폐기물공정시험기준 ES 06701.1a

감염성미생물-아포균 검사법 2017

(Infectious Microorganism - Spore-Forming Bacteria Test)

1.0 개요

1.1 목적

이 시험기준은 폐기물 중에 감염성미생물을 아포균검사법으로 검사하는 방법으로, 감염성폐기물을 증기멸균분쇄시설 또는 멸균분쇄시설(이하 “열관멸균분쇄시설”이라 한다)에서 멸균처리한 결과 특정한 저항성 미생물 포자(이하 아포”라 한다)가 사멸된 경우 병원성미생물을 포함한 다른 종류의 미생물도 사멸된 것으로 판단하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 이 시험기준은 폐기물 중에 감염성미생물을 아포균검사법으로 검사하는 방법으로 감염성폐기물의 멸균잔류물에 대한 멸균여부의 판정은 병원성미생물보다 열저항성이 강하고 비병원성인 아포형성 미생물을 이용한 아포균 검사법으로 실험한 결과 표준 지표생물포자가 10^4개 이상 감소하면 멸균된 것으로 본다.

1.3 간섭물질

1.3.1 일반적으로 미생물 실험은 시료 중에 함유된 미생물의 상태가 시시각각으로 변할 수 있으며, 당초 시료 중에 함유되어 있던 미생물 이 외의 다른 미생물이 조작 중에 오염될 수 있다. 이러한 실험상의 오염을 방지하기 위하여 배지, 시약, 기구, 장비 등과 모든 실험조작은 원칙적으로 무균조작을 하여야 한다.

2.0 용어정의

2.1 지표생물포자

감염성폐기물의 멸균잔류물에 대한 멸균여부의 판정은 병원성미생물보다 열저항성이 강하고 비병원성인 아포형성 미생물을 이용하는데 이를 지표생물포자라 한다.

3.0 분석기기 및 기구

3.1 배양기

온도가 (32 ± 1) ℃ 또는 (55 ± 1) ℃이상 유지되는 항온배양기를 사용한다.

3.2 시험아포 주입용기

부피는 120 mL 이상이고 3 개 ~ 4개의 작은 구멍을 뚫어 증기가 침투할 수 있으며 높은 열저항성과 비접착성 재질의 회전식 뚜껑이 있는 용기를 사용하거나 시험아포를 담을 수 있도록 주름끈 또는 접착포가 달린 천으로 만든 주머니를 사용한다.

3.3 멸균된 플라스틱 페트리 디쉬

안지름 83 mm, 깊이 12 mm의 디쉬를 사용한다.

3.4 멸균된 핀셋과 피펫

4.0 시약 및 표준용액

4.1 표준지표생물

4.1.1 바실러스 스테어로써머필러스(Bacillus stearothermophilus : ATCC 7953, 12980, 10149 등)를 증기멸균·분쇄시설의 표준 지표생물로 하고, 바실러스 섭틸리스(Bacillus subtilis : ATCC 9372, 19659, ATOCC 6633 등)는 열관멸균분쇄시설의 표준 지표생물로 한다.

4.1.2 표준 지표생물의 아포밀도는 세균현탁액 1 mL에 1×10^4 개 이상의 아포를 함유하여야 한다. 이러한 표준 지표생물은 스트립(strips), 바이알(vials) 또는 디스크(discs) 등의 팩 형태로 시판되고 있는 것을 사용할 수 있으며, 이 경우 반드시 유효기간과 아포밀도를 확인하여야 한다.

4.1.3 지표생물의 스트립, 바이알 또는 디스크는 시험아포 주입용기에 넣어 처리대상 감염성폐기물에 혼입시킨다.

5.0 시료채취 및 관리

5.1 정상운전조건에서 멸균처리가 끝난 다음 멸균잔류물을 잘 혼합하거나 혼합이 불가능할 경우에는 전체의 성상을 대표할 수 있도록 서로 다른 곳에서 시료를 채취한다.

