

## IX. 결핵균 검사실의 감염 및 안전관리

결핵은 기원전 7천년 경 석기시대의 화석에서 그 흔적이 발견된 이래 인류 역사상 가장 많은 생명을 앗아간 감염질환으로, 1882년 독일의 세균학자 로버트 코흐(Robert Koch)에 의해 결핵의 병원체인 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*)이 발견되면서 세상에 알려지게 되었다.

주로 폐결핵 환자로부터 나온 미세한 침방울 혹은 비말핵(droplet nuclei)\*에 직접 감염되지만 감염된다고 하여 모두 결핵에 걸리는 것은 아니다. 대개 접촉자의 30% 정도가 감염되고 감염된 사람의 10% 정도가 결핵 환자가 되며 나머지 90%의 감염자는 평생 건강하게 지낸다.

발병하는 사람들의 50%는 감염 후 1~2년 안에 발병하고 나머지 50%는 그 후 일생 중 특정 시기에, 즉 면역력이 감소하는 때 발병하게 된다.

\*비말핵: 기침이나 재채기를 하면 결핵균이 들어 있는 입자가 공기 중에 나와 수분이 적어지면서 날아다니기 쉬운 형태로 된 것

### 1. 결핵균 검사실

국내 대부분의 결핵검사실에서 결핵균 양성률이 높고, 결핵균은 10마리 미만의 적은 수로도 감염을 일으킬 수 있으므로 결핵검사실에 의뢰된 모든 검체는 감염원으로 간주하고 검사실의 생물안전지침에 따라 검사를 수행해야 한다. WHO의 결핵검사실 안전관리 지침에 따르면 결핵균 검사실은 결핵균 염색검사만을 시행하는 경우 Low risk level TB Laboratory, 검체 전처리와 원심을 통해 농축하여 결핵균을 배양하는 경우 Moderate risk level TB Laboratory, 배양된 균으로 동정하거나 약제내성검사를 시행하는 경우 High risk level TB Laboratory로 구분하여 검사과정에서 에어졸이 발생하는 위험 정도에 따라 검사실을 분류하였다(표 1).

표 1. 위험도에 따른 결핵검사실의 분류

검사실의 위험단계도	검사실 업무	위험도 평가
저위험 검사실 (low risk)	직접도말검사 : Xpert MTB/RIF와 같은 자동핵산 증폭검사를 위한 검체 전처리	전염성이 있는 에어로졸 발생 위험이 낮음. 전염성 물질의 농도가 낮음
중등도 위험검사실 (moderate risk)	배지 접종을 위한 검체 전처리 : 직접감수성검사	전염성이 있는 에어로졸 발생위험이 중등도임. 전염성 물질의 농도가 낮음
고위험 검사실(high risk) -TB-containment laboratory	배양된 균에 대한 균종동정 : 배양된 분리 균주를 이용한 감수검사 혹은 신속내성검사	전염성이 있는 에어로졸발생 위험이 높음. 전염성 물질의 농도가 높음.

## 1) 저위험 결핵검사실(Low-risk TB laboratories)

- 직접 도말검사를 시행하거나 Xpert MTB/RIF와 같은 자동 핵산증폭검사를 시행하는 검사실로서 결핵감염의 위험이 매우 낮고, 점성이 있는 객담을 바로 이용하기 때문에 에어로졸 발생이 적다.
- 작업공간은 검체 접수나 행정업무 공간과 분리되어야 하며 적절한 환기가 되는 곳에서는 생물안전작업대 밖에서도 검사 가능하다.
- 결핵검사실에 일반적으로 적용되는 환기기준을 따라야 하는데 시간당 6~12회 전체 공기를 순환 시켜야 한다. 그러나 기계적인 공조시스템을 반드시 갖추 필요는 없으며 자연환기도 적용 가능하다.

