

모래 및 토양 중 기생충(란) 시험방법 -
현미경 검사법

2023

Parasites(eggs) examination in sand and soil by optical
microscopy

1.0 개요

1.1 목적

이 시험방법은 어린이활동공간에 대한 위생관리를 위해 모래, 흙 등 토양으로 만들어진 시설 및 바닥재 중에 있는 기생충(란)을 밀도차를 이용하여 부유시킨 후 현미경으로 검경함으로써 해당 기생충(란)의 존재 여부를 확인하는 방법이다.

1.2 적용범위

이 시험방법은 어린이 놀이터 등 어린이활동공간 바닥에 시공된 모래 등 토양 중 기생충(란)을 확인하기 위해 적용한다. 이 시험방법은 “어린이활동공간 바닥에 사용된 모래 등 토양에서의 기생충(란) 시험방법”을 인용하였으며, 어린이놀이터에 설치된 모래놀이 시설 등 바닥에 시공된 모래 및 토양 중 기생충(란) 시험방법에 적용한다.

1.3 간섭 물질

1.3.1 시료 중에 함유된 가벼운 부유물질 등이 현미경으로 검경 할 때 혼란을 야기할 수 있다.

2.0 용어 정의

2.1 기생충

기생충(란)은 연충류 (Helminths)와 원충류 (Protozoa)로 분류할 수 있다. 연충류는 다시 선충류 (Nematodes), 흡충류 (Trematodes), 조충류 (Cestodes) 등으로 나뉘며, 조사대상 기생충(란)은 표 1과 같다.

표 1. 조사대상 기생충(란)

연충류 (Helminths)	원충류 (Protozoa)
선충류 (Nematodes)	
회충 (<i>Ascaris lumbricoides</i>)	람블편모충 (<i>Giardia lamblia</i>)
요충 (<i>Enterobius vermicularis</i>)	와포자충 (<i>Cryptosporidium</i> sp.)
구충 (Hookworms : <i>Ancylostoma duodenale</i> , <i>Necator americanus</i>)	이질아메바 (<i>Entamoeba histolytica</i>)
개회충 (<i>Toxocara canis</i>)	
고양이회충 (<i>Toxocara cati</i>)	
분선충 (<i>Strongyloides stercoralis</i>)	
동양모양선충 (<i>Trichostrongylus orientalis</i>)	
편충 (<i>Trichuris trichiura</i>)	
흡충류 (Trematodes)	
간흡충 (<i>Clonorchis sinensis</i>)	
폐흡충 (<i>Paragonimus westermani</i>)	
요코가와흡충 (<i>Metagonimus yokogawai</i>)	

3.0 분석기기 및 기구

3.1 광학현미경

대물렌즈와 접안렌즈를 조합하여 대상물체를 확대하여 관찰하기 위한 장치로 100 배 ~ 400 배 검경이 가능하여야 한다. 일반적으로 접안렌즈, 대물렌즈, 회전판, 재물대, 초점 조절나사로 구성되어 있다.

3.2 원심분리기

(1 500 ~ 2 000) rpm 이상의 원심분리기를 사용한다.

3.3 시험용 체

KS A 5101-1에 따라 망의 눈 크기가 0.5 mm인 표준체를 사용하거나, 광목천을 여러 장 겹쳐 사용할 수 있다.

3.4 분액 깔때기

용량은 250 mL 이상으로 사용한다.

3.5 슬라이드 글라스 및 커버 글라스

3.6 유리기구

100 mL, 500 mL, 1 000 mL 등을 용도에 맞게 사용하며, KS L ISO 1042의 규격에 맞는 내열 및 내산, 내알칼리성을 가진 유리 제품을 용도에 맞게 사용한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 계면활성용액(음이온성 해리용액)

(1 ~ 2) % 음이온성 계면활성용액을 사용한다.

4.1.2 황산아연(Zinc sulfate, ZnSO_4 , 161.45) 포화용액

1 L 삼각플라스크에 정제수 500 mL를 넣고 황산아연을 더 이상 녹지 않을 때까지 넣으며 녹인다.

4.1.3 설탕 포화용액

1 L 삼각플라스크에 정제수 500 mL를 넣고 백색 설탕을 더 이상 녹지 않을 때까지 넣으며 녹인다.

5.0 시료채취 및 관리

5.1 시료채취 대상시설 및 채취 지점의 선정

5.1.1 어린이활동공간 시설 중 바닥이 모래, 흙 등으로 구성되어 있으며, 어린이가 모래나 흙을 가지고 놀거나 접촉 가능성이 높은 공간을 선정한다.

