

Letter to the editor

SARS-CoV2 mutation detection experience using PowerChek SARS-CoV-2 S-gene Mutation Detection Kit

Sun-Mi Cho¹, Yeon Hee Choi¹, Seong Geun Hong¹, Myung Seo Kang¹

Department of Laboratory Medicine, CHA Bundang Medical Center, CHA University, Seongnam, Korea

PowerChek SARS-CoV-2 S-gene Mutation Detection Kit를 이용한 SARS-CoV-2 변이 검출 경험

조선미¹, 최연희¹, 홍성근¹, 강명서¹

차의과학대학교 의과대학 분당차병원 진단검사의학과



OPEN ACCESS

pISSN : 2288-0585
eISSN : 2288-6850

Ann Clin Microbiol 2023 September, 26(3): 83-86
<https://doi.org/10.5145/ACM.2023.26.3.6>

Corresponding author

Myung Seo Kang

E-mail: olive@chamc.co.kr

Seong Geun Hong

E-mail: hlseo@cha.ac.kr

Received: March 07, 2023

Revised: July 19, 2023

Accepted: August 13, 2023

© 2023 Korean Society of Clinical Microbiology.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

2019년 12월 코로나바이러스감염증-19 (COVID-19)의 원인 바이러스인 severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)가 검출된 이후 다양한 유전적 변이가 보고되었다[1]. SARS-CoV-2 변이의 수가 증가함에 따라, 백신 접종 시 면역력 저하와 함께 감염성 증가 및 임상적 중증도 측면에서 위험이 되고 있다[2-4]. 세계보건기구에서 세계 보건에 상당한 위험을 초래하는 변이 바이러스를 우려 변종(variant of concern)으로 지정하였다[5]. 따라서 SARS-CoV-2를 신속하게 검출하는 것뿐만 아니라 변이형을 확인하는 것이 감염관리 및 대책수립에 중요하다. 그러나 염기서열 분석을 통한 변이의 검출은 특정 장비 및 숙련된 기술이 필요하고 시간이 많이 드는 단점이 있다. 간편한 방법으로 중합효소연쇄반응을 이용한 방법들이 개발되었는데, 대부분의 검사실에 구비되어 있는 실시간 역전사 중합효소연쇄반응(real-time reverse transcription polymerase chain reaction, rRT-PCR) 장비를 사용한다. E, N, ORF-1 및 S 유전자 표적을 선택적으로 조합하여 단일 실험으로 변이형을 확인할 수 있어 선별 시험으로 유용할 것으로 판단된다. 본 연구에서는 PowerChek™ SARS-CoV-2 S-gene Mutation Detection Kit (ver.3.0, Kogene Biotech, Seoul, Korea)를 이용하여 변이 바이러스를 검출하였다. 이 검사 시약은 7개의 변이 위치(N501Y, K417N, E484K, P681R, E484A, L452R, T547K)를 검사하여 알파변이, 베타변이, 감마변이, 델타변이, 오미크론변이를 검출할 수 있다. 검사결과는 N501Y만 검출되면 알파변이, N501Y, K417N, E484K 모두 검출되면 베타변이, N501Y, E484K가 검출되면 감마변이, P681R과 L452R이 검출되면 델타변이, E484A와 T547K가 검출되면 오미크론변이, BA. 1, E484A만 검출되면 오미크론변이, BA. 2로 추정한다. 다른 연구자의 해당 키트를 사용한 연구결과에서 염기서열분석 결과와의 일치율이 100%이었고[6], 본원 검사실에서 정확도 확인을 위해 30검체를 임의로 선정하여 비교한 next generation sequencing (NGS) 결과와의 일치율은 96.7%로 한 개의 검체에서 불일치를 보였다. 검체의 부족으로 재검을 통한 확인을 할 수 없었으나, 선별 목적으로 사용하기에는 문제가 없다고 판단하였다. SARS-CoV-2의 검출은

PowerChek™ SARS-CoV-2 real-time PCR Kit (Kogene Biotech)를 사용하여 검사하였으며, 제조사의 판정기준에 따라 양성으로 판정된 비인두도말 검체는 변이형을 검사하기 전까지 -70°C에서 보관되었다. 모든 검체는 MagNA Pure 96 system (Roche, Basel, Switzerland)을 이용하여 핵산을 추출하였다.