## 2) 중등도위험 결핵검사실(Moderate-risk TB laboratories)

- 배양이나 직접 감수성검사를 위해서 검체를 처리하는 검사실을 의미하며, 도말양성검체로 신속 내성검사를 시행할 수도 있다. 모든 작업은 생물안전작업대에서 시행해야 한다.
- WHO 매뉴얼에서는 생물안전작업대를 일차 방어막으로 강조하고 있으며 검사실 환기 시스템을 이차 방어막으로 설명하고 있는데 단일방향의 공기흐름과 최소 시간당 6~12회 공기순환이 필요하며, 개인보호 장비 착용이 필요한데 N95 마스크 착용은 필수적이지 않다.

## 3) 고위험 결핵검사실(High-risk TB laboratories)

- 배양된 균을 이용하여 동정검사나 감수성검사를 시행하는 검사실이다. 많은 양의 결핵균을 다루고 균주 처리 과정에서 전염성 에어로졸 발생 가능성이 매우 높다.
- 고위험 결핵검사실은 반드시 고식적인 개념의 BSL-3 검사실을 의미하지는 않으며 결핵밀폐검사실(TB containment laboratory)이라고 설명하고 있다.
- 환기 시스템의 기준은 중등도위험 검사실과 동일하며 전실을 두게 되어 있다.
- 실험복, 장갑 및 N95 마스크 등의 개인보호 장비를 반드시 착용해야 한다.
- 배양검사와 감수성검사를 시행하는 국내 대부분의 검사실은 WHO 기준에 의해 고위험 검사실로 분류되는데 실제 고위험 검사실의 요구사항을 충족하지 못하는 경우가 많아 개선이 필요하다.

## 2. 결핵 검사실의 시설, 장비, 개인보호 장비 및 소독제

결핵균 검사를 위해서는 독립적인 검사 공간을 갖추는 것을 권장한다. 검사실의 출입구에는 생물자해(biohazard)에 대한 표시가 있어야하며 검사실 벽과 바닥은 닦기 쉽고 검사실에서 사용하는 화학물질이나 소독제가 흡수되지 않는 재질이어야 한다. 결핵검사실은 적절히 환기되어야 하며, 손을 씻을 수 있는 시설, 생물안전작업대, 안전한 원심분리기 등의 적절한 안전시설과 장비를 구비하여야 한다.

### 1) 환기

- 결핵검사실에서는 공기흐름이 출입구 쪽에서 검사실 쪽으로 향하도록 공조시스템을 갖추어 한다.
- 배양검사를 실시하는 검사실에서는 시간당 6~12회의 공기 순환이 일어날 수 있는 속도로 검사실 내 공기가 외부로 지속적으로 배출되는 환기 시스템을 갖추는 것을 권장한다.  
(단, 국내 BSL-3 검사실 환기 기준은 시 간당 10회 이상임)
- 검사실에서 배출되는 공기는 건물 외부로 배출되어야 한다.
- 환기 시스템은 적절히 작동하고 있는지 연 1회 이상 주기적인 점검을 받아야 한다.

### 2) 생물안전작업대(biological safety cabinet)

- 결핵균 검사를 위한 조작은 0.3  $\mu\text{m}$  이상의 입자를 99.97% 이상 제거하는 HEPA (high efficiency particulate air) 필터가 장착된 생물안전작업대 안에서 실시하여야 하며, 생물안전작업대에서 배출되는 공기는 HEPA 필터를 통하여 여과되어야 한다.
- 생물안전작업대는 class II type을 권장하며, 연 1회 이상 필터의 성능과 유속 등을 점검하여야 한다. 유속은 생물안전작업대 안으로 유입되는 공기의 속도로 class II A형은 0.38 m/sec, class II B형은 0.5 m/sec 이상이어야 한다.

### 3) 원심분리기

- 용기가 파열될 경우에 대비하여 원심분리기 내부 뚜껑도 구비되어 있어야 한다.
- 원심 분리기를 작동할 때는 균형을 적절하게 유지하여야 한다. 균형이 적절하지 않을 경우 용기가 파열될 가능성이 있다.

- 회전용기는 생물안전작업대로 옮겨서 열고 검체 용기가 파열되었을 경우 적절한 소독제로 충분히 소독한다.
- 원심분리기는 sodium hypochlorite 또는 다른 적절한 소독제를 이용해서 주기적으로 세척해야 한다.

