

바이오하자드(Biohazard) 성능평가 방법

김 윤 신
 한양대학교 의과대학 산업의학교실
 교 수

1. 머리말

20세기 들어서면서 과학 및 첨단 기술의 발달에 따른 새로운 독성화학물질(toxic chemicals pollutants) 및 미생물(microbe)의 발생 가능성이 대두되고 있다. 또한 국제화 및 세계화로 인한 국가간의 교류가 확대되면서, 이를 통한 국제 전염병(WHO 규정 : 라싸열, 마르부르그 병, 에볼라 바이러스 등)과 미지의 병원체의 실내공기유입 가능성이 점점 증대되고 있다. 특히, 라싸열, 마르부르그병과 같은 질병은 치사율이 20-60%에 달해 환자의 검진, 간호를 맡은 의사 간호사의 다수가 감염될 수 있으며, 심할 경우 사망에까지 이르기도 한다.

바이오하자드(Biohazard)란 바이오(Bio)와 하자드(Hazard)와의 합성어이며, 미생물 병원체 등의 취급으로 발생할 수 있는 작업자, 또는 그 주위의 사람이나 환경에 영향을 주는 재해를 통틀어 바이오하자드라고 한다(NSF, 1992).

따라서 유해한 병원체 독성화학물질이나 아직까지 알려지지 않은 미지의 유전자를 취급하

는 분야에 있어서는 유해한 생물재료의 확산 방지와 연구자의 감염을 방지하는 것은 매우 중요한 일이라고 볼 수 있다.

병원 또는 실험실 등지에서 근무하는 근로자 및 연구자들의 초기 실험실에서 발생한 장티푸스 감염에서부터 시작하여 오늘날 항생물질에 대한 내성을 갖고 있는 박테리아, 급성 돌연변이성 바이러스 등의 노출로 인한 위험은 감염성 미생물을 안전하게 다루 수 있는 기기의 필요성을 대두시키고 있다(NIH, 1995). 이미 선진국에서는 1970년대 초반부터 바이오하자드에 대한 중요성을 인식하였고, 이에 대한 기준을 설정하고, 바이오하자드 안전캐비닛(Biohazard Safety Cabinet)을 개발하는 등 작업자의 안전을 도모하기 위한 많은 노력과 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 일본에서의 바이오하자드는 크게 병원체에 관한 것과 유전공학에 관한 것으로 나누어진다. 국제 전염병을 포함하여 인간에게 유해한 병원체를 다루는 각종 연구기관과 검사기관을 모두 바이오 하자드 관리 대상으로 선정하였으며, Bio Safety Level의

분류기준과 병원체 등의 취급 실험실의 안전설비와 운영 방법에 관해 기준하여 「병원체등 안전관리 규정」이 확립되었다(일본 국립예방위생연구소, 1992).

이에 반해 국내에서는 바이오하자드에 대한 위험성은 막연하게 인식하고 있으나 이에 대한 안전장비 및 설비의 설계, 제조, 운전 등에 대한 기준이 미비한 실정에 있으며, 바이오하자드의 인체 영향에 대한 연구조사 또한 제대로 이루어지지 않고 있는 실정이다.

따라서, 표준 성능평가 방법을 제정하여 안전하게 Bioaerosol을 다룰 수 있게 하며, 국제적인 추세에 신속히 대응할 필요성이 있다.

이에 본고에서는 바이오하자드 안전캐비닛의 성능평가에 관련된 시험방법을 제시함으로써 향후 바이오하자드의 KS 인증의 기초자료로 활용하고자 한다.

2. 본 론

2.1 바이오 하자드 안전 캐비닛의 분류

병원체 등의 미생물이 포함된 것들을 개방계에서 취급하면 Bioaerosol이 필연적으로 생성된다. 이런 오염 에어로졸의 발생에 의해서 인체나 환경에 미치는 영향(Biohazard)을 최소한으로 억제하기 위해, Bioaerosol을 작업공간 내에 차폐시키는 안전·보호 장치를 바이오하자드 안전캐비닛이라고 한다. 바이오하자드 안전캐비닛은 생물안전성(Biosafety) 등급에 따라 아래와 같이 분류된다.

1) 클래스 I 바이오 하자드 안전 캐비닛

저도 및 중저도의 위험성이 있는 미생물·병원체 등의 취급에서 작업공간에 청정공기를 필요로 하지 않는 경우에 사용한다. 사람(Personel)과 환경(Environment)을 보호할 수 있으나, 제품(Product)을 보호할 수는 없다.

