

실내환경에서 생물학적 인자에 대한 노출평가

박주형[†]

미국 직업안전보건 연구원, 호흡계 질병과
(2009. 7. 8. 접수/2009. 7. 26. 수정/2009. 8. 13. 채택)

Exposure Assessment of Biological Agents in Indoor Environments

Ju-Hyeong Park[†]

Division of Respiratory Disease Studies, National Institute for Occupational Safety and Health, USA
(Received July 8, 2009/Revised July 26, 2009/Accepted August 13, 2009)

ABSTRACT

The Institute of Medicine of the National Academies of Science in the United States concluded in its 2004 report that excessive indoor dampness is a public health hazard and that its prevention should be a public health goal. Water damage in buildings, such as leaks from roofs, walls, or windows, may increase indoor moisture levels. Excessive dampness may promote microbial proliferation in indoor environments, increase occupants' exposure to microbial agents, and eventually produce adverse health effects in building occupants. Epidemiological studies to demonstrate the causal association between exposure to indoor microbial agents and health effects require reliable exposure assessment tools. In this review, I discuss various sampling and analytical methods to assess human exposure to biological agents in indoor environments, their strengths and weaknesses, and recent trends in research and practice in the USA.

Keywords: indoor environments, biological agents, microbial contamination, exposure assessment, bioaerosols, dampness

I. 서 론

생물학적 오염에 대해 논의할 때 많이 언급되는 용어 중에 하나가 bioaerosols(이하 바이오에어로졸이라 함)이다. 바이오에어로졸은 생물학적 에어로졸 즉 생물체에서 기원된 에어로졸을 말하며, 에어로졸은 공기중에 부유되어있는 particulates(먼지, 미스트, 폼 및 안개)로 규정된다.¹⁾ 따라서 공기중에 부유되어 있는 생물학적 인자들 즉, 곰팡이 포자나 세포 조각들, 박테리아, 박테리아 포자 혹은 세포 조각들, allergens, 바이러스, 혹은 이런 생물학적 인자가 흡착되어 있는 먼지들이 바이오에어로졸에 포함된다고 할 수 있다. 그러므로 미생물의 대사산물로 만들어져 공기중으로 분비되는 휘발성 유

기화합물(Microbial Volatile Organic Compounds: MVOC)은 엄밀하게 바이오에어로졸에 포함되지 않는다. 이러한 점을 감안하여 1999년 미국 ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists)가 발간한 바이오에어로졸 가이드라인에서는 바이오에어로졸이라는 용어대신 “생물체 혹은 그들에서 나온 실내공기 오염물(Biologically derived indoor air contaminants)”이라는 용어를 만들어 정의하기도 했다.²⁾ 그러나 이 정의에도 공기중에 부유되어 있다가 실내의 표면에 가라앉은 후 그대로 침적되어 있는 생물학적 먼지들은 포함되지 않는다. 따라서 본 논문에서는 공기중에 부유되어 있는 생물학적 에어로졸만을 지칭하는 바이오에어로졸이라는 용어대신, 보다 포괄적인 의미를 지닌 생물학적 인자라는 (biological agents) 용어를 사용하였다.

본 논문에서는 실내환경에서 건물 거주자가 생물학적 오염인자에 노출되었을 때 노출정도를 평가하기 위하여 어떠한 방법으로 시료를 채취하고, 시료에서 무엇을

[†]Corresponding author : Division of Respiratory Disease Studies, National Institute for Occupational Safety and Health, USA
Tel: +1-304-599-5184, Fax: +1-304-285-5820
E-mail : ymi5252p@gmail.com

분석하며, 시료분석 결과를 어떻게 해석해야 하는 지를 토의 한다. 이를 위하여, 현재 보편적으로 사용되고 있는 여러 가지 시료채취 및 분석 방법들과, 최근 새롭게 개발되어 사용이 시도되고 있는 분석 방법들을 개략적으로 소개한다. 아울러 각각의 방법들의 장·단점과 노출평가에 대한 향후의 연구동향도 토의하고자 한다. 실내에서 생물학적 오염인자에 노출되었을 때 생길 수 있는 건강장해에 대한 고찰은 매우 광범위하고 복잡하며, 또한 많은 토의가 필요하므로 지면의 제한점을 고려하여, 본 논문에서는 노출평가방법론에 대한 개략적 소개 및 토의에만 국한하고자 한다. 각각의 노출평가방법에 대한 자세하고 구체적인 소개 및 토의는 지면의 제약상 할 수 없으므로, 이에 대한 상세한 정보를 원하는 독자들은 본 논문에 인용된 개별 문헌을 참고하기를 바란다.

II. 고찰 및 토의

1. 실내 및 실외에서 생물학적 인자에서의 노출

우리가 호흡하는 공기에는 다양한 종류의 생물학적 인자들이 포함되어 있기 때문에 정상적인 환경에서 생활하는 사람들은 누구나 생물학적 인자들에 노출될 수밖에 없다.^{3,4)} 실외공기를 최상으로 잘 처리하여 거주자에게 공급해주는 건물의 실내 공기중에도 생물학적 인자들은 존재한다. 이러한 이유로 사람의 신체는 생물학적 인자들에 노출되었을 때 이를 방어하는 면역학적 체계를 잘 발달시켰다. 하지만 미생물이 잘 자랄 수 있는 환경이 건물내에서 조성되게 되면, 미생물은 빠른 속도로 번식을 하게되고 이로 인해 거주자들은 평상시에 생물학적 인자에 노출되던 농도보다 높은 농도에 노출되게 된다. 따라서 단기간 고농도에 노출되거나 혹은 지나치게 높은 농도는 아니더라도 증가된 농도에 장기적으로 노출되었을 때는 호흡계질환 및 여러 가지 다른 건강장해가 생길 수 있다.⁵⁾ 그러나 노출된 생물학적 인자의 종류에 따라 여러 가지 다른 건강장해가 발생할 수 있고, 또한 인자별로 건강장해를 일으킬 수 있는 농도가 모두 다르며, 표준화된 노출평가 방법의 부재로 인해 인과관계를 밝혀주는 역학연구가 어려워, 현재 허용기준은 설정되어 있지 않다. 따라서 평가방법의 표준화와 더불어 표준화된 방법을 사용한 많은 양질의 역학조사 결과들이 발표되어야만 노출기준 설정을 위한 기반이 마련될 것으로 생각된다. 아울러 실내에서 미생물 번식 환경이 조성된 경우 건물거주자들은 어느 한 생물학적 인자에만 노출이 높아지는 것이 아니라 동시에 여러 종류의 생물학적 인자에 노출이 높아질 수 있다. 이러

한 복합 노출은 생물학적 인자에 대한 노출과 관련한 건강장해에 대한 연구를 더욱 어렵게 만들고 있다.

