

# 바이오에어로졸의 특성 및 측정방법

○ 김윤신 | 한양대학교병원 산업의학교실 교수  
yoonsin@hanyang.ac.kr  
김기영 | 한양대학교병원 산업의학교실 팀장  
hykim@hmc.hanyang.ac.kr

## I. 들어가는 말

과학과 의학의 발전은 질병 없는 21세기를 인류에게 선사할 것처럼 보였다.

하지만 AIDS를 비롯해 에블라 출혈열 등의 새로운 변종 바이러스와 박테리아·곰팡이균류·기생충 등 각종 병원체가 새로운 지역과 새로운 대상으로 확산되면서 인간을 비롯하여 사자·달팽이·나비·산호·식물류 등 모든 종의 동식물을 공격하여 생태계를 교란하고 있다. 인류의 기억에서 잊혀가던 결핵과 말라리아·황열병·홍역 등의 전염병도 다시 나타나서 우리의 건강을 위협하고 있으며 이와 같은 심각한 현상의 원인 가운데 하나는 지구온난화가 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.

21세기 들어서 공식으로 기록된 첫 신종 전염병인 사스(SARS : 중증급성호흡기 증후군)는 2003년 동남아·중국에서부터 전염력이 높은 새로운 괴질로 발생하였고, 2005년에는 5,000만 명의 목숨을 앗아간 1918년의 스페인 독감처럼 치명적인 '21세기 흑사병'으로 변이될 수 있다는 조류독감(Birds flu)이 전 지구촌을 공포로 몰아가고 있다.

이것의 원인균으로 추정되는 H5N1 변종 바이러스 같은 A형 바이러스는 사스의 원인바이러스보다 감염속도는 느리지만 치사율은 훨씬 높을 것으로

알려져 있으면서도, 이러한 경고성 재앙이 우리 눈앞에서 대량의 생명을 위협하고 있어도 속 시원한 해결책의 기미는 도대체 보이지를 않고, 애꿎은 가축들만이 도살되고 있는 실정이다.

이러한 전염성 질병은 국경이 없는 덩그러진 공기 중의 미생물에 의한 매개가 그 원인 중에 하나일 것이다. 즉, 공기는 오염되어 있을 경우, 사람, 가축, 시설 및 장비 등 모든 것과 접촉하여 생길 수 있는 잠정적으로 위험한 배양체이다. 오염된 공기는 우리 생활환경과 너무나 밀접한 관계를 가지고 있다. 즉, 추정하건대 AI확산의 진정한 주범은 계절을 따라 이동하는 철새나 밀집 사육되고 있는 가금류보다는 비행기나 그것을 이용하는 인간이 더 주역일 수 있다. 물은 국경이 있지만, 무형의 공기는 국경도, 색깔도 없다. 공기 속의 오염된 미생물은 지구로 뒤덮고 있으면서도 보이지 않는 존재인 바이러스로부터 세포 한두 개에 지나지 않는 세균과 곰팡이에 이르기까지 거의 <보이지 않는 권력자>로서 인류와 공존하며 적이자 동지로서 많은 영향을 끼쳐왔다,

자연계에 존재하는 기능 미생물 군집 중 살아있으나 실험실 내에서 증식을 못하는 “viable but non culturable microbes”가 존재함이 밝혀졌으며, 이의 생태적 역할과 연구방법에 대한 논의가 이루어

어지고 있다. 이들은 분명히 활성을 갖고 있으며, 충분히 생태학적 의미와 건강에 대한 아주 큰 영향을 줄 것이라는 추정되지만, 연구 제한점이 많고, 현 수준으로는 실험실에서의 배양이 불가능하여, 앞으로는 바이오에어로졸 연구자들에 의한 기능적 측면의 심층적인 연구 몫이자 짐이라고 생각한다.

본고에서는 액체·고체·기체(가스)·플라즈마(plasma)와 함께 제5의 물질이라 일컬어지는 에어로졸(aerosol)중에서 바이오에어로졸(bioaerosol)에 대하여 이해하기 쉽게 정리를 하여보았다.

### 1.1 바이오에어로졸의 정의

일반적으로 공기 혹은 가스 중에 부유하는 고체나 액체상태의 작은 입자를 에어로졸(aerosol)이라 하는데 크기는 대략  $0.002 \sim 100 \mu\text{m}$ 이다.

바이오에어로졸(bioaerosol: 생물학적 입자)은 bio와 aerosol이란 단어의 합성어의 어원을 갖는 것으로 정의하자면 생물학적 인자(bioaerological agents)들이 기체적 환경에 미세한 입자로 분산된 상태(exists both viable, living and nonviable states)를 말한다.

다시 말하면 생물체 자체나 혹은 생물체의 유기체가 생산해내는 독소·분비물·배설물 또는 그 사체 등이 포함된 입자(particle)들이나 또는 배양은 되지 않고 인체에 민감한 반응을 주는 것 등이 공기 중에 부유한 상태에서 인체에 흡수 또는 침투하여 건강장해를 발생시킬 수 있는 모든 요인을 통칭한다.

기본적으로 바이오에어로졸은 에어로졸의 일부이기 때문에 행동특성은 일반적인 물리적 특성 즉, 입자크기, 브라운 운동, 중력침강, 전기적 특성, 확산 등의 영향을 받게 되고 이러한 특성은 인체의 어느 특정 부위에 얼마만큼의 양과 형태에 따라 침착되고 있는 지에 따라 영향이 달라진다.

미국산업위생전문가협회(ACGIH)는 생물학적으로 과생되는 에어로졸, 기체, 증기의 형태를 이

루는 물질들이 실내 건물내(Indoor)에서 질병을 일으키거나 사람에게 건강상 악영향을 끼치는 경우 이들을 생물학적 오염으로 간주하고 있으며, 또한 외부(outdoor)에 존재하는 바이오에어로졸이라 할지라도 상대적으로 높은 농도일 때는 이를 생물학적으로 오염으로 간주한다. 미국환경보호청(EPA)에서 공기를 통한 생물학적 유해인자(오(biological contaminants)중에서 천식유발, 감염성 질환 등의 유발 원인 인자로 지목하고 있다

따라서 바이오에어로졸은 자연계 어디에서나 존재하며, 사람의 생활환경과 활동에 의하여 발생형태 및 농도가 달라 질 수 있으며, 행동특성은 에어로졸의 자체의 물리적 특성과 생물학적 특성에 달려있다.

**ACGIH:** Airborne particles composed of or derived from living organism and VOC that organisms, include microorganisms and fragments, toxins, particulate waste products from all varieties of living things. Biologically derived contaminants are ubiquitous in nature and may be modified by human activity.

**NIOSH:** Bioaerosol monitoring includes the measurement of viable(culturable and nonculturable) and Nonviable microorganisms in both indoor(industrial, office or residential)and outdoor(agricultural and general air quality) environment.

**EPA:** 생물학적 유해인자는 살아있는 유기체로부터 나오는 것들이다(Biological pollutants are or were living organism) : 세균(박테리아 ; bacteria), 곰팡이(mold), 바이러스(viruses), 고양이 침액(saliva), 집먼지 진드기(mites), 바퀴벌레(cockroach), 꽃가루, 애완동물에서 나오는 가죽, 털, 피부 등이 그 예이다

### 1.2 바이오에어로졸의 특성

1) 성장

바이오에어로졸은 콜로이드 용액의 물성 바탕에, 생물성 입자(Viable state: 실험실에서 배양 가능한 것)와 (비생물성 입자(Non viable : 배양은 되지 않고 인체에 민감한 반응을 주는 것)을 모두 포함한다.

2) 콜로이드 용액의 분류

콜로이드 용액: 지름이 0.1~100nm 정도의 입자가 용액 속에 분산되어 있는 상태로서 빛을 산란할 수 있을 정도의 크기를 말하며, 종류는 다음과 같다

에어로졸 (aerosol)	- 공기를 분산매로 한다 ex 연기, 안개
졸(sol)	- 액체에 고체가 분산된 것 ex 먹물, 잉크, 녹말
겔(gel)	- 진한 콜로이드 상태의 반고체 상태 ex 실리카 겔, 젤리
이멸전 (immersion)	- 액체에 액체가 분산 ex 우유, 크림
서스펜션 (suspension)	- 보통의 콜로이드 입자보다 큰 입자가 분산된 계로서 넓은 의미의 콜로이드를 말한다 ex 흙탕물

종 류	분산매	분산질	예
에어로졸	기체	액체	구름, 안개, 스모그
		고체	연기, 공기중의 먼지
졸(sol)	액체	기체	맥주거품, 기름거품
		액체	마요네즈, 크림, 우유, 혈액
		고체	비눗물, 페인트, 잉크
고체 콜로이드	고체	기체	빵, 숯, 아이스크림,
		액체	한천, 단백질, 치즈
		고체	루비유리, 적색유리

3) 생물성 입자<Viable particle(living)

10 $\mu$ m> : 생물성 입자로서 분리되어있거나 자연 상태로 혹은 집적되어있는 미생물로서 실험실에서 증식,가능한 미생물로서, 예를 들면 Virus, Fungi, Amebae, Mites, microbial Volatile organic, endotoxins, Antigen, autotrophic organism, biogenic volatiles, microbial mycotoxin &  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-Glucagons), parasitic organisms, Yeasts, Bacteria(Facultative anaerobes, gram positive bacteria, gram negative bacteria, saprophytic organisms, Thermophilic bacteria 등이 있다

4) 기본 단위(Viable Unit / Colony)

한 개의 세균 혹은 혼재된 여러 세균이 한천배지 등에서 정착(colonization)되어 성장(growth)하고 분열할 때, 육안으로 쉽게 관찰할 수 있는 고유한 집락(colony)을 형성한 세균 집합체로서 이것은 1개의 균에서 1개의 집락(colony)이 생기며, 집락을 형성하는 균은 동일한 성질을 가져야 한다, 이것이 한천배지 등의 고체배지에서 증식하여 단일 집락으로 형성될 때 세균집락(bacteria colony)이라고 한다.

5) 집락계수법(colony count method)

세균집락(bacteria colony)의 균집을 CFU (Colony Forming Units, 세균집락 형성단위)라고 하며, 단위 plate당 일반세균수를 나타내는 단위로서, 일정기간의 표준화된 시간동안(24시간, 48시간 등)배양 후 확인된 세균의 개체 수를 말하며, 이런 생물성 생균계수(viable unit)를 세는 것을 집락계수법(colony count method)이라 한다.

6) 비 생물성 입자(Non-Viable particle 약 10-50 $\mu$ m)

비생물성 입자로서 배양은 되지 않고 인체에 민감한 반응을 주는 것으로, 예를 들면 꽃가루 등의 aeroallergen, insect body part, 곡 분진 등이며, 끝으로 중간상태(Both viable and non-viable)의 몰드(spores)를 그 예로 들 수 있다.

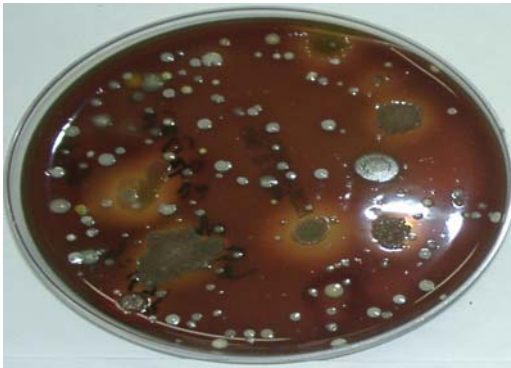


그림 1. 부유 미생물의 혈액천배지의 집락 형태 (48시간)



그림 2. 부유진균전용배지(SDA)의 곰팡이 집락 (72시간)

- ▷ Airborne matter having biological origin.
- ▷ An airborne suspension of microorganisms, microbial by-products, and/or pollen

### 1.3 바이오에어로졸과 대기환경

얼마전만해도 대기 중의 환경문제란 공장주변에 제한된 불가피한 피해로 여겨졌으나 이제 인류는 환경문제가 일부 지역 및 정치적 경계에 국한되지 않고 범지구적으로 영향을 미치며, 그 대응책도 범지구적으로 강구해야 된다는 인식이 확산되고 있다.

대기환경은 에어로졸 상태의 미생물이 서식하기에 적합하지 않다. 왜냐하면 대류권에서 고도가 높아질수록 온도, 압력 및 호기성 조건 등은 미생물이 성장하기에 나쁜 조건이기 때문이다. 비록 대기권이 미생물이 성장하는 데는 매우 열악한 환경이지만 대류권 하부에는 열적 경사(thermal gradient)가 있고, 공기가 빨리 혼합되기 때문에 상당수의 미생물이 존재한다, 이러한 미생물은 대기의 흐름에 따라 분산되고, 적응되는 방향으로 진화하였다.

대류권의 구름 등은 미생물의 일시적인 서식지로 제공된다. 구름층의 빛의 강도, 이산화탄소의 농도는 광합성 미생물의 영양분으로 제공된다, 특히 공업화 지역에서는 중속영양 세균이 성장할 수 있는 유기화합물이 존재할 것이다. 그러나 이러한 사실은 실질적으로 입증된 바 없고 추론 될 뿐이어서 향후 지속적인 연구가 진행되어야 할 것이다.

대기 중의 미생물은 수평이나 암석권에서 공중전파 된 것으로 자생적인 대기 미생물은 아직까지 알려진 바가 없다.

따라서, 대기 중의 미생물 군체 수는 토지의 성상, 동식물의 존재, 기후, 바람의 강도나 방향에 따라 크게 다르다.

특히, 실내 환경 중에 부유하거나 침착되어 있는 미생물도 자생적인 것은 극히 드물고, 작업환경 혹은 생활환경 등의 인위적인 환경오염에 의하여 전파 혹은 생성된 것이다.

이들 공기 중의 미생물은 포자 상태로 존재하는 경우가 가장 많고, 영양세포 상태로 존재하는 경우도 있다. 곰팡이 포자나 효모, 방선균 등이 생성하는 포자를 비롯해서 바이러스 등은 공기 중에서 대사활동을 거의 하지 않기 때문에 상당기간 생존할

표 1. 바이오에어로졸의 특성과 실내 발생원

Source Organism	Airborne Unit	Disease Agent	Health Effects	Organism Life style	Indoor Source
Viruses	Organisms	Influenza virus	Respiratory infection	Obligately parasitic	Human hosts
Bacteria	Organisms	Legionella pneumophila Mycobacterium tuberculosis	Pneumonia, inhalation fever respiratory infection	Facultatively parasitic Obligately parasitic	Cooling towers Human hosts
	Spores	Thermoactinomyces allergen	HP	Saprobic	Hot water systems; hot, damp surfaces
	Cell fragments, cell products	Endotoxin Allergens	Fever, chills Asthma	- -	Stagnant water reservoirs Industrial processes
Fungi	Organisms Spores	Sporobolomyces allergens Histoplasma capsulatum Alternaria allergens Aspergillus toxins: aflatoxin, ochratoxin, sterigmatocystin	HP Systemic infection Asthma, rhinitis Liver cancer	Saprobic Facultatively parasitic Saprobic -	Damp environmental surfaces Bird droppings Outdoor air, damp surfaces Damp surfaces supporting the growth of specific fungi
	Cell fragments, cell products	Allergens, glucans, toxins, MVOCs	Headaches, mucous membrane irritation	-	Damp surfaces
Protozoa	Organisms Cell fragments	Naegleria fowleri Acanthamoeba allergens	CNS infection HP	Facultatively parasitic -	Contaminated reservoirs contaminated reservoirs.
Algae	Organisms, cell fragments	Chlorococcus allergens	Asthma, rhinitis	Autotrophic	Outdoor air
Vascular Plants	pollen	Ambrosia(regaweed) allergens	Asthma, rhinitis	Autotrophic	Outdoor air
Arthropods	Fecal pellets, body parts	Dermatophagoides allergen	Asthma, rhinitis	Phagotrophic	Settled dust, house dust
Mammals	Dried skin scales, urine, saliva	Dogs, rodents, cats	Asthma, rhinitis	Phagotrophic	Animal, animal bedding
Birds	Dried excreta	Pigeon allergens	HP, asthma, rhinitis	Phagotrophic	Animals, nests, dropping

수 있으며, 두꺼운 막으로 싸여 있거나 색소를 띠고 있어서 건조, 자외선 등으로부터 보호받을 수 있고, 작은 크기와 낮은 밀도로 인해 오래 공기 중에 머물 수 있다.

일반적으로 세균, 특히 Micrococcus이나, 비병원성포도상 구균(CNS), Sarcinia 속의 구균, Bacillus 속의 간균, lactobacilli 등이 많고, 진균류는 Aspergillus, Penicillium, Alternaria, Cladosporium, Mucor, Trichoderma, Fusarium, Botrytis속 등의 곰팡이 포자나 효모, 방선균이 운

습도, 실내기류, 가스상 물질의 존재 등의 영향에 따라 다양한 오염농도 및 형태로 존재하고 있다.

