

Surveillance of *Legionella* Contamination on Water Supply Systems of Public Utilizing Facilities in Gwangju, Korea

Sun Hee Kim, Min Ji Kim, Hye-young Kee, Tae Sun Kim, Jin-jong Seo,
Eun-Sun Kim, Jong-Tae Park and Jae Keun Chung*

Health & Environment Institute of Gwangju, Gwangju, Korea

Legionella is a pathogenic bacteria associated to aquatic habit of natural and artificial environments. Clinical cases of legionellosis have been reported in Korea but there is a lack of information about the incidence of this bacterium on environmental sources. Thus, we investigated the contamination of *Legionella* on water supply systems in Gwangju, Korea, including cooling towers, public baths, hospitals and fountains. *Legionella* spp. were detected from 81 samples (16.9%) out of 480 samples collected and the major species of *Legionella* isolates was identified to *L. pneumophila* serogroup (sg) 1 (n=33). The result of PFGE pattern analysis for *L. pneumophila* sg 1 isolates was discriminated into 11 pulsotypes. In dendrogram of PFGE, the clusters of isolates from cooling tower were quite different from those derived from hot water system of public bath. Surveillance for 4 sentinel public baths showed that their water supply systems had been contaminated with *Legionella* spp. and *L. pneumophila* sg 5 or sg 6 was the major isolate. The similarity of its PFGE patterns was 92.3%, 96.6%, respectively. Thus, PFGE may be a useful tool in molecular epidemiology studies, and the monitor and control for water supply systems of public utilizing facilities will be able to provide a resolution for the reduction of *Legionella* infection.

Key Words: *Legionella*, Water supply systems, PFGE

서 론

레지오넬라증은 레지오넬라균의 감염에 의한 세균성 호흡기질환으로 전 세계적으로 발생되고 있는 것으로 알려져 있으나, 인플루엔자나 다른 감염성 폐렴질환과 임상적인 구별이 쉽지 않기 때문에 많은 감염사례가 보고되고 있지는 않다. 레지오넬라증은 레지오넬라 폐렴 (Legionnaires' disease)과 폰티악 열 (Pontiac fever)로 나눌 수 있다. 폰티악 열은 폐렴증상 없이 감기와 유사한 증상을 나타내다 자연 치유되기도 하며, 발병률은 95% 정도이다. 반면, 레지오넬라 폐렴은 0.5~5% 정도의 낮은

발병률을 나타내지만 심각한 폐렴증상과 합병증을 유발하므로 적절한 치료가 이뤄지지 않을 경우 15~30%의 사망률을 보이는 것으로 보고되고 있다 (1).

또한, 감염경로에 따라, 병원에 입원 또는 내원 중에 감염되는 병원 내 레지오넬라증 감염 (nosocomial infection)과 지역사회 획득성 감염 (community acquired infection)으로 구분될 수 있다. 이는 병원에서 사용되는 치료용 분무기, 호흡기 치료 장치, 가습기 등 병원 내 수계시설이 레지오넬라균의 증식에 용이하며, 여기에 노출되기 쉬운 기저질환자나 면역력이 저하된 환자가 고위험군으로 자주 보고되기 때문이다. 지역사회 획득성 감염의 원인으로는, 주로 대형건물이나 호텔 등의 냉각탑수, 자연 및 인공온천, 기타 건물의 수계시설 등과 같은 에어로졸 발생시설과 관련이 있는 것으로 조사되고 있다. 대표적인 집단발병사례로 2000년 4월 호주 멜버른에 있는 대형수족관에서 120여명이 발생하여 4명이 사망하였고, 스페인에서는 2001년 7월 가장 큰 발생사례가 있어

Received: December 8, 2009/ Revised: December 23, 2009

Accepted: December 28, 2009

*Corresponding author: Jae Keun Chung. Health & Environment Institute of Gwangju, 898 Hwajung-dong, Seo-gu, Gwangju 502-837, Korea.
Phone: +82-62-380-1840, Fax: +82-62-380-1836
e-mail: jkchung@korea.kr

800명 이상이 감염된 바 있다 (2, 3).

