

냉각탑수의 레지오넬라균과 박테리아균 등 미생물 분포 및 상관성 비교

방선재 · 이철민* · 김윤신* · 선우 영 · 박용배**

건국대학교 환경공학과

한양대학교 환경 및 산업의학연구소*

경기도보건환경연구원북부지원**

A Comparison of Legionella and Bacteria etc. microbe distribution and correlation in Cooling Towers Water

Seon-Jae Bang · Cheol-Min Lee* · Yoon-Shin Kim* ·

Young Sunwoo · Yong-Bae Park**

Department of Environment Engineering, Konkuk University,

Institute of Environmental & Industrial Medicine, Hanyang University*

North branch kyonggi-do Institute of Health & Environment**

Abstract

This study was carried out to investigate the distribution of *Legionella* spp and microbe from cooling towers water of Public establishments in Seoul and Gyeonggi-Do.

As results of this study, the cooling tower 132 sites were detecting *L. pneumophila* in order to July(12%) > August (4%) > June, September no-detected. The public establishments were detecting *L. pneumophila* in order to Department store(27.3%) > Hospital(8.7%) > Office(5.9%) > Big Mart(5.0%) > Hotel, Subway no-detected.

The correlation coefficient pH and *L.pneumophila* showed 0.62(p=0.05), 0.27(p=0.45) in temperature and *L.pneumophila*, 0.40(p=0.25) in turbidity and *L.pneumophila*.

Keywords: *Legionella pneumophila*, Cooling Towers Water, Environmental factor

I. 서론

1976년 미국 펜실베이니아주에서 레지오넬라균에 의한 집단폐렴증상으로 221명중 34명이 사망한 사건으로 이 균에 대해 관심을 가지게 되었고¹⁾ 대형 건물 냉각탑수나 급수시설 등에 주로 서식하는 특성을 가진 그람음성 호기성 간균으로 비말형태로

전파되어 집단적 또는 산발적인 유형으로 발생되고 있다. 미국은 물론 세계 각국에서 다수의 산발적 및 집단적 발생의 예가 보고되어 이들 국가들의 이 질환을 예방하기 위한 지침을 발표하였으며, 세계보건기구(WHO)는 1989년 11월 제네바 본부에서 세계 레지오넬라 회의를 열어 레지오넬라증의 역학과 예방대책에 대하여 협의하고 공표하였

다.²⁾ 우리나라도 공공건물 및 대형건물의 중앙집중식 냉방시설로 보급화되면서 레지오넬라증이 일어날 가능성이 증대되었다. 1985년 K병원 중환자실에서 발생한 집단 발생보고³⁾ 이외에는 집단 발생이 없으나 레지오넬라균이 전국적으로 대형건물의 냉각탑수에 높게 분포되어 있다는 발표^{4,5)}가 있으므로 특히 여름철에 냉방장치에 대한 관리대책이 중요하다. 레지오넬라균의 감염은 노약자나 음주 및 흡연자에게 많이 발생하며 특히 면역기능이 손상된 환자에게 치명적인 감염을 일으킬수 있다. 이균은 McDade 등이 이것의 원인균을 분리해내고,⁶⁾ Brenner 등이 처음으로 이를 *Legionella pneumophila*라고 명명하였다.⁷⁾ 후에 이 질병을 제항균인병, 레지오넬라증(Legionnaires Disease)이라고 부르기 시작하였다.

레지오넬라균은 호흡기성 감염을 일으키는 균으로 실내공간에서 하루에 80%이상의 시간을 여러 형태로 보내고 있는 실정을 감안 할때 냉각탑수 및 그 외 환경수에 대한 관리의 중요성을 알 수 있다.⁸⁻⁹⁾

이에 본 연구는 공중이용시설의 냉각탑수를 대상으로 레지오넬라균 및 영향인자(pH, 온도, 탁도) 그 외 미생물(Bacteria, Fungus, Coliform, 기타 호흡기질환 미생물)과의 분포특성 및 상관성을 파악하여 향후 레지오넬라관리지침 설정에 기초자료로 활용하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 연구대상

2001년 6월부터 9월까지 서울 및 경기도내 공중이용시설 132곳을 대상으로 멸균 채수병에 냉각탑수 2ℓ를 채취하여 검액으로 사용하여 실험하였다.(Table 1)(Figure 1).

