서울의대잡지 제5권 제1호
The Seoul Journal of Medicine
Vol. 5, No. 1, March, 1964

生物學的計測値의 任意變動에 關한 推計學的考察

—大腸菌群數推定値의 任意變動의 調整을 中心으로—

A Stochastic Approach on the Random Variation in Biological Measurement

--On Random Variation of the Estimations of the Number of Coli Aerogeneic Group, and It's Control—

서울大學校 醫科大學 豫防醫學敎室
<指導 金 仁 達 敎授>

高 應 麟

目 次

Ⅰ. 緖 論

自然界 特히 生物界에 있어서 이러나는 여러 現象에는 반드시 變量한다는 條件이 隨伴하게 된다. 이 客觀的인 量은 頻度와 그의 分布樣相으로서 觀察되고 또한 어느 量을 數値로서 表示하기 爲하여서는 測定이 必要케 되는데 이 測定에는 恒常 誤差가 따르고 同一한 客觀的量을 測定할때에도 測定할때마다 若干씩 相異한 結果를 招來하는 것이 普通이다.

이제 同一한 現象에 關해 몇回의 測定으로 얻은 結果들이 多少나마 다른 數値로 表示되였을 境遇 그 어느것이 正確한 것으로 認定되고 또 가장 信憑性이 있느냐를 推定 하는것은 生物現象의 度量을 測定하고 表示함에 있어 가장 重要한 問題의 하나라 할 수 있다.

그런데 誤差라는 것은 生物現象測定에 있어 恒常 生기는 것으로 여기에는 이른 바 系統誤差와 偶發誤差가 있는데 系統誤差는 그 招來原因을 客觀的으로 究明함으로서 訂正될 수 있다 하겠으나 後者인 偶發誤差는 人爲的矯正外에 屬하는 問題이기 때문에 이를 最少限度로 적게 하기 爲하여 合理的인 確率的 또는 統計的 方法論을 使用한 測定方法을 利用하며 그의 測定結果가 生物現象이 가진 眞實에 가장 接近토록하는 手法이 要求되는 것이다.

그런데 數理論은 어디까지나 數値에 正直할 뿐 生物現象이 內包하는 多律性과 伸縮性을 一過性으로 表示하지 못 한다.

그러므로 生物現象에 接近하는 方法論으로서 統計理論이 그 現象에 適切하게 導入되는 것이다. 그러기에 同一現象을 測定하는 方法도 또 測定된 數値를 推計함에 있어서도 各己 相異한 方法의 使用이 可能하게 된다.

이와같이 生物學的變量을 推計함에 있어 여러 方法이 考案되고 使用되는데 그 어느것이 眞實에 가까웁고 또한 信憑度가 높은 結果를 가져오는가를 檢討하는것은 實地 應用生物測定推理에 더욱 必要하게 되는 것이다.

著者는 水中細菌數를 推定하는 方法을 中心으로 特히 大腸菌群數推定方法論에 關하여 推論코자 하는 바이다.

消化器傳染病의 傳染經路로서 主要한 位置를 차지하고 있는 물의 細菌感染은 給水 및 그他 加工飮料物등은 勿論 심지어는 水泳場등 까지도 國民保健에 危害의 對象이 되고 있는 것이다.

그런데 現在 飮用可否 또는 그他 條件에 따른 適否를 物理學的 또는 化學的 基準에 따르는 外에 主로 生物學的으로 單位體積內에 含有되여 있는 大腸菌數를 指標로 삼고 있는데 이는 大腸菌이 含有되어 있다는 事實은 人

畜의 屎尿등에 依한 汚染의 可能性을 暗示하여 주기 때문이다.

또한 이 大腸菌은 他 病原體에 比하여 外氣에 對한 抵抗力이 强하며 그 檢出方法도 容易하므로 이 水中大腸菌檢出法은 衛生水質檢査中 가장 重要한 것의 하나이다.

한편 여기서 大腸菌群이라 함은 乳糖을 分解하여 酸과 깨스를 產出하는 好氣性 또는 通性嫌氣性의 Gram 陰性無芽胞의 桿菌群을 말하는 것이다.

그런데 大腸菌을 含有하고 있는 어떤 原液을 母集團으로 간주하고 그의 單位體積當細菌數의 測定은 現在 確率標本을 利用하여 統計的인 理論에 立脚해서 誘導되는 推定値를 가지고 하게되며 그 推定方法으로는 다음 몇가지를 들 수 있다.

即 原液 또는 그 稀釋液의 單位體積을 標本으로 取하여 培養過程을 通해 나타나는 集落數를 가지고 推定하게 되는 集落計測法[1]과 細菌增殖의 陰陽結果(即 Quantal responses)를 가지고 推定하는 最確數法(Most probable number technique)[1]과 Spearman Kärber 法[1]등이 있다.

特히 Quantal responses에 依據한 細菌數의 推定法은 오래前부터 統計와 細菌 兩分野의 興味를 끌었든 것으로 McCrady(1915)는 Most probable number의 推定過程을 提示하였고 Reed[2]에 依하여 大腸菌出現의 確率曲線을 表示해 주므로서 M.P.N 理論의 基礎를 이루었다.

