

표지

논문 제목 : 조직은행에서 채취한 동종조직의 세균 배양 평가

저자 : 이은영

소속기관 : 충북대학교 의과대학 구강악안면외과학교실¹, 의학연구
구소

“이 논문은 2004년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음(This work was supported by Chungbuk National University Grant in 2004)”

별책부수 30부

“이 논문은 2004년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음(This work was supported by Chungbuk National University Grant in 2004)”

조직은행에서 채취한 동종조직의 세균 배양 평가

이은영

충북대학교 의과대학 구강악안면외과학교실 의학연구소

Abstract

Interpretation of bacterial contamination of allogeneic tissues obtained from cadaveric and living donors

Eun-Young Lee

Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Medicine and Medical Research
Institute, Chungbuk National University

Thorough screening of donors medical and social history, extensive serological and bacterial screening combined with developed processing and sterilization methods have improved the safety of the allogeneic tissues in recent decades. The risk of bacterial infection through allogeneic tissue transplantation is one of the major problems facing tissue banks.

The purpose study is to report the contamination rate in 363 retrieved tissues obtained strictly aseptic conditions, between 2001 and 2002 in Korea Tissue Bank. Samples from 9 donors(total 13 donors) were used in blood culture, and in 7 donors the blood culture were negative. Of the 363 tissues cultured in their entirety, 186(51.2%) were initially culture negative and 177(48.8%) were positive. Organism low pathogenicity were cultures from 20.2% of the tissues.

To minimize the bacterial load, donors should be obtain in operating rooms, using aseptic techniques with only a few personnel for procurement. The procurement cultures from donors and retrieved tissues with multiple should be carefully interpreted. Blood cultures should be taken account, since these can help to find contamination not detect swab culture.

A prospective cohort study is needed to determine which of the varied processing and sterilization methodologies gives the best quality.

Key Words: allogeneic tissues, blood culture, cadaveric & living donors

서론

전 세계적으로 지난 수십 년 동안 인체조직은 결손된 경조직과 연조직을 치료하는 다양한 재건외과수술에서 폭넓게 사용되어 왔으며, 특히 정형외과 및 치과 영역에서 생존자와 사후 기증자로부터 채취된 많은 종류의 동종골 사용이 증가하고 있다¹⁾. 선진 외국의 조직은행 사례를 살펴보면 병원에 설립된 뼈은행은 주로 생존자 기증, 즉 수술 중 적출되는 뼈를 기증 받는 것이 주 업무이며, 기증된 동종골은 처리과정을 거쳐 여러 가지 형태로 이식되어 왔다^{2,3)}. 보다 큰 규모이고 지역적 조직은행에서는 주로 사후 시신기증자로부터 동종조직이 채취되며, 경조직의 경우 큰 크기의 골편은 정형외과 영역의 종양재건 수술이나 관절 성형재건 수술 등의 재건 외과학 분야에서 폭넓게 사용되고 있다⁴⁾. 그 외에 골편 (bone chip) 등의 작은 크기로 처리된 이식재는 척추수술이나 골 낭종 시에 골 결손부를 채우는 외과분야 및 골분말의 경우 임플란트 시술 등 다양한 분야에서 사용된다^{5,6)}. 연조직의 경우 화상환자의 치료 및 연조직 결손부에 이식되어왔다.

이러한 인체조직 사용이 증가함에 따라 발생 가능한 합병증에 대한 많은 연구가 있었다^{4,7)}. 특히, 종양 제거 후 재건을 위해 사용된 큰 크기의 동종골 이식술에서 발생한 수술 후 감염은 심각한 합병증의 하나이다. 이러한 큰 규모의 이식수술에서 발생하는 수술 후 감염 요인이 장시간의 수술 및 광범위한 수술부위와 밀접한 연관이 있을지라도, 인체조직을 분배하는 조직은행은 세균감염의 위험을 최소화하고 분배하는 인체조직의 안전성을 확보할 의무가 있다^{7,8)}. 그러므로 기증자는 기증자 선별검사를 통해 급성, 만성 감염성 질환의 이환 유무가 검사되며 조직의 채취는 수술과 동일한 무균적 절차를 거쳐 수행된다. 그러나 이러한 철저한 검사 및 채취과정을 수립하여 시행하더라도 채취 전, 또는 동안에 환경에 의한 미생물의 오염이 발생 할 수 있으므로 채취된 이식재의 미생물 오염에 대한 유무와 정도를 검사하는 것이 필수이다. 그래서 조직은행에 보관되는 조직은 이식의 목적과 쓰임에 따라 미생물의 오염도를 감소시키거나 멸균 가능한 일련의 처리 과정을 거쳐야 한다. 이와 같은 단계별 처리를 통해 미생물의 수를 감소시킬 수 있으나 일부 이식술에서는 최소한의 처리가 요구되는 이식재(예; 신선냉동골)를 사용하는 경우가 있으므로 이러한 경우에 시행되는 채취 시 및 분배 전 미생물 검사 과정은 더욱 중요시되고 있다.

우리나라의 경우 인체조직의 사용은 대부분 외국 조직은행에서 수입된 인체조직에 기반을 두고 있어, 조직은행 또는 뼈은행의 역사는 시작단계에 있다. 1999년 대한정형외과학회에서 조사한 바로는 약 56개의 대학병원 정형외과에서 조직은행 술식 중의 하나인 생존자 기증 중 대퇴골두를 중심으로 한 뼈은행을 운영하며 대부분(75%)이 -70°C 이하의 냉동고(deep freezer) 1대를 보유하면서 수술 중에 채취한 대퇴골두나 외상 환자의 절단지(amputated limb)에서 오염이 안 된 부분을 채취하여 소독(sterilization) 과정 없이 냉동고에 보관하였다가 사용하고 있었고 이때 기증자(donor)에 대한 사전검사(screening)는 56%에서 시행하고 있었으며, 보관 중인 조직에 대한 세균 배양은 62%에서 시행하고 있

었다. 그러나 이 같은 과정 없이 그대로 사용하는 경우도 많은 것으로 발표된바 있다⁹⁾.

