

입-입 인공호흡(Mouth-to-mouth ventilation)을 위한 감염방지 도구의 병원성 세균 여과 효과[†]

심규식 · 김은미*

나사렛대학교 응급구조학과

Effect of a pathogenic bacteria filtration instrument for infection prevention during mouth-to-mouth ventilation[†]

Gyu-Sik Shim · Eun-Mee Kim*

Department of Emergency Medical Technology, Korea Nazarene University

=Abstract =

Purpose: The purpose of this study was to investigate the effect of a pathogenic bacteria filtration instrument for infection prevention during mouth-to-mouth ventilation.

Methods: Two kinds of face shields were used for the study. One rescuer blew the filter through a bag valve mask and the filter was then cultured for bacteria. The mask was tested both on the front and back side.

Results: Two kinds of face shields including the KF shield and CM shield were tested. The KF shield has received national certification and it prevented transmission of bacterial infection but the CM shield showed the opposite result and did not prevent bacterial transmission. Pathogenic bacteria were found on the back of the CM shield.

Conclusion: A certified face shield is very important to prevent bacterial transmission. Face shields should be demonstrated and used by paramedic students.

Keywords: Cardiopulmonary resuscitation (CPR), Face shield, Mouth-to-mouth ventilation, Pathogenic bacteria

Received November 23, 2016 Revised December 1, 2016 Accepted December 19, 2016

*Correspondence to Eun-Mee Kim

Department of Emergency Medical Technology, Korea Nazarene University, 48 Wolbong-ro, Seobuk-gu, Cheonan 31172, Republic of Korea.

Tel: +82-41-570-4163 Fax: +82-41-570-4175 E-mail: esther96@kornu.ac.kr

[†] 이 논문은 나사렛대학교 연구비 지원에 의하여 수행된 것임.

I. 서 론

심폐소생술 과정에서 입-입 인공호흡(mouth-to-mouth ventilation)은 환자의 생존율을 높이는 데 매우 중요한 요소이다[1]. 정상인의 호기가 인공호흡에 적합하다는 사실이 알려진 후[2] 구조자의 인공호흡은 응급상황에서 가장 적절한 호흡 보조방법으로 사용되지만[3], 일부에서 세균 또는 바이러스가 입-입 인공호흡으로 전파되어 전염성 질환을 일으켰다는 연구가[4-6] 있다. 또한 최근 후천성 면역결핍증환자나 바이러스성 간염 등 전염성 질환자는 증가하는 추세이나[7], 심폐소생술 교육 시 교육생들은 인형을 교대로 사용하고 있어 교차 감염의 가능성이 상존하는 상태이다[8]. 그러므로 구조자와 환자 사이의 입-입 접촉에 의한 전염성 질환을 예방하기 위해 감염방지 도구의 사용이 필수적이다[9].

페이스 실드는 입-입 인공호흡 시 가장 많이 사용되는 감염방지 도구 중 하나이지만 입-입 인공호흡을 반복적으로 연습할 경우 교육생의 타액과 호기 때 방출되는 수분으로 인해 필터가 젖는 일이 흔하게 발생된다. 또한 필터의 두께가 매우 얇고 투명도가 높아 감염방지 도구 기능을 하고 있는지에 대한 의문을 갖게 한다.

현재 국내·외에서 여러 종류의 페이스 실드가 판매되고 있고 심폐소생술 교육 시 많이 사용되고 있지만, 페이스 실드가 실질적인 감염방지 도구로서의 기능을 충분히 하고 있는지에 대한 자료는 국내·외에서 극히 드물다. 대부분 국내 제품에서는 식약청 허가품이라는 문구를 표기하여 안정성 여부를 알리고 있으나 제품 생산을 허가 받았을 뿐 안전성에 관한 내용은 공개되어 있지 않은 경우가 많아 그 기능의 검증이 필요 하고 국외 제품과의 성능비교가 필요하다.

따라서 본 연구는 페이스 실드의 병원성 세균 차단효과를 검증하여 안전한 입-입 인공호흡을 위한 기초 자료를 제공하고자 한다.