5.1.2 선정된 공간을 중심과 동, 서, 남, 북 등 5개 구역으로 구분한 후, 각 구역 내 토양에서 동물의 분변이 확인된 곳 또는 동물 출입이 용이한 1곳씩 선정한다.

5.2 시료채취 및 관리

5.2.1 선정된 각 채취지점으로부터 균등한 양으로 하여 약 250 g을 토양오염공정시험기준 ES 07130(시료의 채취 및 조제)에 따라 채취한다.

5.2.2 채취한 시료는 가능한 한 즉시 분석하여야 하나, 그렇지 못할 경우 $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ 의 저온에서 보관하며 30일 이내에 분석해야 한다.

6.0 “내용 없음”

7.0 분석 절차

7.1 전처리(부유법)

7.1.1 채취한 시료 100 g을 1 L 용량의 비커에 담고 계면활성용액 500 mL를 넣어준 후 유리막대로 잘 섞어준다. 이때 최소 1시간에서 하루 정도 방치하는 것을 권장한다.

7.1.2 섞어준 시료는 부유물질을 제거하기 위해 시험용 체 또는 광목천을 여러 장 겹쳐서 여과한 후, 여과액을 30분간 방치한다.

7.1.3 여과액 중 약 200 mL가 남도록 상층 액을 조심스럽게 버린다.

7.1.4 남은 여과액을 분액 깔때기로 옮긴 후 30분간 정치한다.

7.1.5 분액 깔때기의 하층에 있는 침전액 50 mL를 원심분리용 튜브에 옮긴 후 1 500 rpm으로 2분간 원심분리한 후 상층 액은 버린다.

7.1.6 남겨진 하층 액에 다시 정제수를 넣어주고 2분간 원심분리한 후 상층 액을 버린다.

7.1.7 하층 액에 황산아연 포화용액(4.1.2) 또는 포화 설탕용액(4.1.3)을 넣어 50 mL로 한 후 1 500 rpm으로 1분간 원심분리하고 2 ~ 5분간 정치한다.

7.1.8 백금이를 사용하여 원심분리한 튜브의 최상층 액을 떠 슬라이드 글라스 위에 놓고 커버 글라스를 덮어 슬라이드 표본을 만든다. 슬라이드 표본은 시료 한 개당 2장 ~ 3장을 제작하여야 한다.

7.2 측정법

7.2.1 슬라이드 표본을 광학현미경에서 100 배로 검경하여 기생충(란) 유사 물체 여부를 확인하고, 유사 물체가 관찰되면 100 배 ~ 400 배로 확대하여 기생충(란) 여부를 확인한다.

7.2.2 기생충(란)이 확인되면, 가능한 경우 그 종류를 파악하고 크기를 측정한 후 사진을 찍어 기록에 남긴다.

8.0 결과 보고

8.1 현미경 검경을 통해 제작한 슬라이드 표본 2장 ~ 3장에서 기생충(란)이 한 개라도 확인될 경우, “검출”로, 관찰되지 않을 경우, “검출 안 됨”으로 표기한다.

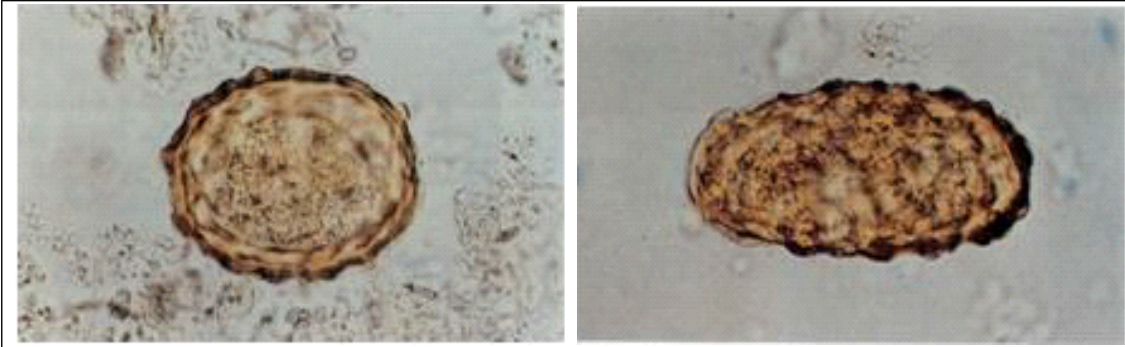
[주 1] 확인검사는 신청일로부터 20일 이내에 성적서(확인검사 결과 증명서)를 발급해야 하며, 천재지변 등 부득이한 사유가 발생할 경우, 20일의 범위에서 그 기간을 연장할 수 있다(‘어린이활동공간 확인검사 절차 등에 관한 규정’, 환경부 고시 제2021-222호, ‘21.11.08).