2021년 1월부터 2022년 3월까지 분당차병원 검사실에서 SARS-CoV-2 양성 판정을 받은 비인두도말 검체 398개를 수집하였다. 2021년 1월부터 2021년 12월까지 SARS-CoV-2 검사가 의뢰된 31,944건 중 283건이 양성이었으며, 이 중 241건을 수집하였다. 2022년 1월부터 2022년 3월까지 의뢰된 13,610건 중 2,579건이 양성이었으며, 이 중 157건을 수집하였다. 수집한 양성 검체 중 대부분은 응급실(151, 26.6%: 과 수집 양성건수/과 양성건수×100)과 선별진료소(151, 11.1%)에서 의뢰된 것이었으며, 혈액종양내과(20, 23.8%), 코로나진료센터(16, 23.5%), 소아과(10, 3.2%), 산부인과(9, 10.7%), 소화기내과(8, 21.1%) 및 호흡기내과(7, 14.6%) 순으로 양성 검체가 포함되었다. 그 외의 26건은 여러 과에서 의뢰된 검체로 각각 5개 이하로 수집되었다. 질병관리청은 변이 유행에 따라 델타변이 우세 이전 시기(2020.1.20-2021.7.24), 델타변이 우세 시기(2021.7.25-2022.1.15) 및 오미크론 BA.1/BA.2 우세 시기(2022.1.16-2022.7.23) 등으로 구분하였다(Table 1)[7]. 본 연구에서 가장 많이 관찰된 변이는 델타변이로 221건(55.5%)이었으며, 204건이 델타변이 우세 시기에 관찰되었고, 두 번째와 세 번째로 많이 관찰된 변이는 오미크론변이인 omicron.BA.2와 omicron.BA.1로 각각 81건(20.4%), 23건(5.8%) 관찰되었고 1건의 omicron.BA.1을 제외하면 모두 오미크론 BA.1/BA.2 우세 시기에 관찰되어 질병관리청의 보고와 비슷하였다(Table 1). SARS-CoV-2 비변이 바이러스와 알파 변이는 각각 21건(5.3%)과 5건(1.3%)이 관찰되었고, 미검출(not detected)과 미결정 판정이 각각 2건, 45건 관찰되었다(Table 1). 미결정인 결과(미검출 포함)에 대해서는 27건은 동일 시약을 이용하여 재검을 하거나 cycle threshold값이 25 이하이면서 검체의 양이 40 µL 이상인 20건은 SARS-CoV-2 S gene sequencing (Celegence Inc., Seoul, Korea)을 시행하였다. SARS-CoV-2 S gene sequencing (Celegence Inc.)는 셀레믹스사의 검사실 자체 개발 검사(laboratory-developed test)로 Illumina MiSeq(Illumina, San Diego, CA, USA)을 이용하여 NGS를 시행하여 분석하는 방법이다[8]. 재검한 27개의 검체 중에 비변이 바이러스가 3건, 델타변이가 10건, 미결정이 14건이었다. NGS를 시행한 20개 검체 중에 quality control을 통과한 17건의 검체에서 B.1.619가 10건, B.1.620가 3건, BA.2가 3건, 델타변이가 1건이었다.

Table 1. The variant types of real-time PCR observed during this study period (2021.01-2022.03)

Variant	Predominance period by variant type			No. of samples (%)
	Pre-delta (2020.1.20-2021.7.24)	Delta (2021.7.25-2022.1.15)	Omicron BA.1/BA.2 (2022.1.16-2022.7.23)	
SARS-CoV-2	20	1	-	21 (5.3)
Alpha	5	-	-	5 (1.3)
Delta	6	204	11	221 (55.5)
Omicron.BA.1	-	1	22	23 (5.8)
Omicron.BA.2	-	-	81	81 (20.4)
Inconclusive	21	19	5	45 (11.3)
Not detected	2	-	-	2 (0.5)

Abbreviation: PCR, polymerase chain reaction; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.

