

대기중의 미생물의 검출과 측정 방법

안 태석

강원대학교 환경과학과 교수

1. 머리말

1976년 7월 21일부터 24일까지 미국 필라델피아에 있는 한 호텔에서 미국 재향군인회 펜실바니아 지부 대회가 열려 4,400명에 달하는 재향군인(Legion)과 그 가족이 회의와 행진 등 다양한 행사를 가졌다. 이 대회은 후에 레지오넬라증(Legionellosis)이라는 유명한 질병을 알리게 된 계기가 되었다. 이 대회에 참가한 재향군인중 149명이 7월 22일부터 8월 3일 사이에 고열, 기침과 같은 폐렴 증상 때문에 병원을 찾았다. 방역 당국에서 이 질병의 심각성을 알게된 것은 8월 2일이였으며, 질환을 앓고 있는 사람들이 대부분 재향군인들이여서 언론에서는 재향군인의 병(Legionnaire's disease)이라고 보도하였다. 미 연방정부내의 질병통제센터(Center for Disease Control, CDC)에서는 이 질병에 대한 역학조사를 즉시 실시하였다. 조사결과 또 다른 72명이 이 증세를 앓고 있었으며, 이들은 회합이 열렸던 그 호텔에 있었거나, 인근에 있었던 사람들로 밝혀졌다. 모두 221명

이 이 질환을 앓았고, 이중 34명이 폐렴증세로 사망하였다(Fraser and McDade, 1979).

이 질병의 특징은 노인들이 젊은이보다 발병율이 높았고, 남자가 여자보다 3배 이상 감염율이 높았다. 그리고 호텔에 머문시간이 길었던 사람들, 특히 밤새 머물렀던 사람들이 발병율이 높았다. 또, 이들이 가정으로 돌아가서는 다른 가족에게 병을 옮기지 않아, 다행히도 전염성은 없는 것으로 확인되었다. 이 질병의 원인균을 찾기 위하여 음식물, 물, 얼음 등 호텔에서 제공된 모든 것에 대하여 조사하였으나, 발병자들이 공통적으로 섭취한 음식을 찾지 못하였다. 발병자가 미발병자보다 호텔 로비에 머문 시간이 60% 정도 더 많았고, 호텔 정문을 드나든 횟수가 더 많았다는 사실에서 이 질병이 공기에서 유래된 것(airborne)으로 판단되었으나, 원인물질, 혹은 생물을 찾는데에는 더 긴시간이 걸렸다. 이 세균은 1997년 1월에야 확인되었고, 그 이름을 *Legionella pneumophila*라고 불렸다. 이 세균은 인체 침투후 2~10일후에 발병하며 근육통과 가벼운 두통을

유발한다. 체온이 올라가고, 기침과 복통, 설사를 동반한다. 이 세균은 공기중으로 전파되지만, 사람에서 사람으로는 전염되지 않는다.

이 질병은 미국의 40개주 뿐만 아니라, 카나다, 호주, 유럽 여러나라, 이스라엘에서 발견되었고, 40대 이상의 노장년층과 남자, 그리고 담배를 피우는 사람에게서 많이 발생하였다. 또, 건축, 토목에 관련된 사람들, 호텔, 병원에서 많이 발생하였고, 특히 중앙 난방하는 장소에서 많이 나타났다. 발생율은 100,000명당 12명으로 확인되었고, 년간 발생하는 폐렴환자 240만 명중 7,000~36,000명이(약 0.3~1.5%) 이 레지오넬라에 의한 것으로 밝혀졌다.

이 질병의 원인균은 사람에서 사람으로는 전파되지 않으나, 공기중으로 전파되는 특이한 성질을 가지고 있다. 1965년 성 엘리자베스 병원에서 발생한 폐렴은 흙속에서 살고 있던 레지오넬라균에 의한 것으로 보고되었다. 그 당시 병원정원을 파고 있었는데, 공사가 진행중인 곳을 마주한 병동에서 창가에 위치한 병상에 있던 환자들에게서 이 질병이 나타났다. 당시에는 이 균을 분리하지 못하였으나, 후에 이 토양에서 *L. pneumophila*가 검출되어 이 병원에서의 집단 발병의 원인으로 결론내려졌다. 또 다른 경우 냉방시스템의 냉각기와 냉각탑과 증발탑에서 이 균이 발견되었다. 냉각탑 또는 증발탑 안에 있는 냉각수에 인근 토양에서 날아온 이균이 불어자라면서 냉각된 공기를 타고 건물내로 흘러들어진 것이다.

