

지카바이러스감염증 진단검사지침

2016. 11. 10.

본 지침은 제4군 법정감염병인 지카바이러스 감염증을 신속·정확·안전하게 진단검사하기 위해 국립보건연구원 및 국립검역소 지역거점 검사센터, 17개 시·도 보건환경연구원, 보건소에서 활용할 목적으로 작성된 지침입니다.

본 지침은 국립보건연구원, 대한진단검사의학회, 대한임상미생물학회의 전문가 자문을 받았으며, 향후 새로운 진단법의 개발 등에 따라 보완 또는 변경될 수 있습니다.

지카바이러스 감염증 진단검사 지침 2 (2016.11.10.) 주요 개정사항

구 분	주요 내용	
	변경전	변경후
환자 정의	추정환자 : 임상증상 및 역학적 위험요인을 감안하여 지카바이러스 감염증이 의심되며, 진단을 위한 추정 진단 검사기준에 따라 감염이 추정 되는 사람	삭제 <u>병원체보유자 : 지카바이러스 감염증에 부합되는 임상증상은 없으나 감염병 병원체를 보유하고 있는 사람</u>
역학적 위험요인	(1) 증상 시작 전 2주 이내 지카바이러스 감염증 발생국가 방문 (2) 지카바이러스 감염 남성과 성접촉 (3) 지카바이러스 감염증 발생 지역에 최근 2개월 이내 방문 이력이 있는 남성과 성접촉	(1) 증상 시작 전 2주 이내 지카바이러스 감염증 발생국가 방문 (2) 지카바이러스 <u>감염자와 성접촉</u> (3) 지카바이러스 감염증 발생지역에 <u>최근 6개월 이내 방문 이력이 있는 사람과 성접촉</u> (4) <u>지카바이러스 감염증 발생국가에서 수혈력이 있는 경우</u>
검사방법	real-time RT-PCR	(1) <u>임신부 의심환자</u> : <u>real-time RT-PCR, ELISA, PRNT</u> (2) 그 외 : real-time RT-PCR
검체	혈청 2mL 이상, 소변 3mL 이상 * 영유아(6세 미만 취학전 아동)의 경우 혈청 0.5mL 이상	<u>혈청 3mL 이상, 소변 3mL 이상</u> * 영유아(6세 미만 취학전 아동)의 경우 혈청 0.5mL 이상(<u>혈액 채취가 불가능한 경우 소변으로만 검사 진행 가능</u>) * 민간의료기관 검사 시 소변검체 사용 권고

구 분	주요 내용	
	변경전	변경후
검체 운송	① 의료기관(보건소)→운송업체→보건환경연구원 ② 검역소→운송업체→국립검역소 지역거점 검사센터(인천공항, 부산, 여수)	① 의료기관(보건소)→운송업체→보건환경연구원 ② 검역소 → <u>검역소(또는 운송업체)</u> →지역거점검사센터(인천공항, 부산, 여수검역소) <u>* 2017년부터 운송업체에 의한 운송 시행</u> ③ <u>임신부 의심환자 : 의료기관(보건소)→(긴급상황실)→이원의료재단</u> <u>* 임신부 의심환자 검체 채취 시 긴급상황실에 확인 후 운송</u>
검사 기한	※ 검체 수령 후 24시간 이내 검사 결과 보고 ※ 긴급검체로 지정된 검체는 즉시 검사 실시	※ 검체 수령 후 <u>만 3일 이내</u> 검사 결과 보고 ※ 긴급검체로 지정된 검체는 즉시 검사 실시
잔여검체 송부	검사 후 잔여 검체는 냉동(-20℃이하) 보관하여 월 1회 국립보건연구원 신경계바이러스과로 송부(공문시행)	검사 후 <u>양성 잔여 검체</u> 는 냉동보관하여 월 1회 국립보건연구원 신경계바이러스과로 송부(공문시행) <u>*음성 잔여검체는 송부 불필요</u>

