

타액 검체를 이용한 코로나19 유전자 검사 지침

(The protocol for COVID-19 molecular testing with saliva specimens)

‘20. 12. 1

대한진단검사의학회 코로나19 대응TF

김소연 국립중앙의료원 진단검사의학과

노경호 국민건강보험 일산병원 진단검사의학과

성홍섭 울산의대 진단검사의학과

이재현 전북의대 진단검사의학과

이혁민 연세의대 진단검사의학과

홍기호 서울의료원 진단검사의학과

I 개요

본 지침은 2020년 12월 1일 기준으로 코로나19 유전자 검사를 통해 정기적인 감시를 시행해야 하는 고위험군, 특히 비인두도말을 채취하기 어려운 경우에 사용하는 것을 목적으로 한다. 12월 1일 현재, 증상이 있는 환자의 확진 용도로는 타액 검체를 권장하지 않는다.

최근의 메타분석 연구에 따르면 타액 검체를 사용한 코로나19 유전자 검사의 민감도는 비인두도말 대비 93% 정도로 추정된다. 따라서 유전자 검사 결과에서 한 유전자에서만 양성 나오거나, cutoff 이후에 증폭이 관찰될 경우에도 양성 추정으로 간주하고 비인두도말 검체를 채취하여 재검사를 해야 한다.

II 검체 채취

가. 채취장소

- 1) 외래환자, 응급실 내원 환자는 선별진료소 또는 전용의 채담실이나 채담 부스처럼, 다른 공간과 격리된 검체 채취 공간에서 채취한다. 이러한 공간이 없으면 환자 1인당 160 L/s의 자연환기가 되는 독립된 공간을 사용할 수 있다. 소독 및 기타 사항은 대한진단검사의학회의 코로나바이러스감염증-19 검사실 진단지침 최신판에 따른다.
- 2) 입원환자의 경우 병실에서 시행할 수 있으나, 주변으로의 비말이나 에어로졸 전파에 대한 예방 대책을 사전에 수립해야 한다.

나. 검체 용기 및 검체 양


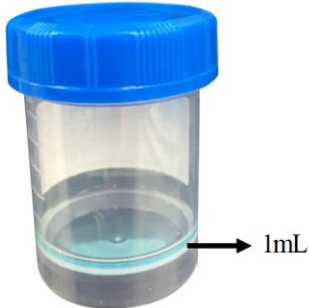
1) 검체 용기

- 50mL 또는 25mL conical tube*, 객담 용기†, 타액 채취용기‡ 등 뚜껑이 있고 입구가 충분히 넓은 용기를 사용할 것을 권장한다. 입구가 좁은 15mL conical tube는 깔대기 같은 기구와 함께 사용할 수 있으나, 비말이나 에어로졸 전파의 가능성이 있으므로 사전에 예방 대책을 수립해야 한다. 용기와 깔대기는 모두 1회용으로만 사용해야 한다.

* 직경 30mm, † 직경 70mm 내외, ‡ 직경(깔대기) 40mm x 25mm

2) 검체 양

- 최소 0.5mL 이상 채취하며, 1mL 이상을 권장한다.
※ 채취 시 거품을 제외한 타액을 기준으로 눈금선을 측정해야 한다.
- [표 1] 검체 용기별 검체 양 예시

50mL conical tube	객담 용기
	

다. 채취 방법

1) 채취 시기

- ① 입원 환자의 경우 이른 아침에, 식사, 양치 전에 채취하는 것을 권장한다.
- ② 외래 환자의 경우 수시로 채취할 수 있다.
- 2) 채취 30분 전부터는 음식물을 섭취하지 않으며, 물은 10분 전부터 섭취하지 않는다.
- 3) 맛있는 음식물 등을 생각하며 1-2분 정도 입 안에 침이 고이게 하면 도움이 된다.
- 4) 입 안에 고인 침을 부드럽게 입구로 흘러내듯이 뱉어내고 뚜껑을 닫는다. 주변에 비말이나 에어로졸이 튀지 않도록 각별히 유의해야 한다.
- 5) 용기 라벨에 검체종류, 성명, 나이, 일련번호, 채취일 등 식별정보를 정확히 기입한다.
- 6) 주변 오염의 가능성이 있는 경우, 채취 후에 환경 소독과 적절한 환기가 필요하다.
- 7) 의료기관의 담당자는 이상의 내용을 반드시 환자에게 자세히 숙지시키고, 필요 시 채취 과정을 감독한다.