우리나라에서도 1983년 서대문의 어느 병원에서 이 질환으로 의심되는 질환이 발생하였고, 당시의 환자들은 병원에 근무하는 의사, 간

호사들이었다. 병을 고쳐주는 병원에서 의사와 간호사들이 원인불명의 고열, 폐렴증상을 나타내어, 병원측은 감추기 바빴고, 이 사실이 알려진 후에 국립보건원이 발표한 것은 바로 이 레지오넬라 증세였다. 역시 질병의 원인균은 병원에 설치된 에어콘디셔너를 통하여 토양으로부터 감염된 것으로 추측하였다. 1996년과 1998년에 서울과 부산에서 조사한 바에 따르면, 병원, 호텔, 백화점등 대형 건물의 냉방장치 냉각수에서 레지오넬라균이 검출되었다. 서울에서는 128개의 조사기관중에서 19곳에서, 부산에서는 65곳중 17곳에서 검출된 것이다.

지금은 시정되었으나, 예전에는 기차에서 사용하는 화장실은 정차중에는 사용을 금지시켰다. 그 이유는 화장실을 사용하고, 플러쉬 버튼을 누르면 그대로 기차 밖으로 떨어졌고, 달리는 기차의 폭풍 때문에 가루가루 흩어져 공기중으로 퍼져 나갔다. 따라서 정차중일 때에는 흩어지지 않으니 사용을 금지시킨 것이다. 달리는 기차에서 흩어진 내용물은 대부분은 열어놓은 창문을 통하여 다시 기차 안으로 들어왔다. 1987년 필자의 연구실에서 확인한 바, 기차 화장실로 떨어뜨린 대장균은 기차 진행방향에서 수직으로 물결 1km나 떨어진 곳에서도 검출되었다. 이러한 몇 가지 예에서 보듯이 우리는 공기로 전파되는 미생물로부터 안전하지 못하다.

우리들에게 위협이 되는 공기 전파성 질병은 다음과 같다.

① *Streptococcus* 기관지염

화농균에 의한 기관지 점막의 염증이 주된 증세이다. 임파선이 붓는다.

② 성홍열

*Streptococcus*에 의하여 감염되며, 디프테리아와 같이 독소를 생성하는 유전자를 파지(phage)로부터 받을 경우 질병이 유발된다.

③ 디프테리아

이균은 기관지 내에 정상적으로 살고 있는 세균인데, 독소를 생성하는 유전자를 가진 파지가 들어오면, 이 세균들은 모두 독소를 생성하는 세균으로 바뀐다. 이 독소는 0.01mg 정도면 90kg의 성인도 죽일만큼 치명적이지만, 어릴 때에 면역주사를 맞으면 큰 문제는 없다.

④ 중이염

귀로 물이 들어갈 경우에 생기는 질병이다. 그러나 감기 등으로 세균이 고막, 내이, 중이로 침투하면 질병으로 진행된다. 원인세균은 *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Hemophilus* 등이다.

⑤ 바이러스성 감기

RNA 바이러스에 의하여 일어나는 질병이다. 우리가 흔히 콧물감기라 하여 콧물이 흐른다.

⑥ 백일해

기관지의 섬모에 붙어 자라면서 독소를 분비하고, 이 독소 때문에 점막이 상하여 기관지가 부어서 숨을 쉴 때마다 소리가 난다. 어린이 예방접종인 DPT의 P가 백일해(pertussis)를 뜻한다.

⑦ 결핵

결핵균에 의한 질환으로, 예전에는 주요 사망 원인이었으며, 최근에도 보균자가 매우 많은 질환이다. 이 결핵균은 체외로 지방을 분비하는데, 이 지방 때문에 건조한 환경조건과 햇빛, 항생제와 살균제와 같은 화학물질에 충분

히 견딜 수 있게 한다. 아직도 주요한 질병으로 우리나라에서도 중점 관리하고 있는 질병이다.

⑧ 폐렴

폐렴의 75%는 *Streptococcus pneumoniae*에 의하여 일어나며, *Staphylococcus*, *Hemophilus*, *Klebsiella* 등도 폐렴을 일으킨다. 심지어 대장균도 원인균이기도 하다.