Table 1. Distribution of 132 Cooling Towers Water

	Sampling Period(%)				Total
	June	July	August	September	
Total	19(14.4)	76(57.6)	24(18.2)	13(9.8)	132

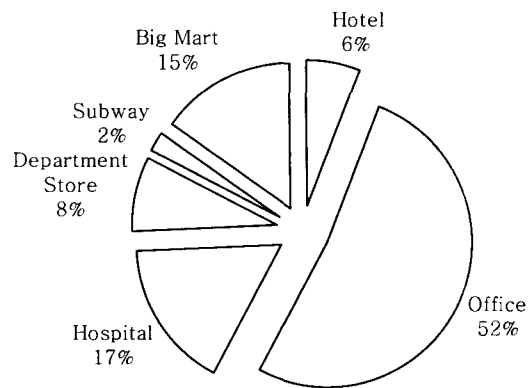


Figure 1. Distribution of 132 Cooling Towers Water by Public Establishment

2. 기구 및 재료

본 연구에서 사용된 배지(Medium)는 GVPC, BCYE α , Plate Count Agar, Sabouraud dextrose agar, Desoxycholate agar, Tryptic Soy broth, Mannitol Salt agar, Asparagine (Difco, USA)를 사용¹⁰⁾하였다. 온도는 Thermal Anemometer (Model : ISA-11, Sibata사)로, pH는 pH meter(Radiometer. Co. Denmark)로, 탁도는 탁도계(Nippon Den-shoku, WA220K)를 사용하여 측정하였다.

표준균주는 *Legionella pneumophila* ATCC 33152, *Salmonella aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853을 국립보건원에서 분양 받아 사용하였다.

3. 방법

1) *Legionella* 균 검사과정¹¹⁾

냉각탑수 1ℓ를 양압여과기(Advantec. co. Nippon)를 이용해 Figure 2와 같이 실험과정을 진행 하고 이들 균중 전형적인 파랑, 초록, 분홍색을 띄고 있는 집락을 선택하여 혈액배지나 cysteine이 없는 BCYE α 에서 증식하지 않는 균주를 대상으로 동정실험을 하고, 그람염색을 하여 Gram Negative bacillus임을 확인하였다.

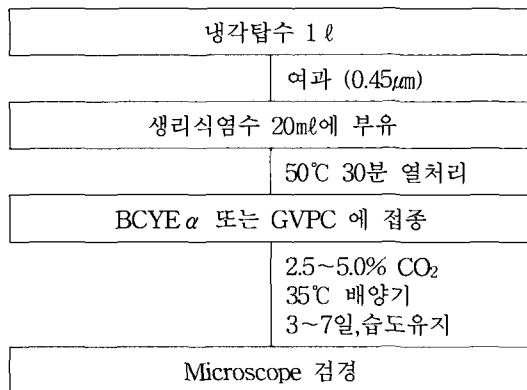


Figure 2. Method of Isolation of Legionella species from Cooling Towers Water

2) Bacteria 및 Fungus, Coliform 등 검사 과정¹²⁻¹³⁾

냉각탑수 1 ℓ에서 Bacteria, Fungus, Coliform, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa 실험은 Figure 3과 같이 진행하며 검액은 10배~10⁵배 희석하여 실험한다.

각각을 35℃에서 24~48 hr 배양후 균수를 센다.

Staphylococcus aureus 실험은 이 균종 크고 뚜렷한 노란색집락을 선택하여 그람염색과 API STAPH (Biomerius, France) 및 생화학 실험을 수행하였다.

