서 모든 변이가 양성 결과를 보여야 함.

[부록 2] 참가요강

진단검사의학분야
숙련도시험 참가요강
(혈장(plasma)에서의 EGFR 유전자 돌연변이 검출)
PT-2019-34

- 참가기관에 대한 지침서
- 참가신청서
- 아이탬수령증
- 숙련도시험 결과보고서
- 참고자료

대한임상검사정도관리협회 숙련도시험 프로그램

대한임상검사정도관리협회 Korean Association of External Quality Assessment Service



진단검사의학분야 숙련도시험 프로그램
(혈장(plasma)에서의 EGFR 유전자 돌연변이 검출)
PT-2019-34

이 숙련도시험의 결과를 적절하게 분석할 수 있도록 참가 시험기관은 아래 사항을 준수하여야 한다.

1. 개요 및 목적

- 이 숙련도시험은 진단검사의학분야 분자유전학검사 중앙세포유전학 검사 시험에 있어 숙련도시험 운영을 통해 메디컬시험기관의 분석능력에 대한 문제점 파악, 시험능력 개선, 시험결과의 품질보증 등 메디컬시험기관 및 진단검사의학 검사실의 시험능력을 향상시켜 국가 경쟁력을 높이고자 함에 목적이 있다.
- 숙련도시험은 진단검사의학분야 숙련도프로그램으로 메디컬시험기관 인정분류체계 중 대분류 분자유전학검사(2), 중분류 중앙세포유전학 검사(2.03) EGFR exon 검사에 대한 검체 검사 숙련도시험 프로그램이다.

2. 참가 요건

- 상기 목적 및 참가요강에 따라 시험 수행이 가능한 메디컬시험기관

3. 참가 신청 방법

- 이 숙련도시험 프로그램에 참가를 희망하는 시험기관은 참가신청서를 작성하여(접수기간: 9월 23일 ~10월 11일) 숙련도시험 운영기관인 대한임상검사정도관리협회에 이메일로 접수하여야 한다(이메일 주소 : keqas1@keqas.org).
- 접수마감 후 3주 내로 아이템의 배포와 참가요강 등이 배포된다. 시험기간은 총 2주로(10월 28일 -11월 8일) 안내되어 있는 마감기한을 지켜 제출해야 한다. 참가요강에 첨부되어 있는 아이템수령증과 결과보고서(참고자료 포함)를 작성하여 이메일로 발송한다. 차후 의견반영을 위해 설문조사서(참가기관에 별도 송부 예정)를 작성한 후 결과보고서와 함께 이메일로 발송한다.
- 일정 개요
1) 참가접수 2) 아이템배포 3) 수령증 이메일 발송 4) 설문조사서 작성 5) 결과보고서 이메일 발송
* 결과 제출 후 최종 숙련도결과 보고서와 공문은 이메일로 송부 됨.

4. 숙련도시험 아이템

4.1 형태 및 내용물

- 숙련도시험 아이템
 - 시료형태 : Frozen human plasma
 - 검체수 : 혈장 3개 바이알
 - 용량 : 2.3mL/바이알(vial)

4.2. 수령 및 보고

- 각 참가 시험기관은 숙련도시험아이템을 수령하는 즉시 내용물의 수량, 종류와 훼손 여부를 확인한 후 '수령증(붙임 2)'을 작성하여 수령 후 3일 내에 숙련도시험 프로그램 운영기관(대한임상검사정도관리협회)로 이메일 송부(서명된 스캔본)하여야 한다. 파손품 또는 결함 발생 시 신속한 연락 후 재발송을 요청한다.

4.3 취급 및 주의

- 아이템 수령 직후 숙련도시험아이템의 훼손 여부를 반드시 확인한다.
- 검체는 실험실의 일상적인 혈장 EGFR 돌연변이 검사용 검체와 동일하게 취급하여 가능한 빨리 검사를 실시한다.
- 숙련도시험 참가기관에 배포된 아이템은 수령 즉시 시험 전까지 냉동(-20℃ 이하)보관한다, 시험은 15-25℃의 상온에서 실시함을 권장한다.
- 검체 내에 혹시라도 잠재적인 다른 감염원의 존재를 부정할 수 없으므로 일반적인 「검체취급안전 규정」 절차에 따라 검체를 다루어야 한다.
- 사정에 따라 지체되는 경우 검체는 반드시 냉동(-20℃이하) 보관한다.

