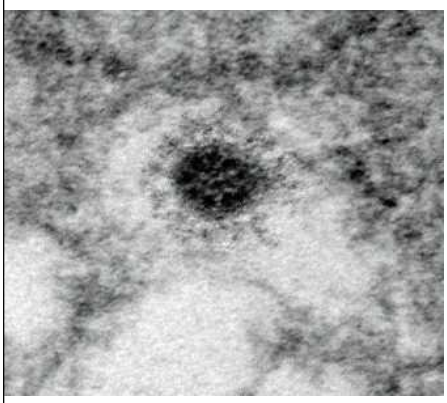
코로나바이러스감염증-19 대응 실험실 생물안전 가이드

<질병관리청 생물안전평가과, 2023.1.19.>

◈ **코로나바이러스감염증-19 관련 모든 검체는 잠재적 감염원으로 고려하고 감염성 물질 취급 시 노출 위험을 최소화하도록** 주의하시기 바랍니다.

◈ 본 가이드는 코로나바이러스감염증-19 의심 또는 확진환자로부터 채취한 검체를 검사하기 위해 취급하거나, 연구목적으로 바이러스나 핵산을 취급하는 경우에 필요한 생물안전 기준을 안내하기 위한 것으로 지속적으로 개정될 예정입니다.

SARS-CoV-2(Severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2)



<출처: 질병관리청>

- *Coronaviridae*, 30kb, enveloped, non-segmented, (+)ssRNA
- 감염증상: 발열, 인후통, 호흡곤란 및 폐렴 등 호흡기감염증
- 감염경로: 비말, 접촉
- 잠복기: 1~14일(평균 5~7일)
- 실험실 획득감염: 2021년 11월, 대만에서 연구자가 감염된 동물 취급 후 코로나-19 양성으로 판정받은 바 있음*

* 공식적으로 확인된 첫 번째 SARS-CoV-2 실험실 감염 사례

- 위험군: 제3위험군

* 미국, 영국, 캐나다, 중국, 일본 등에서 제3위험군으로 관리

1. 생물안전 일반 기준

- 검체 등 감염성물질 취급 시 호흡보호구(KF94, N95 또는 동급 이상의 호흡보호구(PAPR* 등), 일회용 실험가운(lab coat/gown) 또는 전신보호복, 일회용 장갑 등 **개인보호구** 착용**

* PAPR: Powered air purifying respirator(전동식공기정화 호흡보호구)

**필요시 눈 보호구(고글 또는 안면보호구) 착용

- **에어로졸 발생 가능성이 있는 작업은 검증된 Class II 이상의 생물안전작업대(Biological Safety Cabinet, BSC) 내에서 수행**

* 피펫 작업 시 필터가 장착된 팁(filtered tip) 사용

- 원심분리 작업 시 물리적 밀폐장비인 safety bucket 및 sealed rotor 등 사용
- 검체 취급 후 오염된 실험대 및 작업대는 적절한 소독제를 사용하여 소독
- 폐기물은 고압증기멸균 등의 처리 후 의료폐기물로 처리

★ SARS-CoV-2를 이용한 실험의 IBC 심의사항 ★

- 살아있는 바이러스(야생주)를 직접 취급(진단, 배양 등)하는 실험은 연구책임자의 위해성 평가 수행, 안전 확보계획(밀폐등급, 개인보호구 등) 마련 및 기관 생물안전위원회(IBC) 검토 필요
- **SARS-CoV-2를 이용한 유전자재조합 실험***은 「유전자재조합실험지침」 제9조에 따른 **기관생물안전위원회(IBC) 승인사항**이므로 반드시 시험·연구기관장의 사전승인을 받아야함

* SARS-CoV-2 유전자 일부(합성 및 추출)를 대장균 등의 숙주에 도입하는 유전자변형생물체의 개발·실험(배양 포함), SARS-CoV-2 병원체를 직접 변형하는 유전자변형생물체의 개발·실험(배양 포함) 등

※ SARS-CoV-2 병원체를 직접 변형하는 유전자변형생물체의 개발·실험의 경우, 기관 IBC 심의 철저(심의결과는 질병관리청에 공유 요청) 및 안전 관리 준수 필요

