

## ■ 기고

최근 생물학적 유해인자의 노출로 인한 건강상의 장애와 노출평가방법에 대한 관심이 높아지고 있으며 앞으로도 더욱 커질 것으로 보인다. 이에 곰팡이, 박테리아, 엔도톡신을 중심으로 건강장애와 노출평가방법에 대해서 원고를 게재한다. <편집실>

# 생물학적 유해인자에 의한 건강장애와 노출평가방법 (2)

-곰팡이, 박테리아, 엔도톡신을 중심으로-

한국방송통신대학교 환경보건학과 박 동 욱

## 4. 환경별 박테리아, 곰팡이, 엔도톡신의 발생

### 4.1 실내환경

실내 환경에서 미생물이 오염되기 쉬운 장소는 대단히 많다. 실내에 있는 대부분의 물질들이 미생물의 영양원이 될 수 있다. 따라서 물이나 습기가 있는 곳이면 미생물이 번식한다고 보면 틀림없다. 박테리아, 곰팡이, 집진드기 등이 번식할 수 있는 대표적인 곳은 가습기, 카펫, 침대, 화분, 물이 고여 있는 통이나 장소, 물이 누수된 타일이나 천장, 화장실, 샤워기, 공조시설의 필터, 지하실, 벽지, 서재, 가열기기, 냉각탑 등이다. 실내 환경에서 미생물발생의 근원은 공조시설인 경우가 많다. 기계적으로 외부 공기를 여과, 가습, 제습하는 과정에서 필터나 냉각수에 미생물이 오염되고, 오염된 미생물이 다시 환기시스템을 통해 실내로 공급되어 사람들에게 노출되거나 또 다른 실내오염을 초래하기 때문이다. 따라서 공조시설은 적절하게 관리되지 않을 경우 필터, 가습기, 덕트, 코일 등에서 미생물이 지나치게 번식할 수 있다. 만약 외부공기를 끌어들이는 유입구가 쓰레기더미, 지하바닥, 비둘기 등 조류의 배설

물 근처에 위치할 경우에는 미생물로 오염된 공기를 실내로 공급하게 된다.

미국국립산업안전보건연구원(NIOSH)은 450개의 건물을 대상으로 빌딩증후군을 초래하는 원인의 52%가 부적절한 환기였다고 보고하였다. 이외에도 실내외의 오염(28%), 미생물오염(5%), 건물재료(3%) 등이 관련되는 것으로 나타났다. 이처럼 실내환경에서 발생하는 호흡기계질환의 많은 부분이 공조시설에서의 부적절한 환기와 미생물 오염으로 인한 것으로 볼 수 있다. 표 1에서 보는 바와 같이 자연환기를 이용한 건물에서의 공기 중 미생물의 농도가 기계공조시설을 이용한 건물보다 낮다. 특히 미생물 오염의 지표인 그람음성박테리아와 엔도톡신의 농도차이는 매우 크다(표 1 참조). 기계에 의한 공조시설은 미생물이 과다하게 번식할 수 있는 필터, 가습기, 냉각기 등이 있기 때문이다.

이외에도 장마철에 물이 침범한 천장, 물이 누수된 타일이나 천장, 가습기 등에서 미생물의 농도는 매우 높은 것으로 알려져 있다. 실내환경에서 곰팡이로 오염된 건물을 개선하는 과정에서 발생하는 곰팡이 농도는 105-106 CFU/m<sup>3</sup>이내 된다.