⑨ 앵무새병(Psittacosis)

앵무새와 같이 집안에서 키우는 새와 닭, 칠면조, 비둘기 등의 새로부터 감염된다. *Chlamydia psittaci* 세균에 의하여 발병하며, 폐렴과 같이 고열, 두통, 오한을 동반한다. 사람 사이에는 감염되지 않으며, 가금류로부터 감염된다.

⑩ Q열

절지동물에 기생하는 *Coxiella burnetii*라는 세균에 의하여 전파되는 질병으로 고열, 가슴통증을 유발한다.

⑪ 그 외 질병

바이러스에 의한 인플루엔자감기, 바이러스 폐렴, 곰팡이 질병 등이 있다.

이러한 질병들은 그 원인균이 모두 다르고 발생빈도가 다르다. 어느 질병은 몇 년에 1건이 발병하는 반면, 어느 질병은 1년에 몇 백만 명이 발병하기도 한다. 또, 병원균이 병을 일으키기 위하여는 일정 밀도 이상 체내로 들어와야 하는데, 그 밀도도 질병마다 다르고, 자연상태에 존재하는 밀도도 환경과 미생물의 종류에 따라 전혀 다르기 때문에 일률적으로 기준을 만들 수 없다. 따라서 질병균보다 수가 많고, 질병 원인균과 같이 변화하는 지표종을 선

택하여 배양하거나 관찰한다. 수질오염의 지표인 대장균은 수인성 질병의 지표종이다. 그러나, 불행히도 대기오염에는 아직 이러한 지표종이 없으며 그때 그때 조사목적에 따라 조사하고 있다. 우리나라의 대기환경 기준에는 아황산가스, 일산화탄소, 이산화질소, 먼지, 오존, 납의 기준은 있으나, 생물학적 기준은 아직 없다. 에어콘디셔너와 공기 청정기의 대량보급과 아파트와 같은 밀폐된 주거생활 때문에 미생물학적 오염의 중요성은 매우 크다. 대기중에 존재하는 미생물의 밀도는 낮으나, 이들이 필터에 쌓이면서 생장과 증식이 일어날 경우, 이들 기기가 미생물을 전파하는 역할을 할 수도 있다. 또, 최근에는 병원 내에서 일어나는 미생물감염은 매우 심각한 수준이다. 특히 항생제 내성균이 등장하였고(동아일보, 2000), 수액제를 맞는 동안에 미생물의 감염 가능성도 제기되고 있어(정염립, 1996), 대기 중 미생물 오염에 대한 관심이 점점 높아지고 있다.

이 원고에서는 공기중의 미생물을 측정하는 방법과 그 원리, 그리고 앞으로의 전망을 서술하였다.

2. 미생물 검출과 측정 방법

2. 1 멸균

미생물 연구를 위하여 가장 먼저하여야 할 일은 멸균이다. 실험에 사용하는 모든 기구, 연장은 정확하게 멸균되어 있어야 한다. 배양기구도 멸균 상태를 유지하여야 한다. 멸균에는 열, 자외선, 가스, 여과 등의 방법이 있다.

2. 2 미생물 채집 방법

공기중의 미생물은 대개가 토양에서 유래된 미생물(그림 1 참조)이며 밀도가 낮기 때문에 여과와 농축의 방법이 선행되어야 한다. 특히 공기중의 미생물은 홀로 떠다니는 것은 없고 먼지에 전자기적으로 부착되어 있기 때문에 먼지를 수집하는 방법이면 미생물 채취는 가능하다. 공기중의 미생물을 채집하는 방법은 1) 멀어지는 미생물을 받는 방법, 2) 여과지로 일정량의 공기를 여과하여 농축하는 방법, 3) 일정량의 공기를 완충용액에 받는 방법 등이 있다. 배양 또는 관찰의 목적인 미생물의 종류에 따라, 환경 조건에 따라 미생물의 밀도가 다르기 때문에 사전에 충분한 예비 실험을 꼭 하여야 하며, 여기에서 여과 또는 완충용액에 통과시킬 공기의 양을 결정하여야 한다. 하루에 한 사람이 들이 쉬는 공기의 양이 20 입방 미터임을 감안하여 여과량을 고려한다.