▶ **SARS-CoV-2를 직접 변형하는 유전자변형생물체 개발·실험의 경우**

① IBC 심의 강화: 위해 특성을 파악하여 위해성 평가 철저, 실험 이후 병원체 불활화 및 실험 폐기물 소독· 폐기 방법 등 생물안전 확보를 위한 관리 강화

② IBC 심의 결과서를 질병관리청(생물안전평가과)에 알림(생물안전평가과 043-719-8046)

③ 생물안전 연구시설 안전관리 세부 기준 준수 철저

2. 작업별 생물안전 세부 기준

○ 감염 가능성이 있는 검체를 취급하는 아래의 작업은

생물안전 2등급(Biosafety Level 2, BL2) 수준의 실험실에 설치된 **Class II 이상의 BSC 내에서 수행**

- 검체의 1차 용기 포장(용기 내 주입, 밀봉, 소독) 및 개봉
- 불활화되지 않은 검체를 희석 및 분주하는 작업

- 검체 불활화(핵산 추출용 용해액 또는 불활화제 첨가) 작업

* 불활화된 검체는 생물안전작업대 외부에서 취급 가능

- 바이러스(*in vivo* 또는 *in vitro*) 증식을 수반하지 않는 진단·검사 시험
- 세균 또는 진균 증식 여부 확인을 위해 세균 및 진균 배지에 검체 접종
- 감염가능성이 있는 검체로부터 핵산 추출
- 현미경 분석을 위한 화학물질 또는 열 고정 작업 및 준비
- 원심분리를 위해 bucket 및 rotor에 원심관을 넣거나 빼내는 작업

* 원심분리기 사용 시 물리적 밀폐장비인 safety bucket 및 sealed rotor 등 사용

- 불활화되지 않았거나 고정되지 않은 감염된 조직 검체 취급

* 감염된 조직 검체는 고농도의 바이러스가 존재할 가능성이 높으므로 BL3 수준의 개인보호구 착용

- 일상적 검사(혈액검사, 생화학검사 등)를 위해 1차 용기(검체)를 개봉하는 작업

* 1차 용기(검체 튜브 등)를 열지 않고 자동화기기(autoanalyzer)로 분석하는 경우에는 BSC 외부에서 수행 가능

○ 불활화된 검체 취급 등 아래의 작업은

생물안전 2등급(Biosafety Level 2, BL2) 수준의 실험실에서 생물안전작업대가 아닌 일반 작업대(실험대)에서 수행 가능

- 불활화된 검체를 이용한 분자생물학적, 혈청학적 시험, 생화학적 분석, 항원 검출 시험

* 정제된 핵산, 단백질 등을 이용하는 분석 실험에 한해 생물안전 1등급(BL1) 실험실에서 가능

- 세균 및 진균 배지에서 검체 배양 및 관련 시험검사(routine examination)
- 화학물질 또는 열 고정된 검체의 전자현미경 분석
- 추가 실험이 필요한 이송용 검체의 포장(1차 포장 및 1차 포장용기 소독 완료된 검체 대상)

○ 바이러스 배양 등 SARS-CoV-2를 직접 취급하는 아래의 작업은

생물안전 3등급(Biosafety Level 3, BL3) 실험실에서 수행

- 바이러스 접종, 배양, 분리, 역가 측정, 단백질 정제, 동결건조, 유전자 재조합실험 등 살아있는 바이러스를 직접 취급하는 실험

- 추출 또는 합성한 바이러스 RNA 전체 염기서열(whole genome)을 이용하여 세포 배양 등 바이러스 증식이 가능한 실험
- 바이러스 배양액 또는 바이러스가 감염된 세포(또는 세포 추출물)의 불활화 작업

* 생화화적 분석, 혈청학적 시험, 면역학적 시험 등을 위해 배양된 바이러스의 불활화 작업

(주요 유의사항)