한편 Halverson과 Zieglar[3]는 計算可能한 Maximum likelihood equation을 誘導했으며 Cochran[4]은 이것과 McCrady의 것과의 關係를 硏究發表 하였다.

Hoskins[5]는 指數函數表에 依한 M.P.N.表를 作成하였는데 各 稀釋系列에 있어서의 大腸菌이 出現하는 關係를 確率에 依한 式으로 展開된것은 1951年에 이르러서였다.

또한 Ziegler & Halvoson[6]은 集落數計測의 結果와 稀釋系列을 利用한 結果를 比較하여 理論과 大略 付合됨을 提示하였고 Johnson & Brown(1960)[7]은 M.P.N 法과 Spearman Kärber 法은 漸近的으로 同一하다 함을 發表 하였다.

그런데 上記 세가지 推定方法으로서 求한 推定値들이 가지는 信憑度는 實驗時의 環境, 人爲的인 誤謬등에 左右 될것은 勿論이지만 설사 이런 要因들이 可能한 限度로 除去 되었다 하드래도 推定法理論自體의 性格에 따라서도 크게 影響받게 되는 것이다.

한편 이 理論自體에 起因하는 推定値의 變異性은 그 推定値가 가지는 分散(또는 標準偏差)의 크기로 表示할 수 있는데 前記 集落數計測法과 Spearman Kärber 法에 依한 推定値에 對하여서는 理論的으로 그 分散을 各各 求할 수 있음에 對하여 M.P.N 法에 依한것은 그 分散을 誘導해 낼 수가 없다는 것에 그 缺點을 內包하고 있는 것이다. 그러나 Cochran(1950)[4]은 特殊條件下(稀釋系列에 參加하는 tube 數가 充分히 클때)에서의 分散의 公式을 誘導하였는데 그것이 結局 Spearman Kärber 法에 依한 推定値의 分散과 漸近的으로 一致한다는 것을 Johnson (1960)이 提示 하였던 것이다.

著者는 規定條件下에서의 實驗을 通하여 이 세가지 推定法에 依한 水中大腸菌의 推定値들과 또한 그 各各의 分散들을 相互比較檢討하고 나아가서 推定値의 信賴度를 參照比較할 수 있는 材料를 提示하고저 이 硏究를 試圖하였는데 이 小考가 多少라도 斯界에 資하는 바 있으면 是幸으로 생각한다.

Ⅱ. 各推定法의 原理와 推定値의 理論的任意變動

于先 便利上 다음의 記號를 使用하기로 한다.

m : 原液의 單位體積內에 含有되어 있는 細菌眞數

$\hat{m}$: 單位體積內에 含有되어 있는 細菌數의 推定値

a : 稀釋倍數

(1) **集落數計測法**

細菌含有原液의 單位體積內의 細菌數를 m라 하고 그 原液을 稀釋倍數 a로서 稀釋한後 그것으로 부터 單位體積의 標本을 取한다면 그 標本內에 含有될 細菌數 x는 確率變量이라 볼 수 있겠고 그의 確率分布는 平均値가 $\frac{m}{a}$인 Poisson 分布[8,9]가 될 것이다.

即 $$P_{rob.}(X=x)=\frac{\left(\frac{m}{a}\right)^x e^{-\frac{m}{a}}}{x!}$$

따라서 그와같은 標本을 n個 取하여 培養한 後 集落數를 各各 計測하여 標本當平均値가 $\bar{x}$로 나왔다면 m는 다음과 같이 推定 되겠다.

$$\hat{m}=\bar{x}\cdot a$$

한편 x는 poisson 分布를 가졌음으로 $\bar{x}$의 分散은 다음과 같이 表示된다.

$$V_{ar}(\bar{x})=\frac{\left(\frac{m}{a}\right)}{n}$$

따라서

$$V_{ar}(\hat{m})=\frac{a\cdot m}{n}$$

그러나 여기서 m는 未知數 임으로 實驗結果에서 얻은 $\bar{x}\cdot a$로 代置 시키면 $\hat{m}$의 分散은 다음과 같이 되겠다.

$$V_{ar}(\hat{m})=\frac{a^2\bar{x}}{n}$$

그런데 上記의 것은 稀釋倍數가 a인 稀釋液만을 가지고 m를 推定하는 境遇지만 萬一 稀釋倍數를 a_0, a_1,

……a_s 로 取하여 그 各各의 稀釋液에서 標本을 n_i 個씩을 取하고 이 n_i 個 標本들의 集落數平均値가 $\bar{x}_i$ 로 나왔다면 $\sum_{i=0}^{s} n_i \bar{x}_i$ 는 平均値가 $\sum_{i=0}^{s} \frac{n_i m}{a_i}$ 인 poisson 分布를 가질 것임으로 m 의 推定은 다음과 같이 할 수 있겠다 (但 여기서 a_0 는 稀釋倍數 1 로 取한것임).

$$\hat{m}=\frac{\sum n_i \bar{x}_i}{\sum \frac{n_i}{a_i}}$$

여기서 $\hat{m}$ 는 다음의 Likelihood function 으로부터 求한 m 의 Maximum likelihood Estimator[8,9]이다.