이와 같이 국내조직은행은 시작단계이나 조직이식술은 발전되어 있어 인체조직의 요구가 해마다 늘어나고 있어 거의 대부분을 수입에 의존하고 있으나 현재(2004년)까지 국내에 인체조직관리에 관한 관련법이 부재하여 수입되는 외국의 인체조직도 검증 및 검역검사 없이 물품으로 수입되어 수십 년 동안 사용되어 오고 있다. 그러나 인체조직의 사용은 이미 국내에서 의학적으로 매우 유용하며 폭넓게 사용되어져왔고 앞으로도 계속 확대, 발전되는 만큼 그 안전성 관리의 필요성이 대두되는 바 2003년 2월 식품의약품안전청에서 ‘인체조직안전관리방안’을 제정하여 인체조직의 안전성을 관리하고자 하였고 2004년 1월 (가칭)인체조직안전관리법이 발의되어 2005년 1월에 시행될 것이다.

2001년 설립된 한국조직은행에서는 국내에서 시신 기증 및 생존자 기증을 통한 조직을 채취하여 저장, 처리, 보관, 분배를 하는 지역적 조직은행으로서의 역할을 수행하고 있으며 미국조직은행연합회(AATB; American Association of Tissue Banks) 및 유럽(EATB; European Association of Tissue Banks)과 아시아 태평양지역의 조직은행연합회(APASTB; Asia Pacific Association of Surgical Tissue Banks: IAEA관련)의 지침서를 근간으로 국내 실정에 맞는 지침서를 제정하였다. 한국조직은행에서 채취된 인체조직의 세균배양 검사 및 그 유용성을 평가하여 향후 보다 안전한 조직관리를 위해 필요한 사항을 검토하고자 한다.

연구방법 및 평가

한국조직은행에서 2001년 1월부터 2002년 8월까지 20개월 동안 시신 및 생존자 기증자로부터 기증 받은 조직을 토대로 다음과 같은 사항을 알아보하고자 한다.

I. 채취된 조직의 세균배양 검사 분석 자료

- 시신 기증자의 혈액배양 검사 결과
- 시신 기증자로부터 채취된 조직의 세균배양 검사 결과
- 생존자 기증자로부터 채취된 조직의 세균배양 검사 결과
- 채취조직별 배양된 미생물의 종류 및 분포도
- 혈액배양 검사와 채취조직에서 배양된 세균의 연관성

II. 한국조직은행에서 사용한 세균배양 검사 방법

1. (한국조직은행에서 실시)

접종 시기 : ① 기증자 조직 채취 후, 항생제 사용 전에 시행한다.

② 조직 처리 시 해동 단계에서 시행한다.

③ 최종 멸균 후 시행한다.

④ 기타 의료감독이나 책임자가 지정한 각 단계에서 시행한다.

2. 배지 종류 : Thioglycollate Broth

3. 접종 방법 : 클린 벤취(Clean Bench)내에서 조직을 떼어 무균적으로 접종한다.

접종량 - 조직 및 스왑(swab)한 면봉: 1 cm², 용액(혈액) : 5ml

4. 접종 후 녹십자에 미생물 검사 수탁의뢰를 한다.

5. (녹십자에서 실시)

검체가 접수되면 37℃ 항온기(incubator)에 배양을 실시한다. (사용장비: Vitek Senior 120, France / bioMerieux)

6. 증균배양용 Bottle 검체는 혐기적(Thioglycollate broth이용), 호기적 배양(Trypticase soy broth이용)을 동시에 실시한다.

7. 배양을 실시한 후 24시간이 경과를 하면 1차 판독(reading)을 실시하며 매일 아침에 배양 여부를 확인한다.

8. 최종 7일 배양을 실시하며 균 배양이 확인되면 혐기적, 호기적 조건으로 Blind culture 를 실시한다.

혐기성 배양 : Brucella agar (Non-O₂ condition 37℃ incubator, 48~72hrs)

호기성 배양 : 5% Sheep Blood agar (aerobic, 37℃ incubator, 48hrs)

9. 배양된 검체는 그람염색(Gram stain)을 실시하여 세균의 유무를 확인한다.

10. 양성검체(배양된 검체)의 확인 방법

-Broth의 혼탁도가 있으며, 가스의 생성으로 바늘(needle)천자 시 가스 생성 여부를 확인할 수 있다.

11. 균이 자란 것으로 판정되면 균의 종류를 알기 위해 2차 배양(subculture)를 약 7일간 실시한다.

연구결과

I. 시신 기증자의 혈액배양 검사 결과

미국이나 유럽의 조직은행지침서에서 세균배양 검사를 시행하도록 명시하고 있으나, 세균 검사 결과의 해석에 대한 세세한 가이드라인이나 실험실에서 사용하는 검사방법이나 세균

배양기술에 대한 가이드라인을 제시하지는 않으며 여러 조직은행에서 다양한 방법이 허용되고 있다^{10,11)}. 시행되고 있는 세균배양 방법에는 조직전체표면을 닦은 스틱 자체를 배양하여 조직의 세균 수를 측정하는 스왑배양 검사(swab culture)와 전체조직에서 대표적인 부분의 조직샘플을 채취, 배양하여 균주까지 알아보는 조직편 세균배양 검사가 있는데 조직의 표면만을 확인하는 스왑배양 검사는 민감도가 떨어져 유용성에 대한 논쟁의 소지가 되어왔다¹²⁾. 그래서 본 연구에서는 세균에 대한 보다 직접적이고 정확한 방법을 고려하여 조직편 검사와 스왑배양 검사를 모두 결과 분석에 활용하였고 시신 기증자의 조직 채취 시에는 혈액배양 검사도 동시에 수행하였다.

