

탄저균 환경 감시사업

미생물과 : 민상기

과 장 : 진성현 → 정구영

- 국제정세 변화에 따른 탄저등 생물테러 발생 위험성에 능동적인 실험실 대응 능력 함양
- 구축된 생물안전밀폐실험실의 활용 극대화
- 국가 탄저균 감시체계 구축사업의 일환으로 국내 토양 중 탄저균 서식 상황을 파악하고 분리균의 분자생물학적 D/B 구축을 통해 탄저균 검사 능력을 배양코자 함

□ 사업 개요

- 근 거 : 국립보건원 「생물테러관리」 국고보조 지원 사업
 - ▷ 국립보건원 병연65330-60(2003.03.10) 『생물테러대비 실험실 대응강화에 따른 탄저균 환경감시사업』
- 사업 기간 : '03년 4월 ~ 11월(8회)
- 조사 대상 : 관내 우사 주변 토양
- ※ 우사주변 토양을 탄저균 환경감시 모니터링 지점으로 선정 사유
 - 탄저균은 대개 토양 등 환경내에서 포자상태로 수년간 생존하여 완전박멸 불가
 - ☞ 토양중 탄저균이 직접 인체에 감염 안됨(호흡기 탄저 발생 감염량 10^5 개 이상)
 - 소 등 초식동물은 토양 및 건초먹이 중 우연 감염되어 탄저균의 감염원이 됨
 - ☞ 동물탄저 약 10건 발생 당 사람 피부탄저 1건 발생 보고(WHO)
 - 인체 감염 경로 : 탄저균에 감염된 초식동물과의 직간접 접촉, 생물테러

- 우사 주변토양이 탄저균 생육 호조건을 갖춘 특별한 자연환경은 아님
- 탄저에 감염된 소를 사람이 섭취함으로써 발생한 사례가 있어 우사주변의 토양을 채취하게 되며,
- 우사 규모, 유래, 사육두수와 주변 토양 중의 탄저균 생존율과는 무관.

- 조사 항목 : 탄저균(*Bacillus anthracis*)
- 사업 내용
 - ▷ 우리 연구원(가검물 채취 및 탄저균 확인동정)

- 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

▷ 국립보건원(균주 연구)

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

○ 조사 방법

▷ 환경가검물 채취지점 선정 : 관내 농촌 우사 지역을 2개 지역 12개 지점으로 구분

▷ 조사 횟수 : 총 96건 검사

- 상반기(강서구) : 5개 지점, 지점별 2개소, 4개월 총 40건
- 하반기(금정구, 기장군) : 7개 지점, 지점별 2개소, 4개월 총 56건

○ 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

□ 사업 결과 및 평가

○ 토양 가검물 확인시험

▷ 배양성상 확인 시험 : 96건

- 불검출(80건) : 토양 고유의 바실러스(간균) 또는 용혈성균 검출
- 유사집락(16건) : BAP상에서 비용혈, irregular, medusa head, comet tail, tenacious consistency 콜로니

▷ PCR(독소유전자 및 협막유전자) 검출 확인시험 : 유사집락 16건

- 불검출(pXO1⁻, pXO2⁻, Ba818⁻) : 16건
- Reference 시험균주 3주 : (pXO1⁺, pXO2⁻), (pXO1⁻, pXO2⁺), (pXO1⁻, pXO2⁻)

▷ 최종결과 : 배양성상 및 PCR 시험결과 96건 모두 탄저균 불검출

○ 월별 검사 결과(유사집락 PCR시험결과 탄저균 불검출)

월	채취지역	검사건수	검사결과	월	채취지역	검사건수	검사결과
4	강서구	10(4)	불검출	8	금정구·기장군	14(3)	불검출
5	"	10(3)	"	9	"	14(4)	"
6	"	10(1)	"	10	"	14(1)	"
7	"	10(0)	"	11	"	14(0)	"
총 계 : 12개 지점 96건 불검출							

○ 자체 평가

- ▷ '03년 부산지역 토양에서 탄저균 검출되지 않아 효과적 검사결과 측면에서 다소 아쉬움
- ▷ 생물안전실험실 시설활용 및 탄저균 검사실적으로 생물테러 대응 실험실 진단 능력 제고하였음
- ▷ 국내 산발적 탄저발생 예('92년 대천 13명, '94년 경주 28명, '95년 서울 2명, 2000년 창녕 5명)로 미루어 토양 중 탄저균 감시사업은 지속적 시행되어야 함.

○ 검토 사항

- ▷ 토양 시료에서 바로 PCR 검출 방법 개발이 필요함
 - Multiplex PCR 검출감도 : DNA량이 10³개 정도이어야 검출 가능함
- ▷ 탄저균의 증균 선택배지의 개발이 필요함
 - 토양중 탄저균 검사는 증균없이 직접배양 검사함으로 그 검출한계가 100 colony/g 정도임.
 - 검체 희석단계 10²에서 의심 콜로니가 1개정도 나타남으로 세심한 콜로니 관찰이 요구됨.

○ 참고 사항

- ▷ 국립보건원 및 타 시·도 보건환경연구원 검사실적('02~'03년)
 - 국립보건원 : 33건 검출('02년:16건, '03년:17건)
 - 시·도 보건환경연구원 : 1건 검출('03년 10월, 강원도)
- ▷ '04년도 사업예산 내역 : 총 40,000,000원(국비, 시비 50%)

세 항	예 산 액	내 역	비 고
일반운영비	300,000원	생물테러관리사무용품비	
국내여비	1,000,000원	생물테러관리 기술연수 및 학회참석	
국외여비	3,000,000원	생물테러관리 국외출장	
시험연구비	32,700,000원	생물테러관리 시약 초자 등 구입	
도서구입비	3,000,000원	생물테러관리 학술전문도서 구입	
계	40,000,000원		