

발 간 등 록 번 호

11-1543000-003424-01

**『가축 사체 화학적 처리 기준 마련을
위한 연구』
용역 보고서**

2020. 12

주관기관 전북대학교

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부장관 귀하

본 보고서를 “가축 사체 화학적 처리 기준 마련을 위한 연구” 용역 과제의 최종 보고서로 제출합니다.

2020년 12월 14일

주관연구기관명 : 전북대학교 산학협력단

총괄연구책임자 : 조 호 성

연 구 원 : 오 연 수

요 약

- 최근 국가재난형 가축 전염병과 프리온 질병의 증가와 함께 기존 매몰 방식의 한계와 문제점을 극복하기 위한 방안으로 도입된 화학적 처리방법(알칼리 가수분해)의 활용을 위해 처리과정에서 가축의 주요 감염병 병원체 및 변형프리온 단백질에 대한 사멸 조건을 제시함으로써 가축 사체의 화학적 처리방법이 정착되고 국내 가축 살처분 방식을 다양화하는 근거를 마련하고자 하였음.
- 각 축종별 주요 병원체로 돼지 사체에 FMDV, ASFV, CSFV, PCV2, PRRSV, PEDV, 돼지증식성장병증균, 클로스티리디움 장염균, 대장균, 살모넬라균[10종의 병원체(바이러스 6종 및 세균 4종)], 소 사체에 FMDV, BVDV, 결핵균, 요네병균, 브루셀라균, 탄저균, 기종저균, 클로스티리디움 장염균, 대장균, 살모넬라[10종의 병원체(바이러스 2종 및 세균 8종)], 닭 사체에 저병원성 조류인플루엔자 바이러스(LPAIV), 클로스티리디움 장염균, 대장균, 살모넬라[4종의 병원체(바이러스 1종 및 세균 3종)]을 접종한 후 반응기 넣고 KOH 액상용액을 사체 무게의 15%되게 주입한 뒤 90°C에서 5시간 동안 처리한 후 각각의 병원체에 대한 유전자 검사 또는 배양검사를 수행한 결과 모든 병원체가 검출되지 않았으며 이를 통해 화학적 처리가 병원체 사멸의 효과적인 방법이며 이를 통한 전파 위험이 없음을 확인함.
- 변형 프리온단백질(PrP^{Sc})의 사멸 효과 검증에 있어서는 CWD 감염 마우스 처리 조건인 20% NaOH 또는 KOH 처리 후 98°C에서 20시간 반응과 처리된 사체 반응물에서의 프리온 불활화 평가(sPMCA-WB 검사)를 통해 화학적 처리 절차가 변형프리온단백질 불활화에 효과적임을 확인하였으며 국내 문제가 되고 있는 사슴만성소모성질병(CWD)의 사체 처리 과정에 화학적 처리방법이 적용될 수 있을 뿐 아니라 기존의 매몰지를 복원하는 과정에도 적용될 수 있음을 확인함.
- 가축 사체의 화학적 처리가 친환경적인 방법이지만 가축 전염병 감염 사체의 경우 처리산물은 여전히 비료 등으로 활용하는데 제약이 있으므로 본 연구과제의 결과에서 제시한 병원체 사멸 결과를 근거로 이러한 문제점들이 해결 될 수 있기를 기대함.

목 차

I. 연구 목적 및 필요성	1
1. 연구의 필요성	1
2. 연구 목적	4
II. 연구 내용 방법 및 결과	5
1. 주요 가축 전염병 병원체의 사멸 실증 실험	5
가. 공시 병원체	5
나. 돼지 사체의 화학적 처리 시스템 적용 및 병원체 검출	6
다. 소 사체의 화학적 처리 시스템 적용 및 병원체 검출	14
라. 닭 사체의 화학적 처리 시스템 적용 및 병원체 검출	23
2. 변형프리온단백질(PrP ^{Sc}) 원인 질병 폐사축 사체의 불활화 조건	27
3. 가축사체 화학적 처리 방식 해외 적용 사례	33
4. 가축전염병예방법 시행규칙 개정 제안	34
III. 기대효과 및 활용방안	36
IV. 결론	37
V. 참고문헌	38
[별첨 1] FMDV real-time PCR 검사 방법	41
[별첨 2] ASFV real-time PCR 검사 방법	43
[별첨 3] 사체 화학적 처리 해외 자료(미국 농무부 자료)	45
[별첨 4] 가축전염병예방법 시행규칙 별표 5. 소각 또는 매몰 기준	64

I. 연구 목적 및 필요성

1. 연구의 필요성

가. 가축 사체 화학적 처리 방식의 필요성

- (1) 국내 가축전염병예방법에는 65종의 가축전염병(1종 가축전염병 15종, 2종 가축전염병 31종 및 3종 가축전염병 19종)으로 분류되어 있으며 제1종 가축전염병의 확산을 막기 위해 농림축산식품부령으로 정하는 바에 따라 우역·우폐역·구제역·아프리카돼지열병·돼지열병·고병원성조류인플루엔자의 감염이 확실하거나 거의 확실한 경우에는 반드시 살처분을 하도록 규정하고 있음.
- (2) 또한 전염성해면상뇌증 (TSE), 결핵 및 브루셀라증 등 전염성이 큰 가축질병에 대해서는 긴급방역행동지침을 마련하여 신속히 질병전염을 차단하기 위해 살처분을 하고 있음.
- (3) 우리나라의 경우 가축전염병예방법 제22조 제2항은 “가축전염병에 걸렸거나 걸렸다고 믿을 만한 역학조사·정밀검사 결과나 임상증상이 있는 가축 사체의 소유자등이나 가축을 살처분한 가축방역관은 농림축산식품부령으로 정하는 바에 따라 지체 없이 해당 사체를 소각하거나 매몰 또는 화학적 처리를 하여야 한다.” 라고 명시되어있으며 최근 화학적 처리가 추가되어 기존의 매몰 방식의 대안으로 활용할 수 있게 되었으나 이에 대한 세부 지침이 제시되지 않아 적용에 어려움이 있는 실정임.
- (4) 한편 최근 활용되고 있는 비매몰 방식인 랜더링(Rendering) 처리방식은 버리는 가축을 유용성과 가치창출을 위한 안정적인 제품(가식, 비가식 제품)으로 변환하는 기술로 사체를 고온 고압에서 가열·멸균 후 단백질은 분말이나 퇴비 등에 활용하고 지방은 기름이나 바이오 디젤 등의 제조에 사용되기 때문에 기존 매몰방식의 문제점을 보완하면서 효과적으로 자원을 재활용하기 위한 대안 중 하나로 제시되고 있음.
- (5) 그러나 사체의 화학적 처리 방식과 랜더링 방식의 경우 현재 국내에서는 질병 등으로 폐사하거나 살처분한 가축의 산출물은 재활용하지 않는데 랜더링과 화학적 처리방식의 살처분가축 처리 부산물의 병원체 부재 증명 등의 안전성을 담보하는 과학적 자료의 제시가 필요한 시점임.

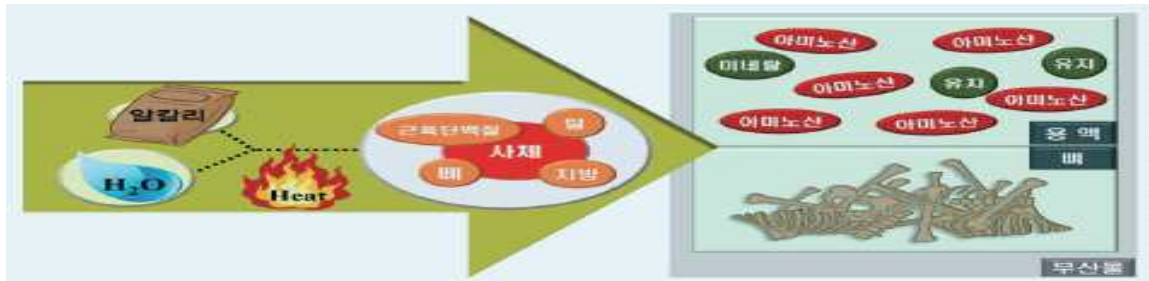
- (6) 가축 사체의 화학적 처리의 시행에 있어서는 이 과정에 필요한 장소, 장비, 주의 사항, 처리요령, 원인 병원체 부재증명, 사후 방역조치 사항 등 과학적 근거 기반의 세부 기준 수립이 필요한 실정임.
- (7) 앞으로 가축 사체 화학적 처리 기준 마련을 통해 가축 살처분 및 매몰지 발굴·소멸 등의 추진에 적극 활용할 수 있으며 특히 사슴만성소모성질병(CWD) 등 변형프리온단백질(Prion)이 원인체인 질병의 경우 알칼리 가수분해가 유일한 처리 방법으로 권고되고 있어 이에 대한 검증도 필요한 상황임.

나. 가축 사체의 화학적 처리 방식

- (1) 동물 사체의 구성 성분인 단백질 등이 가수분해(加水分解, hydrolysis)* 과정을 거치면서 아미노산 등의 작은 크기로 분해됨.
- (2) 액상으로 분해된 최종 산물에서는 DNA 조차 검출되지 않을 정도로 작게 분해되어 BSE의 원인체인 프리온까지도 불활화 됨.
- (3) 수산화칼륨(KOH)을 사용하는 알칼리 가수분해 방식은 처리과정 중 별도의 오염 물질이 발생하지 않으며, 액상화된 부산물은 토양개량제 등으로 재활용 가치가 큼.
- (4) 액상화된 부산물에는 탄소(C), 질소(N), 인(P), 칼륨(K) 함량이 높아 토양에 바로 사용이 가능하며, 높은 아미노산을 포함하고 있어 사료 원료로도 활용 가치가 높음.
- (5) 국내에는 국립축산과학원에서 개발한 특허기술이 있으며, 기술이 이전된 업체에서 개발한 이동식 가축사체 가수분해 장치도 개발·운용되고 있음(그림 1).
- (6) 가축사체를 산(HCl) 및 알칼리(KOH, NaOH) 가수분해 처리법으로 분해하여 사체 분해율과 액상부산물의 비료학적 가치평가를 통해 최적 가수분해제를 분석한 결과 가축사체의 농업적 재활용을 위한 가수분해 처리법의 최적 가수분해제는 KOH이었다고 발표함(서 등, 2012).
- (7) 그러나, 이 알칼리 가수분해 과정에서도 가축의 주요 감염병 병원체 및 변형 프리온에 대한 사멸조건 검증은 제시되지 않아 이에 대한 보완이 필요함.
- (8) 알카리 가수분해 처리 공정도(그림 2)와 절차(그림 3)은 다음과 같음.



그림 1. 국내에서 개발된 가축 사체 화학적 처리 장비 사진.



사체 투입



알카리 가수분해 처리



액상처리물 배출 후 잔류물

그림 2. 가축 사체의 알카리가수분해 처리 공정 모식도.

《 가축사체 가수분해 처리 절차도 》



그림 3. 가축 사체의 알칼리가수분해 처리 절차.

2. 연구목적

본 연구의 목적은 국내 가축 사체의 처리방식으로 새롭게 도입된 화학적 처리방법(알칼리 가수분해)의 활용을 위해 처리과정에서 가축의 주요 감염병 병원체 및 변형프리온 단백질에 대한 사멸 조건 검증을 통해 화학적 처리방법이 적용되어 국내 가축 살처분 방식의 다각화 하는 근거를 마련하는데 있음.

II. 연구 내용, 방법 및 결과

1. 주요 가축 전염병 병원체의 사멸 실증 실험

가. 공시 병원체

(1) 바이러스

(가) 구제역 바이러스(소, 돼지)

- FMDV O1 Campos strain, 6PD50 (바이오제네시스 바고, 아르헨티나)

(나) 돼지열병바이러스(돼지)

- CSFV(LOM strain), 1×10^5 TCID₅₀/ml

(다) 아프리카돼지열병바이러스(돼지)

- African Swine Fever Virus(Georgia2007/1), 1×10^4 HAD₅₀/ml DNA

(라) 돼지썩코바이러스2형(돼지)

- Porcine Circovirus type 2, 1×10^6 TCID₅₀/ml

(마) 돼지생식기호흡기증후군바이러스(돼지)

- PRRSV VR2332, 1×10^6 TCID₅₀/ml

(바) 돼지유행성설사증바이러스(돼지)

- PEDV, 1×10^6 TCID₅₀/ml

(사) 저병원성조류인플루엔자바이러스(닭)

- low pathogenic avian influenza virus, AIV subtype H9N2[A/Korean native chicken/Korea/K040110/2010 (H9N2)], 10^6 EID₅₀/ml

(아) 소바이러스성설사증바이러스(소)

- Bovine Viral Diarrhea Virus 1a, 1×10^6 TCID₅₀/ml

(2) 세균

(가) 결핵균(소)

- Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Guérin (BCG) strain 1×10^4

CFU/ml

(나) 돼지증식성장병증균(돼지)

- *Lawsonia intracellularis*, 1×10^6 TCID₅₀/ml

(다) 요네병균(소)

- *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* 1×10^5 CFU/ml

(라) 브루셀라균(소)

- *Brucella abortus* 1×10^5 CFU/ml

(마) 탄저균(소)

- *Bacillus anthracis* (Sterne strain) 1×10^8 CFU/ml

(바) 기종저균(소)

- *Clostridium chauvoei*, 2×10^7 CFU/ml

(사) 클로스티리디움 장염균(소, 돼지, 닭)

- *Clostridium perfringens*(field isolate) : 1×10^6 CFU/ml

(아) 대장균(소, 돼지, 닭)

- *Escherichia coli*, 1×10^6 CFU/ml

(자) 살모넬라균(소, 돼지, 닭)

- *Salmonella enterica* serovar *typhimurium*, 1×10^6 CFU/ml

나. 돼지 사체의 화학적 처리 시스템 적용 및 병원체 검출

(1) 돼지사체의 화학적 처리

(가) 자돈 3마리(총 45kg)를 반응기(그림 4, 그림 5)에 넣고 돼지 사체에 FMDV, ASFV, CSFV, PCV2, PRRSV, PEDV, 돼지증식성장병증균, 클로스티리디움 장염균, 대장균, 살모넬라균[10종의 병원체(바이러스 6종 및 세균 4종)]을 접종하였음(그림 6).

(나) 반응기에 KOH 액상용액을 돼지사체 무게의 15%되게 주입한 뒤 덮개를 덮어 완전히 밀봉한 후 90℃에서 5시간 동안 처리함(그림 7, 그림 8).

(다) 처리과정 후 액상의 반응물과 뼈만 남게 됨(그림 9, 그림 10).

(다) 처리후 잔존물은 병원체 존재 여부를 확인하기 위해 검사를 위해 실험실로 이송함.



그림 4. 돼지 사체 처리를 위한 화학적 처리 장비.



그림 5. 사체의 화학적 처리 과정 실험을 위한 돼지 사체.

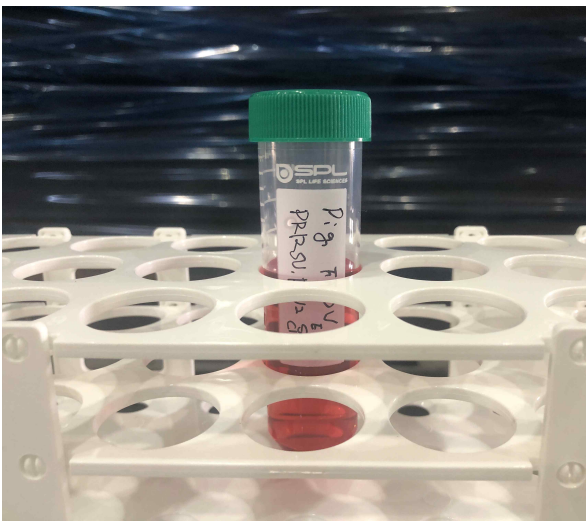


그림 6. 돼지 사체의 화학적 처리 과정의 병원체 사멸 효과 평가를 위한 병원체 준비.



그림 7. 돼지 사체 처리를 위한 KOH 용액 혼합.

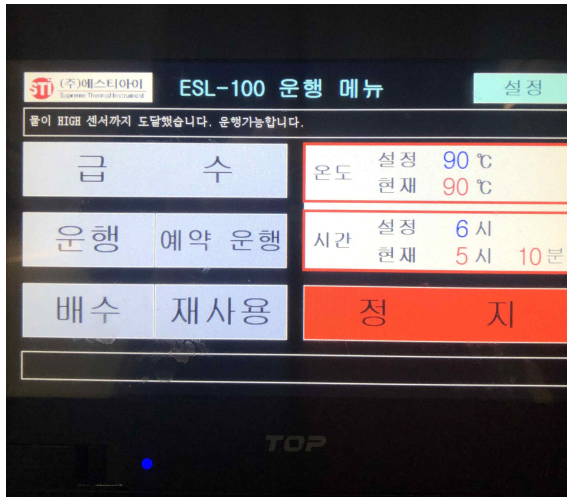


그림 8. 돼지 사체의 화학적 처리를 위한 반응 조건(90°C, 5시간 처리).



그림 9. 돼지 사체의 화학적 처리 후 잔존 반응액.



그림 10. 돼지 사체의 화학적 처리 후 잔존 뼈조각 사진.

(2) 돼지사체 화학적 처리 잔존물의 병원체 검사

(가) FMDV qRT-PCR

- 1) VDX FMDV Real-Time PCR kit(메디안디노스틱, 한국)를 이용하여 잔존물에서의 FMDV 유전자를 검출함
- 2) 분석방법은 제조사에서 제시하는 방식을 따름(별첨 1)
- 3) 처리 후 시료에서 FMDV 유전자는 검출되지 않아 불활화 되었음을 확인함(그림 11).

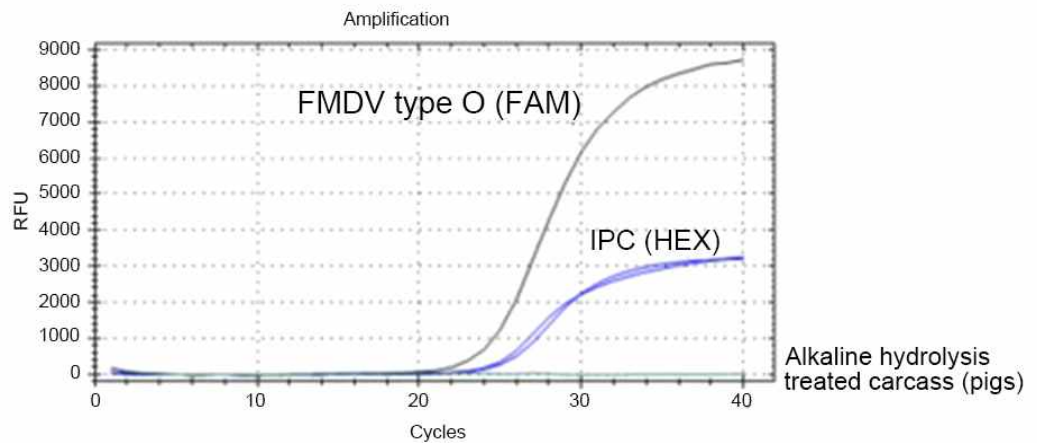


그림 11. 돼지 사체 알칼리가수분해물에서의 구제역 바이러스 유전자 검사 결과.

