

코로나바이러스감염증-19 검사실 진단 지침

Guidelines for the Laboratory Diagnosis of COVID-19 in Korea

제 5-1 판

2023년 3월 22일



대한진단검사의학회 코로나19 대응TF



중앙방역대책본부 진단분석단 진단총괄팀

코로나바이러스감염증-19 검사실 진단 지침

Guidelines for the Laboratory Diagnosis of COVID-19 in Korea

제 5-1 판

2023년 3월 22일

1. 개요
2. 환자 정의
3. 검사법의 종류
4. 검사법 별 적응증
5. 검사법의 선택
6. 검사법의 평가
7. 국내 승인 시약의 사용 조건
8. 검체의 종류, 선택, 채취
9. 검체의 포장 및 운송
10. 검체의 처리 및 검사 방법
11. 결과 판정
12. 결과 보고
13. 검사실 생물안전
14. 집필진 명단
15. 참고 문헌



대한진단검사의학회 코로나19 대응TF



중앙방역대책본부 진단분석단 진단총괄팀

1. 개요

본 문서는 2019년 겨울부터 2023년 현재까지 범세계적으로 유행하고 있는 코로나바이러스감염증-19, 약칭 코로나19 (Coronavirus Disease 2019, COVID-19)를 인체 유래 검체에서 진단하는 검사법에 대한 지침서이다.

코로나19의 통제를 위해서는, 빠르고 정확한 코로나19 검사를 대규모로 시행해야 한다. 그러기 위해서는 과학적 근거에 기반한 코로나19 검사 지침이 필수적이다. 대한진단검사의학회와 질병관리청은 과학적 근거와 전문가 의견을 기반으로 2020년 2월 11일 처음으로 본 지침을 제정하였으며 본 지침은 그 다섯번째 개정판이다. 세부적인 내용은 앞으로도 추후 과학적 증거와 전문가 검토를 통해 개정할 수 있다.

본 지침은 코로나바이러스감염증-19 진단체계를 구축하고 관리하기 위한 위탁사업인 “코로나19 검사 관리” 사업의 산물이며 발주 부서인 질병관리청 중앙방역대책본부 진단총괄팀과 수행기관인 대한진단검사의학회에 모든 소유권이 있다.

감염증의 국내 공식 명칭은 코로나바이러스감염증-19 (COVID-19)이며, 원인 병원체의 학명은 severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)이다 [1].

2. 환자 정의(Case definition)*

질병관리청 코로나바이러스감염증-19 대응 지침(지자체용) 최신판(2023.1.18.기준 제13-2판)을 따른다 [2]. 이 기준은 위기경보 수준에 따라 변경될 수 있다.

확진환자(Confirmed case)

- 임상양상에 관계없이 진단을 위한 검사기준*에 따라 코로나19 감염이 확인된 사람

* 코로나바이러스감염증-19 유전자(PCR) 검출, 바이러스 분리

3. 검사법의 종류

(1) 유전자 검사(molecular test)

유전자 검사는 SARS-CoV-2 특이 유전자를 증폭하여 검출하는 방법으로 실시간 역전사 중합효소연쇄반응(real-time reverse transcription polymerase chain reaction, real-time RT-PCR)이 가장 많이 사용된다. 이 방법은 민감도와 특이도가 가장 높아 전 세계적으로 코로나19 감염의 표준 검사법으로 사용되고 있다 [3-7]. 그러나 전용 장비와 시약, 숙련된 전문인력이 필요한 단점이 있다. 다른 유전자 검사법으로는 고리매개 등온증폭법(loop-mediated isothermal amplification method) 등의 등온증폭법 (isothermal amplification method)과 CRISPR 유전자를 이용한 검사법 등이 있다. 분자 검사도 유전자 검사와 동일한 의미로 혼용되어 사용되고 있다.

(2) 바이러스 배양 (virus culture)

바이러스를 세포 내에서 배양한 후, 바이러스의 증식이 확인되면, 유전자 검사 등을 이용하여 바이러스를 동정하는 방법으로, 살아 있는 바이러스를 확인할 수 있다. 그러나 민감도가 낮고, 검사 시간이 길며, 생물안전등급 3등급 이상의 시설이 필요하기 때문에, 의료기관에서 환자 진단을 위한 검사 용도로는 부적합하다 [8].

(3) 항원 검사(antigen test)

항원 검사는 단백질 등의 바이러스 구성 성분으로 이루어진 항원을 검출하는 검사법이다. 항원 성분은 유전자와 달리 증폭이 불가능하기 때문에, 코로나19의 항원 검사는 검체 안의 바이러스 양이 유전자 검사에 비해 적어도 1,000 배 이상 많아야 검출이 가능해서 민감도가 낮다 [9-13]. 특히 무증상기에 사용할 경우 민감도가 낮으며 교차 반응에 의한 위양성도 있다 [14-19]. 항원 검사에는 신속 항원 검사법과 정밀면역측정법 기반의 항원 검사가 있다.

(4) 항체 검사(antibody test)

항체 검사는 바이러스를 검출하는 대신, 바이러스에 반응하여 인간의 면역 체계가 생성한 항체를 검출하는 방법이다. 코로나19의 항체는 결합항체(binding antibody)와 중화 항체(neutralizing antibody)가 있으며, 감염 후 천천히 증가하기 때문에 감염 후 14일 이상 경과해야 충분히 생성되고, 환자의 면역 상태, 기저 질환, 감염 후 경과 시간, 검사하는 항체의 종류에 따라 변동이 크다 [20-23].

코로나19 항체 검사는 과거 감염력의 확인, 항체 유행률 조사, 치료용 항체 공여자 선별, 백신을 비롯한 면역 반응 연구에 사용된다. 급성기 진단이나 환자의 면역 상태를 판정하는 용도로는 권장되지 않는다 [20-28]. 과거 감염력을 확인하기 위해서는 결합 항체 가운데, 총 항체(total antibody) 또는 IgG 항체를 측정하는 것이 권장된다.

항체 검사법은 원리에 따라서 신속 항체 검사법과 정밀면역측정법 기반의 항체 검사법으로 구분되며, 정밀면역측정법 기반의 항체 검사법이 민감도, 특이도가 더 우수하다 [28-31]. 항체 검사는 코로나19 항체가 아닌 다른 항체에 교차 반응하여 위양성을 보일 수 있고, 국내의 코로나19 유행률은 아직도 낮기 때문에 위양성의 가능성이 높다. 따라서 항체검사는 99.5% 이상의 높은 특이도를 보이는 검사법을 권장한다 [28]. 백신을 접종한 환자에서 돌파 감염(breakthrough infection) 여부를 확인하려면 백신이 표적으로 하지 않는 항원을 표적으로 하는 항체 검사법으로 검사해야 한다.

4. 검사법 별 적응증

(1) 코로나19 유전자 검사

코로나19 유전자 검사는 다음의 적응증에 해당할 때 시행할 수 있다.

- 1) 코로나19 확진 환자의 선별
- 2) 원인 불명 호흡기 질환의 원인 감별

세부적인 내용은 질병관리청의 코로나바이러스감염증-19 대응 지침의 최신 기준을 따른다.

(2) 코로나19 항원 검사

대한진단검사의학회와 질병관리청은 무증상자에서 코로나19 항원검사를 사용하지 않을 것을 권고한다.

항원 검사의 낮은 민감도 및 특이도와, 낮은 국내 코로나19 유병률(2021년 11월 18일 기준)을 고려하면, 국내에서 코로나19 항원 검사를 무증상자 선별 목적으로 사용하기는 어렵다 [16, 18, 32-35]. 유럽 질병관리통제센터(ECDC)는 검사의 양성률이 10% 미만일 경우 무증상자 대상으로는 항원검사를 사용하지 않을 것을 권고하고 있다 [33]. 특히 타액이나 비강도말과 같은 자가 채취 검체를 사용한 항원검사의 민감도는 더 낮다 [14, 35-38].

다만 다음과 같은 제한적인 상황에서는 유증상자에서 증상 7일 이내에 국한하여 코로나19 항원검사의 사용을 고려할 수 있다.

- 1) 질병의 유병률이 매우 높아서 양성 예측도가 높아지는 상황.
- 2) 유전자 검사 결과가 48시간 이상 오래 지연되는 상황.
- 3) 효과적인 치료제가 있어 항원 검사의 결과가 위음성이 의심되더라도 예방적 치료를 시행할 수 있는 상황.

항원 검사를 시행할 경우에는 위양성, 또는 위음성의 가능성을 예방하기 위해 반드시 동시에 유전자 검사를 의뢰할 것을 권고한다 [39].

(3) 코로나19 항체 검사

대한진단검사의학회와 질병관리청은 코로나19의 급성기 진단 목적으로 시행하는 항체검사는 권고하지 않는다. 또한 코로나19 회복자나 백신 접종자의 감염 위험도 평가 목적으로 시행하는 항체검사도 권고하지 않는다. 코로나19 항체검사는 다음의 적응증에 해당할 때 시행할 수 있다 [24-26, 40, 41].

- 1) 코로나19의 항체 유병률 조사
- 2) 역학적 소견과 임상 소견으로 이전의 코로나19 감염이 강하게 의심되지만 유전자 검사에서 2회 이상 음성 또는 미결정 인 경우
- 3) 코로나19와 연관된 다기관염증후군(multisystem inflammatory syndrome)이 의심되어 원인 감별을 위해 시행하는 경우
- 4) 코로나19 완치 환자에서 치료 목적의 혈장 공여자 선별
- 5) 백신 접종의 효과에 대한 연구
- 6) 입국 시 코로나19 항체 검사 결과가 필수 조건인 국가의 입국 용도 [42]

5. 검사법의 선택

(1) 유전자 검사

대한진단검사의학회와 질병관리청은 코로나19의 진단을 위한 유전자 검사로 실시간 역전사 중합효소연쇄 반응법(real-time RT-PCR)을 권장한다.

유전자검사법에는 실시간 역전사 중합효소연쇄반응법 외에도 고리매개등온증폭법(loop-mediated isothermal amplification) 등의 다양한 등온증폭법(isothermal amplification method)이나 CRISPR 기반 검사법 등이 있다 [43-48]. 그러나 실시간 역전사 중합효소연쇄반응법 외의 검사법은 메타분석 결과 성능이 부족하거나, 연구 결과가 부족하여, 2023년 3월 현재 국내에서 사용에 신중한 검토가 필요하다 [44-48].

1) 실시간 역전사 중합효소연쇄반응법(real-time RT-PCR)

검사의 명칭

한글명: 코로나바이러스감염증-19 역전사 중합효소연쇄반응법

영문명: Coronavirus Disease 2019 real-time RT-PCR

대한진단검사의학회와 질병관리청은 반드시 2개 이상의 다른 부위를 표적으로 하는 real-time RT-PCR을 사용하고, 모든 유전자가 양성일 경우에만 양성으로 판정할 것을 권장한다.

최근 다양한 변이주의 출현이 일부 PCR의 표적 부위에서 위양성을 초래할 수 있음이 알려졌다 [49-59]. 또한 교차오염, 비특이적 증폭 등에 의한 위양성 사례도 확인되었다 [60-63]. 따라서 단일한 부위만을 검출하는 유전자 검사법의 사용은 권장하지 않는다. 검사법은 양성대조물질, 음성대조물질, 내부대조물질을 사용해야 하며, 내부대조물질은 검체와 동일한 반응 용기(well)에 포함되어 있어야 한다.

또한 민간의료기관에서 검사실 자체 제작 검사법(laboratory developed test)을 사용하거나, 식품의약품 안전처의 긴급 또는 정규 사용 승인을 받지 않은 시약을 진단 용도로 사용하는 것은 권장하지 않는다.

2) 실시간 역전사 중합효소연쇄반응법을 이용한 혼합검체 검사법(Pooling test using real-time RT-PCR) [62, 64-6]

대한진단검사의학회와 질병관리청은 무증상자 선별용으로 혼합검체 검사법을 사용하기 위해서는 사용 전에 반드시 성능 검증을 완료할 것을 권고한다.