II. 연구방법

1. 연구설계

입-입 인공호흡 연습 시 감염방지를 위해 사용하는 페이스 실드가 유효한 세균 여과 성능이 있는지를 알아보기 위해 국내 생산 실드와 국외 생산 실드 각 1종씩 2종류의 실드 중에서 각각 3개씩 총 6개를 사용하였다. 3개의 마네킹 입 위에 실드를 1개씩 덮고 필터의 앞면에 배양된 세균을 도포한 후 백밸브마스크(bag valve mask, BVM)로 2회씩 15회 환기시켜 필터의 앞면과 뒷면에서 세균의 검출 유무를 세균배양을 통해 확인하였다.

2. 연구도구

페이스 실드는 국내 대한심폐소생협회 일반인 BLS 과정에서 사용되고 있는 제품 중 수입품인 LF 실드와 국산 식약청 허가품인 CM 실드를 사용하였다. 연구를 위해 사용된 장비 및 기구로는 백밸브마스크(BVM, LSR Adult Basic wo/Mask in Carton (IE) 87005033, Laerdal Medical AS, Stavanger, Norway)와 마네킹 (Airway Management Trainer 250000, Laerdal Medical AS, Stavanger, Norway)을 사용하였다. 연구에 사용된 시약과 시료는 세균배양용 배지 (LB broth, Sigma Chemical, St. Louis, MO), (LB agar, Sigma Chemical, St. Louis, MO), DNA 분리동정 (AccuPrep® Genomic DNA Extraction Kit, Bioneer, Daejeon, Korea), PCR 정제 (PCR purification kit, Bioneer, Daejeon, Korea), DNA Marker (1 Kbp plus 100 bp plus DNA ladder, ELPiS Biotech, Daejeon, Korea), 프라이머 (Oligonucleotide primer (9F, 5' ATCCTGGCTCAGATTGAACG, 767R, 3' CTAATCCTGTTTGCTCCCA), Bioneer, Daejeon, Korea)를 합성하여 사용하였다. 그 외 다른 화학용품과 시약은 Sigma Chemical (St. Louis, MO)과 Merck (Rahway, NJ) 제품을 사용하였다.

3. 연구절차

1) 자료의 수집

본 연구는 2016년 8월 2일에서 8월 22일까지 20일간 진행되었고, 시료채취는 세균배양을 위한 1차 채취, 필터의 여과성능 확인을 위한 2차 채취로 구분하였다. 1차는 8월 2일 본 대학 309호 실험·실습실에서 응급구조학과 4학년 5명이 직접 불어넣기 한 필터에서 채취하였고, 2차는 8월 10일 동일 장소에서 응급구조학과 4학년 학생 3명이 백밸브마스크로 환기를 종료하면 연구자 2인이 즉시 채취하였다. 세균배양 및 동정확인인 본 대학 임상병리학과 실험·실습실과 서울 소재 A의과대학 생화학분자생물학 연구실에서 연구자 1인이 직접 시행하였다. 모든 과정에서 멸균된 장갑을 착용하였다.

2) 페이스 쉴드에 입으로 불어넣어서 세균 채취하기

LF 쉴드를 사용하여 1초씩 2번 입으로 불어넣기를 50회 실시한 후, 면봉접촉채취법(swab contact method)을 이용하여 시료를 채취하였다. 이때, 심폐소생술 연습용 인형에 밀착하여 불어넣기를 하는 방법이 아닌, 페이스 쉴드의 비닐부분 양쪽 끝을 두 손으로 잡고, 페이스 쉴드의 필터 앞부분에 입을 밀착하여 불어넣기를 시행하였다. 고압 증기 멸균 후 건조한 면봉으로 필터의 앞부분 즉, 입으로 직접 불어넣은 부분을 5번씩 상하좌우로 왕복하며 문질러 채취하였다. 인산염완충식염수(phosphate buffered saline, PBS, adjusted pH 7.4) 용액 200 μ l 이 담긴 15 ml 원심관튜브에 면봉을 넣은 후, 세계 회전 혼합하였다. 용액 중 100 μ l 를 LB agar 배지에 접종하고, 삼각병으로 골고루 도말하였다. 37 $^{\circ}$ C 에서 48시간동안 항온배양기에서 배양한 후[10], 필터 앞부분의 세균을 채취하였다. 5명의 학생 중 1명이 불어넣은 필터에서 검출된 세균을 LB broth에 접종 한 후 진탕배양기에서 37 $^{\circ}$ C로 12시간 배양

하였고, 이 후의 실험절차에서는 배양된 세균을 사용하였다. 페이스 쉴드의 필터 앞부분은 멸균된 면봉 외에는 접촉되지 않았다.