(나) ASFV real-time PCR

- 1) VDX ASFV Real-Time PCR kit(메디안디노스틱, 한국)를 이용하여 잔존물에서의 ASFV 유전자를 검출함
- 2) 분석방법은 제조사에서 제시하는 방식을 따름(별첨 1)
- 3) 처리 후 시료에서 FMDV 유전자는 검출되지 않아 불활화 되었음을 확인함(그림 12).

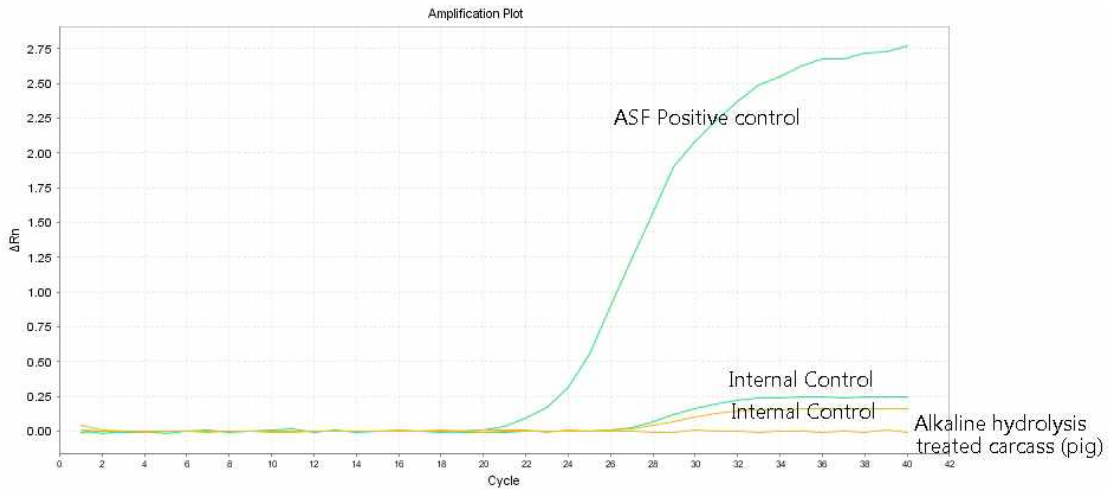


그림 12. 돼지 사체 알칼리가수분해물에서의 아프리카돼지열병 바이러스 유전자 검사 결과.

(다) CSFV real-time RT-PCR

- 1) VDx®CSFV qRT-PCR(메디안디노스틱, 한국)를 이용하여 바이러스 유전자를 동시에 정량 분석함
- 2) 분석방법은 제조사에서 제시하는 방식을 따름
- 3) 처리 후 유전자 검사 결과 전체에서 유전자가 검출되지 않아 병원체가 불활화 되었음을 확인함(그림 13).

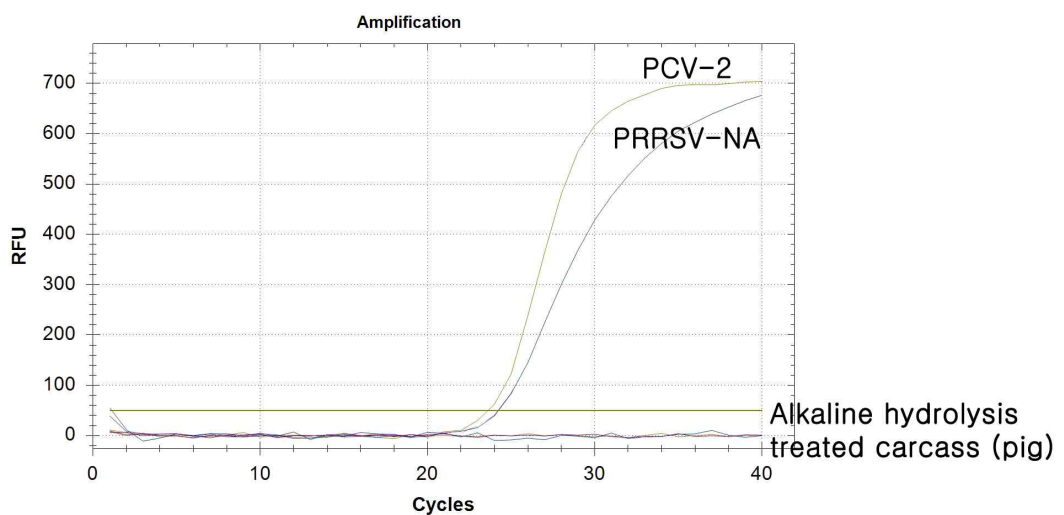


그림 13. 화학적 가수분해 처리된 돼지 사체 잔존물에서의 PCV-2 및 PRRSV-NA의 real-time PCR 불검출 결과.

(라) PCV-2 qPCR 및 PRRSV qRT-PCR

- 1) Prime-Q PVC2, PRRSV Detection Kit(제넷바이오, 한국)를 이용하여 바이러스 유전자를 동시에 정량 분석함.
- 2) 분석방법은 제조사에서 제시하는 방식을 따름.
- 3) 처리 후 유전자 검사 결과 전체에서 유전자가 검출되지 않아 병원체가 불활화 되었음을 확인함(그림 14).

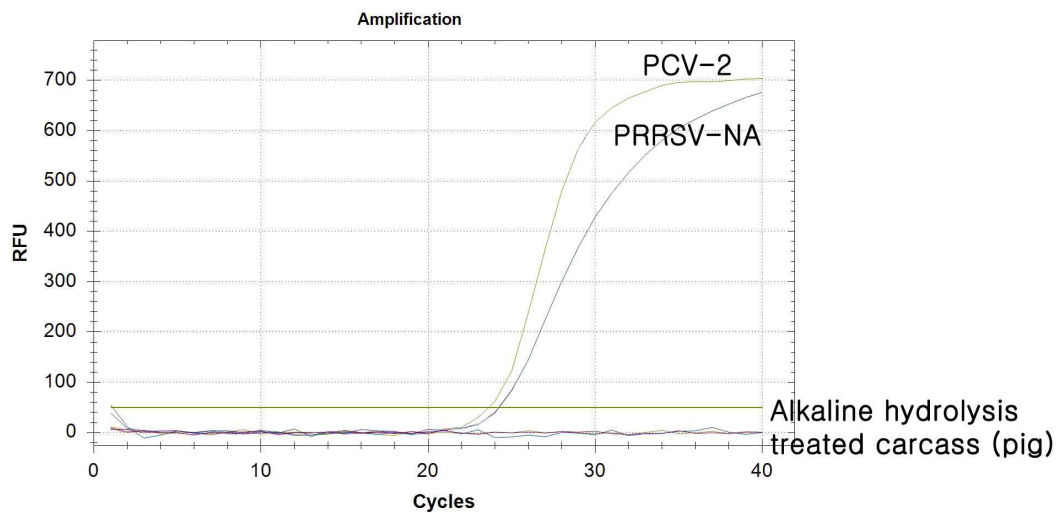


그림 14. 화학적 가수분해 처리된 돼지 사체 잔존물에서의 PCV-2 및 PRRSV-NA의 real-time PCR 불검출 결과.

(마) PEDV qRT-PCR

- 1) Prime-Q PEDV Detection Kit(제넷바이오, 한국)를 이용하여 바이러스 유전자를 정량 분석함.
- 2) 분석방법은 제조사에서 제시하는 방식을 따름.
- 3) 처리 후 유전자 검사 결과 전체에서 유전자가 검출되지 않아 병원체가 불활화 되었음을 확인함(그림 15).

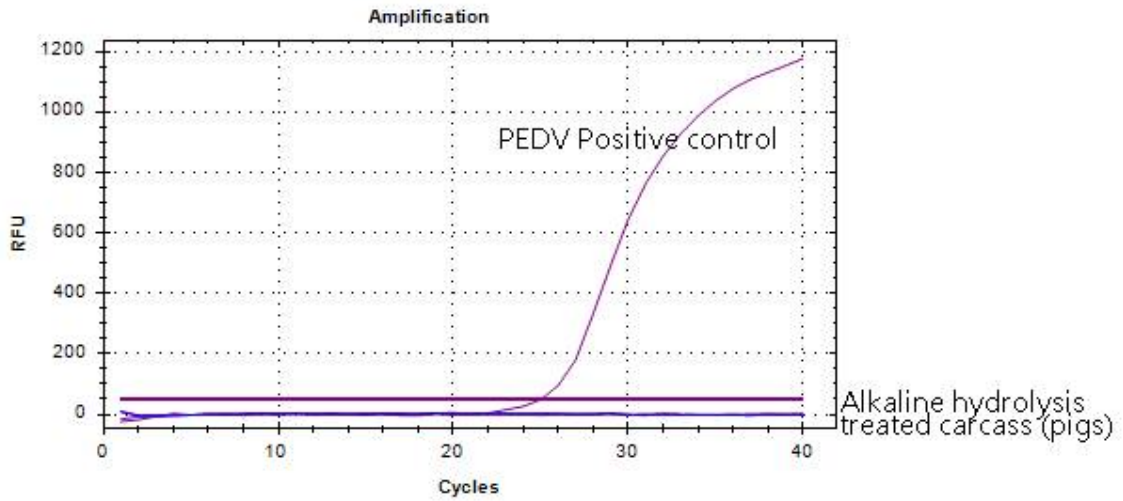


그림 15. 화학적 가수분해 처리된 돼지 사체 잔존물에서의 PEDV의 real-time PCR 불검출 결과.

(바) *Lawsonia intracellularis* real-time PCR

- 1) PowerChek™ *Lawsonia intracellularis* Real-time PCR Kit(코젠바이오텍, 한국)를 이용하여 잔존물에서의 *Lawsonia intracellularis* 유전자를 검출함.
- 2) 분석방법은 제조사에서 제시하는 방식을 따름.
- 3) 처리 후 시료에서 *Lawsonia intracellularis* 유전자는 검출되지 않아 불활화 되었음을 확인함(그림 16).

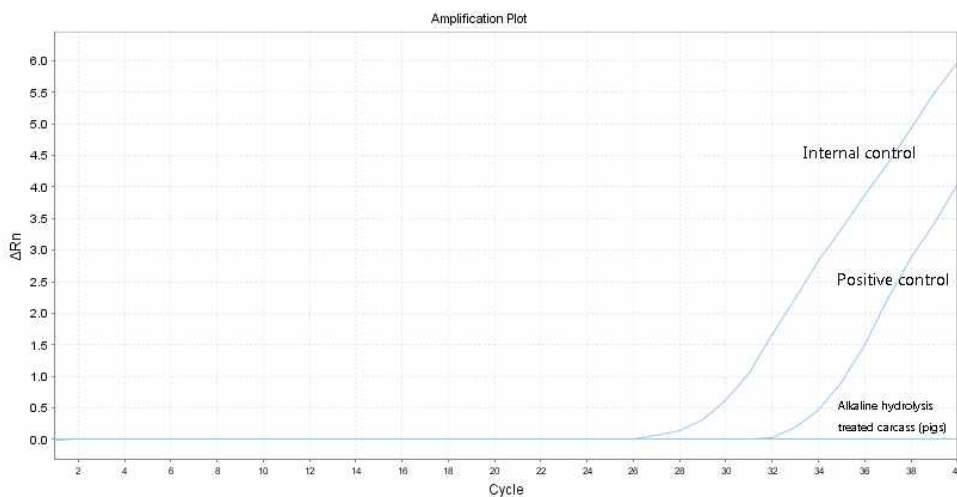


그림 16. 돼지 사체 알칼리가수분해 산물에서의 *Lawsonia intracellularis*균 유전자 검사 결과.

(사) *Clostridium perfringens* 배양

- 1) 사체의 화학적 처리 잔존물을 배지(혈액배지, MacConkey배지)에 평판 도말한 후 37°C, 24시간 혐기 배양함.
- 2) Dual-hemolytic zone을 보이는 집락을 혈액배지에 계대하고 그람염색을 실시함.
- 3) 그람염색결과 염색성상과 일치하면 PCR을 실시함.
- 4) 검사결과 : 화학적 처리 잔존물을 배양한 혈액 배지와 MacConkey배지의 혐기배양 조건에서 Dual-hemolytic zone을 보이는 집락이 관찰되지 않음.

(아) *Escherichia coli* 배양

- 1) 사체의 화학적 처리 잔존물을 배지(혈액배지, MacConkey배지)에 평판 도말한 후 37°C, 24시간 배양함.
- 2) 혈액배지에서 용혈유무 확인하고, MacConkey agar에서 나타난 핑크색 집락을 EMB agar에 계대(37°C, 24시간)하여 배양 유무를 확인함.
- 3) 검사결과 : 화학적 처리 잔존물을 배양한 혈액 배지와 MacConkey배지 모두에서 집락이 관찰되지 않음

(자) *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* 배양

- 1) 사체의 화학적 처리 잔존물을 배지(혈액, MacConkey, XLT4)에 평판 도말한 후 37°C, 24시간 배양함.
- 2) MacConkey 배지에서 투명한 집락이나 XLT4에서 중앙부위가 검은색 집락을 채취하여 Chrom agar에 계대(37°C, 24시간)함.
- 3) 분리균을 생화학동정기(VITEK II)를 이용하여 동정함.
- 4) 검사결과 : 화학적 처리 잔존물을 배양한 혈액 배지와 MacConkey배지 및 XLT4 배지 모두에서 집락이 관찰되지 않음.

나. 소 사체의 화학적 처리 시스템 적용 및 병원체 검출

(1) 소 사체의 화학적 처리

(가) 소 사체(10일령, 45kg)를 반응기(그림 17, 그림 18)에 넣고 소 사체에 FMDV, BVDV, 결핵균, 요네병균, 브루셀라균, 탄저균, 기종저균, 클로스티리디움 장염균, 대장균, 살모넬라균[10종의 병원체(바이러스 2종 및 세균 8종)]을 접종하였음(그림 19, 그림 20).

(나) 반응기에 KOH 액상용액을 소 사체 무게의 15%되게 주입한 뒤 덮개를 덮어 완전히 밀봉한 후 90℃에서 5시간 동안 처리함(그림 21, 그림 22).

(다) 처리과정 후 액상의 반응물과 뼈만 남게 됨(그림 23, 그림 24).

(라) 처리 후 잔존물은 병원체 존재 여부를 확인하기 위해 검사를 위해 실험실로 이송함.



그림 17. 소 사체 처리를 위한 화학적 처리 장비.



그림 18. 사체의 화학적 처리 과정 실험을 위한 소 사체.

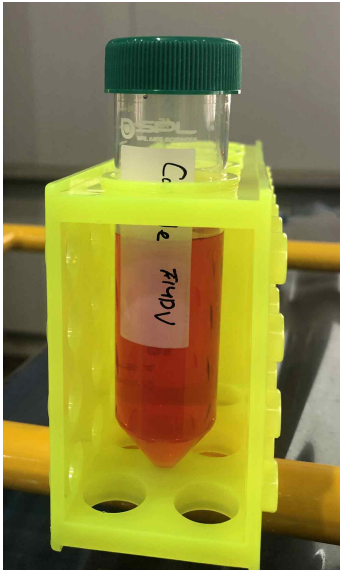


그림 19. 소 사체의 화학적 처리 과정의 병원체 사멸 효과 평가를 위한 병원체 준비.



그림 20. 소 사체에 병원체 접종 과정.



그림 21. 소 사체 처리를 위한 KOH 용액 혼합 과정.



그림 22. 소 사체의 화학적 처리를 위한 반응 조건(90°C, 5시간 처리).



그림 23. 소 사체의 화학적 처리 후 반응액.



그림 24. 소 사체의 화학적 처리 후 잔존 뼈 사진.

(2) 소 사체 화학적 처리 잔존물의 병원체 검사

(가) FMDV qRT-PCR

- 1) VDX FMDV Real-Time PCR kit(메디안디노스틱, 한국)를 이용하여 잔존물에서의 FMDV 유전자를 검출함
- 2) 분석방법은 제조사에서 제시하는 방식을 따름(별첨 1)
- 3) 처리 후 시료에서 FMDV 유전자는 검출되지 않아 불활화 되었음을 확인함(그림 25).

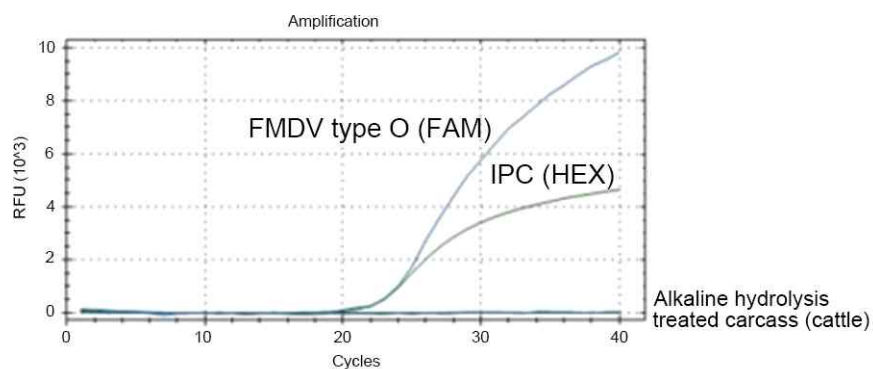


그림 25. 소 사체의 알카리가수분해물을 이용한 구제역 바이러스 유전자 검사 결과.

(나) BVDV qRT-PCR

- 1) VDX[®]BVDV qRT-PCR(메디안디노스틱, 한국)를 이용하여 바이러스 유전자를 정량 분석함.
- 2) 분석방법은 제조사에서 제시하는 방식을 따름.
- 3) 처리 후 유전자 검사 결과 전체에서 유전자가 검출되지 않아 병원체가 불활화 되었음을 확인함(그림 26).