표 1. 공조시설의 특성별로 비교한 곰팡이와 박테리아의 평균농도(Archives International Medicine 154, 2339-2344에서 인용). ( ):범위

구 분	자연환기	공조시설 <sup>a</sup>	공조시설 <sup>b</sup>
총 미생물 수, CFU/m <sup>3</sup>	166(141-190)	190(151-230)	196(165-228)
총 박테리아 수, CFU/m <sup>3</sup>	115(94-137)	133(102-164)	159(132-185)
총 그람음성박테리아 수 CFU/m <sup>3</sup>	5(2-8)	7(1-12)	22(10-33)
총 곰팡이 수, CFU/m <sup>3</sup>	50(41-60)	57(40-75)	38(28-48)
엔도톡신 <sup>c</sup> , ng/m <sup>3</sup>	35(28-43)	46(27-64)	254(100-408)

a : 건물빌딩증후군의 증상 호소율이 낮았던(healthy building) 건물에서의 공조시설

b : 건물빌딩증후군의 증상 호소율이 높았던(sick building) 건물에서의 공조시설

c : 엔도톡신의 양은 무게나 Endotoxin Unit(EU)으로 나타냄. 과거에는 ng도 사용하였지만 최근에는 EU로 나타내는 경우가 대부분임. 과거에 보고된 ng을 EU로 환산할 필요가 있음. 엔도톡신의 ng과 EU와의 관계는 표준품에 따라 다르지만 대략 1 ng=10 EU로 환산하면 됨

\*그람음성박테리아는 오염의 지표로 활용된다. 이들이 많이 검출될 경우 환기의 부적정성이나 실내오염을 의심할 수 있다.

또한 필자가 연구한 유치원실내 공기 중에서 곰팡이와 박테리아도 오염기준인 1000 CFU/m<sup>3</sup>을 초과하였다. 특별히 지하실이나 화장실이 가까운 곳에서의 농도는 더욱 높았다. 이러한 결과는 습기와 관련이 깊다. 미생물의 영양원인 실내의 각종 유기물(목재, 종이 등)에 습기만 있으면 박테리아와 곰팡이는 쉽게 번식하기 때문이다. 상대습도 70 % 이상에서 집진드기(mites)는 그들의 몸에서 습기의 소모 없이 먼지에서 잘 자란다. 집진드기는 습기가 낮은 상태에서는 몸속의 습기를 보존하기 위해서 그들끼리 뭉쳐만 있지만 습기가 증가하면 재생산, 피부껍질 섭취, 배변배설(defecation) 등이 증가하게 된다. 집진드기가 내놓은 배변입자들은 주요 항원으로 작용하기 때문에 매우 중요하다. 곰팡이도 대부분 집진드기와 같은 성장환경을 가진다. 상대습도가 70 %가 넘는 지하실에서는 건물벽이나 바닥이 곰팡이 집락으로 검게 된 것을 볼 수 있다. 이러한 환경은 곰팡이를 먹는 집진드기의 번식장소가 된다. 일반적으로 집진드기는 천식을 초래하지만 심각성에는 영향을 미치지 않는다. 그러나 집진드기에 천식이 있는 사람이 엔도톡신에 동

시에 노출되면 그 영향은 상승되어 심각한 결과를 초래할 수 있는 것으로 알려져 있다.

실내에서 노출될 수 있는 엔도톡신 농도는 보통 0.2 ng/m<sup>3</sup>(2 EU/m<sup>3</sup>)정도이다. 오염된 경우라면 농도는 훨씬 높다. 보통 실외에서 측정된 엔도톡신의 농도는 0.04-4 EU/m<sup>3</sup>의 범위이다. 실내에서 일반적으로 발생하는 낮은 농도(4 EU/m<sup>3</sup>)에서도 피로는 물론 점막을 자극할 수 있다. 표 1에서 보는 바와 같이 오염된 실내환경인 경우 발생하는 엔도톡신 농도가 10 ng/m<sup>3</sup>(100 EU/m<sup>3</sup>)이상이 되는 경우는 흔하다.

## 4.2. 산업장

일반적으로 산업장에서 발생하는 미생물은 실내환경보다 종류도 다양하고 그 농도도 훨씬 높다. 특별히 폐수처리업, 절삭유 취급업, 면방직업, 농업, 축산업, 곡물저장고 가공업, 목재가공업, 폐기물처리업 등에서 생물학적 인자는 주요 위험 인자이다. 즉 이러한 업종에서 생물학적 인자는 다른 물리적, 화학적 인자보다 위험이 크므로 반드시 평가해야 한다는 의미이다.