우리나라의 레지오넬라증에 대한 관리는 주로 하절기 대형건물의 냉각탑수에 대한 레지오넬라균 오염도 조사에 치중하여 왔으며, 이러한 이유로 레지오넬라증과 냉방병을 동일시하고 하절기에 국한된 질환으로 오인되기도 하였다. 그러나 질병관리본부의 전염병 통계에 따르면, 2006년부터 매년 20명 이상의 환자 발생 신고가 있으며 실제로는 이보다 많을 것으로 추정되고 있고, 월별 환자의 발생분포를 살펴보면 계절에 관계없이 연중 발생하는 것으로 보고되고 있다 (<http://stat.cdc.go.kr/>). 이들의 감염경로를 명확히 밝히는 것은 어려우나, 현대 사회의 생활패턴을 감안하면 오염 가능성이 있는 수계환경으로 가장 대두되기 쉬운 것이 찜질방, 온천 등과 같은 다중이용시설의 수계시설이다.

따라서, 본 연구에서는 광주지역내의 대형건물의 냉각탑수, 병원 및 대형목욕장 등의 냉·온수시설 그리고 분수대의 분수 등 시민 다중이용시설의 수계환경에 대하여 레지오넬라균 오염도를 조사하였다. 또한, 이들 수계환경에서 분리된 레지오넬라균에 대하여 혈청학적, 유전학적 유형을 분석하고 대상시설별 및 검체종류별 검출률을 파악함으로써, 향후 환자 발생 시 감염원 및 감염경로를 규명하고, 레지오넬라증에 대한 예방관리 등에 있어 필요한 자료를 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

검체 채취

광주지역 대형건물의 냉각탑수, 병원, 찜질방, 사우나 및 대형목욕장 등의 온수시설 그리고 분수대에서 총 480건의 수계환경검체를 2007년과 2008년 6월부터 9월에 걸쳐 채취하였다. 또한, 4개소의 표본 대형목욕장을 별도로 선정하여 2007년 7월부터 2008년 12월까지 격일로 동일 장소의 탕내 샤워기 냉·온수, 탕내 수도 냉·온수, 수도꼭지 및 샤워기헤드 내부도찰물을 직접 채취하여 검체로 사용하였다. 모든 검체는 멸균된 채수용기와 멸균면봉을 이용하여 채취하였고, 채취 후 바로 4℃ 운반용기에 담아 실험실로 이동하였다.

레지오넬라균 분리 및 동정

냉각탑수, 냉·온수 및 분수 등 수계검체는 각 1 ℓ를 pore size가 0.2 µm인 여과지를 통과시켜 농축한 후, 멸균

된 증류수 20 ml에 잘게 잘라 부유시켰다. 이를 5분간 초음파 처리하고 50℃에서 30분간 열처리하여, 멸균증류수로 10배 희석된 희석액과 원액 각각 0.1 ml씩을 GVPC (Oxoid, Wesel, Germany) 및 α-BCYE (Difco, Detroit, MI, USA) 우무배지에 도말하였다. 도말된 배지는 5% CO₂, 37℃ 배양기에서 10일간 배양하면서 관찰하였다. 수도꼭지 및 샤워기헤드 내부축적물을 도찰한 면봉은, 멸균증류수 1 ml에 잘라 부유시킨 후 수계검체와 동일한 방법으로 처리하여 배양하였다.

배양 후 3일째부터 자란 집락 중 전체적으로 매끄럽고 볼록한 면을 나타내는 회백색의 진주빛을 내는 균 집락을 레지오넬라균으로 추정하여 선별하였다. 선별된 균 집락은 α-BCYE 우무배지와 혈액배지에 접종하여 배양한 후, 혈액배지에서는 자라지 않으며 α-BCYE 우무배지에 서만 자란 균 집락을 2차적으로 선별하였고, 이들 분리균주는 0.05% basic fuchsin으로 그람염색을 실시하여 붉은색으로 염색되는 그람 음성 단간균임을 확인하였다.

