생물테러대비 실험실 대응사업

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

1. 조사개요

○ 근　　거 : 질병관리본부 생물테러대응과-91(2012. 1. 26.)호, -105(2012. 1. 30)
※ 2012년 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 병원체 감시 및 정도 관리를 통한 진단 능력 강화 및 생물테러 조기인지
○ 사업 기간 : 2012년 4월 ~ 11월
○ 사업 내용
▷ 관내 토양검체 대상 탄저균 모니터링 검사
▷ 주요 행사장 병원체 살포감시
▷ 고위험병원체 정도관리
▷ 생물테러 의심상황 발생시 안전한 검체처리 및 검사

2. 조사방법

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

담당부서 : 미생물과 (☎309-2822)
과　　장 : 이미옥,　담당자 : 박연경

- 깔때기에 2겹의 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 ℃에서 24시간 배양 : 약한 β - hemolysis 용혈
- 그람염색 및 생화학적 검사실시

▷ 유전자 검사

① PCR

- INNoplex Anthrax detection Kit 사용 : Template DNA 1.0㎕, D.W 19㎕
- PCR 조건 : 95℃ 5분, 95℃ 20초, 58℃ 20초,72℃ 20초 35회 반복, 72℃ 10분
- 전기영동 : 1.0% agarose gel 전기영동

② real time PCR

- AccuPower® Bioterrorism real-time PCR kit사용 : Template DNA 2.0㎕, D.W 23㎕
- 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℃에서 10초 / 95℃ 20초, 55℃ 30초(40 cycle)

2) 주요 국제행사장 탄저균 병원체 살포감시

▷ 검체채취(Swab sample)

- 멸균된 non-cotton swab을 이용
- 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℃, 30min) : 영양세포 비활성화
- BAP 접종
- 35 ℃에서 24시간 관찰 : 이하 토양 탄저균 시험과 동일과정

3. 조사결과

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

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 ○ 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	

○ 주요행사 병원체 살포감시 결과 총 16건을 검사하였으며 모두 불검출이었다(표 3).

표 3. 주요행사 병원체 살포 감시결과

행 사 명	채집일	검체채취장소	검사대상병원체	검체 건수	검사결과
제8회 부산국제모터쇼	2012.5.23	벡스코	탄저균	swab sample 3건 공기포집 2건	음성
제95차 국제라이온스 부산세계대회	2012.6.20	벡스코	탄저균	〃	음성
부산국제물학회	2012.9.13	벡스코	탄저균	swab sample 3건 공기포집 3건	음성

○ 고위험병원체 진단실험 정도관리 평가결과 : 최상(병원체방어연구과–1308, 2012.11.27)

4. 기대효과

○ 생물테러 가능병원체의 진단 프로토콜 숙지 및 진단능력 향상

○ 생물테러 실험실 대응능력 강화

○ 부산에서 개최되는 주요 행사시 행사장 병원체 감시를 통한 생물테러 조기 인지