3) 페이스 쉴드에 직접 세균 도포하여 백밸브마스크로 불어넣기

소독한 3개의 마네킹 입 위에 LF 쉴드를 올려 놓고 배양된 세균을 100 μ l 씩 직접 도포한 후, 백밸브마스크를 이용하여 1초씩 2회 불어넣기를 매 회당 500-600cc의 환기량으로 15회 실시하였다. 같은 방법으로 CM 쉴드를 순차적으로 시행하였다. 쉴드를 교체할 때에는 마네킹의 내·외부를 알코올로 소독 후 건조시켰다.

4) 시료 채취

각 페이스 쉴드 제품 별 세균 투과 정도를 비교해보기 위해, 면봉접촉채취법을 이용하여 시료를 채취하였다. 면봉을 고압 증기 멸균 후 말려서 준비한 후, 15회 백밸브마스크로 불어넣기 시행한 페이스 쉴드 필터의 앞부분 즉, 백밸브마스크로 직접 불어넣은 부분과 뒷부분을 각각 5번씩 상하좌우로 왕복하며 문질러 채취하였다. 그 후, 인산염완충식염수(phosphate buffered saline, PBS, adjusted pH 7.4) 용액 200 μ l 이 담긴 15 ml 원심관튜브에 면봉을 넣은 후, 격렬하게 vortex 하였다. 용액 중 100 μ l 를 LB agar 배지에 접종하고, 삼각병으로 골고루 도말 하였다. 37 $^{\circ}$ C 에서 48시간동안 항온배양기에서 배양한 후, 필터의 앞, 뒷부분의 세균 배양 정도를 관찰하였다. 페이스 쉴드의 필터 앞, 뒷부분은 멸균된 면봉 외에는 접촉되지 않았다.

5) 세균의 검출 및 동정 확인

각각의 필터의 앞, 뒷부분에서 검출된 세균 균집을 채취하여 LB broth에 접종한 후, 진탕 배양기에서 37 $^{\circ}$ C로 12시간 배양 한 후, AccuPrep[®] Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Korea) 를 이용하여 genomic DNA를 추출하였다. 추출된

genomic DNA 20 ng을 PCR 템플릿(template)으로 사용하였다. PCR은 PCR purification kit (Bioneer, Korea)를 이용하여 시행하였다[11]. Oligonucleotide primer로 9F, 5' ATCCTGGCTCAGATTGAACG, 767R, 3' CTAATCCTGTTTGCTCCCCA 100 pmol을 사용하였다[12]. 초기 변성은 95 °C 에서 12분, 변성은 95 °C에서 30초, 가열냉각은 53 °C에서 40초, 증폭은 72 °C에서 1분으로 35회 반복하였고, 마지막 신장은 72 °C에서 10분간 시행하였다. PCR 증폭 후, 2 μ l 의 PCR 산물을 1 % agarose gel과 1 \times TAE buffer 에서 전기영동 하였고, 1 kbp plus 100 bp plus DNA ladder marker (ELPiS Biotech, Korea)를 함께 전기영동 하였다. Gel은 ethidium bromide로 염색한 후 gel documentation system으로 확인하였다.

III. 연구결과

1. 각 페이스 쉴드 제품 별 15회 백밸브 마스크로 불어넣기 이후, 세균 검출 유무 확인

각각의 페이스 쉴드 필터의 세균 여과 성능을 살펴보기 위하여 먼저 LF 쉴드 필터에 입으로 불

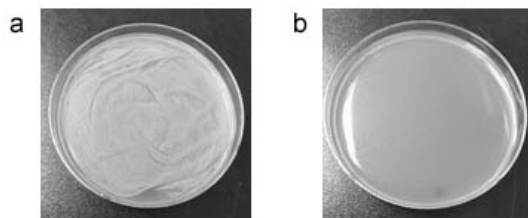


Fig. 1. After blowing out to the filter through BVM, LF Shield prevented transmission of bacteria.

1a. Bacteria at the front of the LF Shield.
1b. Bacteria at the back of the LF Shield.