2. 건물누수(또는 수해)로 인한 건물내의 과다수분과 생물학적 오염

현대인들은 최대 90% 이상의 시간을 실내에서 보내므로 실내 환경은 인간의 환경오염물에 대한 노출평가에 있어서 매우 중요한 부분을 차지한다. 정상적으로 작동되는 환기시스템(HVAC system: Heating, ventilating, and Air Conditioning system)에 의해 실외의 공기를 잘 정화한 후, 온도와 습도를 쾌적한 상태로 조절하여 실내의 거주자에게 공급해주는 실내 오염원이 없는 건물의 경우, 실내 공기중의 생물학적 인자들의 농도는 실외와 비슷하거나 실외보다는 낮은 것이다.^{6,7)} 실내의 공기질을 떨어뜨리는 요인은 여러 가지가 있으나, 특히 실내에 존재하는 과다한 수분은 생물학적 인자들의 농도를 높이는 가장 중요한 요인으로 간주된다. 덥고 습한 기후대나 그러한 계절이 있는 지역에 있는 현대식 건물은 거주자에게 시원하고 쾌적한 공기를 제공해 주는 공기냉각시설을 갖추고 있다. 하지만 공기냉각시설의 사용은 동시에 냉각된 실내공기에서의 수분의 함량을 적정수준으로 조절 및 유지해주어야 하는 어려운 문제를 제기한다.⁸⁾ 이와 더불어 1970년대 에너지 절약동 이후 지어진 현대식 건물에서는 에너지 절약을 위해 건물을 경제적으로 운영해야만 했다. 이로인해 현대식 건물들은 습도가 조절된 공기와 조절되지 않은 외부의 공기와의 교류를 막아주거나, 혹은 덥고 습한 외부의 공기중에 있는 수분이 건물로 침투하는 것을 막아주는 밀봉구조로 설계되었다. 하지만 건물을 밀봉하는 여러 시스템들이 실패하게 될 경우에는 건물의 여러 부분에서 물이 새거나 외기에 있는 수분이 건물로 침투하는 문제가 발생하게 된다. 이런 시스템들의 실패로 인해 건물이 수해를 입는 경우, 누수된 부분의 건물 자체에 수분함량을 높여 미생물이 자랄 수 있는 좋은 여건을 제공하게 되며, 결국 건물구조내의 생물학적 오염 문제를 야기하게 된다.

건물 기능의 실패와 관련하여 미국에서는 건물의 노화가 수해, 과다수분 및 생물학적 오염을 일으키는 중요한 요인으로 지적되고 있다. 2001년 미국 센서스 조사에 따르면, 2001년 현재 미국에는 약 119,117,000개의 주거건물이 있으며 이 건물들의 평균연령은 32년이라고 보고하고 있다.⁹⁾ 또한 2002년 현재 미국 연방정부의 동력부(Department of Energy)가 소유하고 있는 10,707개 건물의 평균연령은 31년으로 보고되었고,¹⁰⁾ 1998년 현재 미국에 있는 약 78,000개의 공립 초·중·

고등학교 건물의 평균연령은 42년으로 보고되었다.¹¹⁾ 건물의 수명은 건물의 유형과 용도에 따라 다르지만, 건물의 평균 수명을 대략 40년에서 60년으로 잡는다면,¹¹⁾ 미국에 있는 건물의 평균연령은 상당히 높다고 볼 수 있다. 따라서 미국에 있는 건물들의 노화는 건물의 누수 문제와 밀접한 관련이 있다고 보여진다. 미국의 GAO(US Government Accountability Office)의 1996년 통계자료에 따르면 현재 미국의 학교건물의 약 30%가 파이프누수, 지붕누수, 건물의 내·외벽 혹은 창문을 통한 누수로 인해 보수되어야 한다고 보고하고 있다.¹²⁾ 또한 미국 환경청에서 실시한 미국 전역에서 무작위로 선정된 100개의 사무실 건물조사 자료에 의하면,^{13,14)} 이들의 약 85%가 과거에 수해를 입은 적이 있거나, 43%가 건물의 누수로 인한 수해 문제를 현재 안고 있다고 한다. 또 미국 주거건물의 약 10% 정도는 건물의 내·외벽구조물의 누수 문제가 있음을 2007년 미국센서스 조사결과를 보고하고 있다.¹⁵⁾ 결국 미국에 있는 다수의 건물은 많은 예산을 들여 시급히 보수하지 않는 한, 어느 시점에서는 건물의 누수로 인한 수해를 입게 될 것임을 이 조사자료들은 경고해주고 있다. 아울러 현재 수해를 입고 있는 건물의 비율을 감안하면, 수해건물 내부의 과다 수분의 문제는 더이상 무시되어서는 안될 문제라고 미국 의학연구소는 지적하고 있다.¹³⁾

3. 노출평가 방법

화학물질을 다루는 작업장에서 공기중 화학물질의 농도는 오염원의 강도나 작업강도 등 여러 변수에 영향을 받아 시간에 따라 변화한다. 마찬가지로 실내공기중의 생물학적 인자들의 농도도 장소와 시간에 따라 시시각각으로 변한다. 그러나 미생물 오염원이 존재하는 실내에서는 오염원으로부터 미생물 입자가 (포자 및 미생물 세포 조각들) 언제, 어느 정도로 발생되는지를 예측하기가 매우 어렵다. 예를 들어 실내에 있는 건물자재에서 활발하게 번식하는 곰팡이라도 포자나 세포 조각을 항상 일정한 속도로 공기중으로 분출하는 것은 아니다. 게다가 건물내에서 누수가 발생한 장소와 미생물 오염 장소를 확인하지 못한 상태라면, 장소와 시간에 따라 크게 변하는 공기중에 있는 생물학적 인자들의 농도를 측정하여, 대표성있는 노출평가를 하기는 더욱 힘들 수 밖에 없다.

실내공기가 생물학적 인자로 오염되어 있을 경우, 가능성이 가장 높은 노출경로는 호흡기를 통한 노출이다. 따라서 흡입노출평가를 위한 가장 바람직한 방법 역시 공기시료(개인별 혹은 지역시료)를 채취하는 것이

다. 미국에서 최근까지 가장 많이 사용되던 생물학적 인자 노출평가 방법은 공기시료를 배지위에 채취하여 배양한 후에 배지에 자란 세포균체의 수를 세거나, 집착제로 코팅된 표면에 세포나 포자를 포집하여 현미경으로 세포나 포자수를 세는 것이었다. 하지만 배지나 집착성 표면에 이들이 과다로 채집되면 배양 세포균의 수를 혹은 현미경으로 세포수를 셀 수 없게 되므로 보통 10분 혹은 최대 15분 이내로 시료를 채취하여야 한다.¹⁶⁾ 따라서 이런 단기 시료 채취로 환경 혹은 노출평가를 하는 경우, 건물내에서 많은 장소를 선정하여 시료를 채취해야 할 뿐만 아니라, 같은 장소에서도 다른 시간대에 여러번 반복 시료를 채취하여야만 대표성있는 노출평가를 할 수 있다. 따라서 정확한 환경평가나 노출평가를 하기 위해서는 비용이 많이 들 수 밖에 없다. 이러한 과다비용 문제로 인해 미국에서는 가까운 과거까지만 해도 많은 실내 환경보건 연구자들이나 환경측정 대행 및 자문기관들은 아주 제한된 숫자의 (종종 건물당 1개의 시료) 단기 공기시료(짧은 시간동안 채취한 공기시료)를 이용하여 환경상태나 거주자의 노출상태를 평가하였다. 이런 방법을 사용한 역학조사들은 노출평가에서 많은 노출분류 오류(misclassification)를 야기하여 생물학적 인자 노출과 건강장해에 대한 일관성있는 연관성을 발견하기가 매우 어렵다.^{17,18)} 또한 이러한 방법을 사용한 환경측정 대행 및 자문기관들은 불가피하게 불완전한 환경평가를 할 수 밖에 없어 많은 문제와 논란을 일으켰다.