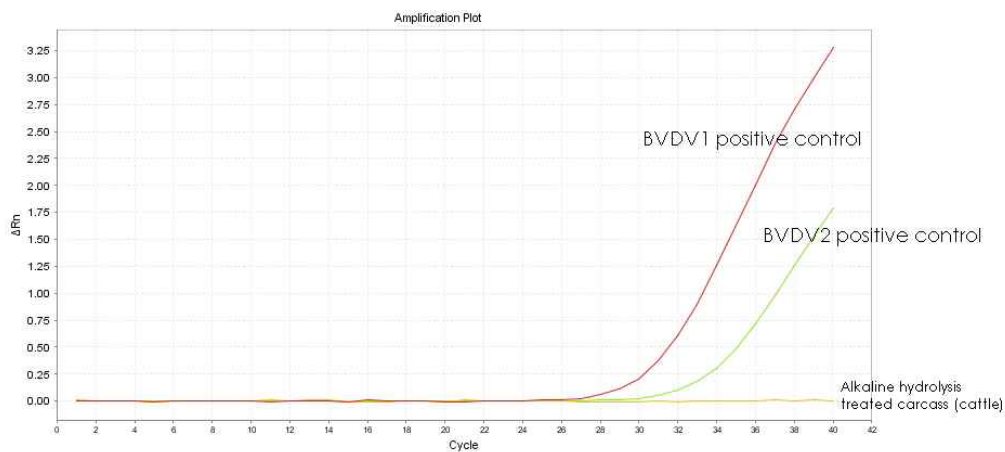


그림 26. 소 사체의 알카리가수분해물을 이용한 BVDV 유전자 검사 결과.

(다) 결핵균 검출 PCR

- 1) Shin et al. (2007)의 방법을 적용하여 결핵균 유전자를 검출함.
- 2) 처리 후 유전자 검사 결과 유전자 특이 증폭 밴드가 관찰되지 않아 병원체가 불활화 되었음을 확인함(그림 27).

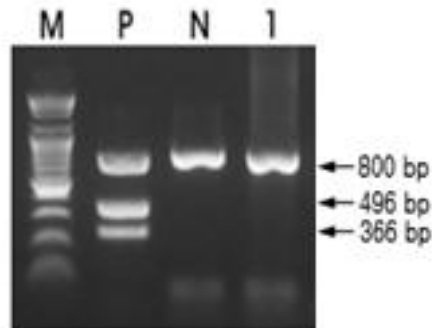


그림 27. *Mycobacterium bovis*가 포함된 소 사체의 알칼리 가수분해 후의 유전자 검출 결과. M=100 bp ladder, P=positive control, N=negative control, 1=알칼리 가수분해전 시료.

(라) 요네병균 검출 PCR

- 1) 요네병균의 검출은 동물질병표준진단요령(농림축산검역본부, 2017)의 방법을 이용하였음.
- 2) 분석방법은 표 1과 같음.
- 3) 처리 후 유전자 검사 결과 전체에서 유전자가 검출되지 않아 병원체가 불활화 되었음을 확인함(그림 28)

표 1. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* 검출을 위한 PCR 조건

Target gene	Primer sequences	Product size
IS900	R: AATCAACTCCAGCAGCGCGGCCTCG F: CCGCTAATTGAGAGATGCGATTGG	229 bp
PCR conditions	94°C 5min → 35 cycle(94°C 30s, 60°C 30s, 72°C 30s) → 72°C 10min	
Reference	Stabel JR and Bannantine JP. JCM 2005, 43(9):4744-4750 Vary PH et al. JCM 1990, 28(5):933-937	

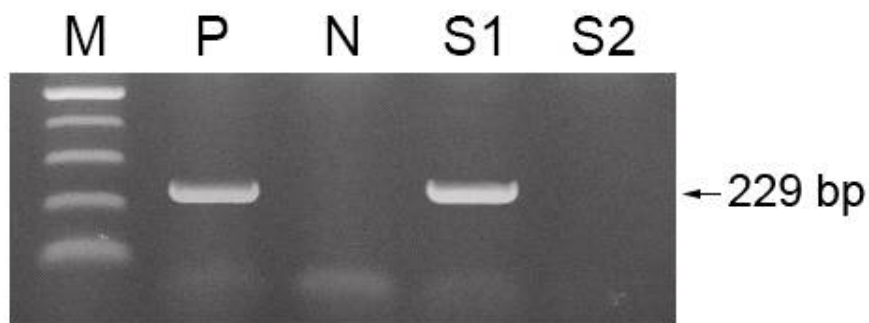


그림 28. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*가 포함된 소 사체의 알칼리 가수분해 전과 후의 유전자 검출 결과. M=100 bp ladder, P=positive control, N=negative control, S1=알칼리 가수분해전 시료, S2=알칼리 가수분해 후 시료.

(마) 브루셀라 검출 PCR

- 1) 요네병균의 검출은 동물질병표준진단요령(농림축산검역본부, 2017)의 방법에 따라 16S rRNA를 이용한 *Brucella* species specific PCR법을 이용하였음.
- 2) 분석방법은 표 2와 같음.
- 3) 처리 후 유전자 검사 결과 전체에서 유전자가 검출되지 않아 병원체가 불활화 되었음을 확인함(그림 29)

표 2. *Brucella* spp. 검출을 위한 PCR 조건

Target gene	Primer sequences	Product size
16s rRNA	F4 : TCG AGC GCC CGC AAG GGG R2 : AAC CAT AGT GTC TCC ACT AA	905 bp
PCR conditions	94°C 5min → 40 cycle(94°C 30s, 57°C 30s, 72°C 60s) → 72°C 10min	
Reference	Journal of clinical microbiology 33(3):615-7, 1995.	

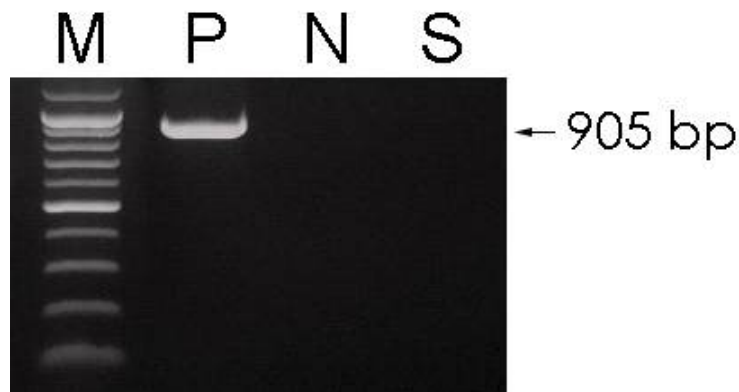


그림 29. *Brucella* spp.가 포함된 소 사체의 알칼리 가수분해 후의 유전자 검출 결과. M=100 bp ladder, P=positive control, N=negative control, S1=알칼리 가수분해전 시료, S=알칼리 가수분해 후 시료.

(바) 탄저균 검출 PCR

- 1) 탄저균의 검출은 동물질병표준진단요령(농림축산검역본부, 2017)의 방법에 따라 16S rRNA를 이용한 *Bacillus anthracis* 검출 PCR법을 이용하였음.
- 2) 분석방법은 표 3과 같음.
- 3) 처리 후 유전자 검사 결과 전체에서 유전자가 검출되지 않아 병원체가 불활화 되었음을 확인함(그림 30).

표 3. *Bacillus anthracis* 검출을 위한 PCR 조건

Target gene	Primer sequences	Product size	비고
Protective Antigen (PA)	PA 5(3048-3029): TCCTAACACTAACGAAGTCG PA 8(2452-2471): GAGGTAGAAGGATATACGGT	596 bp	1 mM
Capsule	1301(2257-2238): TCCCACTTACGTAATCTGAG 1234(1411-1430): CTGAGCCATTAATCGATATG	846 bp	0.2 mM
PCR conditions	94°C, 5min → 30 cycles(93°C 30s - 55°C, 30s - 72°C, 30s) → 72°C, 10min		
Reference	Salisbury Med. Bull. 1996. No. 87, Special Suppl., 47-49. J. Appl. Bacteriol. 1993. 75, 463-472.		

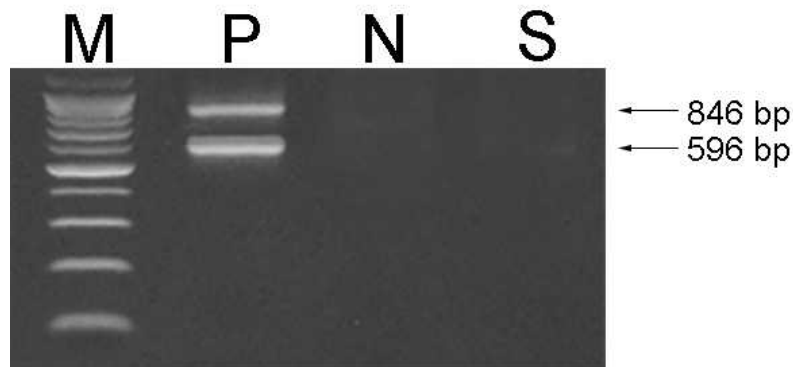


그림 30. *Bacillus anthracis*가 포함된 소 사체의 알칼리 가수분해 후의 유전자 검출 결과. M=100 bp ladder, P=positive control, N=negative control, S=알칼리 가수분해 후 시료.

(사) 기종저균 검출 PCR

- 1) 기종저균의 검출은 동물질병표준진단요령(농림축산검역본부, 2017)의 방법에 따라 16S rRNA를 이용한 *Clostridium chauvoei* 검출 PCR법을 이용하였음.
- 2) 분석방법은 표 4와 같음.
- 3) 처리 후 유전자 검사 결과 전체에서 유전자가 검출되지 않아 병원체가 불활화 되었음을 확인함(그림 31).

표 4. *Clostridium chauvoei* 검출을 위한 PCR 조건

Target gene	Primer sequences (5'-3')	Product size	비고
16S rRNA	CC 16S-L: GTCGAGCGAGGAGAGTTC CC 193-R: CGGATTGCTCCTTTAATTAC	159 bp	
PCR conditions	95°C, 15min → 28 cycles(93°C, 60s - 50°C, 60s - 72°C, 120s) → 72°C, 10min		
Reference	Sasaki et al., 2002. Vet. Microbiol. 86: 257-267.		



그림 31. *Clostridium chauvoei*가 포함된 소 사체의 알칼리 가수분해 후의 유전자 검출 결과. M=100 bp ladder, P=positive control, N=negative control, S=알칼리 가수분해 후 시료.

(아) *Clostridium perfringens* 배양

- 1) 사체의 화학적 처리 잔존물을 배지(혈액배지, MacConkey배지)에 평판 도말한 후 37°C, 24시간 혐기 배양함.
- 2) Dual-hemolytic zone을 보이는 집락을 혈액배지에 계대하고 그람염색을 실시함.
- 3) 그람염색결과 염색성상과 일치하면 PCR을 실시함.
- 4) 검사결과 : 화학적 처리 잔존물을 배양한 혈액 배지와 MacConkey배지의 혐기배양 조건에서 Dual-hemolytic zone을 보이는 집락이 관찰되지 않음.

(자) *Escherichia coli* 배양

- 1) 사체의 화학적 처리 잔존물을 배지(혈액배지, MacConkey배지)에 평판 도말한 후 37°C, 24시간 배양함.
- 2) 혈액배지에서 용혈유무 확인하고, MacConkey agar에서 나타난 핑크색 집락을 EMB agar에 계대(37°C, 24시간)하여 배양 유무를 확인함.
- 3) 검사결과 : 화학적 처리 잔존물을 배양한 혈액 배지와 MacConkey배지 모두에서 집락이 관찰되지 않음

(차) *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* 배양

- 1) 사체의 화학적 처리 잔존물을 배지(혈액, MacConkey, XLT4)에 평판 도말한 후 37°C, 24시간 배양함.
- 2) MacConkey 배지에서 투명한 집락이나 XLT4에서 중앙부위가 검은색 집락을 채취하여 Chrom agar에 계대(37°C, 24시간)함.
- 3) 분리균을 생화학동정기(VITEK II)를 이용하여 동정함.
- 4) 검사결과 : 화학적 처리 잔존물을 배양한 혈액 배지와 MacConkey배지 및 XLT4 배지 모두에서 집락이 관찰되지 않음.

라. 닭 사체의 화학적 처리 시스템 적용 및 병원체 검출

(1) 닭 사체의 화학적 처리

(가) 닭 사체(산란계, 20마리, 총 40kg)를 반응기(그림 32, 그림 33)에 넣고 LPAIV, 클로스티리디움 장염균, 대장균, 살모넬라균[4종의 병원체(바이러스 1종 및 세균 3종)]을 접종하였음(그림 34, 그림 35).

(나) 반응기에 KOH 액상용액을 닭 사체 무게의 15%되게 주입한 뒤 덮개를 덮어 완전히 밀봉한 후 90℃에서 5시간 동안 처리함(그림 36, 그림 37).

(다) 처리과정 후 액상의 반응물과 뼈만 남게 됨(그림 38, 그림 39).

(라) 처리 후 잔존물은 병원체 존재 여부를 확인하기 위해 검사를 위해 실험실로 이송함.



그림 38. 닭 사체 처리를 위한 화학적 처리 장비.



그림 39. 화학적 처리 과정 실험을 위한 닭 사체.

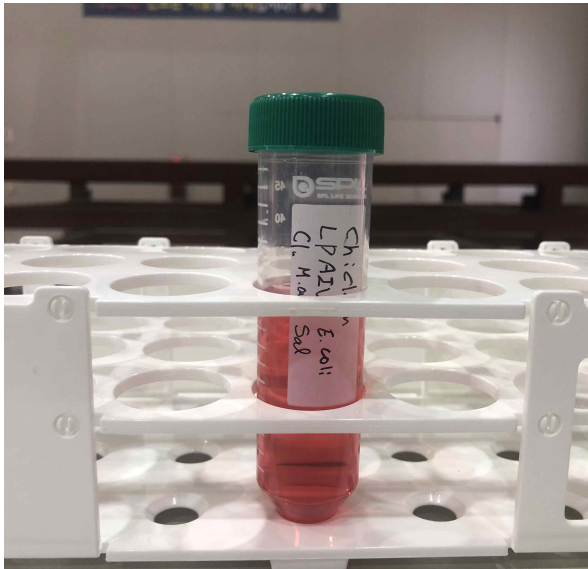


그림 40. 닭 사체의 화학적 처리 과정의 병원체 사멸 효과 평가를 위한 병원체 준비.



그림 41. 닭 사체에 병원체 접종 과정.



그림 42. 닭 사체 처리를 위한 KOH 용액 혼합 과정.



그림 43. 닭 사체의 화학적 처리를 위한 반응 조건(90°C, 5시간 처리).



그림 44. 닭 사체의 화학적 처리 후 반응액.



그림 45. 닭 사체의 화학적 처리 후 잔존 뼈 사진.

(2) 닭 사체 화학적 처리 잔존물의 병원체 검사

(가) LPAIV qRT-PCR

1) 시료는 MagNa Pure 96 System(Roche, Switzerland)을 이용해 RNA 추출하고 추출된 RNA 샘플들은 one-step Probe RT-PCR kit(VDx AIV H9 qRT-PCR kit, 메디안디노스틱)을 이용한 real-time PCR(7500 Real Time PCR System, Applied Biosystems)로 증폭함.

2) 분석방법은 제조사에서 제시하는 방식을 따름.

3) 처리 후 시료에서 AIV 유전자가 검출되지 않아 불활화되었음을 확인함(그림 46).

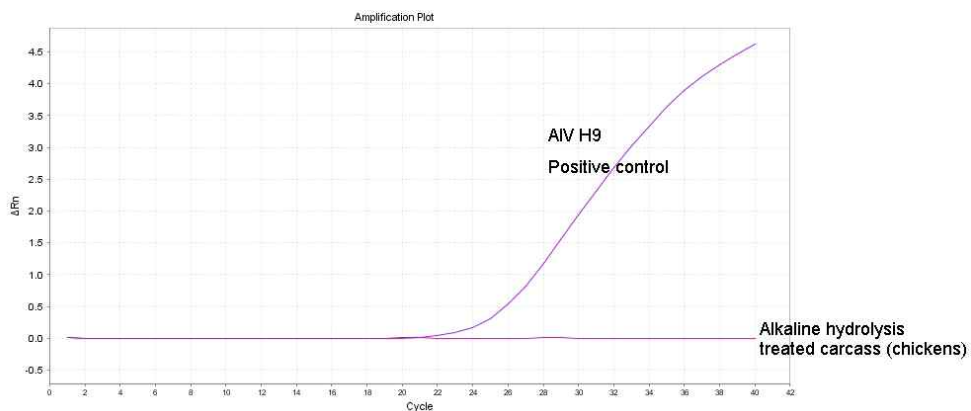


그림 46. 닭 사체의 알카리가수분해물을 이용한 AIV 유전자 검사 결과.

(나) *Clostridium perfringens* 배양

- 1) 사체의 화학적 처리 잔존물을 배지(혈액배지, MacConkey배지)에 평판 도말한 후 37°C, 24시간 혐기 배양함.
- 2) Dual-hemolytic zone을 보이는 집락을 혈액배지에 계대하고 그람염색을 실시함.
- 3) 그람염색결과 염색성상과 일치하면 PCR을 실시함.
- 4) 검사결과 : 화학적 처리 잔존물을 배양한 혈액 배지와 MacConkey배지의 혐기배양 조건에서 Dual-hemolytic zone을 보이는 집락이 관찰되지 않음.

(다) *Escherichia coli* 배양

- 1) 사체의 화학적 처리 잔존물을 배지(혈액배지, MacConkey배지)에 평판 도말한 후 37°C, 24시간 배양함.
- 2) 혈액배지에서 용혈유무 확인하고, MacConkey agar에서 나타난 핑크색 집락을 EMB agar에 계대(37°C, 24시간)하여 배양 유무를 확인함.
- 3) 검사결과 : 화학적 처리 잔존물을 배양한 혈액 배지와 MacConkey배지 모두에서 집락이 관찰되지 않음

(라) *Salmonella enterica serovar typhimurium* 배양

- 1) 사체의 화학적 처리 잔존물을 배지(혈액, MacConkey, XLT4)에 평판 도말한 후 37°C, 24시간 배양함.
- 2) MacConkey 배지에서 투명한 집락이나 XLT4에서 중앙부위가 검은색 집락을 채취하여 Chrom agar에 계대(37°C, 24시간)함.
- 3) 분리균을 생화학동정기(VITEK II)를 이용하여 동정함.
- 4) 검사결과 : 화학적 처리 잔존물을 배양한 혈액 배지와 MacConkey배지 및 XLT4 배지 모두에서 집락이 관찰되지 않음.

2. 변형프리온단백질(PrP^{Sc}) 원인 질병 폐사축 사체의 불활화 조건

- 사슴만성소모성질병(CWD)등 변형프리온단백질(PrP^{Sc})이 원인인 질병으로 폐사한 가축에서 변형프리온단백질의 불활화를 위한 화학적 처리과정의 조건 제시가 필요.