분리균주에 대한 최종동정은 16S rRNA와 *mip* 유전자를 증폭하는 PCR을 이용한 유전학적 동정으로 하였다 (4). 즉, α-BCYE 우무배지에 배양한 분리균주를 멸균증류수 0.5 ml에 부유한 균부유액을 100℃에서 15분간 끓인 후, 4℃, 14,000 rpm (Eppendorf 5417R, Hamburg, Germany)으로 5분간 원심분리하여 그 상층액을 template DNA로 사용하였다. PCR에 사용한 primer는 레지오넬라균속에 특징적인 16S rRNA primer set (F: 5'-AGGGTTGATAGGTTAAGAGC-3', R: 5'-CCAACAGCTAGTTGACATCG-3')과 *L. pneumophila* 균종에 특이적인 *mip* 유전자 primer set (F: 5'-GGTGACTGCGGCTGTTATGG-3', R: 5'-GGCCAAT-AGGTCCGCCAACG-3')을 제작하여 사용하였다 (Bioneer Daejeon, Korea). PCR 반응액은 template DNA 2.5 µl, 2.5 mM dNTP 2 µl, 10× PCR buffer 2.5 µl, *Taq* polymerase (Bioneer) 1 U와 멸균된 증류수를 혼합하여 최종 25 µl로 제조하였다. 이를 95℃에서 5분간 변성시킨 후, 95℃에서 1분, 60℃에서 1분, 72℃에서 1분의 반응을 30회 실시하였다. 증폭한 반응산물은 1.0% agarose gel (Cambrex, Rockland, ME, USA)에서 전기영동한 후 증폭유무를 확인하였다.

혈청형 확인 시험

레지오넬라 분리균주의 혈청형시험은 *Legionella* Latex Test (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England)와 direct

fluorescent antibody (DFA, m-TECH, Alpharetta, GA, USA) test를 이용하여 국내외 주요 혈청형으로 알려진 *Legionella pneumophila* sg 1, 5 및 6을 조사하였다. 먼저, *Legionella* Latex Test를 이용하여 *Legionella pneumophila* sg 1과 sg 2-14를 구분하였다. 이 중 *Legionella pneumophila* sg 2-14으로 구분된 분리균주가 sg 5와 sg 6임을 확인하기 위하여 DFA를 실시하였다. 즉, 100℃에서 10분간 끓여서 준비한 균부유액을 24 well spot slide (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)에 5 µl씩 분주하여 건조시킨 후, acetone으로 15분간 고정하였다. 여기에 fluorescein isothiocyanate-labeled *Legionella pneumophila* sg 5 antibody conjugate와 sg 6 antibody conjugate를 각각의 well에 5 µl씩 분주하여 37℃에서 30분간 방치하였다가 인산완충용액과 멸균증류수로 세척하여 건조시킨 후 형광현미경 (Carl Zeiss, Thornwood, NY, USA)을 이용하여 1000×로 관찰하였다. 이때, 형광이 강하고 전형적인 단간균의 형태가 확인된 균주에 대하여 DFA 양성으로 판독하였다.

PFGE (pulsed field gel electrophoresis)

분리균주간의 유전학적 상관성을 알아보기 위하여 Riffard 등 (5) 및 Pruckler 등 (6)의 방법을 변형하여 PFGE를 실시하였다. 이때 molecular weight marker로는 *Salmonella* serovar Braenderup ATCC BAA-664를 사용하였다.

배양된 실험균주는 cell suspension TE buffer (100 mM Tris, pH 7.5, 100 mM EDTA, pH 7.5) 2 ml에 현탁시키고,

proteinase K (20 mg/ml, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 10 µl를 처리한 후, 1.2% plug용 agarose (Cambrex) 200 µl와 혼합하여 plug를 제조하였다. 제조된 plug는 ES Buffer (0.5 M EDTA, pH 9.0; 1% sodium-lauroyl-sarcosine)로 옮겨 55℃ 진탕 항온수조에서 2시간 처리하고, plug wash TE buffer (10 mM Tris, pH 7.5, 1 mM EDTA, pH 7.5)를 이용하여 55℃ 진탕 항온수조에서 30분씩 5회 세척한 후, 1 mm 두께의 plug 절편을 만들었다. 각각의 plug 절편은 제한효소 *Sfi*I (10 U/µl, TaKaRa, Otus, Japan) 6 µl, 제한효소용 완충용액 10 µl, BSA (TaKaRa) 1 µl, 멸균증류수 83 µl를 넣고 50℃ 항온수조에서 2시간 반응시켰으며, marker로 사용한 *Salmonella* serovar Braenderup ATCC BAA-664는 제한효소 *Sfi*I 대신 *Xba*I (15 U/µl, TaKaRa) 2 µl를 넣어 처리하였다.