9.0 참고 자료

9.1 대한기생충학회, 기생충학 학술용어(Ⅱ), 1995

9.2 대한기생충학회, 기생충학 학술용어(Ⅳ), 2011

10.0 부록

1. 회충 (*Ascaris lumbricoides*)

(1)

(2)

2. 요충 (*Enterobius vermicularis*)

(1)

(2)

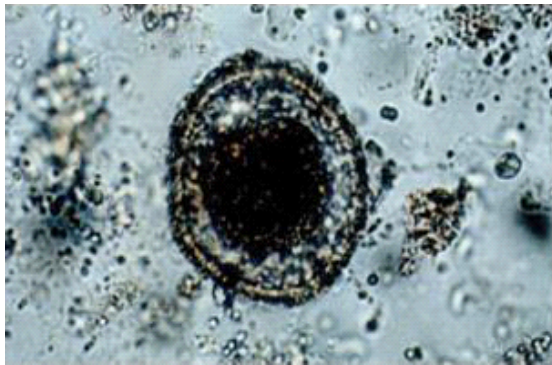
(3)

3. 구충 (Hookworm)



그림 1. 선충류 사진 및 특징

(그림 계속)

4. 개회충 (*Toxocara canis*), 고양이회충 (*Toxocara cati*)¹

(1)



(A) 개회충

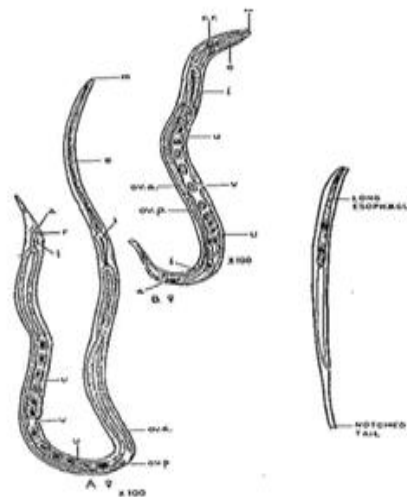


(B) 고양이회충

(2)

5. 분선충 (*Strongyloides stercoralis*)(A) 간상유충 (B) 사상유충
: 구강이 짧음 : 톱니식 꼬리

(1)



(2)

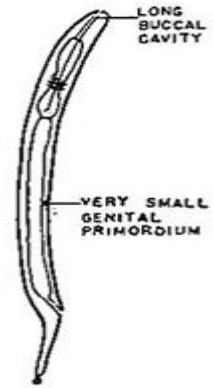
¹ : 두 종을 구분하는 것은 굉장히 어려우므로 *Toxocara* sp.로 확인

그림 1. 선충류 사진 및 특징

(그림 계속)

6. 동양모양선충 (*Trichostrongylus orientalis*)

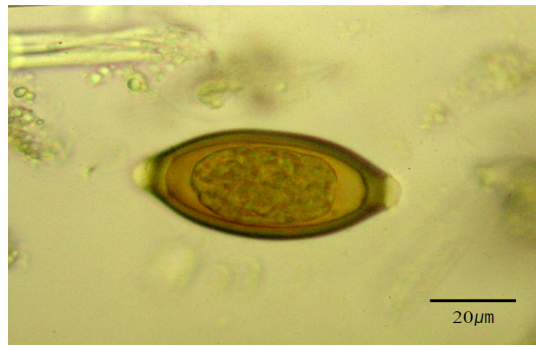
(1)



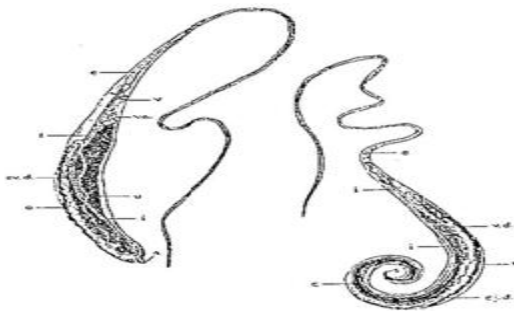
(2)

7. 편충 (*Trichuris trichiura*)

(1)



(2)



(3)