#### 1.4 바이오에어로졸과 실내환경

실내공기는 오염되어있을 경우 사람, 장비나 제품 등 모든 것과 접촉해서 생길 수 있는 잠재적으로 위험한 배양체이다. 실내환경 중의 바이오에어로졸은 흔히 공기 중의 미세먼지 등에 흡착되어 부유하고 있는 부유 미생물과 실내환경 특유의 조건으로 인하여 일반 용기나 물품 등에 부착된 표면 미생물

로 나눌 수 있다. 실내 환경의 산소, 온도, 영양 및 습도 등의 환경조건에 대해 민감하기 때문에 적정 성장조건이 까다로우나, 대부분 미세먼지에 흡착되어 있어 주어진 공간과 시간의 개념으로는 정성 및 정량이 매우 어렵다. 실내 미생물들은 다습하고 환기가 불충분하며 공기질이 나쁠 경우 잘 증식하게 되기도 하며 이러한 미생물성 물질의 발생은 인간의 활동 및 일반가정에서 사용되는 각종 살포제, 공기정화기, 냉장고, 가습기, 애완동물 등으로부터 기인하며, 건물의 덕트내에 쌓인 먼지는 실내먼지 및 미생물성 물질의 또 다른 발생원이 될 수 있다. 특히 호흡기관에 균주화 되어 영향을 주고 세균수가 먼지의 농도에 정비례된다는 사실로 미루어보아 공기 청정도와 밀접한 관계가 있는 것으로 조사되고 있다. 실내의 경우는 에어컨의 사용이나 살균제 살포 등으로 레지오넬라 같은 박테리아 등이 증식할 수 있고 또한 건물의 환기장치를 통해 결핵, 폐렴 등을 옮겨 건물내 질병 발생이 촉진될 수도 있다.

특히 실내에 곰팡이가 증식하면 우선 미관이 상하게 되고 곰팡이 냄새로 인하여 불쾌감이 생기게 된다. 또한 실내 공기 중에 부유하고 있는 진균포자의 흡입은 천식을 위시한 알레르기성질환을 유발할 수 있으며, 성장시 생산되는 증산성유기물(Volatile organic compounds)과 마이코톡신 등의 진균독은 sick building syndrome과 organic dust toxic syndrome 을 일으킬 수 있다. 더욱이 최근 여

러 가지 원인에 의하여 면역기능이 저하된 환자(immunocompromized host)가 증가되고 있으며 이러한 환자에서는 실내 환경내의 진균 특히 *Aspergillus* 가 기회감염의 중요한 원인균이 되고 있다. 따라서 실내 환경에서 진균을 비롯한 각종 미생물 증식은 단순히 미관을 해치고 건축물을 약화시키는 기능적, 경제적인 문제뿐만 아니라 건강을 위협하는 요인이 되고 있다.

## 2.1 개론

### 2.1.1 동정(Identification)과 분류 시스템

동정(同定): “미지의 미생물의 이름을 밝혀서 한가지로 정하는 작업” 이라고 할 수 있으며 효과적으로 미생물을 분류할 수 있는 세균의 특성을 말하며, 이를테면 많은 특징들을 나열하여 양성=1, 음성=0. computer로 특징을 match 시켜 숫자가 클수록 가까운 원리를 이용하는 수치 분류법(Numerical Taxonomy)과 계통학적 분류법으로 유전학적 차이 측정, 즉 세균간의 진화적 관계를 이용하여 DNA 염기서열(특히 conserved 16S ribosome), GC content, DNA cross hybridization 등을 측정함으로써 계통학적으로 가까운 것은 가까운 선조가 동일할 것이라는 의미로 분류하는 시스템 방법이 최근에 널리 활용되고 있는 방법이다.

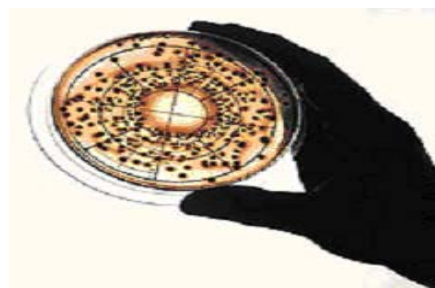


그림 3. 바이오에어로졸에서 포집된 박테리아의 예

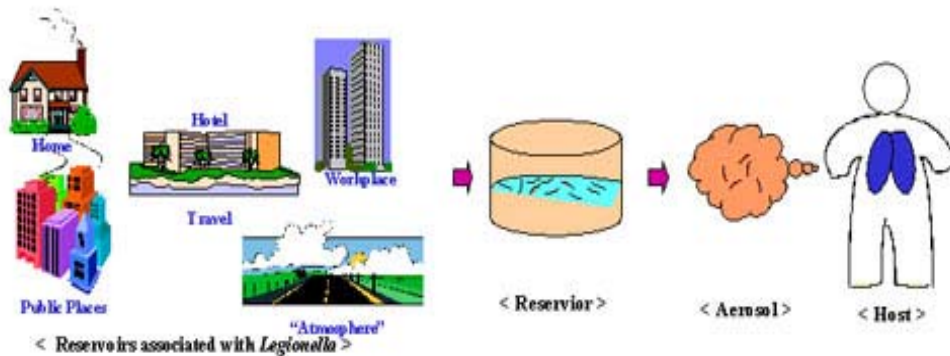


그림 4. 바이오에어로졸의 전파경로

병원성 세균의 동정은 성장배지와 감별배지에 의한 균 배양으로 균 집락을 확보한 후, 그 균 집락으로 다양한 생화학적 검사를 실시하여 생화학적 특성의 조합으로 특정 균주임을 동정한다. 그러나 이 방법은 균 배양을 전제로 하고 있으므로 배양에 걸리는 시간이 지체된 후에야 동정단계에 들어갈 수 있는 한계점을 가지고 있다. 따라서 성장 속도가 느린 결핵균이나 비결핵마이코박테리아 균주들 또는 배양이 어려운 검체물(혈액, 뇌척수액 등)에는 한계가 있어 최근에는 신속동정에 대한 요구도 범세계적이다.

최근에는 DNA chip을 이용한 유전자형 분석 시스템 연구가 활발한데, 이러한 유전형 분석에 의한 균주 동정시에는 유전자 증폭 반응을 도입할 수 있어서 균 배양 없이도 바로 가검물에서 유전자를 분석할 수 있다. 특히 BioChip을 이용할 경우에는 배양 후 검사단계도 단 한번의 교잡반응(hybridization)만으로 결과를 얻을 수 있으므로 실제 검체 채취 당일에 균주동정 결과를 보고해 줄 수 있다.

조만간 병원성 세균의 종 특이적인 유전자 부위를 탐식자(probe)로 하는 DNA Chip(oligonucleotide chip)을 개발하여 기존의 균배양 및 생화학적 방법에 의한 균 동정(identification)법을 전면적으로 대체할 시스템의 개발 되겠지만 아직까지는 시스템의 데이

터베이스가 완벽하지 못하고 제한된 숫자의 균주에 기반을 두고 있으므로, 단순 데이터의 최종해석 및 결정은 매우 위험하다. 동정에는 숙달과 colony observation에 대한 탁월한 경험과 연륜이 필요하다. 왜냐하면 데이터베이스에 대한 맹목적인 신뢰는 때로는 돌이킬 수 없는 판단상의 오차(error)로 이어 질 수 있기 때문이다. 우리에게 범전이 있어도 결국에는 판사가 판결을 하듯 동정에는 다년간의 책임 있는 전문성이 반드시 필요하다.

## 2.2 전파경로

공기 중의 미생물은 각종 실내동물, 에어컨, 공기 정화기 등에서 번식하여 호흡기 질환이나 알레르기 질환을 유발시키킨다. 미생물의 위험도는 미생물의 공기중(airborne) 혹은 수중(waterborne)분포 정도와 이들 미생물에 대한 인간의 감염 민감도에 의해 좌우된다. 특히 폐렴, 결핵, 디프테리아, 백일해, 재향군인병(Legionnaires disease) 등은 공기를 통하여 직접 전파되는 감염병 들이다.

미생물에 의한 인체 감염경로는 첫째 중개물에 의한 전이(Vector transmission) 둘째, 접촉전이(Contact transmission) 셋째, 오염된 물질에 의한 전이(Transmission by contaminated vehicles)

넷째, 공기를 통한 전이(airborne spread)의 4가지 전이를 통하여 외부로부터 얻어진 미생물에 의하여 발생되는데, 이중 공기중 오염물로부터 발생될 수 있는 빈도는 15 - 25%가 된다. 따라서 많은 사람이 모이는 공중 이용시설은 비말감염(droplet infection), 접촉감염(contact infection), 교차감염(cross infection), 기회감염(opportunities) 등 특수한 조건이 형성되면서 감염원이 생긴다.

실내 바이오에어로졸이 문제가 되기 위한 조건으로는 미생물 성장에 필수적인 2가지 요건은 영양분과 습기이다, 이러한 조건들은 모든 가정, 사무실, 작업장 등의 사람이 주로 거주하는 곳에 생물학적인 인자로 ①미생물이 성장하기 위한 적절한 장소(reservoir): 냉각용 코일에서 흘러나오는 물을 저장하는 통 ②미생물의 성장에 필요한 영양분: 냉각용 코일에서 흘러나오는 물을 저장하는 통에 들어 있는 유기먼지 ③기타 쾌적한 미생물의 증식 조건 ④미생물을 포함한 물이나 매체의 공기 중 분산(aerosolization) 또는 비산(dissemination: 냉각용 코일에서 흘러나오는 미생물이 환기구를 통해 공기 중으로 뿌려지는 것) 등의 4가지 조건으로 존재하기 때문에 역설적으로 상기 조건들의 인위적인 차단도 필요하다.

### 2.2.1 감염(Infection)

1) **감염**: 감염이란 살아있는 병원균 미생물이나 균의 성장과 독소형성에 적합한 상태로 있는 숙주의 체내에 침입하여 조직에 손상을 입히는 과정을 말하며 이때 감염을 일으키는 세균, 스피로헤타, 곰팡이, 바이러스 등의 미생물을 감염균이라 한다.

### 2.2.2 병원감염(Infection)

2) **병원감염**: "병원 환경에서 얻은 감염"이란 의미의 hospital acquired infection 또는 퇴원환원에서 병원을 의미하는 Nosocomia를 붙여서

Nosocomia Infection(병원 감염)이라고도 하는데 『병원에 입원당시에는 감염을 받지 않았거나 잠복기에 있지 않은 사람이 병원에 입원한 후 감염되어 감염증을 일으키는 상태 및 병원에서 퇴원한 후에 증상을 일으키는 상태』를 병원 감염이라고 미국보건협회는 정의한 바 있다.

미국의 병원협회는 병원감염에 의한 환자 사망률이 교통사고에 의한 사망률보다 높다고 보고하고 있다. 독일에서는 약3천1백 개의 병원에서 매년 50만에서 80만 명의 환자들이 감염되고 그 중 약 1만3천여 명의 환자들이 병원감염으로 인하여 사망한다고 보도된바 있으며 우리나라 문헌에 따르면 병원감염의 발생빈도는 일반적으로 병원 입원환자의 2.8~15%정도로 발표되고 있다. 그러나 실제 국내의 경우 몇 명이 병원감염으로 숨지는지에 대한 기초자료조차도 없는 실정이다. 최근 자료에 따르면 국내 감염 전문가들은 국내 입원환자 4백여만 명 중 최소 1만 명이 각종 병원 감염으로 사망하는 것으로 추정하고 있다(동아일보 인터넷자료, 2002년5월 16일) 이와 같이 병원감염의 문제는 의학이 발달된 오늘날에도 심각한 문제로 대두되고 있으며 이에 따라 국가 의료비 지출에도 커다란 영향을 주고 있다.

1859년 영국의 간호사 나이팅게일은 "대도시 병원에 입원한 환자의 사망률이 병원이 아닌 다른 곳에서 치료를 받는 같은 질병의 환자들의 사망률보다 훨씬 더 높다"고 보고하고 있다. 그녀는 병원 건축에 있어서 디자인, 맑은 공기, 빛과 환기가 환자의 건강을 증진시키는 요소임을 알아내고 천장이 높고 커다란 창문이 있어서 채광과 환기가 잘되는 나이팅게일식(파빌리온식)병원을 제안하였다. 이런 병원에 입원한 환자들은 병동에서 바로 외부의 치유정원으로 나갈 수 있었다.

그러나 지난 20세기의 근대식 병원 건축에서는 기능성과 의료기술의 도입만 강조되어 의료의 첨단 의료 장비의 효율성과 실용에 따른 하드웨어적인



기능성은 향상되었지만 환자의 건강을 증진시킬 수 있는 병원환경의 질(質)은 완전히 무시 되었다. 오늘날에는 병원의 기능이 점점 복잡해짐에 따라 병원 형태를 결정하는데 있어서 병원감염보다는 운영의 효율성을 더 중요시 하게 되었고 이에 따라 여러 종류의 부서가 한 건물 안에 서로 밀접 배치됨으로써 병원 감염의 문제는 더욱 심각하게 되었다. 최근의 연구보고서에 의하면 회색빛의 콘크리트 숲에 둘러싸인 환경속의 병원환경보다 병원 입원실의 창문으로 산이나 들, 나무 등을 내다볼 수 있는 곳에 있는 환자가 그렇지 못한 곳의 환자에 비해 회복속도가 현저히 빠르다는 것이 밝혀졌다. 녹색을 바라보고 있으면 긴장과 통증을 유발시키는 델타파가 줄고 심신을 안정되고 편안하게 해주는 알파파가 증가한다고 한다. 그럼에도 불구하고 현재 우리나라에는 병원감염에 대한 대응하기 위한 환경관리 및 건축시설에 대한 연구가 거의 이루어지지 않고 있으며, 건축가들은 감염에 대한 특별한 지식이 없이 환자 및 직원의 이동에 따른 짧은 동선을 통해서 해결할 수 있는 콤팩트한 집중형 병원을 출현시키고 있으며, 그 결과는 잘못된 건축물 환경과 환기부족, 에너지 절감 차원의 냉난방의 기밀성 등의 비전문적인 빌딩관리로 인하여 오염된 공기를 타고 병원균이 병원전체에 쉽게 퍼져나가게 되어 병원 감

염의 또 다른 간접적인 원인으로 나타나고 있다.

### 2.2.3. 병원감염의 실제 추정원인

독일의 감염학자인 보르네프는 병원감염은 주로 의사 및 간호사의 접촉을 통해서 이루어지며 특히 의료진의 오염된 손이 가장 큰 원인이라고 지적하고 있다. 그는 또한 최근 증가하는 병원감염의 원인을 다음과 같이 설명하고 있다.

1) 항생제의 잘못된 사용으로 병원균의 저항력이 점점 증가 하고 있다.

2) 입원 환자의 구성 및 질병 구조가 과거와는 달라지고 있다. 예를 들면 최근 입원 환자 중에는 면역성이 낮은 중증의 환자나 노인환자의 비율이 점점 증가하는 추세에 있고 또한 집중치료 방법에 따라 환자의 감염에 대한 저항력도 저하되고 있다.

3) 의료공학의 발달로 의료가기가 인체의 내부에 삽입됨으로써 과거보다 병원균의 체내 전달이 쉬워졌다.

4) 항생제의 발달과 이에 대한 과신으로 멸균과 속독의 중요성을 소홀히 하는 경향이 생기게 되었다.

5) 잘못된 건축설계 및 설비계획으로 말미암아 병원균이 병원 전체에 쉽게 퍼져나가게 되었다.

이상과 같이 볼 때 병원감염의 근본적인 원인은 우선 의료진의 손이나 환경에 의한 의료상의 문제



그림 5. 파비리온 식 병원의 실례 사례



그림 6. 현대병원의 입원실 사례

이고 또한 환자의 면역상태가 약화되어 병에 대한 저항력이 저하되었기 때문임을 알 수 있다. 그러나 감염 학자들은 병원감염에 대한 대책은 올바른 의료행위와 이에 대응하는 건축시설이 있을 때 비로소 실현될 수 있다고 주장하고 있다. 즉 건축 시설이란 병원감염을 방지하기 위한 충분조건은 되지 못하겠지만 없어서는 안 될 필수 조건이 된다는 것에 의견이 일치하고 있다. 물론 건축시설을 잘 갖추고 있다고 해서 병원감염이 차단되는 것은 아니지만 병원감염을 줄이기 위해서는 의료진의 노력 외에도 이에 대응하는 올바른 적법한 환기시설, 위생 시설 등의 건축시설이 전제되어야 하며, 그 이유는 병원감염은 아무리 철저히 하여도 100% 차단하는 것은 불가능한 상황이다. 그러나 중요한 것은 병원 감염 예방을 위하여 얼마나 많은 노력과 시설투자를 하느냐에 달려있으며, 현대의 중앙 진료부의 개념의 진료 시스템은 병원 감염에 영향을 미치는 인자가 너무 많기 때문에 일반적으로 결론을 내리기 어렵지만, 향후 의료진, 감염학자, 심리학자, 산업위생전문가, 건축가 등이 공동으로 연구해야할 과제이다.

### 2.2.4 기회감염성 (opportunistic pathogens)

일반적인 모든 사람들을 감염시키기보다는 우선적으로 질병(예, 당뇨병, 암, 백혈병, 낭포성 섬유증, 알콜중독, 선천성 혹은 후천성 면역 결핍증, 화상, 외상, 항생제나 면역저해제 등의 약물투여 등)으로 숙주의 저항력이 약해진 사람들을 감염시키는 특성을 말한다.

### 2.2.5 정상세균 균총(normal flora)

건강한 정상인의 피부, 점막, 장내 등에 사는 미생물의 집단으로 수시간, 수일 또는 수주 동안 거주하는 일시적인 세균총을 말하며, 주 역할로는 비타민 K 합성, 병원균의 정착 방해(수용체나 결합부위에 대한 경쟁, 영양분에 대한 경쟁, 독성물질의 생산, 항생물질, 박테리오파지 등의 생산 등),강제로 환경의 제약을 벗어나 혈액이나 조직으로 들어갈 경우에는 질병을 유발하게 된다.

