

## 생물테러대비 탄저균 실험실 감시사업

- 탄저 등 생물테러 발생 가능성에 대비한 능동적인 실험실 대응능력 보유
- 국가 탄저균 감시사업의 일환으로 부산지역 토양 중 탄저균 서식실태 파악
- 생물안전밀폐실험실(BL3)의 안정적인 유지·관리 운영
- 탄저 등 생물테러 의심병원체 검사능력 보유로 국가적 실험실 감시망 구축

### 1. 사업개요

- 근거 : 질병관리본부 생물테러대응팀-5(2006.01.02)호  
『보건환경연구원 시험연구비 국고금 지원을 위한 사업계획서 제출』
- 사업기간 : 2006년 3월~12월
- 사업내용
  - 부산지역 토양 중 탄저균 실험실 감시사업
  - 생물테러 의심상황 발생시 안전한 검체처리 및 검사
  - 생물안전밀폐실험실(BL3)의 상시 가동상태 유지
- 조사대상
  - 토양 : 우사주변 18개 지점
  - 백색가루 등 생물테러 의심물질
- 조사항목 : *Bacillus anthracis*
- 조사방법
  - 조사지점 및 조사횟수
    - ▷ 토양 : 관내 농촌우사 18개 지점(강서구7, 금정구4, 기장군7) : <붙임 1> 참조  
- 월 1회, 지점 당 2건 채취(총 320건 검사)
    - ▷ 백색가루 등 의심물질 : 신고발생시 즉시 수거검사  
- 2006년도 신고사례 없음  
(2005년도 백색가루 신고사례 2건 발생 ⇒ 검사결과 모두 탄저 음성)
  - 조사내용
    - ▷ 관내 우사주변 토양 가검물 채취
    - ▷ 균 분리를 위한 배양 및 동정
    - ▷ 유전자시험(PCR)을 통한 분리균의 확인  
- pXO1(방어항원), pXO2(캡슐항원), Ba813(염색체상의 유전자) 확인

○ 시험방법

▷ 토양전처리

- 토양채취기구를 이용하여 root zone부근(5~8 cm이하) 깊이로 한 장소에서 4~5 군데를 모아서 하나의 검체로 토양 약 500 g 정도 채취
- 토양 20 g을 멸균 D.W.(증류수) 동량으로 혼합 후 3시간 이상 진탕 후 상층부를 취하여 62.5℃에서 15분간 열처리

▷ 배양 및 동정

- 상청액을 BAP와 TMSPA(Trimethoprim, Sulfamethoxazol, Polymyxin B) 평판에 원액, 10배, 100배 희석액을 0.1 mL씩 spread를 이용하여 접종
- 그람염색 및 생화학적 검사 실시(API 20E 및 API 50CHB kit 사용)

▷ 유전자 검사

- PCR Primer 조성

Target gene	Primer name	Sequence	Product size(bp)
pag	P3	5'-TCC TAA CAC TAA CGA AGT CG-3'	596
	P5	5'-GAG GTA GAA GGA TAT ACG GT-3'	
cap	Cap57	5'-ACT CGT TTT TAA TCA GCC CG-3'	264
	Cap58	5'-GGT AAC CCT TGT CTT TGA AT-3'	
Ba813	813-1	5'-TTA ATT CAC TTG CAA CTG ATG GG-3'	152
	813-2	5'-AAC GAT AGC TCC TAC ATT TGG AG-3'	

- 반응액 조성

반응액 조성		volume	최종농도
Mg <sup>2+</sup> buffer(10×)		2.5 μL	
10 mM dNTP(each 2.5 mM)		2.0 μL	each 200 μM
Taq polymerase (5.0U)		0.2 μL	1.0 U
Primer	PA5,8(30 pM/μL)	1.0 μL×6	
	Cap57,58(10 pM/μL)		
	Ba813-1,2(10 pM/μL)		
Temp		1.0 μL	
D.W.		13.3 μL	
Total		25 μL	

- PCR 조건

- 95℃ 5분 ⇒ 95℃ 15초, 58℃ 15초, 72℃ 15초 // 30cycle ⇒ 72℃ 10분

2. 사업결과

□ 탄저균 실험실 감시결과

- 토양가검물 총 360건 검사결과 전 시료에서 탄저균 불검출

- 백색가루 등은 검사 의뢰된 사례 없음
  - ※ 국내 산발적 탄저발생 예 : '92년 대천 13명, '94년 경주 28명, '95년 서울 2명, 2000년 창녕 5명
  - ※ 2001년~2006년 : 국내 탄저 발생 사례 없음
- 생물안전실험실(BL3) 시설활용 및 탄저균 검사능력 배양
  - ※ 생물테러대상 병원체(7종) : 탄저, 보툴리눔독소증, 페스트, 마버그열, 에볼라열, 라싸열, 두창

### 3. 향후 검토사항

- 축사폐쇄 지점을 포함하여 토양 채취지점의 재선정 등 검토
- 탄저균 검출효율을 높이기 위한 시험법 등의 면밀한 검토
- 참고자료 : '06년도 토양 중 탄저균조사 채취지점

#### 〈2006년 토양 중 탄저균조사 채취지점〉

##### ■ 우사 주변 18개 지점

지역구분	채취지점	축주명	위치	축종	비고
강서구 (7개소)	탄1	정○○	대저2동 등구 풍년농산길	유우	'03
	탄2	김○○	대저2동 천주교 울만공소 옆	한우	'04
	탄3	김○○	대저2동 모기채집	유우	'03
	탄4	신○○	대저2동 반도마린 안쪽	한우	'04
	탄5	양○○	명지동 순아1구길	유우	'04
	탄6	오○○	강동동 상곡마을(서낙동강조정경기장 입구)	유우	'03
	탄7	배○○	대저2동 대동길 고향산천	유우	'03
금정구 (4개소)	탄8	박○○	금성동 금성1통회관(금성동교회 위쪽)	유우	'04
	탄9	한○○	금성동 동사무소(큰길따라 위쪽)	유우	'03
	탄10	오○○	노포동 양산가는길	-	폐쇄
	탄11	양○○	노포동 부산컨트리입구	유우	'04
기장군 (7개소)	탄12	이○○	철마면 송정리 선돌	유우	'04
	탄13	이○○	철마면 이곡리 모기채집	한우	'03
	탄14	박○○	철마면 안평리 밤나무밭	유우	'04
	탄15	김○○	일광면 삼성리 백두사가는길	유우	'04
	탄16	박○○	일광면 문중리 키위과수원	한우	'04
	탄17	조○○	장안읍 명례리 울산경계	한우	'04
	탄18	안○○	기장읍 신천리 모기채집	한우	'03