

## 4A2) 중앙집중식 냉방시설의 냉각탑수중 레지오넬라균과 실내외 미생물 분포에 관한 연구

### Indoor and Outdoor Distribution of Legionella spp and Microbes on Cooling Towers Water of Central Air Conditioning Facilities

박선재, 이철민<sup>1)</sup>, 김윤신<sup>1)</sup>, 선우 영

진국대학교 환경공학과, <sup>1)</sup>한양대학교 환경 및 산업의학연구소

#### 1. 서론

실내공기오염을 일으키는 오염물질은 SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>, 흡연, 먼지 등 여러 종류가 있고, 이것들에 대한 연구는 계속 연구가 진행되고 있으나, 호흡기성 감염을 일으키는 레지오넬라균(Legionella spp), 세균(Bacteria), 진균(Fungus) 등에 대해 실내공기오염 측면에서 다른 연구는 찾아보기 어려운 실정이다.

이러한 호흡기성 감염을 일으키는 공기중의 미생물 중 레지오넬라균이 처음 실내공기에서 대두된 것은 1976년 미국 펜실바니아주의 한 호텔에서 개최된 미국 재향군인회 총회에서 집단폐렴증상이 나타난 221명 환자중 34명(15%)이 사망한 사건으로 관심을 가지게 되었으며(Fraser, 1980), McDade 등이 이것의 원인균을 분리해내고(McDade, 1977), Brenner 등이 처음으로 이를 Legionella pneumophila라고 명명하였다(Winn, 1988). 후에 이 질병을 재향군인병, 레지오넬라증(Legionnaires' Disease)이라고 부르기 시작하였다.

미국은 물론 세계 각국에서 다수의 산발적인 레지오넬라증의 집단발생 예가 보고되어 이들 국가들은 이 질환을 예방하기 위한 지침을 발표하였으며, 세계보건기구(WHO)는 1989년 11월 제네바 본부에서 세계 레지오넬라 회의를 열어 레지오넬라증의 역학과 예방대책에 대하여 협의하고 공표하였다.

우리나라도 공공건물 및 대형건물에 중앙집중식 냉방시설이 보급화 되면서 레지오넬라균의 감염원이 될 수 있는 냉각탑이 급속히 늘어 Legionella 중이 발생할 가능성이 증대 되고 있는 실정이다. 이에 본 연구에서는 중앙집중식 냉방시설의 냉각탑수에서 레지오넬라균의 분포특성과 영향인자(pH, 온도, 탁도) 및 미생물(Bacteria, Fungus, Caliform, 기타 호흡기질환 미생물)과의 관련성과 실내·외 공기중의 레지오넬라균 및 미생물의 분포 특성을 제시함으로써 향후 지하생활공간공기질관리법 규제항목에 레지오넬라균 및 미생물을 한 항목으로 설정하는데 기초자료를 제공하고자 한다.

#### 2. 연구대상 및 방법

##### 1) 연구대상

본 연구는 크게 중앙 집중식 냉방시설의 냉각탑수 중 1단계 연구로 레지오넬라균과 영향인자 및 호흡기 감염을 일으키는 미생물의 분포특성 실험과 2단계 연구로 실내외 공기질 중 레지오넬라균 및 호흡기 감염 미생물의 분포 및 상관성을 조사하기 위한 실험을 실시하였다. 1단계 연구는 2001년 6월부터 9월 까지 서울 및 경기도내 중앙집중식 냉방시설을 갖춘 호텔, 사무실, 병원, 백화점, 지하철, 대형할인점, 132곳을 대상으로 냉방기 가동시에 평균 채수병에 냉각탑수를 채취하여 검액으로 사용하였으며, 2단계 연구는 1단계 연구에서 레지오넬라균이 검출된 중앙집중식 냉방시설의 실내외 10곳을 선정하여 공기오염측정기(Air Sampler MAS 100(Cat No. 109090.0001, MERK, Germany)를 이용하여 시료를 포집하였다. 이때, 실내 시료 포집위치는 냉방기를 가동하고 있는 시간대에 10인 이상 거주자가 모여 있는 장소로 선정하였으며, 실외 시료 포집위치는 냉각탑 주변을 10곳으로 분할하여 각 분할구역의 중앙지점을 선정하였다.