그림 1. 선충류 사진 및 특징

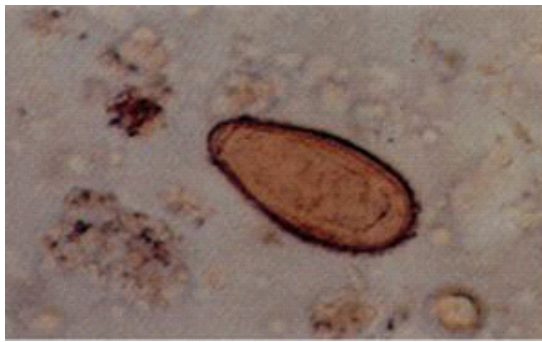
1. 간흡충 (*Clonorchis sinensis*)2. 폐흡충 (*Paragonimus westermani*)3. 요코가와흡충 (*Metagonimus yokogawai*)

그림 2. 흡충류 사진 및 특징

1. 와포자충 (*Cryptosporidium* sp.)

그림 3. 원충류 사진 및 특징

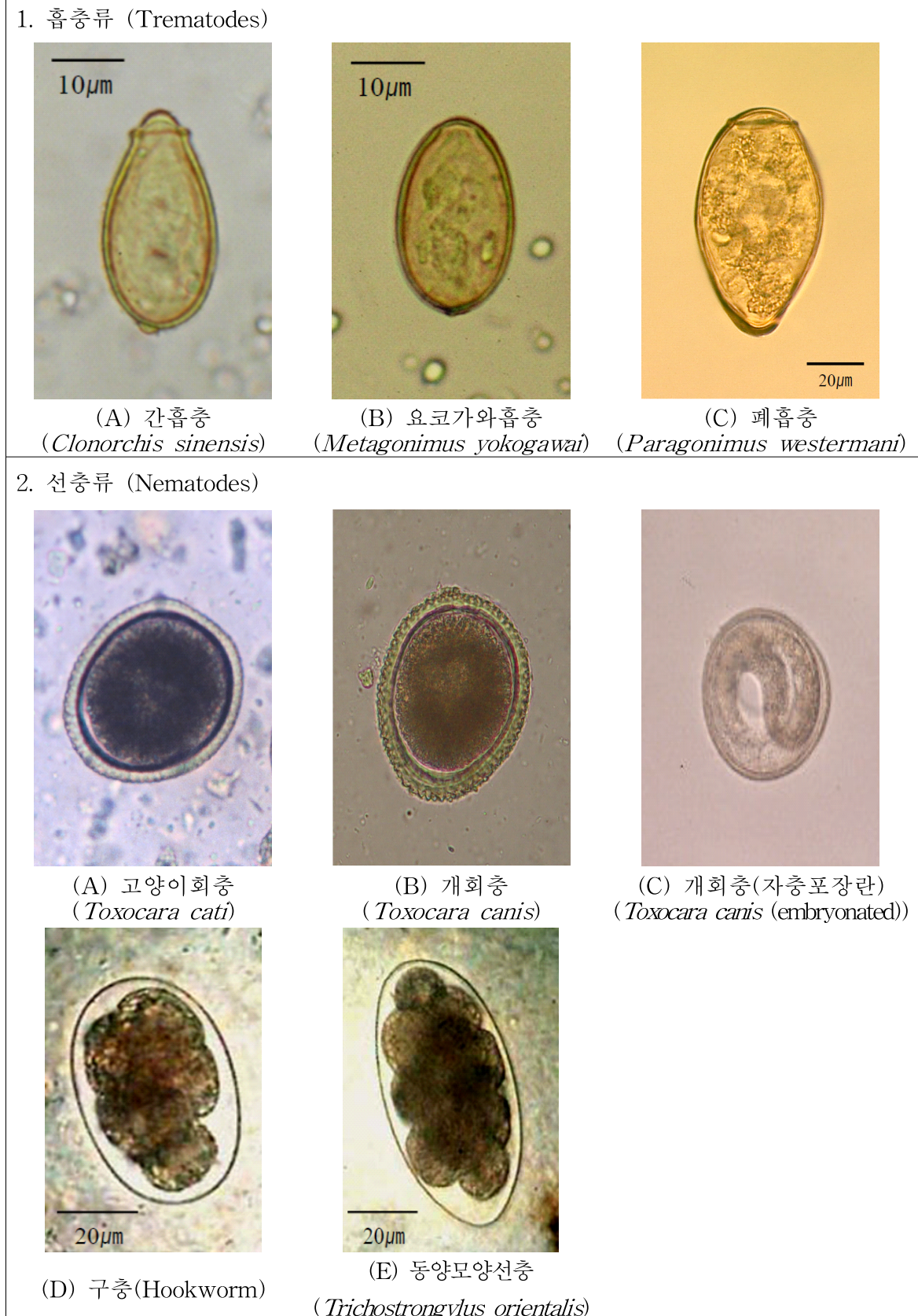
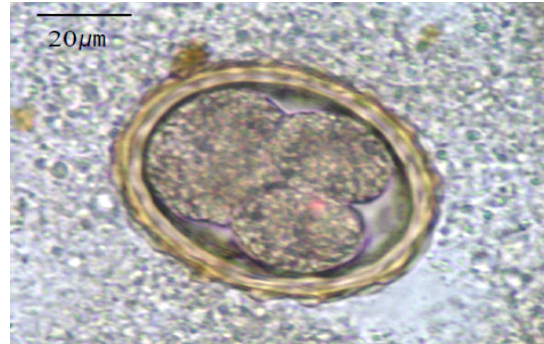
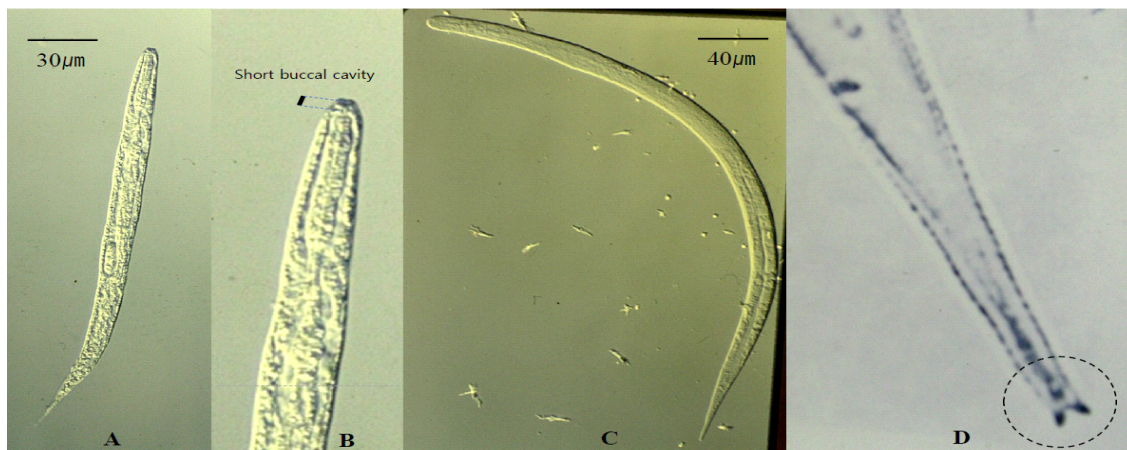