역학연구에서 어떤 방법으로 노출을 평가할 것인가를 결정하기 위해서는 먼저 연구하고자 하는 질병이나 증상의 특성(예를 들어 연구대상 질병이 급성인지 혹은 만성인지)을 중요하게 고려해야 한다. 또한 노출정도가 시간과 장소에 따라 어떻게 그리고 어느 정도 변화하는지, 그리고 사용가능한 연구비가 어느 정도인지 등도 중요하게 고려되어야 한다. 단기 공기시료를 채취·배양하여 노출을 평가하는 방법은 짧은 시간동안 채취한 공기시료라는 점과 이로 인해 시료수를 늘려야 하므로 비용이 많이 든다는 점 이외에도 나중에 언급하겠지만 여러 가지 단점을 지니고 있다. 따라서 최근 미국에서는 단기 공기시료를 배양하는 방법 혹은 단기 공기시료에서 세포수를 측정하여 노출을 예측하는 방법을 지양하고, 장시간 노출을 예측할 수 있는 방법들을 찾으려는 많은 시도들이 있어왔다. 이와 더불어 실내에서의 생물학적 인자에 대한 노출평가 및 건강장해 역학연구에서도 노출평가를 하는 방법에 대한 상당한 변화가 생기고 있다. 본 논문에서는 이런 방법들 중 중요한 몇 가지 방법들에 대해 고찰하고자 한다. 이를 위해서 어

떻게 시료채취를 할 것인가에 대한 문제 뿐만 아니라 시료에서 무엇을 어떻게 분석할 것인가에 대한 문제도 함께 논의하고자 한다.

앞에서 언급한 바와 같이 실내에서 생물학적 인자 노출은 주로 흡입에 의해서 이루어진다고 가정되므로¹⁹⁾ 공기시료를 채취하는 것이 가장 바람직하며, 만성질환 연구의 경우 장기간 노출을 평가하는 것이 좋은 방법이 될 것이다. 또한 연구의 계획단계에서 연구의 가설과 목적을 고려하여 개인시료를 취할 것인지 혹은 지역시료를 취할 것인지를 결정하여야 한다. 산업위생분야에서 일반적 노출평가방법으로 인정되는 개인 시료가 개별 노출치를 가장 근접하게 추정할 수 있는 방법이지만, 실내환경에서는 화이트칼라 근로자들에게 장시간(24시간-1주일) 펌프를 장착하여 개인시료를 채취하는 것은 쉽지 않다. 따라서 이에 대한 대안으로 지역시료를 채취하여 노출을 추정한다. 대표성있는 지역시료채취장소들을 선정한 후 24시간 혹은 며칠동안 시료를 채취할 수 있다. 시료채취시간은 시료에 채취된 생물학적 인자를 분석하게 될 분석방법의 민감도와 시료채취장소의 예측 농도를 감안하여 결정하여야 한다. 실내환경연구에서 예산, 장비, 연구보조인원 부족 및 소음에 대한 거주자의 불평 등으로 인해 공기시료를 채취하기 어려운 경우, 실내 바닥이나 근로자가 사용하는 의자의 표면에 침적된 먼지를 채취하여 분석할 수 있다. 2004년 미국 의학연구소 보고서에서는 실내에 침적된 먼지를 채취하여 분석하는 방법이 환경평가나 규모가 큰 역학연구의 노출평가에 매우 유용한 방법이 될 수 있다고 고찰하고 있다.¹⁹⁾ 실내에 침적된 생물학적 먼지는 공기중 미생물 인자가 상대적으로 긴 시간에 걸쳐 표면에 침적된 것으로, 침적되기 전에 공기중에 부유되어 있던 미생물 인자들을 나타내주는 지표가 될 수 있어 장기간 누적노출(time integrated exposure) 평가를 위한 좋은 시료가 될 수 있다.²⁰⁾ 따라서 침적먼지 분석은 실내에서 생물학적 인자 노출로 야기되는 만성질환을 연구하는 대규모 역학조사에서 장기간 노출을 평가하기 위한 매우 유용한 방법이 될 수 있다. 더우기 건물 거주자들의 실내활동과 청소부들의 청소 등 건물 내부에서 이루어지는 여러 가지 활동은 침적된 먼지를 다시 공기중으로 부유시켜 거주자들이 침적먼지에 직접 노출될 수도 있다.^{13,21,22)} 최근 수해를 입은 건물의 역학조사 연구결과에서도 건물의 바닥에 침적된 먼지를 포집하여 곰팡이나 미생물의 생체량을 분석함으로써, 먼지에 있는 배양 곰팡이 농도가 거주자가 보고한 의사진단 전식과 통계적으로 유의한 상관성이 있음을 증명하였다.²³⁾

시료를 채취한 이후 노출평가를 위해 시료에서 무엇을 분석할 것인가에 대한 결정 또한 앞서 언급했듯이 매우 중요하다. 장기간 공기시료를 채취하려는 경우에는 앞에서 논의한 것 처럼 배양배지위에 공기시료를 채취하여 포집된 곰팡이나 박테리아를 배양하는 방법이나 접착표면에 포자를 포집하는 방법들은 사용할 수 없다. 만일 장기간 공기를 채취한 필터를 추출한 후 희석액을 배지위에 배양한다면, 배양에 의한 장기시료채취는 가능할 수 있다. 그러나 필터를 이용하여 장기간 공기를 채취할 경우 포집된 포자들이 필터위에서 시료 채취기간동안 건조되어 배양성을 잃어버릴 가능성이 커짐으로 공기중에 있는 포자의 농도나 미생물 종류에 대한 대표적인 결과를 얻기가 힘들 수 있다.^{16,24)} 배양에 의한 방법은 채취된 시료에 있는 미생물군 중에서, 선정된 배지에서만 배양이 되는 곰팡이 또는 세균만 분석된다는 큰 단점이 있다. 따라서 이러한 단점을 극복하기 위해 채취된 공기시료나 침적된 먼지시료에서 미생물의 전체 생체량을 측정한다면 이는 미생물 인자에 대한 좋은 노출지표가 될 수 있다. 생체량 측정을 위한 지표로는 곰팡이나 박테리아 세포를 구성하는 세포벽 구성물질이 주로 사용된다. 따라서 이러한 생체지표들을 이용하여 미생물 인자의 노출을 평가할 경우, 측정치로 미생물이 죽어있는지 살아 있는지에 상관없이, 또한 미생물 인자가 번식가능한 포자인지 혹은 죽은 세포나 세포 조각인지에 대한 구분없이 시료에 존재하는 미생물의 전체 생체량에 대한 정보를 얻을 수 있다. 따라서 살아있는 미생물이나 죽은 미생물이나 혹은 손상되지 않은 포자나 세포조각이나 모두 다 특정 혹은 여러 가지 건강장해를 일으키는데 기여할 수 있다는 사실을 감안한다면,^{25,26)} 미생물의 생체량 측정은 노출평가에 있어서 큰 장점이 될 수 있다.