전기영동은 0.5% TBE buffer로 1% PFGE agarose gel을 만들어 mold에 굳힌 후, 각 well에 제한효소로 처리한 plug 절편을 넣고, initial time 2.16초, final time 54.17초, gradient 6.0 V/cm, included angle 120°의 조건으로 14℃에서 18시간 동안 CHEF II Mapper PFGE (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 실시하였다. 전기영동이 완료된 후 EtBr (0.5 µg/ml)에서 30분간 염색을 하고 증류수를 이용하여 30분씩 2회 탈색하였다. PFGE 결과는 BioNumerics software (Applied Maths, Kortrijk, Belgium)를 이용하여 분석하였고, dice coefficient similarity (tolerance, 1.5%)는 UPGMA (unweight pair group method of average linkage) 법에 의하여 dendrogram을 작성하여 유연관계를 비교분석하였다.

Table 1. Levels of *Legionella* colonization in water supply systems in Gwangju, Korea (n=480)

Source	Sampling site	No. of samples					
		Analyzed	Positive	With level (CFU/liter) of colonization			
				<10 ³	≥10 ³ ~ <10 ⁴	≥10 ⁴ ~ <10 ⁶	=10 ⁶
Total		480	81	26	25	30	0
Building	Cooling tower	214	40	9	13	18	—
Hospital	Cooling tower	73	10	1	5	4	—
	Hot tap water	67	6	4	2	—	—
	Hot shower water	62	6	4	2	—	—
Public bath	Hot tap water	40	15	5	3	7	—
	Hot shower water	17	4	3	—	1	—
Fountain	Shedding water	7	—	—	—	—	—

결 과

시설별 레지오넬라균 오염도

광주지역 다중이용시설 수계환경검체 총 480건에 대하여 레지오넬라균 오염도 조사를 실시한 결과, 81건 (16.9%)에서 레지오넬라균을 확인할 수 있었다 (Table 1).

대상검체 중 백화점, 은행 등 대형건물의 냉각탑수는 214건이었으며, 이 중 40건 (18.7%)에서 레지오넬라균의 오염이 확인되었다. 병원수계는 별도로 조사하였으며, 종합병원을 포함한 관내 병원의 냉각기의 냉각탑수 73건

중에서는 10건 (13.7%)에서, 화장실온수 67건 및 샤워시설의 온수 62건에서는 각각 6건 (9.0%, 14.6%)에서 레지오넬라균이 검출되었다. 또한, 사우나, 찜질방 및 대형목욕탕 등 공중목욕장의 수도온수 40건과 샤워기온수 17건을 조사한 결과 각각 15건 (37.5%)과 4건 (23.5%)에서 레지오넬라균 오염을 확인하였다. 조사된 분수대 7곳의 분수에서는 모두 레지오넬라균이 검출되지 않았다.

검출된 레지오넬라균수의 범위를 살펴보면, 병원을 포함한 대형건물 등의 냉각탑수에서는 균 검출 시료의 44%에 해당하는 22건에서 $10^4 \sim 10^6$ CFU/ℓ 범위의 균수가 검출되었으며, 나머지는 10^4 CFU/ℓ 미만의 범위로 존재

Table 2. Surveillance for *Legionella* contamination in water supply systems of 4 sentinel public baths (A-D) in Gwangju, Korea

Source	Sampling site	No. of sampling times		No. of <i>Legionella</i> isolates					
		Analyzed	Positive	Total	<i>L. pneumophila</i>				Non- <i>L. pneumophila</i> species
					1	5	6	Others	
A	Cold tap water	9	6	6		1	3	2	
	Hot tap water	9	8	8	2	5	1		
	Faucet	9	9	10	3	3	1	3	
	Cold shower water	9	5	5			5		
	Hot shower water	9	5	5			5		
	Shower head	9	7	7			7		
B	Cold tap water	9	2	2	1		1		
	Hot tap water	9	9	14			4	7	3
	Faucet	9	5	6			3	2	1
	Cold shower water	9	1	1	1				
	Hot shower water	9	1	1		1			
	Shower head	9	3	3		2	1		
C	Cold tap water	9	5	6	1	1	2	1	1
	Hot tap water	9	9	14	3	3		4	4
	Faucet	9	7	9		3		4	2
	Cold shower water	9	–						
	Hot shower water	9	1	1	1				
	Shower head	9	2	2			1	1	
D	Cold tap water	9	2	2		2			
	Hot tap water	9	6	9	5		2	2	
	Faucet	9	3	3	1	1			1
	Cold shower water	9	7	8		6		1	1
	Hot shower water	9	5	5		3			2
	Shower head	9	5	5		3		2	