Likelihood function:

$$P(\bar{X}_0=\bar{x}_0,\ \bar{X}_1=\bar{x}_1 \cdots \bar{X}_s=\bar{x}_s)=\left[\frac{(n_0 m)^{n_0\bar{x}_0}\cdot e^{-n_0 m}}{(n_0\bar{x}_0)!}\right]\left[\frac{\left(\frac{n_1 m}{a_1}\right)^{n_1\bar{x}_1}\cdot e^{-\frac{n_1 m}{a_1}}}{(n_1\bar{x}_1)!}\right]\cdots\left[\frac{\left(\frac{n_s m}{a_s}\right)^{n_s\bar{x}_s}\cdot e^{-\frac{n_s m}{a_s}}}{(n_s\bar{x}_s)!}\right]$$

이 方法으로 求한 單位體積內細菌數의 推定値 m 의 分散은 다음과 같이 된다.

$$V_{ar}(\hat{m})=\frac{m}{\sum \frac{n_i}{a_i}}$$

上記理論을 利用하여 著者는 集落數計測法에 있어서 稀釋度 a_i 를 1, 10, 100 으로 잡은 경우와 10, 100, 1000 으로 잡은 경우를 들어 各 稀釋系列에 參加하는 細菌含有液體積을 모두 5 cc 로 取한 實驗에서 推定値 $\hat{m}$ 와 그의 95% 信賴區間을 Graph 1, 1′ 과 2 에 表示 하였다.

따라서 實驗結果로서 總集落數만 求하면 單位體積內의 細菌數의 推定値 $\hat{m}$ 와 그의 95%信賴區間은 이 Graph 로부터 敏速히 알아 볼 수 있게 된다.

例를들어 稀釋倍數 1, 10, 100 으로 잡은 경우 實驗

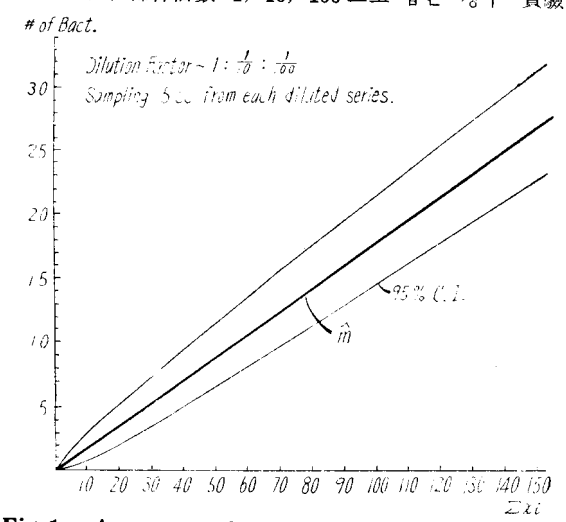


Fig 1. Average number of bact. Per cc as a function of total colony count.
$\hat{m}=0.18\sum x_i \quad a^2=0.18\,\hat{m}$

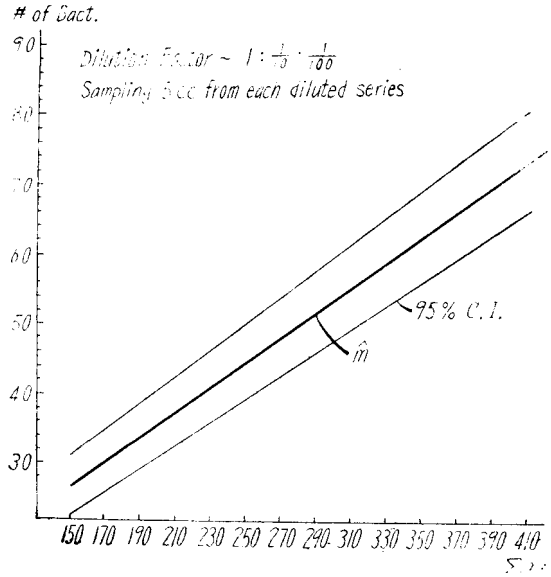


Fig 1′ Continued from Fig. 1

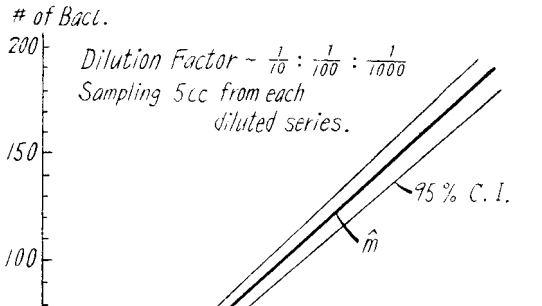


Fig 2. Average number of bact. per cc in phighest dose as a function of total colony count.
$\hat{m}=1.8\sum x_i \quad \sigma^2=1.8\,\hat{m}$

結果로서 總集落數가 50 個로 나왔다면 Graph 1 로부터 $\hat{m}=9$, 또한 95% 信賴區間은 6~12 를 求할 수 있다.

(2) 最確數法(M.P.N Technique)

이 方法은 大腸菌群이 phenol lactosbroth 를 變色시키는 性格을 利用하여 單位體積內의 平均細菌數를 推定하는 Quantal Assay 의 一種이라 볼 수 있다.

于先 細菌含有原液을 x_0 로 表示하기로 하고 이 x_0 를 稀釋倍數 a 에 依하여 幾何級數的으로 稀釋한 경우의 各 Dose 를 다음과 같이 表示하기로 한다.

