

MERS-CoV 검사실 진단지침

(version 1.2)

2015-6-11

대한감염학회 · 진단검사의학회

1. 검사명

- 1) 한글명: 중동호흡기증후군 코로나바이러스 RNA 검사
- 2) 영문명: MERS-CoV RNA Detection

2. 환자 정의(case definition)

1) 확진 환자(confirmed case)

실험실 진단검사를 통해 MERS-CoV 감염이 확인된 자(증상과 징후에 상관없음)

* MERS-CoV 진단 검사 양성: 바이러스 유전자(핵산) 검사 양성 → 6번의 진단 기준

2) 의심 환자(suspected case)

(1) 발열과 동반되는 폐렴 또는 급성호흡기증후군(임상적 또는 방사선학적 진단)이 있으면서

- 증상이 나타나기 전 14일 이내에 중동지역*을 방문한자 또는(OR)
- 중동지역*을 방문한 후 14일 이내에 발열과 급성호흡기 증상이 나타난자와 밀접하게 접촉한 자**

(2) 발열과 호흡기 증상(기침, 호흡곤란 등)이 있으면서, 증상이 나타나기 전 14일 이내에 중동지역* 의료기관에 직원, 환자, 방문자로 있었던 자

(3) 발열 또는 호흡기 증상(기침, 호흡곤란 등)이 있고, 중동호흡기증후군 확진 환자가 증상이 있는 동안 밀접하게 접촉한 자**

(4) 발열과 호흡기 증상이 있으면서 증상 14일 이내에 중동호흡기증후군이 유행(한 의료기관에 2인 이상 발생)한 의료기관에 직원, 환자, 방문자로 있었던 자

*중동지역: 아라비아반도 및 그 인근 국가를 말함(바레인, 이라크, 이란, 이스라엘의 웨스트뱅크와 가자지구, 요르단, 쿠웨이트, 레바논, 오만, 카타르, 사우디아라비아, 시리아, 아랍 에미레이트, 예멘)

**밀접접촉자: 적절한 개인보호장비(가운, 장갑, N95 마스크, 고글 또는 안면보호구 등)를 착용하지 않고

- 환자와 2미터 이내에 머문 경우
- 같은 방 또는 진료/치료/병실에 머문 경우(가족, 보건의료인 등)
- 환자의 호흡기 분비물과 직접 접촉한 경우

3. 검체

1) 하기도 검체를 추천하지만, 하기도 검체를 채취할 수 없거나 질이 좋은 검체를 채취할 수 없는 경우는 상기도아 하기도 검체를 동시에 검사

(1) 하기도 검체: 객담, 기관지폐포흡인액(bronchoalveolar lavage, BAL), 기관흡인액 등

(2) 상기도 검체: 비인두/구인두 혼합검체, 비인두 흡인액

표. MERS-CoV 진단을 위한 검체

검체			채취 시기
검체 종류	검체 용기	검체량	
- 하기도 검체(권장) - 상기도 검체 (위음성 가능성 있음)	- 멸균 용기 - 바이러스 운송 배지	3 mL 이상	증상 발현 7일 이내

*필요에 따라 대변, 혈액 등에서 바이러스 유전자 검사 가능

2) 접촉자 선별 검사(필요시)

객담이 나오지 않기 때문에 상기도 검체(하나의 바이러스 운송 배지 안에 비인두 면봉과 구인두 면봉을 동시에 넣은 검체)를 사용 가능

4. 검체 채취

1) 주의 사항: 에어로졸 생성 시술인 기관지내시경, 객담 검사, 기도 흡인 등으로 검체를 채취할 때는 에어로졸 생성 시술시 감염예방 및 관리 지침을 따름

2) 의심 환자 또는 확진 환자에게서 혈액 등의 비호흡기 검체를 채취하는 경우도 N95 마스크 착용

에어로졸 생성 시술시 감염예방 및 관리

*에어로졸 생성 시술: 기관지내시경, 객담 검사, 안면 양압 호흡기계, 기관 삽관 제거, 기도 흡인 등

1. 환자 처치는 최소한의 의료 인력으로 수행하며 가능한 음압이 설치된
 곳이거나 1인실에서 처치
2. 의료진 개인보호장비 착용
 - 1) 의료진 개인보호장비: N95 마스크 이상의 호흡기 보호장비, 장갑, 긴소매
 가운, 고글 또는 안면보호구
 - 2) 처치를 하는 동안 격리실 출입은 최소화
 - 3) 시술 시 방 공기는 시간당 6-12회 급배기 될 수 있도록 병실 시설 설비 유지
 - 4) 환자 접촉 전·후, 개인보호장비 탈의 후 손위생 준수
 - 5) 격리실 사용 후 절차에 따라 청소하고 청소 후 일정 시간 비워둠(시간당
 12회 공기순환을 기준으로 30분 정도)