냉방기기와 공기청정기에는 필터가 있으며, 이 필터에 먼지가 끼게 되면, 미생물이 자연적으로 농축이 된 상태이다. 여기에 습도가 적절하면, 이들이 증식하여 바람을 타고 실내로 퍼져 나가므로 매우 위험할 수 있다. 이 경우에는 먼지를 단위 면적당 또는 무게당 채취하여 한천배지에 배양할 수 있고, 완충용액에 넣어 균일하게 한 후 직접 관찰하여 측정하기도 한다. 이 경우 스토마커(stomacher)라는 기기로 균을 먼지로부터 떼어내는 전처리가 필요하다.

2. 3 틴달효과

창을 통하여 들어온 헛빛 사이로 보면 떠 다니

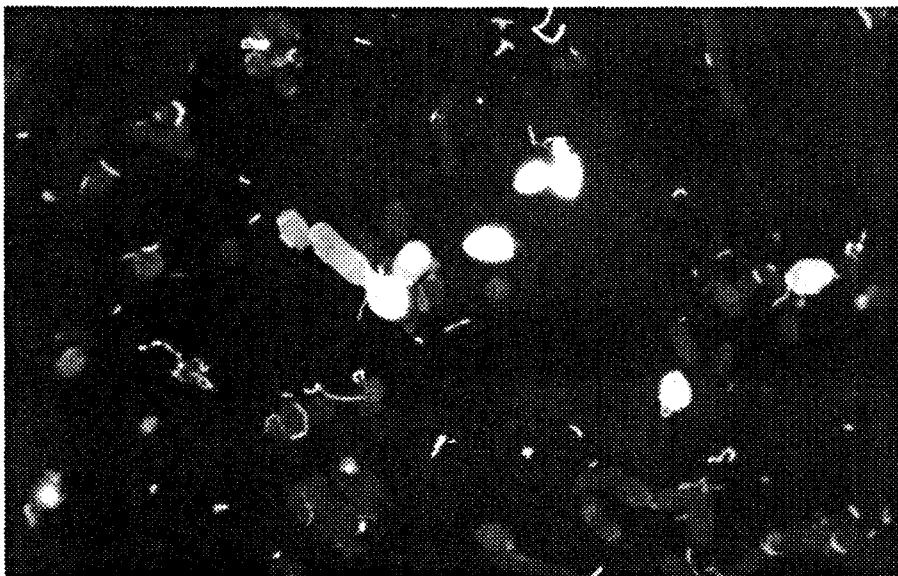


그림 1 흙을 염색하여 보면 다양한 미생물들을 관찰 할 수 있다. 크게 보이는 것은 곰팡이 포자이며, 작게 보이는 것은 세균들이다. 이들은 바람을 타고 공기중으로 퍼져나간다.

는 뾰얀 먼지를 볼 수 있다. 이 먼지속에는 곰팡이, 세균들이 묻어서 떠 다닐 것이며, 우리가 숨을 쉴 때에 우리 몸으로 들어오게 된다. 코를 통하여 들어온 먼지도 일단 콧털에서 한번 걸러지고, 기관지 점막에서 또 걸러지고 허파로 들어간다. 끊임없이 많은 곰팡이와 세균이 우리 허파로 들어가지만, 대부분은 먼지와 같은 큰 입자에 붙어있기 때문에 코와 기관지 점막에서 대부분은 걸러지게 되고, 일부가 허파로 들어간다. 허파로 들어간 미생물도 우리 몸이 가지고 있는 면역체계 때문에, 자연히 소멸되고 질병을 일으키지 못한다. 다만 면역체계

가 약한 노약자, 환자의 경우와 우리 면역체계가 감당할 수 없을 정도로 많은 미생물이 들어올 때에는 질병이 나타나게 되는 것이다. 이 먼지도 촛불을 켜 놓으면, 촛불의 열기는 위로 올라가면서 촛불 주위는 깨끗하여진다. 이러한 현상을 파악한 영국의 물리학자 Tyndall(1820-1893)은 ‘육안으로 깨끗한 (먼지가 없는) 공기는 멸균된 배지에서 부패를 일으키지 않는다’고 하였다. 이 말은 오늘날에도 그대로 적용되어 미생물 실험에서는 반드시 램프불 또는 가스불 밑에서 작업을 한다. 또 고급 레스토랑에서 식사중에 촛불을 켜놓는 것도 같은 원리

에서 유래된 것으로 사료된다.