I 지카바이러스 감염증의 일반사항

1 지카바이러스 감염증의 정의

- 지카바이러스(Zika virus) 감염에 의한 급성 감염질환

2 지카바이러스의 특성

- *Flavivirus* 속(genus)의 positive sense single strand RNA 바이러스
- 이집트숲모기(*Aedes aegypti*)가 주된 감염 매개체이나 국내 서식하는 흰줄숲모기(*Aedes albopictus*)도 잠재적으로 전파가능

3 지카바이러스 감염증의 임상증상

- 특징적인 증상은 반점구진성 발진이고, 갑작스런 발열, 관절통, 결막염(충혈), 근육통, 두통이 동반될 수 있음
- 증상은 3~7일 정도 경미하게 진행되며, 약 80%는 불현성 감염

4 환자 정의

- 1) **환자** : 지카바이러스 감염증에 부합되는 임상증상을 나타내면서 진단을 위한 검사기준에 따라 감염병병원체 감염이 확인된 사람
- 2) **의심환자** : 임상증상 및 역학적 위험요인*을 감안하여 지카바이러스 감염증이 의심되나, 검사기준에 부합하는 검사결과가 없는 사람

<역학적 위험요인>

- (1) 증상 시작 전 2주 이내 지카바이러스 감염증 발생국가 방문
* 최신 발생국 현황은 질병관리본부 홈페이지 참조
- (2) 지카바이러스 감염자와 성접촉
- (3) 지카바이러스 감염증 발생지역에 최근 6개월 이내 방문 이력이 있는 사람과 성접촉
- (4) 지카바이러스 감염증 발생국가에서 수혈력이 있는 경우

- 3) **병원체보유자** : 지카바이러스 감염증에 부합되는 임상증상은 없으나 감염병병원체를 보유하고 있는 사람

II 지카바이러스 감염증의 진단검사

1 검사 대상

- 아래 중 한 가지 이상의 위험요인에 노출되었으며, 위험노출 후 2주 이내에 발진과 함께 관절통, 관절염, 근육통, 비화농성 결막염, 결막충혈 중 하나의 증상이 동반된 사람(의심환자)
 - * 발열은 있을 수도 있고 없을 수도 있음
 - ① 지카바이러스 감염증 발생국가 방문 또는 거주
 - ② 감염자 또는 발생국가 방문자(귀국후 6개월 이내)와 성접촉
 - ③ 지카바이러스 감염증 발생국가에서 수혈력
 - * 발생 국가를 다녀왔다는 것만으로 검사할 필요성은 없음
- ※ 증상이 없어도 위의 위험에 노출된 임신부 또는 산전 진찰을 통해 태아의 소두증 또는 뇌석회화증이 의심되는 임신부는 민간의료기관¹⁾을 통해 검사(보험급여 적용)