- 눈 보호구 및 KF94, N95 동급 이상의 호흡보호구(PAPR 등) 사용 권고

* 마스크를 사용하는 경우 반드시 밀착 여부 확인

- 취급자는 병원체의 특성 등을 포함한 기관 생물안전지침 숙지 및 준수
- 취급자에 대한 상시 건강 모니터링 및 비상시 사고대응절차 마련
- 감염동물 실험 시 PAPR 또는 동급 이상의 호흡보호구 반드시 착용
- 실험에 사용된 물품은 멸균 등 정해진 절차에 따라 즉시 처리

○ 실험대 및 장비의 소독 작업

- 70% ethanol, 0.5% hydrogen peroxide 또는 0.1% sodium hypochlorite(염소 농도 0.1%, 1,000ppm) 1분간 반응 처리 및 그 외 일반적인 바이러스 살균제 등 적절한 소독제를 이용

* 환경부에서 허가된 방역용 살균 소독제를 사용할 수 있으며, 제조사에서 제시한 소독제의 희석 배율, 접촉 시간 및 취급 주의사항 등의 권장 사항을 따름

- 감염성물질을 취급한 모든 폐기물은 고압증기멸균 등의 처리 후 폐기물 관리법에 따라 의료폐기물로 폐기

3. 검체 및 병원체의 포장 및 수송

○ 검체 포장 방법

- 환자 및 의심환자 검체는 **카테고리 B** 감염성물질 포장기준(UN 포장기준 P650)에 따라 **3중 안전포장**
- 환자로부터 채취된 검체가 포함된 1차 용기를 소독처리(70% ethanol 등)한 후 라벨 작성

* 병원명, 검체 종류, 채취일, 환자명, 성별, 나이 등의 정보 표기

- 소독 처리된 1차 용기를 흡수제(종이타올 등)로 감싼 후 2차 용기에 넣음

* 2차 용기 내 여러 개의 1차 용기를 포장하는 경우, 전체 검체의 양을 흡수할 수 있는 충분한 양의 흡수제를 넣고 수송 중 임의의 충격에 1차 용기들이 서로 부딪혀 깨지거나 파손되지 않도록 충격완화제를 넣어 흔들리지 않도록 고정함

- 2차 용기의 뚜껑을 단단히 잠금(또는 밀봉) 후 3차 용기에 넣음

* 2차 용기는 95kpa 내압, 방수 및 누수 방지 용기 사용

- 검체 의뢰서를 3차 용기 뚜껑 사이에 넣은 후 포장

- 3차 수송용기 겉면에 보내는 사람, 받는 사람, 응급상황 시 연락처 및 카테고리 B 감염성물질을 나타내는 **UN 3373 표식**

- 수송용기 재사용 시 소독방법

* **재사용할 수 없는 수송용기**: 1차 용기의 내용물(검체)로 오염되었거나, 손상 또는 훼손된 2차 또는 3차 용기는 재사용할 수 없으며, 이러한 용기는 즉시 고압증기멸균 등 처리 후 의료폐기물로 폐기

  • 2차 용기 소독방법: 70% ethanol 또는 Sodium hypochlorite(염소농도 0.1% 또는 1,000ppm)로 균일하게 분무 또는 침지 후 1분간 반응 처리

    * 염소는 피부 등 인체 독성이 강하므로 장갑 착용 및 환기 등 작업 시 유의

  • 3차용기의 경우, 용기 외부에 기록된 개인정보 등 관련 정보를 삭제 후 재사용

○ 병원체 포장 방법

- 바이러스 배양액은 **카테고리 A** 감염성물질 포장기준(UN 포장기준 P620)에 따라 **3중 안전포장**

* 포장 방법은 감염성물질 안전수송지침(2019, 질병관리본부) 내 카테고리 A 포장 방법(p17) 준수

- 3차 수송용기 겉면에 보내는 사람, 받는 사람, 응급상황 시 연락처를 반드시 표기 및 **UN2814 표식**

○ 수송 시 유의사항

- 신종 코로나바이러스 감염증 의심검체 및 병원체 수송 담당자 지정

* 수송담당자는 비상연락망을 유지하고 비상조치 등에 대한 사항을 숙지해야 하며 인수인계절차를 수행

- 감염성물질 안전수송지침(2019, 질병관리본부) 준수

4. 기타 사항

○ 환자로부터의 검체 채취 방법, 검체 운송 중 보관 조건 등은 ‘코로나바이러스감염증-19 대응 지침(의료기관용)’, ‘코로나바이러스감염증-19 선별진료소 운영 안내’를 따름