III

검체 이송

- 가. 실온 조건에서 즉시 이송한다.
- 나. 검체에 별도로 수송 배지 (transport media) 등의 첨가물을 추가할 필요는 없다.
- 다. 즉시 이송이 어려울 경우 7일까지 냉장 보관할 수 있다.

IV

검체 처리

- 가. 검사실 안전을 비롯한 일반 사항은 대한진단검사의학회의 코로나바이러스감염증-19 검사실 진단지침 최신판에 따른다. 에어로졸이 발생할 수 있는 단계는 반드시 생물안전상자에서 시행할 것을 권장한다.
- 나. 전처리 시약: proteinase K, 필요 시 phosphate buffered saline (PBS)
- 다. 전처리 시행 전에 타액의 양과 점도, 침사물 등을 확인한다.
- 라. 검체 양이 충분하고 점액성이 없는 경우
 - 1) 1.5 mL microtube에 타액 500uL을 넣는다.
 - 2) 타액 1mL 당 proteinase K 2.5mg을 첨가한 후 충분히 vortexing한다.
(예: 50mg/mL solution일 경우 타액 1mL 당 50μL이다.)
 - 3) Thermocycler 또는 heating block을 이용하여 95°C에서 5분 간 가열한다.*
* 65°C에서 30분간 가열하는 것도 가능하다.
 - 4) 13,000rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 핵산 추출에 사용한다.
 - 5) Proteinase K를 사용할 수 없는 경우 다음 방법을 대신 사용할 수 있으나 Ct 값 1 정도의 차이를 보일 수 있다.
 - ① 1.5 mL microtube에 타액 500uL을 넣는다.
 - ② 동량의 PBS를 넣은 후 충분히 vortexing한다.
 - ③ 13,000 rpm에서 10분 간 원심분리한 후 상층액을 핵산 추출에 사용한다.
 - 6) Proteinase K 처리 후 즉시 핵산 추출하며, 즉시 추출이 어려운 경우 -70°C 보관한다.
 - 7) 핵산 추출과, PCR은 사용하는 시약의 제조사 권장 사항과 검사실의 지침에 따른다.
- 마. 검체에 점액성이 있는 경우
 - 1) 원 검체 용기에 PBS를 검체와 동량을 넣은 후 vortexing하여 균질화한다.
 - 2) PBS를 지나치게 많이 넣으면 검체가 희석되어 민감도에 영향을 줄 수 있다.
 - 3) 검체를 균질화 후에는 선택한 전처리 시약의 프로토콜에 따라 전처리를 시행한다.
 - 4) Proteinase K를 사용할 수 없는 경우 추가적인 PBS를 첨가할 필요는 없다.

바. 타액을 받았으나 원 검체 용기 벽면에 붙어 내려오지 않는 경우

- 1) PBS 1mL를 검체 용기에 넣어 골고루 섞어서 내려오게 한 후 vortexing한다.
- 2) vortexing 후에는 선택한 전처리 시약의 프로토콜에 따라 전처리를 시행한다.
- 3) proteinase K를 사용할 수 없는 경우 추가적인 PBS를 첨가할 필요는 없다.

사. 검체에 침사물이 심하거나 검체 양이 500uL 미만일 경우

- 1) 부적합 검체로 검체를 재채취한다.
- 2) 재채취가 어려우면 검사실과 상의 후 검사를 진행하되, 검체의 양을 결과 보고서에 명기한다.

V 결과 보고

가. 모든 표적 유전자가 양성: 양성으로 보고한다.

나. 모든 표적 유전자가 음성, 내부정도관리물질 양성: 음성으로 보고한다.

다. 미결정(equivocal)에 해당하는 모든 경우: 양성 추정으로 보고하고 비인두 도말 검체 채취하여 검사를 실시한다.

- ① Cutoff 이후에 증폭된 경우
- ② 여러 개의 유전자 가운데 일부 표적유전자만 증폭*된 경우 등

* 예) *E gene* 또는 *RdRp gene* 1개만 양성인 경우