## 2) 연구방법

### ① 예비동정실험 검사과정

*Legionella* 균의 예비동정실험 검사는 냉각탑수 1ℓ를 양압여과기(Advantec.co. Nippon)를 이용해 여과지(0.45μm)에 통과시켜 균을 모은 후 여과지를 잘게 잘라 생리식염수 20ml에 부유시킨다. 레지오넬라균의 배양을 위해 50℃에서 30분간 열처리를 한후 L-cystein, soluble ferric(Fe<sup>3+</sup>) pyrophosphate가 포함된BCYEa배지(buffered charcol yeast extract α-ketoglutarate) 또는 이 배지에서 항균제(polymyxin, cyclohexamide, vancomycin) 및 glycine 또는 항진균제(anisomycin)를 첨가한 선별배지(GVPC)에 접종하였다. 접종한 배지는 습도가 유지되고 2.5~5.0% CO<sub>2</sub>가 주입되는 35℃ 배양기에서 3~7일간 배양하였다. *Bacteria* 실험은 검수 1ml를 10배~10<sup>5</sup>배 희석하여 Plate Count Agar (Difco)배지를 부은후 35℃에서 48 hr 배양후 균수를 센다. *Fungus*실험은 Sabouraud dextrose agar(Difco)에 검수 1ml를 10배~10<sup>5</sup>배 희석하여 접종후 22℃에서 5~7일 배양한 후 균수를 센다. *Staphylococcus aureus*실험은 Tryptic Soy broth(10% NaCl첨가) 90ml에 검수10ml를 35℃에서 24hr 증균시킨후 증균된균을 Mannitol Salt Agar (Difco)에 접종후 35℃에서 24hr 동안 배양시킨다. *Coliform*은 검수 1ml를 10배~10<sup>5</sup>배 희석하여 Desoxycholate agar (Difco)를 부은후 35℃에서 24 hr 배양후 균수를 센다. *Pseudomonas aeruginosa* 실험은 아스파라진(Difco)배지 90ml에 검수10ml를 35℃에서 24hr 배양후 자외선램프(365nm)를 이용해 녹색형광을 띠는지 유무로 녹농균을 판정한다. 이 방법은 먹는물수질공정시험법(2000.7.1개정) 및 식품공전(식품의약품안전청, 2000)에 의해 실험되었다.

### ② 생화학검사 및 혈청학적 동정검사 과정

*Legionella*균 검사는 BCYE agar에 접종된 집락을 그람 염색하여 Gram Negative bacillus를 dissecting microscope로 관찰하여 'cut-glass' 모양의 회백색 집락을 선택하여 혈액배지나 cystein이 없는 BCYEa배지에서 증식하지 않는 균주를 대상으로 동정실험을 하였다.

Catalase test, Nitrate test, Hippurate hydrolysis, Urease test, Oxidase test, Indole test등과 혈청형의 동정을 위하여 순수분리 배양된 *L.pneumophila* 균주를 Serotyping kit (Seiken, Japen) 와 Legionella latex test kit (Oxoid, UK) 을 이용하여 혈청형을 동정하였다.

*Staphylococcus aureus*는 Mannitol Salt Agar에서 크고 뚜렷한 노란색집락이 발생시 그람염색과 API STAPH (Biomerius,France)및 생화학 실험을 수행하였다. *Pseudomonas aeruginosa* 는 녹색형광발생 시에는 아세트아미드 한천배지에 이식하여 35℃ 24hr배양하여 적자색으로 변할 경우 그람염색과 API 20 NE(Biomerius, France) 및 생화학 실험을 실시한다.

### ③ Air Sampler를 이용한 레지오넬라균 포집검사

Air sampler MAS 100(Merk, Germany)를 이용해 분당 100ℓ를 포집해 채취된 배지 GVPC, BCYEa, Plate Count agar, Sabouraud dextrose agar, Desoxycholate agar는 1단계와 동일하게 배양온도, 습도, 배양기의 CO<sub>2</sub>농도, 배양시간을 설정하였다. 세균동정 단계도 1단계와 동일하게 실시하였다.