Dose: $x_0, \quad x_1, \quad x_2 \cdots\cdots x_{k-1}$

$$(x_0),\ \left(\frac{x_0}{a}\right),\ \left(\frac{x_0}{a^2}\right)\cdots\cdots\left(\frac{x_0}{a^{k-1}}\right)$$

그리고 最確數法에 依하여 다음과 같은 結果를 얻었다 하자.(第1表)

Table 1. Outcome of experiment

Dose	x_0	x_1	x_2	……	x_{k-1}
No. of Tubes	n_0	n_1	n_2	……	n_{k-1}
No. of positine Tubes	r_0	r_1	r_2	……	r_{k-1}

그러면 Dose x_i 에서 單位體積의 標本을 取했을때 그 속에 含有하게될 細菌數 S 는 平均이 $\frac{m}{a_i}$ 인 poisson 分布를 가진 確率變量이라 볼 수 있다.

即 $$P(S=s)=\frac{\left(\frac{m}{a^i}\right)^s e^{-\frac{m}{a^i}}}{s!}$$

따라서 그 Dose 의 標本이 陽性으로 나타나게될(即 生細菌을 1 個以上 含有하게될) 確率은 $1-e^{-\frac{m}{a^i}}$ 가 될 것이다.

여기서 表記의 便利上 $1-e^{-\frac{m}{a^i}}=P^i$ 로 表示하기로 한다.

그러면 i^{th} Dose 에서 n_i 個의 培養管中 陽性管이 γ_i 個 나타날 確率은 다음과 같이 表示할 수 있으므로,

$$\frac{n_i!}{r_i!(n_i-r_i)!}P_i^{r_i}(1-P_i)^{n_i-r_i}$$

實驗結果 上記表와 같은 結果가 나타 날 確率은 다음과 같은 likelihood function 으로 表示하게 된다.

$$\prod_{i=0}^{k-1}\frac{n_i!}{r_i!(n_i-r_i)!}P_i^{r_i}(1-P_i)^{n_i-r_i}$$

이 函數로 부터 m 의 Maximum likelihood estimator 인 $\hat{m}$ 는 다음의 關係式으로 부터 求하게 된다.

即 $$\sum_{i=0}^{k-1}\frac{n_i p_i}{P_i a_i}=\sum_{i=0}^{k-1}\frac{n_i}{a^i}$$

$$但\begin{cases}P_i=1-e^{-\frac{m}{a^i}}\\ p_i=\frac{r_i}{n_i}\end{cases}$$

萬一 各 稀釋系列에 參加할 培養管數(n_i)가 모두 同一하게 取해졌다면 上記式은 다음과 같이 變形되겠다.

$$\sum_{i=0}^{k-1}\frac{p_i}{P_i a^i}=\sum_{i=0}^{k-1}\frac{1}{a^i}$$

따라서 $p_i=\frac{r_i}{n_i}$ 를 實驗計果로서 求하면 單位體積內平均細菌數 $\hat{m}$ 를 위의 式으로부터 유도할 수 있다.

稀釋倍數가 各各 1, $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{100}$ 이고 $n_i=5$ 인 경우의 r_i 數와 $\hat{m}$ 를 表示한 表가 作成되어 있는데 이것이 우리가 흔히 使用하고 있는 M.P.N Table 인 것이다[10].

最確數法으로 求한 $\hat{m}$ 의 分散:

緖論에도 指摘된 바와같이 이 分散의 理論的 數式은 Cochran(1950)에 依하여 유도 되었지만 그것은 어디까지나 各 稀釋系列에 參加하는 培養管數가 相當히 큰 경우에만 해당하는 것이고 그 管數가 各各 5 個인 경우에는 引用키 困難하게 된다.

이와 같이 그 推定値의 理論的인 分散을 求할 수 없다는 것은 5 tube M.P.N 法이 가지는 缺點의 하나 이기도 하다.

따라서 著者는 直接 實驗을 通하여 推定値 $\hat{m}$ 가 어느 程度의 變異性을 內包하고 있는가를 檢討해 보기로 하였다.

即 大腸菌으로 汚染된 原液을 人爲的으로 만들고 同一條件下에서 5 tube M.P.N 法에 依한 推定値 $\hat{m}$ 를 15 個를 求해 보았는데 그 實驗結果는 다음과 같다.(第2表)

Table 2. Each outcome ofexpenments(MPN)

Exp. No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
$\hat{m}$	17	4	5	160	6	24	17	13	17	35	6	54	28	92	24

Mean: 33
SD: 41
range: 156

結局 $\hat{m}$ 의 變異性이 甚하다 함은 위의 實驗結果가 明白히 보여주고 있다.

(3) Spearman Kärber 法

이것도 M.P.N 法의 경우와 같이 Quantal response 를 利用하여 單位體積內의 平均細菌含有數를 推定하는 方法이며 그 基本理論은 다음과 같다.

于先 앞서 M.P.N 法의 경우와 꼭같은 稀釋系列을 生覺해 보자.