2001년 1월부터 2002년 8월까지 총 13명의 기증자 중 혈액배양을 실시한 9명의 기증자 중에서 7명은 음성이었고 2명은 양성이었다. 4명의 기증자는 혈액배양 검사를 실시하지 못하였으며 이는 아직 국내에서는 조직 기증이 보편화되지 않아 사망 후 빠른 시간 내에 혈액샘플을 습득하는데 실패한 경우로 향후 개선될 사항으로 사료된다.(Table 1. Results of Blood Cultures in Cadaveric Donors)

혈액배양 검사에서 양성반응이 나온 두 명의 기증자에게서 분리된 균은 Enterococcus, S.aureus로 이 두 기증자에게서 채취된 조직이식편의 세균배양검사에서도 50%이상이 상기 균을 포함한 다른 종류의 균이 발견되어 처리 전 모두 25kGy 이상의 방사선 멸균을 실시하였으며 멸균 후 세균배양 검사에서 모두 음성임을 확인한 후 기타 처리 및 분배 전까지 영하 80도씨 이하의 초저온 냉동고에서 보관하였다.

혈액배양 검사에서 양성인 경우 음성의 경우보다 채취된 조직에서 세균배양 양성의 결과가 나올 확률이 증가하는 것으로 보인다.(Fig. 1. Result of Blood cultures vs Tissue cultures.) 특히 혈액배양 검사에서 배양된 균이 조직에서도 다수 발견된 것으로 보아 기증 시 혈액배양 검사의 필요성이 입증되었다.

II. 채취조직의 조직편 세균배양 검사결과

한국조직은행에 기증된 총 13명의 기증자로부터 총 358개의 조직이식편이 채취되었으며 조직별 세균배양 검사에서 186(52%)에서 음성반응, 172(48%)에서 양성반응이 나왔다. 양성반응을 보인 경우 약 20.7%에서는 CNS, G(+) Bacillus 등의 비교적 독성이 낮은 균에 오염된 것으로 확인되었으나 S. aureus 나 Streptococcus 등의 독성이 강한 세균이 동정된 경우가 발견되어 모두 처리전 방사선 멸균을 시행하였다.(Table 2. Micro-organisms of Procurement Cultures isolated from Cadaveric Donors.)

생존자 조직 기증의 경우 한국조직은행에서는 안전한 조직 채취 및 운반을 위해 조직이 채취되는 각 병원의 수술장에 3중 멸균포장이 가능한 조직보관용기를 비치한 뒤 무균적 작업이 이루어지는 수술장에서 채취된 후 바로 멸균 용기에 담는 방법을 시행하고 있어 채취 당시에는 세균배양 검사가 용이하지 않고 처리직전에 해동시키면서 세균배양 검사를 실시하게

된다. 기증 받은 86개의 생존자 조직 중 51개를 세균배양 검사한 결과 45개는 균이 자라지 않았으며 6개에서 균이 자란 결과를 얻었다. 이중 독성이 강한 Pseudomonas도 배양되었는데 이는 멸균용기를 사용하기 전에 발생한 것으로, 운반 과정에서 오염된 것으로 판명되었다.(Table 3. Micro-organisms of Procurement Cultures isolated from Living Donors.)

시신 기증자의 경우 채취 조직별로 50%이상이 오염된 예는 calcaneus, fibula, fascia lata, ilium, mandible, pericardium, rib, radius, skull(calvaria), dura 등이었는데 이는 채취순서와 관계되어 채취순서가 후반일수록 오염도가 높아졌다. 또한 비교적 채취가 먼저 되는 근막(fascia lata)의 경우는 피부상재균인 CNS에 오염된 경우가 많아 기증자 피부의 세척과 소독을 보다 철저히 해야 될 것으로 사료되었다. 또한 해부학적 구조에 의한 오염도 증가의 경우는 다음과 같다. 예를 들면 두개골 채취 시 머리카락에 의한 오염의 가능성이 높았고 하악골의 경우 구강 내 세척 후에도 분비물에 의한 오염도가 증가하였다.(Table 4. Results of the Procurement cultures of the Tissue from Cadaveric Donors)

총괄 및 고찰

오염(contamination)은 생물 또는 무생물의 외부나 내부에 병원성 유기체가 존재하고 있는 상태를 말하는 것으로서 예를 들면 사람의 피부나 수술기구 등이 병원성 유기체에 접촉되었을 경우 이것을 흔히 오염되었다고 말한다. 이것은 개체의 조직에 손상을 끼치지 않았다는 점에서 감염(infection)과 구별되지만 환자에게 이식될 조직이식재의 오염은 이식 받은 환자에게 감염을 일으킬 수 있다. 그러므로 조직의 채취와 처리 그리고 분배 시 조직 오염의 검사 및 검증은 AATB(American Association of Tissue Banks), EATB(European Association of Tissue Banks)와 EAMST(European Association of Musculoskeletal Transplantation)의 근골격계 조직은행 술식의 지침서에 명시되어 있고, 각 채취된 조직이 최종 멸균 전에 무균적으로 처리되고 세균 검사되어야 함을 규정하였으며 이 지침서들은 개정, 발전되어오고 있다¹³⁾.

사후 기증자의 조직이 미생물에 오염되는 두 가지 요인에는 환경 인자와 기증자의 혈액 감염 인자가 있다.

공기에 의한 환경 오염을 방지하기 위해, 조직채취는 환경 인자 조절이 가능한 수술실에서 시행한다. 수술대의 교차 감염의 위험성을 줄이기 위하여 서로 분리된 수술기구 세트를 좌, 우 두 세트로 사용함으로써 수술실과 사용되는 수술기구로 인한 조직이식재의 오염은 최소화된다. 일반적으로 수술실의 오염은 조직이식재의 표면에 존재하는 기회감염균에 의해 일어난 경우가 많다¹⁴⁾.

조직 채취 시 주요한 오염의 원인은 채취하는 사람의 피부 정상균총과 공기를 통한 오염이다. 이것은 수술실에 필요 이상의 수술인원이 배치되었을 때 초과된 수술 인원

주로 병원성이 낮은 미생물에 조직이식재가 감염됨을 잘 설명하고 있다.

