식품유래 바이러스 검출을 위한 토탈 솔루션 : CEERAMTOOLS® / EGENE-UP® / GENE-UP®

바이러스성 식중독

여름 개학을 앞두고 우려되는 것은 COVID-19 감염 확산 뿐만은 아닐 것이다. 고온 다습한 여름에 강세를 보이는 세균성 감염으로 인한 집단 식중독 사고 역시 우려의 대상이다. 그러나 작년 여름엔 유독 A형 바이러스 감염 환자가 아주 많았으며 중국산 조개젓의 수입으로 부산부터 시작해 전국이 A형 바이러스 집단 감염으로 들썩였다. 전 세계적으로도 식품유래 질병의 50% 이상을 바이러스성 식중독이 차지했으며 한국 역시 더 이상 겨울의 노로바이러스만 관리해서는 식품을 안전하게 유지하기는 어렵다.

식품유래 바이러스 검출법과 process control의 중요성

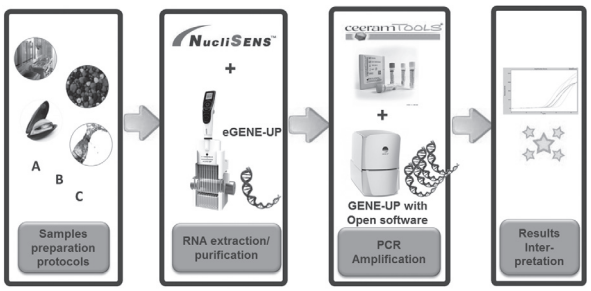
바이러스는 스스로 증식하지 못한다. 따라서 식품유래 바이러스 검출을 위해서는 증균(enrichment)이 아니라 추출(elution)을 해야한다. 만약 바이러스 추출과정에서 바이러스가 소실된다면 위음성과 같은 위험한 결과가 초래될 수 있다. 따라서 식품유래 바이러스 검출방법은 추출과정에서 바이러스 소실에 의한 위험성이 매우 크므로 초기 과정부터 process control을 두어 검출까지 전 과정을 검증하는 것이 굉장히 중요하다. 뿐만 아니라 식품유래 바이러스 검출방법은 식중독 사고를 예방 및 관리하기 위해 신속하고 정확한 방법이어야 할 것이다.

식품유래 바이러스를 검출하는 방법으로 분자생물학적인 방법인 real time PCR (실시간중합효소연쇄반응)이 있다. fluorescense를 이용하여 바이러스의 유전자를 정확하게 검출하는 신속한 기술로 널리 사용되고 있다. 그러나 추출된 바이러스 유전자의 소실로 인한 위음성의 위험까지 real time PCR 기술로 낮출 순 없다. 위에서 언급한 것 처럼 식품유래 바이러스 검출법은 바이러스 추출과정부터 검출까지의 전 과정을 검증하기 위한 process control이 반드시 필요하며 올바른 바이러스 추출방법 및 바이러스 유전자 추출방법도 갖추어져야 한다.

이에 비오메리으에서는 식품유래 바이러스 검출방법으로 process control을 통해 외부요인으로 인한 위음성의 위험을 낮추고 바이러스 추출 및 유전자 추출 그리고 유전자 검출까지 전 과정에 대해 ISO 방법을 준수한 토탈 솔루션을 소개하려 한다.

비오메리으 식품유래 바이러스 검출 / 토탈 솔루션

비오메리으 식품유래 바이러스 검출방법은 총 4가지 과정으로 되어있으며 이에 필요한 장비 및 시약을 모두 제공하는 토탈 솔루션이다. 따라서 모든 과정에 대해 비오메리으를 통해 전문적인 지원을 제공받을 수 있다. 또한 각 과정은 ISO 15216 reference method 에서 요구되는 방법 및 원리에 최적화된 방법으로 구성되어 있어 검출결과에 대한 신뢰도를 높였다.



