

# RT-PCR 코로나바이러스 검사 관련 문제

David Crowe  
4-23-2020  
Version 3

이것은 RT(역전사 효소)-PCR(중합효소연쇄반응) 기술을 기반으로 하는 코로나바이러스 검사의 분석입니다. 이 논문은 전 세계 전문가인 Stephen Bustin<sup>1</sup> 교수가 저술한 [RT-PCR의 잠재적 문제에 관한 2017년 기사](#)를 최근에 읽은 것, 최근에 [본인이 Stephen Bustin 교수와 함께 진행한 인터넷 방송](#) 및 [RT-PCR 데이터에 대한 작업 및 보고를 위한 정량적 RT-PCR 실험 발행을 위한 최소 정보\(MIQE\) 지침](#)을 기반으로 합니다. 이 기사에서는 검사에 사용된 RNA가 바이러스성인지 또는 내인성인지에 대하여는 의문을 제기하지 않습니다. RNA가 바이러스성이 아닌 경우 RT-PCR 코로나바이러스 검사 결과는 분명히 가치가 없습니다. 이 웹 페이지에는 참조가 포함되어 있지 않습니다. 참조 자료를 원하시면, 충분한 참조자료가 있는 [Coronavirus Panic Critique](#)를 참조해야 합니다.

## PCR 사이클 숫자

PCR 알고리즘은 주기적입니다. 각 사이클에서 PCR (유전자 증폭 기술)에 의해 대략 2배의 DNA를 생성합니다(이것은 RT-PCR에서는 프로세스가 시작된 RNA에 해당합니다). 테스트로 사용할 경우 시작 물질의 양을 알 수 없지만, 각 사이클이 끝날 때 DNA의 양은 프로브(탐침)에 붙어있는 형광 분자에 의해 간접적으로 표시됩니다. 각 단계 후에 생성되는 빛의 양은 약 두 배로 증가하며, 특정 강도에 도달하면 과정이 중단되고 샘플이 양성으로 판정되어 감염되었음을 시사하게 됩니다. 정해진 숫자의 사이클 후에도 여전히 충분한 DNA가 없다면, 샘플에 대하여 음성 판정을 내려 감염되지 않음을 시사하게 됩니다. 양성 판정과 음성을 구분하기 위해 사용되는 이 사이클 숫자는 임의적이며, 검사를 하는 조직이 사용하는 사이클 숫자는 동일하지 않습니다. 예를 들어, 36 이하의 사이클 숫자는 양성 판정을 내리는 기준으로 사용하며, 37-39 사이클 숫자는 한 번 더 테스트해야 하는 모호한 것으로, 그리고 39보다 큰 사이클 숫자는 음성 판정을 내리는 기준으로 사용하는 것을 보고한 논문이 게시되었습니다. 다른 논문은 재검사를 위한 중간 영역이 없이 37 사이클을 기준으로 사용하였습니다. [미국 FDA가 승인한 테스트 키트 목록](#)에 있는 한 제조업체는 각각 30, 31, 35, 36, 37, 38 및 39 사이클을 권장했습니다. 40 사이클이 가장 널리 사용되고 있으며, 12개의 제조업체가 이 40 사이클을 선택하였습니다. 그리고 한 제조업체는 43과 45를 권장했습니다.

## Ct의 의미

Ct(사이클 임계 값) 숫자를 사용함에 있어 암시하는 가정은 거의 동일한 양(2의 배수 이내)의 원래의 RNA가 동

<sup>1</sup>스토폴 버스틴(Stephen Bustin)은 영국 과학자이자 런던 퀸 메리 대학교(Queen Mary University of London)의 전(前) 분자 과학 교수입니다. 그는 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)에 대한 연구로 유명하며, "정량적 PCR의 A-Z"라는 주제로 권위 있는 책을 집필했습니다.