채취하는 사람뿐만이 아니라 기증자 자체가 미생물 오염의 원인이 되기 때문에 기증자의 피부는 에탄올과 아이오딘으로 꼼꼼하게 소독하고 소독포로 덮어서 미생물 오염의 위험을 최소화해야 한다. 이러한 예방책에도 불구하고 조직을 채취할 때, 특히 피부를 다룰 때 피부 정상균총에 의한 감염의 가능성이 있다. 이것은 피부 정상균총과 개개의 조직표면이 접촉하면서 오염되기 용이한 위치에 있는 아킬레스건이 병원성이 낮은 미생물에 오염될 가능성이 높은 것으로 설명된다.(Table 4. Results of the Procurement cultures of the Tissue from Cadaveric Donors.)

기증자의 피부를 제외시켜도 조직은 기증자의 내재된 요인으로 인하여 오염될 수 있다. 즉, 피부 정상균총의 오염뿐만이 아니라 피부 비상재균에도 오염될 수 있다. 예를 들어 편측골반절제술 시 내장의 천공으로 인해 조직이식재에 피부 비상재균이 감염된 예가 보고되기도 하였다. 일반적으로 피부 비상재균의 표면 오염은 조직이식재와 이러한 감염원과의 접촉에서 발생한다.

채취한 조직에서의 오염도를 확인하기 위해 실시한 스웍배양 검사가 낮은 민감도로 인해 시신 기증자의 조직에서 위음성 반응을 보일 수도 있으나, 조심스럽고 꼼꼼하게 면봉으로 조직이식재 표면을 문지르면 조직이식재에 존재하는 미생물의 검출이 가능하고 진성 박테리아의 수치를 알 수 있다¹⁵⁾.

그러나 기증자의 내재적인 요인으로 인한 오염과는 다른, 기증자의 혈액으로 인해 미생물이 오염될 수도 있다. 이러한 오염의 종류는 미생물이 조직의 내부에 존재하고 있기 때문에 스웍배양 기술로는 검출해내기가 어렵다. Veen도 스웍배양 검사의 정확성이 한계가 있어 조직의 오염을 입증할 수 없다고 보고하였다¹⁶⁾.

내재적 감염 요인을 지닌 기증자는 생전에 외상으로 인한 사인, 익사, 스트렙토키나제의 투여, 셸링거 처치로 인해 혈액에 미생물이 감염될 수 있다. 상기 사인이나 처치를 받은 기증자는 피부 비상재균에 의한 균혈증을 진단하기 위해 신뢰성이 높은 혈액배양 검사가 요구된다. *Propionibacterium* sp., CNS (coagulase-negative staphylococci), *Bacillus* sp., *Acinetobacter*, *Cornebacterium* sp. 등과 같은 피부 상재균에 의한 오염과는 다른 경로이다. 곰팡이나 이스트 같은 미생물이 주위 환경으로부터 오염되거나 호흡기나 위장관을 통해 독성이 강한 미생물을 형성함으로써 오염되는 경우로 상완골 채취 시 발견되었다. 오염의 원인은 팔에 자주 사용되는 카테터에 기인한 것으로 추정되었다. 카테터와 수액세트의 연결부위의 오염으로 인해 감염되는 경우, 또는 수액의 오염, 카테터 끝(tip) 부위에 생성되어 부착되어 있던 혈괴(thrombus)에 의한 감염, 제거된 카테터의 감염부위로부터 혈행성으로 전파되는 경우도 있어 카테터 사용기간과 감염은 상관관계가 있는 것으로 보고되었다^{17,18)}.

어떤 기증자의 경우에는 스웍배양 검사에서도 미생물이 발견되고, 혈액배양 검사에서도 같은 미생물이 발견되어 진단이 용이하다. 그러나 피부 비상재균에 의한 혈액 배양 검사

에서 양성반응이 검출된 기증자에게서 스왑배양 검사에서는 양성 결과가 나오지 않는 경우도 이 기증자에게서 채취된 조직은 모두 오염된 것으로 추정할 수 있다. 본 연구 결과에서도 혈액배양에 양성으로 나온 경우 발견된 세균이 일부 조직에서도 발견되었고 동일균이 발견된 경우에는 조직에서 음성의 결과가 나온 경우도 멸균을 시행하고 있다. 그러나 혈액배양 검사를 위한 혈액 샘플 채취 시에도 환경오염의 가능성이 있으므로 각각의 결과를 유기적으로 해석, 판단 할 수 있어야 하며 정확한 판단을 위해 각 조직별 세균배양 검사의 결과도 활용된다.

혈액 채취하는 동안 오염에 의한 위양성인지를 진단하는 것은 조직 안전성의 확보에 있어 중요한 사안이므로 채취 시 혈액 오염의 가능성을 줄이고자 여러 방법들이 채택되고 있다.

혈액 오염은 심장판막과 장기의 채취에 영향을 받는데 심장판막을 먼저 채취한 기증자의 경우 독성이 약한 미생물에 의한 혈액 오염의 위험도가 증가됨이 보고되었다. 혈액 표본은 개흉술 후 하대정맥에서 얻어지며 비록 심장판막이 무균상태에서 채취되더라도, 피부상재균에 오염되기 용이하기 때문에 조직편 세균검사와 더불어 혈액배양 검사를 먼저 시행해야 한다. 장기기증자의 경우 독성이 강한 미생물 오염의 위험성이 감소되었는데 이와 같은 결과는 대부분 장기기증자가 입원 기간 동안 항생제 치료를 받기 때문에 항생제의 영향으로 보이나, 여러 다른 연구조사에서의 사후 혈액배양 검사에는 항생제의 사용이 영향을 미치지 않는다고 보고 되었다^{19,20}.

혈액순환이 멈출 때부터 채취시작까지 한 시간 증가할 때마다 혈액 오염 위험성이 10%씩 증가하며 이러한 위험성의 증가는 대개 독성이 강한 미생물에 기인한다고 하였다. 그러나 일부 연구자들은 양성배양 발생률이 사망 시간에 따라 증가하지 않는다는 연구결과를 보고하였다^{621,22}.

본 연구에서도 채취 시 채취시간의 증가와 혈액오염이나 조직의 오염이 비례하지는 않았다. 혈액오염에서 흥미 있는 중요한 요소는 기증자의 성별에 관한 것으로 여성 기증자는 독성이 강하거나 약한 미생물의 혈액 오염 위험성이 더 낮은 것으로 보고되었다. 여성 기증자의 혈액 배양은 남성 기증자보다 피부 상재균의 오염이 적어 남성은 여성보다 피부상재균이 더 많이 분포하고 있음이 발표되었다²³.

