

## 토양중 탄저균 조사

- 탄저 등 생물테러 발생 가능성에 대비한 능동적인 실험실 대응능력 함양
- 탄저균 감시사업의 일환으로 부산지역 토양중 탄저균 서식실태 파악
- 생물테러 의심병원체 검사능력 보유로 국가적 실험실 감시망 구축

### 1. 조사개요

- 근거 : 질병관리본부 생물테러대응과-89 (2010. 02. 03.)호  
『생물테러 대비 감시사업 및 생물안전밀폐실험실 시험연구비 지원 사업계획서』
- 사업기간 : 2010. 3 ~ 2010. 12
- 사업내용
  - ▷ 부산지역 토양 중 탄저균 실험실 감시사업
  - ▷ 생물테러 의심상황 발생시 안전한 검체처리 및 검사
  - ▷ 생물안전실험실의 상시 가동상태 유지
- 조사대상
  - ▷ 토양 : 우사주변 6개 지점
  - ▷ 백색가루 등 생물테러 의심물질
- 조사항목 : *Bacillus anthracis*

### 2. 조사방법

- 조사지점 및 조사횟수
  - ▷ 토양 : 관내 우사 6개 지점 (강서구 3, 금정구 1, 기장군 2), <표 2> 참조
  - ▷ 월 1회, 지점 당 5건 채취 (총 300건 검사)
- 조사내용
  - ▷ 관내 우사주변 토양 가검물 채취
  - ▷ 균 분리를 위한 배양 및 동정
  - ▷ 유전자 시험(PCR)을 통한 분리균의 확인 <표 1> 참조  
: pXO1(*lef, pag, cya*), pXO2(*cap ABC gene*), *sspE* 확인
- 검체처리
  - ▷ 토양검체 약10g을 50mL cornical centrifuge tube에 넣고 멸균 DW 30mL에 부유  
⇒ shaking(overnight)
  - ▷ 열처리(70℃, 30min) : 영양세포 비활성화
  - ▷ 깔때기에 2점의 거즈를 올려놓고 검체를 여과 ⇒ 3,000 rpm, 15분간 원심분리

- 배양 및 동정검사
  - ▷ 상층액을 버린 후 멸균수 2 mL을 가하여 검체 회석
  - ▷ 검체를 원액,  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$  희석하여 0.1mL씩 Blood agar plate에 접종
  - ▷ 그람염색 및 생화학적 검사실시
- 유전자 검사
  - ▷ INNoplex Anthrax detection Kit 사용 : Template DNA 1.0 $\mu$ l, D.W 19 $\mu$ l
  - ▷ PCR 조건 : 95 $^{\circ}$ C 5분, 95 $^{\circ}$ C 20초, 58 $^{\circ}$ C 20초, 72 $^{\circ}$ C 20초 35회 반복, 72 $^{\circ}$ C 10분
  - ▷ 전기영동 : 1.0% agarose gel 전기영동

표 1. 탄저균의 PCR 검출을 위한 primer 염기서열

Primer	염기서열 (5' → 3')	산물크기	표적유전자
P3	TCC TAA CAC TAA CGA AGT CG	596 bp	<i>pag A</i>
P5	GAG GTA GAA GGA TAT ACG GT		
Cap 1234	CTG AGC CAT TAA TCG ATA TG	846 bp	<i>cap C</i>
Cap 1301	TCC CAC TTA CGT AAT CTG AG		
ANT-F	TAA CTA GCA TTT GTG CTT TGA AT	124 bp	<i>sspE</i>
ANT-R	GCT AGT TAT GGT ACA GAG TTT G		

### 3. 조사결과

- 탄저균 실험실 감시결과
  - ▷ 토양가검물 총 300건 검사결과 : 탄저균 불검출

### 4. 검토사항

- 보건소 검사요원 및 생물테러대응 참여의료기관 기술요원 교육 시 활용
- 「생물테러 실험실 네트워크 등급 B2」에서 대응가능한 병원체(탄저, 페스트등)의 진단 능력강화
- 부산에서 개최되는 주요 행사시 행사장 병원체 감시를 통한 생물테러 조기 인지

표 2. 2010년 토양 중 탄저균 조사 채취지점

지역구분	채취지점	축주명	위치	축종	비고
강서구 (3개소)	탄1	김○○	대저2동 울만공소	유우	'04
	탄2	오○○	강동동 상곡마을	유우	'03
	탄3	이○○	강동동 농산물판매장옆	유우	'03
금정구 (1개소)	탄4	한○○	금성동 동사무소 인근	유우	'03
기장군 (2개소)	탄5	이○○	철마면 이곡리	한우	'03
	탄6	안○○	기장읍 신천리	한우	'03