***확진 및 의심환자의 혈액은 감염성 물질에 준하여 취급**

5. 검체 포장 및 운송

1) 의료기관 내 검체 포장 및 운송

검체는 1차 용기에 담은 후 용기 표면을 70% 알코올 솜으로 닦아서
 탈오염시킨 후 지퍼백에 담고 2차 용기에 포장해서 운송

2) 외부 운송

(1) 검체는 1차 용기에 담은 후 파라필름을 감고 용기 표면을 70% 알코올
 솜으로 닦아서 탈오염

(2) 흡수제와 함께 지퍼백에 담고 2차 용기에 넣은 후, 검체가 2차 용기 안에서
 넘어지거나 굴러 다니지 않도록 고정하고 뚜껑을 잘 닫음

(3) 검체 관련 정보 기입지(검체시험 의뢰서)를 3차 용기 안에 넣은 후 포장(3중 포장)

6. 실험실 진단 기준

1) 분자 검사

다음의 분자 검사 중 한 가지 이상 양성인 경우

(1) 권장: MERS-CoV 특정 유전자 표적(*upE*, *ORF1a*, *ORF1b*, *N*) 중 2개의 real-time RT-PCR 양성

(2) MERS-CoV 특정 유전자 표적[*ORF1b (RdRp)*, *N*] 중 1개 RT-PCR 양성 및 PCR 산물의 염기순서 분석 확인

표. MERS-CoV 확인진단법 및 표적 유전자

	진단법	표적 유전자
확인 진단법	실시간 역전사중합효소연쇄반응	<i>upE</i> , <i>ORF1a</i> , <i>ORF1b</i> , <i>N</i>
	역전사중합효소연쇄반응- 염기순서분석	<i>ORF1b (RdRp)</i> , <i>N</i>

2) 혈청학적 검사

14일 이상의 간격으로 채취된 두 개의 혈청에서 혈청변환(sero-conversion)이 있을 때(선별 검사인 ELISA 또는 IFA와 확진 검사인 중화 시험 모두에서)

7. 검체 처리 및 검사 방법

- 1) 검사자는 철저한 개인보호장구 (감염관련지침 참조)를 착용하고, 생물안전작업대 class II에서 검체 처리
- 2) 검사법은 각 기관에서 사용하는 시약의 검사 지침서를 준수
- 3) 교차오염 방지를 위해 가급적 한 번에 한 검체씩 전처리 후 핵산 분리
- 4) WHO에서 권장하는 자동화 핵산 추출 장비 사용 가능: 검사자는 Level D 개인보호장비를 착용하고, 검체 분주는 생물안전작업대 class II에서 시행한 후 자동화 핵산 추출 장비에 장착한다.
- 5) 검사 전후 생물안전작업대 소독 등 실험실생물안전수칙 준수

8. 결과 판독 및 보고

1) 결과 판독 가이드라인

(1) 선별검사(*upE* 유전자)

- 증폭반응(-): 음성(NEGATIVE). 단, 임상 양상 고려하여 필요시 재검 권장
- 증폭반응(+), 그러나 $Ct > Cutoff$: 미결정(INDETERMINATED). 재검 권장
- 증폭반응(+), $Ct \leq Cutoff$: 선별검사 양성(SCREEN POSITIVE), 확인검사 시행