이러한 업종들은 관리정도에 따라 다르겠지만 제한기준들(박테리아 : 104 CFU/m<sup>3</sup>, 곰팡이 : 104 CFU/m<sup>3</sup>, 엔도톡신 : 50-100 EU CFU/m<sup>3</sup>)을 대부분 초과하는 것이 일반적이다. 특별히 농축 산업과 곡물 저장업 등은 동물의 분변, 습기, 영양분 등으로 미생물 오염이 매우 심한 편이다. 또한 분변의 오염으로 인한 감염성질환 미생물의 발생도 많다. 가축사육업종에서 알리지와 호흡기계질환의 발생률과 미생물의 농도는 매우 유의한 상관성이 있다. 농부들이 추수전과 후 그리고 토지경작 등의 과정에서 건초더미, 흙 등에 번식된 미생물에 노출될 수 있다. 곡물관리업종에서도 만성기관지염, 천식, 알리지성비염 등의 발생이 높은 것으로 알려져 있다. 물을 사용하는 폐·하수처리장이나 기계가공업종도 미생물이 과다하게 번식하기 쉬운 환경이다. 이들 업종에서 측정된 곰팡이는 보통 105 CFU/m<sup>3</sup>을 초과하는 것이 일반적이다(표 2 참조).

냉각과 유통을 목적으로 수용성 절삭유를 사용하는 기계가공업종에서 발생하는 곰팡이와 박테리아는 근로자 건강장해도 초래할 뿐만 아니라 공정운영에도 많은 영향을 미친다. 자동차부품을 수용성 절삭유로 가공하는 업종에서 연구된 결과를 보면 박테리아 농도가 5.5×10<sup>4</sup>-4.6×

106 CFU/m<sup>3</sup>, 곰팡이 농도는 104 CFU/m<sup>3</sup> 까지 검출되었다.

한편, 목재나 목재생산품을 가공, 처리, 보관하는 업종에서도 미생물(박테리아, 그람음성박테리아, 곰팡이)이 번식한 나무껍질을 가공하기 때문에 미생물의 발생은 매우 높다. 목재가공업종에서 보고된 공기 중 곰팡이 농도는 102-107 CFU/m<sup>3</sup> 정도이다.

이외에도 쓰레기 매립장, 퇴비처리장, 음식(과일, 고기 등) 저장이나 취급, 빵제조, 가축도살, 쓰레기나 폐기물 운반 및 처리, 미생물을 이용한 실험 등의 업종도 미생물을 발생시키는 주요 업종이나 작업이다. 대부분 호흡기계 질환을 초래할 정도로 높은 곰팡이, 박테리아, 엔도톡신 등이 발생할 수 있는 것으로 잘 알려져 있다.

### 5. 박테리아, 곰팡이, 엔도톡신에 대한 측정 및 분석

환경에서 집락이 형성되어 번식한 상태가 눈에 띄거나 지나친 냄새가 나지 않는 경우에는 생물학적인자의 존재를 알기가 어렵다. 심지어 불쾌한 냄새가 심하게 나고 호흡기계질환에 대한 호소가 많은데도 생물학적 인자가 유의하게

표 2. 축산업과 곡물저장소에서의 주요 미생물의 농도 범위(Journal of aerosol science, 25(8), 1371-1404에서 인용)

