

## 탄저균 환경 감시 조사

미생물과 : 민상기

과 장 : 정구영

- 국제정세 변화에 따른 탄저등 생물테러 발생 위험성에 능동적인 실험실 대응 능력 함양
- 구축된 생물안전밀폐실험실(BL3급)의 활용 극대화
- 국가 탄저균 감시체계 구축사업의 일환으로 국내 토양 중 탄저균 서식 상황을 파악
- 생물테러병원체 분리동정 능력보유하여 국가적 생물테러 감시체계 구축

### □ 조사 개요

- 근거 : 질병관리본부 생물테러대응과-95(2004.02.11)  
『2004년 생물테러관련 시험연구비 지원을 위한 집행계획서 제출』
- 사업 기간 : '04년 4월 ~ 12월
- 조사 대상 : 23개 지점 토양(우사주변 18개지점, 동백섬 주변 5개지점)
  - ※ 우사주변 토양을 탄저균 환경감시 모니터링 지점으로 선정 사유
    - 탄저균은 대개 토양 등 환경내에서 포자상태로 수년간 생존하여 완전박멸 불가
    - 소 등 초식동물은 토양 및 건초먹이 중 우연 감염되어 탄저균의 감염원이 됨
    - 탄저 감염 소를 사람이 섭취함으로써 발생한 사례가 있어 우사주변의 토양을 채취함
    - 인체 감염 경로 : 탄저균에 감염된 초식동물과의 직간접 접촉
    - ☞ 토양중 탄저균이 직접 인체에 감염 안됨(호흡기 탄저 발생 감염량  $10^5$ 개 이상)
    - ☞ 동물탄저 약 10건 발생 당 사람 피부탄저 1건 발생 보고(WHO)
- 조사 항목 : *Bacillus anthracis*
- 사업 내용
  - ▷ 관내 우사 주변 토양 가검물 채취
  - ▷ 집락관찰, 현미경관찰을 통한 탄저균 예비동정 시험
  - ▷ 생화학적 특성시험, 유전자시험(PCR)을 통한 분리균의 확인동정 시험
    - pXO1(방어항원), pXO2(캡슐항원), Ba813(염색체상의 유전자) 확인
  - ▷ 국립보건연구원에 분리균 송부

- 동물실험을 통한 분리균주의 병원성 시험
- 유전자 서열분석에 의한 분리균주의 분자역학적 연구

○ 조사 방법

▷ 채취장소 : <붙임 1> 참조

- 관내농촌 우사 지역(3개 지역 18개 지점)
- 동백섬 주변 토양 5개 지점 : APEC 대비 생물테러 탄저균 조사 추가 실시

▷ 조사 횟수

- 우사주변 18개 지점 : 월 1회 지점당 2건 채취(총 324건 검사)
- 동백섬 주변 5개 지점 : 하반기 2회 실시(총 10건 검사)

○ 실험 방법

▷ 배양성상 확인 : Blood agar에서 집락관찰

- \* 탄저균의 특성 : ① Blood agar : no hemolysis
- ② medusa head & teased tail 집락 형성

▷ 생화학적 시험 : 운동성 시험 및 당분해 시험

▷ PCR 방법에 의한 독소유전자 및 협막유전자 검출

□ 조사 결과 및 평가

○ 균 분리검사

▷ 배양성상 확인시험 : 334건

- 의심집락 No growth(288건) : 비전형적 콜로니만 생육
- 유사집락(46건) : BAP상에서 비용혈, medusa head, comet tail의 집락 선정

▷ PCR에 의한 독소유전자 및 협막유전자 검출 확인시험

- 유사집락 46건의 PCR 시험결과 : 특이유전자 불검출(pXO1<sup>-</sup>, pXO2<sup>-</sup>, Ba818)
- 표준균주 3주 비교시험 : (pXO1<sup>+</sup>, pXO2<sup>-</sup>), (pXO1<sup>-</sup>, pXO2<sup>+</sup>), (pXO1<sup>-</sup>, pXO2<sup>-</sup>)

▷ 최종결과 : 전 지점 토양 334건 ⇒ 탄저균 불검출

○ 분리율 제고를 위한 비교시험 실시

▷ 국립보건연구원과 동시시험 실시

- 9월분 우사주변 토양 18개지점 38건
- 시료 송부일 : 9/17일
- 결과 환류일 : 10/6일
- 결과 : 전검체 탄저균 불검출

▷ 토양시료 구분 후 비교시험 실시

- 자연방목하는 우사주변의 토양(짚, 건조더미, 분뇨더미 주변 흙) : 180건
- 우사주변이 시멘트로 포장되어 반경 10m 바깥의 토양채취 : 144건
- 산야 토양 : 10건(동백섬 주변)