2) 클래스 II 바이오 하자드 안전 캐비닛

저도 및 중저도의 위험성이 있는 미생물·병원체 등의 취급에서 작업공간에 청정공기를 필요로 하는 무균작업에 사용한다.

3) 클래스 III 바이오 하자드 안전 캐비닛

실험실 감염의 위험성이 높고, 감염한 경우 중증이 될 가능성이 있는 것으로 유효한 예방법이나 치료법이 존재하지 않는 수준에서 일하는 작업자와 환경을 최대한 보호하기 위해 설계 제작된 것으로 고도의 위험성이 있는 미생물·병원체 등의 취급에 사용한다.

2.2 시험방법

시험시기는 반입·설치 후, 사용개시 전, 실험실 내·외에 이동한 후, HEPA 필터 교환 후, 부품교환 후 운전조건 변경 후, 캐비닛 운전상태에 의문이 있을 때 실시하고 정기검사는 보통 연 1회 실시하지만, 부식성 물질을 취급하는 경우는 연 2회 실시한다.

2.2.1 물리적 시험방법

1) 밀폐도 시험

(가) 양압유지법

캐비닛의 전면개구부와 배기구를 업자가 지정하는 방법으로 밀폐하고, 압축공기를 사용하

여 캐비닛 내를 50 mmH₂O에 가압하고, 압축공기 도입밸브를 폐쇄한다.

30분 후의 압력감소가 10%(5 mmH₂O)이내인 것을 조사한다. (온도변화에 의한 영향에 충분히 주의한다.)

시험방법은 먼저, 캐비닛의 전면개구부와 배기구는 Steel Plate와 가스켓트로 막은 후 캐비닛 내부의 가압은 하단부에 장착되어 있는 가스 주입구로 압축공기를 캐비닛에 도입하는 방법을 사용한다. 마지막으로, 가스 주입구 밸브는 압력이 50 mmH₂O로 가압한 후에 잠그고 압력측정은 30분 경과 후 경사 마노메타 압력값을 읽는다.

(나) 비누법

50 mmH₂O로 가압한 상태를 유지하고, 비누물 (예를 들면 중성세제를 10배 희석) 또는 시판하는 발포누설 검출제를 캐비닛의 모든 용접부 및 관통부 등에 도포 또는 분무하여 발포의 유무를 검사한다.

(다) 할로젠 가스법

할로젠 가스법은 음압 프레넘으로 둘러싸여 있지 않은 양압 프레넘을 갖는 캐비닛에서 행한다. 시험실 내는 금연하고 할로젠 가스를 배제한 후 실내의 공기 움직임을 최소한으로 한다. 할로젠 검출기는 할로젠 계의 냉매가스를 1×10⁻⁷ cc/s의 감도에서 측정할 수 있고, 자동 0 보정회로를 내장한 것을 사용한다.

밀폐한 캐비닛 내에 할로젠 가스를 도입하여 50 mmH₂O로 가압하고 가스도입밸브를 잠근다. 또한, 할로젠 검출기 검출관의 선단을 캐비닛 표면으로부터 5~15 mm의 위치에 두고, 25 mm/s 이하의 속도로 모든 용접부, 접합부 및

관통부 등에 주사한다. 만약, 5×10⁻⁷ cc/s를 넘게 새는 것이 검출되면 적당한 방법으로 보수하여 검사를 반복한다.

2) HEPA 필터의 투과율

등속흡연에 가까운 조건에서 0.3 μm 부근의 에어로졸 투과율이 0.01%를 넘지 않는 것을 확인한다.

시험방법은 첫 번째, HEPA 필터의 1차측에 다분산 DOP 에어로졸을 공급한다.