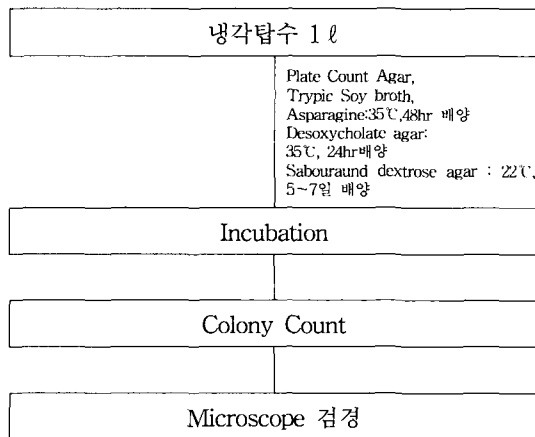


Figure 3. Experimental procedure of Bacteria, Fungus, Coliform, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa from Cooling Towers Water.

Table 2. Distribution of L. pneumophila in Cooling Towers Water

Sampling period	Number of samples	Positive for L. pneumophila (%)
June	19	- (0)
July	76	9 (12)
August	24	1 (4)
September	13	- (0)
Total	132	10 (7.6)

Pseudomonas aeruginosa 실험은 아스파라진(Difco)배지에서 녹색형광을 띠는지 유무로 녹농균을 판정한다. 녹색형광발생시에는 아세트아미드 한천배지에 이식하여 35℃ 24hr 배양하여 적자색으로 변할 경우 그람염색과 API 20 NE(Biomerius, France) 및 생화학 실험을 실시한다.

III. 연구결과 및 고찰

1. 레지오넬라균 월별 분포

2001년 6월부터 9월까지 공중이용시설 132곳을 대상으로 레지오넬라균 검사를 실시한 결과 10곳(7.6%)에서 검출되었다. (Table 2)

7월은 76건 중 9건(12%)으로 가장 높게 검출되었고, 8월은 24건 중 1건(4%)이 검출되었으며, 6월에 19건, 9월은 13건을 검사하여 모두 검출되지 않았다.

이 결과는 대형건물의 하절기 레지오넬라균 분리율이 냉방기 가동시기인 7월과 8월에 가장 높게 검출되었다는 보고¹⁴⁻¹⁶⁾ 와 일치된다. 따라서 7월과 8월에는 냉각탑에 대한 좀 더 세심한 관리가 필요하다고 사료된다.

2. 레지오넬라균의 혈청형 분포

레지오넬라균이 검출된 10곳의 혈청형분포를 보면 L. pneumophila group 1이 9건으로 검출률이 90%이며, L. pneumophila group 4가 1건으로 검출률이 10%를 차지하였다.(Table 2) 이는 냉각탑수의 레지오넬라균속 중 L. pneumophila group 1 검출이 약 80% 된다는 김¹⁷⁾ 등의 보고와 일치한다.

Table 3. Classification of *L. pneumophila* in Cooling Towers Water

Classification	No. of isolation(%)
<i>L. pneumophila</i> serogroup 1	9 (90%)
	4
	1 (10%)
	6
	-
Total	10

3. 공중이용시설별 레지오넬라균의 분포

공중이용시설별로 호텔, 사무실, 병원, 백화점, 지하철, 대형할인점의 냉각탑수의 레지오넬라균수를 살펴보면 백화점이 11건 중 3건이 검출되어 27.3%로 가장 높게 검출되었고, 병원이 22건 중 2건(10.0%), 사무실이 68건 중 4건(5.9%), 대형할인점이 20건 중 1건(5.0%)이 검출되었고, 그 외 호텔 8건, 지하철 3건은 모두 검출되지 않았다.(Figure 4)

4. 공중이용시설별 레지오넬라균수 검출 분포

공중이용시설 6곳중 4곳에서 레지오넬라균이 검출되었는데 사무실에서 검출된 4곳은 100~200 CFU/100ml가 1건, 201~300 CFU/100ml가 1건, 401~500 CFU/100ml가 1건, 501~600 CFU/100ml 1건으로 조사되었다. 또한 병원에서 검출된 2곳은 100~200 CFU/100ml가 2건, 백화점에서 검출된 3