(가) 변형프리온단백질(PrP^{Sc}) 사멸 처리 기준 설정

- 1) 변형프리온단백질은 BSL3 실험실 조건에서 다루어져야 하므로 현실적으로 알칼리 가수분해시스템이 차폐 실험실 내로 들어올 수 없으며 변형프리온단백질도 현장으로 반출될 수 없어서 프리온 단백질의 사멸 조건을 농림축산검역본부의 BSL3 실험실 내에서 검증하고 이 조건이 현장 실증 시스템에서 구현되는지를 확인하는 것이 현실적인 검증 방법임.
- 2) 따라서 변형프리온단백질에 대한 사멸조건은 농림축산검역본부 해외전염병과의 협조를 통해 차폐시설 내에서 알칼리 가수분해를 이용한 조직처리를 활용하여 조건을 도출해내고자 함.
- 3) 추후 현장 사체처리 시스템의 도출된 조건 구현 여부 확인 및 변형프리온단백질의 ELISA 검출시험에 의한 부재 증명도 필요함.



그림 47. 변형 프리온단백질 사멸 처리를 위한 장비.

(나) 변형프리온단백질(PrP^{SC}) 사멸 처리 조건 실증

- 1) 변형 프리온 단백질의 사멸 처리를 위해 농림 축산 검역본부에서 차폐시설내 설치된 장비를 이용하여 제조사에서 제시한 방법을 적용함(그림 48).
- 2) CWD-infected Tg mice 2.5kg에 20% NaOH 또는 KOH 처리 후 98°C에서 20시간 반응함.
- 3) 처리된 사체 반응물에서의 프리온 불활화 평가를 위해 sPMCA-WB 검사(검역본부 수행)를 수행하며 세부 사항은 다음과 같음(그림 49, 그림 50).
- 4) 결과 판정은 proteinase K를 처리한 시료가 PrP^{res}의 시그널이 뚜렷이 보일 경우 양성으로 proteinase K를 처리한 시료가 PrP^{res}의 특이 시그널을 보이지 않는다면 음성으로 진단하는데 음성 및 양성대조가 전형적으로 나오지 않거나 처리시료가 판단하기 어려울 경우 실험을 반복함(그림 51).



그림 48. 변형 프리온단백질 사멸 처리를 위한 차폐시설내 실증 장비(농림축산검역본부).

■ 프리온 불활화 평가를 위한 sPMCA-WB 매뉴얼

1. 개요

정상프리온이 다량 함유된 뇌유제액과 소량의 불활화 처리된 시료를 conversion buffer에 혼합한 후 incubation과 sonication을 반복하여 불활화 처리된 시료내 포함되어있는 소량의 변형프리온을 증폭여부를 확인하여 변형프리온의 불활화 여부를 확인하는 방법임

2. 시험방법

가. 정상 프리온(PrP^c)을 공급하기 위한 정상 뇌조직 만드는 방법

- 1) PMCA conversion buffer를 15ml Tenbroeck Tissue Grinder로 마우스 한마리분 뇌를 정량하여 10% brain homogenation을 만든다
- 2) ice에 넣은 상태에서 10분간 방치한다
- 3) 4°C 냉장 원심기를 이용하여 2,000g 1분간 원심 후 상청액을 사용한다

* 시약제조

- 1) PMCA conversion buffer
1X PBS 47.6ml, 5M NaCl 1.5ml, Triton X-100 0.5ml,
0.5M EDTA 0.4ml, Complete protease Inhibitor cocktail 1 tablet
0.05% Digitonin(sigma)
- 2) proteinase K(PK): 20mg/ml in 10mM Tris-HCl(pH8.0),
1mM CaCl₂ 30% Glycerol,
- 3) Pefablock : 0.1M in DDW
- 4) Collagenase 20mg/ml in DDW
- 5) DNase I : 1mg/ml in 50% glycerol, 10mM Tris-HCl(pH7.5) 10mM MgCl₂
- 6) 2XSample buffer : 사용 중에 소량은 실온보관가능 장기간 보존은 4°C에서 보관

나. 생체의 변형프리온 증폭 방법(sPMCA)

- 1) 각 시료별로 아래와 같이 시료와 정상프리온의 비율을 정하여 준비한다
 - 불활화 처리된 시료: “가”에서 준비된 정상프리온(PrP^c) 80ul, 시료 20ul
 - 음성대조군 : “가”에서 준비된 정상프리온(PrP^c) 80ul, 음성시료 20ul
- 2) PMCA반응을 위하여 100ul 반응액을 PCR 반응 tube(0.2ml)에 넣는다
- 3) 37°C water bath에 16시간 반응시킨다
- 4) misonix sonicator를 이용 아래와 같은 program으로 1회(1R) 반응한다

- potency 5, pulse on 30초, pulse off 29분 30초 : 56cycles (9시간)

- 5)"가"에서 준비된 정상프리온(PrP^c) 70ul, PMCA산물 30ul의 비율로 준비한다
- 6) 5)에서 준비된 시료를 이용하여 3), 4), 5)방법을 총 3회(3R) 실시한다

다. 결과확인(western blot)

- 1) PMCA 증폭산물 5ul와 PMCA buffer 15ul 를 새 PCR tube에 넣는다
- 2) DNase I(1mg/ml) 8ul, Collagenase(20mg/ml) 5ul 첨가한다
- 3) 37°C에서 1시간 반응한다
- 4) protienase K (PK, 1mg/ml)를 16ul (400ug/ml)를 넣는다
- 5) 37°C 1시간 반응한다
- 6) 0.1M pefablock을 8ul를 넣는다
 - ※ 이시기에 에펜도르프 튜브를 이용하여 시료를 옮긴다
- 7) 20,000g 15min 20°C 조건으로 원심을 실시한다
- 8) 상층액을 완전히 제거한다
- 9) pellet에 4% SDS를 20ul 첨가한다
- 10) 초음파를 아래의 조건으로 실시한다
 - : potency 40%: pulse on 5:00, pulse 1:00; time 1분
- 11) pellet을 100°C 5min반응시키되 도중에 flash하면서 잘 녹인다
- 12) 400ul의 차가운 메탄올(-20C에 두었던 것) 첨가한다
- 13) -20C에 30분 이상 방치하거나 이 상태로 보존도 가능하다
- 14) 20,000g 10min 20°C 조건으로 원심을 실시한다
- 15) 상층액 버리고 5min동안 메탄올 증발시킨다
- 16) 1X sample buffer 20ul넣고 100°C, 5min 반응시킨다
- 17) SDS-PAGE gel로 전개 후 PVDF막에 전사한다
- 18) blocking buffer로 30분간 반응한다
- 19) 일차항체(S1)를 0.5mg/ml이 되도록 희석하여 1시간 반응시킨다
- 20) TBST로 5분간 3회 세척 한다
- 21) 이차항체(anti-rabbit-AP labeled)를 0.25ug/ml이 도록 희석하여 반응한다
- 22) TBST로 5분간 3회 세척 한다
- 23) luminiscence buffer를 넣어준 후 5분간 반응시킨다
- 24) CDP-star를 50배(12.5mM)로 luminiscence buffer에 희석한다
- 25) OHP필름위에 막을 올려놓고 희석한 CDP-star를 부어준후 과도한 액체를 제거하고

랩으로 membrane을 덮어준다

26) 화학발광 이미지 분석기(LAS-4000)를 이용하여 시그널을 확인한다

라. 결과해석

프리온 단백질을 두 번의 glycosylation이 존재해 PK를 처리한 PrP^{res}의 immunoblot에서는 30-27kDa, 26-24kDa, 21-19kDa의 세 밴드가 나타난다

1) 음성대조

- Not treated with PK : 시그널이 없거나 약하다(33-35kDa)
- Treated with PK : 특이 시그널이 없다.

2) 양성대조

- Not treated with PK : 매우 강한 시그널이 나타나며, 때로는 시그널이 너무 강해 3가지의 밴드가 구별이 되지않을 수도 있으며 가장위의 밴드는 33-35kDa이다.
- Treated with PK : 세 개의 특이 밴드가 나타난다
- PK 처리한 fraction과 처리하지 않은 fraction의 분자량 차이가 나타나야한다.

3) 처리시료

- PK를 처리한 샘플이 PrP^{res}의 시그널이 뚜렷이 보일 경우 양성으로 진단한다.
- PK를 처리한 샘플이 PrP^{res}의 특이시그널을 보이지 않는다면 음성으로 진단한다.
- 음성 및 양성대조가 전형적으로 나오지 않거나 처리시료가 판단하기 어려울 경우 실험을 반복한다.

□ 양성 뇌유제액으로 희석하여 sPMCA를 수행한 결과 기존의 방법보다 만배 민감하게 검출됨을 확인 (그림 49).

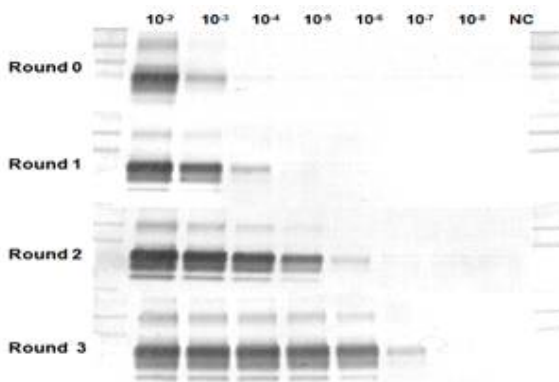


그림 49. sPMCA 기법을 활용한 변형프리온 검출 민감도.

□ 양성시료 500ul에 화학소독제 50ul, 100ul, 150ul, 200ul로 1시간 처리한 후 sPMCA 수행결과 결과 100ul 처리한 시료부터 증폭이 안됨을 확인 즉 1N NaOH 처리 시에도 소독이 가능함을 확인(그림 50).

1hr treatment

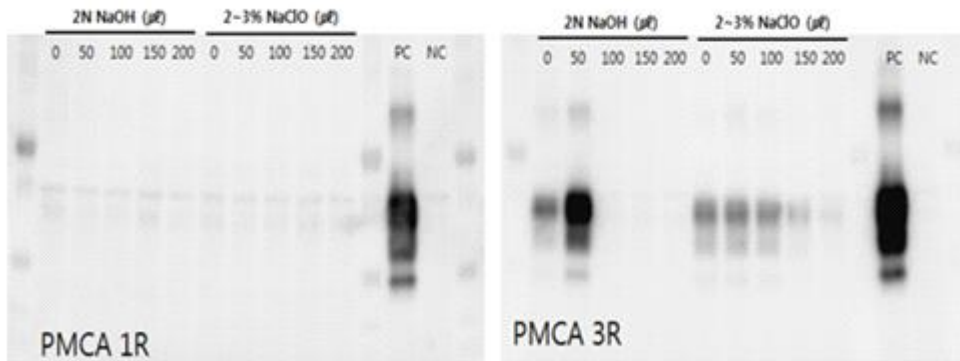


그림 50. 화학소독제 처리조건별 변형 프리온 단백질 불활화 결과.

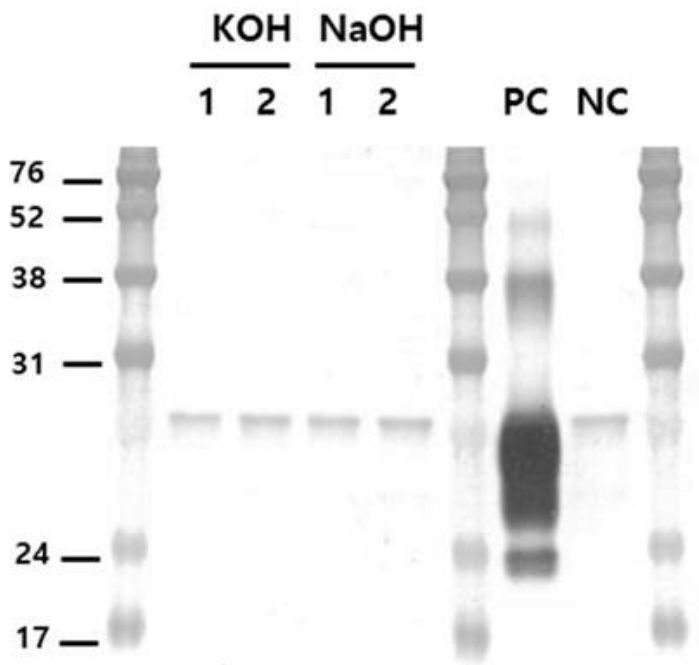


그림 51. 화학적 처리조건별 변형 프리온 단백질 불활화 결과.

3. 가축사체 화학적 처리 방식 해외 적용 사례

가. 변형 프리온단백질 처리 시스템으로 활용

- (1) 알칼리 가수분해 시스템은 완전멸균 측면에서 최고의 처리방법으로 광우병의 발생인자인 프리온 단백질의 경우 접힌구조(Folding structure)로 이루어져 높은 내열성 및 내화학성을 나타내며, 방사선 및 소각 등의 방법으로 감염력 저하는 가능 하지만 완전 멸균은 불가능한 것으로 알려져 있음.
- (2) WHO에서는 프리온 단백질을 완전 멸균 처리하는 방법으로 가수분해 방법을 추천 (WHO Guidelines on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies, '06)함.
- (3) 미국 캔자스 주 가축 방역센터에서 발간한 'Carcass disposal A comprehensive review'에서는 유기성 폐기물 내 주요 물질인 Protein, Carbohydrate, Nucleic acid 등에 대한 분해 가능한 기술임을 서술하고 있음.
- (4) 화학적 처리 과정에서의 병원체 사멸에 대한 연구(표 5)도 다수 수행되어 있으며 본 연구에서와 같이 보다 다양한 병원체에 대한 사멸 조건과 결과를 제시한 것이 필요함(Lemire 등, 2016).

표 5. 전염성 병원균별 멸균 방법

	멸균조건			비고
	Temp.	Time	Press	
구제역	76 °C	7 sec	1 atm	pH 11 이상에서 빠르게 멸균
AI	75 °C	5 min	1 atm	Alkaline 조건에서 바이러스 불활성
프리온	134 °C	18 min	3 atm	소각 및 매립으로 멸균 불가

나. 알칼리 가수분해 처리방법의 해외 현황 분석(미국 농무부 자료)은 별첨 3과 같음.

4. 가축전염병예방법 시행규칙 개정 제안

가. 가축전염병예방법 시행규칙의 제목을 다음과 같이 수정

- 별표 5. 소각 또는 매몰기준 --> 별표 5. 소각, 매몰 및 화학적 처리 기준

나. 시행규칙의 별표 5, 3 항의 화학적 처리 기준은 다음과 같음

소각, 매몰 및 화학적 처리 기준 (제25조관련)

3. 화학적 처리 기준

구분	화 학 적 처 리 실 시 장 소	화 학 적 처 리 방 법	비 고
사 체	1. 가축 사체의 화학적 처리를 할 수 있는 시설이 있는 장소 2. 가축 사체 처리를 위한 원발 농장 등 이동식 화학적 처리 장치가 접근할 수 있는 장소	1. 화학적 처리장치(이동식 화학적 처리장치를 포함한다)를 사용하는 때에는 그 장치의 사용법에 의한다. 2. 가축 전염병 병원체 및 변형프리온단백질의 완전한 사멸을 위한 처리 조건은 다음과 같다. 가. 법정 가축 전염병 감염 사체의 경우 사체에 KOH(또는 NaOH)를 15%되게 주입한 뒤 90℃에서 5시간 이상 동안 처리하여야 한다. 나. 변형 프리온 단백질에 의한 질병[사슴만성소모성질병(CWD)등] 감염 사체 및 감염 의심 사체의 경우 사체 무게의 20% NaOH 또는 KOH 반응 후 98℃에서 20시간 이상 처리해야 한다.	1. 사체를 처리하고 남은 뼈는 매몰하거나 「폐기물 관리법」에 따라 소각재를 처리할 것. 2. 화학적 처리 장치를 이용하여 처리한 후 잔존물 중 액상물은 장치 내 저장 탱크에 수거하여 오폐수 처리 시설에 배출할 것.
오염물건	1. 가축 사체의 화학적 처리를 할 수 있는 시설이 있는 장소 2. 가축 사체 처리를	1. 화학적 처리장치(이동식 화학적 처리장치를 포함한다)를 사용하는 때에는 그 장치의 사용법에 의한다. 2. 화학적 처리 과정 중에 남은 오염물질(사	1. 오염물건을 화학적 처리 후 남은 물건

	<p>위한 원발 농장 등 이동식 화학적 처리 장치가 접근할 수 있는 장소</p>	<p>체 운송을 위한 포장재, 방역복 및 장갑 등)은 화학적 처리장치에 넣고 원인 병원체 처리와 동일한 조건으로 처리 후 소각 또는 폐기한다.</p>	<p>은 재는 매물 하거나, 「폐기물관리법」에 따라 처리할 것.</p>
--	--	---	---

Ⅲ. 기대효과 및 활용방안

- 본 연구는 가축사체의 화학적처리 방식이 가축전염병 예방법에 도입이 되어 있으나 이를 적용하는데 있어 과학적 자료를 기반으로한 세부 절차를 마련하는데 목적이 있으며 제시된 기준에 근거하여 현재 매물 중심의 살처분 가축사체 처리의 대안으로 자리잡는데 기여할 수 있다고 판단됨.
- 제시된 결과를 바탕으로 가축 사체의 화학적 처리방법이 활성화되는 것은 기존의 소각, 매물 외에 가축처리방법의 다양성을 확보하는데 있어 매우 중요함.
- 가축 사체의 화학적 처리방법의 도입은 폐사가축의 자원화를 통하여 비료 및 사료 이외에도 동물성 자원을 활용하여 관련 산업의 활성화를 유도할 수 있으나 가축 사체의 화학적 처리 산물이 비료 등으로 활용될 수 있도록 관련 법규의 개정 노력이 필요하며 본 연구에서 제시된 조건과 병원체 부재 증명 결과를 바탕으로 안전성 문제가 해결되기를 기대함.
- 이를 통해 해외 수입에 의존하던 폐사가축 및 동물성 부산물에 대한 자원화를 활성화하여 원재료의 국산화로 수입대체 효과 발생.
- 특히 변형프리온 질병인 사슴의 TSE의 처리를 위한 새로운 방법의 제시를 통해 환경 오염을 막을 뿐 아니라 공중보건학적 기여를 할 수 있음.