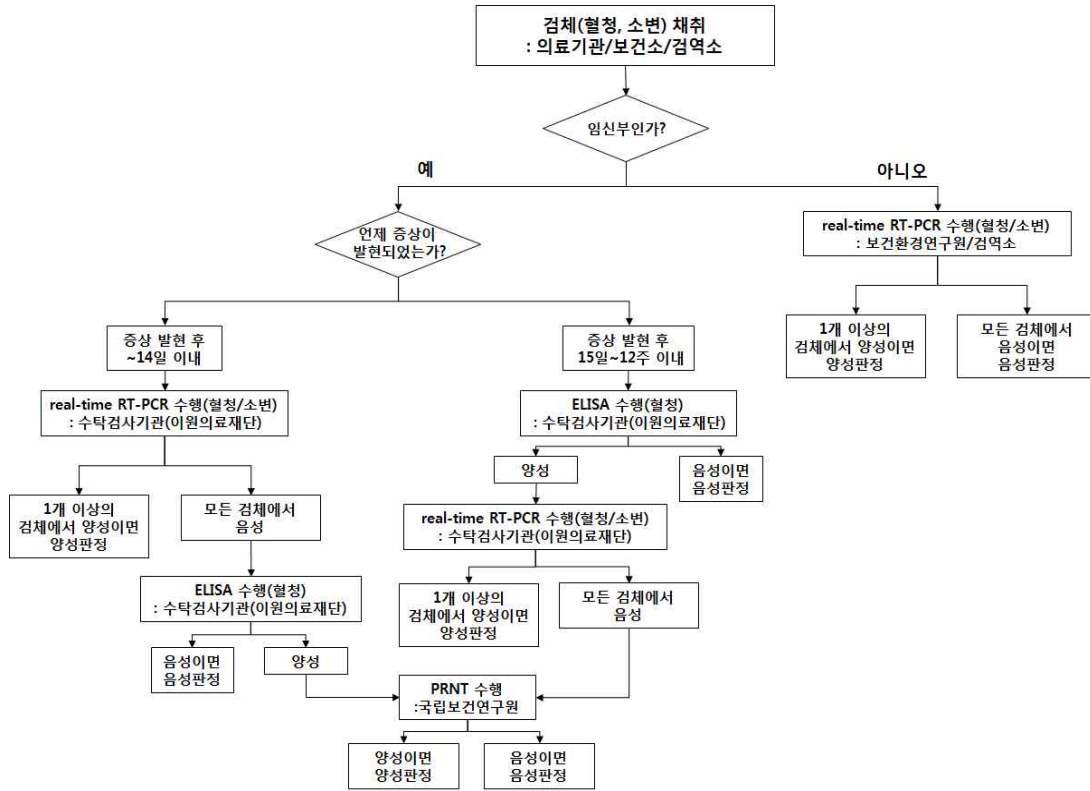
2 검사 대상 별 검사방법

구분	검사방법	사용검체	검사기관
의심환자	real-time RT-PCR	혈청, 소변	수탁검사기관 (이원의료재단)
	ELISA	혈청	
	PRNT	혈청	국립보건연구원
일반인	real-time RT-PCR	혈청, 소변	시도보건환경연구원/ 국립검역소 지역거점 검사센터

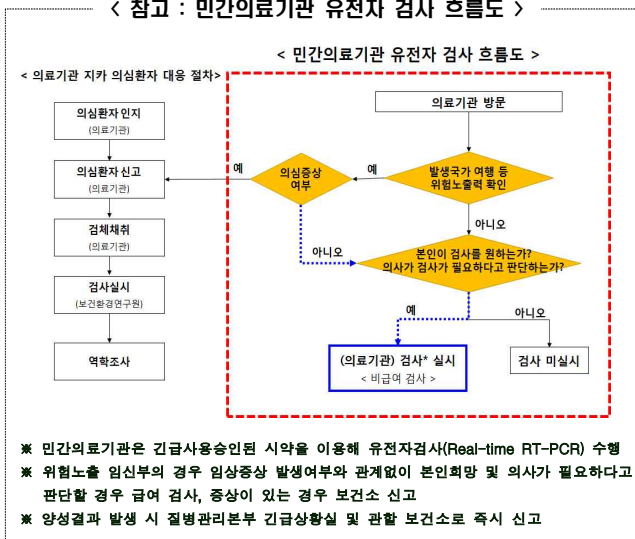
※ 의심환자에 부합되지 않는 경우는 민간의료기관¹⁾에서 real-time RT-PCR를 통해 검사 가능(소변검체 사용 권고)

1) 질병관리본부장이 인정한 우수검사실 신임인증 의료기관 및 임상검사센터

〈 의심환자 검사 흐름도 〉



〈 참고 : 민간의료기관 유전자 검사 흐름도 〉



③ 검체 채취 및 보관 : 의료기관/보건소/검역소

- (의료기관) 보건소 신고(감염병 발생 신고) 및 검체 채취 후 검사 의뢰
- (보건소) 신고 접수 후 질병보건통합관리시스템(is.cdc.go.kr) 내 「감염병웹보고시스템」 보고
 - 진단신고기준에 합당한 사례인지 재확인하여 질병보건통합관리시스템 내 「지카바이러스 감염증 관리」의 역학조사 항목에 해당 정보 등록
 - 검체 채취 및 검사 의뢰