▷ 토양시료 채취방법 비교시험 실시

- 표토상층 흙 채취 : 표면으로부터 5cm 이내 토양 채취
- 표토하층 흙 채취 : 표면으로부터 10cm 이상깊이 토양 채취

▷ 날씨에 따른 비교시험

- 맑음 : 6회
- 흐림 또는 비 : 3회

○ 자체 평가

▷ 전 시료에서 탄저균 불검출

- 국내 산발적 탄저발생 예('92년 대천 13명, '94년 경주 28명, '95년 서울 2명, 2000년 창녕 5명)로 미루어 토양중 탄저균 감시사업은 지속적으로 시행되어야 함

▷ 생물안전실험실(BL3) 시설활용 및 탄저균 검사능력 배양으로 생물테러대응 실험실 진단능력을 제고하였음

○ 참고사항

▷ 국립보건연구원 및 타 시·도 보건환경연구원 검사실적('04년)

- 국립보건연구원(3건 검출)
- 시·도 보건환경연구원(불검출)

○ 검사 protocol 문제점 의견개선

▷ 탄저균의 증균 선택배지의 개발이 필요함

- 토양중 탄저균 검사는 증균없이 직접배양 검사함으로 그 검출한계가 100colony/g 정도임.
- 일반적으로 존재하는 탄저균의 농도(10~20 spore/g)로 검사방법에 문제점이 도출되어 실험방법 수정 중임(국립보건연구원)

□ '05년 사업추진 계획

○ 사업 기간 : '05년 3월 ~ 12월(APEC 대비 조기실시)

※ 2004년도 4월 ~ 12월

○ 사업 내용

- ▷ 우사 주변 토양, 가축분변 등 가검물 채취
- ▷ 현미경관찰, 생화학시험을 통한 탄저균 분리 확인 동정

- ▷ 유전자시험(PCR)을 통한 분리균의 병원성 시험
- 조사 방법
  - ▷ 우사주변 토양지점 선정 : 2월중 실시
    - 축산물위생검사소의 협조로 관내 소사육 농가 현황과약
    - 역대 조사지점('02, '03, '04년)을 비교 분석하여 선정
  - ▷ 조사횟수 : 월 1회 지점당 2건 채취
  - ▷ APEC 대비 탄저균 조사확대
    - '05년 1월 ~ '05년 6월 : 분기 1회(동백섬)
    - '05년 7월 ~ '05년 9월 : 월 1회(동백섬)
    - '05년 10월 ~ '05년 12월 : 필요시 수시(국제우체국, 회의장주변, 정상회의 숙소 등)
- 사업 예산 : 총 60,000,000원(국비 30,000,000원 + 시비 30,000,000원)

세항	예산액	내역	비고
일반운영비	40,000,000원	생물안전실험실 시설보수 등	
국내여비	1,000,000원	생물테러관리 기술연수 및 학회참석	
시험연구비	19,000,000원	생물테러관리 시약 초자 등 구입	
계	60,000,000원		

〈붙임 1〉

**'04년 토양중 탄저균 조사 채취 지점**

1. 우사 주변 18개 지점

지역구분	채취지점	축주명	주소	사육두수	축종	비고
강서구 (4개소)	탄1	신OO	대저2동	25	한우	
	탄2	하OO	대저2동	50	한우	
	탄3	김OO	대저2동	25	한우	
	탄4	양OO	명지동	45	유우	
금정구 (3개소)	탄5	유OO	금성동	18	유우	
	탄6	박OO	금성동 산1	16	유우	
	탄7	양OO	노포동	14	유우	
기장군 (11개소)	탄8	최OO	일광면 문동리	50	한우	
	탄9	박OO	일광면 문중리	80	한우	
	탄10	김OO	일광면 삼성리	25	유우	
	탄11	김OO	일광면 원리	10	한우	
	탄12	조OO	장안읍 명례리	200	한우	
	탄13	차OO	장안읍 명례리	41	한우	
	탄14	이OO	철마면 송정리	33	유우	
	탄15	정OO	철마면 안평리	9	유우	
	탄16	강OO	철마면 안평리	37	유우	
	탄17	박OO	철마면 안평리	14	유우	
	탄18	이OO	철마면 이곡리	12	한우	

2. 동백섬 주변 5개지점

연번	채취지점	비고
1	토끼사육장 내	정상회의장 주변
2	조선비취호텔 옆	
3	최치원 사적비 주변	
4	송림공원 내	
5	팔각정 휴게소 내	