혼합검체 검사법은 취합 검사법과 동의어이다. 코로나19의 혼합검체 검사법은 무증상자에서 코로나19 환자를 선별하기 위한 목적으로 여러 개의 상기도 검체를 혼합한 검체를 real-time RT-PCR으로 검사하는 방법이다 [64, 66-68]. 혼합검체를 이용한 선별 검사에서 양성이 나올 경우, 해당 혼합검체에 포함된 모든 개별 검체에 대해 각각 real-time RT-PCR을 시행하여 확인한다. 이 방법은 코로나19 의심환자의 확진 목적으로는 사용할 수 없으며, 무증상자의 선별 용도로 제한된다. 의심환자의 경우 개별 검체의 real-time RT-PCR을 권장한다.

혼합검체 검사법은 선별 목적의 검사로서 민감도가 최대한 유지되어야 하므로, 민감도 저하 가능성에 유의해

야 한다 [68, 69]. 민감도는 사용하는 수송배지, 핵산추출법, PCR 시약, 혼합 배수에 따라 달라질 수 있다 [70, 71]. 따라서 검사를 개설하기 전에 각 검사실에서 사용하려는 조건에 대하여 혼합검체 검사법을 적용할 수 있는지 엄밀하게 검증해야 한다.

대한진단검사의학회는 2020년 5월 1일 “상기도 검체의 혼합 검체를 이용한 코로나바이러스 감염증-19 분자 검사 프로토콜”을 공지하였으며, 검사법의 세부 내용은 해당 프로토콜을 확인하도록 한다 [66].

3) 신속분자검사법(Rapid automated molecular test)

대한진단검사의학회와 질병관리청은 신속분자검사법을 사용할 때, 성능이 충분히 검증된 시약과 장비를 사용할 것을 권장한다 [6].

검사법의 성능과 국내의 코로나19 유병률을 고려할 때 선별 목적으로만 사용할 것을 권장하며, 신속분자검사법에서 양성인 검체는 일반적인 real-time RT-PCR로 다시 확인해야 한다. 또한 민감도를 최대한 유지해야 하는 혼합검체 검사법에 사용하는 것은 권장하지 않는다.

코로나19의 신속분자검사법은 환자의 상태가 위중하거나, 긴급한 수술 등이 필요한 경우 짧은 시간 안에 코로나19 음성을 확인하는 것을 목적으로 하는 유전자 검사법이다 [72]. 기본적인 원리는 다른 유전자 검사법과 동일하지만 최적의 시약과 장비를 사용하여 시간을 단축하며, 보통 60분 이내에 결과를 확정할 수 있다. 신속분자검사법은 긴급한 상황에서 빠른 시간 내에 음성을 확인해야 하기 때문에 높은 민감도와 검체만 투입하면 결과까지 모든 과정이 자동으로 이루어지는 간편성이 유지되어야 한다.

범용의 유전자증폭기(thermocycler)와 반응 시간을 단축한 real-time RT-PCR 시약으로 신속분자검사법을 시행하는 것은 긴급한 상황에 적합하지 않아 권장하지 않는다. 모든 과정이 자동으로 이루어지지 않고, 장비가 소량의 검체를 처리하거나 짧은 시간의 반응을 검출하는데 적합하지 않기 때문이다.

(2) 항원 검사

특별한 권장 없음.

코로나19 항원검사에는 면역크로마토그래피법(immunochromatography: ICG)을 주로 사용하며, 형광면역검사법(fluorescent immunoassay: FIA), 화학발광 면역검사법(chemiluminescent immunoassay: CLIA), 등 다른 방법을 사용하기도 한다. 면역크로마토그래피법은 신속하고 결과 확인이 간편하여 현장검사로 가장 널리 사용된다. 그러나 민감도와 특이도가 불충분하고, 사용자에 따라 결과의 판정이 달라질 수 있다.

(3) 항체 검사

특별한 권장 없음.

코로나19 항체검사에는 화학발광 면역검사법(CLIA), 효소결합면역흡착검사법(enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA), 면역크로마토그래피법(ICG) 등을 사용한다 [29, 31]. 자동화 검사에 적합한 화학발광 면역검사법이 가장 널리 사용되고, 현장검사로 면역크로마토그래피법을 사용한다.

6. 검사법의 평가

정확한 코로나19 검사를 위해서는 검사법의 도입 전에 그 성능을 평가하는 것이 중요하다. 코로나19 검사법의 성능을 정확히 평가하기 위해서는, 제조사와 이해관계가 없는 독립적인 연구자가, 대상으로 시행하려는 환자군과 동일한 특성을 가진 대상군에서, 전향적인 방식으로 검체를 수집하여 STARD (Standards for Reporting Diagnostic Accuracy) 지침에 따라 실험을 수행하고 분석하는 것을 권장한다. 구체적으로는 다음과 같은 점을 신중히 고려해야 한다 [73, 74].

(1) 검사법을 어떤 목적으로 시행하는가? (검사 목적)

검사의 목적에는 유증상자의 진단, 무증상자 밀접 접촉자의 진단, 무증상자의 선별, 과거감염의 확인, 격리 해제 결정 등이 있다. 검사의 목적에 따라 요구되는 성능의 종류와 수준이 달라진다. 검사의 목적을 정할 때는 검사 결과에 따른 사후 조치(역학 조사, 격리, 치료 등)를 함께 고려해야 한다.

(2) 검사법을 어떤 대상을 상대로 시행하는가? (검사 대상)

검사의 대상은 검사의 목적에 따라 유증상자, 무증상 밀접 접촉자, 접촉력 없는 무증상자, 과거 감염 의심자, 고위험 직군 등이 있다. 대상에 따라 요구되는 성능의 종류와 수준이 달라진다. 유병률도 성능에 영향을 미치는 중요한 변수이다. 특히 유병률이 낮은 상황에서는 검사법의 정확도가 환자 치료와 공중보건에 큰 영향을 준다 [36, 75].

(3) 검사법을 평가하는 실험대상은 누구인가? (실험 대상과 검사 대상의 동일성)

평가하는 실험 대상은 검사 대상과 동일한 특성을 가져야 한다. 코로나19는 환자의 증상 유무, 감염 후 경과 시간, 검체 종류 등 다양한 요소에 따라 검체 안의 바이러스 양이 크게 달라지며, 이에 따라 검사의 정확도가 크게 영향받기 때문이다.

예를 들어 코로나19 무증상감염자를 대상으로 한 선별 목적의 검사법을 도입하기 위해서는 무증상자를 대상으로 선별 목적으로 시행한 평가를 통해 그 검사법의 성능을 입증해야 한다. 유증상자를 대상으로 평가하거나, 무증상자를 대상으로 하더라도 검출 시기가 선별 당시가 아닌, 확진 이후 바이러스 배출이 많은 시기일 경우의 검체를 검출하여 평가했다면 도입하려는 검사법의 향후 검사 대상과 해당 검사법의 성능 평가의 대상이 동일하지 않기 때문에 무증상자 선별 목적의 성능을 입증하였다고 보기 어렵다.

코로나19 진단법 평가 연구 가운데 많은 수가 대상 실험군을 정확히 선정하지 않거나 정확히 기술하지 않은 탓에 그 연구 결과를 일반화하기 어렵다 [72]. 특히 많은 연구는 편의 상 환자대조군 방식의 후향적 설계에 기반하고 있는데, 후향적 연구로는 검사의 대상군과 동일한 특성을 갖도록 설계하기 어렵기 때문에 검사법 검증에 한계가 있다. 후향적 연구로 검사법을 평가할 경우에는 연구의 한계점을 인식하고, 어떤 기준으로 환자를 포함하거나 제외하였는지, 환자는 노출 또는 시점으로부터 얼마나 경과되었으며 증상이 있었는지 등을 면밀하게 분석해야 한다.

(4) 평가하는 검사법은 어떤 특성을 갖고 있는가? (검사법의 특성)

평가하는 검사법에 대해서, 검사 전 단계, 검사 단계, 검사 후 단계에서 성능에 영향을 줄 수 있는 요소를 고려해야 한다. 사용하는 검체 종류, 검체 채취 방법, 검체 채취자, 검체 이송 및 보관 조건, 분석 대상 물질, 검사 원리, 분석적 성능, 결과 판독 기준 등 다양한 요소가 성능에 영향을 주기 때문에 명확히 확인하고 기술해야 한다.

(5) 비교 검사법으로는 무엇을 사용했으며 어떤 특성을 갖고 있는가? (비교 검사법의 특성)

비교검사법(comparative method)도 평가 검사법과 마찬가지로 특성을 명확히 기술해야 한다. 비교 검사법은 표준검사법(reference method)일 수도 있으나 그렇지 않은 경우도 있다. 표준검사법을 사용하는 경우에는 민감도와 특이도를 구할 수 있으나, 표준검사법이 아닐 경우에는 양성일치율과 음성일치율만을 구할 수 있으므로 결과의 해석에 주의해야 한다. 같은 검체로 평가 검사법과 비교 검사법을 실시하는 동일 검체 비교(head to head comparison)가 가장 좋다. 다른 검체를 사용할 경우 검체 차이에 따른 편향이 발생하지 않도록 실험을 계획해야 한다.

비교검사법의 선택 역시 역시 목적에 따라서 달라야 한다. 예를 들어 코로나19 항체검사의 특이도를 평가하기 위해서 PCR을 표준검사법으로 사용하면, 감염 회복자에서 채취한 PCR 음성, 항체 양성인 검체가 포함되어 특이도가 저하될 수 있다. 따라서 이를 보완하는 방법을 강구해야 하는데, 코로나19 유행 이전에 수집된 검체를 사용하는 것도 좋은 방법이다.

7. 국내 승인 시약의 시행 조건

2023년 3월 13일 기준 국내에서는 총 138개의 코로나19 진단시약이 정식허가되어 있다. (유전자 검사 시약 52개, 항원검사 시약 62개, 항체 검사 시약 24개) 최신 정보는 식품의약품안전처 홈페이지의 코로나19 진단시약 국내 정식허가 현황(공고/공시)을 참조한다 [76]. 승인에는 정식 허가와 긴급 사용 허가가 있으며, 각각 사용할 수 있는 조건이 다르다.

(1) 정식 허가 시약을 사용한 검사의 시행 조건

원칙적으로 ‘감염병 예방 및 관리에 관한 법률’ 제16조2의 감염병병원체 확인기관이라면 어디나 식품의약품안전처에서 정규 승인한 허가 시약을 사용하여 진단 목적 검사를 시행할 수 있다. 그러나 코로나19의 진단검사가 국민 보건과 국가 방역에 중대함을 고려하여, 검사 질관리를 통해 검사 오류 발생을 최소화 하여 검사 정확도와 신뢰도를 제고할 필요가 있다. 이에, 질병관리청과 대한진단검사의학회에서는 코로나19 검사기관에 대해 아래 사항을 준수할 것을 권고한다.

- 1) 검사기관 자체적으로 실험실 진단검사 내부정도관리지침 마련 및 준수
: 시약 비교시험 평가, 개별·취합검사 성능평가, 장비 호환성 평가 등
- 2) 대한임상검사정도관리협회 실시 코로나바이러스감염증-19 외부 정도관리 연 1회 이상 참여

(2) 응급선별검사용 긴급사용 승인 시약을 사용한 검사의 시행 조건

응급선별검사용 긴급사용 시약의 승인제도는 응급환자의 신속한 조치 지연을 방지하고자 시행한 것으로 제도의 취지에 맞게 검사를 시행하는 것이 필요하다. 이에, 응급선별검사용 긴급사용 승인 시약을 사용한 검사는 응급의료법에 따른 응급의료기관에서 시행할 수 있다.