두 번째 샘플링구를 통해 HEPA 필터 1차측에 에어로졸 농도를 측정한다. 선형 눈금의 상대농도계에서는 100%가 되도록 조정한다. 대상 눈금의 상대농도계에서는 취급설명서의 교정곡선을 사용하고, 1눈금 읽기에 필요한 농도의 10⁴배 이상의 농도가 되도록 HEPA 필터 1차측의 다분산 DOP 에어로졸 농도를 조정한다. 세 번째 HEPA 필터 2차측의 여재전면, 필터의 이음새 및 필터 틀에 대하여, 검출관의 주사역이 중첩되도록 주사한다(그림 1.) 검출관의 흡입구는 필터 표면으로부터 25 mm 이내에 유지하고 주사의 이동속도는 5 cm/s 이하로 한다. 입자계수기를 사용하는 경우, 0.3-0.5 μm 측정 구간에서 HEPA 필터 상류측 농도를 1×10⁷개/분 이상으로 조정한다. HEPA 필터 상류측에서 입자수를 오차 30%로 측정하기에는, 단위시간 당의 계수값을 10%이상으로 측정해야 한다. 각 측정점의 측정시간을 1/2초로 하면 상류측에 부하시켜야 하는 입자농도는 10⁷개/min/28.3ℓ가 된다. 오차를 10%로 억제하는 데는 상류측농도를 10⁸개/초 이상으로 할 필요가 있으나, 그 경우 상류측 농도의 측정에서 희석회로가 필요하게

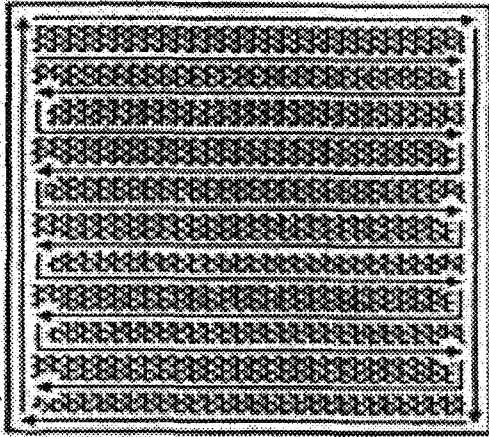


그림 1 HEPA 필터의 주사방법. 주사선의 간격은 검지관의 직경을 넘지 않도록 할 것.

되어 현실적이지 않다. 1/2초마다의 계수값이 1차측 농도의 10^{-4} 를 넘기지 않아야 한다.

3) 풍속시험

평균 취출풍속과 전면개구부로 부터의 평균 유입풍속을 제작자의 추천값(설정값)에 맞춘 후 검사한다.

(가) 측정기기

유효 측정범위에 있어서 0.01 m/s의 감도, 또는 $\pm 3\%$ 이내의 지시정도를 가지는 풍속계를 사용한다.

(나) 유입풍속시험

캐비닛의 유입구에서 직접 측정하기 어려우므로 배기구에서 측정한 풍속을 유입풍속으로 환산하는 방법을 사용한다. 배기구에서 측정한 풍속을 유입풍속을 환산하기 위해서는 먼저 배기구로부터 높이 100 mm인 면을 측정면으로 하고, 풍속 측정점 16개 위치로 등분한 후 각

측정점의 풍속을 측정한다. 배기풍량은 평균배기풍속에 배기구 면적을 곱하여 산출한다. 평균 유입풍속은 배기풍량을 전면개구부 면적으로 나눈 값으로 한다.

(다) 취출풍속시험

캐비닛 작업공간 내의 공기가 하향 층류로 유지되는 지를 평가하는 실험이다.

작업공간 내의 공기유동이 하향층류로 유지되는 지를 평가하기 위해서 취출풍속 측정면은 작업공간 전면개구부 상단의 평면으로 선정한다. 측정은 그림 2와 같이 측정면을 150 mm의 등간격 격자로 나누고 각 정점에서 하향 취출풍속을 평균한 값으로 한다.

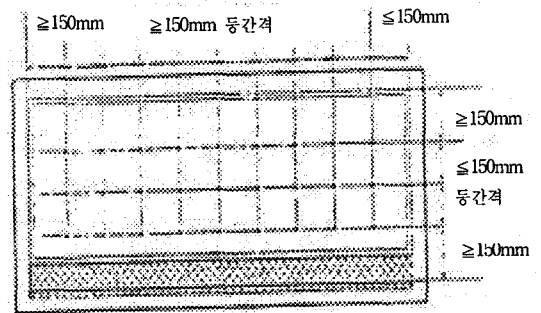


그림 2 취출풍속시험

4) 기류방향시험

(가) 하향층류

전면 패널은 하단으로부터 100 ± 10 mm 위의 높이, 작업공간의 하향층류의 전후 흡입구에의 기류 중앙 위치에서 작업공간 좌(우) 측면으로부터, 우(좌) 측면까지 주사한다. 또한, 연기는 매끄럽게 아래로 흐르게 하고, 연기가 흐르지 않는 부위나 상향으로 흐르는 부위가 없어야 한다.

