

생물테러대비 실험실 대응사업

- 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 : 질병관리본부 생물테러대응과-82(2011.01.27.) 및 생물테러대응과-238(2011.03.08)호
※ 2011년 생물테러대비 지자체보조사업 관련 『생물테러대비 실험실 대응사업 사업계획』
- 사업 배경
 - ▷ 생물테러 위기상황 발생시 생물테러 의심검체 및 병원체에 대한 신속정확한 대응을 통한 국민의 생명과 재산피해를 최소화
 - ▷ 관내 토양검체 대상 탄저균 모니터링 검사, 주요 행사장 병원체감시 및 정도관리를 통한 진단 능력 강화 및 생물테러 조기인지
- 사업 기간 : 2011년 4월 ~ 11월
- 사업 내용
 - ▷ 관내 토양검체 대상 탄저균 모니터링 검사
 - ▷ 주요 행사장 병원체 살포감시
 - ▷ 고위험병원체 정도관리
 - ▷ 생물테러 의심상황 발생시 안전한 검체처리 및 검사
 - ▷ 생물안전밀폐시설의 상시 가동상태 유지

2. 조사방법

- 조사 대상
 - ▷ 토양검체 대상 탄저균 모니터링 검사 : 우사주변 토양
 - ▷ 주요 행사장 병원체 살포감시 : 행사장 주위 환경가검물
- 조사 항목 : *Bacillus anthracis*
- 시험 방법
 - 1) 토양검체 대상 탄저균 모니터링 검사
 - ▷ 검체처리
 - 토양검체 약 10 g을 50 mL cornical centrifuge tube에 넣고 멸균 DW 30mL에 부유
⇒ shaking(overnight)
 - 열처리(70°C, 30min) : 영양세포 비활성화

- 깔때기에 2점의 거즈를 올려놓고 검체를 여과 ⇒ 3,000 rpm, 15분간 원심분리
- ▷ 배양 및 동정검사
 - 상층액을 버린 후 멸균수 2 mL을 가하여 검체 희석
 - 검체를 원액, 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} 희석하여 0.1mL씩 Blood agar plate에 접종
 - 35 °C에서 24시간 배양 : 약한 β - hemolysis 용혈
 - 그람염색 및 생화학적 검사실시
- ▷ 유전자 검사
 - INNoPLEX Anthrax detection Kit 사용 : Template DNA 1.0 μ l, D.W 19 μ l
 - 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
- 2) 주요 국제행사장 탄저균 병원체 살포감시
 - ▷ 검체채취(Swab sample)
 - 멸균된 non-cotton swab을 이용(Macrofoam swab)
 - 멸균증류수 200ul 흡수
 - 표면을 훑어서 검체 채취
 - 멸균 페트리디쉬에 담아 밀봉
 - ▷ 검체채취(공기포집)
 - MAS 100 Air sampler(Merck) 이용
 - BAP(Blood agar plate) 셋팅 후 공기포집
 - 공기포집량 : 500리터(5분간 흡입)
 - ▷ 검체처리
 - swab sample을 50mL cornical centrifuge tube에 넣고 멸균 DW 30mL에 부유
 - 열처리(70°C, 30min) : 영양세포 비활성화
 - BAP 접종
 - 35 °C에서 24시간 관찰 : 이하 토양 탄저균 시험과 동일과정

표 1. 탄저균의 PCR 검출을 위한 primer 염기서열

Primer	염기서열 (5' → 3')	산물크기	표적유전자
P3	TCC TAA CAC TAA CGA AGT CG	596 bp	<i>pag A</i>
P5	GAG GTA GAA GGA TAT ACG GT		
Cap 1234	CTG AGC CAT TAA TCG ATA TG	846 bp	<i>cap C</i>
Cap 1301	TCC CAC TTA CGT AAT CTG AG		
ANT-F	TAA CTA GCA TTT GTG CTT TGA AT	124 bp	<i>sspE</i>
ANT-R	GCT AGT TAT GGT ACA GAG TTT G		

3. 조사결과

○ 토양검체 대상으로한 탄저균 실험실 감시결과 총 120건을 검사하였으며 모두 불검출이었다.

표 2. 토양검체대상 탄저균 실험실 감시결과

월별	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 ○ 지점당 5건 토양채취
5월	15	음성	
6월	15	음성	
7월	15	음성	
8월	15	음성	
9월	15	음성	
10월	15	음성	
11월	15	음성	

○ 주요행사 병원체 살포 감시결과 총 20건을 검사하였으며 모두 불검출이었다.

표 3. 주요행사 병원체 살포 감시결과

행 사 명	검사기간	검체채취장소	검사대상 병원체	검체 건수	검사 결과
제8회 부산국제연극제	2011.5.6~5.17	부산 문화회관	탄저균	swab sample 3건 공기포집 2건	음성
제7회 부산국제무용제	2011.6.3~6.13	해운대 해수욕장 상설무대	탄저균	"	음성
2011 부산국제광고제	2011.8.26~9.9	해운대 해수욕장 상설무대	탄저균	"	음성
부산세계 개발원조총회	2011.11.29~12.6	벡스코	탄저균	"	음성

○ 고위험병원체 병원체 진단실험 정도관리 평가결과 : 최상(병원체방어연구과-1093호, 2011.11.22)

4. 검토 사항

- 보건소 검사요원 및 생물테러대응 참여의료기관 기술요원 교육 시 활용
- 「생물테러 실험실 네트워크 등급 B2」에서 대응가능한 병원체(탄저, 페스트등)의 진단 능력강화
- 부산에서 개최되는 주요 행사시 행사장 병원체 감시를 통한 생물테러 조기 인지