8. 검체의 종류, 선택, 채취

(1) 검사법에 따른 검체 선택

1) 유전자 검사

가. 일반 사항

- 코로나19의 검사실 진단 검사에는 호흡기 검체를 권장한다 [5, 6, 77, 78].
- 유증상자에서 진단을 위한 검체는 증상 발현 후 가장 빠른 시기에 채취하는 것을 권장한다. 확진을 위해서는 반복 검사가 필요할 수 있으며, 특히 무증상자나 밀접 접촉자의 검사일 경우 1회의 검사만으로 불충분할 수 있다 [3, 4, 79, 80].
- 검체는 충분한 양의 임상 검체를 적절한 방법에 따라 채취할 것을 권장한다.
- 검체 용기, 수송 조건, 보관 기간에 대해서는 표 1을 참조한다.
- 불활화 물질(inactivating agent, 예: 수소결합 억제제(chaotropic agent))이 함유된 분자검사 전용 수송 배지를 사용하면 검체를 더 안전하게 취급할 수 있다 [81, 82]. 일반적인 바이러스 수송 배지(예: universal transport media)는 바이러스의 생존력을 유지시키는 것이 목적이기 때문이다.

표 1. 검체 용기, 수송 조건, 보관 기간 [5, 78, 103, 104]

검체 종류	용기	수송 조건	보관 기간	주
상기도 검체 : 비인두도말, 구인두도말, 비인두흡인액	바이러스 수송 배지(VTM) 또는 분자검사 전용 배지에 넣은 Dacron 또는 flocked 면봉	4℃	5일 이내: 4℃ 5일 초과: -70℃	
하기도 검체 : 객담 ¹	멸균 용기	4℃	48시간 이내: 4℃ 48시간 초과: -70℃	하부 호흡기에서 유래한 검체가 맞는지 확인 후 검사를 시행하는 것이 권장된다.
하기도 검체 : 기관지폐포세척액	멸균 용기	4℃	48시간 이내: 4℃ 48시간 초과: -70℃	병원체가 희석될 수 있으나, 진단적 가치가 있다.
하기도 검체 : 기관지흡인, 경기관지흡인	멸균 용기	4℃	48시간 이내: 4℃ 48시간 초과: -70℃	
하기도 검체 : 폐 조직검사	생리식염수를 넣은 멸균 용기	4℃	48시간 이내: 4℃ 48시간 초과: -70℃	
혈청, 혈장, 전혈	혈청: 혈청 분리 시험관(SST) 혈장, 전혈: EDTA 시험관, citrate 시험관 성인, 소아 3-5 mL, 유아 1 mL	4℃	5일 이내: 4℃ 5일 초과: -70℃	

나. 상기도 검체

비인두도말(nasopharyngeal swab), 구인두도말(oropharyngeal swab),
인두흡인(nasopharyngeal aspirates) 등

다. 하기도 검체

객담(sputum)*, 기관지세척액(bronchial washing), 기관지흡인(tracheal aspirates),
경기관지흡인(transtracheal aspirates), 기관지폐포 세척액(bronchoalveolar lavage),
경기관폐생검(transbronchial lung biopsy) 등.

* 농성 객담이 없더라도 심호흡 후 깊이 기침하여 객담 통으로 바로 뱉도록 한다.

* 객담 유도는 에어로졸 발생으로 인한 감염 전파 우려가 있기 때문에 금기이다 [83].

라. 기타 검체

대한진단검사의학회에서는 일반적인 상황에서 무증상자의 진단 목적으로 타액(saliva), 비강 도말(nasal swab) 등 자가 채취 호흡기 검체의 사용을 권장하지 않는다.

상기도 검체, 하기도 검체의 대체제로서 타액, 비강 도말, 양치액(mouthwash, gargling)를 이용한 코로나 19 진단에 대해서는 최근 들어 활발한 연구가 있다 [84-87]. 이 검체들은 스스로 채취할 수 있어 채취가 간편하다는 장점이 있다. 그러나 최근의 전향 연구 결과를 종합해보면 무증상자에서 타액 검체와 비강 도말 검체의 민감도는 비인두도말 검체의 민감도에 비해 유의하게 낮았다 [88-92]. 또한 타액 검체나 비강도말 검체만을 이용한 취합검사는 개별 타액 검체나 비강도말 검체를 사용한 검사보다도 민감도가 더욱 낮다 [93-96].

따라서 이러한 검체는 반복적인 검체 채취가 필요하거나, 비인두도말 검체 채취가 어려운 환자에서는 고려할 수 있으나, 사전에 위음성의 가능성을 신중히 검토해야 한다 [3, 4]. 또한 스스로 채취하는 과정에서 감염의 전파 가능성에 대해서도 대비해야 한다.

호흡기 아닌 다른 부위의 감염이 의심되는 경우, 진료 의사와 진단검사의학과 전문의의 협의를 통해 해당 부위의 검체를 사용하여 유전자 검사를 실시할 수 있으나, 위음성 가능성을 신중히 고려해야 한다 [97-102].

2) 항원 검사

항원검사의 경우 주로 상부 호흡기 검체를 사용한다. 호흡기 검체에 대한 세부 사항은 1) 유전자 검사의 설명을 참조한다.

3) 항체 검사

항체검사의 경우 일반적으로 혈청분리시험관에 채취한 혈청 검체 또는 혈장 검체를 사용한다. 면역크로마토그래피 법은 주로 전혈을 사용한다.

(2) 환자 정의에 따른 검체의 선택(모든 검사법에 공통) [2, 5, 7, 105-107]

1) 증상이 없거나 경미한 환자

- 상기도 검체 가운데 비인두도말 검체를 우선적으로 권장한다. 영아와 같이 비인두도말 검체 채취가 어려운 경우 구인두도말을 채취한다 [2, 106].
- 비인두도말과 구인두도말을 동시에 채취하여 한 개의 수송 배지에 담은 검체는 통상적인 용도로는 권장하지 않는다 [108].
- 하기도 검체의 경우, 객담의 배출이 가능한 환자의 경우에는 객담을 함께 의뢰할 수 있으나, 객담 유도는 비말을 통한 감염의 전파 우려가 있어 금기이다 [3].

2) 증상이 심한 환자, 분비물이 있는 객담(productive cough)이 있는 환자, 기관 삽관을 시행한 환자

- 하기도 검체를 채취하되, 가능하면 상기도 검체도 함께 채취하여 검사한다.

3) 상기도 검체에서 음성이지만, 폐렴 등의 소견이 의심되거나, 증상 후 시간이 경과하였을 것으로 추정되는 환자

- 상기도 검체를 다시 채취하면서 추가로 하기도 검체를 채취한다.

4) 기타

혈액 검체는 항체 검사를 위해 채취할 수 있다. 환자를 진찰한 의사와 진단검사의학 전문의가 협의하여 필요하다고 판단한 경우 기타 검체를 채취할 수 있으나 기타 검체를 이용한 검사 결과 해석에는 주의가 필요하다.

(3) 검체를 채취할 때의 주의사항(모든 검사법에 공통) [2, 78, 105, 107, 109-112]

- 가. 에어로졸 생성 기술인 객담 검사, 기도 흡인, 기관지내시경 등으로 검체를 채취할 때는 에어로졸 생성 기술 시 감염예방 및 관리 지침을 따른다(표 2 참조).
- 나. 상기도 도말 검체, 특히 비인두도말 검체의 채취는, 호흡기 해부 구조에 대한 이해가 필요하고 채취 과정이 침습적이므로, 의료인이 시행하는 것을 권장한다.
- 다. 비인두도말 검체의 경우 잘못된 방식으로 채취하면 환자에게 큰 불편감을 주고, 검사의 민감도도 낮춘다 [113]. 비강으로 면봉을 삽입한 후 외이도 방향으로 수평하게, 단단입천장(hard palate)과 평행한 방향으로 부드럽게 삽입한다. 삽입 깊이는 일반적으로 비강에서 외이도구멍까지 거리의 절반 정도이다. 비인두에 닿은 느낌이 들면 두세 번 부드럽게 회전하거나 10-15초 정도 가만히 놓아두어 검체가 면봉에 충분히 흡수되도록 한다 [114].
- 라. 하기도 검체, 객담 검체를 채취할 경우에는 가능한 1인용 음압실에서 채취할 것을 권장하며, 음압실 사용이 어려운 경우 자연 환기가 잘 되는 독립된 공간을 사용할 수 있다.
- 마. 확진 환자 또는 의사 환자에서 혈액 등 비호흡기 검체를 채취하는 경우도 검체 채취자는 호흡기 보호를 포함한 개인보호장비를 착용한다(N95, KF94 등급 이상의 마스크, 장갑, 가운(몸 전체를 커버, 긴팔, 뒤트임), 고글 또는 안면보호구).

표 2. 에어로졸 생성 시술 시의 감염예방 및 관리 [105, 110, 115, 116]

1. 에어로졸 생성 시술
: 객담 채취, 기도 흡인, 기관지내시경, 안면 양압 호흡기계, 기관 삽관 제거 등
2. 감염예방 원칙
 - 가) 환자 처치는 최소한의 의료 인력으로 수행
 - 나) 개인보호장비 착용: N95, KF94 또는 동일한 등급 이상의 호흡보호구, 전신보호복, 일회용 장갑, 눈 보호구(고글 또는 안면보호구). 불활화 후에는 일회용 가운 착용 가능
 - 다) 환자 접촉 전·후, 개인보호장비 탈의 후 손위생 준수
3. 시술 장소
 - 가) 환자 처치는 시간 당 12회 이상 급배기 되는 1인용 음압실 사용을 권장. 음압실 사용이 어려운 경우, 환자 1인 당 160 L/s의 자연환기가 되는 독립된 공간을 사용할 수 있음.
 - 나) 격리실 사용 후 절차에 따라 소독하고 소독 후 일정 시간 비워둠(시간 당 12회 공기순환을 기준으로 30분 정도).
 - 다) 처치를 하는 동안 격리실 출입은 최소화

9. 검체의 포장 및 운송(모든 검사법에 공통) [104, 107, 117]

(1) 의료기관 내 검체 포장 및 운송

- 1차 용기는 나사마개로 밀봉이 되고 파손 위험이 적은 플라스틱 재질이어야 한다 (예: 50 mL 원추형 용기 (conical tube), 면봉을 담은 바이러스 수송 배지(VTM))
검체에 환자 정보는 반드시 식별자 2개 이상(예: 이름, 환자번호)을 기록하고, 검사 의뢰에 필요한 정보를 적절히 포함하여 기록한다. 에탄올로 소독 후 검체 정보가 지워지거나, 검체 바코드가 훼손된 경우 반드시 다시 기록하여 식별이 용이하고 정확하게 이뤄질 수 있도록 한다.
- 1차 용기의 외부는 반드시 70% 에탄올을 비롯한 적절한 소독제로 소독한 후 지퍼백에 담고 2차 용기에 포장해서 운송한다. 2차 용기는 밀폐된 상태로 충격에 견딜 수 있어야 한다. 또한 감염성 물질임을 식별할 수 있도록 한다.
- 의료기관 내 검사실로 운송하는 경우, 반드시 인편으로 운송하도록 한다. 운송 경로로 인적이 드문 경로를 택하고, 엘리베이터는 전용으로 지정하는 것을 권장한다. 운송자는 검체 누출 시 오염 제거(spill decontamination) 방법을 숙지하여 만약의 누출 사고에 대비하도록 한다.
- 검체 수령 시 2차 용기 내 눈에 보이는 누출이 없는 경우, 70% 에탄올을 비롯한 적절한 소독제로 소독 후 재사용할 수 있다. *

* 2차 용기 재사용 시 소독 방법: 70% 에탄올 또는 sodium hypochlorite (염소 농도 0.1% 또는 1,000 ppm)로 균일하게 분무 또는 침지 후 1분간 반응 처리. 염소는 피부 등 인체 독성이 강하므로 장갑 착용 및 환기 등 작업 시 유의 필요

(2) 외부 운송

- 카테고리 B 감염성물질 포장기준(UN 포장기준 P650)에 따른 3중 안전포장이 원칙이다 [117].
- 1차 용기는 나사마개로 밀봉이 되고 파손 위험이 적은 플라스틱 재질이어야 한다.
- 1차 용기의 외부는 반드시 70% 에탄올을 비롯한 적절한 소독제로 소독하고, 충분한 양의 흡수제로 둘러싼 후, 1차 용기의 마개 부위가 위쪽을 향하도록 2차 용기에 넣고, 방수와 누수 방지를 위해 O-링이 포함된 스크류 캡 등 견고한 마개로 닫는다. 흡수제는 1차 용기 내 감염성 물질의 양을 모두 흡수할 수 있을 정도로 충분히 넣는다.
- 3차 용기 안에 수송 중 외부 충격을 감소시키기 위한 에어비닐 등 충격완화제를 넣고, 2차 용기는 흔들리지 않도록 고정시킨다. 검체 관련 정보 기입지(검체시험 의뢰서)는 2차 안전 수송용기와 3차 포장 용기 사이에 넣는다. 필요할 경우 감염성물질의 내용 및 용량을 2차 안전 수송용기 표면에 부착한다.
- 3차 수송용기 겉면에 보내는 사람, 받는 사람, 응급상황 시 연락처 및 카테고리 B 감염성물질을 나타내는 UN3373 표식을 부착한다.
- 본 지침에 명시되어 있지 않은 자세한 지침은 질병관리청의 “감염성물질 안전수송 지침” 최신판과 “코로나바이러스감염증-19 대응 실험실 생물 안전가이드” 최신판을 참고한다 [104, 115].