현재까지 곰팡이의 생체량 측정을 위해 실내오염 연구에서 주로 사용되고 있는 생체지표로는 (1→3)-β-D-glucan, Ergosterol 및 페니실린과 아스피질러스의 외벽 다당류(Extracellular polysaccharide)가 (Pen/Asp-EPS) 있다.^{25,27,28)} 이들은 모두 곰팡이세포의 세포벽을 이루는 성분들이다. 특히 (1→3)-β-D-glucan은 곰팡이에 노출되었을 때 (1→3)-β-D-glucan 자체가 호흡기의 기도에서 염증을 일으키는 유해인자 역할을 하므로 위의 세 가지 지표 중에서도 더 유용한 지표가 될 수 있다.²⁵⁾ 하지만 생물학적 실내환경오염 연구분야에서 생체량을 측정하여 노출을 평가하려는 시도는 최근에 들어서야 시작되었기 때문에, 현재까지도 (1→3)-β-D-glucan을 포함해 이들을 시료에서 효과적으로 추출하여 분석하는 방법에 대한 연구는 계속되고 있다.^{29,34)} (1→3)-β-D-

glucan 분석을 위해서는 LAL(*Limulus amoebocyte lysate*) assay 방법과^{29,35)} EIA(Enzyme immunoassays) 방법이 주로 사용된다.^{36,37)} Ergosterol은 세포의 벽을 구성하는 주요 스테롤로서, GS-MSMS(tandem GC-MS)를 사용하여 주로 분석한다.³²⁾ 하지만 ergosterol 자체가 (1→3)-β-D-glucan처럼 유해인자가 될 수 있는지는 현재 알려져 있지 않다. 최근 발표된 한 역학 연구는 건물의 바닥면지에 있는 Ergosterol 농도가 거주자간의 천식과 유의한 상관성이 있음을 보여줌으로써, Ergosterol 측정치가 곰팡이에 대한 노출을 평가하는 유용한 노출지표가 될 수 있음을 제시하였다.³⁸⁾ Pen-Asp EPS는 EIA에 의한 분석이 주로 사용된다.^{39,40)} 그러나 현재까지 EIA 방법을 이용한 (1→3)-β-D-glucan이나 Pen/Asp-EPS 분석에 필요한 항체는 상업적으로 구입할 수 없으므로, 직접 만들거나 혹은 이미 만들어진 항체를 보존하고 있는 기존의 연구자들로 부터 항체를 구하지 않는 한, EIA 방법을 사용하기는 쉽지 않다.

박테리아의 생체량 측정지표로는 엔도톡신(endotoxin), 3-OHFAs(3-Hydroxylated fatty acids), 그리고 muramic acid(peptidoglycan의 화학물질 지표)가 있다. 엔도톡신은 그람 음성균의 바깥쪽 세포막의 구성성분으로 박테리아 노출시 (1→3)-β-D-glucan처럼 자체가 호흡기 기도에서 염증을 일으킬 수 있다.^{3,41,42)} 엔도톡신은 앞서 언급한 *Limulus amoebocyte lysate* 방법을 사용해서 주로 분석한다.^{43,43-45)} *Limulus*는 참게(horseshoe crab)의 속명으로, 이들의 혈액세포에서 추출한 세포용해체(amoebocyte lysate)는 엔도톡신이나 (1→3)-β-D-glucan과 매우 민감하게 반응하는 물질을 함유하고 있어 엔도톡신 혹은 (1→3)-β-D-glucan을 분석하는데 사용된다. 3-OHFAs는 엔도톡신의 순수 정제 화학물질인 lipopolysaccharide(LPS) 화학구조의 Lipid A 부분에 붙어있는 지방산으로, 세번째 탄소에 수산기가(hydroxyl group) 붙어 있으며, 그람 음성균의 LPS에서만 특이하게 발견되는 화학물질이다. 따라서 3-OHFAs를 정량하여 시료중에 있는 그람 음성균의 생체량을 알 수 있다. Peptidoglycan은 모든 박테리아의 세포벽에 존재하는 세포막 물질로 그람 음성균의 세포벽(바깥쪽 세포막과 안쪽 세포막사이에 존재)에도 존재하나 주로 그람 양성균에 다량 존재한다. 따라서 peptidoglycan은 전체 박테리아의 생체량 측정을 위한 지표로 사용될 수 있다. Peptidoglycan을 시료에서 측정하기 위해서 이 물질의 화학적 지표인 muramic acids를 분석한다. Peptidoglycan 자체도 노출시, 호흡기 기도에서 염증을 유발할 가능성이 있는 물질로 알려져 있다. 3-OHFAs와 peptidoglycan은 모두 GC-MSMS방법으로

주로 분석한다.

생체량 분석은 공기시료나 침적면지시료 모두에서 가능하다. 공기시료를 채취하여 생체량을 분석할 경우에는 분석방법의 민감도를 고려하여 분석한계치보다 적은 양이 채취되지 않도록 장기간동안 공기를 포집하여야 한다. 따라서 공기시료는 실내에서 장기시료를 취해야 한다는 어려운 점과 더불어, 필터에서 분석 화학물질을 추출하는 것이 상대적으로 까다롭다는 단점이 있어, 주로 침적면지시료에서 미생물의 생체량을 측정한다. 침적면지시료는 장기간 폭로를 위한 좋은 지표라는 장점 이외에도 하나(포집된 일정량의 침적면지)의 시료로 여러 가지 생체량 혹은 다양한 분석들을 할 수 있다는 또 다른 장점을 갖고 있다.^{23,38)}

최근 미국에서는 시료에 들어있는 미량의 미생물 DNA를 증폭시켜 분석하는 폴리머라아제 연쇄반응(PCR: polymerase chain reaction) 분석법을 실내공기의 생물학적오염 연구분야에서 응용하기 시작하였다.^{46,47)} PCR방법을 사용하면 시료에 들어있는 아주 미량의 DNA로도 곰팡이의 종류까지 정성분석이 가능하고, 또 실시간 QPCR은(Real-time Quantitative PCR) 정량분석도 가능하다. PCR방법을 사용하기 위해서는 분석하기 전에 미리 어떤 미생물을(예를 들면, 곰팡이 종류 혹은 박테리아 종류) 분석할 것인지를 결정한 후, 그 미생물에만 특이하게 존재하는 특정 DNA 배열을 탐지할 수 있는 특정 primer를 사용해야 한다. 따라서 시료에서 미지의 곰팡이나 박테리아를 동정하고자 할 때는 적절하지 않다. 최근 미국의 환경청에서 MSQPCR(Mold specific QPCR) 방법을 이용하여 거주 건물에서 포집된 바닥면지에 존재하는 특정 곰팡이종(36개 곰팡이종-수해를 입은 거주건물에서 주로 발견되는 26개의 곰팡이 종류와 수해를 입지 않은 건물에서 주로 발견되는 10개의 곰팡이종)을 정량분석하여 주거환경이 어느 정도로 곰팡이에 오염이 되었는지를 나타내는 지표를(환경곰팡이오염 상대지표; ERMI: Environmental Relative Moldiness Index) 개발하였다.⁴⁸⁾ 현재 환경곰팡이오염 상대지표는 많은 찬·반 논란과 더불어 과학적 적합성에 대한 검증의 과정을 거치고 있으며, 이 상대지표가 역학조사에서 노출평가를 위한 유용한 지표가 될 수 있는지에 대한 연구도 진행되고 있다.

최근 들어 미국 및 캐나다에서는 mycotoxins에 대한 노출과 건강장해에 대한 관심이 높다. Mycotoxin은 곰팡이의 2차 대사산물이다. 그러나 모든 곰팡이가 mycotoxin을 만드는 것은 아니며, 모든 성장조건하에서 항상 Mycotoxin을 만들어내는 것은 더욱 아니다.

