

## 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
  - 2014년 생물테러대비 지자체보조사사업 관련 『생물테러대비 실험실 대응사업 사업계획』
  - 질병관리본부 생물테러대응과-21(2014. 1. 21.)호
  - 미생물과-172(2014. 1. 22)호
- 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 : 2014년 4월 ~ 11월(생물테러 의심검체 처리는 연중 실시)
- 사업 내용
  - 관내 토양 검체 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
  - 1) 토양검체 대상 탄저균 모니터링 검사
    - 검체처리

- 토양검체 약 10 g을 50 mL cornical 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
- 배양 및 동정검사
- 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  $\beta$  - hemolysis 용혈
  - 그람·포자 염색 및 생화학적 검사 실시

## 2) 주요 국제행사장 탄저균 병원체 살포 감시

- 검체채취(공기포집)
- MAS 100 Air sampler (Merck) 이용
  - 공기포집량 : 500 리터(5분간 흡입)
  - 사용배지  
: BAP (Blood agar plate), CIN agar, Chocolate agar 각 5장
- 배양
- BAP : 35 °C에서 24시간 / CIN : 25 °C, 72시간 / Chocolate agar : 35 °C에서 48시간
  - 의심 colony 감별테스트 실시

표 1. 탄저균, 야토균, 페스트 감별 테스트 방법

		탄저균	야토균	페스트
감 별 테 스 트	oxidase	+	-	-
	catalase		+ (약)	+
	ureas	+	-	-
	그 외	감마파아지 +	XV(-), b-lactamase(+), 진단혈청	
생화학테스트		API50CH + API20E	VitekNHI(Actinobasillus~99%)	API20E(48시간배양)
염색		Gram(+)	Gram(-) (염색잘안됨/ 작음)	Gram(-)
		Malachite green (포자)		Wright-Giemsa (양극단)

- 유전자 검사(의심colony 검출 시)

\* real time PCR

- Bioterrorism agent real-time PCR kit (JSB) PCR kit사용  
: Template DNA 1.0  $\mu$ L, D.W 4  $\mu$ L, 2×real time PCR Master 10  $\mu$ L
- PCR 조건 : 95 °C에서 7초 / 95 °C 15초, 55 °C 45초(40 cycle)

### 3. 조사결과

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

표 2. 토양 검체 대상 탄저균 실험실 감시결과

월 별	검체건수	검사결과	비고
4월	15	음성	○ 탄저균 조사 채취지점 선정(3개) -탄 1 : 금정구 금성동 -탄 2 : 기장군 철마면 -탄 3 : 기장군 기장읍  ○ 지점 당 5건 토양채취  ○ 8월 부산에 내린 집중호우로 인하여 채취 불가 => 10월 2번 실시
5월	15	음성	
6월	15	음성	
7월	15	음성	
9월	15	음성	
10월 1차	15	음성	
10월 2차	15	음성	
11월	15	음성	

- 주요행사 병원체 살포감시 결과 총 20건을 검사하였으며 모두 불검출이었음.(표3)

표 3. 주요행사 병원체 살포 감시결과

행 사 명	채집일	검체채취장소	검사대상병원체	검체 건수	검사 결과
취업박람회	2014.5.20.	백스코	탄저균 야토균 페스트	공기포집 5건	음성
국제실버엑스포	2014.6.25.	백스코		공기포집 5건	음성
부산국제영화제	2014.10.1	영화의전당		공기포집 5건	음성
ITU전권회의	2014.10.17	백스코		공기포집 5건	음성

- 2014년 고위험병원체 정도관리 결과 : 최상 [병원체방어연구과-1814(2014.12.5.)]

### 4. 기대효과

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