5. 시험 항목 및 방법

- 숙련도시험의 항목은 중앙세포유전학 중 혈장에서의 EGFR 유전자 돌연변이 검출이다.

구분	시험항목	결과치 (단위)	시험방법(장비)
Level 1-3	혈장 EGFR 돌연변이 검사	음성/양성	실시간유전자증폭장치

- 일상적으로 사용하는 방법 또는 국제표준, 국가표준, 단체표준 및 유효성이 검증된 방법(공정시험법 포함) 및 기타 숙련도시험에 관련된 절차는 KOLAS-R-003 : 2017 (숙련도시험 운영기준)에 따른다.
- 오염, 샘플링 결함 등이 시험 결과에 영향을 미칠 수도 있기 때문에 그 과정을 시험결과보고서에 작성하고, 시험 결과를 분석하는데 도움이 되는 자료와 함께 기재하여 보고 하도록 한다.

※ 참가기관은 시험 시 적용한 시험 방법을 ‘결과보고서(붙임 3)’에 명확하게 기입해야 한다.

6. 시험 시 주의 사항

- 실무자는 정확한 검사결과를 위하여 검사종목에 해당하는 검사지침을 숙지한 후 환자 검체와 동일한 방법으로 검사한다.
- 가능한 빠른 시일 내에 검사가 이루어져야 하나, 사정에 따라 지체되는 경우 검체는 반드시 냉동(-20℃ 이하) 보관한다.
- 시험 방법 절차
 - 해당 검체(시료)를 측정(분석) 전에 실온(20-25℃)에서 충분히 해동한다.
 - 해동이 확인되면 부드럽게 흔들어 주거나, 롤러 믹스(10분) 등을 이용하여 내용물이 충분히 혼합 되도록 한다.
 - 검사실에서 사용하는 핵산 추출 방법을 사용하여 핵산을 추출한다.
 - 검사실에서 사용하는 검사법으로 혈장 EGFR 돌연변이를 검사한다.
 - 결과는 검체당 양성/음성으로 표기한다.

7. 결과보고서 작성

- 시험 결과는 검사실의 보고 방식과 같은 방식으로 보고한다.
- 시험 결과를 포함하여 사용된 장비의 조건(시험 방법 및 시험 장비 등)을 ‘결과보고서(붙임 3, 4)’에 상세히 기술하여야 하며, 결과보고서에서 요구하는 모든 데이터를 기입하여야 한다. ‘결과보고서(붙임 3)’ 작성 및 송부 시, 다음 사항을 준수하여야 한다.
 - 시험자 및 책임자 서명 필수 - 반드시 서명이 포함된 보고서를 홈페이지에서 업로드한다.

- 각 메디컬시험기관은 아이টে을 받고 시험 절차에 따라 분석된 시험 결과(결과보고서 및 참고 자료)를 아이টে을 받은 날로부터 2주 이내에 숙련도시험프로그램운영기관 대한임상검사정도관리협회로 이메일로 발송하여야 한다.
- 숙련도시험 완료 기일 이내에 결과 보고서가 제출되지 않을 경우, 또한 참가기관 간 결과에 대해 공모한 내용이 적발된 경우 이 숙련도시험에 참가하지 않은 것으로 처리 될 수 있습니다.


8. 숙련도시험 결과의 수행도 평가 방법

- 정성검사이므로 물질 제조사에서 제공하는 측정 가능범위 정보에 근거하여 수행도를 평가한다. 단, 참가기관의 80% 이상이 일치하는 값을 보고하지 않은 경우 위원회 논의를 거쳐 not graded로 보고할 수 있다.