Mycotoxin은 곰팡이가 성장하기에 환경이 열악할 때, 예를 들어, 성장하는 환경에 곰팡이와 경쟁하는 다른 미생물이 존재하거나, 영양분이 부족한 환경조건에 처하게 되거나 하는 등일 때 종종 생성된다.^{13,49)} 현재까지 곰팡이에 오염된 음식을 먹음으로써 생기는 mycotoxin에 대한 노출과 그로 인한 건강장해는 많이 알려져 왔고, 또 연구되었다. Aflatoxin은 그 대표적인 예이다. 또한 실내환경에서 발견되는 *Aspergillus* 및 *Penicillium*을 포함한 여러 종류의 곰팡이들이 mycotoxin을 만드는 것으로 알려져 있다. Mycotoxin은 휘발성이 없거나 낮아서, 생성된 이후 공기중으로 직접 증발될 수는 없지만, mycotoxin을 만드는 곰팡이의 포자나 세포조각이 mycotoxin을 운반할 수 있다는 연구결과를 감안하면,⁵⁰⁾ 흡입에 의한 폭로도 가능할 수 있다. 또한 수해로 인해 곰팡이에 오염된 건물의 자재에서 mycotoxin을 만들어 내는 것으로 알려진 곰팡이를 분리 동정한 연구결과들이 많이 보고되었다. 특히 *Stachybotrys chartarum*은 수해를 입은 건물의 셀룰로스를 포함한 건물자재에서 발견되는 대표적인 곰팡이로 *Trichothecenes*군에 속하는 mycotoxin중에서 satratoxins을 분비하는 것으로 알려져 있다.⁵¹⁾ 따라서 수해로 인해 미생물에 오염된 건물에 (특히 곰팡이에 오염되었을 경우에) 거주한 적이 있거나 혹은 현재 거주하고 있는 거주자들에게서 흡입을 통한 mycotoxin에의 노출 가능성에 대한 관심이 커지고 있다. 아울러 실내 환경시료에서 mycotoxin을 분석하기 위한 분석방법에 대한 연구, 특히 GC-MSMS, 그리고 HPLC-MSMS 등을 사용하는 분석에 대한 연구가 점차적으로 진행되고 있다.³⁰⁾

미생물의 최종 대사산물 중의 하나가 휘발성 유기화합물(MVOC: Microbial Volatile Organic Compounds)이다. 미생물 기원이 아닌 일반 휘발성 유기화합물(VOC)에 노출되었을 경우에 여러 가지 건강장해가 생길 수 있는 것과 마찬가지로 MVOC에 노출되어도 같은 건강장해가 생길 수 있다. 곰팡이에 오염된 건물의 공기중에서 곰팡이 냄새가 나는 경우가 바로 이 MVOC의 냄새를 감지하는 것이다. 곰팡이가 건물내에서 활발하게 번식하고 있을 경우에 MVOC가 공기중으로 분출된다. 그러나 공기중의 농도가 매우 낮아 공기시료에서 MVOC를 분석하는 것은 쉽지 않다. 또한 실내환경에는 다른 VOC의 배출원이 많이 있으므로 이들도 같은 종류의 VOC를 분출한다면, MVOC와 건물자재에서 분출되는 VOC를 구분하기는 불가능하다. 현재 곰팡이에서 특이하게 분비된다고 여겨지는 10여종의 MVOCs가 알려져 있다.¹⁶⁾ MVOCs는 GC 혹은 GC-MS로 주로 분석한다.

4. 미생물 배양법의 장점 및 단점

공기시료를 배양하여 미생물 군체를 세거나, 바닥면지시료나 건물자재 벌크시료를 채취하여 미생물을 배양할 경우에는 보통 그 시료에 존재하는 미생물군의 약 5-10% 정도만 배양된다고 보고되고 있다.²⁴⁾ 시료에 존재하는 죽은 세포나 포자, 혹은 세포나 포자가 살아 있다고 하더라도 배양을 위해서 사용된 특정 배지에 배양이 되지 않는다면 이런 세포나 포자들은 배양법으로는 측정되지 않는다. 아울러, 앞에서 언급한 것처럼 미생물 인자의 노출에 의한 건강장해는 미생물이 살아있는지 혹은 죽었는지, 혹은 전체 세포인지, 세포 조각인지에 상관이 없다는 사실이다. 따라서 시료에 포집된 배양 가능한 미생물만을 분석할 경우, 역학연구의 노출 평가나 환경오염평가에서 과연 대표성있는 측정결과를 얻을 수 있는지에 대해 많은 부정적 의견들이 있었다.

만일 연구의 목적이 시료중에 살아있는 특정 감염성 곰팡이나 세균이 있는 지를 알아보고자 한다면 배양법은 좋은 분석방법이 될 것이다. 또한 시료중에 생존 가능한 곰팡이나 세균종류의 분포를 알고자 한다면 배양법은 유용한 방법이 될 수 있다. 최근의 연구보고서들에 의하면 건물의 바닥면을 이용한 곰팡이 종류의 분석(hydrophilic, mesophilic, or xerophilic fungi)은 건물이 현재 활발하게 수해를 입고 있는 건물인지 혹은 수분의 침투와 건조가 반복되는 건물인지, 혹은 수해를 입은 적이 없는 건조한 건물인지를 예측하기 위한 좋은 방법이 될 수 있다고 보고하였다.^{38,52,53)} 최근에 미국 산업위생학회에서 출판한 “환경시료에서 생물학적 오염물질의 측정을 위한 현장조사 지침서(Field Guide for the Determination of Biological Contaminants in Environmental Samples)”에서도 바닥면지시료에 있는 곰팡이의 종류를 분석하는 것은 건물의 수해를 가능하게 하는 유용한 수단이 될 수 있다고 보고하였다.⁵²⁾ 따라서 배양된 “미생물 군체의 수”만을 연구결과에 이용하기 위해 배양법을 사용하는 것은 무의미하지만, 채취한 환경시료중에 어떠한 종류의 곰팡이나 박테리아가 존재하는 지를 보고자하는 정성분석결과를 필요로 하는 연구에서는 유용하다고 볼 수 있다.

하지만 연구의 가설검정에서 배양에 의한 배양군체수 분석과 정성분석 결과가 특별히 요구되지 않는 한, 노출평가를 위해 시료에서 특히 공기시료에서 배양법으로 세포군체를 분석하는 방법은 현재 지양되고 있다. 특히 포자가 오염원으로 부터 실내 공기중으로 분출되는 것이 우발적인 혹은 산발적인 현상이라는 것과 이로 인해 공기중의 포자농도가 시간과 장소에 따라 매우 크게 변동할 수 있다는 사실은, 단지 몇개 안되는

단기 공기시료만으로는 정확한 노출평가를 할 수 없다는 것을 알려준다. 또한 배양법에 의한 분석은 분석자의 분석능력에 이주 의존적이어서 재현성이 매우 떨어진다. 단점이 있으며, 또한 포집된 시료에 있는 세포나 포자가 살아 있다고 하더라도 사용된 배지나 온도에 따라 매우 선택적으로 배양된다는 큰 단점이 있다. 앞에서 언급한 것처럼 죽은 세포나 포자 또는 세포나 포자의 조각들 또한 건강장해를 일으키는 인자들임에도 불구하고 배양법에 의한 노출평가에서는 이들이 감안되지 않는다는 점 등이 배양법에 의한 공기시료분석을 지양하는 요인들로 간주되고 있다.