어넣어 채취된 병원성 세균을 완전히 자라도록 배양하여 직접 도포한 후, 백밸브마스크를 이용하여 1초씩 2번 불어넣기를 15회 실시하여 필터 앞, 뒷부분의 세균 군집 양상을 살펴보았다. 그 결과, LF 쉴드 필터의 앞부분에서는 다량의 세균 군집이 발견되었으나[Fig. 1a], 뒷부분에서는 세균 군집이 발견되지 않았다[Fig. 1b]. 그러나 CM 쉴드를 이용한 같은 실험에서는 페이스 쉴드 필터의 앞부분과 뒷부분에서 모두 다량의 세균 군집이 발견되었다[Fig. 2a and 2b]. 세균 군집은 2종의 페이스 쉴드 각각 3개의 필터에서 모두 같은 결과를 나타내었고, 같은 조건에서 같은 양의 세균을 도포하였으므로 세균수를 세지 않고, 세균 군집 발견 유무로 확인하였다. 또한, 마네킹의 입에 닿는 페이스 쉴드의 필터 뒷부분을 대조군으로 시료채취 후 배양한 결과, 세균 군집이 발견되지 않음을 확인하였다.

2. PCR을 이용한 병원성 세균 확인

앞서 발견된 세균 군집이 병원성 세균인지 여부를 밝히고 CM 쉴드의 뒷부분에서 발견된 세균이 앞부분에서 발견된 세균과 같은 종류인지 즉, 앞에서 발견된 세균이 필터를 통과하여 뒷부분에서 발견된 것인지를 알아보기 위해 PCR로 해당 DNA를 증폭시켜 확인하였다. 이를 위해 15회 백밸브 마스크로 불어넣기 이후 각 페이스 쉴드의 앞, 뒷

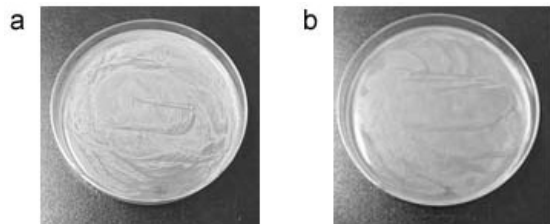


Fig. 2. After blowing out to the filter through BVM, CM Shield did not prevent transmission of bacteria.

2a. Bacteria at the front of the CM Shield.
2b. Bacteria at the back of the CM Shield.

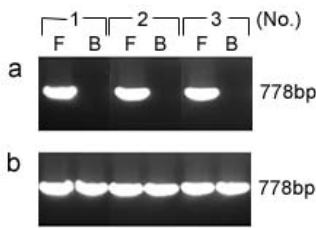


Fig. 3. Pathogenic bacteria was detected by PCR experiment.

3a. A 778bp band of pathogenic bacteria at the front(F) and back(B) of the three LF Shields.
 3b. A 778bp band of Pathgenic bacteria at the front(F) and back(B) of the three CM Shields.

부분에서 면봉접촉채취법으로 채취하여 LB agar 배지에서 세균 균집을 배양하고, 배양된 세균 균집을 LB broth 에 접종하여 37 °C 진탕 배양기에서 12시간 배양한 후, genomic DNA를 추출하였다. 이 genomic DNA를 템플릿(template)으로 사용하여 9F (5'), 767R (3') primer를 이용하여 PCR로 증폭시켜 확인하였다. 그 결과 LF 쉴드의 백밸브마스크로 붙어넣기 한 필터 앞부분(F)에서는 3개의 필터 모두 778bp 크기의 밴드(band)를 확인 할 수 있었지만, 백밸브마스크로 붙어넣기 한 필터의 뒷부분(B)에서는 3개의 필터 모두 어떤 band도 확인되지 않았다[Fig. 3a]. 그러나 CM 쉴드에서는 필터의 앞부분(F)과 뒷부분(B)에서 3개의 필터 모두 778bp 크기의 밴드(band)를 확인 할 수 있었다[Fig. 3b].

IV. 고 찰

페이스 쉴드는 심폐소생술 교육 시 연습생간의 교차 감염을 차단하고[9] 응급현장에서 응급처치 제공자와 환자 사이의 병원성 세균 전파 억제를 위해 많이 사용되고 있는 감염방지 도구이다. 감염성 질환의 예방을 위해 Australian Resuscitation Council와 American Heart Association에서 교

차감염의 위험성과 오염원 제거 등 감염성 질환 예방지침을 제시하고 있으나[13,14] 그보다 선행되어야 할 페이스 쉴드의 병원성 세균 여과 성능에 대한 연구는 전무한 상태이다.