혈액 배양에서 흔히 검출되는 세균은 Streptococci, Staphylococci, Listeria spp., Clostridia, Bacillus spp. Turbidity Aerobic Gram (-) bacilli, Staphylococci, Bacteroides spp., Aerobic Gram (-) bacilli, Anaerobes, Pseudomonas spp., Bacillus spp., yeast cells, Staphylococcus aureus 등이 분리된다고 보고되었고 본 연구에서도 총13명의 기증자중 4명은 혈액배양 검사를 실시하지 못하였고 9명중 2명의 기증자에게서 Enterococcus, S.aureus가 분리, 동정되었고 나머지 기증자는 무균상태의 결과를 얻었다. 균이 동정된 2명의 기증자는 모두 남자였으며 혈액배양검사에서 양성인 경우 채취된 각각의 조직이식재에서도 양성의 결과가 음성의 결과보다 높게 산출되었다.²³(Table 2.

참조)

혈액배양에서 균이 검출되는 경우에는 우선 혈액샘플자체가 채취나 운반도중 오염될 가능성을 검토해야 하고 오염의 가능성이 없었다면 기증자가 생전에 균혈증(bacteremia)과 패혈증(septicemia)에 감염되었음을 시사하는 것이다. 병소가 한번 또는 일시적으로 신체조직내에 병원균을 퍼뜨려 혈액 내에 일시적으로 균이 나타난 상태를 균혈증이라고 하고 병소가 일정하게 균을 퍼뜨려 연속적으로 혈액 내에 병원균이 나타나는 상태를 패혈증이라고 한다. 패혈(sepsis)은 병원성 미생물 또는 그 독소의 영향으로 나타나는 전신반응이며 이 상태는 현재 환자의 체내에서 염증성 반응이 일어나고 있고 또한 전신적인 질환을 앓고 있다는 것을 반영한다¹⁷⁾.

채취 시 시신 기증자의 골조직 세균배양의 결과가 패혈증임을 확진할 수는 없으나 혈액배양 검사 결과의 분석을 용이하게 하기도 한다^{24,25)}. 그러므로 스웬배양 검사의 민감도의 한계성을 고려하여 생전에 혈액배양 검사에서 피부 비상재균이 발견된 기증자는 혈액 또는 조직이 오염될 위험성이 크다는 결론을 유추할 수 있고 그러한 기증자에게서 채취된 조직은 오염되었다고 간주된다.

사후 경과 시간은(범위 : 0.5~48시간) 심폐정지 시간과 채취시작시간 사이로 정의하며 장기 또는 심장판막을 먼저 채취한다. 채취하는 팀원의 수는 채취에 직접 참여한 사람과 도와주는 사람(back table personnel, 병원에 방문한 직원은 제외)을 포함하며, 채취시간은 처음 피부 절개 시부터 최종 조직의 채취까지의 시간으로 정한다. 오염의 다른 요소로는 해부학적 위치로 인해 오염률이 높고 피부상재균에 노출 가능성이 있거나 채취 시 자세변화가 있는 늑골, 슬개골, 견갑골, 요골, 팔꿈치, 피부, 두개골 등이 포함되는 조직의 종류가 영향을 미치며 채취 후 항생제 세척의 영향이 있다²³⁾.

모든 조직들은 수술실에서 채취되고 이러한 환경에서 오염되는 대부분의 미생물은 Coagulase 음성, Staphylococci를 포함하는 피부에서 자주 발견되는 것들이다. 오염의 원인은 수술실 인원과 공기로 인한 것으로 수술실에 참석 한 채취팀 이외의 인원 1.9명당 오염의 위험성이 증가한다고 알려져 있다²⁴⁾. 추가적으로 CNS는 다른 조직은행에서 수행된 연구 뿐 아니라 이번 연구에서도 일반적으로 분리 배양되었다. 채취 수술시 소독 과정들을 거쳤음에도 불구하고, 조직은 채취하는 동안 기증자의 피부에 의해 오염되어진 것으로 보인다. 이것은 아킬레스건(피부상재균이 군락을 이루고 있는 곳)의 오염위험성이 증가하는 것으로 입증되었다. 아킬레스건의 채취 시에는 피부의 접촉이 많기 때문에 표면 세균 배양 검사 시에 오염이 인지된다.¹⁶⁾ 그러나 본 연구의 조직별 미생물 검사 결과에서는 아킬레스건이 비골보다 오염률이 높지 않았으며 아킬레스건의 경우 피부 상재균인 CNS에 의한 감염이 주었던 것으로 보아 피부와 근접한 부위에서의 오염률 증가는 가능성있는 지적이며 또한 근육에 쌓여져 있어 오염률이 낮다는 외국의 예와 달리 한국조직은행에서 채취한 경우 비골의 오염률이 높게 나타난 원인은 채취 순서에서 후위에 있기 때문에 오염의 가능성이 증가하는 것으로 사료된다.

기증자의 사망 전에 일어난 사고는 독성이 강한 미생물 오염의 가능성 증가에 영향을 준다. 이것은 사망 원인이 외상인 경우에 미생물의 혈액오염위험성 증가로 증명된다고 보고되어 있으나 한국조직은행의 시신 기증자 중 외상에 의한 사망은 없었기에 직접 비교분석을 하지는 않았다.

동종골 이식 후 감염, 불유합(non-union), 골절 등의 합병증이 비교적 흔하게 발생할 수 있다^{25,26}. 감염으로 인한 합병증은 종종 동종골 이식의 실패를 야기한다.