Dose x 에서 陽性管이 나타날 確率은 다음과 같이 數式으로 表示할 수 있겠다.

$$F(x)=1-e^{-mx}$$

여기서 x 가 最高濃度의 Dose 인 경우는 $F(x)=1$ 되겠고 反對로 最底濃度의 Dose 인 경우는 $F(x)=0$ 가 될 것임으로 上記의 函數 $F(x)$는 하나의 累積分布函數型으로 볼 수 있겠다.

따라서 確率密度函數인 $f(x)$는 다음과 같이 된다.

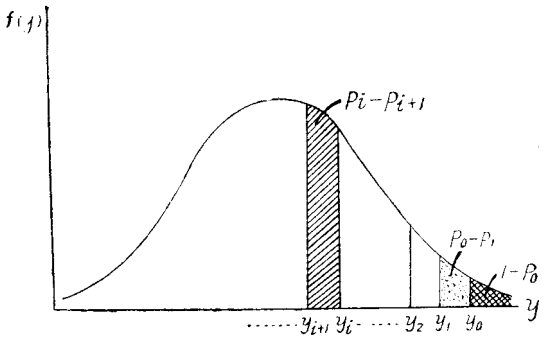
$$f(x)=me^{-mx}$$

Dose x 를 $y=\ln x$ 에 依據하여 變換시키고 log scale 로 놓고 考察하기로 하면

$f(y)=me^{y}\cdot e^{-me^{y}}$ (log scale 上의 確率密度函數)

또한

$F(y)=1-e^{-me^{y}}$ (log scale 上의 累積分布函數)



위의 그림에서 $P_i - P_{i+1}$ 은 $F(y_i) - F(y_{i+1}) = \int_{y_i}^{y_{i+1}} f(y)dy$ 의 推定値라고 볼 수 있다. 但 $\left(P_i = \frac{r_i}{n_i}\right)$

따라서

$$\bar{y} = \sum_{i=0}^{k-2}(P_i - P_{i-1})\left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2}\right) + (1-P_0)\left(\frac{d}{2} + y_0\right) + P_{k-1}\left(y_{k-1} - \frac{d}{2}\right)$$

但 $d = ln\ a$(log dose interval)

위의 式을 整理하여 다음과 같이 簡素化시켜 表示 할 수 있다.

$$\bar{y} = y_0 + \frac{d}{2} - d\sum_{i=0}^{k-1} P_i$$

또한 $\bar{y}$ 의 分散은 다음과 같이 表示된다.

$$V_{ar}(\bar{y}) = \frac{d^2}{n}\sum_{i=0}^{k-1} F_i(-F_i)$$

한편 $f(y) = me^{y}e^{-me^{y}}$ 임으로

$$\mu = \int_{-\infty}^{\infty} y \cdot f(y) \cdot dy = -\gamma - ln\ m$$

但 γ=Euler's constant=0.57722·····.

따라서

$$m = e^{-r-\mu}$$

$$\hat{m} = e^{-r-\bar{y}}$$

$$= e^{-r-y_0-\frac{d}{2}+d\sum_{i=0}^{k-1}P_i}$$

여기서 萬一 最高濃度의 dose 인 x_0 를 1 로 잡으면 $ln\ x_0 = y_0 = 0$ 이 되므로

$\hat{m} = e^{-r-\frac{d}{2}+d\sum_{i=0}^{k-1}P_i}$ 로서 單位體積內 平均細菌數의 推定値 $\hat{m}$ 를 求하게 된다.

S-K 法으로 求한 $\hat{m}$ 의 分散;

앞서 指摘한 바와 같이 $\bar{y}$ 의 分散은 다음과 같이 表示된다.

$$V_{ar}(\bar{y}) = \frac{d^2}{n}\sum_{i=0}^{k-1} F_i(1-F_i)$$

여기서 d 하나를 $\sum$ 안쪽으로 넣고나서 理論的으로 dose 數를 無限大로 그리고 d 를 無限小로 놓고 生覺하면 이 分散은 다음과 같이 簡素化시킬 수 있겠다.

即

$$V_{ar}(\bar{y}) = \frac{d}{n}\sum d\ F_i(1-F_i) \sim \frac{d}{n}\int_{-\infty}^{\infty} F_i(1-F_i)\ dy \sim \frac{d}{n}\ ln\ 2$$

따라서 μ 의 95%信賴區間은 다음과 같이 된다.

$$\bar{y} - 1.96\sqrt{\frac{d}{n}ln\ 2} < \mu < \bar{y} + 1.96\sqrt{\frac{d}{n}\ ln\ 2}$$

$\mu = -\gamma - ln\ m$ 이므로 $e^{-r-\mu} = m$ 가 成立한다.

$$e^{-r\frac{d}{2}+d\sum P+1.96\sqrt{\frac{d}{n}\ ln\ 2}} > m >$$

$$e^{-r-\frac{d}{2}+d\sum P-1.96\sqrt{\frac{d}{n}\ ln\ 2}}$$

$\hat{m} = e^{-r-\frac{d}{2}+d\sum P}$ 이므로

m 의 95% 信賴區間은 다음과 같이 된다.