9. 연락처

- 숙련도운영기관
 - 기관명 : 대한임상검사정도관리협회
 - 주 소 : 서울 송파구 법원로 11길, 현대지식산업센터 B동 406호
 - 담당자 : 사업국장 전사일 / 이은숙
 - 전 화 : 02-744-6841
 - E-mail : keqas1@keqas.org
- 숙련도시험 아이টে을 제조 및 균질성·안정성 시험 수행에 대한 위탁기관
 - 기관명 : 울산의대 서울아산병원
 - 주 소 : 서울 송파구 올림픽로 43길 88
 - 담당자 : 프로그램운영자 이우창
 - 전 화 : 02-744-6841
 - E-mail : keqas1@keqas.org

[붙임1]

	<p>진단검사의학분야 숙련도시험 프로그램 (혈장(plasma)에서의 EGFR 유전자 돌연변이 검출) PT-2019-34</p>
---	--

<p>숙련도시험 참가신청서</p>

기관명			
시험실 책임자			
주 소	(우 :)		
시험 담당자		전화번호	
		E-mail	
참 가 프 로 그 램 명	혈장(plasma)에서의 EGFR 유전자 돌연변이 검출 PT-2019-34		


10월 11일까지 아래 이메일로 참가신청서를 보내주시기 바랍니다.

숙련도시험 운영기관(대한임상검사정도관리협회)

- 숙련도운영기관

- 기관명 : 대한임상검사정도관리협회
- 주 소 : 서울 송파구 법원로 11길, 현대지식산업센터 B동 406호
- 담당자 : 사업국장 전사일 / 이은숙
- 전 화 : 02-744-6841
- E-mail : keqas1@keqas.org

[붙임2]

	<p>진단검사의학분야 숙련도시험 프로그램 (혈장(plasma)에서의 EGFR 유전자 돌연변이 검출) PT-2019-34</p>
---	--

숙련도시험아이템 수령증

Lab Code


이 숙련도시험 프로그램의 원활한 진행을 위하여 참가 시험기관은 아이টে을 수령하는 즉시 이 서식을 작성하여 사인된 스캔본을(pdf) 숙련도시험운영기관으로 이메일 전송해 주시기 바랍니다.

숙련도시험 운영기관(대한임상검사정도관리협회)

- 주 소 : 서울 송파구 법원로 11길, 현대지식산업센터 B동 406호
- 담당자 : 사업국장 전사일 / 이은숙
- 전 화 : 02-744-6841
- E-mail : keqas1@keqas.org

숙련도시험 프로그램명	혈장(plasma)에서의 EGFR 유전자 돌연변이 검출 PT-2019-34		
수령기관			
수령인 성함		서명	
수령인 연락처			
수령물 수량			
수령시 파손여부			
수령시 운송상태			
수령시 아이টে을상태 (시험 가능여부)			
기타			
비고			

[붙임3]

	진단검사의학분야 숙련도시험 프로그램 (혈장(plasma)에서의 EGFR 유전자 돌연변이 검출) PT-2019-34
---	---

숙련도시험 결과보고서

Lab Code

1. 참가기관의 일반 현황

기관명	
담당부서	

2. 숙련도 아이템의 시험 결과

시험 항목		Level-1	Level-2	Level-3
혈장(plasma)에서의 EGFR 유전자 돌연변이 검출	Exon 19 deletion			
	Exon 20 insertion			
	T790M			
	L858R			


c.f. G719S 변이를 가지는 세포주로 제조한 표준물질이 사용되었으므로 G719X 변이의 검출 여부는 판정 대상이 아닙니다. 따라서 G719X 변이 검출 여부는 보고할 필요가 없습니다.

3. 시험기간 : 2019. . . - 2019. . .

※ 귀 참가기관에서 작성한 숙련도시험 결과보고서와 모든 참고 자료의 사인된 스캔본을 (pdf) 숙련도 시험 완료 기간 이내에 (11월 8일까지) 숙련도시험운영기관으로 이메일로 보내주시기 바랍니다. (keqas1@keqas.org)

시험자	(서명)
시험실책임자	(서명)
담당자연락처	
작성일	2019. . .

[붙임4]

	<p>진단검사의학분야 숙련도시험 프로그램 (혈장(plasma)에서의 EGFR 유전자 돌연변이 검출) PT-2019-34</p>
---	--

참고 자료

Lab Code

1. 숙련도시험아이템에 대한 의견

2. 시험과 관련된 사항

2.1 사용 장비(자세히 기술)

- 장비명 : _____
- 제조사 : _____
- 모 델 : _____

2.2 시험에 사용한 키트

- 제조사 : _____
- 제품명 : _____
- 로트번호 : _____

2.3 기타(etc.)