이러한 감염을 줄이기 위해 세균배양 검사도 중요하지만 조직의 적절한 처리도 요구되며 처리를 한 경우 세균뿐만이 아니라 바이러스 전이도 예방할 수 있음이 보고되었다. 인체 조직 이식 시 발생한 미생물 전이에 대한 여러 차례의 보고는 모두 처리되지 않은 이식재에 대한 것이었다. 동종이식재의 사용에서 전염성 질환의 전이에 대한 톰포드의 연구논문에서 바이러스를 전염시킨 근골격계 인체 조직 이식재는 모두 처리되지 않은 단순 냉동된 인체조직이식재였다는 것이다. 단순냉동법은 인체면역결핍바이러스를 제거하지 못하지만, 조직은행에서 일반적으로 시행하는 처리방법을 시행하는 경우 바이러스의 주된 기생장소인 골수 내용물의 전부는 아닐지라도 대부분이 제거된다. 그러므로 처리하지 않은 조직은 조직에 혈액과 골수가 남아있어, 이들이 바이러스 전염의 매개체라고 확인되었다. 하지만, 반월판인대 등의 무혈성 연조직과 관련되어 바이러스가 검출되기도 한다. Tateno 등은 CD4-negative human fibroblasts와 같이 인체면역결핍바이러스가 감염된다고 보고하였고, Ikeuchi 등은 인체면역결핍바이러스와 같이 non-lymphoid cells이 감염된다고 조사하였다. Nemzeke 등은 최근에 고양이 백혈병 바이러스에 감염된 단순 냉동 반월상 연골(Menisci)을 이식한 후 고양이 백혈병 바이러스(면역 억제성 RNA바이러스)가 전염됨을 보고하였다. 이렇게 처리하지 않고 냉동된 상태의 연조직 인체조직이식재의 이식을 통한 바이러스 감염의 가능성은 남아있다. 한편, 네 개의 처리되지 않은 냉동 골 인체조직이식재 중의 단 한 개에서도 바이러스를 전염시키지 않았다는 것이 보고되었다. 이때 사용된 이식재는 대퇴골의 근심부였고 고관절 재건술 시 이 조직은 대퇴부의 인공보철물을 삽입하기 위해 골수부분이 제거되고 이러한 골수 제거과정과 시멘트의 사용 중 중합반응이 일어나는 동안에 발생한 발열반응으로 남아있는 골수에 열이 가해지는 결과를 가져왔고, 이 결과는 그 안에 들어 있던 바이러스들이 제거되거나 사멸되기 충분한 것이었다. 이와 같은 경우에서 고려할 중요한 점은 처리되고 냉동 건조된 골 인체조직이식재는 바이러스의 전염을 일으키지 않는다는 것이다. 이 조직이식재는 장골능과 경골의 기시부, 대퇴부의 말단부에서 얻어진 망상골(cancellous)과 피질골(cortical bone)의 조각으로 혈액을 포함한 골수의 내용물들을 제거하기 위하여 30% 에탄올에 처리되고 흐르는 물(pulsating water)에 세척되었다. 반복해서 100% 에탄올에 헹구어 내고 냉동건조를 시행하여 병에 진공 포장을 하였다고 보고되었다²⁶.

이러한 연구결과를 근거로 조직은행에서는 바이러스 및 세균 감염의 위험을 줄이기 위해 뼈와 연조직을 처리하는 기술을 발전시켜왔다²⁷.

조직이식재를 처리의 기본은 멸균용액이나 세정제로 조직을 세척하는 것인데, 멸균용액이나 세정제의 사용이 모든 미생물을 제거하지는 않지만 미생물의 수를 줄이는 작용을 한다²⁸⁾. 방사선 조사(10-30kGy)된 조직이식재 사용 시 다른 처리 방법을 병행할 경우 골절율이 높아지기 때문에 크기가 크고 물리적 강도가 요구되는 근골격계 조직이식재는 방사선 조사와 더불어 오염물질 제거를 위한 전처리를 시행하지 않는다²⁹⁾. 에칠렌 옥사이드를 이용한 멸균방법은 E.O 가스 자체가 독특한 성질을 갖고 있으나 조직이식재의 필수적인 성질(물리적 강도, 골치유능 등)에는 영향이 없어서 멸균 방법으로 계속 사용되고 있다³⁰⁾. 이런 멸균방법을 통하여 조직이식재에 존재하는 미생물의 수는 최소화된다.

기증시 국제적인 지침에 따라 감염과 관련된 징후가 발견되면 기증을 받지 않으나 사후의 미생물배양 검사 후 단순 감염인 경우 기증이 허가되고 조직은 처리 및 멸균이 시행된다¹³⁾. 조직이식재의 새로운 처리 방법과 감염된 기증자에게서 채취된 모든 조직이식재가 적절한 멸균처리를 거친다면 단순 전염성 요인을 지닌 기증자라도 기증을 허락하는 방향으로 지침서가 개정되어야 하며 처리 방법이 조직이식재의 적절한 멸균방법이라면 수술 시 시행되는 세균배양 검사도 불필요하다는 의견이 제안되고 있다²³⁾.

처리방법의 발달로 생물학적, 물리학적 성질에 변화 없이 조직이식재를 처리하고 멸균이 가능해지고 있으므로 이와 같이 인체조직을 이식함으로써 발생 가능한 박테리아와 같은 세균과 바이러스의 전염가능성을 기증자의 선별 검사 및 조직편 세균 배양검사, 혈액 세균 배양검사, 그리고 조직은행에서 실시하는 처리방법과 멸균방법으로 제거할 수 있고 인체조직의 안전성이 향상시킬 수 있다.