1) 혈청

- ① 채취 량 : 혈청 3mL 이상
 - * 1mL씩 분주한 혈청 3개 이상
 - * 영유아(6세 미만 취학전 아동)의 경우 혈청 0.5mL 이상(혈액 채취가 불가능한 경우 소변으로만 검사 진행 가능)
- ② 급성기(증상발생 후 7일 이내*)에 혈액 채취
 - * 증상발생 후 가능한 한 빨리 채취하는 것을 권고
- ③ 유증상 임신부(의심환자 중 임신부)의 경우 증상발생 또는 위험노출 후 12주 이내 혈액 채취
- ④ SST tube 또는 Plain tube에 혈액을 채취하여 1시간 이내에 혈청분리
- ⑤ 분리한 혈청은 나사마개(screw cap)로 된 플라스틱 튜브(1.8mL cryotube 등)에 1mL씩 분주하여 냉장보관(2~6℃)
- ⑥ 7일 이상의 장기 보관이 필요한 경우(잔여검체 등), 냉동보관(-20℃이하)

2) 소변

- ① 채취 량 : 3mL 이상
- ② 혈청 검체 채취 시 함께 채취
 - * 함께 채취하지 못한 경우 차후 채취 가능(증상 발현 후 4주 이내)
- ③ 채취한 소변은 나사마개(screw cap)로 된 15mL 플라스틱 튜브에 담아 냉장보관(2~6℃)
- ④ 7일 이상의 장기 보관이 필요한 경우(잔여검체 등), 냉동보관(-20℃이하)

◆ 주의사항

- 검체에 병원체(지카바이러스)가 포함될 수 있으므로 장갑, 실험가운 등 적절한 보호장비 착용
- 양성환자의 잔여검체는 냉동(-20℃이하) 보관하여 월 1회 국립보건연구원(신경계바이러스과)로 송부(음성 잔여검체는 송부 불필요)

④ 검체 포장 및 수송 : 보건소/검역소/운송업체

- ① 혈액은 혈청으로 분리하여 검사 의뢰함을 원칙으로 하며, Category B UN 3373* 수송방법 준수(참고2 참조)
 - * UN 운송위험물 및 유해성있는 화학물질 등 위험 물질 군을 식별하기 위하여 부여한 4자리 숫자로 UN 포장기준 PI650 준수한 3중 안전 포장(경고한 2차안전수송용기, 3차 포장 용기 사용)해야 함
- ② 일반 의심환자(비임신부) 검체는 '질병관리본부 검체 안전 운송 시스템'에 따라 운송
- ③ 임신부 의심환자는 질병관리본부 긴급상황실 확인 후 긴급상황실에서 이원의료재단에 검체 운송 지시
 - * 보건소는 임신부 의심환자 발생 시 검체 운송 전 긴급상황실로 연락해 확인
 - * 긴급상황실에서는 감염병진단관리과로 해당사항 공유

일반 의심환자	① 보건소 및 의료기관 → 운송업체(녹십자랩셀) 또는 보건소* → 보건환경연구원 * 운송업체와 연계 되지 않은 기관은 보건소에서 검체 수거 및 운송 ※ 운송업체(녹십자랩셀) 연락처 : 031-260-9229 ② 검역소 → 검역소(또는 운송업체*)→지역거점검사센터 (인천공항, 부산, 여수검역소) * 2017년부터 운송업체에 의한 운송 시행
임신부 의심환자	보건소/의료기관/검역소 → (긴급상황실 확인) → 이원의료재단 ※ 이원의료재단 연락처 : 032-210-2100 ※ 질병관리본부 긴급상황실 연락처 : 043-719-7789~90

※ 운송업체 또는 보건소는 검체 수거 시 의뢰기관이 감염병발생 신고를 하였는지 확인
 ※ 위기대응총괄과에서 긴급검체라고 지정할 경우, 긴급검체 운송시스템을 통해 운송

- ④ 모든 검체는 냉장(2~6℃) 또는 냉동상태(-20℃)로 운송

**5] 검체 접수 및 검사 결과 통보 : 보건환경연구원/수탁검사기관/
국립보건연구원/지역거점검사센터**

1) 검체접수

- ① 검체 접수 즉시 질병관리본부 질병보건통합관리시스템(is.cdc.go.kr)에 검체 접수 정보(접수일)를 입력

- 질병보건통합관리시스템 > 지카감염증관리 > 검체관리
- 시도 구분, 환자명, 검체결과, 역학조사등록기간 설정하여 환자 조회 후 검체 접수일 입력