### 2.2.6 오염과 인체 반응

오염 (Contamination)이란 미생물이 인체내에서 증식하지 못하고 일시적으로 생명을 유지하는

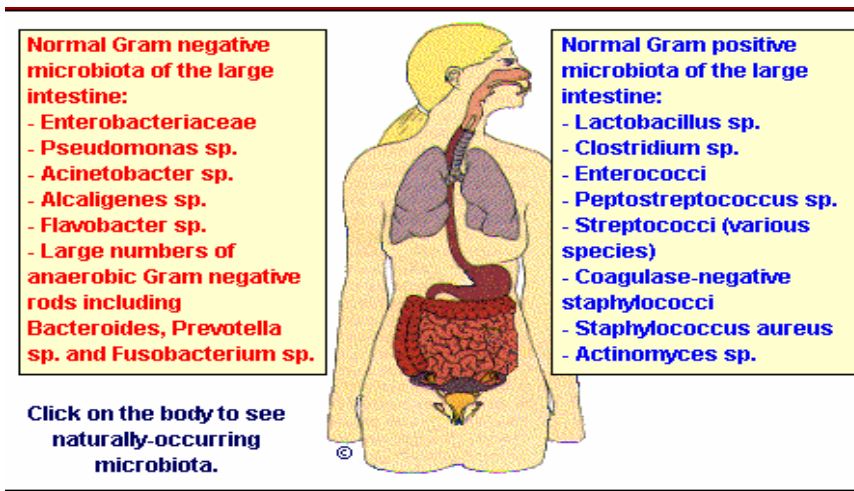


그림 7. 여성 신체의 정상상주 균총

경우를 말한다. 이는 사람과 미생물과의 접촉에서 가장 빈번하게 생기는 경우이다. 정착 (Colonization)은 미생물이 인체내에서 단순히 서식하고 있는 상태이며, 감염과는 차이가 있다. 미생물의 정착은 외계와 통하고 있는 인체의 기관인 코, 구강, 위장관, 요도, 질, 귀, 눈 등에서 이루어지며 주로 비병원성 또는 병원성인 약한 미생물에 의하여 성립된다. 이러한 미생물들 사이의 균형이 깨지거나 병원성 미생물이 정착부위를 떠나서 다른 부위로 가면 감염증을 일으키게 된다. 불현감염 (Inapparent infection)은 증세는 없지만 감염은 성립된 경우(미생물의 증식과 침범)이며 증세가 없어서 임상진단은 불가능하지만 침범부위에는 병리학적인 변화가 있고 항체가 출현한다. 현증감염 (Apparent infection)은 감염된 다음에 병리학적인 변화와 미생물에 대한 항체가 생길 뿐만 아니라 임상 증세가 나타나는 경우를 뜻하며 이때 비로소 감염병 또는 감염증이라고 불리고 치료의 대상이 된다.

2.2.7 오염과 감염에 관여하는 인자

미생물과의 접촉은 오염, 정착, 감염(불현성 감염, 현증감염)으로 나누어 생각할 수 있다.

미생물과 숙주인 사람과의 접촉이 오염, 정착, 불현감염, 현증감염의 차이가 생기는 이유는 ① 미생물의 병원성 (pathogenicity), 병독력 (virulence), 침입경로, 침입량 등 미생물의 속성의 차이 ② 숙주인 사람의 속성 즉 저항력(resistance)의 차이 ③사

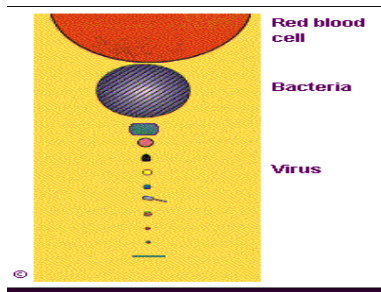


그림 8. 세균 형태

람이나 미생물이 살고 있는 환경인자의 차이 때문이다. 환경인자로는 생물학적 인자, 지리적 인자, 계절적 인자, 사회적 인자 등이 있다. 감염병의 발생은 이 세 가지 인자 즉 **미생물, 숙주, 환경**의 상호관계로 이루어지며 이를 감염병 발생의 3 대인자라고 부른다.

II. 바이오에어로졸과 미생물

3.1 미생물의 개론

미생물이란 .....곰팡이, 효모, 세균, 조류, (바이러스)로 크게 나누어지며, 일반적으로 흙 1g 중  $10^6-10^7$ , 공기  $1m^3$ 중에  $10^4$ 정도 존재한다, 또한 부패, 전염병의 원인이나, 생활환경속에서는 발효에도 이용되며, 병원성미생물(pathogenic bacteria)은 식중독이나 각종 질병을 유발하는 병원성을 띤 미생물을 가리킨다.

많은 미생물은 단 한개의 세포로 되어있으며, 세포는 세포질 막에 의해 주위 환경과 격리된다. 살아있는 세포는 자신의 형태를 스스로 증식할 수 있는 능력을 갖고 있다. 다세포성 미생물의 경우 세포는 조직(tissue)과 기관(organ)으로 좀더 분화된 구조로 체계화된다.

3.1.1 바이러스 (Virus)

세균형태	형의 호칭	세균의 종류 (속)	세균형태	형의 호칭	세균의 종류 (속)
	단 간 균	Escherichia (대장균) Brevibacterium		막 균	Acetobacter (초산균)
	쌍 간 균	Lactobacillus (불가리아유산균)		자 상	Rhizobium(근류균)
	막 균	Bacillus anthracis (탄저병균)		코리네형	Corynebacterium
	막 주형	Fusobacterium		굴마상	Vibrio(굴레라균)
				나선상	Spirillum

그림 9. 바이러스와 세균

바이러스는 기본적인 유전정보와 이를 둘러싼 단백질로 구성된 비 세포적 구성체로서 숙주세포의 존재하에서만 생존 증식할 수 있는 절대적인 기생체이다. 바이러스는 생명체 중에서 아주 독특한 집단이다. 한때는 이것이 생명체인지 아닌 지에 대한 논란이 있었을 정도로 특이한 생명체인 것이다. 그러나 지금은 모두 바이러스가 생명체이며 그것도 우리와 매우 가까이 존재하며, 우리의 생활과 밀접한 관계를 맺고 있다고 인식하고 있다. 생물학을 전혀 모르는 사람들조차도 바이러스가 어떤 존재라는 것을 인식하고 있는 형편이기도 하다.

예를 들어 곰팡이나 기생충은 진핵생물, 즉 일반 세포처럼 핵막으로 둘러싸인 핵과 여러 소기관을 가지고 있다. 결핵이나 식중독을 일으키는 세균(박테리아)은 원핵생물로서, 핵막이 없고 소기관이 다소 부족해 진핵생물보다 여러모로 격이 떨어지지만 엄연히 생물이다

세균이나 진핵생물인 곰팡이, 효모 등의 미생물은 핵산 물질인 DNA와 RNA 양쪽을 모두 소유하고 있으며 모든 에너지 생산기구와 단백질합성기구를 자체 내에 가지고 있으며 세포의 형태를 가지는 미세한 생물이었다. 그러나 바이러스는 크기도 너무 작을 뿐 아니라 핵산도 DNA나 RNA 중에 어느 한쪽만 가지고 있으며 에너지 생산뿐만 아니라 단백질 생산까지도 독립적으로 할 수 없어 항상 다른 생물의 세포를 빌어 생활하는 것이 바이러스다

생물과 무생물의 중간적 존재이며, 세균보다 작아서 세균여과기로도 분리할 수 없고, 전자현미경을 사용하지 않으면 볼 수 없는 작은 입자로서 크기는 콜로이드 입자와 유사한 수십~수백 nm이다.

특히 물에서 인체건강에 중요한 바이러스는 사람의 장관에 감염하여 분변으로 배출되는 장관계바이러스이다. 이들 바이러스는 대부분 "분변-구강 전파"경로를 거쳐 사람끼리의 직접접촉을 통하여 감염된다. 그러나 하수나 처리수 및 처리고형물에 존재하므로 지표수나 토양에 배출되고 따라서 먹는물의

수원으로 쓰이는 지표수나 지하수가 오염될 수 있다.

인공적인 배지에서는 배양할 수 없지만 살아 있는 세포에서는 선택적으로 기증·증식한다. 바이러스는 생존에 필요한 물질로서 핵산(DNA 또는 RNA)과 소수의 단백질만을 가지고 있으므로, 그 밖의 모든 것은 숙주세포에 의존하여 살아간다. 결정체로도 얻을 수 있기 때문에 생물·무생물 사이에 논란의 여지가 있지만, 증식과 유전이라는 생물 특유의 성질을 가지고 있어서 대체로 생명체로 간주되며, 감염성질환의 하나이다. 성장여건은 바이러스의 분자구성물질에 의하여 결정된다. 즉 지방성분이 주된 바이러스는 비교적 낮은 습도를, 그러나 핵산과 단백질로 구성된 바이러스는 비교적 높은 습도를 각각 선호한다. 예컨대 adenovirus와 coxsackie virus는 비습이 70% 이상 되는 환경을 좋아하며 반면 홍역바이러스, influenza virus, 풍진바이러스, 수두, herpes 바이러스들은 50% 미만의 비습일 때 오래 생존한다.

바이러스에 의한 병의 종류는 많고, 감염의 방법이나 발병하기까지의 경위 등이 종류에 따라 다양하다. 동물 바이러스에 의한 병으로는 일본뇌염·유행성출혈열·간염·광견병·인플루엔자·홍역·풍진·두창·우두 등이 있고, 식물 바이러스에 의한 병으로는 감자·콩·사탕수수·사탕무와 과수작물 등에 모자이크병·위축병·괴사·반점·변색 등을 유발하는 대부분의 질병이 있다. 사람의 바이러스에 의한 병은 한 번 걸리면 재발하지 않으나(small pox) 몇 번이나 걸리는 인플루엔자 등 사람과의 복잡한 인자의 조합에 의하여 병에도 여러 가지 다른 유형이 나타난다. 이들 바이러스병 치료에는特效약이 없으므로 백신이나 항혈청에 의하여 예방접종에 중점을 두며, 발병 후에는 대증요법과 합병증의 예방을 하는 것이 최선이다. 따라서, 인터페론(interferon)과 같은 항바이러스제(antiviral agent)의 개발에 대한 연구는 바이러스병 치료를 위한 중요한 과제이다

바이러스가 침범하는 대상에 따라 동물 바이러스, 식물 바이러스, 세균 바이러스로 나누어진다.

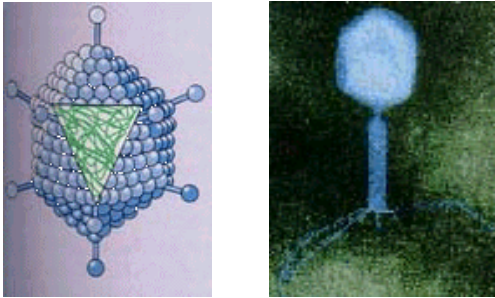


그림 10. 바이러스 사진

### 3.1.2 중증급성호흡기증후군(Severe Acute Respiratory Syndrome):

2003년 3월 동남아시아에서 발생해 아시아·유럽·북아메리카 등으로 확산된 호흡기 계통의 질환으로 감염 경로는 아직 정확하게 밝혀지지는 않았지만, 각국의 전문가들은 코로나 바이러스(corona virus)가 병원균일 가능성이 높은 것으로 보고 있다.

전파는 이 질병에 감염된 사람의 치료나 간호 또는 함께 생활하는 사람 등 환자와 밀접한 접촉을 하는 사람들에게 주로 일어나며, 호흡기 분비물이나 체액의 직접적인 접촉을 통해 전파되는 것으로 알려져 있다.

### 3.1.3 세균

개론 : 생활환경과 작업환경중의 생물학적 인자 중에서 가장 많은 연구가 이루어지고 있는 종류가 세균(bacteria)으로서, "미생물" 하면 가장 먼저 세균을 연상하게 된다. 세균은 단일세포로 이루어진 원핵생물(procaryote)로서 1~10 um 정도 크기의 구형, 간형, 나선형 모양의 간단한 형태를 갖는다. 세균은 영양요구조건에 따라 광무기영양성, 광유기영양성, 화학무기영양성, 화학유기영양성으로 나뉘어 지는데, 수인성 질병과 관련된 병원세균이나 지표세균은 탄소와 에너지를 모두 유기물의 산화 및 동화에 의존하는 화학유기영양성 중속영양미생물 들이다. 세균은 특정한 영양요구 이외에도 산소

요구량 및 적합한 산화환원전위에 있어서 다양한 변이를 보여, 산소를 필요로 하거나(절대호기성), 산소에 의하여 성장이 둔화/저해 되거나(혐기성), 산소가 있건 없건 성장하는(통성 혐기성)종류가 있고, 산소 농도가 낮을 때만 성장하는 것(미호기성)도 있다. 세균의 생리학적 요구조건을 알고 있으면 물 시료로부터 다양한 생리학적 유형들을 분리시킬 수 있는데 선택적배양(selective culture)기술이나 농후배양(enrichment culture)기술을 사용하여 분석한다.

#### 1)분류방법:

① 형태적: 간균, 구균, 나선균 등의 세포의 모습과 군체들의 배열(쌍구균, 사련구균, 팔련구균 등), 세포를 싸고 있는 협막의 유무, 편모의 존재와 위치, 내생 포자의 형성, Gram 염색반응

② 생리적: 산소와의 관계(호기성, 혐기성, 통성 혐기성, 미호기성), 에너지를 얻는 방법(광에너지, 화학에너지), 영양 요구성, 최적 혹은 한계 온도나 pH, 서식처, 공생 기생관계, 세포구성성분 (세포벽 물질, 색소, 세포 내 함유물질, 협막 구성물질), 항생제 저항성 등

#### 2)세균의 형태

세균은 미세한 단세포 생활체이다. 그 형태는 고정된 것이 아니라, 배양조건과 해양상태에 따라 달라진다. 세균의 기본형태는 일반적으로 적당한 배지에서 20~24시간 배양한 것을 관찰하는 것이 보통이다.

구형이나 타원형인 것을 구균(球菌, coccus, 복수 cocci)이라 하고, 원통형이거나 막대기처럼 길쭉한 것을 간균(桿菌, baillus)이라 하며, 나선형인 것을 나선균(螺旋菌, spirillum)이라 한다.

#### ① 구균(coccus/cocci)

구균은 종류에 따라 특이하게 배열하기 때문에 이러한 세균의 배열상태는 세균 분류기준의 하나가 된다. 구균의 종류는 다음과 같다.

- 세포가 흩어지는 단구균(單球菌, monococcus)
- 세포가 2개씩 연결되는 것으로 2개씩 짝을 이룬다. 쌍구균(雙球菌, diplococcus, pneumoniae)
- 한쪽 방향으로만 분열하여 길게 연쇄상으로 연결되는 연쇄상구균(連鎖狀球菌, streptococcus)
- 2방향으로 4개의 균이 정사각형으로 연결되는 4연구균(連球菌, tetracoccus, pediococcus)
- 3방향으로 4개가 상하로 정입방체로 연결되는 8연구균(連球菌, octacoccus, sarcina)
- 분열방향이 불규칙하여 포도송이 모양의 배열을 하는 것(葡萄狀球菌, staphylococcus)

## ② 간균(bacillus/bacilli)

간균은 구균처럼 여러 가지의 특이한 배열을 하지 않는다. 간균의 형태는 종에 따라 다양한데, 양끝이 각이진 것(고초균), 뾰족한 것, 둥근 것(대장균), 곤봉상(디프테리아균)을 하는 것이 있다. 연쇄간균은 균의 배열이 연쇄를 이룬다.

간균이 쌍을 이루거나 연쇄상으로 배열하는 경우가 있는데, 이것을 연쇄상간균이라 하며, 디프테리아균에서 볼 수 있다. 간균은 그 길이가 폭보다 약간 긴 것이 보통이다. 그러나, 편의상 길이가 폭의 2배 이상인 장간균, 2배 이하인 단간균으로 대별한다.

간균은 양쪽 끝이 둥근 것이 보통이나 Bacillus anthracis와 같이 각이진 것도 있다. 또한 포자를 형성하는 세균 중에서 포자 때문에 세포의 일부가 팽대하여 중앙이 방추형처럼 두터워진 것을 Clostridium, 끝이 팽대하여 곤봉처럼 된 것을 Plec-tridium이라고 한다.

③ 나선균(spiral form)은 한번 이상 뒤틀려 있다. 어떤 것은 쉘모양으로 휘어진 간상으로 vibrios라 부르며, 어떤 것은 몸체가 단단하고 타래송곳 모양의 독특한 나선형으로 spirilla라 부른다. 또한 spirochetes는 나선형이나 spirilla와는 달리 이들의 몸을 구부리고 흔들면서 이동한다.

나선균은 개개의 세포가 흐트러져 있고 배열하는

경우는 거의 없다.

나선균은 한번 이상 뒤틀려 있다. 어떤 것은 쉘모양으로 휘어진 간상으로 vibrios라 부르며, 어떤 것은 몸체가 단단하고 타래송곳 모양의 독특한 나선형으로 spirilla라 부른다. 또한 spirochetes는 나선형이나 spirilla와는 달리 이들의 몸을 구부리고 흔들면서 이동한다.

## 4) 현미경을이용한세균의관찰

미생물이나 생물의 세포학적 특성은 현미경을 이용해야만 한다.