구 분	소사육장	곡물저장소
배양가능한 박테리아, CFU/m <sup>3</sup>	4.4×10 <sup>4</sup> -2.8×10 <sup>5</sup>	2.0×10 <sup>4</sup> -1.2×10 <sup>6</sup>
배양가능한 곰팡이, CFU/m <sup>3</sup>	1.0×10 <sup>3</sup> -7.2×10 <sup>3</sup>	2.4×10 <sup>3</sup> -4.5×10 <sup>4</sup>
Aflatoxin, ug/m <sup>3</sup>	검출되지 않음	0.0-0.11
엔도톡신 <sup>a</sup> , ng/m <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> -1.2×10 <sup>4</sup>	5.4×10 <sup>7</sup>
식물이나 동물 항원 <sup>b</sup> , ug/m <sup>3</sup>	0.04-9.5	검출되지 않음

a : 엔도톡신의 양은 무게나 Endotoxin Unit(EU)으로 나타냄. 과거에는 ng도 사용하였지만 최근에는 EU로 나타내는 경우가 대부분임. 과거에 보고된 ng을 EU로 환산할 필요가 있음. 엔도톡신의 ng과 EU와의 관계는 표준품에 따라 다르지만 대략 1 ng=10 EU로 환산하면 됨

검출되지 않은 경우도 많다. 이것은 공기 중으로 분산되는 미생물이 시간별로 일정하지 않거나 짧은 시간동안의 측정으로 발생시간을 대표하지 못하며 적절한 측정방법이 없는 것이 주요 이유이다.

국제적으로 공인된 생물학적 유해인자에 대한 측정방법은 아직 없다. 다만 박테리아, 곰팡이, 엔도톡신, VOC 그리고 몇 가지 항원(집진기, 꽃가루, 바퀴벌레 등)에 대한 측정방법 등이 제안되어 있을 뿐이다. 특히, 환경에서 과다한 면역 반응을 일으키는 항원들은 대단히 많지만 이들이 대부분 환경에서 불안정하므로 적절한 채취 방법이 확립된 경우가 매우 드물다.

곰팡이와 박테리아에 대한 측정 및 분석방법은 여러 기관(AIHA, ACGIH)이나 논문에서 제안한 방법을 정리하였다. 엔도톡신은 미국표준협회(American Society for Testing and Materials, ASTM)가 제안한 방법을 간략히 설명하였다.

## 5.1. 박테리아, 그람음성박테리아, 곰팡이

### 채취

공기 중의 박테리아와 곰팡이를 채취하는 방법은 여러 가지이다. 각 방법은 장단점이 있으므로 채취목적에 따라 선정하면 된다. 여기서는 간략한 원리와 방법만 설명하였다.

### 가. 필터법

필터법은 고체상의 박테리아와 곰팡이를 필터로 채취하는 것으로 입자상 물질을 채취하는 것과 동일하다. 채취여재는 공극구멍 0.4  $\mu\text{m}$ , 직경 37 mm 막여과지를 사용하고 채취유량은 2 L/분 정도이다. 바닥표면이나 다른 공간에서 먼지벌크를 채취할 경우 카세트 윗부분을 제거하고 열린 채로 무게를 가진 벌크를 채취하면 된다. 필터에

채취된 박테리아와 곰팡이는 멸균된 추출액으로 추출한다. 추출방법은 카세트 앞뒤 플러그를 빼고 추출액 일정 양을 주입한 후 일정시간 동안 흔들고 적정량의 추출액을 배지에 접종하여 배양한다. 이 방법은 개인채취가 가능하고 일반적인 문제점을 파악하는데 편리하며 회석이 가능한 것이 큰 장점이다. 또 박테리아와 곰팡이를 한꺼번에 채취할 수 있어 많이 이용된다. 그러나 필터에 채취된 곰팡이와 박테리아가 공기와의 계속적인 접촉으로 활성이 저하되거나 죽는 경우가 있어 과소평가되고 건강상의 장애를 줄 수 있는 죽은 미생물은 채취되지 않는 한계점이 있다.

자세한 내용은 Journal of Applied Bacteriology, Vol 61, 401-406, 1986에 소개된 "Collection of Airborne Micro-organism on Nucleopore Filters Estimation and Analysis-CAMNEA Method"에 있다.