IV. 결론

- 가축 전염병 예방법에 새로 도입된 가축 사체 처리의 화학적 처리 방법에 대한 원인 병원체 부재 증명 등의 과학적 근거 기반 세부 기준 수립을 위해 연구를 수행하였으며 다음과 같은 결론은 얻었음.
- 각 축종별(돼지, 소, 닭) 주요 병원체로 돼지 사체에 FMDV, ASFV, CSFV, PCV2, PRRSV, PEDV, 돼지증식성장병증균, 클로스티리디움 장염균, 대장균, 살모넬라균 [10종의 병원체(바이러스 6종 및 세균 4종)], 소 사체에 FMDV, BVDV, 결핵균, 요네병균, 브루셀라균, 탄저균, 기종저균, 클로스티리디움 장염균, 대장균, 살모넬라 [10종의 병원체(바이러스 2종 및 세균 8종)], 닭 사체에 LPAIV, 클로스티리디움 장염균, 대장균, 살모넬라[4종의 병원체(바이러스 1종 및 세균 3종)]을 접종한 후 반응기 넣고 KOH 액상용액을 사체 무게의 15%되게 주입한 뒤 90°C에서 5시간 동안 처리한 후 각각의 병원체에 대한 유전자 검사 또는 배양검사를 수행한 결과 모든 병원체가 검출되지 않았으며 이를 통해 화학적 처리가 병원체 사멸의 효과적인 방법이며 이를 통한 전파 위험은 없다는 사실을 확인함.
- 변형 프리온단백질(PrP^{Sc})의 사멸 효과 검증에 있어 CWD 감염 마우스 처리 조건인 20% NaOH 또는 KOH 처리 후 98°C에서 20시간 반응과 처리된 사체 반응물에서의 프리온 불활화 평가(sPMCA-WB 검사)를 통해 화학적 처리 절차가 변형프리온단백질 불활화에 효과적임을 확인하였으며 국내 문제가 되고 있는 사슴만성소모성질병(CWD)의 사체 처리 과정에 화학적 처리방법이 적용될 수 있을 뿐 아니라 기존의 매몰지를 복원하는 과정에도 적용될 수 있음을 확인함.
- 비록 화학적 살처분 처리 산물의 이용이 제한되어 있어 이를 해결해야하는 과제가 남아있지만 본 연구 결과를 바탕으로 현재 국내 매몰 중심의 살처분 가축 사체 처리 방법의 다양성이 확보될 수 있으며 환경오염 방지와 공중보건학적 측면에서 기여할 것으로 기대함.

V. 참고문헌

농림축산검역본부. 동물질병표준진단요령. 2017.

서영진, 서동철, 최익원, 강세원, 이상규, 성환후, 김태승, 김현구, 박선화, 강석진, 조주식. 2012. 폐가축사체 가수분해를 위한 최적 가수분해제 선정. Korean J. Soil Sci. Fert. 45(2): 241-247.

Cho HS. Detection of foot-and-mouth disease virus and coxsakievirus in the soil and leachate of modeled carcass burial site. Korean J Vet Serv 35(4): 255-261, 2012.

Cho HS, Kim GH. Needs of biosecurity and protocols for the environmental management of carcasses burial. J Korean Soc Water Environ 28(2): 305-312, 2012.

Franke-Whittle IH, Insam H. Treatment alternatives of slaughterhouse wastes, and their effect on the inactivation of different pathogens: a review. Crit Rev Microbiol. 39(2):139-151, 2013.

Gwyther CL, Williams AP, Golyshin PN, Edwards-Jones G, Jones DL. 2011. The environmental and biosecurity characteristics of livestock carcass disposal methods: A review. Waste Management 31:767-778.

Homer LC, Fisher DJ, Heflin DT, Kelly Stefano C. 2012. Decontamination and digestion of infectious animal waste using a tissue dissolver in an animal biosafety level 3 facility. Lab Animal 41: 327-335.

Kaye G, Weber P, Evans A, Venezia R. Efficacy of Alkaline Hydrolysis as an Alternative Method for Treatment and Disposal of Infectious Animal Waste. Contemp Top Lab Anim Sci. 37(3):43-46, 1998.

Kim BN, Cho HS, Cha Y, Park JK, Kim G, Kim YH, Min J. Effect of

Corynebacterium glutamicum on Livestock Material Burial Treatment. *J Microbiol Biotechnol* 26(8):1404-1408, 2016.

Kim Y, Choi Y, Jeon BY, Jin H, Cho SN, Lee H. A simple and efficient multiplex PCR assay for the identification of *Mycobacterium* genus and *Mycobacterium tuberculosis* complex to the species level. *Yonsei Med J* 2013;54:1220-1226.

Lemire KA, Rodriguez YY, McIntosh MT. 2016. Alkaline hydrolysis to remove potentially infectious viral RNA contaminants from DNA. *Virol J* 13: 88.

Leunda A, Van Vaerenbergh B, Baldo A, Roels S, Herman P. 2013. Laboratory activities involving transmissible spongiform encephalopathy causing agents: risk assessment and biosafety recommendations in Belgium. *Prion*. 7(5):420-433.

Murphy RGL, Scanga JA, Powers BE, Pilon JL, Vercauteren KC, Nash PB, Smith GC, Belk KE. 2009. Alkaline hydrolysis of mouse-adapted scrapie for inactivation and disposal of prion-positive material. *J Anim Sci*, 87(5):1787-1793.

Neyens E, Baeyens J, Creemers C. 2003. Alkaline thermal sludge hydrolysis. *Journal of hazardous materials* 97: 295-314.

Sasaki Y, Kojima A, Aoki H, Ogikubo Y, Takikawa N, Tamura Y. 2002. Phylogenetic analysis and PCR detection of *Clostridium chauvoei*, *Clostridium haemolyticum*, *Clostridium novyi* types A and B, and *Clostridium septicum* based on the flagellin gene. *Vet. Microbiol.* 86(3):257-267.

Shin JB, Park NY, Kim YH, Cho HS. 2007. Dual priming oligonucleotide system for the multiplex detection of tuberculosis in Hanwoo. *Kor J Vet Serv* 30:

527-532.

Stabel JR, Bannantine JP. 2005, Development of a nested PCR method targeting a unique multicopy element, ISMap02, for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in fecal samples. 43(9):4744-4750.

Var PH, Andersen PR, Green E, Hermon-Taylor J, McFadden JJ. 1990. Use of highly specific DNA probes and the polymerase chain reaction to detect *Mycobacterium paratuberculosis* in Johne's disease. *J Clin Microbiol.* 28(5):933-937.

Taylor DM, Woodgate SL, Atkinson MJ. 1995. Inactivation of the bovine spongiform encephalopathy agent by rendering procedures. *Vet Rec* 137: 605-610.

Wang T, Wu JH, Yi Y, Qi JC. 2016. Optimization of process conditions for infected animal tissues by alkaline hydrolysis technology. *Procedia Environmental Sciences* 31: 366-374.

Zhang YJ, Wu XZ. Liquid and solid waste treatment of biological safety laboratory for high class macro-animals. 2008. *Water & Wastewater Engineering* 34:79-83.

[별첨 1] FMDV real-time PCR 검사 방법

1. 검사용 시료의 준비

가. 사체의 화학적 처리후 얻은 산물을 이용함

나. 시료의 보관시에는 냉동 보관함

2. 바이러스 핵산의 추출 및 real-time RT-PCR

가. 시료에서의 바이러스 핵산 추출은 QIAamp Viral RNA Mini Kit(Qiagen, USA)를 이용함

나. 시료 50~300 μ l로 부터 Viral RNA mini kit의 사용자 매뉴얼에 따라 RNA를 추출함

다. 추출한 유전자 5 μ l를 PCR 검사에 사용함(사용후 남은 검체 혹은 추출한 RNA 시료는 -20 $^{\circ}$ C 이하 냉동 보관).

라. 양성 대조군은 FMDV O1 Campos strain에서 RNA를 추출한 후 사용함

마. real-time RT-PCR 프로그램은 별표 1과 같음.

별표 1. FMDV 검출을 위한 real-time RT-PCR 조건

Step	qRT-PCR Cycle (20 μ l reaction)		
	Temp	Time	Cycle
cDNA synthesis	50 $^{\circ}$ C	30min	1 cycle
Initial inactivation	95 $^{\circ}$ C	15min	1 cycle
Denaturation	95 $^{\circ}$ C	10sec	40 cycles
Annealing	60 $^{\circ}$ C	60 sec	
Extension			
cooling	4 $^{\circ}$ C	10 sec	1cycle

3. 결과 판정

- 1) 결과 판정은 사용 PCR machine의 판독 기준에 따라 결정되며 해당장비의 manual를 참고함.
- 2) 음성 control이 음성으로 판독되었을 때에만 정상적인 결과 판정을 진행함.
- 3) 결과 판정 예시는 아래와 같음(별표 2).

별표 2. 결과 판정 예시

	Case1	Case2	Case3	Case4
FAM (FMDV O-type)	POS	POS	POS	NEG
HEX (O_IND2001)	POS	NEG	NEG	NEG
Cy5 (O_Mya98)	NEG	POS	NEG	NEG
결과판독	FMDV O/IND2001	FMDV O/Mya98	FMDV O	음성

[별첨 2] ASFV real-time PCR 검사 방법

1. 검사용 시료의 준비

- 가. 사체의 화학적 처리 후 얻은 산물을 이용함
- 나. 시료의 보관시에는 냉동 보관함

2. 바이러스 핵산의 추출 및 real-time PCR

- 가. 시료에서의 바이러스 핵산 추출은 QIAamp DNA Mini Kit(Qiagen, USA)를 이용함
- 나. 시료 50~300 μ l로부터 DNA mini kit의 사용자 매뉴얼에 따라 DNA를 추출함
다. 추출한 유전자 5 μ l를 PCR 검사에 사용함(사용후 남은 검체 혹은 추출한 RNA 시료는 -20 $^{\circ}$ C 이하 냉동 보관).
- 라. 양성 대조군은 ASFV (Georgia2007/1) DNA를 사용함
- 마. MEDIAN Diagnostics사 VDX $^{\circledR}$ ASFV qPCR 키트를 이용하여 다음과 같은 방법으로 실시간 PCR을 실시함(별표 3).

별표 3. ASFV 실시간 PCR 프로그램 조건

Step	qPCR Cycle (20 μ l reaction)		
	Temp	Time	Cycle
UDG reaction	50 $^{\circ}$ C	2min	1 cycle
Initial inactivation	95 $^{\circ}$ C	10min	1 cycle
Denaturation	95 $^{\circ}$ C	15 sec	40 cycles
Elongation	58 $^{\circ}$ C	60 sec	
cooling	4 $^{\circ}$ C	10 sec	1cycle

3. 결과분석(별표 4)

- 가. Real-time PCR의 결과는 ASFV의 검출 신호인 FAM과 내부 양성 대조군의 검출 신호인 HEX(or VIC)의 검출에 의해 판정됨
- 나. FAM 검출(ASFV 검출) : Ct값 40미만에서 검출되는 경우를 양성으로 판정함
다. HEX(or VIC) 검출(내부 양성 대조군 검출) : Ct값 40미만에서 검출되는 경우를 양성으로 판정함
- 라. 20 < Ct < 30인 경우 유효한 것으로 판단함

별표 4. ASF 항원 검사를 위한 realtime PCR 결과의 판정

	FAM 결과	HEX 결과	최종 결과
1	검출	검출	양성
2	검출	불검출	양성
3	불검출	검출	음성
4	불검출	불검출	*재검사

* DNA를 희석하여 재검사 필요.

Alkaline Hydrolysis (알카리 가수분해)

섹션 1 - 주요 내용

알카리 가수분해는 상대적으로 새로운 사체 처리 기술의 표본입니다. 이것은 생물학적 조직 처리(예를 들면 의학 연구 기관에서)를 비롯한 사체 처리(예를 들면 감염 동물의 크고 작은 의도적 도태)에 사용됩니다. 한 회사—Waste Reduction by Waste Reduction, Inc. (WR²)—는 현재 미국에서 가동 중인 알카리 가수분해 정화소가 30 내지 40 곳이며, 이중 일부는 만성적인 소모성 질병(CWD)에 감염된 사슴의 처리에 사용된다고 보고하였습니다(Grady, 2004).

1.1 - 과정 개요

알카리 가수분해는 생물학적 물질(단백질, 핵산, 탄수화물, 지질 등)을 작은 펩티드와 아미노산, 당, 그리고 계면활성제로 이루어진 멸균수용액으로 바꾸는 가수분해를 촉진하기 위해 수산화나트륨 혹은 수산화칼륨을 이용합니다. 섭씨 150 도, 혹은 화씨 최대 300 도의 열 또한 이 과정을 크게 가속화하기 위해 이용됩니다. 알카리 가수분해의 유일한 고형 부산물은 척추동물의 뼈와 치아의 무기질 구성 물질입니다(WR², 2003). 이 처리되지 않은 잔여물은 일반적으로 사체의 원래 무게와 부피의 대략 2 퍼센트를 이루며, 무균 상태이며 쉽게 가루가 되어 토양 첨가물로 사용될 수 있습니다(WR², 2003).

단백질은 모든 동물 세포와 조직의 주요 고형 구성물로, 자유 아미노산의 염으로 분해됩니다. 몇몇 아미노산(예를 들면 아르기닌, 아스파라긴, 글루타민과 세린)은 완전히 분해되는 반면 나머지는 라세미화합니다. 즉, 구조적으로 시계 방향으로 배열된 상태의 분자들이 시계 방향과 반시계 방향이 섞인 상태로 변한다는 것입니다. 이 과정의 온도 상태와 알칼리 농도는 바이러스의 단백질 외피와 프리온의 펩티드 결합을 파괴합니다(Taylor, 2001a). 알카리 가수분해 과정 동안 지질과 핵산 역시 모두 분해됩니다.

탄수화물은 알카리 가수분해의 영향을 가장 느리게 받는 대표적인 세포와 조직의 구성 물질입니다. 동물의 글리코겐과 식물의 전분 모두 그 즉시 가용화되지만, 이러한 중합체들의 실질적인 분해는 다른 중합체들이 요구하는 것보다 더 긴 처리 과정을 필요로 합니다. 일단 분해가 되면, 글루코스, 갈락토스, 만노스와 같은 단당류의 구성 물질은 뜨거운 알카리 수용액에 의해 곧바로 파괴됩니다(WR², 2003). 셀룰로오스와 같은 큰

탄수화물 분자들은 알카리 가수분해 정화에 저항성이 있습니다. 종이, 실, 소화되지 않은 식물의 섬유질, 대팻밥 같은 물질들은 이 과정 중에 멸균이 되기는 하지만 알카리 가수분해에 의해 처리되지 않습니다.

알카리 가수분해는 조직 소화조로 이동되는데, 조직 소화조는 자동 혹은 수동으로 고정되는 덮개가 있는 증기 재킷을 이용한 단열 스테인리스 스틸의 압력관으로 이루어져 있습니다. 이 관에는 뼈 잔여물과 다른 물질들, 예를 들면 소화되지 않는 셀룰로오스 기반의 물질, 고무, 금속 등을 보관하는 바구니가 있습니다. 이 관은 알카리 가수분해 과정에 필요한 온도인 섭씨 150 도의 온도를 얻기 위해 최대 70 psig 에서 작동합니다. WR² 에 따르면, 한 명이 알카리 가수분해 장치 하나를 채우고 작동할 수 있습니다. 게다가 신품고 작동시키는 동안 인력 자원 또한 폐수의 온도와 pH 를 시험하고 감시하는 데에 반드시 필요합니다. 일단 사체가 채워지고 버튼을 눌러서 시스템이 활성화되면, 그후에는 컴퓨터로 조절됩니다. 관 안의 조직 무게는 내장된 부하 전지를 통해 결정되며 물과 알칼리가 비례된 양이 자동으로 추가됩니다. 이후 관은 자동 밸브 방식으로 압력을 통해 밀폐됩니다. 내용물은 열이 가해지며 유체 순환 시스템에 의해 지속적으로 순환됩니다(WR², 2003).

이 과정은 대기 중으로 어떠한 오염 물질도 배출하지 않으며 단지 조금의 냄새 물질만 생성합니다. 최종 산물은 비누 같은 냄새가 나는 멸균된 커피색의 알카리 액체입니다. 이 비누 같은 냄새는 pH 와 온도에 관한 지방 또는 연방 가이드라인에 따라 하수 처리구로 방류할 수 있습니다(Kaye, 2003). 이는 온도, pH, 생화학적 산소 요구량(BOD)에 대한 세심한 감시를 요구합니다. 폐수 방류 시에는 폐수가 굳지 않는 온도인 섭씨 190 도, 혹은 그 이상의 온도인지를 확인해야 합니다(Powers, 2003). 희석되지 않은 가수분해 생성물의 pH 는 대개 10.3 에서 11.5 사이입니다. pH 9 혹은 10 의 상한치를 갖는 하수처리장의 경우, 처리 과정의 마지막에 가수분해물에 이산화탄소를 넣으면 pH 8 혹은 그 이하로 pH 범위가 낮아집니다(Kaye, 2003). 과정당 생성되는 폐수의 양의 예로써, WR²(2003)은 4000 파운드 용량의 처리기 하나가 희석되지 않은 가수분해 산물 대략 1250 갤런, 즉 2500 리터를 생산하며, 또한 가수분해 산물, 냉각수, 세척수, 청소용수를 포함하는 2500 갤런, 즉 9466 리터의 총 폐수를 생산한다고 추산하였습니다.

희석되지 않은 가수분해 산물의 BOD 는 대략 1 리터당 7만 밀리그램입니다. 그러나, WR² 은 많은 경우 처리기가 하루에 190 만 리터(50 만 갤론)을 초과하여 폐수를 배출하는 시설에 위치하며, 따라서 이 추가 BOD 가 매일 하수처리장에 보내지는 물질의 일부라고 시사한 바 있습니다(Kaye, 2003). 또한 WR² 는 BOD 가 높다고 할지라도, 가수분해 산물의 탄소를 포함한 분자는 단일 아미노산, 작은 펩티드, 지방산으로 분해된다는 것을 제시하였습니다. 이 모든 것들은 하수처리장 내 미생물들의 양분입니다(Kaye, 2003).

이러한 면에도 불구하고, 알카리 가수분해 처리기에서 발생하는 폐수의 배출은 큰 이슈이며 이 기술의 사용을 고려할 때 반드시 잘 처리되어야 합니다. 실제로, 처리기를 조정하는 일부 사람들이 배출 전 폐수의 고형화를 포함하는, 폐수 처리의 대안 방안을 고려하는 중입니다.