- 광학 현미경 : 가시광선을 이용한 것으로 가장 널리 사용한다.
- 암시야 현미경 : 암시야 콘덴서를 이용하여 어두운 시야에서 물체를 관찰. 매독균 관찰에 이용한다
- 해부 현미경 : 생물체를 해부할 때 사용한다
- 형광 현미경 : 자외선에 의한 형광에 의하여 상에 생긴 명암의 차로 관찰
- 위상차 현미경 : 피검체의 광학적 두께의 차이에 의하여 상에 생긴 명암의 차로 관찰. 살아있는 세포 내부를 볼 때 사용한다
- 전자 현미경 : 높은 해상력으로 관성 대신 전자파를 이용하여 세포의 미세구조까지 관찰이 가능하다.

## 3.2 그람양성구균(Gram-positive cocci)

그람염색에서 crystal violet에 염색되고, 현미경에서 구형이나 타원형인 것을 구균(球菌, coccus, 복수 cocci)이라 한다. 미크로코쿠스과의 한 속(屬)인 포도상 구균(staphylococci)과 연쇄상 구균(streptococci)이 대표적인 균종이다. 포도상구균은 0.8~1.0 $\mu$ m의 공 모양이다. 보통 배지에서 쉽게 배양된다. 비운동성·아포비형성성(芽胞非形成性)의 통성 혐기성세균으로 고체배지상에서는 무차별한 공

간방향으로 분열증식하여 포도알모양으로 배열하므로 이 이름이 붙여졌다. 그러나 쌍구균모양이나 짧은 사슬모양으로 배열하는 것도 있다. 병원성이 약한 표피포도상구균은 사람의 피부 및 점막 위에 상재하지만, 병원성이 강한 황색포도상구균은 연쇄상구균과 마찬가지로 화농의 대표적인 병원균이며, 식중독의 원인균이기도 하다. 황색포도상구균 대부분은 용혈독소( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ 가 있다), 식중독 증상을 일으키는 장관독(엔테로톡신) 및 여러 효소 또는 균체(菌體) 외 단백질 등(사람의 혈장을 응고시키는 코아글라제·프로테아제·뉴클레아제·페니실리나아제 등)을 생산한다. 포도상구균 엔테로톡신은 열에 안정적이므로 포도상구균에 오염된 음식은 가열해도 중독을 예방할 수 없다. 따라서 대표적인 식중독 예방 균종이기도하며, 공기, 의료인의 손, 기구 등에 가장 널리 오염되어 있는 생존력이 강한 균이다.

### 3.2.1 포도상 구균

- 불규칙한 포도송이 모양, 그람양성구균, 색소 생산(황색), catalase 생산

#### A. Staphylococcus aureus

- coagulase 양성
- 식중독(heat-stable enterotoxin), 피부감염, 부스럼(furuncle), 국소농양(abscess)
- 항생제 내성 포도구균이 문제가 된다

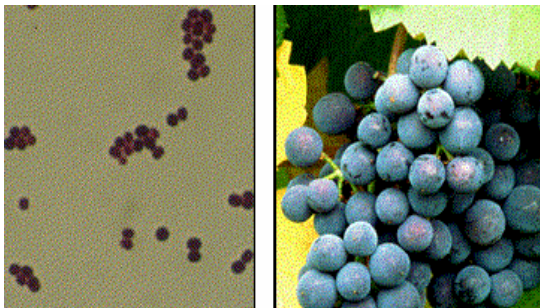
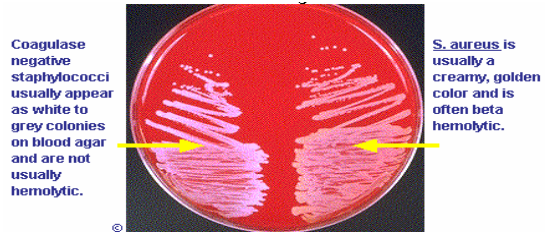


그림 11. 포도상 구균

d. 감염의 접촉 전파는 코 또는 피부 신생아 보육실, 수술실, 항암치료병동이 위험

#### B. Staphylococcus epidermidis 점막과 피부의 정상세균총



*Staphylococcus epidermidis* 와 *Staphylococcus aureus*

### 3.10. 독소(toxin)

#### 3.10.1 내독소 (endotoxin)의 측정법

세균성 엔도톡신(bacterial endotoxin)은 일반적으로 그람음성간균(Gram-negative bacilli)의 세포외벽에 존재하는 물질로 박테리아가 살아있는 동안에는 발현되지 않지만 박테리아가 증식하거나 사멸할 때 세포의 벽이 깨지면서 외부로 방출된다.

그람음성간균은 물, 공기, 토양 중에서 일반적으로 발견되므로 엔도톡신 역시 자연 상태에서 도처에 존재하게 된다. 자연 상태의 엔도톡신은 지질, 탄수화물, 단백질로 구성되어 있으며 대단히 안정하고 열에 강하며 음전하를 띄고, 큰 분자량

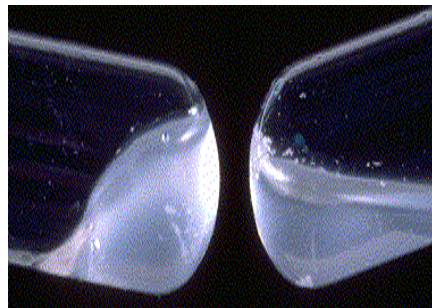


그림 12. coagulase tube법의 양성결과 음성

(1,000,000 dalton 이상)을 가진다. 이러한 성질로 인해 엔도톡신은 한번 오염되면 제거하기가 힘들고 제거하더라도 많은 비용과 노력이 들므로 사전에 오염되지 않도록 주의하는 것이 가장 좋은 방법이다. 엔도톡신을 정제해 단백질을 제외했을 때 이 물질을 lipopolysaccharide(LPS)라 부르며 LAL 시험에 있어 standard로 사용된다.

투구개의 혈구추출성분인 LAL 시약에는 엔도톡신에 반응하는 C 인자가 있다. 이 인자가 반응을 시작하여 연속적인 반응을 일으켜 최종적으로 LAL시약에 있는 clotting enzyme이 coagulation을 coaguline으로 변성시켜 겔을 형성하게 한다. 이때 겔이 형성되는 과정 중에 spectrophotometer를 이용하여 이미 알고 있는 엔도톡신 검량선의 탁도 증가의 속도와 샘플의 탁도 증가 속도를 측정 비교하여 샘플의 엔도톡신 양을 정량분석하는 방법이다. 이 방법을 kinetic Turbidimetric Assay 라고 한다. 또한 발색기질을 LAL시약에 첨가하여 clotting enzyme이 이 기질을 가수분해하여 p-nitroAniline을 나타내어 노란색의 발색기를 나타낸다. 이 과정을 측정하여 엔도톡신을 분석하는 방법을 Kinetic Chromogenic Assay라고 한다. 이 두 방법의 차이는 발색기질의 차이일 뿐 반응 기작은 동일하며, 샘플의 종류에 따라 적절한 시험법을 사용한다.

### 3) 엔도톡신 분석방법

공기중 엔도톡신은 분석법은 Membrane Filter 법(멸균된 Glass Fiber Filter, 37 mm)으로 약 2.0 LPM으로 4-6시간 공기 중 시료를 채취한 후 다음과 같이 크게 두 가지로 분석법을 나눌 수 있다. 즉 제품 내에 들어있는 엔도톡신의 한도를 정해, 그 한도 이상인지 이하인지만을 판단하는 정성적인 방법과 시험샘플 내의 엔도톡신을 정량하는 방법이 있다.

① 겔화법(정성분석) : 이것은 이미 정해진 시험 감도를 가진 시약에 샘플을 넣어, 그 샘플 내에 시약의 감도를 초과하는 엔도톡신이 함유되어 있는 경우 겔이 형성되고, 그렇지 않은 경우는 겔이 형성되지 않도록 고안된 방법으로 합격 또는 불합격만을 판단하는 방법이다. 이 방법은 가장 오래된 엔도톡신 시험법으로 전세계적으로 오랫동안 널리 쓰여지고 있다. 이 방법의 장점은 비교적 간단한 실험으로 쉽게 실험할 수 있고 항온조 등의 기본적인 장비만으로 시험이 가능하다는 점이다. 하지만 정량분석이 아니라는 점과 많은 수의 샘플을 시험할 경우 시험이 번거로운 단점이 있다.

② 키네틱법(정량분석) : 이 방법은 최근 10년 동안 개발되고 발전된 방법이다. 정량분석법은 이미

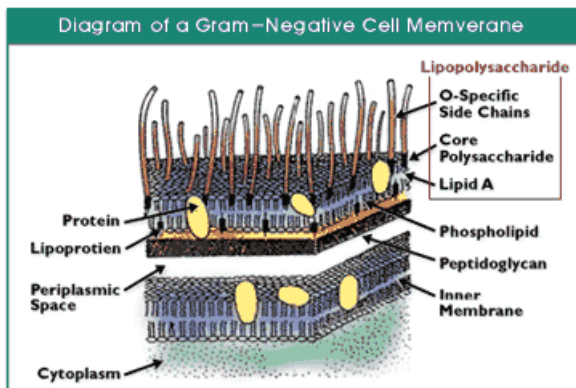


그림 13. General structure of a lipopolysaccharide.



그림 14. Fever caused by endotoxin



알고 있는 농도의 엔도톡신을 이용하여 표준직선을 만들고, 동시에 샘플을 시험하여 샘플이 엔도톡신과 만나 겔을 형성하는 과정 중의 탁도의 증가를 측정하여 샘플의 엔도톡신 양을 표준직선에 대입하여 정량하는 방법이다. 이 방법의 장점은 정량분석을 할 수 있다는 점과 많은 수의 샘플을 시험할 경우 비용이 저렴하고 시간이 빠르다는 점이다. 단점은 시험을 수행하기 위해 숙련된 분석자가 있어야 하는 것과 별도의 기기가 필요하므로 초기 투자비용이 많다는 점이다.

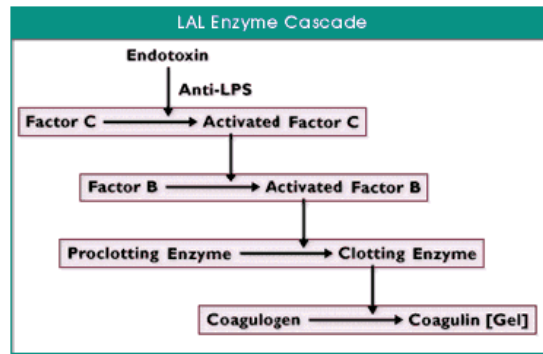
LAL(Limulus Amebocyte Lysate)은 아메리카 대륙의 대서양 연안에 분포하는 투구게(Limulus polyphemus)의 순환혈액세포의 추출물로 엔도톡신과 만나게 되면 겔을 형성하는 반응을 일으킨다. 이를 기초로 의약품 생산에 사용되는 물, 주사용 제품, 원료의약품, 의료용구의 엔도톡신에 의한 오염을 검출하는데 사용된다.

과거 발열성물질시험으로 사용되던 토끼 시험을 in vitro 실험으로 대체한 시험으로 Bacterial Endotoxin Test(BET)로 불린다. USP, EP, JP, KP 등 전세계 약전에 수록되어 있으며 미국 FDA에서도 LAL Test Guideline이 발간되어 있다.

중국 및 인도, 일본 등에 도 같은 혈액세포를 가진 투구게가 있는데 이것은 Tachypleus tritentatus이고 이것을 이용해 만든 동일한 시약은

TAL(Tachypleus Amebocyte Lysate)라고 불리지만 반응 기작은 동일하다. 이 동물은 약 1억 5천 만년의 역사를 가지고 있는 화석생물로 분류상 절지동물인 거미류에 속한다.

LAL 시약이 엔도톡신과 만나게 되면 다단계의 효소반응에 의해 최종적으로 겔이 형성된다. 반응 모식도는 다음과 같다.



LAL 시험법에는 여러가지 종류가 있는데 대표적으로는 겔화법, 키네틱법 등이 있고 각각 정성분석 및 정량분석으로 사용된다.

### 3.10.2 마이코톡신(mycotoxin)

mycotoxin은 소화기계, 호흡기계, 피부 접촉 등을 통해서 점막자극, 피부 발진, 어지러움, 면역억제, 기형 출산 그리고 암 등이며, mycotoxin 관련된

endotoxins and classic exotoxins is shown in Table 1.

Characteristics of bacterial endotoxins and classic exotoxins.		
PROPERTY	ENDOTOXIN	EXOTOXIN
CHEMICAL NATURE	Lipopolysaccharide(mw = 10kDa)	Protein (mw = 50-1000kDa)
RELATIONSHIP TO CELL	Part of outer membrane	Extracellular, diffusible
DENATURED BY BOILING	No	Usually
ANTIGENIC	Yes	Yes
FORM TOXOID	No	Yes
POTENCY	Relatively low (>100ug)	Relatively high (1 ug)
SPECIFICITY	Low degree	High degree
ENZYMATIC ACTIVITY	No	Usually
PYROGENICITY	Yes	Occasionally

거의 모든 문헌에서 소화기계 흡수로 인한 건강장해를 언급하고 있다.

검출방법으로는 High Performance Liquid Chromatography를 이용하여 분석할 수 있다.

mycotoxin은 수확 전·후 또는 수송이나 보관 중 농산물에서 자라는 여러 종류의 곰팡이에서 생산되는 2차 대사산물들이다. 푸자리움 속(*Fusarium spp.*)과 같은 몇몇 곰팡이는 전형적으로 수확 전 곡물에 노출되며, 페니실리움 속(*Penicillium spp.*) 같은 다른 종들은 수확 후 곡물에 침입하고, 한편 아스퍼질루스 속(*Aspergillus spp.*)은 수확 전·후의 곡물에서 자랄 수 있다. 곰팡이가 존재한다고 해서 반드시 독소가 발견될 수 있음을 의미하지는 않는다는 것이 강조되어야 한다. 반대로 곰팡이가 존재하지 않는다고 반드시 독소가 없는 것을 의미하지도 않는다.

곰팡이독소는 옥수수, 수수, 보리, 밀, 쌀, 면실박, 땅콩 그리고 기타 콩과식물과 같은 사료 원료에서 정상적으로 발견된다. 대부분은 비교적 안정된 화합물이므로 사료의 가공공정을 통하여 파괴되지 않으며, 제분(분쇄하여 가루로 만듦)을 통하여 더욱 농축되어질 수 있다.

화학구조와 생물학적 활성이 다른 많은 곰팡이독소들이 확인되었다. 곰팡이독소들은 발암성

(예:aflatoxin B1, ochratoxin A, fumonisin B1), 에스트로젠성(여성호르몬성, 예:zearalenone,  $\alpha$ 및 $\beta$ -zearalenols), 신경독성(예:fumonisin B1), 신장독성(예:ochratoxin, citrinin, oosporeine), 피부과사성(예:trichothecenes) 물질이거나, 면역형성억제성 물질(예:aflatoxin B1, ochratoxin A, T-2 toxin)이다. 독성문제 연구에 대하여 발표된 대부분의 정보는 실험동물에서의 결과이며, 이들 결과는 사람이나 다른 동물에 그대로 나타내지 않을 수도 있다. 또한, 축산식품에 대부분의 독소가 존재한다는 사실의 중요성은 충분히 이해되고 있지 않다.

각각의 동물 종들이 다양한 방법으로 곰팡이독소를 대사 한다. 예를 들어 오크라톡신 A(ochratoxin A)는 가금에서는 빠르게 배설되지만, 돼지에서는 간(肝)에서 순환을 거쳐 매우 서서히 배출된다. 휴모니신(Fumonisin) 같은 극성의 곰팡이독소는 빠르게 배설되는 경향을 보인다.

mycotoxin 또는 그 대사물질들은 고기와 내장, 우유와 계란에서도 검출될 수 있다. 식품중의 농도는 동물들이 섭취하는 사료에 존재하는 양보다 매우 낮아서 사람에서 급성 중독증상을 일으키지는 않는다. 그러나 축산물에 아플라톡신 B1(aflatoxin B1)과 M1, 그리고 오크라톡신 A(ochratoxin A)와 같은 발암성 곰팡이독소들의 잔류는 사람의 건

some mycotoxins found in human food and animal feed(농생원 자료)

Compounds	Producing species	Pathological effects
Aflatoxins	<i>Aspergillus flavus</i>	Liver damage, carcinogenic
Deoxynivalenol (=vomitoxin)	<i>Fusarium graminearum</i>	Food refusal, vomiting
Ergot alkaloids	<i>Claviceps purpurea</i>	Blood vessel constriction, gangrene, neural effects,
Zearalenone	<i>F. graminearum</i>	Vaginal inflammation in pigs
Trichothecenes	<i>F. sporotrichioides</i>	Vomiting, haemorrhage, tissue damage
Ochratoxin	<i>Aspergillus ochraceus</i>	kidney damage
Macrocylic trichothecenes	<i>Stachybotrys chartarum</i> , <i>Myrothecium spp.</i>	Damage to mucos membranes

강을 위협하게됨으로, 이들의 잔류수준은 조사되고 통제하여야 한다.

사람의 식용축산물에서 곰팡이독소의 잔류 발생과 관련된 정보는 거의 없다. 각국에서 시행중인 최대허용치는 아플라톡신 M1은 0.05-1ppb, 아플라톡신 B1은 5ppb, 오크라톡신 A는 돼지 신장에서 25ppb 그리고 곡물에서는 50ppb, 제랄레논은 옥수수과 식품에서 국가에 따라 30-1,000ppb이다(1). 검출되는 곰팡이독소의 수준은 통상 많은 나라에서 허용하는 최대수준 이하이다. Aflatoxine M1 은 비록 설치류에는 강력한 발암물질로 작용하나, 인간에게는 발암성을 나타내는 충분한 증거가 없다.