### 나. 배지 충돌기를 이용한 방법(Agar Impactor)

배지(agar)를 충돌기(impactor)에 곧바로 장착하고 28.3 L/분으로 공기 중의 박테리아와 곰팡이를 배지에 충돌시켜 채취하는 방법이다. 너무 많은 곰팡이나 박테리아가 채취되면 계수하는 것이 어려우므로 채취시간을 잘 설정해야 한다. 필자의 경험으로는 사무실인 경우 5~15분 정도 채취하면 계수에는 문제가 없다. 그러나 농도가 높은 작업환경이나 실내환경에서는 매우 짧게(5분 이내) 채취해야 한다. 배지는 채취하고자 하는 미생물에 따라 배지 종류를 달리하여 장착하고 채취하여야 한다. 배지 충돌기를 이용한 채취 방법은 미생물 크기별로 채취할 수 있고 배지를 직접 이용하기 때문에 편리한 점도 있지만 한계점도 많다. 우선 개인시료채취(personal sample)가 불가능하다. 또한 배지에 직접 채취되므로 회석할 수 없으므로 채취시간을 잘 설정해야 한다.

실패하면 시료를 다시 채취해야 한다. 필터법과 마찬가지로 죽은 미생물은 채취가 되지 않는다는 점도 한계점이다.

다. 형광현미경을 이용한 방법(fluorescence microscopy)

박테리아와 곰팡이에 대한 대부분의 채취방법은 살아있는(viable) 미생물을 채취하는 것이다. 그러나 죽은 미생물도 건강상의 장애를 초래하기 때문에 채취를 해야 한다. 형광현미경을 이용한 방법은 죽어있거나 살아있는 모든 박테리아나 곰팡이를 채취할 수 있는 장점이 있다. 필터법과 동일하게 채취하여 추출한 다음 DNA를 염색시켜 형광현미경으로 그 수를 계수하는 방법이다. 배양도 필요 없다. 한계점은 현미경이 필요하고 전문적인 분석이 요구된다는 점이다.

배양 및 계수

현미경법을 제외하고는 접종되거나 채취된 배지에 있는 박테리아나 곰팡이가 성장할 수 있도록 적절한 온도와 시간으로 배양을 해야 한다.

일반적으로 총 박테리아용 배지는 TSA(Tryptic Soy Agar), 곰팡이는 SDA(Sadourand Dextrose Agar) 그리고 그람 음성 박테리아는 MAC(MacConkey Agar)이다. 배지는 직접 제조할 수도 있지만 시중에서 제조된 것을 이용해도 문제가 없다. 박테리아용 배지는 35 °C에서 2일간 그리고 곰팡이용 배지는 4일간 배양한 후 성장한 집락수(colony)를 계수한다. 배양온도는 우리 몸의 체온과 비슷하다. 만약 고온에서 성장하는 박테리아(예: Actinomyces)를 분리하고자 하는 경우 50 °C에서 배양한다. 박테리아와 곰팡이가 자란 패트리디쉬에서 집락수를 직접 계수하고, 집락수가 많을 때에는 균등하게 4면으로 분할하여 1면에 자란 박테리아와 곰팡이의 집락을 계수하고 분할한 면(4)을 곱하여 총 집락수로 한다.

집락수의 단위는 colony forming units(CFU)이다. 배지에서 계수된 총 집락수(CFU)를 채취된 공기용량으로 나누어 공기 중 농도(CFU/m<sup>3</sup>)로 한다. 박테리아나 곰팡이의 종을 알고자하는 경우 배지에서 자란 집락에서 분리한 후 추가의