5. 관찰에 의한 곰팡이 오염 혹은 건물습기(building dampness) 평가방법

만일 수해를 입은 건물조사 중에 시각적으로 곰팡이나 다른 미생물이 서식하고 있는 것이 확인된다면, 건물의 미생물 오염상태를 판단하고자 하는 환경연구에서 과연 공기시료나 다른 환경시료를 수집할 필요가 있을까? 곰팡이 서식이 시각적으로 확인된 건물에서 단기 공기시료를 채취하여 시료를 배양·분석한다고 하더라도 앞에서 논의된 여러 가지 배양법의 단점으로 인해, 공기시료에서 증가된 곰팡이 농도를 100% 확인할 수는 없다. 시료채취 장소 및 시간에 따라 시료수가 적은 경우에는 오염된 건물에서도 공기중 곰팡이 농도는 외기의 공기와 다를 바 없거나 혹은 낮은 농도가 나올 수도 있다. 최근 Park 등은 수해를 입은 대학교 건물에서 실시한 역학연구조사에서, 시각이나 후각을 이용하여 각각의 교실과 사무실에서의 곰팡이 오염 및 습기를 관찰하였다. 아울러 이 관찰치를 거주자들이 각각의 방에서 보낸 시간경도와 연관시켜, 대학교건물에 거주하는 교직원들의 곰팡이 또는 과다 습기에 대한 반정량적 노출지수를 개발하여, 이 지수를 역학연구 분석에 이용하였다.¹⁸⁾ 이 연구에서 연구자들은 반정량적 노출지수가 높은 교직원들 중에 호흡계질환 증상을 호소하는 비율이 통계적으로 유의하게 높다는 사실을 증명하였다. 또한 반정량적 노출지수를 이용해 노출과 건강장해간에 노출양-반응관계도 있음을 보고하였다. 이는 관찰법에 의한 노출평가방법의 유용성을 증명해주는 연구로, 규모가 커서 환경시료를 채취하여 분석하는 정량적 노출평가가 매우 어려울 경우에 시료채취없이 노출을 평가할 수 있는 좋은 방법이 될 수 있음을 보여준다. 이보다 훨씬 간단한 관찰법을 이용한 다른 많은 역학연구조사에서도, 이러한 관찰에 의한 노출평가방법이 유용하다고 보고하고 있다.⁵⁴⁻⁵⁶⁾ 관찰에 의한 평가 항목들로 '수해를 입은 적이 있는지의 여부', '시각적으로

볼 수 있는 곰팡이 서식', '누수와 관련된 얼룩의 정도', '곰팡이 냄새', '습한 건물 자체의 존재' 등이 주로 많이 사용된다. 따라서 건물이 곰팡이나 다른 미생물 인자들에 오염되었는지를 평가하는 조사에서 이러한 점들이 관찰될 경우에는 굳이 환경시료를 채취하지 않고도 건물의 수해나 미생물에 의한 오염을 판단할 수 있다. 또한 발견 즉시 건물의 누수를 찾아 고치고 개수하게 된다면, 미생물 인자에 의한 노출에 의한 거주자들의 건강장해를 미리 예방할 수 있을 것이다.

6. 생물학적 오염과 관련된 노출기준 및 지침

앞에서 논의한 것처럼, 생물학적 인자의 노출평가방법들에 대한 연구결과들이 아직까지는 표준화된 방법을 정립하여 추천할 수 있을 정도에는 이르지 못하고 있다. 이로 인해 생물학적 인자에 노출되었을 때 어떠한 건강장해들이 발생하는지에 대한 역학연구도 많이 제약받고 있다. 따라서 건강장해에 근거한 노출기준을 제정하는 것은 현재로서는 매우 어렵다. 현재까지 미국이나 캐나다에는 곰팡이나 미생물 인자 노출로 인해 발생하는 건강장해에 근거한 노출기준은 아직 제정되어 있지 않다. 최근 2003년에 미국 루이지애나주에서 곰팡이로 오염된 건물을 개수하는 업체와 관련된 규제 및 자격증에 대한 법이, 2004년 텍사스주에서 곰팡이 오염평가와 오염된 건물의 개수에 관한 자격증 및 최소 작업기준 등에 대한 법이 통과되었다. 이를 제외하고는 미국이나 캐나다의 연방정부 뿐만 아니라, 어떤 주정부 혹은 지방정부에도 곰팡이 오염 및 노출평가를 위한 규제 또는 노출기준은 없는 실정이다.⁵⁹⁾ 따라서 현재 미국에서는 산업안전보건청의 (OSHA) "General Duty Clause and Hazard Communication Standard"를 발동하여 비산업 작업환경에서 발생하는 실내 곰팡이나 미생물 오염문제를 규제하는 정도에 그치고 있다.

지난 20년간 ACGIH를 비롯한 몇몇 기관에서 곰팡이에 오염된 건물을 개수하는 작업을 하는 근로자들을 보호하기 위한 자발적 지침들을 제시하였으나 이러한 지침서들 역시 건물거주자의 노출을 줄이기 위한 표준 노출평가방법이나 노출기준은 구체적으로 제시하지 않고 있다. 하지만 건물이 누수로 인해 수해를 입었을 경우 철저한 시각적 관찰을 통해 건물을 평가하는 것이 무엇보다도 중요하다고 공통적으로 지적하고 있다. 앞에서 언급한 것처럼 만일 실내에서 건물 자체에 곰팡이가 자라고 있는 것이 시각적으로 관찰되면 환경시료를 채취할 필요없이 즉시 곰팡이를 제거하고 누수의 원인을 찾아 건물을 개수하여야 한다. 수해를 입은 건물에서 곰팡이 증식이 가시적으로 드러나지 않을 경우에는

건물벽 공간의 보이지 않는 곳에서 서식하는 곰팡이가 있는 지에 대한 가능성을 찾아내기 위해, 누수의 가능성이 있는 건물내벽에 구멍을 뚫어 보이지 않는 건물 벽공간을 확대경(boroscope)을 통해 보는 방법이 필요할 수도 있다고 보고하였다.⁵⁹⁾ 현재까지 자발적 지침서들을 제시한 기관들로는 American Conference of Governmental Industrial Hygienists; American Industrial Hygiene Association; Canadian Construction Association; Health Canada; Institute of Inspection, Cleaning and Restoration Certification; Institute of Medicine, National Academies of Science; International Society of Indoor Air Quality and Climate; National Clearinghouse for Worker Safety and Health Training; New York City Department of Health; U.S. Environmental Protection Agency; U.S. Occupational Safety and Health Administration 등이 있다.