10. 검체의 처리 및 검사 방법 [78, 115, 116]

(1) 실시간 역전사 중합효소연쇄반응법

검사자는 적절한 개인보호장비*를 착용하고, 생물안전 2등급(BL2) 수준의 검사실 안에서 Class II 이상의 생물안전작업대(BSC)에서 검체를 처리한다.

에어로졸을 발생시킬 가능성이 있는 행위는 항상 생물안전작업대 내에서 실시한다. 부득이하게 생물안전작업대 밖에서 검체 용기를 개봉한다면 N95 이상의 호흡 보호구†를 포함한 개인보호장비를 필수적으로 착용하고 작업 종료 후 검사대를 소독한다.

피펫 작업 시 필터가 장착된 팁(filtered tip)을 사용한다.

* N95, KF94 또는 동급 이상의 호흡보호구, 전신보호복, 일회용 장갑 등.

† 전동식 공기 정화 호흡기(powered air-purifying respirator) 권장

- 1) 생물안전작업대에서 핵산 추출 또는 불활화 과정을 완료한 검체는 통상적인 검체에 준하여 표준주의를 준수하며 취급할 수 있다.
- 2) 검사법은 각 기관에서 사용하는 검사 표준절차서와 시약제조사의 검사 지침서를 준수한다. 현재 의료기관의 검사실에서는 다양한 핵산 추출법과 다양한 진단용 real-time RT-PCR 시약을 사용하고 있으며, 검사 과정에서 절차 상의 차이가 존재한다. 대한진단검사의학회에서는 홈페이지를 통하여 COVID-19 분자진단검사의 세부사항에 대한 전문가 의견을 제시하고 있다.
- 3) 핵산추출과정 및 핵산 분주과정에서 교차오염을 방지하는 절차를 준수한다.
 - 상용화된 제품 사용 시 시약 제조사 권장 지침을 따르며, 그 외에 교차 오염을 방지하기 위해 필요한 모든 조치를 취한다.
 - 모든 과정에서 실험실 생물안전 지침을 준수하며, 공기가 충분히 순환되며 내부로 재순환되지 않는 격리된 생물안전 2등급 이상의 검사실에서, 호흡기 보호를 포함한 적절한 개인보호장비(N95, KF94 등 동급 이상의 마스크, 장갑, 가운(몸 전체를 커버, 긴팔, 뒤트임), 고글 또는 안면보호구)를 착용하고 사용한다. 핵산추출을 완료한 후에는 개인보호장비를 탈의할 수 있다.
 - 자동화 핵산 추출 장비를 사용하는 것을 권장하며, 이 작업은 생물안전작업대 바깥에서 시행할 수 있다. 자동화 핵산 추출 장비를 사용하지 않을 경우 Class II 이상의 생물안전작업대에서 시행한다.
- 4) 작업 종료 후, 또는 검체 오염 시에는 작업대를 적절한 소독제(70% ethanol, 0.5% hydrogen peroxide, sodium hypochlorite (염소농도 0.1%, 1,000 ppm) 1분간 반응처리), 일반적인 바이러스 살균제 등 적절한 소독제로 소독한다. 환경부에서 허가된 방역용 살균 소독제도 사용할 수 있으며, 희석배율과 접촉 시간 등은 제조사 권장사항을 따른다.
- 5) 검체의 폐기: 모든 감염성 폐기물은 환경부의 “코로나바이러스감염증-19 관련 폐기물 안전관리 특별대책”에 따라 처리한다. 코로나바이러스-19 검사에서 음성이 확인된 잔여 검체는 일상적인 검사의 폐기물과 동일하게 환경부 지침에 따라 처리할 수 있다.

(2) 혼합검체 검사법

- 1) 공통적인 사항은 앞 절의 실시간 역전사 중합효소연쇄반응법을 참조하며, 세부 사항은 대한진단검사의학회의 프로토콜을 참조한다 [64, 66].
- 2) 혼합 배수의 결정은 초진 환자의 바이러스 양, 사용하는 핵산 추출법과 PCR 시약의 성능을 종합적으로 고려해야 한다. 일반적으로는 5-6개 이하의 검체 혼합이 권장된다.
- 3) 새로 검사를 시작하거나, 검사법을 바꾸기 전에는, 사용하려는 핵산 추출법과 PCR 시약의 조합에 대해 최소 30개 이상의 양성 검체로 평가하여, 사용하려는 혼합 배수에서 100%의 민감도가 나오는지 확인하는 것을 권고한다. 검증 과정에서 Ct 값이 30 이상 cutoff 이하인 검체를, 다양하게 Ct 값을 선택하여 전체 검체의 최소한 1/3 이상 포함할 것을 권고한다. 이러한 권고는 국내에서 2020년 10월까지 의료기관과 검사전문기관에서 신환으로 보고된 환자의 Ct 값 분포에 근거한 것이다 [16, 66].
- 4) 검체 혼합은 반드시 작업대생물안전작업대 내부에서 개인보호장구를 착용하고 시행하며, 혼합 과정에서 교차 오염이 발생하지 않도록 유의한다.

(3) 신속분자검사법

- 1) 신속분자검사법은 검사의 특성상 양성, 음성대조물질을 사용하지 않는 경우가 많으므로, 반드시 내부대조물질을 사용해야 하며, 내부대조물질은 검체와 동일한 반응 용기(well)에 포함되어 있어야 한다.
- 2) 신속분자검사법을 사용하기 이전에 최소한 30개 이상의 양성 검체로 충분히 성능 검증을 할 것을 권고한다. 검증 과정에서 Ct 값이 30 이상 cutoff 이하인 검체를, 다양하게 Ct 값을 선택하여 전체 검체의 최소한 1/3 이상 포함할 것을 권고한다. 이러한 권고는 국내에서 2020년 10월까지 의료기관과 검사전문기관에서 신환으로 보고된 환자의 Ct 값 분포에 근거한 것이다 [16, 66].
- 3) 검체 투입 과정에서 비말 발생의 우려가 있을 경우 해당 과정은 반드시 생물안전상자 안에서 진행하며, 검사자는 개인보호장구를 착용하고 시행한다. 기타 사항은 제조사 권고 사항을 따른다.

(4) 항원 검사

- 1) 검사자는 적절한 개인보호장비*를 착용하고, 생물안전 2등급(BL2) 수준의 검사실 안에서 Class II 이상의 생물안전작업대(BSC)에서 검체를 처리한다. 에어로졸을 발생시킬 가능성이 있는 행위는 항상 생물안전작업대 내에서 실시한다.

생물안전작업대가 없는 환경에서 호흡기 검체로 코로나19 항원 검사를 시행하려면, 표 3의 3항과 같이 에어로졸 생성 시술을 시행할 수 있는 장소에서 개인보호장비를 착용한 후 시행할 수 있다.

* N95, KF94 또는 동급 이상의 호흡보호구, 전신보호복, 일회용 장갑 등.

- 2) 검사법은 각 기관에서 사용하는 검사 표준절차서와 시약제조사사의 검사 지침서를 준수한다.

- 3) 작업 종료 후, 또는 검체 오염 시에는 작업대를 적절한 소독제(70% ethanol, 0.5% hydrogen peroxide, sodium hypochlorite (염소농도 0.1%, 1,000 ppm) 1분간 반응처리), 일반적인 바이러스 살균제 등 적절한 소독제로 소독한다. 환경부에서 허가된 방역용 살균 소독제도 사용할 수 있으며, 희석배율과 접촉 시간 등은 제조사 권장사항을 따른다.
- 4) 검체의 폐기: 모든 감염성 폐기물은 환경부의 “코로나바이러스감염증-19 관련 폐기물 안전관리 특별대책”에 따라 처리한다. 코로나바이러스-19 검사에서 음성이 확인된 잔여 검체는 일상적인 검사의 폐기물과 동일하게 환경부 지침에 따라 처리할 수 있다.

(5) 항체 검사

- 1) 코로나19 환자의 혈액은 일반적으로 바이러스 양이 매우 적은 것으로 알려져 있으나, 일부 중증 환자에서는 전염력이 있을 가능성을 배제할 수 없다.
- 2) 화학발광 면역검사법과 같은 자동화된 항체 검사법을 사용할 경우 제조사의 권장 사항을 따른다.
- 3) 면역크로마토그래피법이나 효소결합면역흡착검사법과 같이 수기로 작업하는 과정이 있는 검사법을 사용할 경우 비말 발생에 유의하고 필요시에 생물안전상자 안에서 개인보호장구를 착용하고 시행한다. 기타 사항은 제조사 권고 사항을 따른다.

11. 결과 판정

(1) 실시간 역전사 중합효소연쇄반응법

1) 개별 유전자 검사의 양성, 음성 판정 기준

- 양성대조물질 양성, 음성대조물질 음성, 표적유전자 Ct가 기준치(cutoff)이하: 해당 유전자 양성^{*†}
- 양성대조물질 양성, 음성대조물질 음성, 내부대조물질 증폭, 표적유전자가 미검출: 해당 유전자 음성
- 음성대조물질 양성 또는 양성 대조물질 음성인 모든 경우: 부적합(invalid). 표적유전자와 내부대조물질 결과에 관계없이 재검사 필요.

^{*} 내부대조물질(internal control) 증폭과 무관함.

[†] 표적 유전자 Ct가 기준치 이상인 경우에는 2) 최종 판정 참조.

바이러스 역가가 낮은 기준치 근처 결과는 위음성이나 위양성의 가능성이 있기 때문에, 진단검사의학과 전문의가 결과를 직접 판독하고, 필요한 경우 검체를 다시 채취하거나, 추출부터 재검사를 시행한다.

2) 최종 판정

대한진단검사의학회와 질병관리청은 2개 이상의 부위^{*}를 표적으로 하는 유전자 검사를 사용해서, 모든 표적이 양성일 경우에만 코로나19 진단검사 양성으로 판정할 것을 권장한다.

코로나19 확진 이력이 없는 환자에서 최초 검사 결과가 미결정인 경우는 반드시 검체를 새로 채취하여 재검사할 것을 권장한다.

다음 판정 기준은 코로나19를 새로 확진할 때에만 적용하며, 이미 확진된 환자의 치료 과정에서는 바이러스의 감소로 기준치 이후 증폭된 경우에도 양성으로 판정할 수 있다.

- 모든 유전자 양성: 코로나바이러스감염증-19 양성(SARS-CoV-2 검출)
- 모든 유전자 음성[†]: 코로나바이러스감염증-19 음성(SARS-CoV-2 미검출)
- 일부 유전자만 양성이거나 기준치 이후 증폭된 경우: 미결정(indeterminate)

^{*} 단일한 부위만을 표적으로 하는 유전자 검사는 코로나19 진단용으로 권고하지 않는다. 표적은 반드시 다른 유전자에 위치할 필요는 없으나, 같은 유전자의 서로 다른 부위일 경우에는 그 두 부위가 충분히 떨어진 곳에 위치한 검사법을 사용하는 것을 권장한다.