1. 바이러스 추출 / ISO전처리방법

식품에서 바이러스를 추출하는 것은 식품의 유형이나 샘플을 취하는 공간에 따라 방법이 달라진다. 이에 ISO는 대표적인 5가지의 유형(soft fruits, mollusks, water, 표면)에 맞는 전처리 방법(elution, filtering, swabing 등)에 대해 안내하고 있다. 다만 대표적인 5가지 유형 외 나머지 식품유형에 대한 전처리 방법은 크게 연구되어 있지 않아 필요한 시약이나 장비에 대한 정보가 부족해 진행에 어려움이 있다.

이에 비오메리으는 ISO에서 안내하는 5가지 유형의 최적화된 전처리 방법 뿐만 아니라 ISO에 안내되어 있지 않은 유형에 대해서도 전처리 방법을 제공하여 더 넓은 범위의 식품 유형과 호환되는 전처리 솔루션을 갖추고 있다.

2. Process Control / Mengovirus kit

앞서 언급한 것 처럼 바이러스 추출과정에서 외부요인으로 인한 바이러스 검사의 위음성 위험은 process control을 사용함으로서 해결할 수 있다. 전처리 단계에서 시료에 process control을 접종(spiking)하고 이후 PCR단계에서 대조군과 비교하여 추출 회수율이 1%를 넘는지 확인하여 식품유래 바이러스 검사의 전 과정에 대해 바이러스 소실 및 바이러스 유전자 소실 유무를 검증할 수 있다.

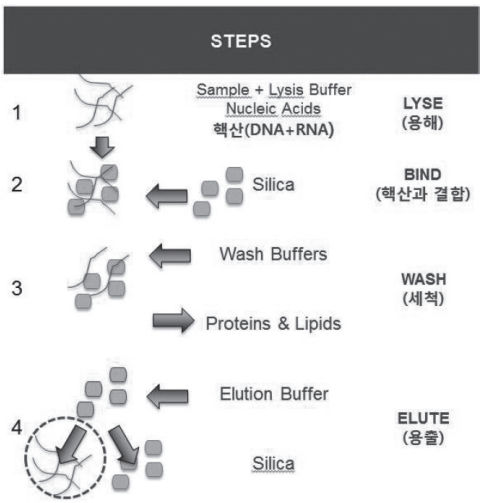
식품유래 바이러스 검출을 위해 사용되는 Process control 은 target virus와 비슷한 크기 및 특징을 가져야 하며 자연적으로 존재하지 않아야 한다. ISO에서는 이 조건을 충족하는 process control로써 'mengo virus'를 사용했으며 비오메리으는 mengo virus 원액 및 mengo virus realtime PCR검출시약이 포함된 CEERAMTOOLS®의 commercial kit를 제공한다. Mengo virus kit는 별도의 배양과정 없이 지속적으로 process control을 사용할 수 있으며 유전자재조합으로 제작되었기 때문에 병원성이 없어 인체에 무해하여 class 2 실험실에서 사용할 수 있는 장점이 있다.

Process control인 mengo virus kit를 사용하므로써 식품유래 바이러스 전 과정을 점검할 수도 있지만 검사법에 대한 숙련도 검사에 적용하여 사용자의 식품유래 바이러스 검출 실험의 숙련도를 점검할 수도 있다.

3. 바이러스 유전자 추출 / EGENE-UP®

비오메리으의 식품유래 바이러스 검출 솔루션은 ISO15216의 바이러스 유전자 추출과정의 원리 및 방법을 준수하여 아래와 같이 두 가지 과정으로 유전자 추출을 진행한다.