2. 4 낙균(落菌)

음식을 먹을 때 그릇 안에 떨어지는 곰팡이와 세균을 낙균(落菌)이라고 한다. 이 낙균의 측정 방법은 다음과 같다. 곰팡이와 세균이 잘 자라는 배지를 식탁위에 올려놓고 일정시간(대개 10분~1시간)이 지난후에 배양하면 그 배지 위에 미생물 콜로니(colony)가 생긴다. 미생물은 매우 작아서 400~1,000배로 보아야 겨우 구분할 수 있는 크기이다. 이렇게 작은 미생물이지만 20분마다 한번씩 분열하면 1시간 지나면 8마리, 하루가 지나면 $2^{23} \times 2^4$ (약 47×백억×백억)마리가 된다. 하나하나 크기는 작아도 수억마리가 모이면 우리 눈에 보이게 된다. 이러한 것을 콜로니라 하며, 처음 그 콜로니가 만 들어질 때 한 마리에서 시작되었는지, 여러마리에서 시작되었는지 알 수 없기 때문에 그 단위는 CFU(colony forming unit)라고 한다.

낙균과 달리 일정 부피내에 존재하는 미생물을 측정하기 위하여는 Anderson 공기 채집기를 이용한다. 이 채집기에는 여과 구멍 크기가 다른 6종류의 여과지가 있고, 이 여과지를 오려서 배지에 올려 놓으면 단위 부피당 미생물 개체수를 파악할 수 있다. 그러나, 이렇게 배지에 키우는 방법은 다음과 같은 문제점이 있다. 첫째, 자연계에 존재하는 모든 미생물을 키울 수 있는 완벽한 배지는 없다. 즉, 코끼리와 사자가 먹는 것이 다르듯이 모든 미생물들도 선택하는 먹이가 다르다. 고기만 주어서 코끼리와 사자를 동시에 키울 수 없듯이 하나의 배지에서 모든 미생물을 키운다는 것은 원천적으로

불가능하다. 다만, 특정 세균의 경우 그 세균의 물질대사 특성을 파악하면, 그 미생물만을 위한 배지는 개발할 수 있지만, 모든 미생물을 하나의 배지에 키울 수는 없다. 둘째, 하나의 콜로니가 다른 미생물의 성장을 억제한다는 것이다. 항생작용(antibiosis) 또는 타감작용(allopathy)이라는 현상 때문에 콜로니의 생성이 줄어든다.셋째, 많은 세포들이 자연환경에서는 활성을 가지지 않는 상태이다. 수면 상태의 미생물들은 배양되지 않으나, 인체로 들어갈 경우 치명적인 질병을 일으킬 수도 있다. 넷째, 미생물을 키울 수 있는 배지가 완벽하지 않다. 레지오넬라증의 증세는 1958년부터 보고되었으나, 원인균 배양은 20년 후에나 가능하였다는 사실이 이러한 어려움을 대변한다. 다섯째, 미생물의 생장속도가 느려 배양기간 동안 눈으로 확인할 수 있는 콜로니를 형성하지 못한다. 미생물에 감염되면, 증세의 진행이 매우 빨라진다. 심하면 하루 이틀사이에 환자가 낫기도 하고, 죽기도 한다. 그러나, 미생물을 인공적인 환경에서 키울 경우 한달이 넘어 자라는 경우도 있다. 이 경우도 순수배양하였을 경우이고, 다른 미생물과 함께 배양할 경우에는 모습을 나타내지도 못하고 사라진다.

2. 5 여과 및 농축

배양하여 미생물을 측정하는 방법은 나름대로 의미가 있으나, 위에 열거한 문제점 때문에 최근에는 직접 관찰법을 사용한다. 이 방법을 사용하기 전에 공기중의 미생물을 여과, 농축하여야 한다.

공기중에 있는 미생물 수를 파악하려면 단위

부피를 세균이 통과할 수 없는 크기(0.22 또는 0.45 μm)의 여과지로 걸러내고, 이를 배지위에 옮겨놓아 키우기도 하고, 직접 관찰한다. 또는 단위부피를 완충용액에 통과시켜, 미생물을 불잡고, 이 완충용액을 배지에 키우거나, 직접 관찰하여 개체수를 센 다음 단위부피당 환산한다. 이 경우에도 미생물들이 먼지에 붙어 있기 때문에 전자기적으로 중화시키는 완충용액과 스토마커를 사용하여 미생물을 먼지로부터 떼어 내어야 한다.