대부분의 경우, 사람에서 곰팡이독소의 주요한 원인은 축산물보다는 오염된 곡물과 콩과류 이다. 이것은 곰팡이독소에의 노출이 곡물과 콩과식물이 주식을 이루며 고기를 포함한 축산물을 적게 소비하는 개발도상국에서 훨씬 더 크다는 것을 의미한다. (측정 법 / 보강)

### 1)아플라톡신(Aflatoxin)

아플라톡신은 *Aspergillus flavus*와 *parasiticus*에서 주로 생성되는 곰팡이독소로 옥수수, 땅콩 등을 오염시켜 암을 유발하는 물질로 널리 알려져 있으며, 발생빈도와 독성측면에서 위해도(hazard)가 매우 높다. 1960년 영국에서 곰팡이로 오염된 땅콩이 포함된 사료를 먹은 100,000마리의 칠면조 새끼가 폐사되어 최소 수십만달러의 경제적 손상을 주었다.

그러나 발병초기에는 원인규명을 못해 이 질병을 칠면조에서 발생한 원인불명의 질병이라는 의미로 "Turkey X disease"라고 불렀다. 그 후 1962년 땅콩에서 곰팡이 *A. flavus*로부터 원인물질을 분리하여 아플라톡신이라 명명하였고, 이를 계기로 공중보건학적으로 중요한 곰팡이 독소에 대한 연구가 본격적으로 진행되었다.

아플라톡신 종류에는 자외선아래에서의 색깔에 따라 B1, B2(푸른색)와 G1, G2(녹색)가 있으며,

우유에서 최초로 검출된 아플라톡신 B1, B2의 대사산물인 M1, M2가 있다.

그 중에서 아플라톡신 B1이 가장 강력한 간의 발암물질이며, 유전독성 물질이다. 아플라톡신에 의한 주요 손상장기는 간이며, 역학조사 결과 사람에서 B형 간염환자가 그렇지 않은 개체보다 아플라톡신에 더 민감함이 밝혀졌으며, 이것은 간 독성과의 밀접한 관련성을 설명해주고 있다. 이외에도 가축의 경우 곰팡이 중독이 일어나면, 생산성 저하, 증체율 감소, 면역기능 억제와 유전독성 및 암을 유발하는 것으로 보아 사람에서도 유사한 작용을 할 가능성이 있다.

### 2)오크라톡신(Ochratoxin)

오크라톡신은 주로 *Penicillium verrucosum*과 *Aspergillus ochraceus* 종으로 오염된 콩, 귀리, 보리와 밀 등에서 생성된다. 그 중 오크라톡신 A는 실험동물에서 신장독성, 면역억제, 발암성 및 기형을 유발한다. 역학적으로 발칸지역에서 발생한 신장병(Balkan Endemic Nephropathy)과 밀접한 관련이 있으며, IARC(국제암연구소)는 사람에서 발암가능물질(Group 2B)로 분류하였다.

### 3)푸모니신(Fumonisin)

푸모니신은 주로 *Fusarium moniliforme* 종이 오염된 옥수수, 밀과 쌀 등에서 생성되며, 사람에서 식도암과 같은 일부 질병과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 독소의 종류는 6개(A1, A2, B1, B2, B3와 B4)가 있으며, 그 중 주요 대사산물인 B1과 B2가 독성학적으로 중요하다. 역학적으로 인체에서 설사, 복통을 보이는 급성중독 예가 인도에서 보고되었다. *Fusarium moniliforme*으로 오염된 곡물섭취를 통하여 푸모니신에 장기간 노출되면, 식도암의 발생률이 매우 높은 것으로 알려져 있으며, IARC는 사람에서 발암가능물질(Group 2B)로 분류하였다.

#### 4) Trichothecenes

주로 Fusarium 종이 생성하는 곰팡이독소로 현재까지 약 148종의 독소가 분리되었으나, 그 중 deoxynivalenol, nivalenol, diacetoxyscirpenol과 드물게 T-2 독소가 식품을 오염시켜 면역기능 억제, 오심과 구토 등의 증상을 유발한다. 사람에서는 1932년 구 소련연방에서 Fusarium에 오염된 추수가 안된 곡물을 먹은 사람에서 중독(Alimentary toxic aleukia)이 최초로 보고되었다.

#### 5) Zearalenone

밀, 옥수수, 사탕수수와 보리 등이 Fusarium graminearum과 culmorum에 오염되어 생성되며, 요즘 문제되는 환경호르몬과 유사하게 여성 호르몬인 에스트로겐의 작용을 한다. 동물은 주로 암컷에서 불임, 유선종대, 수컷에서 고환위축 및 유선확대 등 생식계통에서 독성을 유발한다.

식품 중 곰팡이독소에 대한 정확한 평가를 하는데 해결해야 할 문제가 매우 많으며 인체에 미치는 영향은 비교적 최근에서야 중요성을 인식하기 시작했다. 또한 근래에 연구초점은 단순한 식품이나 동물 사료 중 곰팡이독소의 정량이 아닌 곰팡이독소에 의하여 유발된 병리의 원인규명에 맞추어지고 있다. 곰팡이독소는 사람이 식품을 통하여 노출될 수 있는 독성물질이며, 잠재적인 발암물질로 알려져 있기때문에 향후 환경유래의 독성 및 발암기전 규명을 위하여 충분한 연구를 수행해야 할 것이다.

그리고 곰팡이독소에 대한 인체노출을 줄이기 위해서 정부기관은 사람과 동물이 소비하는 식품 중 곰팡이독소의 철저한 감시를 통한 규제를 해야 한다. 이에따라 식품회사 및 가공업자는 규제기관에서 제시한 기준보다 훨씬 엄격하게 품질관리를 실시하여 식품을 통한 인체노출을 최소화해야 한다. 또한 정부, 관련 연구기관 및 산업계와 협력하여, 식품 중 곰팡이독소를 제거하거나 줄이기 위한 방

법에 대한 연구도 실시하여야 한다. 이런 방법에는 식물육종, 식품가공방법과 생명공학 기술을 통한 곰팡이독소에 저항성 있는 곡물 개발 등이 있다. 결론적으로 곰팡이독소 노출시 명확한 중독증상이 발현되어 최종진단을 하기 전에는 유해성을 예측하기 힘들다. 또한 사람과 가축에 대한 유해성뿐만 아니라 막대한 경제적인 손실을 막기 위해서는 식품 중의 곰팡이독소 오염에 대한 철저한 예방이 가장 중요하다.

### III. 바이오에어로졸의 측정 방법

#### 4.1 개론

일반적으로 공기 중 세균들(airborne bacteria)은 공기 중에 부유하거나 낙하되는 것으로 오염형태에 따라 분류하면 1)부유세균과 2)표면부착미생물로 나누며, 측정방법상에 차이를 두고 있다. 또한 측정(sampling)원리에 따라 구분하면 1)수동식 시료 채취법(Passive flow sampler) 2) 능동적 시료 채취법(Active flow sampler)로 크게 나눌 수 있다.

##### 4.1.1 측정법의 개념

공중 부유생물 입자의 포집과 계수용 샘플채취법과 장치는 아주 다양하며 샘플 목적에 따라 샘플방법과 자료장치의 선택이 다르다. 에어로졸 샘플(aerosol sampling)의 효율은 질량과 속도 등의 입자 운동성에 영향을 받는다. 따라서 적절한 방법과 장치의 선정에 신중을 요한다.

사용되는 정량의 평가 단위로는 생물성 입자(Viable Unit)로 한 개나 여러 개가 뭉친 입자로서, 한 개의 단위로 계산되는 생물성 입자이며 이것이 배지에서 Colony로 계산될 때는 보통 Colony Forming Unit (CFU)라고 명명된다.

##### 4.1.2 수동식 시료 채취법(Passive flow sampler)

① 중력침강법/낙하균 법(Gravity settler): 입자(particle)의 중력에 의해 입자를 중력·침강시키는 원리를 이용하여, 분리용 배지(Agar plate)를 측정 장소에 일정시간(약 15~20분) 개방 후 공기 중에 존재하는 낙하균을 배양·관찰하는 지극히 고전적인 방법으로, 자연적인 기류에 의한 중력 침강법인 낙하·중력식으로 포집하는 원리를 이용한 방법이다.

장비가 필요 없고 간단하여, 오래전부터 사용되어 왔으나, 채취공기량을 알 수 없어 정량적 방법이 될 수 없고, 또한 자연낙하에 의한 포집이므로 포자가 큰 진균의 채집이 용이한 반면, 작은 포자의 포집율이 낮고 부유균수가 적은 장소에서는 균분리가 되지 않는 등의 단점이 있다.

샘플시간 중 낙하된 미생물만 검출하는 것으로 직경(14cm, 10cm, 9cm직경) Petri dish로 사용하며, 14cm는 감도가 증진되며, 9cm가 주로 사용하는 표준형이다. 시간 연장으로써도 감도가 증진된다. 이때도 배지의 탈수, 건조를 피해야 한다. 즉, 단위시간당 낙하균 포집 접시의 낙하균수 측정과 낙하균 측정점의 면적과 노출시간에 해당하는 오염을 측정한다. 이는 총 공중 생물성 입자의 정량적 측정을 의미하는 것이 아니다. 낙하하지 않는 생물성 입자는 측정치 못한다. 또한 낙하속도는 기류의 혼란

에 의해 좌우될 수 있다. 따라서 중력침강낙하균법은 최근에는 사용을 기피하고 있으며, 제약회사 제품장치 등의 특정 분야에 간이용으로 사용하며, 반드시 다른 정량적 시험과 병용사용이 권장되고 있다.

평가단위 : 개/cm<sup>3</sup>/min : 단위 시간사이에 단위 면적에 침강하는 개수로 나타낸다

② 표면 생물오염 측정법(Surface sampling)

표면생물 오염의 검출과 모니터의 샘플 수집은 적절한 장치를 써야 하는데 직접 접촉법, 간접 접촉법, 면봉(Swab) 등이 있다. 독성 또는 병원성 약품으로 오염되었다고 잠정적으로 의심되는 표면이 포집되기도 한다.

대표성 있는 샘플 포집에 관한 사항도 포함되며 생물성입자는 관리 추적이 필요한 부분의 샘플이어야 한다.

㉠ 접촉 샘플 장치

접촉 샘플장치는 평평하고 매끄러운 표면에 사용한다. 접촉판이나 유사한 장치는 영양배지가 될 수 있거나 딱딱한 용기에 부착되어 있어 표면에 접촉하여 채집할 수 있게 되어있다. 이 접촉장치는 20cm<sup>2</sup> 이상의 접촉표면 상황일 때 쓴다. 수평면에 접촉장치 샘플의 적절한 방법은 다음과 같다

샘플할 평면에 배지를 일정한 압력으로 10초간



그림 15. petri dish, 14cm, 10cm, 9cm



그림 16. 9cm 표준형의 BAP와 SDA

접촉한다.(25g/cm<sup>2</sup>의 압력을 적용한다.) 이때 등글게 돌리거나 선형으로 움직이기 말 것이다. 접촉이 끝나면 이 접촉장치는 덮개를 덮고 적절한 배양 조건에서 배양한다.(현재 biomeriux 회사 제품 등이 상용화되어 있음)

㉞ 간접 샘플 채집법

생물성 입자의 채집을 스왑법(swab method)으로도 할 수 있다. 적서서 멸균한 면봉이나 스폰지, 작은 걸레형의 샘플 채집기는 넓은 면적, 흡습성이 없는 불규칙하고 깊숙이 파인 곳으로 접촉하기가 곤란한 곳에 편리하다.

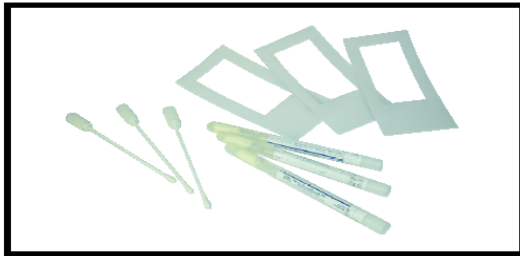


그림 17. 표면 멸균 면봉 kit와 이동형 배지 (Transport medium)

㉟ 면봉(Swab)

스왑(흡성섬유가 좋다)을 쓴다. 사전에 생리 완충액 염수나 링거액, 그 외 비슷한 배지로 적서 멸균한 것을 말한다. 스왑은 평행선으로 긁지 않게 일정 샘플구역을 걸레질하듯 문지르고 적신 스왑을 천천히 돌리면서 샘플 채취한다. 다시 같은 구역을 첫 번째 문지른 것에 직각 되게 반복, 샘플 채취한다. 샘플 채취 문지르기가 끝나면 일정량의 멸균된 용액을 넣고 흔든다. 이 서스펜션용액에서 생물성 입자를 검출한다. (단위면 plate count /contact area = CFU /cm<sup>2</sup>)

평가방법

공식 1. plate count/cm<sup>3</sup>/min  
= 개/cm<sup>3</sup>/min (단위 시간사이에 단위 면적에 침강하는 colony 개수로 나타낸다)

$$\text{plate count /contact area} = \text{CFU /cm}^2$$

(일정한 면적에 부착한 세균을 취해 일정한 조건으로 배양하여 생긴 집락수를계측하여 단위면적당 개수로 나타낸다)

$$\text{plate count / mass} = \text{CFU / g}$$

공식 2. 표면생물 입자 수는 1dm<sup>2</sup>당 개수로 환산하여 표현하고 낙하균법에서는 1dm<sup>3</sup>/시간으로 표현한다.(1dm<sup>3</sup> = 100cm<sup>3</sup>)

4.1.3 능동적 시료 채취법(Active flow sampler)

충돌 포집형 샘플장치 또는 여과형 샘플장치

능동적 시료 채취법은 전원에 의한 누적동력이 사용되어진 장치들을 이용한 것으로 크게 두가지 형태로 분류한다,하나는 관성충돌법의 충돌포집형과 둘째는 임핀저와 필터(filter) 그리고 원심 회전력을 이용하는 두가지 방식으로 나뉘어 사용되고 있으나, 대개 충돌포집형이 주류를 이룬다..

오염된 구역에서 공기의 미생물적 질의 평가에 기본적 장치이다. 시중에는 다양한 형태의 샘플포집기가 있고 각각 다른 한계를 가지고 있다. 특수 경우로써, 배기 덕트 같은 곳이나, 동일 방향류에서 공중 생물입자 오염측정 같은 경우에는 등속조건(Isokinetic)에서 측정해야 된다. 등속조건이 아니면 광범위하고 비대표성을 갖는 대형 입자를 측정할 수 있다. 기류에 대한 흡입각도 생물성 입자의 왜곡된 분포를 보여준다. 측정장치에 흡입되는 공기는 주변공기와 등속도이고 동일방향이여야 한다. 측정원리에 따라 주로 두 가지 방법과 형태가 있는데 충돌형과 여과포집형이다.

① 충돌 또는 액체 포집형 샘플장치

여러 종류의 관성충돌 포집형 또는 액체 충돌형 샘플 장치가 저농도·고농도용으로 나와 있으나 다

음 특징을 참조, 선택하여야 한다.

㉠ 배지상에 충돌하는 공기의 속도가 다음 두 경우에 충분해야 한다.

㉡ 1 $\mu$ m정도의 생물성 입자의 채집이 가능한 충분한 속도이어야 한다

㉢ 생물성 입자에 기계적 충격이나 세균, 진균의 파손이 일어나지 않을 정도의 높지 않은 유량이어야 한다

㉣ 흡입속도는 샘플지속 시간 결정 요인인데, 저농도 생물오염을 측정할 수 있는 충분한 양을 흡입할 속도이며, 수집 배지에 물리·화학적 변화를 줄 정도의 많은 공기가 흡입되지 않을 정도이다.

㉤ 고농도 생물오염 구역의 경우에는 충돌법이 적합하며 데이터 해석에 적절하게 Colony가 분리, 검출되도록 적절한 공기량이어야 한다. 이러한 경우 장치는 다음의 조건을 구비하여야 한다.

㉦ 적절한 시간에 1m<sup>3</sup>을 흡입할 수 있는 충분한 흡입 유속으로 장착한 배지가 건조되지 않을 정도이며, 대개 100L/min 정도로 10분이하가 적절하다.

㉧ 적당한 충돌속도 즉 < 20m/sec

미생물 오염의 검출과 모니터링은 샘플계획과 적절한 샘플장치에 의해 생물성 입자 채집을 해야 하며 이는 작업 중 상태에 정기적으로 포집되어야 한다. 생물성 입자는 포집매지에 직접 충돌시키거나 특정 Membrane Filter에 여과하여 포집하여야 한다.