최근 심폐소생술 교육용 마네킨의 오염도를 조사한 Park[15]의 연구를 보면 심폐소생술 마네킨에서 메티실린내성 포도알균(methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), 반코마이신 내성 장알균(vancomycin resistant enterococci, VRE) 등 고병원성 세균과 알리지를 유발할 수 있는 곰팡이 균들이 다량 검출되었고 특히 구강과 폐 주머니 안에서 오염도가 매우 심각한 것으로 나타나 심폐소생술 교육 시 입-입 인공호흡에 의한 교차 감염 위험이 매우 높은 것으로 나타났다. 또한 Figura[16]의 연구와 Hendricks 등[17]의 연구에서 환자에게 입-입 인공호흡으로 헬리코박터 필로리 감염과 원발성 단순포진의 감염이 나타났다는 연구가 있어 교차 감염 예방의 중요성이 강조되고 있다.

현재 국내 많은 교육기관에서 사용되고 있는 일반적인 페이스 쉴드는 식약청에 허가를 받아야 하는 일회용 감염방지 의료기기로서 안면을 덮을 수 있는 비닐 재질의 쉴드와 입안에 공기를 붙어넣을 수 있는 필터로 구성 되어 있다. 필터는 제품마다 투명도가 약간 다른데 본 실험에 사용된 LF 쉴드의 경우 필터의 앞면에서 뒷면이 전혀 보이지 않는 치밀한 조직의 필터로 되어 있다[Fig. 4a]. CM

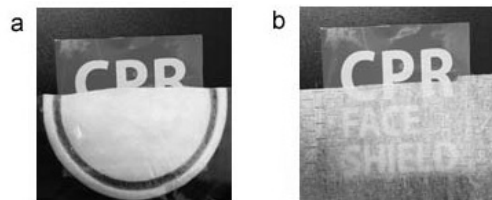


Fig. 4. The transparency of two different face shields.

4a. LF Shield,
 4b. CM Shield.

실드는 필터 뒤에 붉은색 바탕의 글씨를 놓고 앞에서 보면 글씨의 색깔 형태가 매우 명료하게 보이는 투명도를 갖고 있다[Fig. 4b]. 이렇게 페이스 실드 필터의 투명도에 차이가 나는 이유는 식약청에서 감염방지 의료기기로서 생산 허가는 부여하나 병원체를 여과할 수 있는 필터의 기준과 두께, 재질 등을 명시하지 않아 발생한 결과로 볼 수 있다.

본 연구에서는 LF 실드 필터의 앞부분에서 다량의 세균 군집이 발견되었으나[Fig. 1a] 뒷부분에서는 세균 군집이 발견되지 않았다[Fig. 1b]. 그러나 CM 실드를 이용한 같은 실험에서는 필터의 앞부분과 뒷부분에서 모두 다량의 세균 군집이 발견되었다[Fig. 2]. 이는 필터의 앞부분의 세균이 뒷부분으로 통과한 결과임을 확인하였다[Fig. 3]. 이러한 연구결과로 미루어 볼 때 육안상 구분되는 페이스 실드 필터의 투명도를 통해서도 일차적으로 병원성 세균의 여과 성능을 가늠해 볼 수 있을 것이라 생각된다. 그러나 본 연구에 사용된 제품은 일부 특정 제품에 국한되어 모든 제품의 기능에 일반화 할 수 없으므로 필터의 투명도가 세균 여과 성능에 직접적인 영향을 주는지 추가 연구가 필요하다.

이상의 결과를 종합할 때 제품마다 페이스 실드 필터의 병원성 세균 차단 성능이 다르므로 응급치제공자와 심폐소생술 교육생의 안전을 확보하기 위해서는 관계기관의 명확한 필터 여과 성능의 기준 제시가 이루어져야 한다.

V. 결 론

본 연구는 국내 심폐소생술 교육 시 많이 사용되고 있는 페이스 실드의 병원성 세균 차단효과를 검증하여 페이스 실드가 감염방지 보조기구로서의 역할을 충분히 하고 있는지 알아보기 위해 일반적으로 사용되는 2종의 페이스 실드를 임의 선정하

여 실험하였다. 그 결과, LF 실드는 병원성 세균 차단효과가 검증되었으나, CM 실드는 병원성 세균 차단효과가 없는 것으로 나타났다. 이는 시판되는 페이스 실드의 안정성 평가가 본 연구에서 처음 시행되었다는 의의를 가진다. 또한, 국내에서 사용되는 일부 페이스 실드는 식약청으로부터 제품 생산 허가는 받았지만, 병원성 세균 차단효과가 없을 수 있으며, 다른 페이스 실드의 안전성도 검증할 필요가 있다는 점을 시사한다.