- ② 검체접수는 의심환자 신고가 완료된 후 가능하므로 검체접수는 되었으나 시스템에서 의심환자 조회가 안 될 경우 해당 검체의뢰 기관(보건소 또는 의료기관)에서 신고하도록 확인

2) 결과 통보

- ① 검사결과는 검사기관에서 질병보건통합관리시스템(is.cdc.go.kr)에 즉시 입력

- 질병보건통합관리시스템 > 지카감염증관리 > 검체관리
- 시도 구분, 환자명, 검체결과, 역학조사등록기간 설정하여 환자 조회 후 검체 검사 결과(음성/양성 및 C_T값 등) 및 검체결과일 입력
- ※ 검체 수령 후 만 3일 이내 검사결과 보고
- ※ 긴급검체로 지정된 검체는 즉시 검사 실시

- ② 검사의뢰기관에 시험성적서 발행(확진 통보)
- ③ 검사 후 양성 잔여 검체는 냉동(-20℃ 이하) 보관하여 월 1회 국립 보건연구원 신경계바이러스과(043-719-8493)로 송부(공문시행)

- ◆ 양성 잔여검체 송부 시 환자의 이름, 생년월일, 성별, 검체접수일, 검사결과일, 검사결과(음성/양성 및 C_T값) 및 기타 특이사항 포함(참고3 참조)*
- * 질병보건통합관리시스템(is.cdc.go.kr) > 지카감염증관리에서 엑셀다운로드 가능
- ◆ 음성 잔여검체는 송부 불필요

양성결과 발생 시 유의사항

<1> 보건환경연구원 및 국립검역소 지역거점 검사센터에서 양성결과 발생 시, 질병관리본부(위기대응총괄과, 043-719-7789~90)로 즉시 유선 통보

- * 각 기관의 최초 양성결과 의 경우, 국립보건연구원에서 재검사 실시 후 확진 판정하므로 최초 양성 잔여검체는 국립보건연구원(신경계바이러스과, 043-719-8493)로 즉시 송부

<2> 확진자 및 확진 통계는 질병관리본부에서 중괄하여 발표

- * 각 지자체에서 별도로 발표되지 않도록 주의해 주시기 바람

6] 세부 검사 방법

- ◆ Real-time RT-PCR을 통한 유전자 검사 실시
- ◆ ELISA(IgM) 및 PRNT를 통한 항체 검사
 - ▷ 위험에 노출된 유증상 임신부(의심환자 중 임신부) 이외는 모두 Real-time RT-PCR을 통한 유전자 검사 실시
 - ▷ 의심환자 중 임신부는 Real-time RT-PCR가 음성인 경우 ELISA 등의 항체검출검사를 추가 실시
 - ▷ 의심환자 기준에 부합되지 않는 경우 민간의료기관에서 유전자 검사 가능하며, 임신부의 경우 보험급여 적용
 - ※ “민간의료기관용 메르스 및 지카바이러스 감염증 유전자 검사 지침” 참고 (질병관리본부 홈페이지에서 다운로드 가능)

1) 핵산 추출(RNA extraction)

- ① 검사자는 개인보호장비를 착용하고 생물안전작업대(class II)에서 검체를 처리 (“6] 검사실 생물안전” 참조)
- ② 검사 전 검사공간 및 파이펫 표면은 RNase 제거제를 이용해 RNase 제거

※ RNase는 손 또는 먼지 등에 의해 쉽게 오염되며, 불활성화가 어렵고 작은 양으로도 RNA가 쉽게 파괴되므로 RNA 추출 전체적인 과정에서 RNase 오염 발생을 항상 주의해야 함

③ RNA 추출 과정에 사용되는 검사 소모품, 증류수 및 모든 시약은 "RNase-free" 제품을 사용하며, 검사 소모품(튜브, 팁 등)은 일회용 폴리프로필렌(disposable polypropylene) 사용을 권고