III. 결 론

본 논문에서는 수해로 인해 미생물에 오염된 실내환경에 거주하는 거주자들이 생물학적 인자에 노출되었을 때, 활용할 수 있는 노출평가 방법들에 대한 소개와 이들의 장·단점을 고찰하고 토의하였다. 하지만 앞에서 토의한 대부분의 방법들이 최근에 개발되었고, 아직도 많은 부분이 연구단계에 있으므로 어떠한 방법이 노출평가에 가장 적합한 지에 대한 연구결과는 많이 부족한 형편이다. 따라서 정량적 노출평가에 대한 표준화된 방법이 없는 현 상황에서, 어떠한 생물학적 인자의 노출이 어떠한 구체적인 건강장해를 일으키는 지를 밝혀내는 것은 매우 어렵다. 더우기 표준화된 노출평가방법이 아직 개발되지 않아 생물학적 인자와 건강장해간의 노출양-반응관계를 밝혀내는 것이 어려우며, 이러한 역학연구결과의 부재는 건강장해에 근거를 둔 노출기준을 마련하지 못하는 결정적인 원인으로 작용하고 있다. 특히 현재까지 가장 보편적으로 사용되어 왔던 단기 공기시료로 미생물을 배양하여 세포균을 세는 분석방법은 건강장해를 일으킬 것으로 예측되는 다양한 생물학적 인자들(allergens, endotoxin 그리고 mycotoxin, glucan, peptidoglycan, 미생물에서 분출되는 휘발성 유기화합물 등)과의 상관성이 매우 변동적이고 불확실하므로 새로운 정량적 노출평가방법에 대한 연구가 시급히 요구되고 있는 실정이다. 2004년에 미국의학연구소에서 발행한 보고서에서도 생물학적 오염물질에 대한 정량적 노출평가방법의 개발 및 방법의 표준화에 대한 연구는 가장 높은 우선순위를 갖고 있다고 보고하고 있

다.¹⁹⁾ 아울러 배양에 의존하지 않는 분석방법과 미생물의 세포벽성분 분석에 근거를 둔 생체량측정법에 대한 보다 많은 연구를 장려하고 있다.

감사의 글

본 논문을 감수해 주신 미국 직업안전보건연구원의 조속자 박사께 감사드립니다.

Disclaimer

본 논문의 내용은 미국 직업안전보건연구원의 견해가 아닌 저자 본인의 개인적 견해를 밝힌다.

참고문헌

- Hinds, W. C. : *Aerosol Technology*. New York: John Wiley & Sons, 1-14, 1999.
- Macher, J. M. : In: Macher, J. M., ed. *Bioaerosols: Assessment and Control*. Cincinnati: American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 7-17-9, 1999.
- Park, J.-H., Gold, D. R., Spiegelman, D. L., Burge, H. A., Milton, D. K. : House dust endotoxin and wheeze in the first year of life. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **163**, 322-328, 2001.
- Institute of Medicine of the National Academies of Science. *Exposure Assessment. Damp indoor spaces and health*. Washington D.C.: National Academies Press, 90-124, 2004.
- Institute of Medicine of the National Academies of Science. *Human health effects associated with damp indoor environments. Damp indoor spaces and health*. Washington D.C.: National Academies Press; 183-269, 2004.
- Lee, T., Grinshpun, S. A., Martuzevicius, D., Adhikari, A., Crawford, C. M., Luo, J., Reponen, T. : Relationship between indoor and outdoor bio-aerosols collected with a button inhalable aerosol sampler in urban homes. *Indoor Air*, **16**, 37-47, 2006.
- Shelton, B. G., Kirkland, K. H., Flanders, W. D., Morris, G. K. : Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**, 1743-1753, 2002.
- Harriman, L. G., Lstiburek, J. W. : *The ASHRAE Guide for Buildings in Hot and Humid Climates*. Atlanta: American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers, Inc., 2009.
- U.S. Census Bureau. *Current Housing Reports, Series H150/01*. 2002. U.S. Government Printing Office, 2001.

10. U.S. General Accounting Office. Major Management Challenges and Program Risks. U.S. Department of Energy, 2003.
11. U.S. Department of Education. National Center for Education Statistics. Washington D.C.: Office of Educational Research and Improvement, 1999.
12. U.S. General Accounting Office. School Facilities: Condition of America's Schools. Washington, D.C.: U.S. General Accounting Office, 1995.
13. Institute of Medicine of the National Academies of Science. Damp Buildings. *Damp indoor spaces and health*. Washington D.C.: National Academies Press, 29-89, 2004.
14. Mendell, M. J., Cozen, M. : Building-related symptoms among U.S. office workers and risk factors for moisture and contamination: Preliminary analyses of U.S. EPA BASE data. Berkeley, CA: Lawrence Berkeley National Laboratory, 1-13, 2002.
15. Bureau of the Census. Biannual American Housing Survey for the United States. Washington, D.C.: U.S. Department of Commerce, 2008.
16. Prezant, B., Weekes, D. M., Miller, J. D. : Sampling Methods. In: Prezant B, Weekes DM, Miller JD, eds. *Recognition, Evaluation, and Control of Indoor Mold*. Fairfax: American Industrial Hygiene Association, 139-151, 2008.
17. Sahakian, N. M., Park, J.-H., Cox-Ganser, J. M. : Dampness and mold in the indoor environment: implications for asthma. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, **28**, 485-505, 2008.
18. Park, J.-H., Schleiff, P. L., Attfield, M. D., Cox-Ganser, J. M., Kreiss, K. : Building-related respiratory symptoms can be predicted with semi-quantitative indices of exposure to dampness and mold. *Indoor Air*, **14**, 425-433, 2004.
19. Institute of Medicine of the National Academies of Science. Exposure Assessment. *Damp indoor spaces and health*. Washington D.C.: National Academies Press, 90-124, 2004.
20. Chew, G. L., Rogers, C., Burge, H. A., Muilenberg, M., Gold, D. R. : Dustborne and airborne fungal propagules represent a different spectrum of fungi with differing relations to home characteristics. *Allergy*, **58**, 13-20, 2003.
21. Buttner, M. P., Stetzenbach, L. D. : Monitoring airborne fungal spores in an experimental indoor environment to evaluate sampling methods and the effects of human activity on air sampling [published erratum appears in *Appl Environ Microbiol* 1993 May, 59(5): 1694]. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**, 219-226, 1993.
22. Thatcher, T. L., Layton, D. W. : Deposition, resuspension, and penetration of particles within a residence. *Atmospheric Environment*, **29**, 1487-1497, 1995.
23. Park, J.-H., Cox-Ganser, J. M., Rao, C. Y., Kreiss, K. : Fungal and endotoxin measurements in dust associated with respiratory symptoms in a water-damaged office building. *Indoor Air*, **16**, 192-203, 2006.
24. Hung, L.-L., Miller, J. D., Dillon, H. K. : Planning and Conducting a Survey. In: Hung, L.-L., Miller, J. D., Dillon, H. K., eds. *Field Guide for the Determination of Biological Contaminants in Environmental Samples*. Fairfax: American Industrial Hygiene Association, 47-91, 2005.
25. Douwes, J., Thorne, P., Pearce, N., Heederik, D. : Bioaerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects. *The Annals of Occupational Hygiene*, **47**, 187-200, 2003.
26. Douwes, J. : (1→3)- β -D-glucans and respiratory health: a review of the scientific evidence. *Indoor Air*, **15**, 160-169, 2005.
27. Miller, J. D. : Mycological investigations of indoor environments. In: Flannigan, B., Samson, R. A., Miller, J. D., eds. *Microorganisms in Home and Indoor Work Environments: Diversity, Health Impacts, Investigation and Control*. London and New York: Taylor and Francis, 231-246, 2001.
28. Miller, J. D., Young, J. C. : The use of ergosterol to measure exposure to fungal propagules in indoor air. *American Industrial Hygiene Association Journal*, **58**, 39-43, 1997.
29. Foto, M., Plett, J., Berghout, J., Miller, J. D. : Modification of the *Limulus* amoebocyte lysate assay for the analysis of glucan in indoor environments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **379**, 156-162, 2004.
30. Larsson, L. : Use of mass spectrometry for determining microbial toxins in indoor environments. *Journal of Environmental Monitoring*, **10**, 301-304, 2008.
31. Saraf, A., Larsson, L. : Use of gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry for the determination of chemical markers of microorganisms in organic dust. *Journal of Mass Spectrometry*, **31**, 389-396, 1996.
32. Saraf, A., Larsson, L., Burge, H., Milton, D. : Quantification of ergosterol and 3-hydroxy fatty acids in settled house dust by gas chromatography-mass spectrometry: Comparison with fungal culture and determination of endotoxin by a *Limulus* amoebocyte lysate assay. *Applied and Environmental Microbiology*, **63**, 2554-2559, 1997.
33. Saraf, A., Park, J. H., Milton, D. K., Larsson, L. : Use of quadrupole GC-MS and ion-trap GC-MSMS for determining 3-hydroxy fatty acids in settled house dust: Relation to endotoxin activity. *Journal of Environmental Monitoring*, **2**, 163-168, 1999.
34. Sebastian, A., Harley, W., Fox, A., Larsson, L. : Evaluation of the methyl ester O-methyl acetate derivative of muramic acid for the determination of peptidoglycan in environmental samples by ion-trap GC-MS-MS. *Journal of Environmental Monitoring*, **6**, 300-304, 2004.
35. Thorn, J., Rylander, R. : Airways inflammation and glucan in a rowhouse area. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **157**, 1798-1803,