평가방법

$$\text{농도(CFU/m}^3\text{)} = \frac{\text{plate당 측정된 집락 수}}{\text{포집 공기 유량(m}^3\text{)}}$$

#### 4.2 부유미생물 측정을 위한 충돌법 (impaction samples)

##### ·개념및원리

관성충돌법(inertial impaction)이란 일정용적의 공기를 강제 흡입하여, 장착된 배지 표면에 고속의 공기를 충돌시켜 미생물 입자가 관성력에 의하여 포집되는 방법이다. 즉, 다시 말해 관성충돌법은 유체의 관성 원리를 적용한 것으로 유체중의 입자는

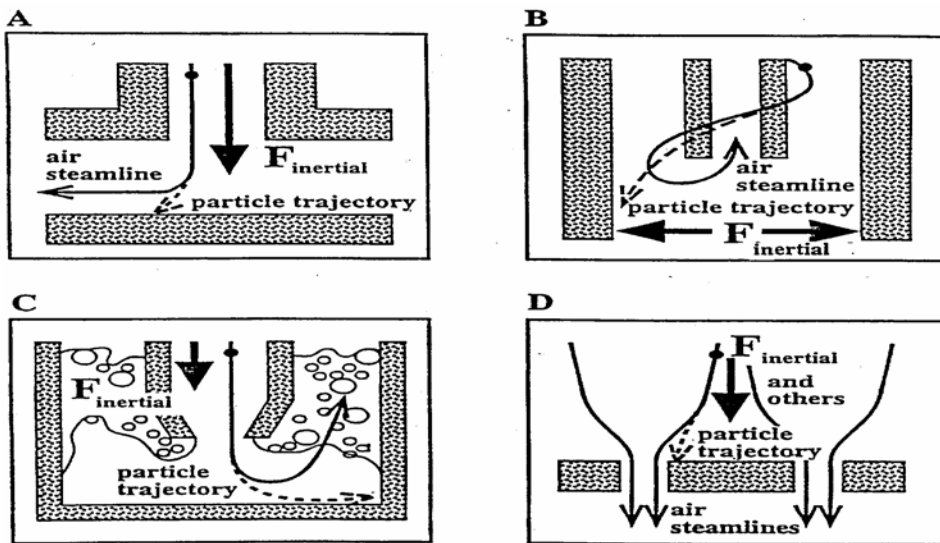


그림 18. 충돌형 포집기의 공기흐름

항상 유선(streamline)을 따라 가지 않고 입자의 진행방향으로 나아가려 하는 입자 자체의 관성의 원리를 이용한 것으로, 입자가 고정된 물체에 가깝게 위치한다면 입자들은 물체(배지)에 충돌하게 되고 포집되는 원리이다. 구체적으로 부유미생물 측정기에 활용되는 기본원리는 기계적 분리장치(중력침강기 혹은 원심력 침강기)에서 음압 혹은 원심을 이용하여 인위적으로 일정량의 공기를 고속의 흐름으로 충돌시켜 고정배지, 접촉성 슬라이드, membrane filter 등에 부유미생물 입자가 관성력에 의하여 포집 혹은 접종(inoculation)하는 방식이다. 여러 가지 방법이 고안되어 있고, 포집효율을 예측할 수 있는 것이 장점이며 여기에서는 그중 대표적인 air sampler법을 소개한다.

#### 4.2.1 Slit 법

① 원리 : 슬릿(slit)을 통하여 샘플 공기를 흡입 배양지 위에 충돌시키는 방법으로 배양지를 회전시켜서 미생물 수의 변화도 측정이 가능하다. 편홀 샘플러는 슬릿 샘플러를 개량 한 것으로 슬릿 대신에 5개의 구멍이 있다.

측정 기기 종류 : MG 에어샘플러, 카세라 슬릿 샘플러, 편홀법(편홀 샘플러) 등

#### 4.2.2 Andersen's microbial impactor

#### 1) 원리

6-stage, 2-stage, single-stage impactor의 3가지 형태로서 70년대 이후부터 꾸준히 사용되어진 대표적이며 고전적인 관성충돌채취법의 하나이다. 기본 원리는 아래 그림에서와 같이 6단 혹은 2단으로 충돌판(plate)에 배지를 중첩 시킨후 저부흡입구로 공기를 흡입하여 흡입공기가 상단의 배지면으로부터 단계적으로 하단의 배지면에 접촉하면서 통과되는 다단충돌분진채취기(cascade impactor)의 개념을 이용한 방법이다.

다단충돌분진채취기의 원리는 모래를 체로 쳐서 거르는 것과 비슷한 방법으로, 부유분진을 크기 별로 분류하는 장치이며, 물리적 실제 직경(physical diameter)이라기보다는 공기 역학 직경에 의해 분진 등을 분리하는 원리를 이용한 것이다. 분진을 포함한 공기는 많은 구멍 뚫린 여러 개의 충돌판을 통과하게 되며, 상부 단(6stage)을 통과하여 하부 단으로 내려 갈수록 더욱 작은 구멍과 더욱 가까이 있는 충돌판을 만나게 되어, 하부로 내려갈수록 미세입자를 채취할 수 있다. 각 단계에서 채취된 분진의 질량은 자동으로 크기별로 나뉘어 진다. non-viable state와 viable state로 나뉘어 진다. 이 방법은 포자의 크기별 분획 (size fraction)채취가 가능하다는 장점이 있어, 입자의 사이즈와 호흡기계의 침투도에 관련한 연구 및 단시간 채취 등의 장점으로 의학 분야에서 선호되고 있다. 그러나 구멍이 막

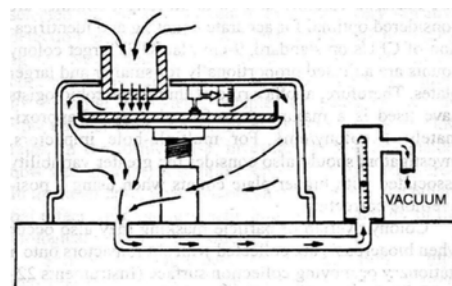
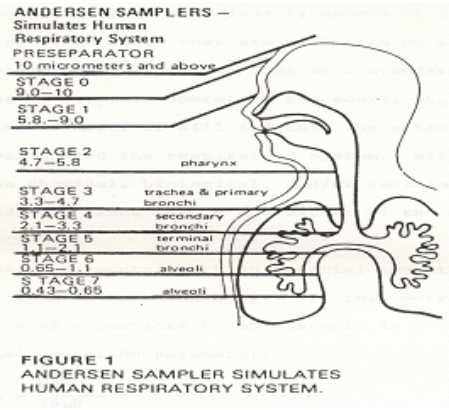


그림 19. Slit 측정법의 예시



Size distribution according 6 stages (each impactor plate : 400 jet orifice)

stage	orifice		remark
	diameter(mm)	range	
1(top)	1.18	7.0 and above	non-respirable
2	0.91	4.7 - 7.0	respirable
3	0.71	3.3 - 4.7	
4	0.53	2.1 - 3.3	
5	0.34	1.1 - 2.1	
6(bottom)	0.25	0.65 - 1.1	



히거나 과포집 우려있으며, 측정장소 이동시 기기 전원에 대한 부담과 배지의 직경이 10cm로 제한되어 있는 것이 불편한 사항이다.

2)종류및기기특성

①Andersen6stageViableparticulate cascadeImpactor.

- 특징 : 호흡성, 비호흡성 구분이 가능하며 6-stage이며 - 70년대에 표준시료채취기로 권장되었다.
- 채취시간은 total counts인 경우 4분, 호흡성인 경우 20분이며, 평균유속은 1 cfm ~28.3 LPM이다.
- 400개의 hole이 있다
- 보정과 기기 calibration이 필요하다.
- 100 mm x 15mm plastic plate 배양액 담아 사용

②Andersen2stage&1stageViable particulatecascadeImpactor.

- 2-stage는 각단에 200개의 hole이 있으며, 호흡성과 비 호흡성 구분 측정이 가능하다
- 1-stage는 6 stage 표준형에서 맨 밑의 collection

plate하나가 있는 것으로, 6 stage의 표준형에서 상위 5개 stage를 없앤 것이고 채취원리는 동일하다. SAS식으로 불리우는 이 방법은 상품화되어 있는 포집기들은 공기채취량의 조작 등이 간단하여 사용에 쉬우며 진균의 분리율도 높다, 그러나 6 stage 표준형 impactor에서와 같이 포자의 크기별 분획채취는 불가능하다.

평가 방법 : Evaluation unit 1000L = 1 m<sup>3</sup>  
 [plate count/(sampling rate)\*sampling time] \*  
 [conversion factor] =  
 = [CFU/(L/min\*(min))] [10<sup>3</sup>L/m<sup>3</sup>] = CFU/M<sup>3</sup>

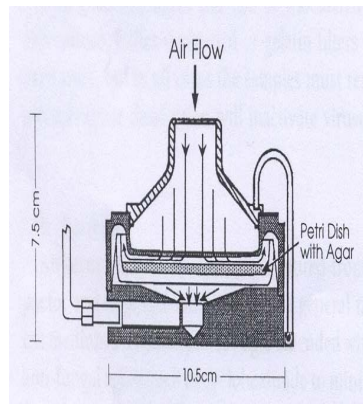
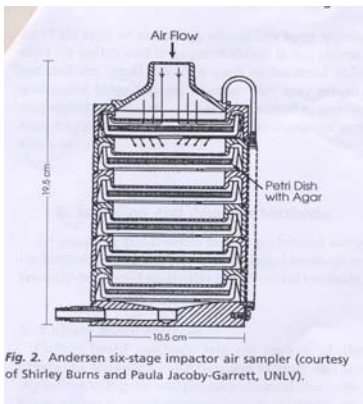
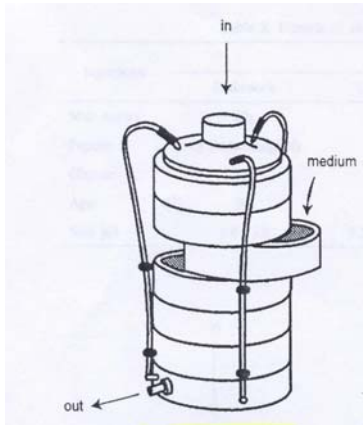


그림 20. Andersen, 6 stage Viable particulate cascade Impactor.

그림 21. Andersen 2 stage & 1 stage Viable particulate cascade Impactor.

3) 측정기기의 기능에 따른 분류

	포집기구 (Sampler)	측정원리 및 방법		주 기기	보조 기구	소모품	포집 (Sampling)		비고
							공기량 (L/분)	시간 (분)	
1	평판한천배지	중력침강법(낙하균)		배양용 한천배지 (BAP or TSA)	petri-dish 평판한천배지	·한천배지	-	15-30분	CFU/ml
2	·Impinger(glass), <SKC>	·All glass impinger	·impingement into liquid	impinger (AGI)	·유량계, 펌프 ·액체배지	·액체배지 ·전원	12.5	30	CFU/ml
3	·Six stage Viable particulate cascade impactor. air sampler	·Sieve type impactor	·impaction onto agar (100mm plates)	·Andersen 6stage sampler ·Andersen 2stage impactor ·Andersen N6-single stage sampler	·전용한천배지 ·유량계, 펌프	·한천배지 ·전원	28.3	10	입경 분포 측정가능
4	·RCS plus, <Bio test> High Flow air sampler	·Centrifugal impactor	·impaction onto agar strips	RCS Plus	·전용strips배지	·전용strips 배지 ·배터리	50	4.0	Max. 1000 liters
5	·MAS - 100, <MERCK> handy air sampler	impactor	·impaction onto agar	·Air sampler MAS100 (자체충전 가능)	·선택배지 가능 ·9cm petri-dish	·한천배지	100	10	"
6	Oxoid air sampler	impactor	·impaction onto agar	·Air sampler (자체충전 가능)	·선택배지 가능 ·9cm petri-dish	한천배지	100	10	"
7	벌크 (Bulk sampling)	·원 시료 임의 수집 (액상으로 직접 collection)		Conical Tube(50ml)	PH meter	Conical Tube	-	-	6회석 배양 CFU/g CFU/cm <sup>2</sup>

4) 충돌원리(inertial impactor)를 이용한 최신 측정기기

4.2.3 RCS air sampler

Reuter's Centrifugal air Sampler  
(<http://www.biotest.de/ww/de/pub/>)

1. 원리

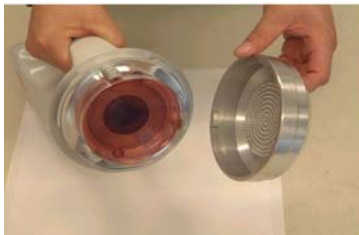
원통 구조물내에 내부의 10개의 회전날개의 원

심fan이 돌면서 발생된 원심력에 의해 흡입구로부터 유입된 공기가 공기속의 입자를 흡입, 농축시켜 내부벽에 장치된 Agar strip(전용배지면)을 접촉시키며 통과하게 하는 방식이다.

이때 회전날개의 평균회전속력은 4096 rpm으로 분당 40리터의 공기를 빨아 당겨 공기중의 부유균을 agar strip에 원심분리 시킨다. sample 채취 후 agar strip은 적당한 온도에 Incubation시키고



Oxoid air sampler(M.A.Q.S II)



Merck (MAS 100 Air Samplers)

colony count를 한다.

예를 들어 8분 동안 시료를 채취 할 경우에는 이 때의 포집된 공기의 량은 총 320리터가 되며, 전원 공급과 이동이 수월하다는 장점이 있다. 그러나 공기흡입구와 배출구가 동일하여, 흡입공기량의 정확도가 떨어지는 단점이 있고, 배지상에서 집락이 pinpoint하게 작아서, 형태(morphology) 관찰이 어려우므로, 동정 목적이 있을 경우에는 일일이 계대 배양한다는 어려움이 있다. 총집락수 산정에는 유리하며, 보완하여 RCS plus가 출시되어 사용되고 있다.

2) 종류 및 기기 특성

① Bio Test Standard RCS air sampler /

RCS Air sampler의 회전날개(Impeller)와 Agar strip을 기울 수 있는 Drum과 손잡이를 잡을 수 있는 몸통 부위로 구성되며, Drum은 끝이 열려 있기 때문에 회전날개가 작동시 공기를 채취하는 역할을 한다.

측정 목적에 따라 감별 배지의 선택이 가능하나, 배지의 가격이 일반 상용화된 9cm 배지보다 비싼 것이 흠이기는 하나, 단시간에 많은 양의 공기 포집

가능하다. calibration이 어려우며, 오염이 심한 지역보다는 일반적으로 낮은 농도에 적합하다. 1979년에 소개되어 제약회사 품질관리실, 감염관리실 및 임상병리과 등에서 많이 사용되어 왔다.

② Bio Test RCS High Flow Air sampler

표준 RCS sampler의 일부 단점을 보완한 것으로 분당 50리터의 공기 흡입이 가능하며, 6100 rpm으로 총 1000 리터까지 공기가 배지 표면에 원심 침강하는 원리로 포집이 된다. 전용 anemometer로 1년에 2회 정도 calibration이 가능하다. 실내오염, 제약 및 식품회사, 작업환경 측정을 위한 산업위생 등에서 사용하며, 전용배지인 Agar strip 배지를 사용하여야 한다.

평가방법 : Evaluation unit

1000L = 1 m<sup>3</sup> = 35.3 ft<sup>3</sup>, 1ft<sup>3</sup> = 28.3 L

To convert CFU/m<sup>3</sup> to CFU/ft<sup>3</sup> divide results by 35.

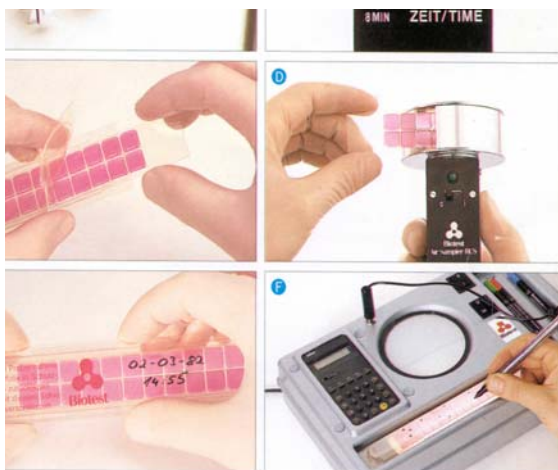
③ Agar strip (1 pack 50/ea) 배지종류

Agar strip GK -A (일반 세균용, total counts)

Agar strip HS (진균 용)

Agar strip S (포도상 구균 용)

Agar strip C (장내세균용)



RCS air sampler, Agar strip medium & colony counter RCS plus air sampler (By Biotest Diagnostics)

TSA-Agar for total counts  
 Rose -Bengal Agar for yeasts and molds  
 Mannitol -Salt agar for staphylococci  
 MacConkey -Agar for coliform bacteria  
 TSA-penase Agar for total count in air containing penicillins and semisynthetic penicillins.

조작방법

1. 측정전에 회전날개와 원통을 분해하여 섭씨 120도(15 psi 압력)이하 조건에서 약 20분간 멸균한다. 또는 통상은 소독제(알콜계)를 이용하여 2-3회 문질러 소독을 시킨다.
2. 몸체(Main Body)도 같은 종류의 소독제를 이용해서 문질러 소독을 시켜준다.
3. Sampling 시간을 선택하여 time selector setting을 한다. 즉, 30초(20L), 1분(40L), 2분(80L), 4분(160L), 8분(320L) 중 택일한다.
4. 포장된 배지의 필름케이스를 벗겨내고 내부의 Agar strip을 밖으로 꺼낸 후 소독이 되어 있는 air sampler의 원통내부에 끼워서 넣는다.
5. Main switch를 on으로 누르고, start button을 누르면 공기가 빨려들어간다.
6. 정해진 시간이 경과하면 자동적으로 가동이 멈춘다.
7. Air sampling을 종료한 후 Agar strip을 원통으로부터 꺼내서 열려진 부분을 깨끗한 스킨치테이프를 이용해서 밀봉시킨다.
8. 배양기(Incubator)에 72시간 배양하여 꺼내어 부유균의 수를 센 후 국제기준과 비교한다.