일한 Ct 수치를 생성한다는 것입니다. 그러나 RT-PCR에는 오류가 발생할 수 있는 가능성이 큼니다. RNA를 추출하는 데 비효율성이 있으며, RNA를 상보적(相補的) DNA로 변환하는 데는 비효율성이 훨씬 더 큼니다(Bustin은 효율이 거의 50%를 넘지 않으며, 게다가 효율이 10배 정도 차이로 달라질 수 있다고 언급함). 그리고 PCR 프로세스 자체에도 비효율성이 있습니다. 인터넷 방송에서 Bustin은 임의적인 Ct(사이클 임계 값)에 의지하는 것을 "정말 어이없다, 전혀 말이 안 된다"라고 묘사했습니다. 서로 다른 실험실에서 수행된 검사에 대한 동일한 Ct 숫자가 동일한 양의 원래의 RNA를 나타낸다고 가정할 수는 없습니다.

## 사이클 제한

35회가 넘는 사이클링은 현명하지 못하지만 아무도 사이클을 35회 이하로 제한하지 않는 것 같다고 Bustin 교수는 말했습니다(MIQE 지침은 40회 미만을 권장). 사이클 숫자가 너무 많으면 PCR 반응에서 배경 형광이 형성되므로 잘못된 양성 결과가 나올 수 있습니다.

## Ct(사이클 임계 값) 및 검사에서의 양성 수치

Ct 사이클 수는 검사에서의 양성 수치에 큰 영향을 미칩니다. Ct를 37에서 35로 변경하면 양성 결과가 더 적게 나오며, 39로 변경하면 양성 결과가 더 많이 나올 것입니다. Ct 수치가 표준화되었다고 특정 기계, 화학 물질 및 다른 실험실에서 사용되는 절차에 따라 여전히 다른 의미가 있을 수 있으며, 동일한 실험실 내에서도 샘플의 검사 정도가 다르다면 검사 결과도 달라질 수 있습니다. 알려진 양의 '첨가된' RNA를 동시에 증폭하지 않으면, 양성 결과와 음성의 경계를 일관되게 구분하기 위한 일관된 CT 수치를 사용할 수 있다고 가정할 수 없습니다.

## 양이 의미가 있습니까?

공정이 효율적이라면, 많은 수의 사이클이 3분자 정도의 RNA를 검출할 수 있습니다. 체내에 이 정도로 소량의 바이러스를 가진 사람이라면, 건강상의 문제를 일으키지 않으면서도, 양성 반응이 나올 것입니다.

## 바이러스가 기능합니까?

감염성이 없는 바이러스의 일부나 결함이 있는 바이러스 입자만 존재하는 경우에도, 이것들은 여전히 양성 결과를 산출합니다. 이 검사는 병원성이 있고, 복제 가능한 바이러스가 있다는 것을 입증하지 못합니다.

## RT-PCR은 감염된 것과 감염되지 않은 것을 구분할 수 있습니까?

아닙니다. 구분할 수 없습니다.

## RT-PCR 작동 방식의 세부 사항

특정 RNA 검사를 위해 다음과 같은 단계를 사용합니다:

샘플에서 RNA 를 추출해야 합니다. RNA 를 추출할 때 DNA 를 제거하고 추가 단계를 방해할 수 있는 화학 물질이 포함되지 않도록 신중하게 수행해야 합니다. RNA 의 완벽한 정제를 보장하는 것은 불가능합니다.

RNA 는 상보적(相補的) DNA(cDNA)로 변환되어야 합니다. 이렇게 변환하기 위해서는 역전사 효소(Reverse Transcriptase)를 사용하며 아주 효율성이 없습니다(50%). 생성되는 DNA 의 양은 여러 요인에 따라 크게 달라질 수 있으며, 아마도 그 차이는 10 배 정도 될 수 있습니다(100 배의 차이가 난 경우도 있음).