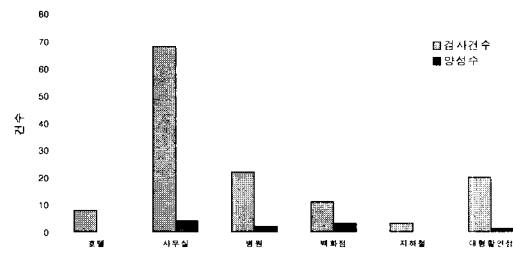


Figure 4. Distribution detecting *L.pneumophila* by Public Establishments

곳은 100~200 CFU/100ml가 3건, 대형할인점 1곳은 100~200 CFU/100ml가 1건이 조사되었다.

이러한 조사 결과는 일본후생성의 레지오넬라증 방지지침¹⁸⁾에 의거 이 실험에서 검출된 레지오넬라균 10건은 모두 '관찰을 요하는 범위'로 균수의 변화를 관리하여 재검사등의 대책을 강구해야 할 것으로 여겨진다.

5. 레지오넬라균과 영향인자와의 통계적 분석

pH와 *L. pneumophila*에서 레지오넬라균 검출범위는 pH 7.0~8.5로 Ikedo등¹⁹⁾의 보고와 일치하며, 통계적인 상관도가 0.62(p=0.05)로 유의한 상관성이 있는 것으로 조사되었다(Figure 5). 이상의 결과를 통해 pH는 레지오넬라균의 증식에 중요한 영향을 미치는 환경인자로 여겨진다.

온도와 *L. pneumophila*에서 레지오넬라균 검출범위는 온도가 28~33℃로 Leoni 등²⁰⁾의 보고와

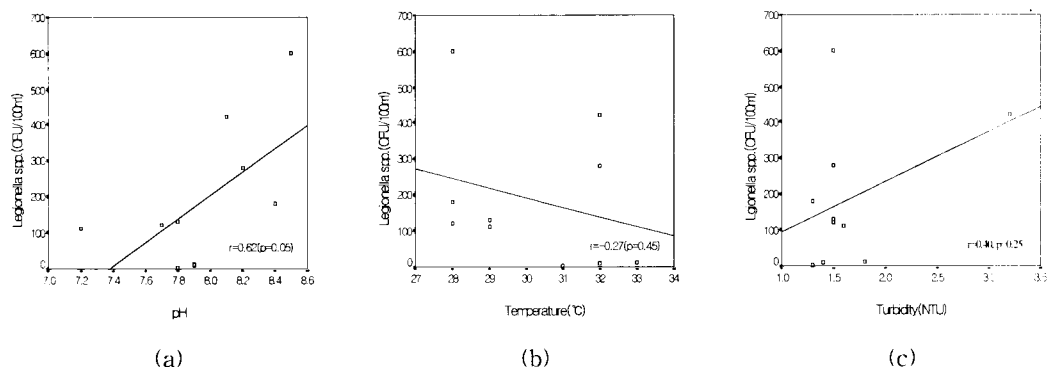


Figure 5. Correlation between *L. pneumophila* and Effect Factors((a) pH,(b) Temperature, (c) Turbidity)

일치하며, 통계적인 상관도가 -0.27(p=0.45)로 통계적 유의성은 떨어지나(Figure 5) Leoni 등의 보고서에서도 유사한 결과를 나타낸다. 온도 역시 레지오넬라균의 증식에 영향을 미치는 환경인자로 여겨진다.

탁도와 *L. pneumophila*에서 레지오넬라균 검출 범위는 탁도가 1.3~3.2NTU로 이 용우²¹⁾보고와 일치하며, 통계적인 상관도가 0.40(p=0.25)로 통계적 유의성은 떨어지나(Figure 5) 레지오넬라균의 증식에 중요한 환경인자로 생각되며, 냉각탑 자체 내에 냉각탑수의 유기물질 오염이 레지오넬라균의 증식을 촉진시키므로 냉각탑에 대한 관리대책이 필요하다고 생각된다.