결론

한국조직은행에서 채취한 조직이식재의 세균배양 검사 평가에서 적절한 처리 및 소독 후 이식이 가능한 비교적 양호한 결과를 얻었다. 향후 보다 안전하고 효과적인 이식재를 얻기 위해 기증자의 혈청 검사 및 혈액배양 검사가 채취 전에 실시되어야 하며 채취 및 저장의 모든 과정은 무균적 환경과 장비를 사용하여야 한다. 또한 채취 후 즉시 무균 상태의 3중 포장에 필요하며 이때 세균배양 검사가 필요하다. 채취 시 세균배양 검사와 채취 전 기증자의 여러 검사를 통해 오염 가능성이 있는 조직은 방사선 조사 후 저장 또는 보관하며 세균을 줄이거나 멸균 가능한 처리방법을 활용할 수 있다. 또한 환자에게 이식되지 직전의 최종 포장상태에서 추가적인 방사선 조사가 선택적으로 이루어진다면 조직이식으로 인한 세균 및 바이러스 감염의 위험도가 현저히 줄일 수 있음을 본 연구를 통해 확인할 수 있었다. 더불어 조직이식재 처리 방법의 발달로 보다 안전한 이식재의 사용이 가능할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Ghazavi MT, Stockley I, Yee Get al. Reconstruction of massive bone defects with allograft in revision total knee arthroplasty. J Bone Joint Surg[Am] 1997;79-A(1):17-25
2. Garbuz D, Morsi E, Mohamed N et al. Classification and reconstruction in revision acetabular arthroplasty with bone stock deficiency. Clin Orthop 1996;324:98-107
3. Gie GA, Linder L, Ling RSM et al. Impacted cancellous allografts and cement for revision total hip arthroplasty. J Bone Joint Surg[Br] 1993;75-B:14-21
4. Head WC, Malinin TI. Results of onlay allografts. Clin Orthop2000(371):108-12.
5. Buttermann GR, Glazer PA, Hu SS et al. Revision of failed lumbar fusions. A comparison of anterior autograft and allograft. Spie 1997;22(23):2748-55.
6. Spence KF, Jr., Bright RW, Fitzgerald SP et al. Solitary unicameral bone cyst: treatment with freeze-dried crushed cortical-bone allograft. A review of one hundred and forty-four cases. J bone Joint Surg[Am] 1976;58-A(5):636-41.
7. Lord CF, Gebhardt MC, Tomford WW et al. Infection in bone allografts. Incidence, nature, and treatment. J Bone Joint Surg[Am] 1988;70-A(3):369-76.
8. Tomford WW, Thongphasuk J, Mankin HJ et al. Frozen musculoskeletal allografts. A study of the clinical incidence and causes of infection associated with their use. J Bone Joint Surg[Am] 1990;72-A(8):1137-43.
9. 강. History of Bone & Tissue Bank, Abstract in New Millennium Workshop for Bone and Tissue Bank, 2000
10. Farrington M, Matthews I, Foreman J et al. Microbiological monitoring of bone grafts: two years experience at a tissue bank. J Hosp Infect 1998;38:261-71.
11. Chapman PG, Villar RN. The bacteriology of bone allografts. J Bone Joint Surg[Br] 1992;74-B(3):398-9
12. Silletti RP, ailey E, Sun S et al. Microbiologic and clinical value of primary broth cultures of wound specimens collected with swabs. J Clin Microbiol 1997;35(8):2003-6.
13. EAMST, EATB. Common standards for musculo-skeletal tissue banking. Vienna: European Association for Musculo-Skeletal Transplantation and European Association of Tissue Banks, 1997.

14. Bettin D, Harms C, Polster J et al. High incidence of pathogenic microorganisms in bone allografts explanted in the morgue. *Acta Orthop Scand* 1998;69(3):311-4.
15. Veen MR, Bloem RM, Petit PLC. Sensitivity and negative predictive value of swab cultures in musculoskeletal allograft procurement. *Clin Orthop* 1994;300:259-63.
16. Veen MR, Bloem RM, Petit PLC. sensitivity and negative predictive value of swab cultures in musculoskeletal allograft procurement. *Clin Orthop* 1994;300:259-63.
17. 임상병리감사지침, 아주대학교병원 임상병리과, 1998, 37-38.
18. 진단미생물학 실습, 고려의학, 1998, 305-310.
19. Koneman EW, Davis MA. Postmortem bacteriology. III. Clinical significance of microorganism recovered at autopsy. *Am J Clin Pathol* 1974;61(1):28-40.
20. Konema EW, Minckler TM, Shires DB et al. Postmortem bacteriology. II. Selection of cases for culture. *Am J Clin Pathol* 1971;55(1):17-23.
21. Nehring JR, Sheridan MF, Funk WF et al. Studies in postmortem bacteriology. I. Necropsy sterility in three patients ad long ad thirty-five days postmortem. *Am J Clin Pathol* 1971;55(1):12-6.
22. Koneman EW, Minckler TM. Postmortem bacteriology. *RC Crit Rev Clin Lab Sci* 1970;1(1):5-23.
23. Vehmeijer S. Bacterial Contamination of Bone Allografts, Leiden 2002
24. Nobel WC. Dispersal of skin microorganisms. *BrJ Dermatol* 1975;93(4):477-85.
25. Vehmeyer SB, Bloem RM, Deijkers RL et al. A comparative study of blood and bone marrow cultures in cadaveric bone donation. *J Hosp Infect* 1999;43(4):305-8.
26. Tomford WW. Transmission of disease through transplantation of musculoskeletal allogrfts. *J Bone Joint Surg[Am]* 1995;77-A(11):1742-54.)
27. Asselmeier MA, Caspari RB, Bottenfield S. A review of allograft processing and sterilization techniques and their role in transmission of the human immunodeficiency virus. *Am J Sports Med*1993;21(2):170-5
28. Jinno T, Miric A, Feighan J et al. The effects of processing and low dose irradiation on cortical bone grafts. *Clin Orthop* 2000;375:275-85.
29. Lietman SA, Tomford WW, Gebhardt MC et al. Complication of irradiated

allografts in orthopaedic tumor surgery. Clin Orthop2000:375:214-7.

30. Jackson Dw, Windler GE, Simon TM. Intra-articular reaction associated with the use of freeze-dried, ethylene oxide-sterilized bone-patella tendon-bone allografts in the reconstruction of the anterior cruciate ligament. Am J Sports Med 1990;18(1):1-10.