#### 4) 개인보호 장비

- 감염의 가능성이 있는 검체, 배지 등을 취급할 때는 적절한 개인보호 장비를 착용한다.
- 실험복은 긴 소매여야하며 가슴, 목 부위를 가릴 수 있어야 하고, 검사 시 항상 일회용 장갑을 착용한다.
- 신발은 편안하고, 전체 발을 덮어야 한다. 액체를 흡수할 수 있는 운동화 등의 소재의 신발은 권장되지 않고, 이런 신발을 신을 때는 방수 신발 덮개를 사용한다. 신발의 재질은 가죽이나 합성가죽과 같이 방수가 되는 것이 권장된다.
- N95 마스크와 같이 1~5  $\mu\text{m}$ 의 입자를 95% 이상 제거할 수 있는 마스크를 사용한다. 수술용 마스크는 에어로졸 차단 효과를 기대할 수 없으므로 사용해서는 안 된다.
- 생물안전작업대 안에서 작업할 경우도 마스크를 착용하여야 하고, 8시간 사용 후 폐기한다.

#### 5) 소독제

- 검사실에서 결핵균을 제거하기 위하여 사용하는 소독제로는 sodium hypochlorite, sodium dichloroisocyanurate, chlorine dioxide 등의 염소계 소독제와 에탄올, 프로판올 등의 알코올 소독제가 주로 사용되고, 그 외 glutaraldehyde, iodophor 등을 사용할 수 있다.
- 소독제는 희석하여 보관할 경우 활성이 감소할 수 있으므로 원액으로 보관하며, 필요할 때마다 희석하여 사용하는 것을 권장한다.
- 2% sodium hypochlorite, 70% 에탄올, 2% glutaraldehyde 등이 흔히 사용하는 소독제의 농도이다. Sodium hypochlorite의 경우 일반적인 소독에는 2% 용액(1:50 희석액)을 사용하고, 사고 및 유출 등의 광범위한 오염이 발생한 경우에는 10% 용액(1:10 희석액)을 사용한다. Sodium dichloroisocyanurate는 분말이나 정제(tablet)로 이용되는데 사용과 보관이 간편하고

안정적이며 sodium hypochlorite에 비해 소독력이 강하다. Chloride dioxide는 강력하고 빠르게 작용하는 소독제로서 유기물이 많은 경우에 사용하기 적합하다.

- 사용한 기구, 작업대 등은 적절한 소독제를 이용하여 소독한다.
- Sodium hypochlorite, 페놀, iodophor 소독은 결핵균을 사멸하기 위해서 15~30분이 필요한 것으로 알려져 있다. 소독제를 이용한 소독은 30분 이상 실시하는 것을 권장한다.

### 3. 결핵균 검사 과정

결핵검사실 근무자는 취급하는 물질과 검사방법의 생물학적 위해성을 숙지하고, 유해성을 최소화할 수 있는 적절한 방법으로 검사를 시행해야 하고, 이를 위한 충분한 교육과 훈련이 있어야 한다.

#### 1) 일반적 준수 사항

- 검사실 근무자는 안전작업 요령에 대한 사항을 충분히 숙지하여야 한다.
- 검사실 출입문은 닫아 두고, 허가 받은 사람만이 출입한다.
- 모든 조작은 에어로졸 발생을 최소한으로 할 수 있는 방법으로 실시한다.
- \* 검체의 균질화와 오염제거, 원심분리, 피펫 작업 등에서 에어로졸이 발생할 수 있다.
- \* 백금으로 작업 시 에어로졸이 발생할 수 있으므로 1회용 루프를 사용한다.