- 1998.
36. Douwes, J., Doekes, G., Montijn, R., Heederik, D., Brunekreef, B. : Measurement of beta(1→3)-glucans in occupational and home environments with an inhibition enzyme immunoassay. *Applied and Environmental Microbiology*, **62**, 3176-3182, 1996.
 37. Milton, D. K., Alwis, K. U., Fiset, L., Muilenberg, M. : Enzyme-linked immunosorbent assay specific for (1→6) branched, (1→3)-β-D-glucan detection in environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology*, **67**, 5420-5424, 2001.
 38. Park, J. H., Cox-Ganser, J. M., Kreiss, K., White, S. K., Rao, C. Y. : Hydrophilic fungi and ergosterol associated with respiratory illness in a water-damaged building. *Environmental Health Perspectives*, **116**, 45-50, 2008.
 39. Chew, G. L., Douwes, J., Doekes, G., Higgins, K. M., van Strien, R., Spithoven, J., Brunekreef, B. : Fungal extracellular polysaccharides, beta (1→3)-glucans and culturable fungi in repeated sampling of house dust. *Indoor Air*, **11**, 171-178, 2001.
 40. Douwes, J., van der Sluis, B., Doekes, G., Van Leusden, F., Wijnands, L., van Strien, R., Verhoeff, A., Brunekreef, B. : Fungal extracellular polysaccharides in house dust as a marker for exposure to fungi: Relations with culturable fungi, reported home dampness, and respiratory symptoms. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **103**, 494-500, 1999.
 41. Douwes, J., Zuidhof, A., Doekes, G., van der Zee, S., Wouters, I., Boezen, H. M., Brunekreef, B. : (1→3)-β-D-glucan and endotoxin in house dust and peak flow variability in children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **162**, 1348-1354, 2000.
 42. Michel, O., Kips, J., Duchateau, J., Vertongen, F., Robert, L., Collet, H., Pauwels, R., Sergysels, R. : Severity of asthma is related to endotoxin in house dust. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **154**, 1641-1646, 1996.
 43. Milton, D. K., Johnson, D. K., Park, J. H. : Environmental endotoxin measurement: interference and sources of variation in the Limulus assay of house dust. *American Industrial Hygiene Association Journal*, **58**, 861-867, 1997.
 44. Bang, F. B. : A bacterial disease of *Limulus polyphemus*. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital*, **98**, 325-350, 1956.
 45. Milton, D. K., Gere, R. J., Feldman, H. A., Greaves, I. A. : Endotoxin Measurement: Aerosol sampling and application of a new Limulus method. *American Industrial Hygiene Association Journal*, **51**, 331-337, 1990.
 46. Alvarez, A. J., Buttner, M. P., Toranzos, G. A., Dvorsky, E. A., Toro, A., Heikes, T. B., Mertikas-Pifer, L. E., Stetzenbach, L. D. : Use of solid-phase PCR for enhanced detection of airborne microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, **60**, 374-376, 1994.
 47. Haugland, R. A., Heckman, J. L., Wymer, L. J. : Evaluation of different methods for the extraction of DNA from fungal conidia by quantitative competitive PCR analysis. *Journal of Microbiological Methods*, **37**, 165-176, 1999.
 48. Vesper, S., McKinstry, C., Haugland, R., Wymer, L., Bradham, K., Ashley, P., Cox, D., Dewalt, G., Friedman, W. : Development of an environmental relative moldiness index for US homes. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, **49**, 829-833, 2007.
 49. Demain, A. L. : Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **52**, 455-463, 1999.
 50. Sorenson, W. G., Frazer, D. G., Jarvis, B. B., Simpson, J., Robinson, V. A. : Trichothecene mycotoxins in aerosolized conidia of *Stachybotrys atra*. *Applied and Environmental Microbiology*, **53**, 1370-1375, 1987.
 51. Fung, F., Clark, R. F. : Health Effects of Mycotoxins: A Toxicological Overview. *Journal of Toxicology-Clinical Toxicology*, **42**, 217-234, 2004.
 52. Hung, L.-L., Miller, J. D., Dillon, H. K. : Ecology of Fungi Found in Building Environments. In: Hung, L.-L., Miller, J. D., Dillon, H. K., eds. *Field Guide for the Determination of Biological Contaminants in Environmental Samples*. Fairfax, VA: American Industrial Hygiene Association, 29-38, 2005.
 53. Horner, W. E. : Air- and dustborne mycoflora in houses free of water damage and fungal growth. *Applied and Environmental Microbiology*, **70**, 6394-6400, 2004.
 54. Andriessen, J. W., Brunekreef, B., Roemer, W. : Home dampness and respiratory health status in European children. *Clinical and Experimental Allergy*, **28**, 1191-1200, 1998.
 55. Brunekreef, B. : Damp housing and adult respiratory symptoms. *Allergy*, **47**, 498-502, 1992.
 56. Dales, R. E., Zwanenburg, H., Burnett, R., Franklin, C. A. : Respiratory health effects of home dampness and molds among Canadian children. *American Journal of Epidemiology*, **134**, 196-203, 1991.
 57. Dales, R. E., Burnett, R., Zwanenburg, H. : Adverse health effects among adults exposed to home dampness and molds. *American Review of Respiratory Disease*, **143**, 505-509, 1991.
 58. Jaakkola, M. S., Nordman, H., Piipari, R., Uitti, J., Laitinen, J., Karjalainen, A., Hahtola, P., Jaakkola, J. J. : Indoor dampness and molds and development of adult-onset asthma: A population-based incident case-control study. *Environmental Health Perspectives*, **110**, 543-547, 2002.
 59. Kolb, L., McNeel, S. V. : Guidance for Assessment and Remediation of Indoor Microbial Growth. In: Prezant, B., Weekes, D. M., Miller, J. D., eds. *Recognition, Evaluation, and Control of Indoor Mold*. Fairfax: American Industrial Hygiene Association; 21-36, 2008.