○ 바이러스 배양 및 취급에 대한 기타 세부 사항은 SARS-CoV 및 MERS-CoV 취급 기준을 따름

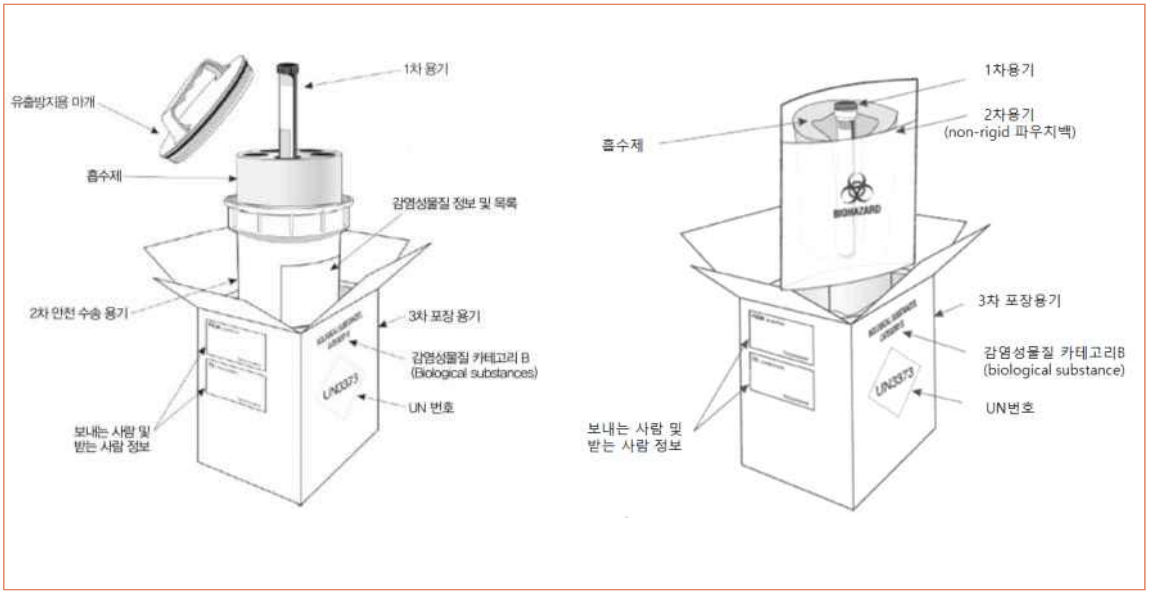
5. 관련 문의(질병관리청 생물안전평가과)

○ 유전자재조합 실험: 043-719-8042, 8046

○ 병원체 취급관련: 043-719-8041, 8044

<첨부 1> 감염성물질 포장 예시

< 그림1. 감염성물질 3중 포장 예시 >



< 그림2. 카테고리 B 감염성물질 포장 예시 >

질병관리청

<첨부 2> 코로나바이러스감염증-19 관련 생물안전 Q&A

Q1. 코로나바이러스(SARS-CoV-2)의 정제된 핵산의 분석 작업도 BL2 실험실에서 해야 하나요?

☞ 바이러스가 포함된 검체 또는 배양물에서 핵산만 정제하여 분리한 후 염기서열 분석 등 추가적인 분석실험에 이용하는 경우에는 생물안전 1등급(BL1) 실험실에서 할 수 있습니다.

Q2. 검사를 위해 채취한 검체를 개봉하려면 어디에서 하나요?

☞ 의심 환자 또는 확진 환자의 검체가 담긴 용기의 뚜껑을 열 때 에어로졸이 발생할 수 있으니 검사자의 안전을 위해 생물안전 2등급 수준의 실험실 내에 검증된 생물안전작업대 안에서 하시기 바랍니다.

Q3. 눈 보호구는 언제 착용하나요?