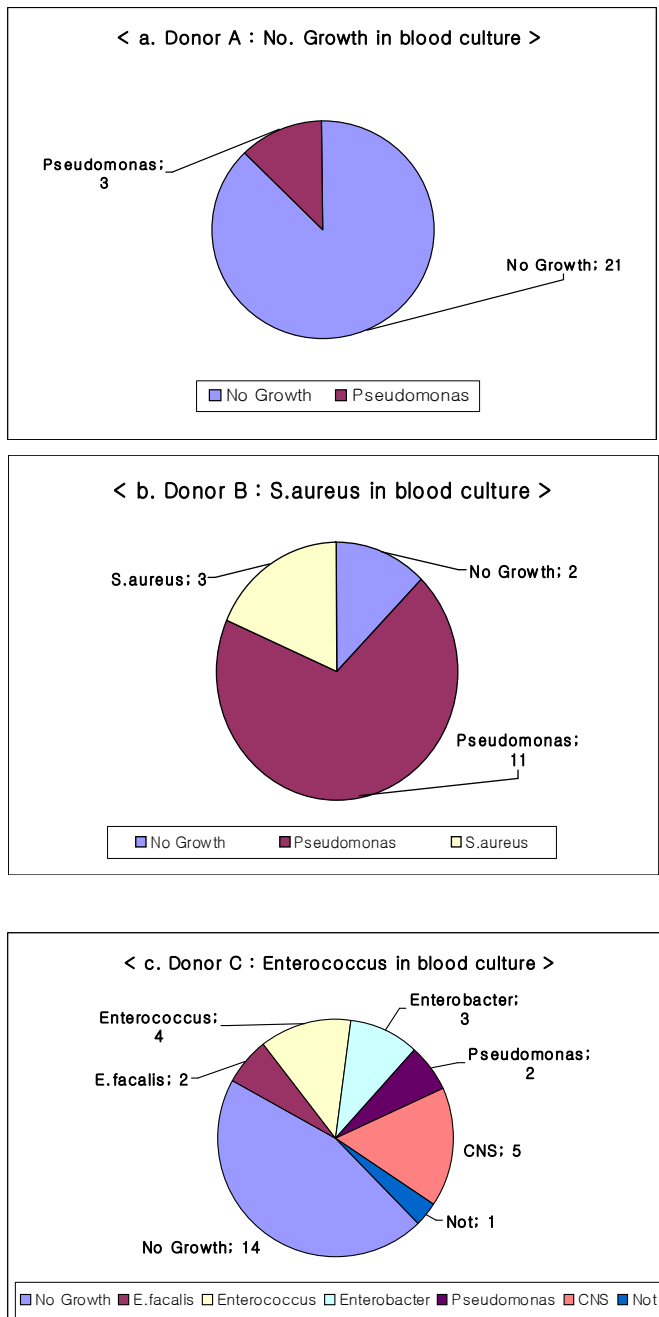


Fig. 1. Result of Blood cultures vs Tissue cultures.

Table 1. Results of Blood Cultures in Cadaveric Donors.

Donor No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Total
Sex/Age	63/F	38/M	35/M	41/M	62/M	76/F	81/F	34/M	78/M	76/M	62/M	63/F	68/F	13
Blood culture result	No. Growth							Entero cocci	S.au reus	No Culture Test				

Table 2. Micro-organisms of Procurement Cultures isolated from Cadaveric Donors.

Micro-organism		(+)reaction	%
No. Growth	No. Growth	186	52
Staphylococcus	S.aureus	15	4.2
	CNS	67	18.7
Streptococcus	Streptococcus	3	0.8
	E.faecalis	24	6.7
Enterobacter	E.aerogenes	2	0.6
	Enterobacter	5	1.4
G(+)Bacillus	G(+)Bacillus	5	1.4
	Corynebacterium	1	0.3
Klebsiella	K.pneumonia	23	6.4
Pseudomonas	Pseudomonas	22	6.2
Acnetobacter	Acnetobacter	2	0.6
Yeast	Yeast	2	0.6
Candida	C.tropicalis	1	0.3
Total		358	100
No Culture test		5	

Table 3. Micro-organisms of Procurement Cultures isolated from living Donors.

Micro-organism	No. of (+) reaction	%
No. Growth	45	88
Aeromonas veronii biovar sorbia	1	2
Alcaligenes xylooxidans	1	2
CNS	3	6
Pseudomonas	1	2
Total	51	100
No Culture test	35	

Table. 4 Results of the Procurement cultures of the Tissue from Cadaveric Donors.

Species	No. Growth	G(+) Cocci				G(+) Bacillus		G(-) Rod				Candida	Yeast	Total No.
		Staphylococcus		Streptococcus		G(+) Bacillus	Coryne-Bacter	Pseudo monas	Acneto-bacter	Klebsiela Pneumonia	Entero bacter			
		S.aureus	CNS	Streptococcus	E.faecalis									
Achilles tendon	20	1	5		1					2				29
Calcaneus	1				1									2
Dura	3		3		2			1		1				10
Femur	22	1	6		3			1		2	1			36
Fibula	13		5		1	1		4		2				26
Fascia lata	5	1	3		1				1	1				12
Humerus	15	3	3			1				2	1			25
Ilium	4	1	4		3			1			1			15
Mandible	1				2	1	1	2		1	1	1	1	10
Meniscus	2													2
Patella tendon	34	1	2					1		1				39
Pericardium	2							1			1			4
Rib	3	1	4		1			1	1	2				13
Rib cartilage	1		1		1					1				4
Radius	10	1	4	1	2			2		2			1	23
Skull	4		3		1	1		1		1	1			12
Spaine	1													1
Sternum	1		1	1	1			2						6
Tibia	17	2	3		2			3		2				29
Talus	1													1
Tendon	5		2							1				8
Ulna	9		6	1		1		2		2				21
Skin	12	3	12		2	1								30
Total	186	15	67	3	24	6	1	22	2	23	6	1	2	358
전체 %	52	4.2	18.7	0.8	6.7	1.7	0.3	6.1	0.6	6.4	1.7	0.3	0.6	100

저자 : 이은영

충북대학교 의과대학 구강악안면외과학교실

충북 청주시 흥덕구 개신동 62번지 우)361-711

Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, College of Medicine and Medical Research
Institute, Chungbuk National University

Gaeshin-dong 62, Heungdeok-gu, Cheongju, Chungbuk 361-711, South Korea

Tel : 82-43-269-6296

E-Mail : ley926@chungbuk.ac.kr