- 세포 용해(lysis) : 구아니딘시오시아네이트(guanidine thiocyanate)가 포함된 NucliSens® 시약을 사용하여 화학적으로 세포를 용해한다.
- 유전자 정제(purification) : 용해액에서 magnetic



바이러스 유전자 추출원리 (Boom method)

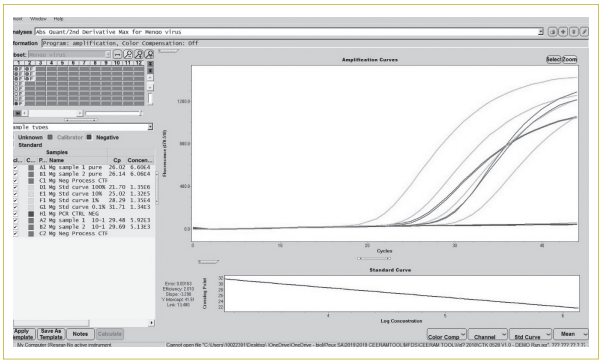
EGENE-UP®

silica beads와 결합한 유전자를 buffer로 세척(washing) 및 elution 하는 Boom technology를 바탕으로 이 과정은 자동화된 multi pipet형 장비인 EGENE-UP®으로 손쉽게 진행할 수 있다. 필요한 pipetting횟수 및 대기시간이 장비에 프로그래밍 되어있어 버튼을 눌러 40분에 8샘플에 대해 처리 할 수 있다. 또한 Clean bench안에서 작동할 수 있는 핸디형 크기로 편의성을 높였으며 Hands on time을 줄여 사용자 간의 편차가 적다.

4. Real time PCR / GENE-UP®, CEERAMTOOLS®

추출된 유전자는real time PCR을 진행하여 신속하고 정확하게 target 바이러스에 대한 양/음성 결과를 확인한다. 비오메리으는 본 단계에서 두 가지 솔루션을 제공한다.

- GENE-UP® thermocycler 및 소프트웨어 : GENE-UP thermocycler로 real time PCR를 진행하며 전용 소프트웨어를 통해 raw 그래프 확인



GENE-UP® 소프트웨어의 결과화면

정 성	정 량
✓ 노로바이러스 GI	✓ 노로바이러스 GI
✓ 노로바이러스 GII	✓ 노로바이러스 GII
✓ 노로바이러스 GI GII	✓ 노로바이러스 GI GII
✓ A형 간염바이러스	✓ A형 간염바이러스
✓ E형 간염바이러스	✓ E형 간염바이러스
✓ 사포바이러스	✓ 로타바이러스
✓ 엔테로바이러스	
✓ 아데노바이러스	
✓ 로타바이러스	
✓ 아스트로바이러스	

CEERAMTOOLS® realtime PCR kit 종류

CEERAMTOOLS® realtime PCR kit

및 mengo virus의 정량분석 결과를 자동으로 얻을 수 있다.

– CEERAMTOOLS® realtime PCR kit : 식품 및 환경유래 시료의 바이러스 검사에 적합한 real time PCR kit 이다. 모든 RNA 바이러스 검출 kit는 온도 및 시간 조건이 동일하여 run 1번에 동시분석 가능하다 (1시간 30분 이내). 각 Kit는 master mix, enzyme, negative control, positive control로 구성되어 있으며 master mix에는 internal control이 포함되어 있어 PCR tube내 유효성을 검증할 수 있다.

결론

식품유래 바이러스 검출은 많은 과정을 필요로 하며 전처리 단계부터 검사방법이 까다롭지만 비오메리으의 토탈 솔루션으로 그 어려움을 해결할 수 있다. 다양한 식품유형에 맞는 전처리 방법을 제공하며 편의성을 증대시킨 자동화된 유전자 추출장비 와 신속/정확성을 제공하는 Realtime PCR 을 겸비한 솔루션이기 때문이다. 또한 바이러스 및 유전자 소실에 따른 위음성의 위험성을 낮추기 위해 process control을 사용하는 솔루션으로 추출부터 검출까지의 전 과정을 검증할 수 있다. 뿐만 아니라 이 토탈 솔루션은 ISO15216의 방법을 최적화 시킨 것으로 신뢰도가 높은 식품유래 바이러스 검출 결과를 얻을 수 있을 것이다. 작년 조개젓의 A형 간염 바이러스 사고 이후로 식품유래 바이러스 검사의 니즈는 더욱 커졌다. 이에 비오메리으의 토탈솔루션으로 보다 쉽고 안전하게 검사할 수 있는 이상적인 실험을 구현할 수 있을 것이다.