即

$$\hat{m}\ e^{1.96\sqrt{\frac{d}{n}\ ln\ 2}} > m > \hat{m}\ e^{-1.96\sqrt{\frac{d}{n}\ ln\ 2}}$$

著者는 이 結果를 利用하여 $n=5$, $a=10$ 系列數 3 인

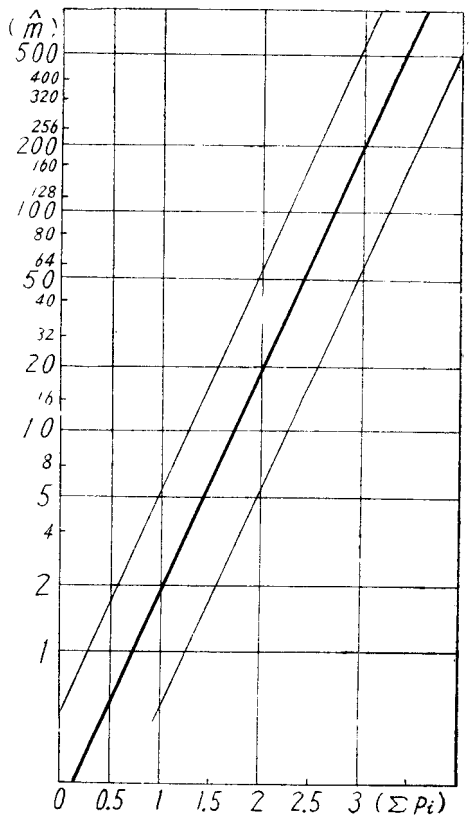


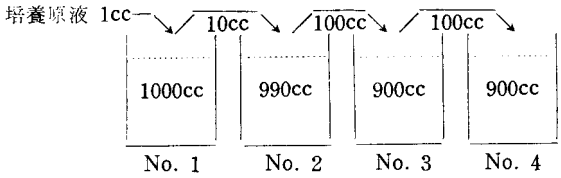
Fig. 3. $\hat{m}$ as a function of Σp and its 95%C.I.

경우를 들어 實驗結果로 얻게되는 $\sum p$ 値만 알면 m 와 그의 95% 信賴區間을 곧 찾어 볼 수 있도록 $\sum p$ 値와 $\hat{m}$ 의 關係圖에 $\hat{m}$ 의 95% 信賴區間線을 添加表示 하였다 (Fig. 3).

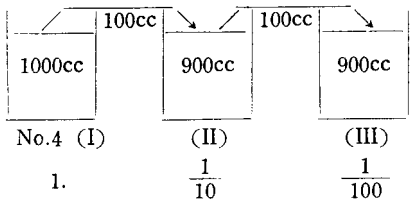
Ⅲ. 實驗成績을 通한 세가지 推定法의 比較檢討

1. 實驗方法 및 資料

(1) 于先 純碎培養으로 얻은 大腸菌의 浮游原液을 다음 順序에 依하여 生理食鹽水에 稀釋하였다.



이들中 No. 4의 稀釋液을 우리가 推定하려는 1 cc 當 細菌數 m 를 含有하는 細菌浮游液으로 取하고 이를 稀釋倍數 10(=a)에 依하여 다음과 같이 稀釋한 後 이 세 細菌浮游液을 實驗對象으로 하였다.



2. a) 集落數計測法

滅菌 petri dish 45 個를 準備하여 3 個의 petri dish 에 各各 上記 稀釋液 (I), (II), (III), 1 cc 씩을 培地와 混合시키며 注入하였고 이와 같은 조작을 15 回 되풀이 하여 24 時間 培養後(37°C) 各 petri dish 培地에 나타난 集落數를 計測하였다.

d) 最確數法

Phenol lactos broth 5 cc씩들은 試驗管 225 管을 準備하여 5 管씩을 一系列로한 3 個의 系列에 各各 上記稀釋液(I), (II), (III)를 管當 1 cc 씩 注入混合하여 48 時間 培養後(37°C) 變色(黃色)을 이르킨 管數를 系列別로 計測 하였다.

c) Spearman Kärber 法

最確數法에서 計測한 結果를 그대로 利用하여 얻은 $\sum p$ 値를 가지고 Fig. 3 를 參照하여 推定値 $\hat{m}$ 를 求하였다.

(2) 實驗結果 및 考察

a) 集落數計測法

Dilution Series	(Ⅰ)	(Ⅱ)	(Ⅲ)
Sample size	15	15	15
Colony No. Mean	58	5	0.4
S.D	13	2	0.4
Range	32~78	0~9	0~2

各 系列마다 5 cc 의 Sample 을 取한 것으로 하면 上記 實驗結果로서 3 個의 $\sum x_i$ 値(Fig 1, 1′ 參照)를 얻게 되는데 Fig 1′ 에 依據하여 $\hat{m}$(稀釋液(I)에 含有되는 1 cc 當 細菌數)를 求하면 다음과 같다.