Acknowledgement

We are grateful to Prof. Hwang and Dr. Lee at the University of Ulsan, College of Medicine for helpful discussions.

References

1. Lavonas EJ, Drennan IR, Gabrielli A, Heffner AC, Hoyte CO, Orkin AM, et al. Part 10: Special Circumstances of Resuscitation 2015 American Heart Association Guidelines Update for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Circulation* 2015;132(18) suppl2:S501-S18. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000264>
2. Berg RA, Hemphill R, Abella BS, Aufderheide TP, Cave DM, Hazinski MF, et al. Part 5: Adult basic life support 2010 American Heart Association guidelines for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care. *Circulation* 2010;122(18)suppl3:S685-S705. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000264>

- org/10.1161/CIR.0000000000000259
3. Kleinman ME, Brennan EE, Goldberger ZD, Swor RA, Terry M, Bobrow BJ, et al. Part 5: Adult Basic Life Support and Cardiopulmonary Resuscitation Quality 2015 American Heart Association Guidelines Update for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Circulation* 2015;132(18) suppl2:S414-S35. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000259>
 4. Ahmad F, Senadhira DCA, Charters J, Acquilla S. Transmission of salmonella via mouth-to-mouth resuscitation. *The Lancet* 1990;335:787-8.
 5. Finkelhor RS, Lampman JH. Herpes simplex infection following cardiopulmonary resuscitation. *JAMA* 1980;243:650.
 6. Chalumeau M, Bidet P, Lina G, Mokhtari M, André M C, Gendrel, et al. Transmission of Pantón-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* to a physician during resuscitation of a child. *Clin Infect Dis* 2005;41:e29-30. <https://doi.org/10.1086/431762>
 7. Korean Center for Disease Control and prevention. 2015 Annual Report on the Notified HIV/AIDS in Korea [Internet]. 2015 [cited 2016 Aug. 11]. Available From: <http://www.cdc.go.kr>.
 8. Mannis MJ, Wendel RT. Transmission of herpes simplex during CPR training. *Ann Ophthalmol* 1984;16:64-6. PMID : 6322662
 9. Soar J, Mancini ME, Bhanji F, Billi JE, Dennett J, Finn J, et al. on behalf of the Education, Implementation, and Teams Chapter Collaborators. Part 12: Education, implementation, and teams: 2010 International Consensus on Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care Science with Treatment Recommendations. *Resuscitation* 2010;81:e288-e330. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.971143>
 10. Sezonov G, Joseleau-Petit D, D' Ari R. *Escherichia coli* physiology in Luria-Bertani broth. *J Bacteriology* 2007;189(23):8746-9.
 11. Kim EM, Shin EJ, Choi JH, Son HJ, Park IS, Joh TH, et al. Matrix metalloproteinase-3 is increased and participates in neuronal apoptotic signaling downstream of caspase-12 during endoplasmic reticulum stress. *J Biol Chem* 2010;285(22):16444-52. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.093799>
 12. Kim HC, Kim YT, Kim H, Lee S, Lee KR, Kim YJ. Development of broad-range and specific 16S rRNA PCR for use in routine diagnostic clinical microbiology. *J Life Science* 2014;24(4):361-9. <https://doi.org/10.5352/JLS.2014.24.4.361>
 13. Australian Resuscitation council. Guideline 10.3. : Cross infection risks and manikin disinfection 2010[Internet]. 2010[cited 2016 Aug. 11]. Available From: <http://resus.org.au/guidelines>.
 14. American Heart Association. Equipment Decontamination Guidelines for CPR training 2012[Internet]. 2012[cited 2016 Aug. 11]. Available From: <http://www.heart.org/HEARTORG/>
 15. Park YS. Survey on contamination rate of CPR manikin and management plan. [dissertation]. Chungnam National University 2015, Daejeon, Korea.
 16. Figura N. Mouth-to-mouth resuscitation

- and *Helicobacter pylori* infection, The Lancet 1996;347:1342.
17. Hendricks AA, Shapiro EP. Primary herpes simplex infection following mouth-to-mouth resuscitation, JAMA 1980;243:257-8.