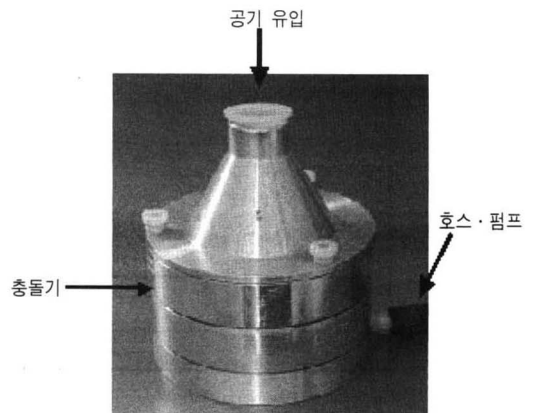
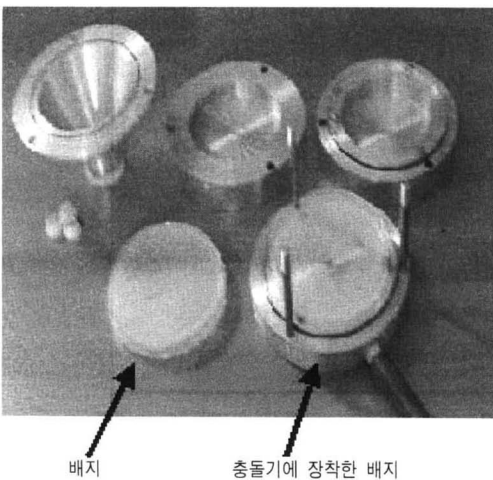


그림 2. Agar Impactor 채취기

분석과정을 거쳐야 한다.

## 5.2 엔도톡신

### 채취

엔도톡신은 직경 37 mm의 유리섬유 여과지 (glass fiber filter)를 이용하여 채취한다. 채취유량은 2.0 L/분이다. 입자상 물질의 채취원리와 동일하다. 다만 4 °C 이하 냉장 상태로 운반하여 분석 전까지 냉장고에 보관하고 가능한 빠른 시일 내에 분석하는 것이 좋다.

### 분석

채취된 Glass fiber 필터를 LAL water로 추출한 후 엔도톡신을 분석한다. 표준용액은 E.coli 055 B5 Endotoxin으로 말발굽계 (Limulus Amoebocyte)의 혈액을 정제한 것이다. 말발굽계의 혈액이 엔도톡신에 정량적으로 응고되기 때

문이다. 정량적인 분석은 Kinetic microplate reader (Vmax: Molecular Devices Corp., Menlo Park, Calif.)를 이용한다.

분석원리는 2단계의 효소반응에 따라 최종적으로 생성된 coagulagen의 탁도를 이용한다(그림 3 참조). 일정한 농도의 탁도(optical density)에 도달하는데 걸리는 시간을 측정하는 것이다. 즉 "Y"축은 설정된 탁도(보통 0.03)이고 "X"축은 설정한 탁도에 도달되는데 걸리는 시간이다. 그림 3과 같이 효소반응을 진행하는 결정인자가 엔도톡신이므로 엔도톡신 농도가 높을수록 coagulagen이 빨리 형성되고 이에 따라 탁도의 농도는 높아진다. 따라서 탁도농도와 시간과의 관계는 역비례이다.