$\sum x_i$	m	95% Conf. Interval
338	61	54~68
305	55	49~61
301	54	48~60

위의 表에서 3 個의 推定値는 모두 理論的으로 計算된 95% 信賴區間에 끼여 있음을 볼 수 있다.

b) 最確數法

實驗結果인 15 個의 推定値 $\hat{m}$ 의 平均과 標準偏差는 앞서 "最確數法으로 求한 $\hat{m}$ 의 分散"에서 指摘한 바와 같이 $M=33$, $S.D=41$ 로서 集落數計測法에 依한 $\hat{m}$ 에 比하여 變異度가 훨씬 큼을 알 수 있다.

c) Spearman Kärber 法

最確數法에 依한 m 의 推定實驗結果를 本法에 適用시키면 Fig 3 에 依據하여 $\hat{m}$ 와 그의 95% 信賴區間은 다음과 같이 된다.(第 3 表)

Ⅳ. 總括 및 考按

生物現象測定의 結果가 가지는 任意變動量의 調整은 有効推定値의 採擇에 있어서 그 基本이 되는 것으로 이는 推定方法의 推計學的인 理論에 依據하여 그 大小를 測定할 수 있는 境遇와 그 理論的인 誘導가 不可能한 境遇가 있는데 本 論文의 檢討對象의 中心이 되어있는 大腸菌數推定法에 있어서 集落數計測法과 Spearman Kärber 法은 前者에 屬하는 推定法이 되겠고 最確數法은 後者

Table 3. Each outcome of is experiments (s-p)

Exp. No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
$\sum p_i$	2	1.8	2	2.8	2.2	2	2	1.8	2	2.2	2.4	2.4	2.4	2.6	2
$\hat{m}$	18	14	18	100	35	18	18	14	18	35	50	50	50	80	18
95% C.I	7-64	4-40	7-64	40-350	9-90	7-64	7-64	4-40	7-64	9-90	15-120	15-120	15-120	25-240	7-64

$\hat{m}$ 의 mean=36 S.D=25

에 屬한다고 보겠다. 따라서 이 後者에 屬하는 推定法에 依한 推定法의 任意變動의 大小는 結局 實驗結果를 通하여 그 大略의 크기를 觀察하게 된다.

앞서 實驗結果에서 보는 바와 같이 生物學的計測値의 任意變動은 推定方法의 種類에 따라 그 크기에 差가 적지 않음을 알 수 있고 또한 推定方法에 따라서는 그 推定値가 가지는 任意變動의 量을 分散이라는 形式을 取하여 理論的으로 表示할 수도 있음을 알 수 있다.

그러면 上記한 水中大腸菌數推定方法中 어느것이 가장 適切한 것인가를 推論해 보기로 한다.

推定方法의 信憑度(Efficiency)[9]는 그 推定値가 가지는 分散의 크기에 左右되는 것이므로 이 分散의 크기를 比較해 보므로써 推定方法中 가장 優越한것을 採擇할 수 있는 것이다.

于先 推定値가 가지는 變異度의 比較를 目的으로 S-P 法과 集落數計測에 依한 各 推定値 $\hat{m}$ 의 理論的인 95% 信賴區間을 比較해 보면 다음과 같다(最確數法에 있어서는 理論的 95% 信賴區間을 求할 수 없음으로 ($n=5$ 인 경우) 여기서는 除外됨).

	m 의 95% C.I.
集落數計測法	$\hat{m}+1.96\sqrt{0.18\hat{m}}>m>\hat{m}-1.96\sqrt{0.18\hat{m}}$
S-K 法	$\hat{m}\,e^{1.96\sqrt{\frac{n}{2}ln2}}m>\hat{m}\,e^{-1.96\sqrt{\frac{n}{2}\,ln\,2}}$

이 두 95%C.I.를 比較해 보므로서 두 推定値의 變異度의 크기는 다음의 順序로 된다.

S-P 法>集落數計測法

따라서 信憑度의 크기는 다음의 順序임을 알 수 있다.

集落數計測法>S-P 法

다음 上記實驗結果로 보면 集落數計測法, 最確數法, S-K 法등 세가지 推定方法으로 求한 推定値의 變異度의 크기는 다음의 順序로 되여있다.

最確數法>S-K 法>集落數計測法

따라서 信憑度의 크기는 다음의 順序로 되겠다.

集落數計測法>S-K 法>最確數法

이 結果는 理論的으로 求한 結果와 一致함을 보여 주고 있다.

따라서 統計的으로 가장 信憑度가 높은 推定方法은 集落數計測法이라는 結論을 얻게 되지만 實際上 大腸菌檢出의 技術上의 便利를 본다면 最確數法과 S-K 法이 훨씬 簡便하므로 著者는 이 두事項 即 信憑度와 便利度를 참작하여 水中內 大腸菌數推定方法中 Spearman Kärber 法이 最適함을 指摘하게 된다.

V. 結　論

水中 大腸菌數의 推定에 있어서 數理와 計測을 綜合檢討하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

(1) 最確數法에 있어 稀釋倍數 $1:\frac{1}{10}:\frac{1}{100}$로 取한 境遇와 $\frac{1}{10}:\frac{1}{100}:\frac{1}{1000}$로 하였을 境遇 各 稀釋系列에서 5 cc 씩을 標本으로 取하여 얻게되는 總集落數(Σx)와 推定値 $\hat{m}$ 와의 關係圖 및 各 推定値의 95% 信賴區間은 Fig. 1, Fig, 1′ 및 Fig. 2에 表示된 바와 같다.

(2) Spearman Kärber 法에 있어 稀釋倍數 $1:\frac{1}{10}:\frac{1}{100}$로 取한 境遇 各 稀釋系列에서 培養管當 1 cc씩을 標本으로 取하여 培養後 얻게되는 各 系列의 陽性出現率의 總和 Σp 와 推定値 $\hat{m}$ 와의 關係圖 및 各 推定値의 95% 信賴區間은 Fig 3에 表示된 바와 같다.