Table 3. Serologic identification of the serogroups of *Legionella* spp. isolates from water supply systems in Gangju, Korea

Source	Sampling site	Total	<i>L. pneumophila</i>				Non- <i>L. pneumophila</i> species
			1	5	6	Others	
Total		81	33	8	7	13	20
Building	Cooling tower	41	18	1	2	7	13
Hospital	Cooling tower	9	4	1	–	4	–
	Hot tap water	6	1	1	1	1	2
	Hot shower water	6	2	–	2	–	2
Public bath	Hot tap water	15	6	4	2	–	3
	Hot shower water	4	2	1	–	1	–

함이 확인되었다. 온수시설에서는 병원 및 공중목욕장 총 31건에서 균 검출이 확인되어 이 중 16건 (51.6%)에서는 10^3 CFU/ℓ 미만으로 검출되었으며, 최고검출범위는 $10^4 \sim 10^6$ CFU/ℓ로 확인되었다.

또한, 별도로 선정한 4개의 표본 대중목욕시설에 대하여 2개월 간격으로 9차례에 걸쳐 레지오넬라균에 대한 오염도를 조사한 결과는 Table 2와 같이 4개의 표본시설 모두 매회 1개 이상의 검체에서 레지오넬라균이 검출되었으며, 전체적인 시료별 균 검출 빈도는 수도온수 > 수도꼭지 > 샤워헤드 등의 순으로 높게 나타났다.

분리된 레지오넬라균의 동정 및 혈청형 분포

각각의 시설에서 분리된 레지오넬라균 81주는 16S rRNA (386 bp)와 *mip* 유전자 (630 bp) 검출실험을 통하여, 두 가지 유전자를 모두 갖고 있는 *L. pneumophila* 61주와 *mip* 유전자를 보유하지 않는 non-*L. pneumophila* species 20주로 확인되었다. 이 중 *L. pneumophila* 61주에 대하여 혈청형시험을 실시한 결과 sg 1이 33주를 차지하였고, sg 5와 6은 각각 8주, 7주로 나타났으며, 나머지 혈청형에 대해서는 확인하지 못하였다 (Table 3).

표본 대중목욕시설에서는 분리된 총 132개의 균주 중 15주만이 *mip* 유전자를 보유하지 않는 non-*L. pneumophila* species로 확인되었으며, 나머지 117주의 *L. pneumophila*에 대해서 혈청형시험 결과, sg 6은 36주, sg 5는 34주 그리고 sg 1이 18주로 확인되었으며, 나머지 29주는 세 가지 혈청형에 반응이 일어나지 않았다. 또한, 2개소의 표본시설 (A, B)은 *L. pneumophila* sg 6, 다른 2곳 (C, D)은 *L. pneumophila* sg 5가 가장 높은 검출률을 보였으며, 이외의 다양한 혈청형이 시기적인 차이를 두고 검출되었음을

확인하였다 (Table 2).

PFGE 패턴분석

2007년과 2008년 하절기 광주시내 다중이용시설 수계환경검체에 대한 레지오넬라균 오염도 조사결과 *L. pneumophila* sg 1으로 확인된 33주의 균주에 대하여 제한효소 *Sfi*I 처리에 의한 PFGE를 실시하였다. 그 결과 85% 이상의 상동성을 기준으로 총 11개의 pulsotype (A~K)로 분류되었으며 (Fig. 1), 2주를 제외한 나머지 분리균주에 있어서 냉각탑수 유래균주와 온수시설 유래균주는 각각 다른 pulsotype으로 분류되었음을 확인하였다.

대형목욕시설의 표본대상 중 A 시설 유래균주인 *L. pneumophila* sg 6형 15주와 D 시설 유래균주 *L. pneumophila* sg 5형 12주 또한 제한효소 *Sfi*I 처리에 의한 PFGE 패턴을 분석한 결과는 각각 92.3%와 96.6%의 높은 상동성을 확인하였다 (Fig. 2).