(나) 창 패널 내측의 유입기류

전면 패널의 20 - 30 mm 내측, 전면 패널하단의 높이로부터 150 ± 20 mm위에서 작업공간 좌(우) 측면에서 우(좌)측면까지 주사한다. 또한, 연기는 매끄럽게 아래로 흐르게 하고, 연기가 흐르지 않는 부위나 상향으로 흐르는 부위가 없어야 한다. 또한 연기가 캐비닛으로부터 누출되지 않아야 한다.

(다) 전면개구부의 유입기류

전면개구부 외측 30 - 40 mm의 위치에서 전면개구부 모든 주위를 주사한다. 일단 캐비닛 내에 들어간 연기는 캐비닛으로부터 누설되지 않아야 하며 작업공간에도 유입되지 않아야 한다.

(라) 전창 패널 가동형의 캐비닛

전면 패널 가동형의 캐비닛에서는 전면 패널 측면가장자리의 레일이나 위쪽 가장자리의 와이퍼로부터 소량의 누설이 생기는 경우가 있다. 따라서, 전면 패널 내측의 위쪽 가장자리 측면 가장자리 전체를 주사한다. 또한, 캐비닛 밖으로 연기가 누설되지 않아야 하고, 또 하향층류에 흐트러짐을 일으키는 내향 유입기류가 없어야 한다.

2.2.2 생물학적 실험

1) 기류벨런스 시험

(가) 시험재료

첫번째, 고초균(*Bacillus subtilis var nigar*: *B.subtilis*)의 아포를 사용한다.

두번째, 고액증기멸균(121℃, 20분)한 순수희석액을 사용한다.

세번째, 한천평판배지 또는 고초균의 증식이 이것과 동등 이상인 배지를 사용하며, 페트리

디쉬의 입경은 90 - 100 mm와 150 mm의 2종류를 사용한다.

다섯번째, 멸균한 Impinger(AGI-30: Cat. No. 7540-10; Ace Glass Inc. Vineland, NJ, USA 또는 동등품)에 희석액 20 ml를 넣고, 흡입유량, 1.5 l/min에서 사용한다.

여섯번째, 흡입유량 28.3 l/min에서 30분간 1회전하는 Cascade sampler를 사용한다.

일곱번째, Nebulizer는 0.7 Kg/cm³의 압력으로 작동시킨 때의 분무량이 0.2 ml/min(±10%)로 한다. 수적을 분무하는 것은 적당하지 않고 사용시의 인가 압력은 0.2 ml/min(±10%)의 분무액량을 얻는 압력으로 한다.

(나) 작업자의 안전성 시험

네브라인저에 고초균아포액(5-10×10⁸ CFU/ml)을 20 ml 넣어 다음 표 1에 의한 순서에 의해 분무와 포집을 한다.

표 1. 작업자의 안전성 시험의 시간경과와 순서

경과시간(분)	조작순서
0	Cascade sampler 시동
4.5	Impinger 시동
5.0	Nebulizer 시동
10.0	Nebulizer 종료
15.0	Impinger, Cascade sampler 종료

2) 시료보호시험

(가) 한천평판의 위치

그림 3과 같이 작업공간 양측면의 중앙에서 좌우방향에 350 mm 아포작업대에 깔아 놓는다. 양성대조 평판은 1장의 한천평판을 시험용 원통의 바로 아래, 작업공간 전 흡기그릴의 위에 둔다. 흡기를 방해하지 않기 위해 적당한 높이

의 지지구를 사용해야 한다.

(나) Nebulizer

기류밸런스 시험과 같은 Nebulizer를 사용하며, Nebulizer의 분무구는 작업공간 양측면의 중앙, 전면, 패널 하단의 높이에 전면 패널의 $100 \pm 10 \text{ mm}$ 외측에 둔다.

분무방향은 작업대와 평행하게 전면 패널 하단을 향하게 한다.

(다) 시험용 원통

시험용원통은 작업공간 양측면의 중앙 작업대면에서 $70 \pm 5 \text{ mm}$ 상방에서 한쪽끝은 작업공간 배면에 붙이고, 다른끝은 캐비닛 본체 전면으로부터 150 mm 이상 나오도록 고정한다.

(라) 분무방법

5분간에 고초균 아포 5-103 CFU를 분무하고, 그후 5분간 안전캐비닛을 운전한다.