그림 4. 오인하기 쉬운 개체 등 검경 유의점

(그림 계속)

3. 회충 (*Ascaris lumbricoides*)(A) 회충 수정란 (*Ascaris lumbricoides*, F)(B) 회충 불수정란 (*Ascaris lumbricoides*, U)4. 분선충 (*Strongyloides stercoralis*)

(A) 간상유충

(B) 간상유충 머리

(C) 사상유충

(D) 사상유충 꼬리

그림 4. 오인하기 쉬운 개체 등 검정 유의점

(그림 계속)

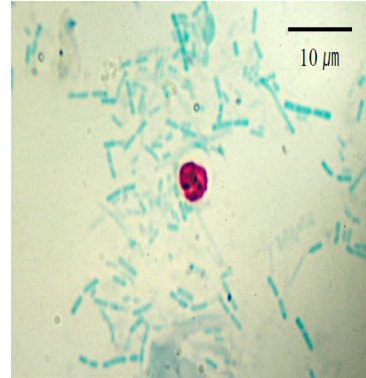
5. 원충류 (Protozoa)



(A) 이질아메바 포낭
(*Entamoeba histolytica*)¹



(B) 람블편모충 포낭
(*Giardia lamblia*)¹



(C) 작은와포자충 포낭
(*Cryptosporidium* sp.)²

¹ : Iodine stain

² : Acid fast stain

그림 4. 오인하기 쉬운 개체 등 검경 유의점

※ 출처

- 그림 1 : 회충 (1), (2), 요충 (1), 구충, 개회충·고양이회충 (1), (2) 분선충 (1), 동양모양선충 (1), 편충 (1) - 아주대 의과대학 실험기생충학 신호준 외 2인 그 외 충북대 의과대학, 한-라오스 기생충관리 국제협력사업보고서, 2012
- 그림 2, 그림 3 : 아주대 의과대학 실험기생충학 신호준 외 2인
- 그림 4 : 충북대 의과대학, 한-라오스 기생충관리 국제협력사업보고서, 2012