◆ 계산방법

미국의 경우 CFU/ft3 을 주로 사용하나 국내에서는 CFU/m<sup>3</sup> 으로 주로 사용한다.본 air sampler는 1분당 40L의 공기를 흡입하므로 1L에 들어있는 Colony 수와 1 m<sup>3</sup> 에 들어있는 colony 수를 식으로 나타내면 다음과 같다.

Colonies on Agar strip/40 × Sampling time (minutes) 또는 (1L=1/1000m<sup>3</sup> 이므로) Colonies on Agar Strip × 25 / Sampling time (minutes)

예) 만일 8분 동안 공기를 빨아드린 Agar strip에 24개의 colonies가 존재하는 것이 확인되었다면, 24 colonies × 25 / 8 minutes = 75 CFU/m<sup>3</sup> 이 된다. 이것은 BCR 기준으로 하여 Class 100000 (88 CUF/m<sup>3</sup>) 정도로서 청정하지 못한 공간이라고 할 수 있으나 경험상으로는 BCR 10000에 해당하는 국내의 BCR룸들은 잘 설치 및 관리가 되어 있는 공간일 경우도 20-40 CFU/m<sup>3</sup> 정도인 경우가 많다. 즉, Class 10000 정도에 지나지 않아 병원의 2차 감염문제가 심각하다.

<http://www.yhmedics.com>

4.3 액체포집법(Liquid impinger)

상기의 방식들이 고체배지를 사용하는 반면에 이 방법은 흡입된 공기가 액체배지를 통과하게 하는 방식이다. 분리율도 평판배지를 이용하는 방법보다 높고, 희석배양이 가능하므로 측정균수범위도 10<sup>3</sup>~10<sup>7</sup>cfu/m<sup>3</sup>로서 10<sup>3</sup>~10<sup>5</sup>cfu/m<sup>3</sup>인 일반 충돌형의 포집율보다 넓다. 값이 싸고 멸균 후 재사용이 가능하다는 장점도 있으나 유리기구 이므로 파손의 염려가 있다. 또한 포자의 크기별 분획채취가 가능하도록 고안된 방식도 있으나 sampler별 결과의 차이가 생기는 등의 단점이 있다.

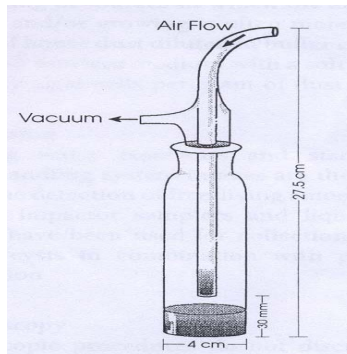
- 농도가 높은 곳에서 사용한다.
- 특히 박테리아 및 바이러스 등, 수용성물질(Mycotoxins, Endotoxins, antigen 등)포집에 유리하다

평가방법

공식1. (plate count/dilution factor)\*(volume plated) = CFU/(10<sup>3</sup>)(ml)= CFU/M<sup>3</sup>  
 공식2. 공식2. (suspension concentration)\*(total liquid volume)/(sampling rate) (sampling time) = (CFU/ml)\*(ml)/(M<sup>3</sup>/min)\*(min) = CFU/ <sup>3</sup>



SKC Bio - sampler



AGI - 30 (All Glass impinger) (courtesy of Shirley Burns and Paula Jacoby-Garret, UNLV)



#### 4.4 여과법(Filtration)

- 카세트에 필터내장 사용 - 주로 non-viable 포집 시 (예 : spores)
- 오염도가 심한 곳에 사용 : 제재소, 곡물 엘리베이터 등
- 필터 : Gelatine, Cellulose ester, Polycarbonate filter
- fungi는 포집, 박테리아는 포집 안 됨
- 유속은 1.5 rpm

##### 4.4.1 여과 샘플장치

여과 샘플장치는 에어로졸형의 샘플에 많이 쓴다. 적당한 공기송출장치와 여과재와 여과재 크기로써 거의 모든 양의 샘플이 주어진 간격하에서 포집할 수 있다.

여과법은 건조에 의해 어느 종의 미생물의 생존성을 해칠 수 있다. 그러므로 선택상 많은 주의가 필요하다. 여과는 공기중에서나 가스기류중에 몇가지 원리에 의해 입자를 제거한다.

여기에는 직접·간접 관성, 확산 그리고 전기적·중력적 흡착이다. 여기에 주로 작용하는 원리는 유속, 필터의 성질, 에어로졸의 특성 등이 작용한다.

여과 샘플장치의 설계와 사용에 다음 사항을 고

려할 것

- a) 필터에 충돌할 생물성 입자의 충격에 영향을 줄 정전기 영향 배제
- b) 유속과 흡입속도 제한 등의 확인
- c) 필터 Membrane Holder의 진공펌프 연결상태, 흡입 유속측정장치의 연결상태와 필터오염 가능성 등 확인

d) 필터 Holder에 무균적으로 Membrane 필터를 장착하고 여과후 무균적으로 탈착 가능성 확인.

Gelatin Membrane 필터의 경우 다음의 주의사항 확인

1) 많이 쓰는 방법 : 필터 Membrane을 2.5ml의 멸균완충 NaCl 용액(0.9% v/v)의 Petri-dish 접시에 넣을 것. Petri 접시를 조용히 흔들어 적당한 온도의 인큐베이터에 1~20분간 넣어 녹임을 돕는다. 그리고 이용액의 정수배 희석액을 적절한 배지에 넣고 적당한 온도에서 배양한다.

2) 대안 : 필터 Media를 직접 배지에 넣고 적당한 온도에서 배양한다.

생물성 에어로졸의 샘플일 경우 충분한 채취조건과 필터요인을 고려 다음의 제한성을 고려해야 한다.

- a) 온도
- b) 함유습도
- c) 인공적 물질의 형성



MD8 air scan air monitoring unit/ By Sartorius SKC Button Aerosol Sampler for inhalable dust sampling

- d) 필터 크기
  - e) 필터의 기계적 특성
  - f) 샘플장소에서 시험실까지의 이동조건
  - g) 생물성 입자만의 계수성
- 생물성 단위(VU)를 1m<sup>3</sup> 단위로 환산 계수하도록 한다.

#### 4.5 벌크

바이오에어로졸 분야에서의 벌크시료는 여러 가지가 있다. 덕트내의 퇴적분진, 환기용 필터, 곡물, 절삭유, 냉각탑수, 사무실 기기 등의 미생물의 생존이 가능한 고체상, 액체상의 발생원 자체나 그것에 파생된 시료를 의미한다.

벌크시료의 시료 포집은 다음과 같다.

1) 멸균 처리된 비닐 검사 장갑을 착용하고 해당되는 시료를 충분히 채취한 후 포장한다.

이때, 채취장소 등의 서식과 라벨이 준비되어야 하며, 때로는 벌크의 위험정도에 따라서 적절한 개인보호구를 반드시 착용하여야 한다.

2) 포장된 시료를 적정하게 표기하고 포장백의 겉면을 깨끗이 소독한다. 즉, 포장된 백의 겉면을 0.5-0.6% sodium hypochloride 용액이나 70% 알콜용액으로 씻어 내린다. 이것은 겉면에 오염된 미생물이 다른 환경이나 실험자에게 오염될 가능성을

제거하는 조치이다.

3) 가능한 지포(ziploc bag)으로 사용하지 않던 또 다른 백에 포장하여 운송한다.

4) 다음사항을 기록한다.

- 시료번호와 채취자
- 시료의 형태
- 채취 일자 및 시간
- 채취지역에 대한 도면이나 기타 정보 사항
- 수분 함유 상태 등

5) 시료는 별도의 보관 없이 즉시 실험실로 옮겨져야 하며, 수거 당일 배양을 실시하여야 한다.

예) ① cooling tower water for Legionella's, Tap water for E.coli

② 덕트내의 퇴적분진에서의 미생물 분포 현황

평가방법

공식1. plate count / mass = CFU / g

공식2. (suspension concentration) (total liquid volume)/mass of material suspended or washed = (CFU/ml) (ml)/ g = CFU/g

#### 4.6 시료포집시 유의사항

1) 적절한 샘플법과 처리지침을 정하고 상황의 복잡성과 변화성을 반영할 것.

- 2) 농도를 모르고 측정하므로 예상농도를 추정하고 측정하여야 한다
- 3) 포집효율이 고려되어야 하며, 포집 후 여러 culture media에서 증식시켜 존재여부 확인한다.
- 4) 미생물의 수나 activity 가 변해서는 안된다.
- 5) Representative : sample은 sample을 채취한 전체환경의 생물diversity와 density를 반영해야 한다
- 6) 수송, 보관 중 샘플된 미생물의 생존에 관한 사항
- 7) Foreign microorganism에 의해서 오염되지 않도록 한다.
- 8) 시료가 그 환경의 대표성과 보편성을 갖도록 고려하여 sample size, sampling site, sampling time, sampling method 등을 적절하게 결정하여야 한다.

#### 4.6.1 실내(indoor)

적절한 샘플법과 처리지침을 정하고 상황의 복잡성과 변화성을 반영할 것.

시료채취계획 정상 시스템을 기준으로 하여 작성하고, 규격화된 수순에 따르며 정확한 평가와 해석이 기본이다.

정상작업중에 포집하되 가장 위해도가 높다고 판단되는 시점에 포집한다.(예. 작업이 끝날 무렵이나, 활동이 가장 많을 때)

샘플요소의 다양성에 기재된 샘플법의 다수성 때문에 선정된 방법은 환경적 제한과 모니터링 장치 등을 고려해야 한다.

생물성 입자의 샘플링은 다음 중요요소가 고려되어야 한다.

- 1) 입자의 분리와 포집 효율
- 2) 수집중 생물성 입자의 생존율, 수송 보관중 생존율
- 3) 필요한 경우 생물성 입자의 추출과 세척

#### 4.6.2 실외(outdoor)

- HVAC 유입구 근처에서 실시한다
- 잠재적 장소 근처 예 : 냉각탑, 유기물질 저장소, 식물이 많은 곳
- 발생원으로부터 멀리 떨어진 곳을 선정한다
- 하루 중 다른 시간대별로 오전/오후 등으로 실내의시료 채취시간과 일치하도록한다
- 계절적 변화도 고려한다.k

### 4.7 측정기기 선정시 유의사항

#### 4.7.1 측정기기의 설치 전 사항

1. 측정장소, 시료 갯수, 시료채취기간, 계절적 변화, 시간-공간적 영향, 농도변화, 배양방법의 제한점 등이 반영되어야 한다

2. 정성 및 정량분석 방법 등 고려한다

3. 표준 채취방법의 미제정으로 문헌에서 보고 최적의 조건을 선정해야한다

4. 포집과 추정을 위한 샘플법은 종류도 많고 장치도 여러 가지이기 때문에 샘플 도구는 모니터 될 구역의 사정에 따른다. 이 선정에 관해서는 다음 중요한 요건을 고려해야 한다.

- 1) 샘플 될 생물성 입자 (the type of viable articles)의 형태(즉 증식 세포, 포자 또는 세균, 진균 등의 여부)
- 2) 샘플 방법에 따른 생물성 입자의 민감성
- 3) 생물성 입자의 기대 농도
- 4) 토착 균종이나
- 5) 혼합균이나
- 6) 저농도 생물오염 검출능력
- 7) 샘플될 위험구역의 충분한 환경조건
- 8) 샘플시의 시간과 지속시간
- 9) 샘플법, 샘플매체의 물질내용과 성질
- 10) 수집 정밀도와 효율
- 11) 배양법과 생물성 입자의 검출과 평가법



- 12) 얻으려는 정보의 형태(즉 정성적 이나, 정량 적이나)

#### 4.7.2 문서의 기록화(Documentation)

문서화에는 다음의 참고자료가 포함되어야 한다.

- a) 샘플의 형태 the type of sample
- b) 적용 시험법, 가능하면 표준번호와 제목 the test method(s) used and, where appropriate, the number or title of the standard
- c) 사용한 포집장치
- d) 샘플위치 the sampling site
- e) 샘플시의 활동상황, 사용상태 포함 the type of activity underway at the time of sampling, including occupancy state;
- f) 가능하면 샘플시의 작업원수 the number of persons within the sampling area, where appropriate
- g) 샘플일자, 가능하면 시간 sampling data and, where appropriate, the time of sampling
- h) 가능하면 샘플 소요기간 sampling duration, where appropriate
- i) 샘플 시험일자 Date of examination of samples
- j) 배양조건과 기간 Condition and duration of incubation
- k) 기록된 시험법과의 차이, 결과에 영향을 줄 요소 variations from the described test method, as well as any factor that may have influence the results;
- l) 초기 판독과 최종 판독 시험결과 the test results from the exmination of the collected specimens after intial and final reading

- m) 정량 시험시에 생물성 단위의 숫자는 SI 단 위 값으로 환산할 것  
when quantative tests have been performed, the number of VU are extrapolated the appropriate SI measuring unit
- n) 동정되었으면 분리 미생물의 기록 a description of the isolate(s), if characterized
- o) 시험기관명과 완료일, 책임자 the name of the organization responsible for the test report and the date of completion of the test;
- p) 시험자의 서명 the name and signature of the individual(s) in charge of testing.

#### 4.7.3.샘플의 식별(Identification of samples)

샘플의 라벨에 다음의 정보를 기록하여 정보의 추적자료(Traceability)로 할 것

- a) 포집위치
- b) 포집일시
- c) 시료 채취자
- d) 포집시의 작업내용
- e) 포집의 표시와 필요시에 배치형태
- f) 포집계획과의 차이
- g) 포집에 필요한 장치와 방법은 문서화된 절차 에 규정된 대에 따르고, 장치제조자가 제공하는 설명서에 따를 것

### IV. 분류에 의한 동정방법의 예

#### 5.1 지방산 분석법 MIDI(micribial identification System)

특징 : 호기성, 혐기성 박테리아, 곰팡이 등의 세

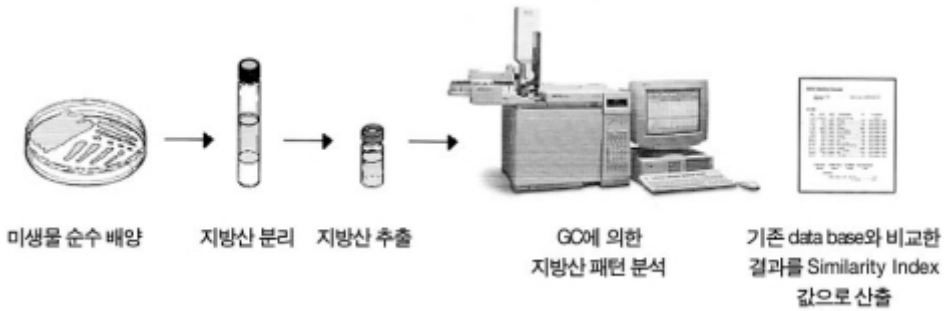


그림 22. Sherlock system을 이용한 미생물의 동정 모식도

포막에 존재하는 균체 지방산(fatty acid)의 조성  
에 따른 차이를 Gas Chromatograph로 자동 분석  
하여 Sherlock system database profile과 상호 비  
교하고 미생물의 속, 종, 아종을 한 시간 이내에 분  
류 및 동정하는 방법이다.

원리 : 미생물의 세포막 및 세포벽에 존재하는  
300여개의 CFA중에 C<sub>9-20</sub>가 대부분이며, 특히 C<sub>16</sub>,  
18이 가장 많은 부류 차지한다.

- Source of fatty acids (phospholipid of cell  
membrane)

Gram negative bacteria : LPS

Gram positive bacteria : lipoteicoic acid

Fungi : sterol

○ 미생물 및 거의 모든 생명체에는 특징적인  
CFA(약 5~15가지)가 존재하며, 이러한 CFA의 종  
류 및 정량의 차이를 이용하여 미생물을 동정한다.

예) Gram positive bacteria : branched chain-  
containing CFA, Odd numbered chain

Gram negative bacteria : cyclopropane-  
containing CFA, Even numbered chain

Higher organism : polyunsaturated CFA

### 5.1.2 지방산의 추출을 위한 전처리

표준조건에서 세균을 배양한 후, 50~100mg의  
균체를 tube에 모은다. 이 균체를 용액 I, II를 사  
용하여 saponification, methylation시킨 후, 용액

III로 Fatty Acid Methyl Ester(FAME)를 추출  
한다. 이 추출액은 GC로 분석을 용이하게 하기 위  
해 용액IV로 세척한다.(그림 4)

○ 용액 I : NaOH 45g, MeOH 150ml,  
deionized distilled water 150ml

○ 용액 II : 6.00N HCl 325ml, MeOH 275ml

○ 용액 III : Hexane/Methyl tert-Butyl Ether  
(1/1)

○ 용액 IV : NaOH 10.8g, dw 900ml

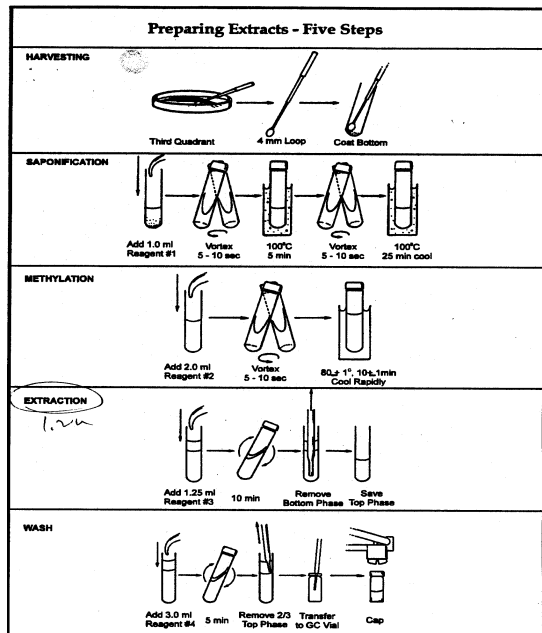


그림 23. 세균의 지방산추출 5단계

5.1.3 GC 조건

전처리가 된 지방산을 아래와 같은 조건으로 GC를 이용하여 분석한다.