#### 2) 생물안전작업대 사용 시 준수 사항

- 생물안전작업대의 전원을 켜고 5분 이상 미리 가동시킨 후 작업을 시작한다.
- 생물안전작업대의 작동에 이상이 있는 경우는 사용하지 않고 점검하여야 한다.
- 작업은 생물안전작업대의 가운데 부분이나 뒤쪽에서 시행한다.
- 생물안전작업대 안에는 검사에 필요한 최소한의 물품만 놓아서 공기 흐름을 차단하는 것을 방지한다.
- 생물안전작업대의 그릴(grill)을 작업자의 팔이나 물건으로 막지 않는다.
- 생물안전작업대 공기 흐름에 영향을 주는 가스버너를 가능한 사용하지 않는다.
- 생물안전작업대에서 작업 중 손을 넣었다 빼는 행위는 공기 흐름에 영향을 주므로 최소화 하고, 손을 뺄 경우, 사용 중이던 장갑을 벗고 새 장갑으로 교환한다.

- 생물안전작업대에서 작업 중 검사자 뒤로 다른 사람이 통행하는 것을 최소화 한다.
- 업무가 종료된 후 작업 표면을 적절한 소독제로 세척한다.
- 생물안전작업대 안에서 자외선 살균을 할 경우 15분 이상 실시한다.

### 3) 검체 운송과 처리

- 검체는 수송 도중 누출을 막기 위한 안전한 뚜껑이 있는 용기에 넣는다.
- 육안 상 오염의 가능성이 있거나, 용기가 파손되거나 새는 경우에는 새로운 검체를 요청한다.
- 검체를 원심 분리하는 경우 나사마개(screw cap)가 있는 용기를 이용한다.
- 원심 분리한 검체용기는 생물안전작업대 안에서 개봉하고, 필요한 조작을 마친 후에는 즉시 마개를 닫는다.
- Vortex mixer를 이용하여 혼합을 한 경우 10분 이상 세워둔 후 마개를 연다.

### 4) 항산균 도말검사

- 에어로졸이 발생할 수 있는 모든 조작은 생물안전작업대 안에서 실시한다.
- 원심분리 한 경우 시험관을 10분 이상 세워둔 후 마개를 연다.
- 완전히 건조되지 않은 슬라이드를 옮기거나, 고정하지 않는다.
- 슬라이드 고정은 화염을 이용하는 것보다 가온기(slide warmer)를 이용하는 것을 권장한다.
- 5% sodium hypochlorite로 검체를 처리한 경우에는 생물안전작업대 밖에서 취급할 수 있다.  
검체는 동량의 5% sodium hypochlorite 용액과 혼합하여 15분 이상 처리한다.

### 5) 배양, 동정 및 약제감수성 검사

- 모든 조작은 생물안전작업대 안에서 실시하며, 배양된 결핵균을 백금이로 취급할 경우 에어로졸의 발생을 최소화 하도록 주의하고 가능한 일회용 루프를 사용한다.
- ※ 배양된 결핵균을 취급한 백금이를 바로 가열할 경우 생물안전작업대 안에 결핵균이 퍼질 수 있다. 따라서 70% 에탄올과 세척한 모래를 담은 용기에 백금이를 넣어서 세척한 후 꺼내서 가열한다. 모래 세척을 통하여 백금이에 묻어 있던 결핵균이 대부분 제거되고, 백금이에 남아 있는 잔여물은 에탄올의 효과로 빠르게 소각된다.

- 피펫을 이용하는 경우 액체가 강하게 배출되지 않도록 주의하고, 여러번 파이펫팅을 반복해서 시행하지 않는다.
- 액체배지 시험관에 생긴 기포 막을 터뜨리지 않도록 주의한다.

#### 6) 폐기물 처리

- 결핵균에 오염되었을 가능성이 있는 폐기물은 polypropylene 등 고압 멸균할 수 있는 봉투에 넣어서 고압 멸균한 후 의료폐기물로 처리한다.
- 폐기에 사용된 용기, 봉투 등은 재사용하지 않는다.
- 생물안전작업대 안에서 검사한 폐기물을 고압 멸균할 수 있는 봉투에 넣고, 밀봉한 후 생물안전 작업대 밖으로 꺼낸다.
- 고압증기멸균기는 외부의 검사실 외부의 오염 위험성을 최소화하기 위하여 결핵 검사실 내부 또는 결핵 검사실과 직접 연결된 공간에 배치하는 것이 권장된다.