사체 물질의 알카리 가수분해 처리 과정에 필요한 시간은 총 세 시간에서 여덟 시간이며, 관련된 질병 요인에 따라 크게 달라집니다. 세균이나 바이러스를 통한 보통의 오염 물질의 경우 네 시간이면 충분합니다. 반면에 전염성 해면상뇌증(Transmissible spongiform encephalopathy, TSE) 요인에 감염되었거나 감염되었을 가능성이 있는 사체 물질의 경우에는 여섯 시간이 권장됩니다 (European Commission Scientific Steering Committee, 2002; European Commission Scientific Steering Committee, 2003). WR²은 처리관, 가열기, 오염성 탱크로 구성된 이동식 트레일러 장치가 매 여덟 시간마다 4000 파운드, 또는 24 시간 내에 대략 12000 파운드 (5443 킬로그램)의 사체 처리 용량을 가지고 있음을 주목합니다. 그러나 처리기를 하역하는 것에 처리 주기 사이마다 약 한 시간 정도의 시간이 소요된다는 것에 주목하는 곳들도 있습니다. 나아가 온도와 pH 모니터링에도 시간이 걸립니다(Powers, 2003).

WR²는 알카리 가수분해를 통한 동물 사체 처리 비용이 파운드당 약 0.02 달러에서 0.03 달러일 것으로 추정합니다. 이는 톤당 40 달러에서 60 달러이며, 자본에 드는 비용과 인건비는 제외한 값입니다(Wilson, 2003). 다른 이들은 인건비와 하수 처리 비용을 포함하면 파운드당 0.16 달러, 톤당 320 달러의 비용이 소요될 것으로 추정하였습니다(Powers, 2003). WR²의 이동식 트레일러 처리기는 매 여덟 시간마다 4000 파운드의 사체를 처리하는 것이 가능하며 자본 비용은 대략 120 만 달러입니다(Wilson, 2003).

1.2 - 질병 요인 고려사항

알카리 가수분해 과정은 대안적 처리 기술에 대한 주 및 지역 협정(State and Territorial Association on Alternative Treatment Technologies, STAATT I과 STAATT II)에 의해 지표생물로써 지정된 모든 감염원을 파괴합니다. STAATT는 증식성 물질의 6-로그(99.9999%) 감소와 포자 생성 물질의 4-로그(99.99%)의 감소를 요구합니다. 특히, 알카리 가수분해 과정은, 그와 관련하여 구체적 신청이 이루어진 모든 주에서 감염성 폐기물의 처리법으로 승인되었습니다(Taylor, 2000; Taylor, 2001b).

알카리 가수분해의 효능은 알바니 의학대학에서 처리기를 이용한 동물 사체 처리 과정 동안 선별된 감염성 미생물의 순수배양과 비교 평가되었습니다. 실험에 사용된 미생물은

Staphylococcus aureus, *Mycobacterium fortuitum*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus fumigatus*, *Mycobacterium bovis* BCG, MS-2 bacteriophage, *Giardia muris* 등입니다. 사용된 동물 사체는 돼지, 양, 토끼, 개, 쥐, 랫드, 기니피그입니다. 조직 처리기는 섭씨 110 에서 120 도, 화씨 230 에서 248 도에서 작동되었으며 시스템이 섭씨 50 도(화씨 122 도)까지의 냉각을 허용하기 전까지 대략 18 시간 동안 15 psig 를 유지하였습니다. 섭씨 50 도가 되는 시점에 표본을 회수하고 미생물 배양을 실행하였습니다. 해당 과정은 잠재적 감염 요인의 모든 대표적인 종류를 완전히 파괴하였으며, 동물의 사체를 용해하고 분해하는 방식으로 처리하였습니다(Kaye et al., 1998).

에딘버러 대학교의 동물 보건 기관에서 수행된 실험은 쥐들의 뇌에서 자란 소 해면상뇌증(BSE) 프리온을 파괴하는 알카리 가수분해의 능력을 검증하였습니다. 쥐 두 마리의 머리는 세 시간 동안 분해하였고, 한 마리의 머리는 여섯 시간 동안 분해하였습니다. 각각의 가수분해 산물 표본은 중화하고 희석하여 소 해면상뇌증의 영향에 취약한 것으로 알려진, 아무것도 접종하지 않은 쥐들의 대뇌 안으로 주입되었습니다. 쥐들은 2년 후 TSE 의 징후를 찾아내기 위해 부검하였습니다. TSE 감염의 증거가 세 시간 동안 분해되어 얻어진 가수분해 산물을 주입받은 일부 쥐들의 뇌에서 발견되었습니다. 중요한 것은 여섯 시간 동안 분해되어 얻어진 가수분해 산물을 주입받은 쥐들의 뇌에서는 TSE 의 어떠한 징후도 찾을 수 없었다는 것입니다. 세 시간짜리 표본의 감염 지속성은 해당 물질이 냉동 상태로 처리기에 주입되었으며, 폴리에틸렌 용기 안에 담겨 있었다는 사실 때문일 것입니다. 다시 말해, 프리온 표본의 알카리 가수분해 과정에 대한 실제 노출은 세 시간보다 훨씬 적었을지도 모른다는 뜻입니다(Taylor, 2001a). 이러한 실험에 기초하여, 유럽 연합 과학 운영 위원회(European Commission Scientific Steering Committee)는 TSE 에 감염된 소재는 여섯 시간 동안 분해되어야 한다는 권장사항과 함께 TSE 감염 소재의 알카리 가수분해 방법을 승인하였습니다(European Commission Scientific Steering Committee, 2002; European Commission Scientific Steering Committee, 2003). 안전을 위한 조치로써, CWD 에 감염된 사체들을 처리하는 미국의 한 시설에서는 모든 프리온 오염물질이 확실히 파괴되도록 여덟 시간 동안 알카리 가수분해를 진행합니다(Powers, 2003).

1.3 - 장단점

동물 사체의 알카리 가수분해 처리법은 다음과 같은 장점이 있습니다.

- 작동 한 번으로 멸균과 분해가 가능

- 97 퍼센트의 폐기물 부피 및 무게 감소
- 프리온을 포함한 감염원의 완전한 파괴
- 아주 적은 양의 냄새와 공해 발생
- 방사성 오염 조직의 제거

동물 사체의 알카리 가수분해 처리법은 다음과 같은 단점이 있습니다.

- 현재 미국에서는 대량의 사체를 처리할 수 있는 능력이 제한적인 상태
- 폐수 처리에 관한 잠재적 쟁점

섹션 2 – 역대 이용 기록

알카리 가수분해 기술은 많은 기관, 연구소, 동물 진단 질병 시설에서 사체나 다른 형태의 생물학적 폐기물의 배출에 이용되어 왔으며 현재도 이용되고 있습니다. 아래의 표 1은 1993년부터 알카리 가수분해를 이용한 장소의 목록입니다. 알카리 가수분해 기술은 대규모의, 가히 파멸적인 사체 처리 성과를 위해 도입되지 않았습니. 그럼에도 불구하고, 알카리 가수분해는 만성 소모성 질병(CWD)과 그 외 전염성해면상뇌증(TSEs)에 감염된 동물들의 크고 작은 ‘관리된’ 도태와 관련된 사체 처리에 반드시 이용되어 왔습니다. 한 기업—Waste Reduction by Waste Reduction, Inc. (WR²)—은 현재 미국 내에서 30 내지 40 곳의 알카리 가수분해 처리기가 작동 중에 있다고 보고하였습니다. 이 처리기의 대부분이 만성 소모성 질병에 감염된 사슴류의 사체를 처리하는 데에 이용되었습니다(Grady, 2004).

표 1. 동물 조직 폐기 처리에 알카리 가수분해를 이용하는 의생명 연구 기관, 제약 회사, 의료보건 시설, 수의학 시설, 영안실, 정부 기업, 농업 시설의 목록(Kaye, 2003).

기업명	설치 일자	사용처	처리 가용량	사용 빈도
Albany Center	Medical 1993년 10월	설치류, 토끼류, 양, 돼지, 염소	500 파운드	하루 1회
Allergan, Inc.	2001년 1월	설치류, 토끼류	280 파운드	하루 1회
Biocon, Inc.	2002년 10월	설치류	최대 11 파운드	한 주 2회
Colorado State University	2002년 2월	임상해부학 소재 및 TSE에 감염된 사슴, 엘크, 양	2,000 파운드	하루 2회
Genentech, Inc.	2003년 10월	설치류, 토끼류	280 파운드	한 주 2회
Smithkline Beecham, Glaxo	1997년 2월	설치류, 토끼류	600 파운드	한 주 2회
Health Winnipeg	Canada, 2000년 7월	TSE 연구에 쓰인 설치류	30 파운드	
Illinois Department of Agriculture	2003년 2월	가축, 로드킬 사체, 사슴	2,000~3,000 파운드	하루 1회
Florida Division of Animal Industry	2003년 3월	부검 조직 폐기물	최대 11 파운드	하루 1회
Lexicon Genetics	2002년 6월	설치류	80 파운드	하루 1회

Inc.					
Methodist Hospital	2001년 3월	돼지, 양, 사람 해부 폐기물	280 파운드		
Research Foundation for Mental Hygiene	2003년 12월	TSE 연구에 쓰인 설치류	30 파운드		한 주 3회
Sierra Biomedical, Inc	2002년 5월	원숭이, 깔집과 사료 폐기물, 폐기 동물	500 파운드		하루 1회
Immunex	2003년 6월	설치류, 토끼류	80 파운드		
South Dakota State University	2003년 8월	부검 조직 폐기물	최대 11 파운드		하루 1회
Humane Society of St. Joseph County, Inc.	2002년 9월	고양이, 개, 안락사한 동물	2,000~3,000 파운드		한 주 1회
State University of New York, Binghamton	2002년 1월	설치류, 토끼류, 해부학 실습 폐기물	80 파운드		한 주 4회
Smithkline Beecham Pharmaceuticals, Rennes	1998년 7월	설치류 (Glaxo의 SB labs 처분 당시 공장과 함께 매각)	80 파운드		
Texas A&M Research Foundation	2002년 8월	가축, 말	2,000~3,000 파운드		하루 1회
Tranxenogen, Inc.	2002년 7월	병아리	최대 11 파운드		하루 1회
Tulane University Medical Center	2003년 5월	원숭이	200 파운드		하루 1회
University of Florida	1998년 4월	말, 소, 양, 돼지, 임상해부학 소재	3,000 파운드		하루 1회
USDA-APHIS, Ames	2003년 4월	벨기에의 TSE 감염 양, 새 건물에 재설치될 예정	7,000 파운드		
USDA-ARS, Laramie	2000년 1월	업그레이드되어 새 건물에 배치	1,500 파운드		
State of Wisconsin and USDA-APHIS	2003년 11월	승인 시험에 사용된 폐기물, 가축, CWD에 감염된 사슴	4,000 파운드		
WR2	(재고품)	유럽용 시범 처리기, 가축, 양, 기타	280 파운드		
Seiki International-Obahiro University, University of Tokyo	2003년 2월	TSE 연구에 쓰인 설치류	30 파운드		
Institute for Animal Health, Edinburgh	2000년 3월	301V BSE가 투여된 양 머리	30 파운드		
Florida State Anatomical Board	1996년 4월	의학 교육 시설의 카데바	1,000 파운드		하루 1회

섹션 3 - 작동 원리

3.1 - 일반적인 과정 개요

가수분해 과정

가수분해는 물 분자가 첨가되어 화학적 결합이 파괴되는 과정입니다. 가수분해는 효소, 금속염, 산, 염기에 의해 촉매될 수 있습니다. 알카리 가수분해는 염기에 의한 것입니다. 그러한 염기는 일반적으로 수산화나트륨이나 수산화칼륨 같은 알카리 금속 수산화물의 수용액을 말합니다. 열은 가수분해 과정을 현저하게 가속화합니다. 알카리 가수분해는, 높아진 온도(섭씨 150 도 혹은 화씨 최대 300 도)를 이용하여 생물적 소재(단백질, 핵산,

탄수화물, 지질 등)가 작은 펩티드, 아미노산, 당, 계면활성제로 구성된 멸균 수용액으로 변환되는 것을 촉진합니다. 알카리 가수분해의 유일한 고품 부산물은 척추동물의 뼈와 치아에서 비롯한 무기질 요소입니다(WR², 2003).

단백질 분해

알카리 가수분해는 최종적으로 단백질의 분해를 유도합니다. 단백질은 모든 동물의 세포와 조직에서 주를 이루고 있습니다. 가수분해 반응으로 올리고펩타이드(아미노산의 작은 잔기)가 반응중간체로 변하는 반면, 자유 아미노산에서는 나트륨 혹은 칼륨염이 만들어집니다. 일부 아미노산(예를 들면 아르기닌, 아스파라긴, 글루타민, 세린)은 다른 아미노산들이 라세미화되는 것과 달리 완전히 파괴됩니다. 이때 라세미화란, 분자들이 시계 방향의 배열에서 시계 방향과 반시계 방향의 분자들이 섞인 상태로 변화하는 것을 가리킵니다. 반면에, 탄수화물의 결사슬은 당단백질로부터 방출됩니다. 바이러스의 단백질 외피와, 프리온의 펩타이드 결합은 알카리 가수분해 과정에 동반되는 온도 환경과 알칼리 농도 덕분에 파괴됩니다(Taylor, 2001a).

지질 분해와 “비누”의 형성

세 개의 지방산으로 이루어진 단순한 지방은 에스터 결합을 통하여 글리세롤 분자와 결합합니다. 알카리 가수분해를 거치면서, 이러한 에스터 결합은 가수분해되고, “비누”가 만들어집니다. 이것은 지방산의 소듐 및 칼륨염을 의미합니다. 반면에, 고도불포화성 지방산과 카로테노이드(색소)는 분자의 재배열을 거치며 알카리 가수분해에 의해 분해됩니다. (WR², 2003).

탄수화물 분해

탄수화물은 세포와 조직을 이루며 알카리 가수분해에 가장 느리게 영향을 받습니다. 동물의 글루코스(포도당)에서 가장 흔한 고분자 물질인 글리코겐과 식물의 글루코스에서 가장 흔한 고분자 물질인 전분은 즉시 용해됩니다. 그러나 이러한 고분자 물질의 실질적인 분해는 다른 물질들에 비해 훨씬 더 긴 처리가 필요합니다. 한 번 분해되면, 글루코스, 갈락토스, 만노스와 같은 단당류의 구성물질은 뜨거운 알카리 수용액에 의해 빠르게 파괴됩니다(WR², 2003).

특히, 셀룰로스나 같은 탄수화물 거대분자는 알카리 가수분해 처리에 저항성이 있습니다. 종이, 실, 처리되지 않은 식물 섬유와 대팻밥은 셀룰로스 기반의 소재들로 동물 사체와 함께 다뤄질 가능성이 있지만 알카리 가수분해로 처리되지 않습니다. 그러나 이러한

처리되지 않는 소재들도 알카리 가수분해 과정을 통해 완전히 멸균됩니다. 이 소재들은 처리기의 바구니에서 제거될 수 있으며 위생매립에서 일반 폐기물로 처리됩니다.

핵산 분해

DNA와 같은 핵산은 거대하고, 끝가지가 없는 선형폴리머로써, 포스포디에스터 결합으로 연결되어 있습니다. 지질의 에스터 결합처럼, 핵산의 포스포디에스터 결합도 알카리 가수분해에 의해 가수분해됩니다.

처리되지 않은 무기질 잔류물

동물 조직과 사체의 알카리 가수분해는 처리되지 않은 잔여물을 만듭니다. 뼈와 치아의 고형 무기 구성물질이 그것입니다. 이 물질은 대개 사체의 원중량과 부피의 대략 2 퍼센트를 구성합니다. 이것은 멸균되며, 쉽게 가루로 부서져 토양첨가물로 사용이 가능합니다(WR², 2003).

3.2 - 가동, 자원, 인력의 소요

알카리 가수분해는 스팀 재킷을 이용한 단열 스테인리스 소재의 자동 혹은 수동식 고정 덮개가 있는 압력관으로 이루어진 처리기(소화조)에서 이루어집니다. 그림 1이 이러한 처리기의 예시입니다.



그림 1. 2000 파운드 용량의 알카리 가수분해 조직 처리기의 예시 (Powers, 2003)

WR²에 따르면, 한 명이 하나의 알카리 가수분해 처리기에 적재하고 이를 작동시키는 것이 가능하다고 합니다. 일단 처리관에 사체가 적재되면, 버튼을 누르는 것으로 작동

시스템이 활성화됩니다. 그 후의 과정은 컴퓨터로 통제됩니다. 작동되는 동안, 알칼리와 물의 혼합물이 관 안의 조직 양에 비례하여 자동으로 투입됩니다. 농도는 내장 부하전지에 의해 측정된 조직 무게를 통해 계산됩니다. 조직 무게에 비례한 양만큼 물이 추가되면 관은 자동 밸브 방식으로 압력을 통해 밀폐됩니다. 내용물은 가열되고 지속적으로 순환됩니다. 관 내부에 이러한 순환을 돕는 부품이 있는 것이 아니라, 유체 순환 시스템이 강한 교반을 일으킵니다(WR², 2003). 알칼리 용액과 물의 필요량에 더불어 증기를 만들기 위한 에너지와 폐수 배출을 위한 수용력도 반드시 필요합니다(Wilson, 2003).

알카리 가수분해 기술에 관심이 있는 부검 기술자는 처리기를 작동하기 위해 충분히 훈련을 받게 됩니다. 반면 대체 인력을 훈련시켜 처리기를 작동하게 하는 일에는 상당한 시간이 걸릴 것입니다. 적재와 작동 외에도, 폐수가 위생 하수 처리 시스템에 배출되기 전에 온도나 pH 등을 검사하고 감시해야 하는 인적 자원이 반드시 필요합니다. (관련 사항은 섹션 3.5, 3.6, 5 를 참고하세요.) (Powers, 2003)

3.3 - 장소 선정 고려사항

현재 구동 가능한 가장 큰 알카리 가수분해 처리기는 생물학적 소재 10,000 파운드를 처리할 수 있습니다. 이 처리기는 지름 8 피트에 높이는 8 피트를 조금 넘습니다. 이것을 들여놓기 위한 실내 공간의 최소 높이는 24 피트이며, 실제로 차지하는 공간은 102168 인치입니다. 4,000 파운드 용량의 다른 처리기들은 이동식 간이 트레일러에 실릴 수 있습니다(Wilson, 2003).

섹션 3.5 에서 더 자세히 설명되겠지만, 알카리 가수분해 처리기는 비누 같은 냄새를 풍길 수 있습니다. 그러나 이 냄새는 주로 하역할 때에만 염려되는 (Powers, 2003). 결과적으로, 이러한 냄새는 처리기가 놓여야 할 곳이나 놓이지 않는 곳에 지대한 영향을 미치지 않습니다.