(3) 集落數計測法과 Spearman Kärber 法에 依據하여 求한 單位體積水中內平均大腸菌數의 推定値가 가지는 理論的任意變動度(分散)는 前者의 것이 後者의 것보다 적으므로써 推計學的으로 優越한 推定方法임을 認定된다.

(4) 實驗結果에 依據하면 集落數計測法, Spearman Kärber 法 및 最確數法등 세가지 推定方法을 各各 利用하여 얻은 推定値들이 가지는 任意變動度(分散)의 크기는 다음과 같은 順序로 觀測되였으며 이는 理論的인 結果와 付合 된다.

集落數計測法<S-K 法<最確數法

(5) 實驗過程의 便宜度와 推定値의 信憑度兩條件을 充足시키는 推定方法으로서 Spearman Kärber 法이 採擇

(擱筆함에 있어 始終 懇曲하신 指導와 校閱을 하여주신 金仁達敎授께 深甚한 感謝를 드리며 特히 實驗過程에 있어 熱誠的인 協助를 해주신 서울 醫大 豫防醫學敎室의 車喆煥先生과 서울大學校 保健大學院의 鄭文植先生에게 마음깊이 感謝드립니다.)

ABSTRACT

A stochastic approach on the random variation in biological measurement.

—On random variation of the estimations of the number of Coli aerogeneic group, and it's control—

Ko Ung Ring, M.D.

Department of preventive Medicine, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

(Director: Prof. In Dal Kim, M.D.)

Author showed both theoretical background and experimental results of the three statistical methods in estimating the number of E. Coli aerogeneic group in water per unit volume, and compared the results

of these three methods.

1) On the basis of theoretical process, author prepared the practically convenient "quick reference" graphs, Fig. 1 & 1′, Fig. 2, and Fig. 3, showing the average number of Micro-organisms per unit volume as a function of the value obtained from the experimental results, and the 95%confidence interval of the estimators.

2) Experimental results showed that the comparative size of variability of each estimator derived from Colony Counting methods, MPN method and S-K method were in following order :

MPN>S-K>Colony Counting.

From this follows: the statistical efficiencies of these three estimator would look like this.

Colony counting>S-K>MPN

This indicated that the experimental results were in general agreement with theory.

3) Finally referring to the weights of both statistical efficiency and technical convenience, the Spearman Kärber method were recommended as the good estimation.

REFERENCES

1) Finney.: *Stat. method in Biological assays, Charles Griffin & Co. p 570~585, 1951.*

2) Reed.: *B. coli deusities as determined from various types of samples, Public Health Reports 40, 704~716, 1925.*

3) Halvorson & Ziegler.: (I) *A means of determining bact. population by dilution method, J. of Bact. 25, 101~121, 1933.*
(II) *Accuracy of dilution data obtained by using several dilution, J. of Bact. 26, 559~567, 1933.*

4) Cochran W.G.: *Est. of bact. densities by means of the M.P.N. Biometrics 6, 105~116, 1950.*

5) Hoskins.: *Notes on the M.P.N. index used in Bact. P.H Reports, vol 56~46, 1941.*

6) Ziegler & Halvorson.: *Exp. comparison of the dilution method, the plate count and the direct count for the determination of bact. pop. J. of Bact. 29, 609~634, 1935.*

7) Johnson & Brown.: *Study on dilution assay. Biometrics, 1960.*

8) Hogg & Craig.: *Int. math. stat, Macmillan co. New York p 118~121, 1959.*

9) Kendal & Stuart.: *The adv. theory of stat. Hafner pub. Co. New York p 228~235, 1958.*

10) Bliss.: *Confidence limits for measuring the precision of Bioassay, Biometrics, Vol. 12, No. 4, 1956.*

11) Swaroop. S.: *Numerical estimation of B. coli by dil. method, J. of Med. Research (India). 26, 353~378, 1938.*

12) Swaroop, S: *On the accuracy of est. of the M.P.N of organism by dil. test. J. of Med Research 29, 449~510, 1941.*

13) Wood. E.C.: *Calculation of the results of micro biol. assays, Nature 155, 632~633, 1945.*

14) Wood, E.C.: *Short cuts to the est of standard errors particularly in mirobiol. assays, Chemistry & Industry 334~336, 1947.*

15) De Beer, E.J.: *The calculation of biological assay results by graphic methods. The all or none type of response.J. of Pharmacology & Exp. therapeutics 85, 1~13, 1945.*

16) Emmeus, C.W.: *Principle of Biological Assay, Chapman & Hill, London 1948.*

17) Finney, D.J.: *The choice of a response metameter in Bioassay. Biometrics 5, 261~272, 1949.*

18) Finney, D.J:. *The estimation of bact. density from dilution series, J. of Hygiene, 49, 26~35, 1951.*

19) Fisher, R.A & Yates, F.: *Stat, tables for Biological, Agricultural and Medical research, Edinburgh, Oliver & Boyd, 1948.*

20) Miller, L.C.: *Biological assays involving quantal responses, Anuals of the New York Academy of Science, 52, 903~919, 1950.*

21) Cox.: *Planning of Experiment, Wiley & Sovs Co. 1958.*