NGS 검사에서 확인된 B.1.619와 B.1.620는 우리나라에서 2021년 3월부터 6월까지 일시적으로 67%까지 급격히 증가하였던 변이로, 같은 해 7월 델타변이 바이러스가 유행하면서 감소하였다 [9]. 본 연구에서는 21년 4월부터 22년 3월까지의 검체에서 관찰되었다. B.1.619와 B.1.620는 중앙 아프리카에서 유행 후에 유럽과 미국으로 퍼진 변이로, 우리나라에는 케냐와 말라위로부터 유입 되었다[9]. B.1.619와 B.1.620 모두 E484K 돌연변이를 가지고 있다. E484K는 베타와 감마변이에도 존재하며, 탈출 돌연변이(escape mutation)으로 COVID-19 발병에 강력한 영향을 미친다[10].

본 연구에서 검출된 대부분의 변이바이러스(88.2%, 351/398)는 추가 염기서열 분석 없이 한번의 rRT-PCR로 식별할 수 있었다. 미결정 결과를 보인 27개의 검체 중에 48.1% (13/27)는 재검을 통해 변이를 구분할 수 있었다. 재검한 결과를 포함하여 검체의 91.5% (364/398)에서 rRT-PCR로 바이러스의 변이형을 선별할 수 있었다.

결론적으로 SARS-CoV-2 양성 검체에서 상용화된 rRT-PCR 검사법을 이용한 변이형을 선별 검사하는 것은 1차 또는 2차의 검사만으로도 약 90% 이상 검출이 가능하였고, 검사시간은 통상적인 rRT-PCR과 같았다. 바이러스 변이형의 확인은 대유행의 시기에 면역반응, 백신의 효과 추정, 역학 및 감염 대책 수립 등에 유용한 정보를 제공해주므로 신속한 검사 확인이 중요한데, 간단한 rRT-PCR 검사법으로 도움이 될 수 있음을 확인하였다. 그러나 상용 rRT-PCR 검사 시약이 빠르게 출현하는 새로운 변이형을 모두 검출할 수 있도록 지속적인 개선이 필요하다.

Ethics statement

This study was approved by the Institutional Review Board of CHA Bundang Medical Center (No. 2020-12-020) and the requirement for informed consent was waived.

Conflicts of interest

No potential conflicts of interest relevant to this article were reported.

Funding

This study was supported by the research grant of the Korea Medical Device Development Project of the Korea Medical Device Development Fund (No.: RS-2020-KD000020).

References

1. Mistry P, Barmania F, Mellet J, Peta K, Strydom A, Viljoen IM, et al. SARS-CoV-2 variants, vaccines, and host Immunity. *Front Immunol* 2022;12:809244.
2. Choudhary S, Sreenivasulu K, Mitra P, Misra S, Sharma P. Role of genetic variants and gene expression in the susceptibility and severity of COVID-19. *Ann Lab Med* 2021;41:129-38.
3. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* 2021;19:141-54.

4. Plante JA, Mitchell BM, Plante KS, Debbink K, Weaver SC, Menachery VD. The variant gambit: COVID-19's next move. *Cell Host Microbe* 2021;29:508-15.
5. WHO. Tracking SARS-CoV-2 variants. <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants> [Online](last visited on 16 May 2023).
6. Park SH, Kim HK, Kang H, Kim JH, Lee J, Lim JH, et al. Incidence evaluation of SARS-CoV-2 variants in the Ulsan area, Korea, using PowerChek SARS-CoV-2 S-gene mutation detection kit: a pilot study. *Ann Lab Med* 2022;42:363-6.
7. Ryu B, Shin E, Kim NY, Kim DH, Lee HJ, Kim A, et al. Severity of COVID-19 associated with SARS-CoV-2 variants circulating in the Republic of Korea. *PHWR* 2022;15:2873-95.
8. Kim M, Lee YJ, Yoon JS, Ahn JY, Kim JH, Choi JY, et al. Genome sequences of two GH clade SARS-CoV-2 strains isolated from patients with COVID-19 in South Korea. *Microbiol Resour Announc* 2021;10:e01384-20.
9. Park AK, Kim IH, Kim HM, Lee H, Lee NJ, Kim JA, et al. SARS-CoV-2 B. 1.619 and B. 1.620 lineages, South Korea, 2021. *Emerg Infect Dis* 2022;28:415.
10. Harvey WT, Carabelli AM, Jackson B, Gupta RK, Thomson EC, Harrison EM, et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nat Rev Microbiol* 2021;19:409-24.