6. 냉각탑수에서 레지오넬라균과 미생물과의 상관성 조사

냉각탑수의 레지오넬라균과 미생물간의 관계는 살펴보면 Table 4과 같이 냉각탑수의 레지오넬라균의 검출과 Bacteria, Fungus 및 Coliform의 검출간에는 관련성이 없는 것으로 나타났다. 이는 Capabianca 등²²⁾의 연구결과와 같은 결과를 나타내고 있어 Bacteria등을 통해 레지오넬라균 등 다른 미생물의 검출 여부를 추론하는 것은 적합하지 않다는 것을 알 수 있다. 레지오넬라균의 경우 미국 등 세계 각국에서 폐렴의 원인균으로 확정하고 레지오넬라균에 의한 질환을 예방하기 위한 지침을 공포하고 있는 바, 국내에서도 레지오넬라균 관리 지침을 마련하여 지속적인 관리가 필요할 것으로 사료된다.

IV. 결 론

2001년 6월부터 9월까지 공중이용시설 132곳을 대상으로 냉각탑수를 검사하여 레지오넬라균 등 미

생물의 분포특성 및 상관성을 분석하여 다음과 같은 결론을 도출하였다.

1. 총132건을 대상으로 냉각탑수를 검사한 결과 10건(7.6%)의 레지오넬라균이 검출되었다. 계절별로는 7월(12%) > 8월(4%) > 6월, 9월 불검출 순이다. 혈청형 분포를 살펴보면 *L. pneumophila* group 1이 9건(90%), group 4가 1건(10%)을 차지하였다.
2. 공중이용시설별로 냉각탑수의 레지오넬라균의 검출율은 백화점(27.3%) > 병원(9.0%) > 사무실(5.9%) > 대형할인점(5.0%) > 호텔, 지하철(불검출) 순이었으며, 레지오넬라균의 균수 분포는 100~200 CFU/ 100ml가 7건, 201~300 CFU/100ml가 1건, 401~500 CFU/ 100ml가 1건, 501~600 CFU/100ml 1건을 차지하였다.
3. 냉각탑수의 pH와 레지오넬라양성수는 검출범위가 pH 7.0~8.5이며, 상관도는 0.62(p=0.05)로 통계적으로 유의한 상관관계를 나타냈다. 또한 레지오넬라균 증식에 중요한 인자로 여겨진다. 온도와 레지오넬라양성수는 검출범위가 28~33℃이며, 상관도는 -0.27(p=0.45)로 유의성이 떨어지나 레지오넬라균 증식에 중요한 인자로 여겨진다. 탁도와 레지오넬라양성수는 검출범위는 1.3~3.2NTU이며, 상관도는 0.40(p=0.25)로 통계적 유의성은 떨어지나 레지오넬라균 증식에 중요한 인자로 여겨진다.

4. 냉각탑수에서의 레지오넬라균의 검출과 Bacteria, Fungus 및 Coliform의 검출간에는 관련성이 없는 것으로 나타났다.

Table 4. Relationship between *L. pneumophila* and Microbe.

<i>L. pneumophila</i>	Microbe					
	Bacteria		Fungus		Coliform	
	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative
Positive	10(7.6%)	-(0%)	9(6.8%)	1(0.8)	6(4.5%)	4(3.0%)
Negative	110(83.3%)	12(9.1%)	69(52.3%)	53(40.2%)	42(31.8%)	80(60.6%)