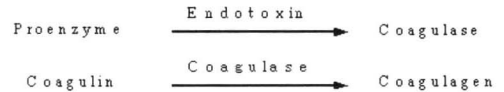


그림 3. 엔도톡신의 분석원리

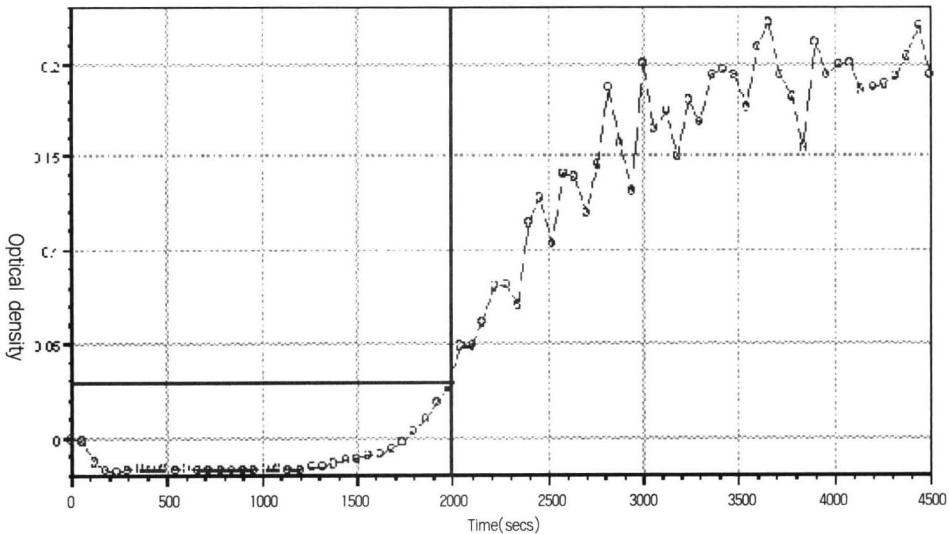
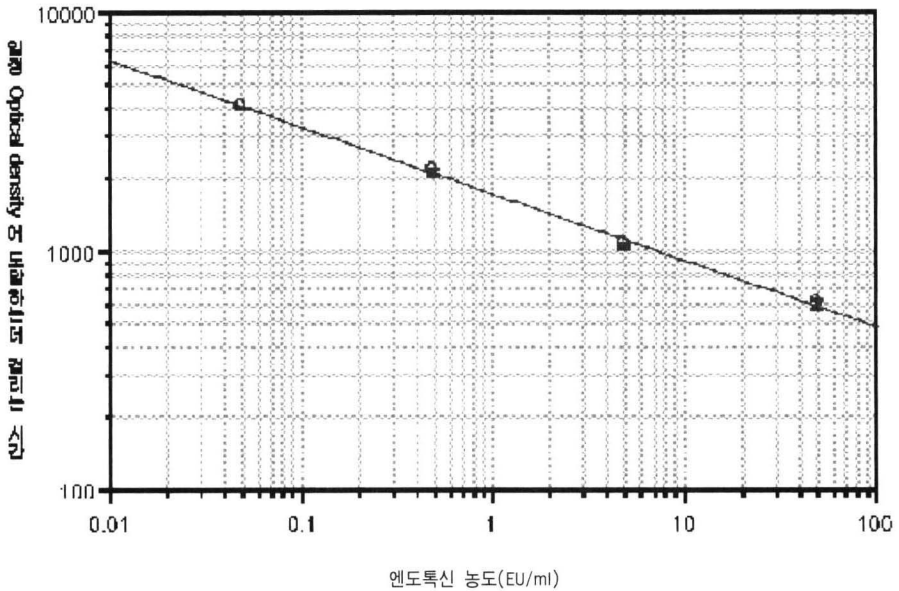


그림 4. 엔도톡신을 정량하기 위한 검량선 ("Y"축: 탁도(optical density), "X"축: 일정 탁도에 도달 하는데 걸리는 시간)



	A	B	R <sup>2</sup>
Log(y) - A + B * Log(x)	3.235	-0.279	0.998

STD(Standards: concentration vs Mean Ti...

그림 5. 엔도톡신을 정량하기 위한 검량선("Y"축: 설정된 탁도에 걸리는 시간, "X"축: 엔도톡신의 농도를 대수변환한 방정식)

그림 4는 75분 동안 1개 시료에 대한 일정 시간별 탁도를 곡선으로 연결한 것이다. 예로써 탁도 0.03에 도달하는데 33.3분(2,000초) 걸린 것이다. 그림 5는 엔도톡신을 정량하기 위한 검량선(calibration graph)으로 대수변환한 것이다. "Y"축은 일정 탁도(optical density)에 도달하는데 걸

린 시간이고 "X"축은 엔도톡신의 농도이다. 농도가 높을수록 "Y"축에서의 시간은 짧고 농도가 낮을수록 시간은 오래 걸리는 것을 알 수 있다.

(다음호에는 생물학적 유해인자에 대한 평가가 소개됩니다.)