5.2 시료의 채취는 가능한 한 무균적으로 하고 멸균된 용기에 넣어 1 시간 이내에 실험실로 운반·실험하여야 하며, 그 이상의 시간이 소요될 경우에는 10 ℃ 이하로 냉장하여 6 시간 이내에 실험실로 운반하고 실험실에 도착한 후 2 시간 이내에 배양조작을 완료하여야 한다. 다만 8 시간 이내에 실험이 불가능 할 경우에는 현지 실험용 기구세트를 준비하여 현장에서 배양조작을 하여야 한다.

6.0 정도보증/정도관리(QA/QC)

시험아포균(표준 지표생물)의 아포밀도와 동등하거나 그 이상의 시판 키트(kit) 제품을 사용하는 경우에는 그 제품의 배양 조건에 따른다.

7.0 분석절차

7.1 표준 지표생물의 스트립, 바이알 또는 디스크 팩 중 1 개를 하나의 시험아포 주입용기에 넣어 뚜껑을 닫는다(이하 “시험아포팩”이라 한다).

7.2 증기멸균분쇄시설 또는 열관멸균분쇄시설(이하 “증기·열관멸균분쇄시설”이라

한다)의 설치검사 및 정기검사시에는 시험아포팩을 처리대상 감염성폐기물 100 kg에 1 개를 원칙으로 하여 1회 멸균처리공정에 최소 5 개 이상을 설치하여야 한다. 시험아포팩은 멸균기 내의 운전조건을 대표할 수 있는 적절한 위치에 각각 설치한다.

7.3 증기·열관멸균분쇄시설의 설치검사 및 정기검사는 2 회 이상의 멸균처리공정의 검사결과로부터 판정한다. 또한 증기·열관멸균분쇄시설의 가동 검사 시에는 멸균처리공정에 매회 2 개 이상의 시험아포팩을 설치한다.

7.4 시험아포팩이 설치된 멸균기에 감염성폐기물을 멸균기의 정상적인 부하량 또는 그 이하를 투입한다. 멸균기의 운전조건으로 멸균기를 작동하면서 표준운전조건이 유지되는지를 확인한다.

7.5 멸균처리가 끝난 다음 증기멸균분쇄시설은 계기압이 외부대기압과 평형상태로 될 때까지 방치하여 냉각한 후 멸균기의 뚜껑을 열어 시험아포팩을 회수하고, 열관멸균분쇄시설은 멸균잔류물이 배출되는 과정에서 시험아포팩을 회수한다. 회수한 시험아포팩을 대기 중에서 건조한 다음 시험아포팩에 들어있는 스트립, 바이알 또는 디스크를 팩에서 분리한다.

7.6 24 시간 이내에 멸균처리된 스트립, 바이알 또는 디스크 중의 시험아포균(표준지표생물)과 대조용으로 멸균처리하지 않은 같은 제품의 팩 2 개 이상의 대조실험아포균(표준 지표생물)을 각각 5.0 mL 소이빈-카제인 액체배지(soybean-casein digest broth, 또는 이와 동등한 것)에 접종하고 바실러스 섭틸리스 시험아포균은 (32 ± 1)℃에서, 바실러스 스테어로써머필러스 시험아포균은 (55 ± 1) ℃에서 72 시간 배양하여 배지의 혼탁도로부터 지표생물의 생장여부를 확인한다.

7.7 실험결과 시험아포균 배양액이 혼탁한 경우 지표생물이 생장한 것으로 간주하며, 이를 확인하기 위하여 지표생물이 생장한 것으로 나타난 시험아포균 배양액과 대조시험아포균 배양액을 각각 소이빈-카제인 한천 평판배지에 접종하여 바실러스 섭틸리스 시험아포균은 (32 ±1) ℃에서, 바실러스 스테어로써머필러스 시험아포균은 (55 ± 1)℃에서 24 시간 배양한다. 배양이 끝난 후 시험아포균 및 대조시험아포균을 서로 비교하여 판정한다.

8.0 결과보고

바실러스 스테어로써머필러스 시험아포균의 실험결과 시험아포균 배양액이 혼탁한 경우 지표생물이 생장한 것으로 간주하며, 이를 확인하기 위하여 지표생물이 생장한 것으로 나타난 시험아포균 배양액과 대조시험아포균 배양액을 실험 후 시험아포균 및 대조시험아포균을 서로 비교하여 판정한다.

9.0 참고자료

“내용 없음”