④ 검사에 사용하는 검체는 200 μ l씩 분주하여 사용·보관

⑤ 세포의 DNA가 함께 추출되지 않도록 검체의 상층액(Supernatant)을 사용해 RNA를 추출

※ 검체의 침전물이 있을 시 1500 \times g에서 10분간 원심분리하여 상층액 사용

※ DNA 오염 우려 시 RNase-free DNase 처리 가능하며, DNase는 열처리(70 $^{\circ}$ C, 15분)하여 불활성화해야 함

⑥ 추출된 RNA는 Real-time RT-PCR 검사 전까지 -70 $^{\circ}$ C 보관 가능

⑦ 검체로 인한 오염 발생 또는 작업 종료된 경우, 즉시 소독제를 이용해 생물안전작업대를 소독

2) Real-time RT-PCR

◆ 보건환경연구원 및 검역소는 국립보건연구원에서 제공하는 「Zika Virus Polyprotein gene genesig Standard kit (Primerdesign사)」 사용

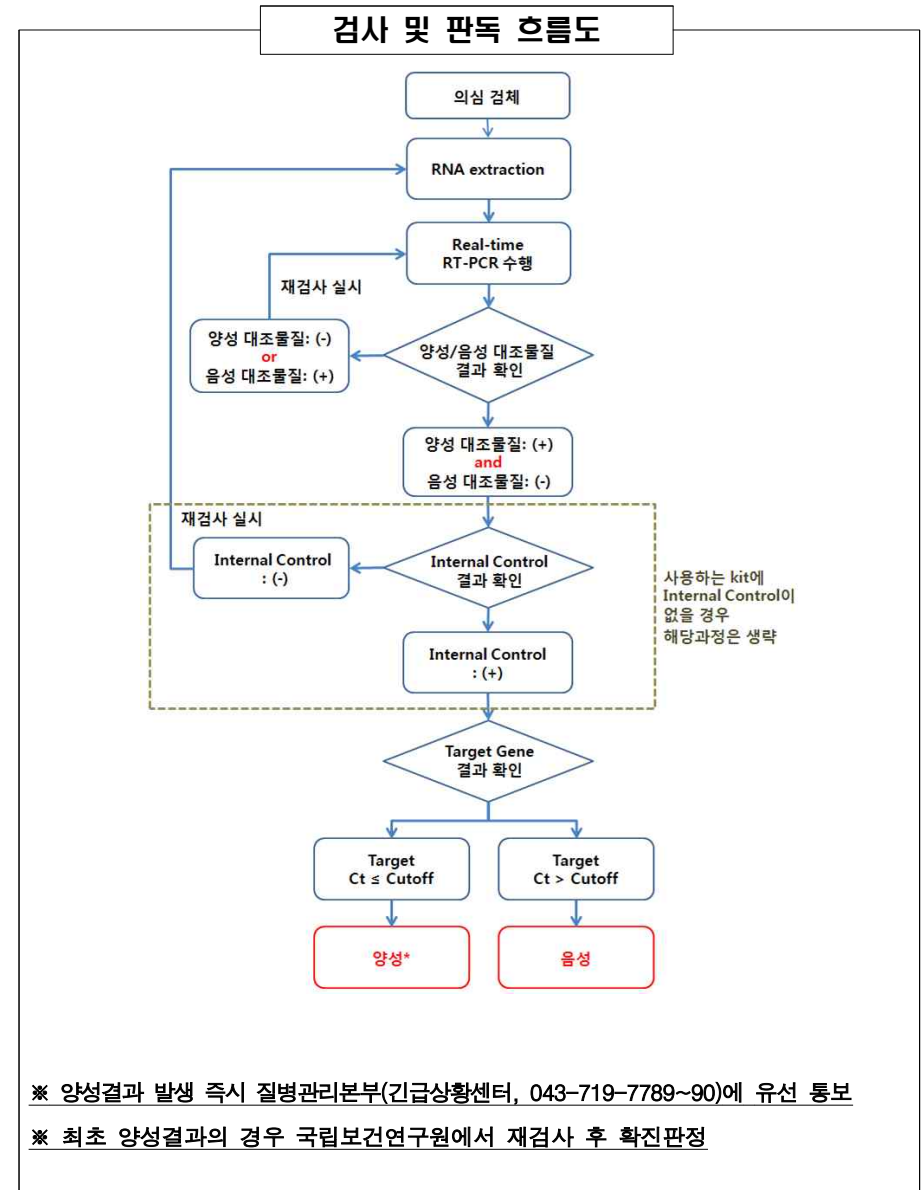
◆ 민간의료기관은 식품의약품안전처 허가면제(긴급사용승인)된 시약 사용

① 검사 전 검사공간 및 파이펫 표면은 RNase 제거제를 이용해 RNase 제거

② 매 검사 수행 시 양성 및 음성 대조물질(positive- and negative-control)을 하나 이상 포함시켜야 함

※ 양성 대조물질에 의한 교차오염(cross-contamination)을 방지하기 위해 주의해야 하며, 양성 대조물질 사용하기 전에 각 샘플과 음성 대조물질을 밀봉 하거나, 별도의 실험공간에서 양성 대조물질 사용을 권고

3) 유전자 검사 결과 판독



① 양성 대조물 검사결과 음성 또는 음성 대조물 검사결과 양성인 경우 재검

※ 반복적으로 대조물 검사결과에 이상이 있는 경우, 검체는 긴급검체 안전운송시스템에 따라 국립보건연구원(신경계바이러스과, 043-719-8493)으로 운송해 재검의뢰

