

생물테러대비 실험실 대응사업 결과보고

- 탄저 등 생물테러 발생 가능성에 대비한 능동적인 실험실 대응능력 함양
- 탄저균 감시사업의 일환으로 부산지역 토양 중 탄저균 서식실태 파악
- 생물테러 의심병원체 검사능력 보유로 국가적 실험실 감시망 구축

1. 조사개요

- 근거 : 2013년 생물테러대비 지자체보조사업 관련 『생물테러대비 실험실 대응사업 사업계획』
 - 질병관리본부 생물테러대응과-21(2013. 1. 8.)호, -200(2013. 2. 14.)
- 사업 배경
 - 생물테러 위기상황 발생시 생물테러 의심검체 및 병원체에 대한 신속·정확한 대응을 통한 국민의 생명과 재산피해를 최소화
 - 관내 토양검체 대상 탄저균 모니터링 검사, 주요 행사장 병원체 감시 및 정도 관리를 통한 진단 능력 강화 및 생물테러 조기인지
- 사업 기간 : 2013. 4. ~ 2013. 11.
- 사업 내용
 - 관내 토양검체 대상 탄저균 모니터링 검사
 - 주요 행사장 생물테러 병원체 살포감시
 - 고위험병원체 정도관리
 - 생물테러 의심상황 발생시 안전한 검체처리 및 검사(년 중)

2. 조사방법

- 조사 대상
 - 토양검체 대상 탄저균 모니터링 검사 : 우사주변 토양 채취
 - 주요 행사장 병원체 살포감시 : 행사장 주위 공기 포집
- 조사 항목
 - 토양검체 대상 탄저균 모니터링 검사 : *Bacillus anthracis*(탄저균)
 - 주요 행사장 병원체 살포감시 : *B. anthracis*(탄저균), *F. tularensis*(야토균), *Y. pestis*(페스트)
- 시험 방법
 - 토양검체 대상 탄저균 모니터링 검사

토양검체 약10 g을 50 mL conical centrifuge tube에 넣고 멸균 DW 30 mL에 부유
⇒ shaking(overnight)

열처리(70 °C, 30 min) : 영양세포 비활성화

깔때기에 2겹의 거즈를 올려놓고 검체를 여과 ⇒ 3,000 rpm, 15분간 원심분리

상층액을 버린 후 멸균수 2 mL을 가하여 검체 희석

검체를 원액, 10-2, 10-3, 10-4 희석하여 0.1 mL씩 Blood agar plate에 접종

35 °C에서 24시간 배양 : 약한 β-hemolysis 용혈

그람염색 및 생화학적 검사 실시

- 주요 국제행사장 탄저균 병원체 살포감시

· 검체채취(공기포집)

MAS 100 Air sampler(Merck) 이용

공기포집량 : 100 L(1분간 흡입)

사용배지 : BAP(Blood agar plate), CIN agar, Chocolate agar 각 5장

· 검체처리

35 °C에서 24시간 관찰

의심colony 감별테스트 실시

- 유전자 검사(의심colony 검출 시)

· PCR

INNoplex Anthrax detection Kit 사용 : Template DNA 1.0 μL, D.W 19 μL

PCR 조건 : 95 °C 5분, 95 °C 20초, 58 °C 20초, 72 °C 20초 35회 반복, 72 °C 10분

전기영동 : 1.0 % agarose gel 전기영동

· real time PCR

AccuPower® Bioterrorism real-time PCR kit 사용 : Template DNA 2.0 μL, D.W 23 μL

Exispin™(Bioneer Co. Ltd)에 strip : master mixture 혼합

표 1. Master mixture 혼합 조건

	RPM	Vortex	Cycle
Mode	2,500	Hard	20
Time	0:05	20	Stop

PCR 조건 : 95 °C에서 10초 / 95 °C 20초, 55 °C 30초(40 cycle)

3. 조사결과

- 토양검체 대상 탄저균 실험실 감시결과 총 120건을 검사하였으며 모두 불검출이었다 (표 2).

표 2. 토양검체대상 탄저균 실험실 감시결과

월 별	검체건수	검사결과	비고
4월	15	음성	○ 탄저균 조사 채취지점 선정(3개) -탄1 : 금정구 금성동 동사무소 위 -탄2 : 기장군 철마면 이곡리 -탄3 : 기장읍 신천리 기장보건소 뒤 ○ 지점 당 5건 토양채취
5월	15	음성	
6월	15	음성	
7월	15	음성	
8월	15	음성	
9월	15	음성	
10월	15	음성	
11월	15	음성	

- 주요행사장 병원체 살포 감시결과 총 20건을 검사하였으며 모두 불검출이었다(표 3).

표 3. 주요행사 병원체 살포 감시결과

행 사 명	채집일	검체채취장소	검사대상병원체	검체 건수	검사 결과
국제테니스대회	2013. 5. 16.	금정체육공원	탄저균 야토균 페스트	공기포집 5건	음성
국제실버엑스포	2013. 6. 27.	백스코		공기포집 5건	음성
바다축제	2013. 7. 31.	해운대해수욕장		공기포집 5건	음성
불꽃축제	2013. 10. 25.	광안리해수욕장		공기포집 5건	음성

4. 기타

- 고위험병원체 진단실험 정도관리 평가(병원체방어연구과-1545, 2013. 12. 13.)
 - 기 간 : 2013. 10. 21. ~ 11. 29.
 - 정도관리물질 : 우편봉투의 백색가루 1건
 - 정도관리결과 : 최상
- 백색가루 소동
 - 일시 및 장소 : 2013. 6. 20, 부산역 화장실
 - 의뢰검체 : 백색가루 등 2건
 - 결과 : 2건 모두 음성

5. 기대효과

- 생물테러 가능 병원체의 진단 프로토콜 숙지 및 진단능력 향상
- 생물테러 의심 사항 발생시 신속한 실험실 대응
- 부산에서 개최되는 주요 행사시 행사장 병원체 감시를 통한 생물테러 조기 인지