



## 2019 신종 코로나바이러스 검사 진단

용동은

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실 세균내성연구소

## Laboratory Diagnosis of 2019 Novel Coronavirus

Donggeun Yong

Department of Laboratory Medicine and Institute of Bacterial Resistance, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Corresponding author: Donggeun Yong, E-mail: [deyong@yuhs.ac](mailto:deyong@yuhs.ac), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1225-8477>

COVID-19 (Coronavirus Disease 2019)가 세계인의 생활을 바꾸었다. 2019년 12월 중화인민공화국 후베이성, 우한시에서 집단 발생한 COVID-19는 세계 각국에 광범위하게 유행하고 있다[1]. COVID-19의 임상양상, 역학적 특성이 구체적으로 밝혀질 때까지 우리나라에서는 ‘제1급 감염병 신종감염병 증후군’을 적용하여 대응하고 있다[2]. 우리나라의 대응 방향은 1) 조기인지를 통한 발생양상 파악, 2) 신속한 역학조사, 환자 및 접촉자 관리, 환경관리, 3) 예방 교육 홍보 강화로 정의되어 있으며, 구체적인 관리 정책은 감시, 역학조사, 관리, 및 교육·홍보·협력이다. 이들의 첫 단추는 환자와 집단 감염의 조기 발견이므로 신속, 정확한 검사를 통한 진단은 매우 중요하다고 하겠다. 이번 포토에세이에서는 신속 진단을 위하여 널리 사용되고 있는 검사 방법, 특히 real-time PCR과 판독에 대하여 학회원들의 이해를 돕고자 한다.

COVID-19의 진단법은 크게 유전자 검사법과 면역학적 방법이 있다. 미국 CDC에서는 유전자 검사법을 viral testing으로, 면역학적 방법은 antibody testing으로 기술하였다(Table 1) [3]. 이에서는 유전자 검사법 양성인 경우 ‘most likely’, 면역학적 방법 양성인 경우 ‘likely’로 COVID-19 감염 진단 유용성을 차등 기술하였다. 즉, viral testing은 현재의 감염 여부를 확인하는 용도이고, antibody testing으로는 과거 감염 이력 확인에 이용할 수 있다.

국내에서는 진단검사의학회가 질병관리본부와 함께 ‘코로나바이러스감염증-19 검사실 진단 지침’을 발표하였고,

이에서는 유전자 검사법의 적응증과 종류, 긴급 사용 승인 시약, 결과의 판독 및 보고에 대하여 설명하고 있다[4].

소개한 바와 같이, 유전자 검사법으로는 real-time reverse transcription PCR이 널리 사용되고 있다. 질병관리본부 감염병 분석센터와 세계보건기구(WHO)의 지침에는 E 유전자를 선별 검사로 포함하고 있으며, 확인 검사로는 ORF1b 유전자의 RdRp 부분 PCR을 권장한다. 임상 검체에서 비특이적이고 약한 증폭이 관찰될 수 있으므로, 이 두 유전자가 양성인 경우에만 COVID-19 양성으로 판독하게 된다. 현재는 ORF1a gene과 N gene을 대상으로 한 시약도 긴급사용승인을 받아 사용되고 있으며, 미국에서는 E gene, ORF1a gene, ORF1ab gene, S gene, N gene 등 국내보다 다양한 유전자 부위를 사용한 시약들이 긴급사용승인을 받았다[5].

2020년 5월 18일 현재 질병관리본부 홈페이지에 공고된 COVID-19 체외 진단목적으로 긴급 사용이 승인된 시약은 코젠바이오텍, 씨젠, 솔젠트, 에스디바이오센서, 바이오세움, BioCore사의 것이다[6]. 긴급사용 승인은 신종 감염병 또는 해외유입감염병에 대처하기 위하여 긴급한 사용을 목적으로 신속한 평가 및 심의를 진행하는 제도이므로, 지속적인 질 관리가 필요하며, 자료 및 검체 수집을 통한 양성/음성 검체의 교차 분석을 통한 검사성능 평가가 필요하다.

COVID-19의 확진에는 반복검사가 필요할 수 있다. 특히 상부 호흡기 검체로 시행한 검사에서 음성이더라도, 중증 또는 진행성 경과를 보이는 경우 하부 호흡기 검체를 반



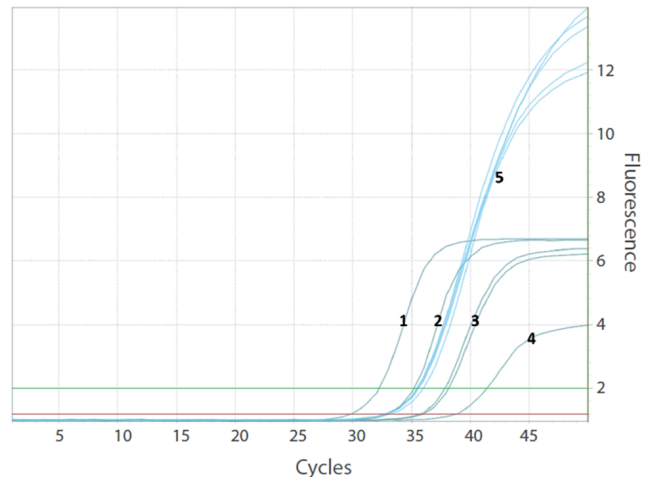
**Table 1.** CDC guideline for COVID-19 diagnosis in vitro [3]