② Target 유전자의 검사결과(C_T값)가 cutoff 이하인 경우 양성, cutoff 초과인 경우 음성 판정

※ 신경계바이러스과에서 제공하는 세부 검사법 참조

③ 소변 검체 또는 혈청 검체 두 가지 중 한 개 이상의 검체에서 양성이 나온 경우 최종 양성 판정

3) 항체검출검사(ELISA 및 PRNT)

① 검사자는 개인보호장비를 착용하고 생물안전작업대(class II)에서 검체를 처리 (“6 검사실 생물안전” 참조)

② 사용하는 시약제조사의 검사 지침서를 준수

※ 현재 식약처 허가 또는 허가면제(긴급사용승인)된 제품이 없으므로 민간의료기관에서는 항체검출검사 불가

7 검사실 생물안전

◆ 검사 인력에 임신부는 제외 할 것

1) 검체의 처리 및 검사는 생물안전 2등급(Biosafety level 2, BSL2) 이상의 검사실에서 실시

※ 통상적인 BSL2 수준의 안전수칙을 지키되 감염성 검체와 접촉하는 소모품은 가능한 일회용을 사용

2) 가운, 일회용 장갑, 수술용 마스크 등 적절한 개인보호구를 착용

※ 병원체 및 의심검체 등의 취급 시 될 우려가 있는 경우 고글 또는 안면보호구 착용

※ 에어로졸 발생 우려가 있는 조작과 대량 또는 고농도의 균을 취급 할 경우 호흡보호구(1급 방진마스크, KF94, N95 마스크 등 이와 동급 마스크) 착용

3) 감염성물질을 취급하는 모든 검사는 Class II 생물안전작업대에서 수행할 것

<예시>

- ◇ 검체의 현탁(교반) 및 파쇄 또는 검체를 다른 용기에 옮기는 작업
- ◇ 검체를 희석 및 분주하는 작업
- ◇ 의심검체로부터의 핵산추출과정
 - * 단 자동핵산분석기를 사용하는 경우는 예외

4) 실험대 및 장비의 소독

① 검사시작 전, 검사 종료 후 및 검체에 의한 오염이 발생된 즉시 소독

② 소독은 소독제를 이용하여 10분 이상 동안 처리

※ 소독제는 식약처에서 의약품 또는 의약외품으로 허가받은 방역용 살균소독제를 사용하며, 제조사에서 제시한 권장사항(희석배율과 접촉시간, 취급 주의사항 등)을 따른다