2. 6 미생물의 직접 계수

직접계수법(direct count procedure)은 미생물이 입자에 부착된 경우나 다른 생물의 내부에 존재할 경우에도 측정이 가능하여 가장 높은 값을 보인다. 이 방법은 미생물을 주위환경으로부터 분리할 필요가 없기 때문에 세균이나 곰팡이의 균사를 직접 계수할 수 있다. 하지만, 직접계수법은 죽은 미생물과 살아있는 미생물을 구별하기가 불가능하고, 입자가 과다하게 많은 시료에서는 미생물을 구별해 내기가 쉽지 않다. 또한, 관찰된 미생물에 대한 다양한 연구를 진행할 수가 없다는 단점도 가지고 있다.

형광현미경(fluorescence microscope)에 의한 미생물의 계수는 시료를 폴리카보네이트(poly-carbonate filter)로 여과하여 세균은 아크리딘 오렌지(acridine orange), DAPI(diamidinophenyl indole) 및 Hoechst dye와 같은 형광염료로 염색한 다음 관찰한다. 이들 염료들은 미생물 세포내에 있는 DNA에 끼어들어가서 현미경으로 보면 아크리딘 오렌지로 염색한 경우 세균은 녹색이나 오렌지색으로, DAPI와 Hoechst

dye로 염색한 경우에는 뉴색을 띤다. 곰팡이의 경우에는 Fungi Fluor와 같은 형광물질로 곰팡이만 가지고 있는 chitin 성분을 염색하여 보면 푸른 색을 띠고 있다. 이러한 형광현미경에 의한 직접계수법은 DNA 등 생물에만 있는 물질을 염색하여 관찰하기 때문에 먼지와 같은 유기물이 많아 미생물 관찰이 어려운 시료에서 매우 유용하게 사용된다. 이 방법은 배양계수법과 달리 다양한 미생물의 생리과정, 서식지, 집단의 크기와 종류에 상관없이 응용할 수 있다.

2. 7 활성세균의 측정

직접관찰법의 단점은 죽은 미생물과 살아 있는 미생물을 구분할 수 없다는 점이다. 이 단점을 극복하기 위한 다양한 방법들이 개발되었다. 형광현미경으로 직접 관찰할 때에 분열중인 개체를 계수하면 자연상태에서 미생물의 생장을 파악할 수 있다. 분열 중인 세균의 빈도(분열빈도수; frequency of dividing cells; FDC)는 살아있는 세균의 비율을 나타낸다 (Hagstrom et al., 1979). 최근에는 전체 미생물과 호흡을 하는 미생물의 수를 동시에 측정하는 방법이 개발되어 사용되고 있다. 활성이 있는, 즉 살아있는 미생물은 호흡을 하고, 전자전달계(electron transport system)가 작동한다. 세균의 경우 이 전자 전달계는 세포막에 불어 있어 쉽게 관찰된다. 전자전달계가 활성을 뛸 경우, 전자 전달계에 전자가 흐르고 이 전자는 색깔이 없는 INT($2-[p\text{-iodophenyl}]-3[p\text{-nitrophenyl}]$) $-5\text{-phnyl tetrazolium chloride}$)를 만나면, 환원된 붉은 색의 INT-formazan을

만든다. 이 물질은 현미경 하에서 검붉은 반점으로 나타나기 때문에 호흡을 하는 것만 선택적으로 계수할 수 있다(Broberg, 1985). 또, 최근에는 tetrazolium salt의 일종인 CTC (5-cyano-2,3-di-4-tolyl-tetrazolium chloride)를 이용하여 활성적으로 호흡하는 세균을 측정하는 방법도 개발되었다. CTC는 용액 상태에선 무색, 무형광인 반면 환원되어 formazan이 형성되면 대략 620nm의 붉은 형광을 나타낸다. CTC는 INT와 구조, 기능상 유사하지만 형광 formazan을 형성한다는 점에서 다르며, 이러한 CTC-formazan의 형광성을 검출과 민감도를 증가시켜, CTC 환원력이 작은 세균이나 크기가 작은 세균도 계수가 가능하다. 이 방법은 채취한 시료와 미리 멸균된 R2A broth, CTC(5-cyano-2,3-ditolyl tetrazolium chloride) solution을 시험관에 넣고 적정온도에서 배양한 후 형광현미경으로 관찰하는 방법이다.