(마) 배 양

4대의 Impinger 내용액을 공경 $0.22 \mu\text{m}$ 또는 $0.45 \mu\text{m}$ 의 menbrain Filter을 여과하여, 필터를 한천평판 상에 기포가 생기지 않도록 둔다.

필터를 놓은 한천평판, Cascade sampler의 한천평판, 양성대조 한천평판을 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 에서 24 - 28시간 배양하고 콜로니수를 계수한다. 배양이

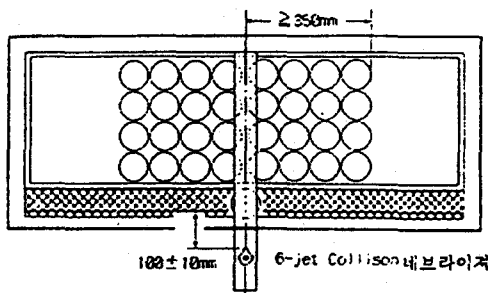


그림 3 시료보호시험

음성의 경우 24시간 더 배양한다.

3) 시료간의 상호오염시험

(가) 한천평판의 위치

그림 4와 같이 한천평판을 작업대 위에 배열한다. 가장 좌(우)단의 한천평판 중심은 작업공간 좌(우) 측면에서부터 350 mm 의 위치로 하고, 또한 750 mm 의 위치까지 한천평판을 깔아둔다.

(나) Nebulizer

작업대와 작업공간 측면이 막고 있는 캐비닛에서는 분무속도 $0.8 \sim 1.0 \text{ m/s}$ (분무내경 14 mm 에 상당) 또는 $1.6 \sim 2.0 \text{ m/s}$ (분무기 내경 12 mm 에 상당)의 Nebulizer를 사용한다. 분무구는 작업공간 좌(우) 측면에서 $100 \pm 10 \text{ mm}$, 작업대의 $100 \pm 20 \text{ mm}$ 위에, 동시에 하향 취출 종류의 전후 흡구가 나누어지는 위치에 둔다. 분무방향은 작업공간 좌(우) 측면을 향하게 한다.

(다) 분무방법

5분간에 고초균 아포 $5 \sim 10 \times 10^4 \text{ CFU/ml}$ 를 분무하고, 그 후 5분간 캐비닛을 운전한다.

(라) 배 양

시료보호시험과 동일하게 배양한다.

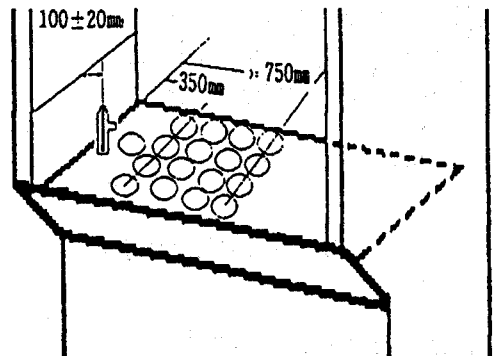


그림 4 시료간의 상호오염시험

2.2.3 기타 실험

1) 온도상승 시험

(가) 실험방법

먼저, 캐비닛의 송풍기와 조명을 작동시킨다. 그런 후, 온·습도계 1개를 작업대 중심위치에서 캐비닛 내의 온도를 측정하고, 다른 하나는 주변온도를 측정한다. 마지막으로, 송풍기와 조명을 작동시켜, 4시간 경과 후 양자의 온도차를 기록한다.

2) 소음레벨시험

(가) 실험방법

먼저, 캐비닛을 정규 운전 상태로 작동시키고 청감보정회로 A 특성을 사용하여 측정한다. 측정위치는 그림 5와 같이 캐비닛 양측면의 중앙, 캐비닛의 300mm 전방에서, 작업대 위 400mm 높이로 한다.

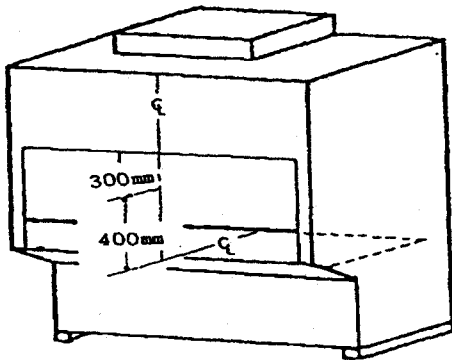


그림 5 소음레벨 시험

3) 조도시험

(가) 시험방법

먼저, 작업대 바로 위의 조도를 측정한다. 그

림 6과 같이 작업공간 후변과 전면 패널의 중앙에서, 작업공간측면으로부터 150mm를 제외한 부분에서, 300mm 이내의 등간격점을 측정점으로 한다.