3.4 - 시간 선정 고려사항

사체의 알카리 가수분해 처리에 필요한 총 시간은 세 시간에서 여섯 시간입니다. (관련 사항은 섹션 4 를 참조하세요.) 정확한 처리 시간은 사체와 관련된 감염원에 크게 좌우됩니다. 세균이나 바이러스와 같은 일반적인 감염원에 오염된 경우 세 시간이면 충분합니다. 그러나 TSE 에 감염되었거나 감염될 가능성이 있는 물질에 대해서는 여섯 시간이 권장됩니다.

WR²는 처리관, 가열기, 오염 물질 탱크로 이루어진 이동식 트레일러 처리기가 매 여덟 시간마다 4,000 파운드의 사체를, 혹은 12,000 파운드 (5,443 kg) 의 사체를 하루 24 시간 동안 처리할 수 있다고 밝혔습니다. 그러나 다른 기업들은 처리기에 적재나 하역을 할 때에 걸리는 시간, 즉 매 처리 주기 사이에 한 시간씩 걸리는 시간을 지적했습니다. 게다가 폐수의 온도와 pH 모니터링 역시 시간을 소요합니다(Powers, 2003).

3.5 - 폐수의 배출

알카리 가수분해는 멸균된 커피색의 비누 같은 냄새가 나는 알카리 용액을 만듭니다. 이 용액은 pH와 온도에 관련된 지방과 연방의 가이드라인에 따라 위생 하수 처리 시설로 배출될 수 있습니다(Kaye, 2003). 이 사항은 온도 (배출되는 폐수가 폐수가 고형화하는 온도보다 낮은 섭씨 190 도(화씨 374 도) 혹은 그 이상인지), pH, 생화학적 산소 요구량 (BOD) 에 대한 세심한 모니터링을 필요로 합니다(Powers, 2003).

희석되지 않은 가수분해산물의 pH는 본질적으로는 아미노산의 나트륨 혹은 칼륨염과 처리 이후에 남아 있는 작은 펩티드 용액의 pH입니다. 이는 일반적으로 pH 10.3과 11.5 사이입니다. pH 10 혹은 심지어 pH 9의 높은 위생 하수 처리 기준을 가진 하수 처리 구역의 경우 이산화탄소를 처리 과정 마지막 단계에서 가수분해 산물에 주입하면 pH가 pH 8 혹은 그 이하의 범위로 낮아집니다. pH를 조정하기 위한 이산화탄소 이용의 장점은 이것이 과도하게 작용하여 가수분해 산물을 산성의 범위에 들어가게끔 하지 않는다는 점입니다(Kaye, 2003). 이 과정을 통해 만들어진 폐수의 추정 양은 표 2에 나와 있습니다.

희석되지 않은 가수분해 산물의 평균 BOD는 대략 1 리터당 70,000 밀리그램입니다. BOD가 높은 반면에도 WR²는 가장 큰 처리기의 총 가수분해 산물 용량이 9,100 리터 (2,400 갤론)임을 지적합니다. 또한 WR²에 따르면, 많은 경우에서 WR2는 가수분해 산물의 BOD가 높더라도 탄소를 갖는 분자들이 거대 단백질과 지방 분자로부터 단일 아미노산, 작은 펩티드, 지방산으로 분해되었음을 시사하였습니다. 이러한 것들은 모두 하수 처리 시설의 미생물들에게 영양분이 됩니다. 전해지는 바에 따르면, 실제로 일부 하수 처리 구역은 세균 활성을 유지하기 위하여 밤에 가수분해 산물을 받는 것을 선호한다고 합니다. 이렇게 하면 다음날 아침에 폐기물 덩어리가 도착했을 때 세균이 일을 하도록 준비시킬 수 있습니다(Kaye, 2003).

기술적인 정보와 사실이 이 과정으로 발생한 폐수에서는 아주 적은 냄새만이 발생된다고 하지만(Powers, 2003), 알카리 가수분해 처리기의 폐수 배출은 이 기술을 고려할 때 반드시 잘 다뤄져야 하는 민감한 문제입니다. 실제로 일부 사용자들은 배출 전 고형화를 비롯한 폐수 관리의 대안적 수단을 심사숙고 중에 있습니다.

표 2. 알카리 가수분해 과정 주기당 발생하는 가수분해 산물과 총 폐수의 추산량 (WR², 2003)

수용량 (파운드/킬로그램)	처리 주기당 생산되는 가수분해 산물 (폐수 원액) (갤런/리터) ^가	총 폐수 (가수분해 산물, 냉각수, 세척수, 청소용수) (갤런/리터) ^가
500 / 227	160 / 606	320 / 1,212
1,500 / 680	440 / 1,666	960 / 3,635
2,000 / 907	580 / 2,196	1,160 / 4,392
4,000 / 1,814	1,250 / 4,733	2,500 / 9,466
8,000 / 3,629	2,500 / 9,466	5,000 / 18,931
10,000 / 4,536	3,150 / 11,927	6,300 / 23,853

가최대 수용량을 적재했다고 가정한 상태. 생성된 가수분해 산물은 처리된 조직의 양과 함수 관계에 있습니다. 예를 들면, 절반의 수용량에서 처리하면 냉각수와 청소용수도 절반만 만들어집니다. 총 용수 사용량에서 대략 25 퍼센트를 차지하는 냉각수는 다음 주기를 위해 처리용수로서 부저장소에 보관될 수 있습니다.

3.6 - 비용 고려사항

WR² 는 인건비나 자본금을 제외하고 알카리 가수분해를 통한 동물 사체의 배출에 드는 비용이 파운드 당 0.02 달러에서 0.03 달러, 톤 당 40 달러에서 60 달러일 것으로 추산했습니다(Wilson, 2003). 알카리 가수분해를 다뤄 본 다른 기업에서는 파운드 당 0.16 달러, 톤 당 320 달러라고 추산합니다. 산정된 비용의 내용은 표 3 과 같습니다.

표 3. 2,000 파운드 용량의 알카리 가수분해 조직 처리기 작동에 드는 비용 산정 내역 (Powers, 2003)

항목	비용 (처리된 사체의 파운드 당 달러)
증기, 물, 전기	파운드 당 0.01 달러
화학물질 (NaOH, KOH)	파운드 당 0.02 달러
인건비 (하루 두 번의 주기 동안 네 시간)	파운드 당 0.04 달러
하수 처리 비용	파운드 당 0.07 달러
유지보수 비용	파운드 당 0.02 달러
총합	파운드 당 0.16 달러

WR² 의 처리관, 가열기, 오염 물질 보관소로 이루어진 이동식 트레일러 처리기는 대략 120 만 달러의 비용이 듭니다. 이 처리기는 매 여덟 시간마다 4,000 파운드를, 혹은 하루

24 시간 동안 대략 12,000 파운드(5,443 킬로그램)을 처리할 수 있습니다. (하루 6톤)
(Wilson, 2003)

3.7 - 기타 고려사항

현재 알카리 가수분해 처리와 분쇄·증기 멸균 기술을 결합한 시스템에 대한 연구가 이루어지고 있습니다. 이러한 시스템이 있으면 생물학적 폐기물의 큰 용량을 배출하기 위해 이론적으로 시간당 동물 사체 최대 25,000에서 30,000 파운드를 처리하는 것이 가능해집니다(Kaye, 2003).

섹션 4 - 질병 요인 고려사항

4.1 - 일반적 질병 요인

알카리 가수분해 과정은 대안적 처리 기술에 대한 주 및 지역 협정(State and Territorial Association on Alternative Treatment Technologies, STAATT I과 STAATT II)에 의해 지표생물로서 지정된 모든 병원체를 파괴합니다. STAATT는 증식성 물질의 6-로그(99.9999%) 감소와 포자 생성 물질의 4-로그(99.99%)의 감소를 요구합니다. 특히, 알카리 가수분해 과정은, 그와 관련하여 구체적 신청이 이루어진 모든 주에서 감염성 폐기물의 처리법으로 승인되었습니다(Taylor, 2000; Taylor, 2001b).

알카리 가수분해의 효능은 알바니 의학대학에서 동물 사체가 처리기에 의해 처리되는 동안 선별된 감염성 미생물의 순수 배양 표본의 파괴를 시험하는 것으로 평가되었습니다. 실험에 사용된 미생물은 *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium fortuitum*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus fumigatus*, *Mycobacterium bovis* BCG, MS-2 bacteriophage, *Giardia muris* 등입니다. 사용된 동물 사체는 돼지, 양, 토끼, 개, 쥐, 랫드, 기니피그입니다. 조직 처리기는 섭씨 110에서 120도, 화씨 230에서 248도에서 작동되었으며 시스템이 섭씨 50도(화씨 122도)까지의 냉각을 허용하기 전까지 대략 18시간 동안 15 psig를 유지하였습니다. 섭씨 50도가 되는 시점에 표본을 회수하고 미생물 배양을 실행하였습니다. 얻어진 표본 중에서 어떠한 것도 지표 세균이나 곰팡이가 확인되지 않았습니다. 심지어 *Giardia*의 낭포는 완전히 파괴되었습니다. 오직 낭포 벽 물질로 보이는 작은 조각만이 광학 현미경을 통해서 식별되었습니다. 처리 과정 후 MS-2 박테리오파지에서는 어떠한 플라크 형성 물질도 발견되지 않았습니다. 나아가, 가수분해 산물의 표본들은 배양 배지에서 어떠한 결과도

보이지 않았습니다. 처리관에서 탈수되고 세척된 뒤에 남은 뼈와 치아의 무기질과 함께 동물 사체는 완전히 용해됩니다. 알카리 가수분해는 용해와 분해를 통해서 동물 사체의 배출을 포함한 잠재적 병원체의 대표적인 종류를 파괴합니다(Kaye et al., 1998). 알카리 가수분해 과정에 이용된 알칼리 농도와 온도의 극한적 조건은 바이러스의 단백질 외막을 파괴하고 프리온의 펩티드 결합을 깨뜨립니다(Taylor, 2001a).

4.2 - TSE 병원체

영국의 농림수산물식품부로부터 지원을 받고 에딘버러 대학 동물 보건 시설의 로버트 소머빌 박사가 수행한 2000 년도의 연구는 쥐의 뇌에서 자라는 소 해면상뇌증(BSE) 프리온을 파괴하는 알카리 가수분해의 능력을 평가하였습니다. 쥐 두 마리의 머리는 세 시간 동안 분해하였고, 한 마리의 머리는 여섯 시간 동안 분해하였습니다. 각각의 가수분해 산물 표본은 중화하고 희석하여 소 해면상뇌증의 영향에 취약한 것으로 알려진, 아무것도 접종하지 않은 쥐들의 대뇌 안으로 주입되었습니다. 쥐들은 거의 2년 동안 사육되었으며, 그 후 그들의 뇌에 전염성 해면상뇌증의 징후가 있는지 검증하기 위하여 안락사되었습니다. 전염성 해면상뇌증의 징후는 200 마리가 넘는 쥐 중 5 마리의 뇌에서 발견되었습니다. 이 다섯 마리의 쥐들은 세 시간 동안 처리된 가수분해 산물을 주입당한 쥐들이었습니다. 의미심장하게도, 여섯 시간 동안 처리되어 얻어진 가수분해 산물을 주입받은 쥐들의 뇌에서는 전염성 해면성뇌증의 어떤 징후도 찾을 수 없었습니다. 세 시간짜리 표본의 감염 지속성은 해당 물질이 냉동 상태로 처리기에 주입되었으며, 폴리에틸렌 용기 안에 담겨 있었다는 사실 때문일 것입니다. 다시 말해, 프리온 표본의 알카리 가수분해 과정에 대한 실제 노출은 세 시간보다 훨씬 적었을지도 모른다는 뜻입니다(Taylor, 2001a). 이러한 실험에 기초하여, 유럽 연합 과학 운영 위원회(European Commission Scientific Steering Committee)는 전염성 해면상뇌증에 감염된 물질은 여섯 시간 동안 분해되어야 한다는 권장사항과 함께 전염성 해면상뇌증 감염 소재의 알카리 가수분해 방법을 승인하였습니다(European Commission Scientific Steering Committee, 2002; European Commission Scientific Steering Committee, 2003). 안전을 위한 조치로써, 만성 소모성 질병에 감염된 사체들을 처리하는 미국의 한 시설에서는 모든 프리온 오염물질이 확실히 파괴되도록 여덟 시간 동안 알카리 가수분해를 진행합니다(Powers, 2003).

4.3 - 방사능

WR²는 알카리 가수분해 기술이 방사능에 오염된 조직을 제거하는 데에 효과적이라고 보고하였습니다.

섹션 5 – 환경에 미치는 영향

알카리 가수분해는 대기에 어떤 공해도 발생시키지 않으며 오직 적은 냄새만을 풍깁니다. 그러나, 섹션 3.5에서 언급된 것처럼, 알카리 가수분해에 의해 생산되는 폐수의 온도, pH, BOD와 관련한 타당한 논의들이 존재합니다.

섹션 6 – 장점, 단점, 교훈

6.1 - 장점

동물 사체의 알카리 가수분해 처리법은 다음과 같은 장점을 갖습니다.

- 작동 한 번으로 멸균과 분해가 가능
- 97 퍼센트의 폐기물 부피 및 무게 감소
- 프리온을 포함한 감염원의 완전한 파괴
- 아주 적은 양의 냄새와 공해 발생
- 방사성 오염 조직의 제거

6.2 - 단점

동물 사체의 알카리 가수분해 처리법은 다음과 같은 단점이 있습니다.

- 현재 미국에서는 대량의 사체를 처리할 수 있는 능력이 제한적인 상태
- 폐수 처리에 관한 잠재적 쟁점

6.3 - 교훈

동물 질병 관리감독관이 직면하는 일반적인 질문은, 전염성 해면상뇌증에 감염된 동물 사체를 처리할 때 이용해야 할 방법이 알카리 가수분해 처리법이나, 소각이나 하는 것입니다. 알카리 가수분해 처리법이 전염성 해면상뇌증을 다루는 데에 가장 확실한 방법으로 널리 보고되어 있기는 하지만, 고정 소각 설비를 이용하는 방법 역시 전염성

해면상뇌증에 감염된 소재를 처리할 때 효과적인 방법입니다(소각과 관련된 챕터를 참고하세요). 고정 소각 시설의 이용은 프리온의 파괴에 알카리 가수분해만큼이나 효과적입니다. 그럼에도 불구하고 이 방법은 사람들의 인식과 관련한 독특한 문제를 품고 있습니다. 이러한 문제는 최근 콜로라도에서 분명해졌습니다. 콜로라도 주는 야생동물을 담당하는 공무원들이 만성 소모성 질병에 감염된 사슴이나 엘크의 머리를 처리하기 위해 고정 소각 시설을 건설하는 것을 요구하고 있는 주입니다. 이러한 수요에도 불구하고, 콜로라도 주의 라리머 카운티 관계자들은 당시 해당 지역의 소각 반대 정서를 고려하여 소각장 건설을 막는 것에 성공하였습니다. 반면에, 콜로라도 주립 대학의 알카리 가수분해 처리기는 이런 걱정이 훨씬 적습니다. 북부 라리머 카운티 동맹으로써 모인 시민들은 고정 소각 시설의 소각 과정 동안 프리온이 실제로 공중에 퍼지는 일을 비롯하여, 소각장 건설 제안에 대해 공중 보건과 야생동물에 관련된 우려를 표명했습니다(de Yoanna, 2003a, 2003b; Olander & Brusca, 2002). 이는 고정 소각 시설의 배출을 통한 전염성 해면상뇌증 확산은 위험성이 낮다는 것을 입증한 미국의 예비 연구와 영국의 기존 위험 평가(Spouge & Comer, 1997)에 비추어 보았을 때 의문의 여지가 있는 주장입니다(Rau, 2003).

콜로라도 주의 라리머 카운티 공무원들은 환경보호청 8구역의 최근 심의에 큰 관심을 가지고 있습니다. 이 심의를 통해 고정 소각 시설은 만성 소모성 질병에 감염된 사체를 관리하기 위한 기술로 더 명확하게 보증될 수 있을 것입니다(O'Toole, 2003; Anonymous, 2003, p.4). 콜로라도 주립 대학의 Barb Powers 박사에 따르면, 이러한 명확한 연구와 규제 판결은 전염성 해면상뇌증에 감염된 사체를 처리하기 위해 사용할 수 있는 모든 기술이 적절하게 고려되는 것이 보장될 수 있도록 하는 데에 필요하다고 합니다(Powers, 2003).

섹션 7 – 주요 연구 필요성

1. 환경적으로 적합하고 대중적으로 수용될 수 있는 폐수 배출 대안 조사
2. 알카리 가수분해 폐수의 다른 사용법에 대한 조사 (예: 비료, 하수처리장의 성능을 향상시키기 위한 영양소 혼합제 등)
3. 알카리 가수분해 기술을 이용하여 다량의 동물 사체를 수용하는 방법을 알아내기 위한 공학적 연구 수행

참고 문헌

Anonymous. (2003). EPA Region 8 Recommended Approach for Treatment and Disposal of Waste Potentially Contaminated with Chronic Wasting Disease (Penultimate draft document, 11/7/03).

Brglez, B. (2003). Disposal of poultry carcasses in catastrophic avian influenza outbreaks: A comparison of methods (technical report for Master of Public Health). Chapel Hill: University of North Carolina.

Brown, P., Rohwer, R.G. & Gajdusek, D.C. (1986). Newer data on the inactivation of scrapie virus or Creutzfeldt-Jakob disease virus in brain tissue. *Journal of Infectious Diseases*, 153, 1145-1148.

Brown, P., Liberski, P.P., Wolff, A. & Gajdusek, D.C. (1990). Resistance of scrapie agent to steam autoclaving after formaldehyde fixation and limited survival after ashing at 360°C; practical and theoretical implications. *Journal of Infectious Diseases*, 161, 467-472.

de Yoanna, M. (2003a, 22 May). CWD incinerator nixed: Planning board votes 5-0 against DOW plan. <http://www.coloradoan.com/news/stories/20030522/news/344996.html>. *Coloradoan Online*.

de Yoanna, M. (2003b, 8 June). Incinerator fears burn once again: Wellington residents worry plan could rise from ashes. <http://www.coloradoan.com/news/stories/20030608/news/442805.html>. *Coloradoan Online*.

Ernst, D.R. & Race, R.E. (1993). Comparative analysis of scrapie agent inactivation. *Journal of Virological Methods*, 41, 193-202.

European Commission Scientific Steering Committee. (2002). Opinion and report on: The treatment of animal waste by means of high temperature (150°C, 3

hours) and corresponding high pressure alkaline hydrolysis.

http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/out266_en.pdf

European Commission Scientific Steering Committee. (2003). Final Opinion and Report on a Treatment of Animal Waste by Means of High Temperature and High Pressure Alkaline Hydrolysis. European Commission: Health and Consumer Protection Directorate-General.