[†] 모든 유전자 음성이며 내부대조물질 증폭도 일어나지 않은 경우에는 부적합(invalid)으로 재검사가 필요하다.

3) 주의 사항

● 위음성

코로나바이러스의 잠복기는 일반적으로 4-6일 정도로 알려져 있으나, 개인 간의 편차가 크고, 노출 시기가 명확하지 않은 경우도 많다 [118-120]. 따라서 상기도 검체 1회의 음성 결과만으로는 코로나19를 배제하기는 어렵다 [106]. 1회의 검사에서 음성이 나왔으나, 임상적으로 코로나19의 가능성이 높을 것으로 판단되는 경우에는 일정한 시간 후에 상기도 검체를 반복 채취하여 검사를 시행한다. 증상이 심해지거나 영상에서 폐렴 소견이 관찰되는 경우 하기도 검체를 채취하여 재검사하는 것을 고려할 수 있다.

위음성의 주요 원인은 다음과 같다 [79, 121, 122].

1. 너무 이르거나 늦은 시기의 검체 채취
2. 부적절한 검체의 질과 양
3. 부적절하게 취급하거나 운송한 검체
4. 변이 바이러스
5. 검체 내에 억제물질의 존재
6. 검사 전 항바이러스제 또는 영향을 줄 수 있는 약물 투여

위음성의 해결 방안

1. 상기도 검체만으로 시행한 검사에서 음성이었던 경우, 상기도 검체를 재채취하거나 하기도 검체를 추가 채취하여 재검사한다. 위음성으로 추정하는 결과가 시약 특성이나 바이러스의 변이에 의한 것으로 추정될 때는 다른 유전자 검사 시약을 사용하여 재검사하는 것을 고려할 수 있다.
2. 환자 검체와 양성대조물질, 음성대조물질을 함께 검사하고, 모든 반응에서 내부대조물질을 함께 검사하고 결과를 확인한다.
3. 잔여 검체를 참고 검사실로 보내어 검사한다.
4. 임상적, 역학적으로 코로나바이러스감염증-19이 의심되는 환자에서 반복해서 PCR 음성이 나오면 코로나19 항체 검사를 고려한다.

● 위양성

위양성의 원인에는 분석 전 단계 오류와 분석 단계 오류가 있다 [60-63, 123-126]. 현재까지 국내 검사실에서 확인된 위양성은 대부분 분석 전 단계 오류로 판단된다.

분석 전 단계 오류(pre-analytical error)

가장 흔한 원인은 검체 뒤바뀜 또는 전처리 단계에서 다른 양성 검체로부터의 교차 오염 (cross-contamination) 이다 [122].

분석 단계 오류(analytical error)

유전자의 비특이적 증폭, 형광 오류, 교차 반응 등이 원인이다 [125-127]. 그러나 현재까지 국내에서 승인된 진단 시약에서 모든 표적 유전자가 검출되면서도 비특이적 반응 또는 교차 반응으로 확인된 사례는 없다. 분석 단계 오류를 예방하기 위해서는 반드시 2개 이상의 부위를 표적으로 하는 시약을 사용해야 한다.

일부 시약은 2개 이상의 부위를 표적으로 하지만, 형광 신호가 동일하여 구분이 어려운 경우가 있다. 이런 경우 비특이적 반응에 취약할 수 있기 때문에, 제조사는 비특이적 반응과 코로나19 유전자의 증폭을 구분할 수 있는 방안을 강구해서 사용자에게 제공해야 한다.

위양성의 해결방안

1. 재검사를 시행해서 결과가 동일하지 않으면 위양성으로, 동일하면 양성으로 판단할 수 있다. 교차 오염의 가능성이 있을 경우에는 추출한 핵산을 다시 증폭하는 것으로는 불충분하므로, 검체를 다시 추출하거나 새로운 검체를 채취해야 한다.
2. 환자의 병력과 임상을 확인하여 코로나19 감염의 가능성을 검토할 수 있다. 검사의 양성률을 추적 관찰하거나, 양성인 플레이트의 배치를 고려하는 것도 좋은 방법이다 [62, 65].

(2) 혼합검체 검사법

전체 증폭 과정 가운데 어느 한 개의 유전자라도 증폭이 관찰되면, 선별검사 양성으로 보고한다. 혼합검체에서 양성일 경우에는 해당 혼합검체에 혼합된 모든 검체를 개별적으로 검사한다.

1) 혼합검체의 개별 유전자 검사 판독

- 양성대조물질 양성, 음성대조물질 음성, 기준치와 무관하게 최종 증폭 cycle까지 표적유전자 증폭: 양성*
- * 담당 전문의가 증폭 곡선의 비특이적인 반응이 아닌 것으로 판단한 경우
- 양성대조물질 양성, 음성대조물질 음성, 내부대조물질 양성 최종 증폭 cycle까지 표적유전자 미증폭: 음성
- 내부대조물질 음성, 최종 증폭 cycle까지 표적유전자 미증폭: 부적합으로 재검사
- 음성대조물질 양성 또는 양성 대조물질 음성인 모든 경우: 부적합으로 재검사

2) 최종 판정

- 1개 이상의 유전자 양성: 선별 검사 양성, 모든 검체의 개별 검사 실시.
- 모든 유전자 음성: 선별 검사 음성. 모든 환자에 대해 음성으로 보고.

(3) 신속분자검사법

모든 유전자 가운데 일부만 나와도 선별 양성으로 간주하고, 개별 검사를 실시할 것을 권장한다.

현재와 같이 코로나19 국내 유병률이 낮은 상황에서는 신속분자검사법의 특이도는 충분하지 않아 검사의 양성 예측도(positive predictive value)가 낮다. 따라서 신속분자검사 결과는 선별검사 결과로만 간주되어야 하고, 코로나19 검사의 최종 확인은 일반적인 real-time RT-PCR로 확인해야 한다.

신속분자검사법은 개별 검체마다 검사를 진행하는 특성 상 내부대조물질만을 사용하는 경우가 대부분이기 때문에, 양성대조물질, 음성대조물질 결과에 따른 판정 기준은 제시하지 않는다.

- 모든 유전자 양성: 선별 검사 양성, 일반 real-time RT-PCR 실시하여 확인
- 1개 이상의 유전자 양성: 선별 검사 양성, 일반 real-time RT-PCR 실시하여 확인
- 모든 유전자 음성, 내부대조물질 양성: 선별 검사 음성. 최종 음성
- 모든 유전자 음성, 내부대조물질 음성: 부적합, 재검사

(4) 항원 검사, 항체 검사

- 양성, 음성의 판정은 제조사 지침을 따른다.
- 면역크로마토그래피법의 경우 판독자에 따라 다르게 판독할 수 있기 때문에, 제조사의 지침을 엄격히 준수해야 한다.

12. 결과 보고

(1) 검체의 기본 정보

환자 이름, 나이(생년월일), 성별, 관리번호(병록번호), 검체번호, 병동, 처방일자, 검체 종류, 검체 채취 일시

(2) 검사 결과

검사결과는 다음과 같이 보고한다.

1) Real-time RT-PCR 검사 결과

- 음성(negative)
- 불확정(indeterminate), 미결정(inconclusive), 모호(equivocal)*, †: 새로운 검체를 채취하여 재검사할 것을 권장
- 양성(positive): 즉시 보고

* 본 지침에서는 이 용어들의 차이를 명확하게 구분하지 않으며, 이 가운데 어떤 용어를 선택할지는 검사실에서 판단할 수 있다.

† 확진력이 없는 환자에서 최초 검사 결과가 미결정인 경우는, 잠복기에 해당할 수 있으므로, 반드시 검체를 새로 채취하여 재검사를 시행하는 것을 권장한다.

위의 결과 항목 외에 Ct (threshold cycles) 값을 함께 보고하는 것은 권장하지 않는다 [128-130].

현재 승인된 코로나19 유전자검사는 모두 정성검사용이다. 호흡기 검체는 성상이 균질하지 않고 채취량도 일정하지 않으며, 시약 간의 차이도 있기 때문에 Ct 값의 변동이 심하다 [130-133]. 국내외에서 실시한 코로나19 유전자검사 외부정도관리에서 동일한 물질을 대상으로 10-27의 Ct 값 차이를 보였다 [131-134]. Ct 값을 근거로 격리 해제와 같은 임상적 판단을 내리는 것은 오류의 가능성이 높다 [128-130, 135, 136].

2) 혼합검체 검사 결과

- 음성(negative)
- 혼합검체 양성(positive in pooled specimens): 개별 검체 검사 결과 필요

3) 신속분자검사 결과

- 음성(negative)
- 양성(positive)

4) 항원 검사 결과, 항체 검사 결과

- 음성(negative)
- 불확정(indeterminate), 미결정(inconclusive), 모호(equivocal)
- 양성(positive)

(3) 비고 사항

검체의 질 등 특이사항

(4) 결과 보고 시각

전문이가 판독 결과를 전산으로 보고한 시각

13. 검사실 생물안전 [8, 115, 116, 137]

(1) 일반 사항

가. 검사 인력

대한진단검사의학회와 질병관리청은 코로나19 백신 접종을 완료한 직원만이 검사를 수행할 것을 권장한다.

나. 개인 보호 장비

- 검사자는 감염 가능성이 있는 모든 가검물을 다룰 때 표준주의(standard precaution)를 준수한다. 일회용 장갑과 가운(몸 전체를 커버, 긴팔, 뒤트임) 착용, 마스크*와 고글 또는 안면 보호구(검체 용기를 개봉하여 튜브 염료가 있을 때 착용, 안경과 함께 착용할 경우에는 안경 위에 착용)를 사용한다.

* 수술용 마스크(surgical mask), 덴탈 마스크(dental mask) 등

- 에어로졸이 발생할 수 있는 고위험 작업 시에는 생물안전작업대 내에서 작업하거나, N95 또는 KF94 등급 이상의 호흡 보호구를 착용한다. 호흡보호구는 항상 착용 후 fit-test를 수행하여 적합하게 착용했는지 확인한다.

- 검사 완료 후 반드시 보호구를 모두 벗고 손위생을 실시한 후 검사구역을 퇴실한다.

- 보호구를 벗을 때 손이나 몸에 오염되지 않도록 주의한다.

다. 작업 공간과 도구

- 에어로졸이 발생할 수 있는 모든 절차(예, 보텍스 교반)는 Class II 이상의 인증된 생물안전작업대에서 시행한다. 원심분리기는 이중덮개 장치가 장착된 것을 사용하고, 원심분리를 위해 bucket 및 rotor에 원심관을 넣거나 빼내는 작업 시에는 물리적 밀폐장비인 safety bucket 및 sealed rotor 등을 사용한다. 생물안전작업대 바깥에서 시행하는 절차는 노출을 최소화하는 방식으로 시행한다.

- 검체를 처리한 후에는 작업 공간과 장비를 70% 에탄올 또는 다른 적절한 소독제로 소독한다.

- 감염성 검체와 접촉하는 소모품은 가능한 일회용을 사용한다.

- 모든 감염성 폐기물은 환경부의 “신종 코로나바이러스 격리 의료폐기물 관리 특별대책”에 따라 처리한다.

- 코로나바이러스감염증-19 검사에서 음성이 확인된 잔여 검체는 일상적인 검사의 폐기물과 동일하게 환경부 지침에 따라 처리할 수 있다.

(2) 코로나바이러스감염증-19 검사에 대한 개별 사항

가. 다음 작업은 생물안전 3등급 이상의 시설에서만 시행한다.

- 바이러스의 세포 배양
- 살아있는 바이러스 세포주의 취급
- 침강 또는 필터법 등을 이용한 바이러스 농축

나. 다음 작업은 생물안전 2등급 수준의 시설과 Class II 등급 이상의 인증된 생물안전작업대에서 시행한다.