직접계수법에서 죽은 세균과 살아있는 세균을 파악하는 방법으로 앞에서 언급한 방법들 외에도 생균직접계수법(direct viable count : DVC)이 있다. 이 방법은 활성이 있는 균을 세포분열 억제제인 날리딕산(nalidixic acid) 등을 첨가하여 6시간 정도 배양한 후 포르말린으로 고정하여 형광현미경으로 관찰하는 방법이다 (Kogure, 1984). 이 방법으로 관찰하면 활성이 있는 세균은 분열을 하지 못하여 세포가 매우 크고, 길쭉한 상태가 되어(늘어난 세포 ; elongated cell) 휴지기 및 죽은 세포와 쉽게 구분된다.

2. 8 특정 미생물의 측정

먼지와 뒤범벅이 된 시료에서 레지오넬라균만 골라 내어 보려면 다음과 같은 방법을 이용하면 된다. 모든 미생물은 동물체에 들어가면 항원(antigen)으로 작용하고, 동물체는 보호작용으로 항체(antibody)를 생성한다. 이 항원-항체 반응은 매우 특이성이 높아 항원의 구조가 조금만 틀려도 결합하지 않는다. 이러한 특이성을 이용한 것이 형광항체법(fluorescent antibody technique)이다. FITC(fluorescein isothiocyanate)와 같은 형광염료를 항체에 결합시킨 물질은 형광을 띠지 않는다. 그러나, 이 항체-형광물질 복합체가 미생물의 항원과 반응하면 형광을 띤다. 이 방법은 각각의 미생물종에 대해 특이성을 가지고 있어 쉽게 목적하는 미생물을 관찰하고 측정할 수 있으나, 항체를 얻는 방법이 번거롭다. 레지오넬라균을 찾았을 때 초기에 바로 이 방법으로 흙, 호수 바닥 등에서 균을 발견하였다. 이 형광항체법은 중요한 균의 분포와 동태를 파악하는데 매우 유용한 방법이지만 항원-항체반응의 매우 큰 특이성 때문에 목적으로 하는 미생물 변종의 파악이 불가능할 수 있으며, 또 다른 생물과의 교차반응으로 인한 오류가 나타날 수 있다.

2. 9 유전자 탐침을 이용한 방법

최근 분자생물학적 방법들이 많이 개발됨에 따라 이 새로운 방법을 이용한 측정 방법도 많이 개발되었다. 그중 FISH(Fluorescent in situ hybridization)방법은 미생물검출을 위해 최근 개발된 분자미생물학적인 방법이다. 이 방법의 첫 step은 세포내 양적으로 많이 존재하는 ribosome에 있는 DNA 서열을 분석하여 목적하

는 미생물만 가지고 있는 염기서열을 확인하는 것이다. 지금 인간 게놈(genome) 프로젝트가 인간이 가지고 있는 DNA 염기 서열을 분석하여 전세계에 무료로 공개하는 것처럼 미생물 염기서열에 대한 정보도 무료로 공개되어 있다. 따라서 인터넷 상에서 이를 공개 사이트에 접속하여 목적하는 미생물의 염기 서열을 구할 수 있다. 이 염기서열 중에서 목적하는 미생물만 가지고 있는 염기서열을 확인하고, 상보적인 염기서열을 20개 정도의 염기로 디자인한 후에 이곳에 형광물질이나 방사선 동위원소 등으로 labeling 한다. 이를 probe(유전자탐침)라고 한다. 이 probe를 검출하고자 하는 시료와 적정 온도에서 hybridization시키고, 형광현미경 혹은 X ray film으로 관찰하는 방법이다. 이 방법에 사용되는 Fluorescent rRNA-targeted oligonucleotide probe는 특정 유전자와 결합하는 특이성을 가지고 있어 이미 여러 생태계에서 특정 세균 군집의 시간, 공간적 변화를 파악하는 데 많이 이용되었다. 특히 16S rRNA의 특정부분은 진화 속도가 매우 느려 많은 생물체가 공통적으로 갖는 보존된 염기 서열과 이차 구조를 나타내어 probe 제작에 많이 이용된다(Amann et al., 1990). Probe는 Ribosomal Database Project(RDP)에서 제공하는 16S rRNA database에 특정세균에 관한 자료를 검색하여 설계할 수 있다. 이 방법은 전체 미생물 중 10% 이상 존재하는 미생물을 검출할 때 유용하게 사용될 수 있으며, probe 설계에 따라 종(species), 속(family), 또는 group 별로 구분하여 측정할 수도 있다.