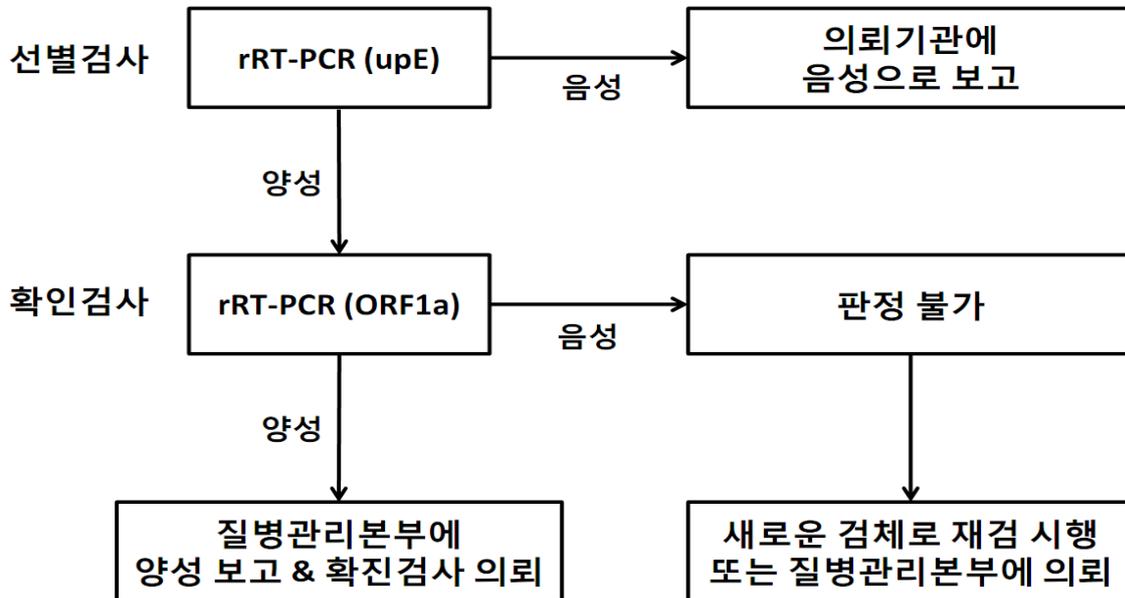
(2) 확인검사(*ORF 1a*, *ORF 1b* 등 *upE* 외 표적 유전자)

- 증폭반응(-): [INDETERMINATE], 재검 권장
- 증폭반응(+), 그러나 $Ct > Cutoff$: 불명확(EQUIVOCAL), 재검 권장
- 증폭반응(+), $Ct \leq Cutoff$: 양성(POSITIVE), 감염관리실 통보

2)

MERS-CoV *upE*와 *ORF1a* 유전자를 이용한 실시간 역전사중합효소연쇄반응

검사의 흐름도



3) 접촉력이 분명한 의심 환자에서 상기도 검체로 음성이 나오면 하기도 검체를 추가 및 외부 검사 의뢰

9. 결과 보고서

1) 검체의 기본 정보

환자 이름, 나이, 성별, 병록번호, 주민번호, 검체번호, 병동, 처방일자
검체 종류, 검체 채취 시간, 검체 접수 시간

2) 결과 보고

(1) 음성(NEGATIVE)

'선별검사 음성' → MERS-CoV 음성 보고함

(2) 미결정(INDETERMINATE)

'선별검사 미결정(INDETERMINATE)' 또는 '선별검사 양성, 그러나 확인검사 음성' → MERS-CoV 미결정(INDETERMINATE) 보고함. 새로운 검체로 재검사 권장

(3) 불명확(EQUIVOCAL)

'선별검사 양성, 그러나 확인검사 불명확' → MERS-CoV 불명확(EQUIVOCAL) 보고함. 새로운 검체로 재검사 권장

(4) 양성(POSITIVE)

'선별검사 양성 및 확인검사 양성' → MERS-CoV 양성(POSITIVE) 보고함.
감염관리실 통보

- 3) 검체의 질 등에 대한 비고 사항
- 4) 결과 보고 시간

10. 추가 검사

- 1) MERS-CoV 검사와 동시에 지역사회획득 폐렴 진단을 위한 검사실 진단을 모두 시행
- 2) 일부 문헌에서는 parainfluenza virus, rhinovirus, influenza virus A(H1N1)pdm09, herpes simplex virus, influenza virus B와 동시 감염이 보고되어 이에 대한 주의가 필요

11. 검사실 생물안전

1) 보호장비 사용

(1) Level D 개인보호구 착용: 모든 가검물을 다룰 때 일회용 장갑과 검사실 가운 착용, 덴탈마스크와 고글 (안경은 부적절하므로 안경 위에 고글 또는 안면보호대 착용)은 검체용기를 개봉하여 될 염려가 있을 때 착용. 검사 완료 후 반드시 보호구를 모두 벗고 손씻기를 실시한 이후 검사구역을 나간다.