- 검체의 자검체 분주(aliquoting) 또는 희석
- 세균 또는 진균 배양 배지에 접종
- 감염성 검체에 대하여 바이러스 증식 과정을 포함하지 않는 진단검사 수행
- 감염성 검체의 핵산 추출 과정
- 화학적 고정 또는 열 고정을 이용한 현미경 검경용 도말 검체 제작

다. 다음 작업은 생물안전 2등급 이상의 시설의 작업공간에서 시행한다.

일상적 검사(혈액검사, 생화학검사 등) [109, 138, 139]

- 혈액, 혈청, 소변 검체 등으로 일상적 검사(혈액검사, 생화학검사, 면역혈청검사 등)를 실시할 때는 감염성 에어로졸의 발생 가능성을 고려하여 위험도 평가를 수행한 후 적절한 경우에 한해 일반적인 임상 검체와 동일하게 취급할 수 있다. 자동화 장비를 이용하는 경우에는 정규검사 검체에 준해 시행할 수 있다.
- 일반적으로 용기의 뚜껑을 여는 행위(decapping)는 위험도가 낮은 행위로 알려져 있다. 다만, 뚜껑 및 용기의 디자인에 따라 다를 수 있으므로, 원심분리, 교반, 분주 등의 필요성 여부를 고려하여 위험도 평가를 시행한 후 검사 진행을 결정한다. 위험도가 높은 경우에는 생물안전작업대의 사용을 고려한다.
- 혈액가스분석과 같은 현장검사도 위험도 평가를 수행한 후, 안전하다고 평가된 후에 수행하여야 한다.
- 자동 분석기는 검체 처리 후나 예정된 유지 보수 점검 전에 검사실 지침에 따라 소독한다.
- 혈액 외의 체액(예, CSF)에 대해 수기 세포수 산정, 도말제작(cytospin 등)을 해야 하는 경우에는 생물안전작업대에서 고정작업을 시행한다. 고정된 후에는 생물안전작업대 밖에서 표준주의 준수하여 검경할 수 있다.
- 호흡기 검체 및 기타 검체의 처리는 Class II 이상의 인증된 생물안전작업대에서 시행한다.

14. 집필진 명단

대한진단검사의학회

김 소 연	국립의료원 진단검사의학과
김 재 석	한림의대 진단검사의학과
김 택 수	서울의대 진단검사의학과
김 현 수	한림의대 진단검사의학과
노 경 호	국민건강보험 일산병원 진단검사의학과
류 남 희	계명의대 진단검사의학과
박 윤 희	연세의대 진단검사의학과를
성 문 우	서울의대 진단검사의학과
성 흥 섭	울산의대 진단검사의학과
이 재 현	전북의대 진단검사의학과
이 혁 민	연세의대 진단검사의학과
허 희 재	성균관의대 진단검사의학과
홍 기 호	연세의대 진단검사의학과

질병관리청

중앙방역대책본부 진단분석단 진단총괄팀

15. 참고 문헌

1. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020;5(4):536-44.
2. 중앙방역대책본부, 중앙사고수습본부. 코로나바이러스감염증-19 대응 지침 (지자체용) 13-2판. <http://ncov.kdca.go.kr/shBoardView.do?brdId=2&brdGubun=28&ncvContSeq=7112> (Updated on Jan 27, 2023).
3. Hanson KE, Caliendo AM, Arias CA, Hayden MK, Englund JA, Lee MJ, et al. The Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Molecular Diagnostic Testing. *Clin Infect Dis.* 2021.
4. Hanson KE, Caliendo AM, Arias CA, Englund JA, Lee MJ, Loeb M, et al. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19. *Clin Infect Dis.* 2020.
5. World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331501> (Updated on Mar 19, 2020).
6. Bohn MK, Mancini N, Loh TP, Wang CB, Grimm M, Gramegna M, et al. IFCC Interim Guidelines on Molecular Testing of SARS-CoV-2 Infection. *Clin Chem Lab Med.* 2020;58(12):1993-2000.
7. World Health Organization. Diagnostic testing for SARS-CoV-2: interim guidance. <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2> (Updated on Sep 11, 2020).
8. Kaufer AM, Theis T, Lau KA, Gray JL, Rawlinson WD. Laboratory biosafety measures involving SARS-CoV-2 and the classification as a Risk Group 3 biological agent. *Pathology.* 2020;52(7):790-5.
9. Karon BS, Donato L, Bridgeman AR, Blommel JH, Kipp B, Maus A, et al. Analytical sensitivity and specificity of four point of care rapid antigen diagnostic tests for SARS-CoV-2 using real-time quantitative PCR, quantitative droplet digital PCR, and a mass spectrometric antigen assay as comparator methods. *Clin Chem.* 2021.
10. Perchetti GA, Huang ML, Mills MG, Jerome KR, Greninger AL. Analytical Sensitivity of the Abbott BinaxNOW COVID-19 Ag Card. *J Clin Microbiol.* 2021;59(3).
11. Corman VM, Haage VC, Bleicker T, Schmidt ML, Mühlemann B, Zuchowski M, et al. Comparison of seven commercial SARS-CoV-2 rapid point-of-care antigen tests: a single-centre laboratory evaluation study. *Lancet Microbe.* 2021;2(7):e311-e9.
12. Arnaout R, Lee RA, Lee GR, Callahan C, Cheng A, Yen CF, et al. The Limit of Detection Matters: The Case for Benchmarking Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Testing. *Clin*

Infect Dis. 2021.

13. Bräunlich J, Hoheisel R, Dinse-Lambracht A. Comparison of SARS-CoV-2 antigen testing to RT-PCR in a real-world setting-an observational cohort study. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2021;102(1):115531.
14. Ford L, Lee C, Pray IW, Cole D, Bigouette JP, Abedi GR, et al. Epidemiologic Characteristics Associated With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Antigen-Based Test Results, Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (rRT-PCR) Cycle Threshold Values, Subgenomic RNA, and Viral Culture Results From University Testing. *Clin Infect Dis.* 2021;73(6):e1348-e55.
15. Kretschmer A, Kossow A, Grüne B, Schildgen O, Mathes T, Schildgen V. False positive rapid antigen tests for SARS-CoV-2 in the real-world and their economic burden. *J Infect.* 2021.
16. Lee J, Kim SY, Huh HJ, Kim N, Sung H, Lee H, et al. Clinical Performance of the Standard Q COVID-19 Rapid Antigen Test and Simulation of its Real-World Application in Korea. *Ann Lab Med.* 2021;41(6):588-92.
17. Ogawa T, Fukumori T, Nishihara Y, Sekine T, Okuda N, Nishimura T, et al. Another false-positive problem for a SARS-CoV-2 antigen test in Japan. *J Clin Virol.* 2020;131:104612.
18. Oh SM, Jeong H, Chang E, Choe PG, Kang CK, Park WB, et al. Clinical Application of the Standard Q COVID-19 Ag Test for the Detection of SARS-CoV-2 Infection. *J Korean Med Sci.* 2021;36(14):e101.
19. Velavan TP, Pallerla SR, Kremsner PG. How to (ab)use a COVID-19 antigen rapid test with soft drinks? *Int J Infect Dis.* 2021;111:28-30.
20. Peluso MJ, Takahashi S, Hakim J, Kelly JD, Torres L, Iyer NS, et al. SARS-CoV-2 antibody magnitude and detectability are driven by disease severity, timing, and assay. *Sci Adv.* 2021;7(31).
21. Vanshylla K, Di Cristanziano V, Kleipass F, Dewald F, Schommers P, Gieselmann L, et al. Kinetics and correlates of the neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans. *Cell Host Microbe.* 2021;29(6):917-29.e4.
22. Chia WN, Zhu F, Ong SWX, Young BE, Fong SW, Le Bert N, et al. Dynamics of SARS-CoV-2 neutralising antibody responses and duration of immunity: a longitudinal study. *Lancet Microbe.* 2021;2(6):e240-e9.
23. Perez-Saez J, Zaballa ME, Yerly S, Andrey DO, Meyer B, Eckerle I, et al. Persistence of anti-SARS-CoV-2 antibodies: immunoassay heterogeneity and implications for serosurveillance. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(11):1695 e7- e12.
24. U.S. Food and Drug Administration. Antibody testing is not currently recommended to assess immunity after COVID-19 vaccination: FDA safety communication. <https://www.fda.gov/>

medical-devices/safety-communications/antibody-testing-not-currently-recommended-assess-immunity-after-covid-19-vaccination-fda-safety (Updated on May 19, 2021).

25. Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidelines for COVID-19 antibody testing. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html> (Updated on Sep 21, 2021).
26. Zhang YV, Wiencek J, Meng QH, Theel ES, Babic N, Sepiashvili L, et al. AACC Practical Recommendations for Implementing and Interpreting SARS-CoV-2 EUA and LDT Serologic Testing in Clinical Laboratories. Clin Chem. 2021.
27. Bohn MK, Loh TP, Wang CB, Mueller R, Koch D, Sethi S, et al. IFCC Interim Guidelines on Serological Testing of Antibodies against SARS-CoV-2. Clin Chem Lab Med. 2020;58(12):2001-8.
28. Hanson KE, Caliendo AM, Arias CA, Englund JA, Hayden MK, Lee MJ, et al. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Serologic Testing. Clin Infect Dis. 2020.
29. Lisboa Bastos M, Tavaziva G, Abidi SK, Campbell JR, Haraoui LP, Johnston JC, et al. Diagnostic accuracy of serological tests for covid-19: systematic review and meta-analysis. BMJ. 2020;370:m2516.
30. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Phillips S, et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. Cochrane Database Syst Rev. 2020;6(6):Cd013652.
31. Mohit E, Rostami Z, Vahidi H. A comparative review of immunoassays for COVID-19 detection. Expert Rev Clin Immunol. 2021;17(6):573-99.
32. Hanson KE, Altayar O, Caliendo AM, Arias CA, Englund JA, Hayden MK, et al. The Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Diagnosis of COVID-19: Antigen Testing. Clin Infect Dis. 2021.
33. European Centre for Disease Prevention and Control. Options for the Use of Rapid Antigen Tests for COVID-19 in the EU/EEA and the UK – first update. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/options-use-rapid-antigen-tests-covid-19-eueea-first-update> (Updated on Oct 26, 2021).
34. Pray IW, Ford L, Cole D, Lee C, Bigouette JP, Abedi GR, et al. Performance of an Antigen-Based Test for Asymptomatic and Symptomatic SARS-CoV-2 Testing at Two University Campuses - Wisconsin, September-October 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2021;69(5152):1642-7.
35. Brihn A, Chang J, K OY, Balter S, Terashita D, Rubin Z, et al. Diagnostic Performance of an Antigen Test with RT-PCR for the Detection of SARS-CoV-2 in a Hospital Setting - Los Angeles County, California, June-August 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2021;70(19):702-6.
36. Ferguson J, Dunn S, Best A, Mirza J, Percival B, Mayhew M, et al. Validation testing to determine

- the sensitivity of lateral flow testing for asymptomatic SARS-CoV-2 detection in low prevalence settings: Testing frequency and public health messaging is key. *PLoS Biol.* 2021;19(4):e3001216.
37. Tinker SC, Szablewski CM, Litvintseva AP, Drenzek C, Voccio GE, Hunter MA, et al. Point-of-Care Antigen Test for SARS-CoV-2 in Asymptomatic College Students. *Emerg Infect Dis.* 2021;27(10):2662-5.
 38. García-Fiñana M, Hughes DM, Cheyne CP, Burnside G, Stockbridge M, Fowler TA, et al. Performance of the Innova SARS-CoV-2 antigen rapid lateral flow test in the Liverpool asymptomatic testing pilot: population based cohort study. *BMJ.* 2021;374:n1637.
 39. Blairon L, Wilmet A, Beukinga I, Tré-Hardy M. Implementation of rapid SARS-CoV-2 antigenic testing in a laboratory without access to molecular methods: Experiences of a general hospital. *J Clin Virol.* 2020;129:104472.
 40. Ong DSY, Fragkou PC, Schweitzer VA, Chemaly RF, Moschopoulos CD, Skevaki C. How to interpret and use COVID-19 serology and immunology tests. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(7):981-6.
 41. Theel ES, Slev P, Wheeler S, Couturier MR, Wong SJ, Kadkhoda K. The Role of Antibody Testing for SARS-CoV-2: Is There One? *J Clin Microbiol.* 2020;58(8).
 42. Embassy of the People's Republic of China in the United States of America. Notice on airline boarding requirements for certificates of negative nucleic acid and anti-body blood tests results.. Available from: <http://www.china-embassy.org/eng/notices/t1828184.htm> (Updated on Oct 29, 2020).
 43. Kevadiya BD, Machhi J, Herskovitz J, Oleynikov MD, Blomberg WR, Bajwa N, et al. Diagnostics for SARS-CoV-2 infections. *Nat Mater.* 2021;20(5):593-605.
 44. Au WY, Cheung PPH. Diagnostic performances of common nucleic acid tests for SARS-CoV-2 in hospitals and clinics: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Microbe.* 2021.
 45. Freije CA, Sabeti PC. Detect and destroy: CRISPR-based technologies for the response against viruses. *Cell Host Microbe.* 2021;29(5):689-703.
 46. Subali AD, Wiyono L. Reverse Transcriptase Loop Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) for COVID-19 diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Pathog Glob Health.* 2021;1-11.
 47. Subsoontorn P, Lohitnavy M, Kongkaew C. The diagnostic accuracy of isothermal nucleic acid point-of-care tests for human coronaviruses: A systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2020;10(1):22349.
 48. Thwe PM, Maiyo E, Ren P. Abbott ID now COVID-19 assay performance: a year in review. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2021;101(4):115536.