Grady, D. (2004, 6 January). With diseased animals, disposal isn't simple [via AnimalNet listserve, archived at www.foodsafetynetwork.ca]. *The New York Times*.

Jennette, J.P. (2002, Spring). Medical waste management at Cornell's College of Veterinary Medicine.

<http://www.cayugalake.org/newsletter/spring/2002/medicalwaste.html>. *The Cayuga Lake Watershed Network News*.

Kaye, G.I. (2003). Personal communication to H.L. Thacker regarding alkaline hydrolysis: Gordon Kaye (WR²).

Kaye, G., Weber, P., Evans, A., & Venezia, R. (1998). Efficacy of alkaline hydrolysis as an alternative method for treatment and disposal of infectious animal waste. *Contemporary topics in laboratory animal science*, 37 (3), 43-46.

Olander, D., & Brusca, J. (2002, 22 October). Options and Considerations for the Disposal of Carcasses from a CWD-Infected Deer Population in Wisconsin. Paper presented at the United States Animal Health Association Chronic Wasting Disease Scientific Session.

O'Toole, D. (2003, 6-10 April). Disposal of Prion-Contaminated Wastes by Veterinary Laboratories. Paper presented at the National Institute for Animal Agriculture Annual Meeting, Cincinnati, Ohio; available at

http://animalagriculture.org/Proceedings/2003%20Proc/O_Toole.htm.

Powers, B. (2003). Personal communication to Justin Kastner regarding incineration and alkaline hydrolysis: Barbara Powers (Director, Veterinary Diagnostic Laboratory, Colorado State University).

Rau, E. (2003, 17 July). Paper presented at the US FDA Transmissible Spongiform Encephalopathies Advisory Committee Meeting, Bethesda, Maryland; transcript available at <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/03/transcripts/3969t1.htm>.

Sander, J.E., Warbington, M.C., & Myers, L.M. (2002). Selected methods of animal carcass disposal. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220 (7), 1003-1005.

Shafer, D.J., Burgess, R.P., Conrad, K.A., Prochaska, J.F., & Carey, J.B. (2001). Characterization of alkaline hydroxide-preserved whole poultry as a dry byproduct meal. *Poultry Science*, 80 (11), 1543-48.

Spouge, J., & Comer, P. (1997). *Risks from Disposing of BSE Infected Cattle in Animal Carcass Incinerators: report prepared for the UK Environment Agency (No. C7243/3)*. London: DNV Technica.

Taguchi, F., Tamai, Y., Uchida, K., Kitajima, R., Kojima, H., Kawaguchi, T., Ohtani, Y. & Miura, S. (1991). Proposal for a procedure for complete inactivation of the Creutzfeldt-Jakob disease agent. *Archives of Virology*, 199, 297-301.

Taylor, D.M. (2001a). Equipment Marketed by Waste Reduction Europe Ltd. to Destroy Animal Carcasses and Tissues by Alkaline Hydrolysis: An Assessment of the Capacity of the Process to Reliably Inactivate BSE-Like Agents. <http://www.wreurope.net/response/taylor2001.htm>

Taylor, D.M. (2001b). Inactivation of BSE-Like Agents. United States Animal Health Association Proceedings. <http://www.usaha.org/speeches/speech01/s01taylo.html>

Taylor, D.M. (2000). Inactivation of transmissible degenerative encephalopathy agents: a review. *Veterinary Journal*, 159, 10-17.

Taylor, D.M., Fernie, K. & McConnell, I. (1997). Inactivation of the 22A strain of scrapie agent by autoclaving in sodium hydroxide. *Veterinary Microbiology*, 58, 87-91.

Taylor, D.M., Fernie, K., McConnell, I. & Steele, P.J. (1998). Observations on thermostable populations of the unconventional agents that cause transmissible degenerative encephalopathies. *Veterinary Microbiology*, 64, 33-38.

Wilson, J.H. (2003). Personal communication to H.L. Thacker regarding alkaline hydrolysis: Joseph Wilson (WR²).

Wisconsin Department of Natural Resources. (2002). Wisconsin regulations related to chronic wasting disease. Wisconsin: Wisconsin Department of Natural Resources.

WR². Company pamphlet. Indianapolis: Waste Reduction by Waste Reduction, Inc.

WR². (2003). Company website. www.wr2.net.

[별첨 4] 가축전염병 예방법 시행규칙 별표 5. 소각 또는 매몰기준

■ 가축전염병 예방법 시행규칙 [별표 5] <개정 2019. 8. 26.>

소각 또는 매몰기준 (제25조관련)

1. 소각기준

구분	소각 실시 장소	소각 방법	비고
사체	<p>1. 가축의 사체를 태울 수 있는 시설이 있는 장소</p> <p>2. 수원지·하천·도로 및 주민이 집단적으로 거주하는 지역에 인접하지 아니한 곳으로서 사람이나 가축의 접근을 제한할 수 있는 장소</p>	<p>1. 소각로(이동식 소각장치를 포함한다)를 사용하는 때에는 그 장치의 사용법에 의한다.</p> <p>2. 주로 땃나무를 이용하는 때에는 다음 기준에 적합한 방법에 의한다.</p> <p>가. 연료 가축의 사체, 물건 등을 태우는데 충분한 분량의 땃나무 및 보조연료(벚짚·건초·타르·석유 등)를 이용한다.</p> <p>나. 사체를 넣을 수 있을 정도의 구덩이를 파고, 그 밑에 작은 구덩이를 판다. 작은 구덩이 바닥에는 벚짚·건초 등을 깔고, 타르·석유 등을 뿌린 후 땃나무를 쌓는다. 그 위에 가축의 사체를 두고 불을 붙여 완전하게 태운다. 태운 후 남은 뼈와 재는 그 장소에서 매몰한다. 구덩이가 있는 지형을 이용하는 경우에는 이 방법에 준하여 태운다.</p> <p>3. 이동식 열처리 장치를 사용할 때에는 그 장치의 사용법에 의한다. 다만, 가축전염병 병원체를 완전히 사멸할 수 있도록 열처리하여야 한다.</p>	<p>1. 사체를 태운 후 남은 뼈와 재는 매몰하거나 「폐기물관리법」에 따라 소각재를 처리할 것</p> <p>2. 이동식 열처리 장치를 사용하는 경우 열처리 후 잔존물 중 액상물은 장치 내 저장탱크에 수거하여 분뇨처리장 및 오폐수처리시설에 배출하고, 고형물은 퇴비장에서 퇴비와 섞어서 처리할 것</p> <p>3. 사체와 물건 등을 태운 장소와 그 부근을 소독할 것</p>

오염 물건	1. 소각로 2. 수원지·하천·도로 및 주민이 집단적으로 거주하는 지역에 인접하지 아니한 곳으로서 사람이나 가축의 접근을 제한할 수 있는 장소	1. 소각로(이동식 소각장치를 포함한다)를 사용하는 때에는 그 장치의 사용법에 의한다. 2. 당해 물건을 태우는데 충분한 분량의 땃나무 및 보조원료(땃짚·건초·타르·석유 등)를 이용하여 완전하게 태운다. 3. 이동식 열처리 장치를 사용할 때에는 그 장치의 사용법에 의한다. 다만, 가축전염병 병원체를 완전히 사멸할 수 있도록 열처리하여야 한다.	1. 오염물건을 태운 후 남은 재는 매몰하거나, 「폐기물관리법」에 따라 처리할 것 2. 이동식 열처리 장치를 사용하는 경우 사료, 깔집 및 왕겨 등 퇴비의 원료로 사용이 가능한 물건은 퇴비장에서 퇴비와 섞어서 처리하고 퇴비로 사용이 불가능한 물건은 「폐기물관리법」에 따라 처리할 것

2. 매몰기준

가. 매몰 장소의 선택

- 1) 농장 부지 등 매몰 대상 가축 등이 발생한 해당 장소에 매몰하는 것을 원칙으로 한다. 다만, 해당 농장 부지 등이 매몰 장소로 적합하지 않거나, 매

몰 장소로 활용할 수 없는 경우 등에 해당할 때에는 국·공유지 등을 활용할 수 있다.

2) 다음의 사항을 고려하여 매몰지의 크기 및 적정 깊이를 결정하여야 한다.

가) 매몰 수량

나) 지하수위·하천·주거지 등 주변 환경

다) 매몰에 사용하는 액비 저장조, 간이 섬유강화플라스틱(FRP, Fiber Reinforced Plastics) 등의 종류·크기

3) 매몰 장소로 적합한 장소는 다음과 같다.

가) 하천, 수원지, 도로와 30m 이상 떨어진 곳

나) 매몰지 굴착(땅파기)과정에서 지하수가 나타나지 않는 곳(매몰지는 지하수위에서 1m 이상 높은 곳에 있어야 한다)

다) 음용 지하수 우물(지하수를 이용하기 위한 수리 시설)과 75m 이상 떨어진 곳

라) 주민이 집단적으로 거주하는 지역에 인접하지 않은 곳으로 사람이나 가축의 접근을 제한할 수 있는 곳

마) 유실, 붕괴 등의 우려가 없는 평탄한 곳

바) 침수의 우려가 없는 곳

사) 다음의 어느 하나에 해당하지 않는 곳

(1) 「수도법」 제7조에 따른 상수원보호구역

(2) 「한강수계 상수원수질개선 및 주민지원 등에 관한 법률」 제4조제1항, 「낙동강수계 물관리 및 주민지원 등에 관한 법률」 제4조제1항, 「금강수계 물관리 및 주민지원 등에 관한 법률」 제4조제1항 및 「영산강·섬진강수계 물관리 및 주민지원 등에 관한 법률」 제4조제1항에 따른 수변구역

(3) 「먹는물관리법」에 따른 염지하수 관리구역 및 샘물보전구역

(4) 「지하수법」 제12조에 따른 지하수보전구역

(5) 그 밖에 (1)부터 (4)까지의 규정에 따른 구역에 준하는 지역으로서 수질환경보전이 필요한 지역

나. 사체의 매몰

(1) 가축의 매몰은 살처분 등으로 가축이 죽은 것으로 확인된 후 실시하여야 하고, 사체의 매몰은 다음 방법에 따른다.

(가) 매몰 구덩이는 사체를 넣은 후 해당 사체의 상부부터 지표까지의 간격이 2미터 이상이 되도록 파야 하며, 매몰 구덩이의 바닥면은 2% 이상의 경사를 이루도록 한다.

- (나) 구덩이의 바닥과 벽면은 두께 0.2mm 이상인 이중 비닐 등 불침투성 재료로 덮는다.
 - (다) 구덩이의 바닥에는 비닐에서부터 1m 높이 이상의 흙과 5cm 높이 이상의 생석회를 투입하고, 생석회 위에 40cm 높이 이상으로 흙을 덮은 후 2m 높이 이하로 사체를 투입한다.
 - (라) 사체를 흙으로 40cm 이상 덮은 다음 5cm 두께 이상으로 생석회를 뿌린 후 지표면까지 흙으로 메우고, 지표면에서 1.5m 이상 성토(흙쌓기)를 한 후, 생석회를 마지막에 도포한다.
 - (마) 가스 배출관은 폴리염화비닐(PVC) 등의 재료로 만들어진 흙통을 이용하여 사체와 접촉되도록 설치하고, 가스 배출관의 밑면에는 자갈 등을 깔아 막힘을 방지하며, 매립 당시 20m²당 최소 1개 이상을 설치하되, 가스 및 용출수가 많이 발생하거나 매몰한 사체가 용기하는 등의 문제가 발생하면 그 설치 개수를 늘린다.
 - (바) 매몰지 주변에 배수로 및 저류조를 설치하되 배수로는 저류조와 연결되도록 하고, 우천 시 빗물이 배수로에 유입되지 않도록 둔덕을 쌓는다.
 - (사) 매몰 후 경고표지판을 설치하여야 하며, 표지판에는 매몰된 사체의 병명 및 축종, 매몰 연월일 및 발굴 금지기간, 책임관리자 및 그 밖에 필요한 사항을 적어야 한다.
 - (아) 집중호우에 대비하여 매몰지가 유실되거나 붕괴되지 않도록 비닐 등으로 덮어 관리를 철저히 하고, 빗물 배수로와 빗물을 모을 수 있는 집수로를 설치하여야 한다.
- (2) 시장·군수·구청장은 구제역, 고병원성조류인플루엔자 등의 발생으로 사체를 대규모로 매몰해야 하는 경우로서 (1)의 방법으로는 가축전염병의 확산 등을 방지하기에 미흡하다고 판단하는 경우에는 다음 사항을 추가로 조치하게 하거나 조치할 수 있다.
- (가) 매몰 구덩이의 바닥과 측면에는 점토광물과 흙을 섞은 혼합토(혼합비율 15 : 85)로 충분히 도포(바닥 30cm 이상, 측면 10cm 이상)한 후 두께 0.2mm 이상인 이중 비닐 등 불침투성 재료를 사용여야 하며, 이중비닐을 사용한 경우에는 이중비닐 훼손방지를 위하여 부직포, 비닐커버 등을 추가로 덮어야 한다. 다만, 고밀도폴리에틸렌(HDPE) 등 고강도 방수재질을 사용한 경우에는 혼합토 도포, 부직포, 비닐커버 등을 추가로 설치하는 것을 생략할 수 있다.
 - (나) 매몰 구덩이의 경사진 바닥면 하단에 침출수 배출관[(유공관(有孔管))으로서 상부에는 개폐장치가 설치된 것을 말한다]을 설치하여,

집수된 침출수를 뽑아낼 수 있도록 한다.

- (다) 저류조의 용량은 0.5m³ 이상으로 하되, 경사 아래쪽 중에서 적절한 장소를 선택하여 만들고, 수시로 소독제 등으로 소독을 실시하며, 정기적으로 수거하여 처리한다.
- (라) 매몰지 외부로 침출수가 유출되는지를 확인하기 위하여 매몰지 내부와 매몰지 경계에서 외부와의 이격 거리 5m 이내 인 곳(지하수 흐름의 하류방향인 곳을 말한다)에 깊이 10m 내외의 관측정을 각각 설치하며, 관측정의 수질측정, 결과해석, 보고 및 통보 등에 관한 사항은 환경부장관이 농림축산식품부 장관의 의견을 들어 정하는 바에 따르고, 관측정 수질측정 결과에 따른 이설 등 매몰지 조치사항은 농림축산식품부 장관이 정하는 바에 따른다. 다만, 매몰지 내부에 설치하는 관측정은 (나)의 침출수 배출관을 활용할 수 있다.
- (3) 시장·군수·구청장은 매몰지 조성으로 인한 환경영향 최소화를 위하여 일반 매몰방식 외에 액비 저장조·간이 섬유강화플라스틱(FRP)·고밀도 폴리에틸렌(HDPE) 등 저장조에 매몰하거나, 미생물 처리 방법으로 매몰지를 조성할 수 있다.
- (4) 사체를 랜더링(rendering)처리시설(열처리정제시설)에서 열처리하여 그 잔재물을 매몰하는 경우에는 「폐기물관리법」 제13조, 같은 법 시행규칙 제14조 및 별표 5에 따른다.

다. 사체 등의 운반

- (1) 사체 등은 핏물 등이 흘러내리지 아니하고 외부에서 보이지 아니하는 구조로 된 운반차량을 사용하여 소각·매몰등의 목적지까지 운반하여야 한다.
- (2) 사체 등의 소각·매몰등을 위한 목적지 출발 전과 목적지에 도착하여 사체 등을 하차한 후에 동 운반차량 전체를 고압분무세척 소독기 등으로 소독하여야 한다.
- (3) 동 운반차량에는 가축방역관 또는 가축방역담당공무원이 탑승하여 사체의 소각·매몰등을 위한 목적지까지 안전하게 운반하여야 한다.

3. 발굴 허가된 매몰지의 소각 또는 재매몰 처리

가. 소각기준

- (1) 매몰지를 이전하여 소각 할 때에는 제1호 소각기준에 따른 소각실시 장소 및 소각방법으로 처리하되 가축사체와 함께 매몰한 사료 등 오염의 심 물건 및 왕겨 등과 같은 통기성 재료도 같이 소각하여야 한다. 다만, 법 제20조제1항 단서에 따라 살처분된 가축의 사체 중 정밀검사서에서 가축전염병에 감염되지 않은 것으로 판정된 가축의 사체를 매몰한 매몰

지의 경우 침출수와 같은 액체성분은 분뇨처리장이나 오폐수 처리시설에서 처리하고 사체잔존물 등은 소각 또는 열처리를 생략하고 퇴비장에서 퇴비와 교반(휘저어 섞음)하여 처리할 수 있다.

- (2) 매몰지 발굴 전·후 매몰지 및 주변부 소독을 실시하고 작업이 종료된 이후에는 발굴 및 소각 작업에 사용한 기구·장비 등에 대하여 소독을 실시한다.

나. 재매몰기준

- (1) 매몰지를 이전하여 재매몰 할 때에는 제2호 매몰기준에 따른 매몰 장소 및 사체의 매몰 방법을 준용하되 가축사체 뿐 아니라 오염가능성이 있는 흙 등 매몰지 내의 내용물 전체를 옮겨 매몰하여야 한다. 다만, 법 제20조제1항 단서에 따라 살처분된 가축의 사체 중 정밀검사에서 가축전염병에 감염되지 않은 것으로 판정된 가축의 사체를 매몰한 매몰지의 경우 가축의 사체만을 옮겨 매몰할 수 있다.
- (2) 매몰지 발굴 전·후 매몰지 및 주변부 소독을 실시하고 작업이 종료된 이후에는 발굴 및 매몰 작업에 사용한 기구·장비 등에 대하여 소독을 실시한다.

다. 소각·재매몰 외의 방법을 활용한 매몰지 처리 기준

가축매몰지 관할 시장·군수·구청장이 소각·재매몰 외의 방법으로 매몰지를 처리하여도 가축전염병 전파 및 환경오염 우려가 없다고 인정하여 사전에 농림축산식품부장관 및 환경부장관과 처리방법의 안전성에 관한 협의를 거쳐 허가하는 경우에는 매몰지를 발굴 후 소각·재매몰 외의 방법으로 처리할 수 있다.

라. 사체 등의 운반

- (1) 사체 등은 침출수 등이 흘러내리지 아니하고 외부에서 보이지 아니하는 구조로 된 운반차량을 사용하여 소각·매몰 등의 목적지까지 운반하여야 한다.
- (2) 사체 등의 소각·매몰 등을 위하여 목적지 출발 전과 목적지에 도착하여 사체 등을 하차한 후에 해당 운반차량 전체를 고압분무세척 소독기 등으로 소독하여야 한다.
- (3) 해당 운반차량에는 가축방역관 또는 가축방역담당공무원이 탑승하여 사체의 소각·매몰 등을 위한 목적지까지 운반하여야 한다.