## 3. 결과 및 고찰

1단계 연구로 2001년 6월부터 9월까지 중앙집중식 냉방시설을 갖춘 호텔, 사무실, 병원, 백화점, 지하철, 대형할인점의 냉방기 가동시기에 냉각탑수에 대한 레지오넬라균을 조사하기 위해 냉각탑수 132곳을 대상으로 균배양 및 동정을 실시한 결과 10곳(7.6%)에서 레지오넬라균이 검출되었다. 레지오넬라균의 월별 분리율 및 혈청형분포는 표 1과 같이 7월은 76건중 9건(12%)으로 가장 높게 검출되었고, 8월은 24건중 1건(4%)이 검출되었으며, 6월과 9월에 각각의 19건과 13건에 실시한 검사에서는 모두 검출되지 않았다.

조사 대상 시설물별 즉, 호텔, 사무실, 병원, 백화점, 지하철, 대형할인점의 냉각탑수의 레지오넬라균 검출 횟수를 살펴보면 표 2와 같이 백화점이 11건 중 3건이 검출되어 27.3%로 가장 높게 검출되었고, 병원이 22건 중 2건(9.0%), 사무실이 68건 중 4건(5.9%), 대형할인점이 20건 중 1건(5.0%)이 검출되었고, 그 외 호텔 8건, 지하철 3건은 모두 검출되지 않았다.

Table 1. Distribution of *L. pneumophila* in Cooling Towers Water by Months

Sampling period	Number of samples	Positive for <i>L.pneumophila</i> (%)	Number of samples yielding <i>L.pneumophila</i> serogroup		
			1	4	6
June	19	(0)			
July	76	9 (12)	8	1	
August	24	1 (4)	1		
September	13	(0)			
Total	132	10 (7.6)	9	1	

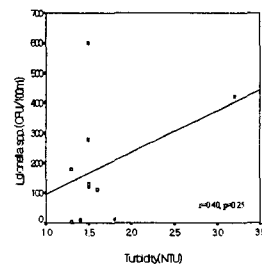
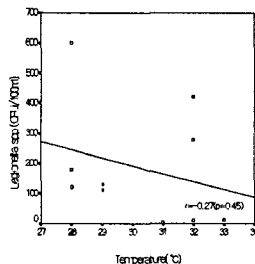
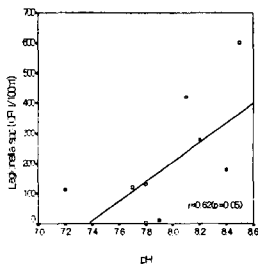
Table 2. Distribution of *L. pneumophila* in Water of Cooling Towers by Central Air Conditioning Facilities

Cooling Tower	No. of Samples	Number of positive for <i>L. pneumophila</i>	Distribution of Positive for <i>L. pneumophila</i> (CFU/100ml)				
			100 ~ 200	201 ~ 300	301 ~ 400	401 ~ 500	501 ~ 600
Hotel	8						
Office	68	4	1	1		1	1
Hospital	22	2	2				
Department Store	11	3	3				
Subway	3						
Big Mart	20	1	1				
Total	132	10	7	1	-	1	1

냉각탑수내의 레지오넬라균의 영향인자로 여겨지는 pH, 온도 및 탁도 분포에 따른 레지오넬라균의 검출건수는 Table 3와 같으며, 이들 영향인자와 검출된 레지오넬라균과의 상관정도로는 그림 1과 같다.

Table 3. Relationship between Effect Factor(pH, Temperature, Turbidity) and Viable Counts of *Legionella pneumophila* in Water Samples from 132 Cooling Towers Water

Effect factor	Range	Number of total cooling towers water	Number of <i>L. pneumophila</i>
pH	>7.0	2	-
	7.0~8.0	106	6 (5.7%)
	<8.0	24	4 (16.7%)
Temperature (°C)	<25	13	-
	25~30	60	5 (8.3%)
	>30	59	5 (8.5%)
Turbidity (NTU)	<1	13	-
	1~2	102	9 (8.8%)
	>2	17	1 (5.9%)



참고 문헌

Fraser, D. W., Legionnaires' disease: four summer's harvest. Am. J. Med. 68, 1-2, 1980.  
 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.