#### 7) 사고 및 유출

결핵균이 포함되었을 가능성이 있는 물질이 유출되었을 경우에 대비하여 유출 키트(spill kit)를 준비한다. 유출 키트는 희석된 살균제, 의료폐기물 전용 용기, 흡수용 물질(종이 타월 등), 개인보호 장비, 핀셋 등으로 구성한다.

(1) 결핵균에 오염되었을 가능성이 있는 물질이 생물안전작업대 밖에서 유출된 경우 다음 절차를 시행한다.

- 모든 실험자는 에어로졸이 사라질 때까지 최소 1시간 대피해야 한다.
- 적절한 개인보호 장비를 착용한다.
- 유출된 물질과 그 주변지역을 종이타월로 덮고, 종이타월에 소독제를 붓고, 30분간 기다린다.
- 종이타월을 폐기용 봉투에 넣고, 깨진 유리 용기 등이 있으면 폐기용 용기에 넣는다.
- 유출 지역에 소독제를 다시 붓고 10분간 기다린다.
- 유출된 물질과 접촉했을 가능성이 있는 모든 물건은 소독한다.
- 검사실 바닥과 실험대를 소독한다.

(2) 결핵균에 오염되었을 가능성이 있는 물질이 생물안전작업대 안에서 유출된 경우 다음 절차를 시행한다.

- 유출된 물질을 종이타월로 덮고, 소독제를 부어, 30분간 기다린다.
- 종이타월을 폐기용 봉투에 넣고, 깨진 유리 용기 등이 있으면 폐기용 용기에 넣는다.
- 생물안전작업대 안에 있는 물품과 생물안전작업대의 작업 표면과 벽면을 소독한다.

#### 4. 검사자의 건강 검진

##### 1) 채용 전 건강 검진

결핵검사실에 처음 근무하는 직원의 경우 흉부방사선검사 등 결핵검사를 실시하며, 잠복결핵을 진단하기 위해서 투베르쿨린 검사 또는 인터페론감마 분비검사를 시행하여야 한다. 투베르쿨린 검사를 시행할 경우 과거 감염 여부를 확인하기 위해 2단계 시험을 권장한다. 즉, 1차 검사에서 음성일 경우 1~3주 이내에 2차 검사를 실시한다. 과거 결핵감염이 있을 경우 면역강화현상에 의해서 양성 결과를 보이게 된다. 2차 검사에서도 음성인 경우 결핵감염이 없다고 판단한다.

##### 2) 특수 건강 검진

결핵검사실에 근무하는 직원을 대상으로 주기적으로 실시하는 건강검진으로 년에 2회 흉부 방사선검사와 잠복결핵을 진단할 수 있는 검사를 실시한다. 채용 전 검진에서 시행한 잠복결핵 진단법과 동일한 검사법으로 추후 검사를 시행한다.

##### 3) 결핵검사실 배치 전 검사와 배치 후 검사

- 결핵검사실 순환 근무자는 배치 전 검사를 실시하여 검사자의 건강 상태의 적합성 여부를 평가 하고 결핵검사실에 근무한다.
- 부서 배치 후 6개월 이내에 배치 후 검사를 실시하여 근무 후, 건강상태를 확인한다.

##### 4) 노출 후 감염 조사

- 결핵균에 노출된 사건이 발생한 경우 감염관리실의 지침에 따라 적절한 임상적인 조사를 실시한다. 노출 8주 후 흉부방사선검사를 실시하고, 잠복결핵을 진단할 수 있는 검사를 실시한다.



## 5) 유증상자 발견 및 진료

- 결핵검사실에 근무하는 직원은 2주 이상 지속된 기침, 체중 감소, 흉통, 식욕부진, 수면 중 발한 등 결핵증상을 숙지하고 있어야 하고, 이런 증상이 발생할 경우 즉시 적절한 진료를 받을 수 있어야 한다.

## 참고 문헌

1. 질병관리본부 국립보건연구원/대한임상미생물학회. 결핵검사지침, 2013.
2. 질병관리본부 국립보건연구원. 실험실생물안전지침(National Guideline for Laboratory Biosafety Manual), 2019.
3. 한국바이오협회. 실험실생물안전 매뉴얼(제3판), 2004.