* 보호구를 벗을 때 손이나 몸에 오염되지 않도록 주의

* N95 마스크 - 에어로졸발생 고위험 작업시 착용

(2) Class II급의 생물안전작업대 (음압시설이 필수는 아님) 작업. 생물안전작업대 업무 종료 후 장갑 벗을 때 반드시 손씻기 실시 및 작업용 가운(긴팔, 몸 전체를 커버, 뒤트임), 일회용 장갑 착용

(3) 기타 안전장비 - 장비는 제조사가 장착한 안전설비를 작동시켜서 사용
예) 원심분리기의 이중 덮개 장치: 감염성 검체를 원심분리할 때 BSC 안에서 버킷과 로터에 검체를 장착 및 탈착

(4) BSC 외부에서 검체를 다룰 때 의도치 않게 검체에 접촉하는 경우를 최소화

- (5) 검체 조작 완료 후 작업대는 70% 알코올로 소독
- (6) 감염성검체와 접촉하는 소모품은 가능한 일회용을 사용하고, 검체로 오염되었을 때 autoclave 해서 폐기

2) 일상적 검사 시 검체 취급 (생화학, 혈액학 및 기타 검사)

- (1) 혈액, 혈청, 소변 검체로 혈액학 또는 생화학검사를 실시할 때는 일반적인 임상검체와 동일하게 표준주의를 실시한다.
- (2) 혈액이외 체액 (예, BAL)에 대해 수기 세포수 산정, 도말제작(cytospin 등)을 해야 하는 경우에 BSC 사용
- (3) 호흡기검체, 기타 체액검체(대변 포함)는 감염성 검체로서 Class II 생물안전작업대에서 조작한다.

3) BSL-2 수준 검사실에서 통상적인 BSL-2 수준의 안전수칙을 지켜서 검사

- (1) 포르말린 고정 또는 다른 방법으로 불활성화된 조직의 병리학적 검사
- (2) 핵산추출물을 사용해서 분자생물학적 검사
- (3) Glutaraldehyde로 고정한 후 전자현미경 검경
- (4) 미생물검사실에서 세균 및 진균 배양물의 검사
- (5) 감염성검체의 3차(최종) 포장: 2차 용기까지 포장된 검체
- (6) 불활화된 검체(핵산추출용액에 담긴 이후 검체)

4) Class II BSC를 사용해서 수행해야 하는 행위

- (1) 감염성 검체 분주 또는 희석
- (2) 세균 및 진균배양을 위한 배지접종단계
- (3) 바이러스를 증식시키는 것을 제외한 감염성검체에 대한 진단검사의 수행
- (4) 감염성검체로부터 핵산의 추출
- (5) 현미경 검경을 위한 도말 제작시 화학적 고정 또는 열고정으로 균 사멸 시킨 후 검체를 BSC 밖으로 이동

* BSC 내에서 기구나 작업대가 오염이 발생하지 않도록 주의하고, 오염 발생시 탈오염을 실시

예) 위험한 행위 - 검체 피펫팅(필터 팁 사용 또는 일회용 드롭퍼 사용), 검체

분주 또는 희석시(작업대에 검체가 이동하는 부분에는 흡수불투성 매트를 반드시 사용), 피펫 조작시 너무 빠르게 또는 과도한 힘을 주는 행위(to-deliver형이 to-contain 형보다 안전), 일회용 피펫팁을 소독액이 든 폐기물통에 버릴 때 (폐기물통은 BSC 안에 두고 사용), 주사기 사용(가능한 사용금지), 소작행위(버너, 알코올 램프 사용금지), 필기(BSC안에서 금지)

* BSC의 탈오염: 필터교환 등이 필요할 때 fumigation 필요.

12. 참고 문헌

- 1) 질병관리본부 중동호흡기증후군 관리지침 3-3판(2015.6.7)
- 2) WHO. Laboratory Testing for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/WHO_interim_recommendations_lab_detection_MERSCoV_092014.pdf. Interim recommendations (revised). September 2014