PCR(중합 효소 연쇄반응) 과정에서 상보적 DNA(cDNA)는 프라이머(시발제)와 프로브(탐침)와 함께 존재합니다(그리고 샘플에서 이탈한 일부 DNA 도 존재할 수 있음). 프라이머는 복제하려는 상보적 DNA(cDNA)의 시작과 끝을 한정합니다. 프로브는 RNA 가 (매우 짧은) 프라이머 및 프로브와 일치하는 경우에만 RNA 가 복제되도록 합니다. 이러한 적합한 PCR 공정의 각 사이클에서 DNA 의 양은 약 두 배가 됩니다. 형광 마커는 프로브에 부착되므로 각 단계에서 빛의 양을 사용하여 생성된 DNA 의 양을 추정할 수 있습니다.

선택적으로, 이렇게 생성된 DNA 를 배열하여 염기(4 개의 다른 DNA 구슬 끈)가 무엇인지를 정확하게 결정할 수 있습니다.

모든 단계에서 오류와 비효율성이 발생할 수 있습니다. 알려진 양의 다른 RNA 를 사용하여 반응을 첨가하지 않으면 실제로 양을 추정할 수 없습니다. 그 알려진 양의 다른 RNA 도 복제됩니다. 그런 다음 PCR 사이클 수치는 물질의 원래 수량과 어느 정도 연관될 수 있습니다.

## 문제가 있다는 증거가 있습니까, 아니면 가설에 불과합니까?

이제 근본적으로 정확한 테스트 결과가 불가능하다는 것을 설명하는 몇 가지 논문이 있습니다. 중국의 한 논문은 음성(N), 양성(P) 또는 모호한(D, 중간)것으로 정의한 연속 테스트 결과를 보고했습니다. 약 600 명의 환자 중 설명할 수 없는 결과가 나온 29 명의 결과는 다음과 같습니다: 1 DDPDD 2 NNPN 3 NNNPN 4 DNPN 5 NNNDP 6 NDP 7 DNP 8 NDDPN 9 NNNDPN 10 NNPD 11 DNP 12 NNPN 13 PPNDPN 14 PNPPP 15 DPNPNN 16 PNPN 17 NPNN 18 PNP 19 NPNN 20 PNPN 21 PNP 22 PNP 23 PNP 24 PNDDP 25 PNPNN 26 PNPP 27 PNP 28 PNPN 29 PNP. 싱가포르에서 실시된 한 연구는 18 명의 환자를 대상으로 거의 매일 검사를 하였으며, 대부분의 환자는 1 회 이상 양성 반응에서 음성 반응으로 그리고 다시 양성 반응으로 돌아갔으며, 한 환자의 경우에는 4 번이나 이러한 현상이 있었습니다. 중국에서는 치료된 환자 중 5-14%가 2 번 연속 음성 반응이 나왔으며, 나중에는 일반적으로 새로운 증상이 없는데도 불구하고 다시 양성 반응이 나왔습니다. 한국에서는 최근에 277 명의 환자가 이러한 현상을 보였음을 보고했습니다. 68 세의 한 중국인 남성이 증상이 있어서 병원에 가서 검사를 받고 양성 반응이 나왔습니다. 증상이 해소된 후 2 번의 검사에서 음성이 나와서 퇴원하였습

니다. 그러나 검사에서 다시 양성 반응이 나와서 재입원한 후에 음성 반응이 나와서 다시 퇴원하였습니다. 그러나 퇴원 후 검사에서 양성 반응이 나와서 재입원하였으며, 나중에 3 번째로 퇴원하였습니다.

## 결론

코로나바이러스에 대한 RT-PCR 검사는 가능한 한 양성 반응이 많이 나오도록 설계된 것 같습니다. 진정한 양성 반응을 놓칠 수 있다는 두려움이 크기 때문에 RT-PCR 을 기반으로 특정 검사 방법을 설계하는 사람들은 잘못된 양성 반응 위험을 완전히 무시합니다. 잘못된 양성 반응으로 인해 전염병이 더 크게 보이고, 경제의 완전한 폐쇄를 정당화하며, 사람들을 집안에 가둡니다. 그리고 공원에서 공놀이하고, 친구와 커피를 마시러 가고, 극장이나 스포츠 경기장에 가고, 수영장이나 장마당에 가는 것과 같은 삶에 즐거움을 가져다주는 모든 것을 망가뜨립니다.