5) 모든 폐기물은 「폐기물관리법」을 준수하여 처리

① 폐기물은 적절하고 안전한 취급을 위해 발생장소에서 분리, 처리

② 바늘이나 칼날과 같은 날카로운 도구는 찌르지 않는 손상성 폐기물 전용용기에 수집해야 하며, 전용용기는 날카로운 도구가 사용되는 위치에서 가까운 데 두어야 함

③ 고품의 날카롭지 않은 감염성 폐기물은 새지 않는 폐기물 수집함에 모은 후 뚜껑을 덮어 보관

※ 수집함은 몸으로 지탱(어깨에 올리는 등)하여 옮기지 않음

④ 폐기물의 처리는 「폐기물관리법」에 따라 의료폐기물 전용용기에 넣어 폐기물 전문 업체에 의해 수거·소각

[지카바이러스 진단검사 검체 의뢰서 첨부문서]

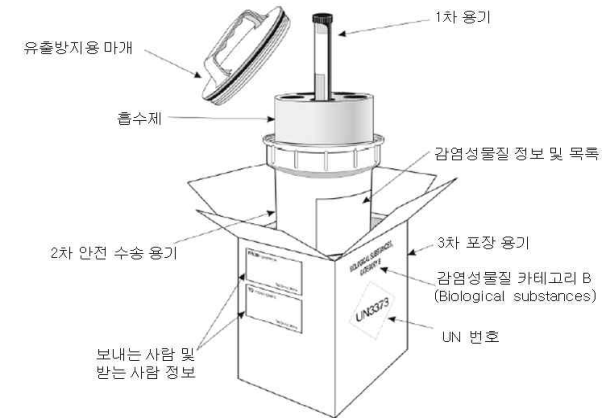
환자정보	성명		직업	
	나이		성별	
	연락처			
	거주지	_____시/도 _____시군구 _____		
	발병일		검체채취일	
	임신여부	<input type="checkbox"/> 임신안함 <input type="checkbox"/> 임신 중 <input type="checkbox"/> 해당 없음 ▶ 임신 중인 경우 임신 주차: _____ 주		
	여행력	여행국		
여행기간				
검체명	<input type="checkbox"/> 혈액(혈청) <input type="checkbox"/> 기타(_____) <input type="checkbox"/>			
주요증상	<input type="checkbox"/> 발열(체온 : _____) <input type="checkbox"/> 발진 <input type="checkbox"/> 두통 <input type="checkbox"/> 근육통 <input type="checkbox"/> 관절통 <input type="checkbox"/> 결막충혈 <input type="checkbox"/> 기타 (_____)			
최근 1년 내 백신접종여부	<input type="checkbox"/> 일본뇌염 <input type="checkbox"/> 황열 <input type="checkbox"/> 해당 없음			
검체인수인계일: _____년 _____월 _____일 _____시 검체인계인 소속: _____성명 _____서명 검체인수인 소속: _____성명 _____서명				

참고2

Category B UN 3373 수송 포장 및 표식

- 병원체를 포함하는 감염성물질이 임의의 충격에 의하여 파손되거나 내용물이 유출되지 않도록 수송용기를 이용하여 3중 포장

<예시>



- 1차 용기(검체를 담은 용기)는 파손위험이 적은 플라스틱 재질을 권고하며, 검체정보(이름, 성별, 나이 등) 반드시 표기
- 2차 안전수송용기는 누수방지 용기로 수송과정에서의 견고한 용기(플라스틱, 철제 등)를 사용하며, 1차용기가 흔들리거나 부딪혀서 파손되지 않도록 고정
- 3차 포장용기는 감염성물질 카테고리 표식이 기재된 것을 사용하며, 검체시험의뢰서(참고1)를 기입하여 함께 포장

참고3

유전자 검사 결과서

검사기관명 :								
담당자 : 소속/이름/연락처								
번호	환자명	생년월일	성별	검체접수일	검사결과일	검사결과		특이 사항
						판정결과 (양성/음성)	Ct값	

※ 질병보건통합관리시스템(is.cdc.go.kr) > 지카감염증관리에서 엑셀다운로드 가능

참고4

의심환자 진단검사 흐름