참 고 문 헌

1. Fraser, D. W: Legionnaires' disease: four summer' s harvest. Am. j. Med. 68:1~2, 1980.
2. Meers PD, Goh KT, Lim EW: Legionella species, serogroups and subgroups found in the environment in Singapore, Ann Acad Med Singapore, 18(4): 375~8, 1989.
3. 김정순, 이성우, 심한섭, 오대규, 조민기, 오희복, 우세홍, 정윤섭 : 1984년 7월 K병원 중환자실을 중심으로 집단발생한 비페렴성 Legionellosis (Pontiac fever)에 관한 역학적 연구. 한국 역학회지, 7:44, 1985.
4. 박석기, 황영옥, 정지현, 정윤태 : 서울시내 다중이용시설 냉각탑수의 레지오넬라균 분포 및 혈청학적특성, 서울시보건환경연구원보, 35:2 1~26,1999.
5. 박석기, 황영옥, 정지현, 정윤태 : 서울시내 다중 이용시설 냉각탑수의 레지오넬라균 분포 및 혈청학적특징(1994~1998), 서울시보건환경연구원보, 34:10~16, 1998.
6. McDade J.E., Shepard C.C.,Fraser D.W., Tsai T.R., Redus M.A., and Dowdle W.R.: Legionnaires disease: Isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease, N. Engl. J. Med., 297: 1197, 1977.
7. Winn,W.R.Jr.: Legionnaires' disease: Historical perspective. Clin. Microbiol, Rev.1:60 ~ 81,1988.
8. Chanpin, E. S. Human Activity Patterns in the City : Things People do in Time and in Space. John Wiley and Sons. New York, 1974.
9. 김윤신 : 실내공기오염에 관한 보건학적 고찰, 대한보건협회지, 9(3):27-39,1983.
10. Kusnetsov JM, Jousimies-Somer HR, Nevalainen AI, Martikainen PJ: Isolation of Legionella from water samples using various culture methods, J Appl Bacteriol, 76(2): 15 5~62, 1994.
11. 국립보건원 : 개정 감염병 실험실 진단지침, 1996.
12. 환경부: 먹는물수질공정시험법(2000.7.1개정), 2000.
13. 식품의약품안전청: 식품공전, 2000.
14. Feeley, J.C., Gorman, G.W., Weaver, R.E., Mackel, D.C., and Smith, H.W.: Primary isolation media for legionnaires disease bacterium, J. Clin. Microbiol. 8:320~325, 1978.
15. Fliermans, C.B., Cherry,W.B., Orrison,L.H., Smith,S.J., Tison,D.L.,and Pop,D.H.: Ecological distribution of Legionella pneumophila, Appl. Environ. Microbiol. 41: 9~16, 1981.
16. Tison,D.L., Pope,D.H., Cherry,W.B., and Fliermans, C.B.:Growth of Legionella pneumophila in association with blue-green algae(Cyanobacteria), Appl. Environ. Microbiol. 39: 456~459, 1980.
17. Pope,D.H., R.J. Soracco, H.K.Gill, and C.B. Fliermans: Growth of legionella pneumophila in two membered culturer with green algae and cyanobacteria, Curr. Microbil, 7:31 9~322, 1982.
18. 厚生省 生活衛生局 企劃課: Legionellosis 防止 指針. 財團法人 Building 官理教育 Center. 1993.
19. Masanari Ikedo, Eiko Yabuuchi: Ecological Studies of Legionella species. I ,Viable Counts of Legionella pneumophila in Cooling tower Water, Microbiol .Immunol., 30(5) 413~423, 1986.
20. Leoni, P.P.Legani: Comparison of selective procedures for isolation and enumeration of Legionella species from hot water system, Journal of Applied Microbiology, 90,27~33, 2001.
21. 이용우, 성원근, 오현수, 오희복, 박미연, 이명숙, 박경식, 백승복 : Legionella spp.의 감염 및 분포에 관한 연구,국립보건원보, 23:297~307, 1986.
22. Robert M. Capabianca, Neil B.Jrrinski,and Joseph B. Jurinski: A Comparison of Legionella and Other Bacteria Concentrations in Cooling Tower Water, Appl. Occup, Environ. Hyg. 9(5), 1994.