49. U.S. Food and Drug Administration. SARS-CoV-2 viral mutations: impact on COVID-19 tests. <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-covid-19-and-medical-devices/sars-cov-2-viral-mutations-impact-covid-19-tests> (Updated on Sep 23, 2021).
50. Hong KH, In JW, Lee J, Kim SY, Lee KA, Kim S, et al. Prevalence of a Single-Nucleotide Variant of SARS-CoV-2 in Korea and Its Impact on the Diagnostic Sensitivity of the Xpert Xpress SARS-CoV-2 Assay. *Ann Lab Med.* 2022;42(1):96-9.
51. Artesi M, Bontems S, Göbbels P, Franckh M, Maes P, Boreux R, et al. A Recurrent Mutation at Position 26340 of SARS-CoV-2 Is Associated with Failure of the E Gene Quantitative Reverse Transcription-PCR Utilized in a Commercial Dual-Target Diagnostic Assay. *J Clin Microbiol.* 2020;58(10).
52. Vanaerschot M, Mann SA, Webber JT, Kamm J, Bell SM, Bell J, et al. Identification of a Polymorphism in the N Gene of SARS-CoV-2 That Adversely Impacts Detection by Reverse Transcription-PCR. *J Clin Microbiol.* 2020;59(1).
53. Khoshchehreh M, Wald-Dickler N, Holtom P, Butler-Wu SM. A needle in the haystack? Assessing the significance of envelope (E) gene-negative, nucleocapsid (N2) gene-positive SARS-CoV-2 detection by the Cepheid Xpert Xpress SARS-COV-2 assay. *J Clin Virol.* 2020;133:104683.
54. Ziegler K, Steininger P, Ziegler R, Steinmann J, Korn K, Ensser A. SARS-CoV-2 samples may escape detection because of a single point mutation in the N gene. *Euro Surveill.* 2020;25(39).
55. Rhoads DD, Plunkett D, Nakitandwe J, Dempsey A, Tu ZJ, Procop GW, et al. Endemic SARS-CoV-2 Polymorphisms Can Cause a Higher Diagnostic Target Failure Rate than Estimated by Aggregate Global Sequencing Data. *J Clin Microbiol.* 2021;59(8):e0091321.
56. Tahan S, Parikh BA, Droit L, Wallace MA, Burnham CD, Wang D. SARS-CoV-2 E Gene Variant Alters Analytical Sensitivity Characteristics of Viral Detection Using a Commercial Reverse Transcription-PCR Assay. *J Clin Microbiol.* 2021;59(7):e0007521.
57. Bal A, Destras G, Gaymard A, Stefic K, Marlet J, Eymieux S, et al. Two-step strategy for the identification of SARS-CoV-2 variant of concern 202012/01 and other variants with spike deletion H69-V70, France, August to December 2020. *Euro Surveill.* 2021;26(3).
58. Borges V, Sousa C, Menezes L, Gonçalves AM, Picão M, Almeida JP, et al. Tracking SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 dissemination: insights from nationwide spike gene target failure (SGTF) and spike gene late detection (SGTL) data, Portugal, week 49 2020 to week 3 2021. *Euro Surveill.* 2021;26(10).
59. Fillâtre P, Dufour MJ, Behillil S, Vatan R, Reusse P, Gabellec A, et al. A new SARS-CoV-2 variant poorly detected by RT-PCR on nasopharyngeal samples, with high lethality: an observational study. *Clin Microbiol Infect.* 2021.

60. Falasca F, Sciandra I, Di Carlo D, Gentile M, Deales A, Antonelli G, et al. Detection of SARS-COV N2 Gene: Very low amounts of viral RNA or false positive? J Clin Virol. 2020;133:104660.
61. Surkova E, Nikolayevskyy V, Drobniewski F. False-positive COVID-19 results: hidden problems and costs. Lancet Respir Med. 2020;8(12):1167-8.
62. Sung H, Roh KH, Hong KH, Seong MW, Ryoo N, Kim HS, et al. COVID-19 Molecular Testing in Korea: Practical Essentials and Answers From Experts Based on Experiences of Emergency Use Authorization Assays. Ann Lab Med. 2020;40(6):439-47.
63. Lin L, Carlquist J, Sinclair W, Hall T, Lopansri BK, Bennett ST. Experience With False-Positive Test Results on the TaqPath Real-Time Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Testing Platform. Arch Pathol Lab Med. 2021;145(3):259-61.
64. 대한진단검사의학회 신종코로나바이러스 대책위원회. 상기도 검체의 혼합 검체를 이용한 코로나바이러스 감염증-19 분자 검사 프로토콜. https://www.kslm.org/rang_board/list.html?num=16704&start=165&code=covid19_press (Updated on May 1, 2021).
65. 대한진단검사의학회. COVID-19 분자진단검사 Q&A 제5판. https://www.kslm.org/rang_board/list.html?num=16600&code=covid19_qna (Updated on Jun 22, 2021).
66. Kim SY, Lee J, Sung H, Lee H, Han MG, Yoo CK, et al. Pooling Upper Respiratory Specimens for Rapid Mass Screening of COVID-19 by Real-Time RT-PCR. Emerg Infect Dis. 2020;26(10):2469-72.
67. Yelin I, Aharoni N, Tamar ES, Argoetti A, Messer E, Berenbaum D, et al. Evaluation of COVID-19 RT-qPCR Test in Multi sample Pools. Clin Infect Dis. 2020;71(16):2073-8.
68. Lippi G. Upper respiratory samples pooling for screening SARS-CoV-2 infection: ready for the prime time? Clin Chem Lab Med. 2020;58(12):e307-e9.
69. Lee J, Kim SY, Sung H, Lee SW, Lee H, Roh KH, et al. Challenges and issues of SARS-CoV-2 pool testing. Lancet Infect Dis. 2020;20(11):1232-3.
70. Wang H, Hogan CA, Miller JA, Sahoo MK, Huang C, Mfuh KO, et al. Performance of Nucleic Acid Amplification Tests for Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Prospectively Pooled Specimens. Emerg Infect Dis. 2021;27(1):92-103.
71. Garg A, Ghoshal U, Patel SS, Singh DV, Arya AK, Vasanth S, et al. Evaluation of seven commercial RT-PCR kits for COVID-19 testing in pooled clinical specimens. J Med Virol. 2021;93(4):2281-6.
72. Dinnes J, Deeks JJ, Berhane S, Taylor M, Adriano A, Davenport C, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. Cochrane Database Syst Rev. 2021;3(3):Cd013705.

73. Doust JA, Bell KJL, Leeflang MMG, Dinnes J, Lord SJ, Mallett S, et al. Guidance for the design and reporting of studies evaluating the clinical performance of tests for present or past SARS-CoV-2 infection. *BMJ*. 2021;372:n568.
74. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig L, et al. STARD 2015: an updated list of essential items for reporting diagnostic accuracy studies. *BMJ*. 2015;351:h5527.
75. European Centre for Disease Prevention and Control/European Agency for Safety and Health at Work. Considerations on the use of rapid antigen detection (including self-) tests for SARS-CoV-2 in occupational settings. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/considerations-use-rapid-antigen-detection-including-self-tests-sars-cov-2> (Updated on May 6, 2021).
76. 식품의약품안전처. 공고/공지. https://www.mfds.go.kr/brd/m_74/list.do (Updated on Mar 13, 2023).
77. Miller JM, Miller SA. A guide to specimen management in clinical microbiology: John Wiley & Sons; 2017.
78. Hong KH, Lee SW, Kim TS, Huh HJ, Lee J, Kim SY, et al. Guidelines for Laboratory Diagnosis of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Korea. *Ann Lab Med*. 2020;40(5):351-60.
79. Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction-Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure. *Ann Intern Med*. 2020;173(4):262-7.
80. Wang K, Zhang X, Sun J, Ye J, Wang F, Hua J, et al. Differences of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Shedding Duration in Sputum and Nasopharyngeal Swab Specimens Among Adult Inpatients With Coronavirus Disease 2019. *Chest*. 2020;158(5):1876-84.
81. Pastorino B, Touret F, Gilles M, Luciani L, de Lamballerie X, Charrel RN. Evaluation of Chemical Protocols for Inactivating SARS-CoV-2 Infectious Samples. *Viruses*. 2020;12(6).
82. Welch SR, Davies KA, Buczkowski H, Hettiarachchi N, Green N, Arnold U, et al. Analysis of Inactivation of SARS-CoV-2 by Specimen Transport Media, Nucleic Acid Extraction Reagents, Detergents, and Fixatives. *J Clin Microbiol*. 2020;58(11).
83. Crespo-Lessmann A, Plaza V. Multidisciplinary consensus on sputum induction biosafety during the COVID-19 pandemic. *Allergy*. 2021;76(8):2407-19.
84. Harrison C, Lindholm DE, Steer AC, Osowicki J. A Systematic Review and Meta-analysis of Upper Airway Swab Collection for Detection of Viral and Bacterial Pathogens by Individuals or Caregivers Compared to Health Care Workers. *J Clin Microbiol*. 2021;59(7):e0230420.
85. Lee RA, Herigon JC, Benedetti A, Pollock NR, Denking CM. Performance of Saliva, Oropharyngeal Swabs, and Nasal Swabs for SARS-CoV-2 Molecular Detection: a Systematic Review and Meta-analysis. *J Clin Microbiol*. 2021;59(5).