○ 사용되는 기체 : 수소(운반기체, 30psi), 질소(보조기체, 20psi), 공기(40psi)

○ Auto injector : 일정양(2 $\mu$ l)의 시료주입에 필요함

○ 분석용 칼럼 : 25m \* 0.2mm phenyl methyl silicone fused silica Capillary column

○ 검출기 : FID

○ 분석 온도

Injection part : 250 $^{\circ}$ C

Oven part : 170 ~ 270 $^{\circ}$ C, rate = 5 $^{\circ}$ C/min ~ 300 $^{\circ}$ C, column cleaning

Detection part : 300 $^{\circ}$ C

○ 작동 순서

GC power on  $\rightarrow$  Gas pressure control  $\rightarrow$  Oven on(290 $^{\circ}$ C)

$\rightarrow$  Injector on(250 $^{\circ}$ C)  $\rightarrow$  Detector on(300 $^{\circ}$ C)

$\rightarrow$  oven temp.가 150 $^{\circ}$ C이상일 때 점화  $\rightarrow$  Sherlock software

$\rightarrow$  Sample table작성  $\rightarrow$  start

5.1.4 분석결과 해석 및 동정

Sherlock Software를 이용하여 GC에서 분석된 chromatogram과 data를 정성 및 정량 분석하여 이를 library와 대조하여 Similarity Index(SI)값으로 표시

Data bases : Aerobe(약 1200종), Anaerobe(약 800종), Yeast(약 200종), Bioterrorism Library

결과평가:

SI : Library의 CFA조성 표준값과 얼마나 가까운지를 수로 표시

SI > 0.5 : Best match(단일 균주)

0.3 < SI < 0.5 : Good match(단일 균주) match(2균주 이상)

SI < 0.3 : 전처리 과정이 잘못되었거나 일치되는 균주가 library에 없음.

그러나 가장 밀접하게 관련된 종을 나타냄

○ 지방산의 명명

표 1. 세균의 일반적인 지방산

Type of fatty acid	Name		
	Systematic	Simplified	Common
Saturated	Dodecanoic	C12:0	Lauric acid
	Tetradecanoic	C14:0	Myristic acid
	Hexadecanoic	C16:0	Palmitic acid
	Octadecanoic	C18:0	Stearic acid
	Eicosanoic	C20:0	Arachidic acid
Unsaturated	cis-9-Hexadecenoic	C16:1 $\omega$ 7c	Palmitoleic acid
	cis-9-Octadecenoic	C18:1 $\omega$ 9c	Oleic acid
	cis-11-Octadecenoic	C18:1 $\omega$ 7c	Vaccenic acid
Branched chain	13-Methyltetradecanoic	Iso-C15:0	
	12-Methyltetradecanoic	Anteiso-C15:0	
	10-Methyloctadecanoic	10-Me-C19:0	Tuberculostearic acid
Hydroxy	3-Hydroxytetradecanoic	3-OH-C14:0	$\beta$ -Hydroxymyristic acid
Cyclopropane	cis-11,12-Methylene-octadecanoic	C19:0cyclo11,12	Lactobacillic acid

AEROBIC BACTERIA by GC-FAME

0801

METHOD: 0801, Issue 1

EVALUATION: N/A

Issue 1: 15 January 1998

PROPERTIES: viable and culturable, requires oxygen

SYNONYMS: Gram positive (+) bacteria, gram negative (-) bacteria, mycobacterium species (sp)

SAMPLING		MEASUREMENT	
<b>SAMPLER:</b>	ANDERSEN IMPACTOR (15 x 100-mm culture plates containing TSBA media)	<b>TECHNIQUE:</b>	GAS CHROMATOGRAPHY, FID
<b>FLOW RATE:</b>	28.3 L/min [1]	<b>ANALYTE:</b>	fatty acid methyl esters (FAME) of aerobic bacteria or <i>Mycobacterium</i> sp
<b>VOL-MIN:</b>	50 L	<b>DESORPTION:</b>	1 mL hexane/MTBE (1:1)
<b>-MAX:</b>	300 L	<b>INJECTION VOLUME:</b>	2 µL
<b>SHIPMENT:</b>	keep cold, ship overnight.	<b>TEMPERATURE-INJECTION:</b>	250°C
<b>SAMPLE STABILITY:</b>	transfer bacteria to fresh culture media weekly	<b>-DETECTOR:</b>	300°C
		<b>-COLUMN:</b>	170°C to 270°C (5°C/min)

화학적인 명명법은 일반적으로 IUPAC (systematic) name과 Common name이 있으나, Sherlock system에서는 간편화된 형태로 명명하였다(표 1). 예를 들면 C16:1ω7c에서 16은 지방산의 탄소수이고 1은 이중결합의 수를 나타낸다. 또한 ω는 carbonyl기의 반대쪽을 나타내며, 7은 이중결합의 위치이며 c는 cis를 나타낸다.

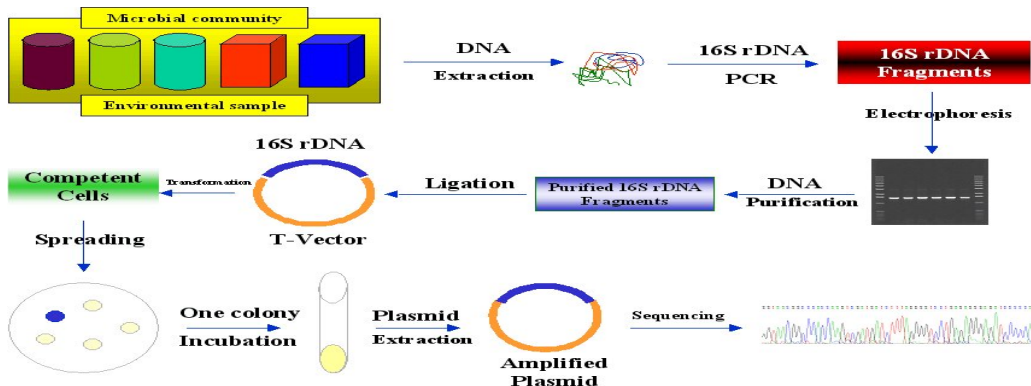
5.2 분자 생태학의 방법론

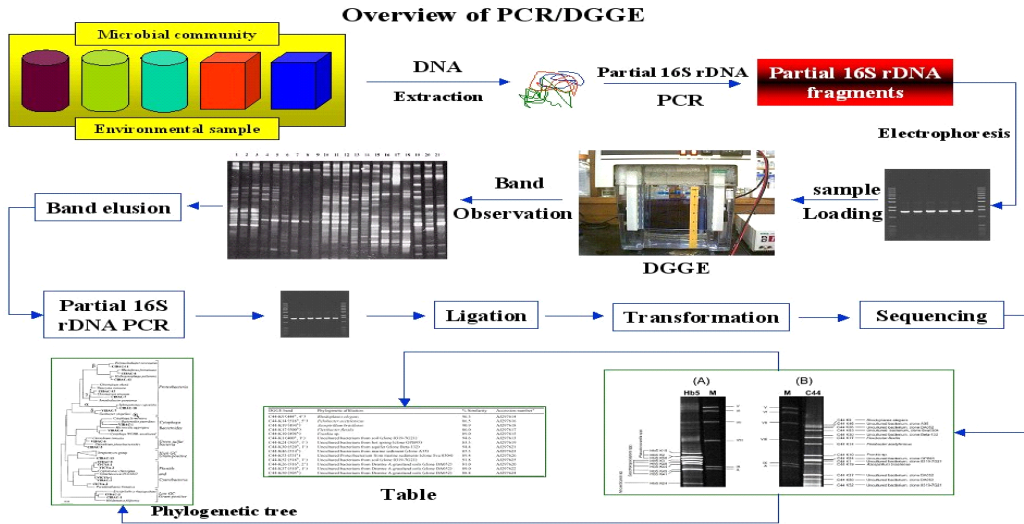
분자 생태학의 방법론으로는 현재 5S rRNA, 16S rRNA 및 mtDNA의 염기 서열분석, 유전적 변형균주(GEM)의 활용, PCR의 응용, 핵산의 잡종화 등이 흔히 위와 같은 목적으로 사용되고 있으며, 그 연구기법은 분자 생물학 방법론에서 유래된다.

Manual of methods to see the diversity of bacteria from environmental samples

1. Cloning of amplified 16S rDNA from environmental samples

\* Overview of 16S rDNA Cloning





### 5.3 분자생물학적 방법

유전 물질에 대한 연구는 전통적인 표현형 시험을 사용할 때는 드러나지 않을 수 있는 미생물간의 미묘한 차이와 유사성을 나타낼 수 있다. 이 유전적 세밀함이 매우 정밀하게 종 수준까지 특성을 지어 제공하는데 사용될 수 있고 미생물 원에 대한 다양한 정보를 얻을 수 있다.

유전적으로 기초를 둔 기술이 리보타이핑(ribotyping)이다. 이것은 매우 잘 보존된 ribosomal RNA(rRNA) 유전자에 기초한 'fingerprint' 형태를 만들고 생물간의 유전적 관계에 따라 종을 비교하고 특성을 지을



수 있게 한다.

RiboPrinter 미생물 특정화 시스템은 리보타이핑 과정을 5일에서 단 8시간으로 급속하게 빠르게 한다. 게다가, 이 과정의 자동화는 사용자의 실수를 감소시키고, 역학조사를 위한 형태 비교를 용이하게 하고 미생물 실험실에서 이 기술을 더 수용하게 만든다.

DNA CHIP개발 및 제품의 중요성

<유전형 감별에 의한 병원성세균 동정법 개발의 중요성>

배양단계가 불필요하므로 검사시간을 획기적으로 줄일 수 있다.

<http://www.oxidkorea.com/dataroom/>

### 5.4 미생물 자동화 동정 기기의 문제점

바이오에어로졸 분야의 미생물을 포함하는 재료로 하는 많은 연구자들이 대부분 미생물의 동정을 자동화동정시스템(automated identification system), 지질 조성 분석에 의해 미생물을 동정하는 MIDI, 탄소원 이용 능력을 기초로 하는 Biolog, 생리적 특성을 기초로 하는 Vitek 등)에 의존하고 있

다. 그러나 이 시스템이 갖는 한계에 대한 인식은 매우 낮다.

일례로 세균 종이 8,000여 종 기재되어 있으나 미생물 자동화 동정 시스템의 가장 큰 데이터베이스도 2000여 종을 넘지 못하며, 병원 미생물이 아닌 환경 시료인 경우 동정시스템별로 다른 동정결과가 나오는 경우가 많고, 신종인 경우 동정되지 못 할 가능성은 당연히 매우 크다. 또한 현재 환경, 식품 의약 등 자연계로부터 분리한 미생물의 동정 수단으로 가장 널리 쓰이고 있는 16S rDNA 염기서열 비교는 대부분 속(genus) 혹은 근연 속까지의 동정이 가능할 뿐이다.

#### 541 환경 미생물 동정의 보증과 분류시스템 구축 필요

많은 미생물분야 연구자들이 신속하게 동정하기 위해서는 미생물의 올바른 동정의 보증과 계속적인 자동화 기기의 Version up이 요구되는데, 이를 뒷받침하기 위해서는 정통 분류학자에 의한 연구 및 그 결과물에 의한 database의 확충이 필요하다. 향후 좀더 보완되어야 할 문제점과 사항은 다음과 같다.

- 바이오에어로졸분야의 미생물분류학자 회소 및 감소 경향
- 다양성 사업에의 전문가 참여율 저조
- 현행 임상환자 위주의 미생물 자동화 동정 기기의 database 한계
- 환경(air, water, waste etc.)에서 분류되는 비병원성미생물(non pathogenic microbes)의 올바른 동정의 보증과 의미 해석에 따른 분류시스템 확충

#### V. 결론 및 제언

- 1) 바이오에어로졸의 용어 통일
  - 2) 바이오에어로졸의 국제적인 측정방법 통일
  - 3) 바이오에어로졸의 보호학문 지정(연구회나 혹은 학회의 설립)
- 분류능력제고를 위해서는 대학을 통한 연구와 분

류인력 양성을 지속적으로 이루어나가야 하므로

- 기초학문분야 중 보호학문으로 육성한다
- 4) 바이오에어로졸의 국제 참고치 설정
- 5) 교육, 훈련 프로그램 개발

#### - 참고문헌 -

- 김기영, 김운신. 바이오에어로졸 특론, 신광출판사 (2006)
- 김기영. 서울시 일부 냉각탑 중 레지오넬라의 동정 방법별 비교와 영향인자 연구, 한국산업위생학회지 제13권 3호(2003년12월)
- 김석홍, 김선희, 김영자, 김정혜, 김충환, 민병해, 신영순, 양병선, 은종영, 이동석, 최승구, 최원창, 홍연라. 병원미생물학. 청구문화사(2003)
- 김시무, 김승곤, 이건설, 김영권, 김태운, 정경석, 김충환, 최양순, 홍성노, 진단미생물학 실습, 고려의학(2002)
- 김영권 외 13명. 임상진균학 이론과 실제 2판. 고려의학(2000)
- 김영권, 김선희, 김승곤, 김영자, 김양호, 김태운 외 김태운, 김영권 외 6명. 의학미생물과 감염질환. 수문사(2000)
- 박진숙, 황경숙, 천종식 역. 미생물의 분류·동정 실험법. 월드 사이언스(2005)
- 선순봉, 김기홍, 방용준. 진균학. 대학서림(1994)
- 이연태. 의학미생물학. 현문사(1995)
- 작업환경측정기술협의회. 산업환기 이론과 실천. 수정인쇄(1998)
- 정병균 외 5명. 진단분자생물학. 현문사(2002)
- 조규상. 산업보건학. 수문사(1991)
- 최승구 편저. 임상세균검사 ATLAS. 고려의학 (2004)
- 최영길, 김치경, 민경희, 조홍범, 한홍익, 이미성, 김병태, 조관형. 현대환경미생물학. (주)교학

- 사(2002)
- Adams D G 1992 Multicellularity in cyanobacteria. In prokaryotic Structure and function. S Mohan C Dow and J A Coles editors 341~84 New York; Cambridge University Press
- Agarwal, M. K., Yunginger, M. D., Swanson, M. C. and Reed, C. E.(1981) An immunochemical method to measure atmospheric allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 68, 194~200.
- AIHA Analytical Chemistry Committee, Quality Assurance Manual for Industrial Hygiene Chemistry, American Industrial Hygiene Association Press, Fairfax, VA, 1988.
- Allen M M 1984 Cyanobacterial cell inclusions *Ann Rev. Microbiol* 38 :1~25
- Alvarez. A. J., Buttner, M. P. and Stetzenbach, L. D.(1995) PCR for bioaerosol monitoring; sensitivity and environmental interference. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 3639~3644.
- American Conference of Governmental Industrial Hygienist, 1992~1993 Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices ACGIH Cincinnati, 1992.
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists,(ACGIH), 1989. Guidelines for the assessment of bioaerosols in the indoor environment. Cincinnati, Ohio.
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists: ACGIH Bioaerosols Committee Activities and Reports. *Appl. Ind. Hyg.* 1 : R19~R23 (1986)
- Balows, A ;truper, H. G ;Dworkin, M ;Harder, W ;and Schleifer, K H 1992. The prokaryotes, 2d ed New york ; springer-verlag
- Beatty, W. L ;Morrison, R. P and Byrne, G I 1994. Persistent chlamydiae: from cell culture to a paradigm 58(4) ;686~99
- Bisesi, M, S and Kohn J, P Industrial Hygiene Evaluation Methods, CRC Press/Lewis publishers Boca Raton, FL. 1995.
- Burges, H, Ed, Bioaerosols, CRC Press./Lewis Publishers, Boca Raton, FL, 1995.
- Caravanos, J, Quantitative Industrial Hygiene ; A Formula workbook, American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Cincinnati, OH, 1991.
- Carmichael, W, W, 1994, The toxins of cyanobacteria *Sci. Am* 270(1) ; 78~86.
- Chatigny, M. A., Macher, J. M., 1989. Sampling airborne microorganisms. In: Hering, S.V.(Ed.), Air Sampling Instruments. ACGIH, Cincinnati, OH, pp. 200~214
- 미생물 분류 동정 장치(training manual), 영인 과학, 1996
- Microbial Chemotaxonomy, *J. Chromato.*, 379(1986) 367~411
- Application of Cellular Fatty Acid Analysis, *Clin. Microbiol. Rev.*, oct. 1991, p.422~438
- 공기청정기술. 12. Vol 16, No 4 pp. 10~20
- <http://www.most.go.kr/>,
- <http://biozine.kribb.re.kr/>,
- <http://www.cabri.org/>
- <http://www.atcc.org>, <http://www.jba.or.jp/>