	Result	Interpretation
Viral testing (testing for current infection)	Positive	<i>Most likely*</i> you DO <u>currently</u> have an active COVID-19 infection and can give the virus to others.
	Negative	<i>Most likely*</i> you DO NOT <u>currently</u> have an active COVID-19 infection.
Antibody testing (testing for past infection with the virus)	Positive	You <i>likely*</i> have HAD a COVID-19 infection.
	Negative	You <i>likely*</i> NEVER HAD (or have not yet developed antibodies to) COVID-19 infection.
Both (antibody and viral testing)	Viral Positive, Antibody Positive	<i>Most likely*</i> you DO <u>currently</u> have an active COVID-19 infection and can give the virus to others.
	Viral Positive, Antibody Negative	<i>Most likely*</i> you DO <u>currently</u> have an active COVID-19 infection and can give the virus to others.
	Viral Negative, Antibody Positive	You <i>likely*</i> have HAD and RECOVERED FROM a COVID-19 infection.
	Viral Negative, Antibody Negative	You <i>likely*</i> have NEVER HAD a COVID-19 infection.

\*No test is ever perfect. All tests occasionally result in false positive results (the test result should be negative because you DO NOT have COVID-19 but comes back positive) or false negative results (the test result should be positive because you DO have COVID-19, but comes back negative).

복 채취하고 검사하는 것을 추천하고 있다[6].

Real-time PCR은 유전자의 특정 표적 부분을 PCR의 원리로 증폭시킨 후 이를 전기영동 없이 실시간으로 측정하는 방법이다. Double strand DNA에 끼어 들어가는 사이버그린 등의 intercalator를 이용하는 방법과 형광물질이 결합된 probe를 이용한 방법이 있다. 두 방법 모두 형광 신호를 측정하는데 PCR cycle이 증가함에 따라서 형광 신호가 threshold (역치) 이상으로 증가하는 지점, 즉 threshold cycle (ct) 값을 얻을 수 있다(Fig. 1). 이 ct값과 형광 신호 증가 양상에 따라서 결과를 판독하게 된다 [7]. 양성대조물질은 양성, 음성대조물질은 음성 결과를 보여야만 하며, 표적 유전자가 target ct값 이하인 경우 양성으로 판정하게 된다. 양성 및 음성 대조물질의 결과가 예상과 다른 경우는 표적 유전자 결과와 무관하게 부적합 (invalid)로 판정하며, 재검이 필요하다. Fig. 1에서 보이는 바와 SARS-CoV-2 real-time PCR 증폭 곡선의 예와 같이 표적 RNA의 초기 농도가 100,000 copies/mL에서 10,000 copies/ml, 1,000 copies/ml, 그리고 100 copies/ml로 감소함에 따라서 ct 값이 반비례하여 34에서 43으로 증가하는 것을 관찰할 수 있다. 이와 같이 calibration 물질을 이용하여 검량곡선을 작성하고, 이를 역으로 대입하여 ct 값에서 초기 표적물질의 농도를 계산할 수 있다. 그러나, 이에는 유전체 추출효율, 초기 검체의 양, PCR 반응 효율 등 다양한 변수가 관여하기에 해석 및 적용에 주의가 필요하다. PCR 반응이 제대로 일어났는지를 보여주



**Fig. 1.** Example of amplification curve of SARS-CoV-2 real-time PCR. (1) RNA 100,000 copies/mL, (2) 10,000 copies/ml, (3) 1,000 copies/ml, (4) 100 copies/ml, (5) internal control [1].

는 internal control도 매 반응 tube마다 포함하여야 한다.

COVID-19 바이러스 검출 시기에 대하여는 아직 연구가 진행되고 있다. 접촉력이 분명한 환자에서 상기도 검체 1회의 음성 결과만으로 COVID-19 음성을 진단하기는 어렵다. 임상적으로 가능성이 있는 환자의 경우, 증상이 심해지거나 폐렴소견이 관찰되는 경우는 반복 검체 채취에 이은 재검이 필요하다[4]. 이와 같은 검사실에서의 업무를 이해하여 COVID-19 감염 환자와 집단발생의 조기 발견과 관리에 만전을 기하여야 하겠다.

## References

1. Pfefferle S, Reucher S, Nörz D, Lütgehetmann M. Evaluation of a quantitative RT-PCR assay for the detection of the emerging coronavirus SARS-CoV-2 using a high throughput system. *Euro Surveill* 2020;25:2000152.
2. 중앙방역대책본부, 중앙사고수습본부. 코로나바이러스 감염증-19 대응 지침 (지자체용). 8판, 청주, 세종; 중앙방역대책본부, 중앙사고수습본부, 2020:2-3.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Testing. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/testing/index.html> (Updated on 28 April 2020).
4. Korean Society for Laboratory Medicine, Korea Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for the laboratory diagnosis of COVID-19 in Korea. 3rd ed, Seoul, Cheongju; Korean Society for Laboratory Medicine, Korea Centers for Disease Control and Prevention, 2020:2,13.
5. Korean Society for Laboratory Medicine, Laboratory Medicine Foundation, Korean Association of Quality Assurance for Clinical Laboratory, Korean Society of Clinical Microbiology, Korean Society for Genetic Diagnostics, Korea Association of Referral Laboratories. COVID-19 (코로나19) 진단검사에 대한 담화문-3. [http://www.kslm.org/rang\\_board/list.html?num=16642&code=covid19\\_press](http://www.kslm.org/rang_board/list.html?num=16642&code=covid19_press) (Updated on 17 March 2020).
6. Korea Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.go.kr/> (Updated on date Mon Year).
7. Korean Society for Healthcare-associated Infection Control. Infection control and prevention in healthcare facilities. 5th ed, Seoul; Hanmi Medical Publishing Co., 2017:925-930.