2. 10 PCR 방법에 의한 측정

현재의 과학 수사에도 이용되는 유전자 증폭 반응(polymerase chain reaction; PCR)도 미생물 검출에 이용될 수 있다. 이 PCR은 숫적으로 적은 양으로 존재하는 DNA를 무한히 증폭시키는데 있다. 일부 바이러스를 제외한 모든 생물들은 DNA를 가지고 있고, 그 염기 서열은 생물 사이에 공통적인 부분과 생물마다 독특한 부분으로 나뉘는데, 생물마다 독특한 부분을 계속 증폭시키면 무한한 시료를 얻을 수 있다.

PCR은 현재 분자생물학분야에서 가장 중요하게 각광을 받고 있는 기기로 복제하고자 하는 DNA의 특정부위의 양끝에 있는 sequence를 서로 상보적인 strand로 합성해 만든 primer와 원래의 original DNA(template)를 넣은 뒤 적정 조건에서 DNA polymerase를 넣어주고 합성한 뒤 온도를 올려 합성된 double strand를 single strand로 풀고 다시 primer와 DNA polymerase를 첨가하는 반응을 되풀이하여 매 cycle마다 target으로 하는 DNA가 2배씩 증폭되는 원리를 가지고 있다. 이 방법은 시료내에 극소량 존재하는 미생물도 특이적으로 검출할 수 있는 매우 좋은 방법이다.

앞서 설명한 레지오넬라의 경우, 최근에는 이 방법으로 많이 검출하고 있다(Bej et al., 1991).

2. 11 기타

주사형 전자현미경(scanning electron microscopy ; SEM)은 미생물의 계수 뿐만 아니라 입자표면상의 미생물의 자연적인 분포를 볼 수

있는 유용한 방법이다. 또, 입자계수기, 즉 Coulter counter를 이용하여 미생물을 계수할 수 있다. 전자기적인 방법으로 일정한 크기의 입자를 계수할 수 있어, 세균과 원생동물을 따로따로 구분할 수 있는 잇점이 있으나 비슷한 크기의 무생물학적 입자들은 구분할 수 없는 단점이 있다. 최근에는 이러한 단점을 보완하여 흐름 세포 계수기(flow cytometer)와 같은 기기로 쉽게 미생물을 계수하는 장치가 고안되었다.

3. 맷음말

대기중의 미생물 분석을 위해서는 미생물 자체를 이해하여야 한다. 또, 분석방법이 매우 정교하기 때문에 숙련이 필요하다. 그러나, 일정 수준 이상으로 훈련 받으면, 새로운 측정 기술을 개발할 수 있는 여지가 많고, 다양하게 응용이 가능한 분야이다. 앞으로 청정한 실내 환경의 요구가 커지고, 지하 생활, 밀폐공간에서 활동하는 분야가 넓어지고 있어, 실내환경의 미생물학적 안정성 확보는 매우 중요한 분야가 되었다. 특히 공기청정기와 냉각기가 새로운 미생물 오염원으로 등장하였고, 이에 따른 항균물질과 항균 제품의 등장과 응용은 앞으로 미생물학이 공기 청정 분야에서 한 축을 담당 할 것임을 제시하고 있다.

- 참고 문헌 -

1. 정영립, 1996, 수액제에 유입되는 실내 유기 오염물질의 거동, 강원대학교 석사학위 논문.

2. 동아일보 2000년 3월 22일 수요일 제24463 호.
3. Amann, R. I., Binder, B. J., Olson, R. J., Chisholm, S. W., Devereux, R and Stahl, D. A., 1990, Combination od 16S rRNA target-ed oligonucleotide probes with flow cyto-metry for analysing mixed microbial popu-lation, *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 1919–1925.
4. Broberg, A., 1985, A modified method for studies of electron transport system activity in freshwater sediments, *Hydrobiologia*, 120, 181–187.
5. Bej, A. K., M. H. Mahbubani and R. M. Atlas, 1991, Detection of viable legionella pneumophila in water by polymerase chain reasction and gene probe methods, 1991, *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 597– 600.
6. Fraser, D. W. and J. E. McDade, 1979, Legionellosis, *Scientific American*, 241, 82–99.
7. Hagstrom, A., U. Larsson, P. Horstedt and S. Normark, 1979, Frequency of dividing cells, a new approach to the determination of bacterial growth rates in aquatic environments, *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 805–812.
8. Kogure, K., U. Simidu and N. Taga, 1984, An improved direct viable count method for aquatic bacteria, *Arch. Hydrobiol.*, 102, 117–122.