86. Butler-Laporte G, Lawandi A, Schiller I, Yao M, Dendukuri N, McDonald EG, et al. Comparison of Saliva and Nasopharyngeal Swab Nucleic Acid Amplification Testing for Detection of SARS-CoV-2: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Intern Med.* 2021;181(3):353-60.
87. Bastos ML, Perlman-Arrow S, Menzies D, Campbell JR. The Sensitivity and Costs of Testing for SARS-CoV-2 Infection With Saliva Versus Nasopharyngeal Swabs : A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2021;174(4):501-10.
88. Nacher M, Mergeay-Fabre M, Blanchet D, Benoit O, Pozl T, Mesphoule P, et al. Prospective Comparison of Saliva and Nasopharyngeal Swab Sampling for Mass Screening for COVID-19. *Front Med (Lausanne).* 2021;8:621160.
89. Nagura-Ikeda M, Imai K, Tabata S, Miyoshi K, Murahara N, Mizuno T, et al. Clinical Evaluation of Self-Collected Saliva by Quantitative Reverse Transcription-PCR (RT-qPCR), Direct RT-qPCR, Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification, and a Rapid Antigen Test To Diagnose COVID-19. *J Clin Microbiol.* 2020;58(9).
90. Marx GE, Biggerstaff BJ, Nawrocki CC, Totten SE, Travanty EA, Burakoff AW, et al. Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 on Self-Collected Saliva or Anterior Nasal Specimens Compared With Healthcare Personnel-Collected Nasopharyngeal Specimens. *Clin Infect Dis.* 2021;73(Suppl 1):S65-s73.
91. Smith-Jeffcoat SE, Koh M, Hoffman A, Rebolledo PA, Schechter MC, Miller HK, et al. Effects of Patient Characteristics on Diagnostic Performance of Self-Collected Samples for SARS-CoV-2 Testing. *Emerg Infect Dis.* 2021;27(8):2081-9.
92. Congrave-Wilson Z, Lee Y, Jumarang J, Perez S, Bender JM, Bard JD, et al. Change in Saliva RT-PCR Sensitivity Over the Course of SARS-CoV-2 Infection. *Jama.* 2021;326(11):1065-7.
93. Miguères M, Vellas C, Abravanel F, Da Silva I, Dimeglio C, Ferrer V, et al. Testing individual and pooled saliva samples for sars-cov-2 nucleic acid: a prospective study. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2021;101(3):115478.
94. Barat B, Das S, De Giorgi V, Henderson DK, Kopka S, Lau AF, et al. Pooled Saliva Specimens for SARS-CoV-2 Testing. *J Clin Microbiol.* 2021;59(3).
95. Ho YI, Wong AH, Tang KPS, Wong RCW, Leung ECM, Lai RWM. Comparison of three commercial SARS-CoV-2 assays for pooled testing of deep throat saliva for surveillance of patients attending general outpatient clinics. *J Med Virol.* 2021;93(4):1917-9.
96. McMillen T, Jani K, Babady NE. Evaluation of sample pooling for SARS-CoV-2 RNA detection in nasopharyngeal swabs and salivas on the Roche Cobas 6800. *J Clin Virol.* 2021;138:104790.
97. Destras G, Bal A, Escuret V, Morfin F, Lina B, Josset L. Systematic SARS-CoV-2 screening in cerebrospinal fluid during the COVID-19 pandemic. *Lancet Microbe.* 2020;1(4):e149.
98. Veyer D, Kernéis S, Poulet G, Wack M, Robillard N, Taly V, et al. Highly sensitive quantification

- of plasma SARS-CoV-2 RNA sheds light on its potential clinical value. Clin Infect Dis. 2020.
99. Kim JM, Kim HM, Lee EJ, Jo HJ, Yoon Y, Lee NJ, et al. Detection and Isolation of SARS-CoV-2 in Serum, Urine, and Stool Specimens of COVID-19 Patients from the Republic of Korea. Osong Public Health Res Perspect. 2020;11(3):112-7.
 100. Lawrence L, Stevens BA, Sahoo MK, Huang C, Yamamoto F, Röltgen K, et al. Plasma as an alternative COVID-19 diagnostic specimen in a hospitalized patient negative for SARS-CoV-2 by nasopharyngeal swab. Diagn Microbiol Infect Dis. 2021;100(3):115365.
 101. Szymczak WA, Goldstein DY, Orner EP, Fecher RA, Yokoda RT, Skalina KA, et al. Utility of Stool PCR for the Diagnosis of COVID-19: Comparison of Two Commercial Platforms. J Clin Microbiol. 2020;58(9).
 102. Natarajan A, Han A, Zlitni S, Brooks EF, Vance SE, Wolfe M, et al. Standardized preservation, extraction and quantification techniques for detection of fecal SARS-CoV-2 RNA. Nat Commun. 2021;12(1):5753.
 103. World Health Organization. Responding to community spread of COVID-19: interim guidance, <https://www.who.int/publications/i/item/responding-to-community-spread-of-covid-19> (Updated on Mar 7, 2020).
 104. 질병관리본부 생물안전평가과. 감염성물질 안전수송 지침. <http://ncov.mohw.go.kr/shBoardView.do?brdId=2&brdGubun=24&ncvContSeq=4747> (Updated on Dec 2019).
 105. 중앙방역대책본부. 코로나바이러스감염증-19 검체 채취 안내. <http://ncov.mohw.go.kr/shBoardView.do?brdId=2&brdGubun=28&ncvContSeq=566> (Updated on Feb 21, 2020).
 106. Fang FC, Naccache SN, Greninger AL. The Laboratory Diagnosis of Coronavirus Disease 2019-Frequently Asked Questions. Clin Infect Dis. 2020;71(11):2996-3001.
 107. Centers for Disease Control and Prevention. Interim Guidelines for Collecting and Handling of Clinical Specimens for COVID-19 Testing. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html> (Updated on Oct 25, 2021).
 108. Mohammadi A, Esmaeilzadeh E, Li Y, Bosch RJ, Li JZ. SARS-CoV-2 detection in different respiratory sites: A systematic review and meta-analysis. EBioMedicine. 2020;59:102903.
 109. Centers for Disease Control and Prevention. Interim laboratory biosafety guidelines for handling and processing specimens associated with coronavirus disease 2019 (COVID-19). <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html> (Updated on Oct 28 2021).
 110. World Health Organization. Infection prevention and control guidance for long-term care facilities in the context of COVID-19: interim guidance. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331508> (Updated on March 21, 2020).
 111. Ki CS, Lee H, Sung H, Kim S, Seong MW, Yong D, et al. Korean Society for Laboratory Medicine

- Practice Guidelines for the Molecular Diagnosis of Middle East Respiratory Syndrome During an Outbreak in Korea in 2015. *Ann Lab Med.* 2016;36(3):203-8.
112. Lynch JB, Davitkov P, Anderson DJ, Bhimraj A, Cheng VC, Guzman-Cottrill J, et al. Infectious Diseases Society of America Guidelines on Infection Prevention for Healthcare Personnel Caring for Patients with Suspected or Known COVID-19. *Clin Infect Dis.* 2021.
 113. Richard-Greenblatt M, Ziegler MJ, Bromberg V, Huang E, Abdallah H, Tolomeo P, et al. Quantifying the Impact of Nasopharyngeal Specimen Quality on Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Test Performance. *Open Forum Infect Dis.* 2021;8(6):ofab235.
 114. Marty FM, Chen K, Verrill KA. How to Obtain a Nasopharyngeal Swab Specimen. *N Engl J Med.* 2020;382(22):e76.
 115. 질병관리청 생물안전평가과. 코로나바이러스감염증-19 대응 실험실 생물안전 가이드 제3판. <http://ncov.mohw.go.kr/shBoardView.do?brdId=2&brdGubun=24&ncvContSeq=4747> (Updated on Mar 4, 2021).
 116. World Health Organization. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19): interim guidance. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-WPE-GIH-2021.1> (Updated on Jan 28, 2021).
 117. World Health Organization. Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2021-2022. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240019720> (Updated on Jan 1, 2021).
 118. Xin H, Wong JY, Murphy C, Yeung A, Ali ST, Wu P, et al. The incubation period distribution of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2021.
 119. Jones TC, Biele G, Mühlemann B, Veith T, Schneider J, Beheim-Schwarzbach J, et al. Estimating infectiousness throughout SARS-CoV-2 infection course. *Science.* 2021;373(6551).
 120. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q, Meredith HR, et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med.* 2020;172(9):577-82.
 121. West CP, Montori VM, Sampathkumar P. COVID-19 Testing: The Threat of False-Negative Results. *Mayo Clin Proc.* 2020;95(6):1127-9.
 122. Schrader C, Schielke A, Ellerbroek L, Johne R. PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. *J Appl Microbiol.* 2012;113(5):1014-26.
 123. Chandler CM, Bourassa L, Mathias PC, Greninger AL. Estimating the False-Positive Rate of Highly Automated SARS-CoV-2 Nucleic Acid Amplification Testing. *J Clin Microbiol.* 2021;59(8):e0108021.

124. Montgomery TL, Paavola M, Bruce EA, Botten JW, Crothers JW, Kremmentsov DN. Laboratory Worker Self-Contamination with Noninfectious SARS-CoV-2 DNA Can Result in False-Positive Reverse Transcriptase PCR-Based Surveillance Testing. *J Clin Microbiol.* 2021;59(7):e0072321.
125. Rosebrock AP. DNA Cross-Reactivity of the CDC-Specified SARS-CoV-2 Specimen Control Leads to Potential for False Negatives and Underreporting of Viral Infection. *Clin Chem.* 2021;67(2):435-7.
126. Braunstein GD, Schwartz L, Hymel P, Fielding J. False Positive Results With SARS-CoV-2 RT-PCR Tests and How to Evaluate a RT-PCR-Positive Test for the Possibility of a False Positive Result. *J Occup Environ Med.* 2021;63(3):e159-e62.
127. Huggett JF, Benes V, Bustin SA, Garson JA, Harris K, Kammel M, et al. Cautionary Note on Contamination of Reagents Used for Molecular Detection of SARS-CoV-2. *Clin Chem.* 2020;66(11):1369-72.
128. American Association for Clinical Chemistry. AACC Recommendation for Reporting SARS-CoV-2 Cycle Threshold (CT) Values. <https://www.aacc.org/science-and-research/covid-19-resources/statements-on-covid-19-testing/aacc-recommendation-for-reporting-sars-cov-2-cycle-threshold-ct-values> (Updated on Oct 12, 2021).
129. Infectious Diseases Society of American and Association for Molecular Pathology. IDSA and AMP joint statement on the use of SARS-CoV-2 PCR cycle threshold (Ct) values for clinical decision-making. <https://www.idsociety.org/globalassets/idsa/public-health/covid-19/idsa-amp-statement.pdf> (Updated on Mar 12, 2021).
130. Evans D, Cowen S, Kammel M, O'Sullivan DM, Stewart G, Grunert HP, et al. The dangers of using Cq to quantify nucleic acid in biological samples; a lesson from COVID-19. *Clin Chem.* 2021.
131. Buchta C, Görzer I, Chiba P, Camp JV, Holzmann H, Puchhammer-Stöckl E, et al. Variability of cycle threshold values in an external quality assessment scheme for detection of the SARS-CoV-2 virus genome by RT-PCR. *Clin Chem Lab Med.* 2021;59(5):987-94.
132. Fischer C, Mögling R, Melidou A, Kühne A, Oliveira-Filho EF, Wolff T, et al. Variable Sensitivity of SARS-CoV-2 Molecular Detection in European Expert Laboratories: External Quality Assessment, June and July 2020. *J Clin Microbiol.* 2021;59(3).
133. Sung H, Han MG, Yoo CK, Lee SW, Chung YS, Park JS, et al. Nationwide External Quality Assessment of SARS-CoV-2 Molecular Testing, South Korea. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(10):2353-60.
134. Matheeussen V, Corman VM, Donoso Mantke O, McCulloch E, Lammens C, Goossens H, et al. International external quality assessment for SARS-CoV-2 molecular detection and survey on clinical laboratory preparedness during the COVID-19 pandemic, April/May 2020. *Euro Surveill.*

- 2020;25(27).
135. Binnicker MJ. Challenges and Controversies to Testing for COVID-19. *J Clin Microbiol.* 2020;58(11).
 136. Binnicker MJ. Can Testing Predict SARS-CoV-2 Infectivity? The Potential for Certain Methods to be a Surrogate for Replication-Competent Virus. *J Clin Microbiol.* 2021;Jcm0046921.
 137. Centers for Disease Control and Prevention. Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html> (Updated on June 11, 2021).
 138. Lippi G, Adeli K, Ferrari M, Horvath AR, Koch D, Sethi S, et al. Biosafety measures for preventing infection from COVID-19 in clinical laboratories: IFCC Taskforce Recommendations. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM).* 2020;58(7):1053-62.
 139. Bain W, Lee JS, Watson AM, Stitt-Fischer MS. Practical Guidelines for Collection, Manipulation and Inactivation of SARS-CoV-2 and COVID-19 Clinical Specimens. *Current Protocols in Cytometry.* 2020;93(1):e77.