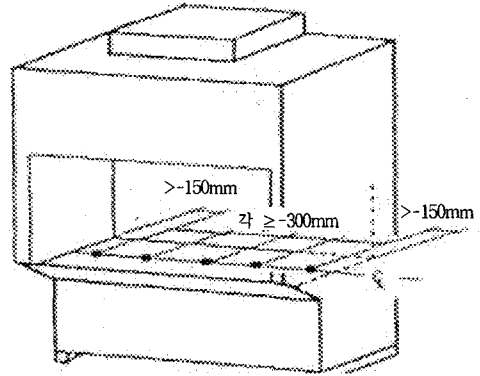


그림 6 조도시험

4) 진동시험

(가) 측정기기로는 진동주파수 10-1000Hz에 있어서 진폭 5 μ m RMS 이하를 유효하게 측정할 수 있는 진동계를 사용한다.

(나) 실험방법

먼저, 검출기를 작업대 중앙에 고정한다. 그런 후, X축방향(전후), Y축방향(좌우), Z축방향(상하)의 진폭을 측정한다. 송풍기 운전 시와 정지 시의 진폭차를 작업대 진폭으로 한다. 정지 시 진폭은 2 μ m RMS 이하로 한다.

5) 안정도시험

전도시험, 비틀림 시험, 작업대의 비틀어짐 시험, 경사시험 4가지 시험을 실시한다.

(가) 전도시험

먼저, 전면 다리부분이 움직이지 않게 고정한다. 그런 다음 후부상단에 대해 전 방향으로

45.4Kg의 힘을 가한다. 힘에 의해 배면다리부분이 바닥으로부터 올라간 높이를 측정한다.

(나) 비틀림 시험

먼저, 캐비넷을 바닥 또는 기반에 고정한다. 고정된 다음 배면상단 또는 측면상단에 113.4 Kg의 힘을 가한다. 힘에 의해 전방 또는 횡 방향의 비틀림 변위를 측정한다.

(다) 작업대의 비떨어짐 시험

먼저, 작업대 중점으로부터 바닥까지의 치수를 0.1mm의 단위로 측정한다. 그런 다음 작업대 중앙에 22.7 Kg의 시험용 무게(평면적 크기 25×25 cm)를 둔다. 시험용 무게를 빼고, 작업대 중점에서 바닥까지의 치수를 0.1 mm의 단위로 측정한다.

(라) 경사시험

먼저, 전면개구부 하단의 중앙에 113.4 Kg의 시험용 무게를 둔다. 그런 다음 배면다리부분이 바닥으로부터 올라간 위치를 측정한다.

3. 맺는말

미국이나 일본 등의 선진국에서는 바이오하azard의 위험성을 인식하여 연구가 활발히 진행되고 있으나, 우리나라는 바이오하azard에 대한 연구가 미비하여 그 일환으로 bioaerosol에 대한 구체적 조사를 통해 그 처리 및 시험방법을 개발하여 바이오하azard에 대한 대책을 마련하고, 실내공기질 환경을 개선하도록 하여야 한

다. 국내에는 현재까지 실내 공기질의 바이오하azard에 대한 기준 및 이를 측정하는 시험평가 방법이 공정시험방법으로 규정화 되지 않았으므로 일본의 공정시험법(JIS)과 미국의 바이오하azard 안전캐비넷에 대한 Standard No. 49를 종합적으로 비교·고찰하여 국내에 맞는 성능평가 방법을 제시하였다.

- 참고문헌 -

1. U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service Centers for Disease Control and Prevention and National Institute of Health, "Primary Contaminant for Biohazard", 1995.
2. 김효경, "공기조화·냉동·위생공학 편람(제1권 기초)", 1998.
3. 일본국립예방위생연구소 "병원체 등 안전관리 규정", 1998
4. National Sanitation Foundation(NSF), "Standard 49 Class II (Laminar Flow) Biohazard Cabinetry", 1992
5. 산업자원부 보고서 "Bio-Hazard safety cabinet의 성능평가에 관한 연구", 1999
6. U.S Department of Health, Education and Welfare, National Institute of Health and National Cancer Institute, "Selecting a Biological Safety Cabinet", 1976