☞ 생물안전작업대(BSC) 외부에서 검체를 취급과정에서 검체가 튈 수 있는(splash) 작업(교반, 초음파 처리, 피펫팅 등)을 할 때 취급자의 눈 점막을 통해 감염을 일으킬 수 있기 때문에 고글이나 얼굴을 가리는 안면보호구를 쓰는 것이 안전합니다.

Q4. 혈액검사 등 진료목적의 검체 검사는 어디에서 하나요?

☞ 혈액, 혈청, 소변 검체 등으로 일상적 검사(혈액검사, 생화학검사, 면역혈청검사 등)를 실시할 때는 일반적인 임상 검체와 동일하게 표준주의를 실시하시고, 코로나바이러스감염증-19 의심 환자 또는 확진 환자의 진료를 목적으로 수행하는 일상적 검사를 위해 불활화되지 않은 검체 전처리 과정(검체가 든 튜브(1차 용기) 개봉, 도말제작 등 시료 준비 등)은 생물안전작업대 안에서 실시하시기 바랍니다.(코로나바이러스감염증-19 검사실 진단지침, 제2판 참조)

다만, 불활화된 검체를 이용한 검사·시험 또는 1차 용기(검체 튜브 등)를 열지 않고 자동화기기(autoanalyzer)로 분석하는 작업은 생물안전 2등급 수준의 실험실 내에 생물안전작업대가 아닌 일반 작업대(실험대)에서 실시하여도 됩니다.

Q5. 검체 수송에 사용한 2차 용기를 재사용하려고 소독용액에 넣어 소독하였습니다. 사용한 소독액은 어떻게 버려야 하나요?

☞ 사용한 소독액은 폐기물관리법에 따라 액상 의료폐기물로 처리하여야 합니다.

Q6. 유전자변형생물체 개발·실험이 아닌 경우 코로나19 바이러스 검체 및 병원체를 취급할 때도 IBC를 받아야하나요?

☞ 바이러스(야생주)를 직접 취급하는 실험의 경우, SARS-CoV-2는 제3위험군의 생물체로 기관의 생물연구 심의 및 생물안전 확보를 위하여 생물안전위원회(IBC) 승인을 권고합니다.

Q7. 유전자변형생물체 개발·실험인 경우 모두 기관승인 대상인가요? 대장균에 일부 유전자를 도입하는 실험도 해당 하나요 ?

☞ 모두 기관승인대상에 해당합니다. 「유전자재조합실험지침」 제9조에 따라 제2위험군 이상의 생물체를 이용한 유전자재조합 실험의 경우 사전에 기관승인을 받아야 하는 실험입니다. 그러므로 대장균에 SARS-CoV-2(제3위험군) 일부 유전자를 도입하는 실험도 기관승인 대상에 해당 하므로, 사전에 기관승인 후 실험해야 합니다.

<참고자료>

1. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease(COVID-19). Interim guidance. 13 May 2020. WHO https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-(covid-19)

2. Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Jan. 6, 2021. CDC, US https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html

3. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and its inactivation with biocidal agents. Günter Kampf, Daniel Todt, Stephanie Pfaender, Eike Steinmann, Journal of Hospital Infection, Available online February 6, 2020. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.01.022

4. Inactivation of surrogate coronaviruses on hard surfaces by health care germicides. R.L. Hulkower, L.M. Casanova, W.A. Rutala, D.J. Weber, M.D. Sobsey, Am J Infect Control, 39 (2011), pp. 401-407

5. Chemical disinfection of non-porous inanimate surfaces experimentally contaminated with four human pathogenic viruses. S.A. Sattar, V.S. Springthorpe, Y. Karim, P. Loro, Epidemiology and Infection, 102 (1989), pp. 493-505

6. 감염성물질 안전수송지침(2019, 질병관리본부)

7. 코로나바이러스감염증-19 검사실 진단 지침(제2판, 대한진단검사의학회 신종코로나비아러스 대책위원회, 질병관리청 감염병분석센터)

8. 유전자재조합실험지침[보건복지부고시 제2022-277호]

9. 실험실 생물안전지침(2019, 질병관리본부)