고 찰

레지오넬라증은 전 세계적으로 발생되고 있으며, 병원이나 대형건물, 호텔 등과 같은 제한된 지역에서 발생할 뿐만 아니라 산발적으로도 발생한다. 미국에서는 연간 25,000~100,000명의 환자가 발생하며, 북아메리카와 서유럽에서는 폐렴의 1~13%가 레지오넬라균에 의한 것이라 하고, 일본에서는 병원 내 감염이 24% 정도이며 사망률은 53%에 이르는 것으로 보고하고 있다 (7~9). 국내의 경우, 1984년 의료기관에서 발생한 폰티악 열에 의한 집단 레지오넬라증 발병사례 이후, 지역사회 획득 및 병원 내 획득 레지오넬라균 감염사례가 간헐적으로 보고

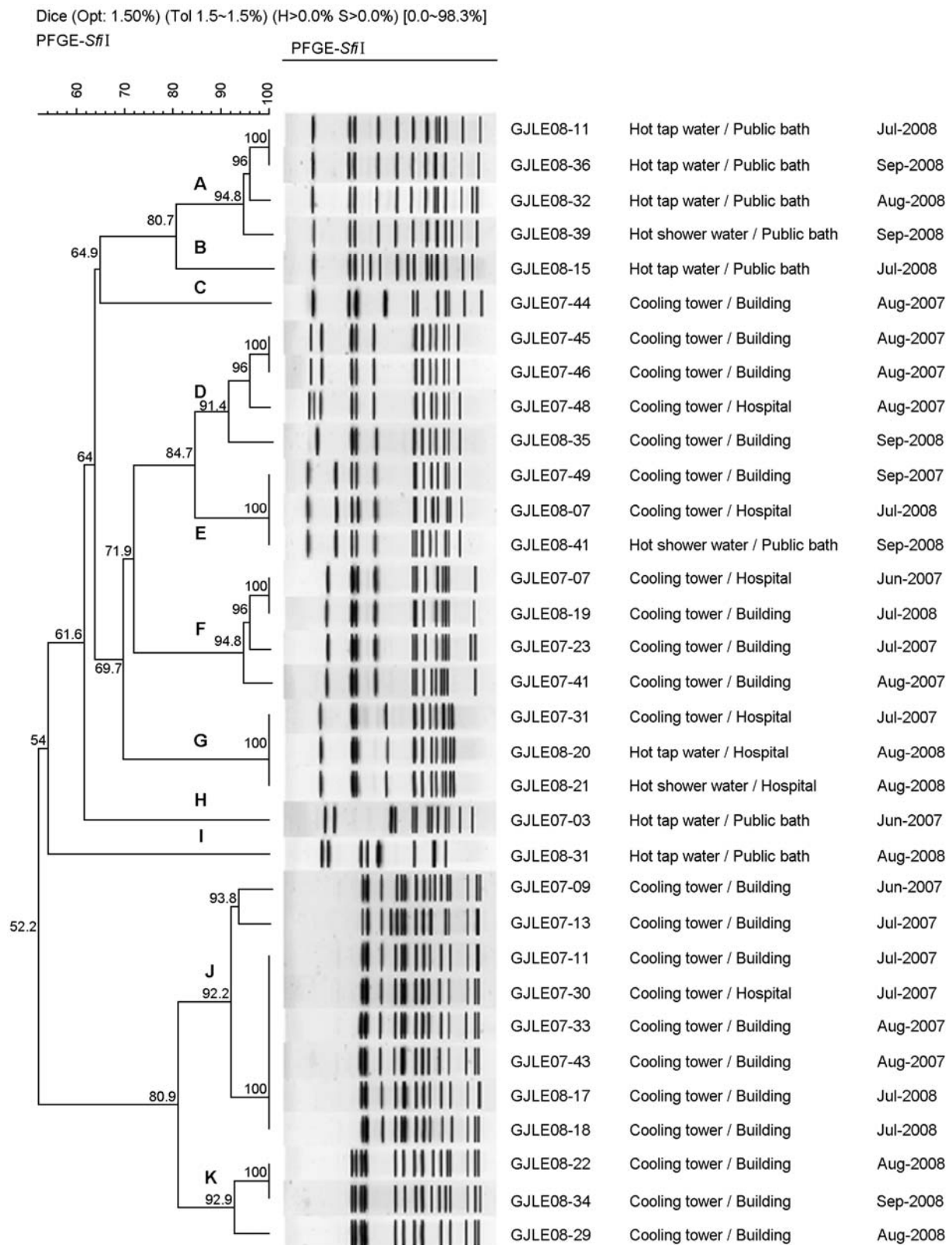


Figure 1. Clustering of *L. pneumophila* sg 1 isolates by PFGE pattern. Dendrogram corresponding to PFGE electrophoretic patterns in accordance with UPGMA clustering on a matrix based on the Dice coefficient.

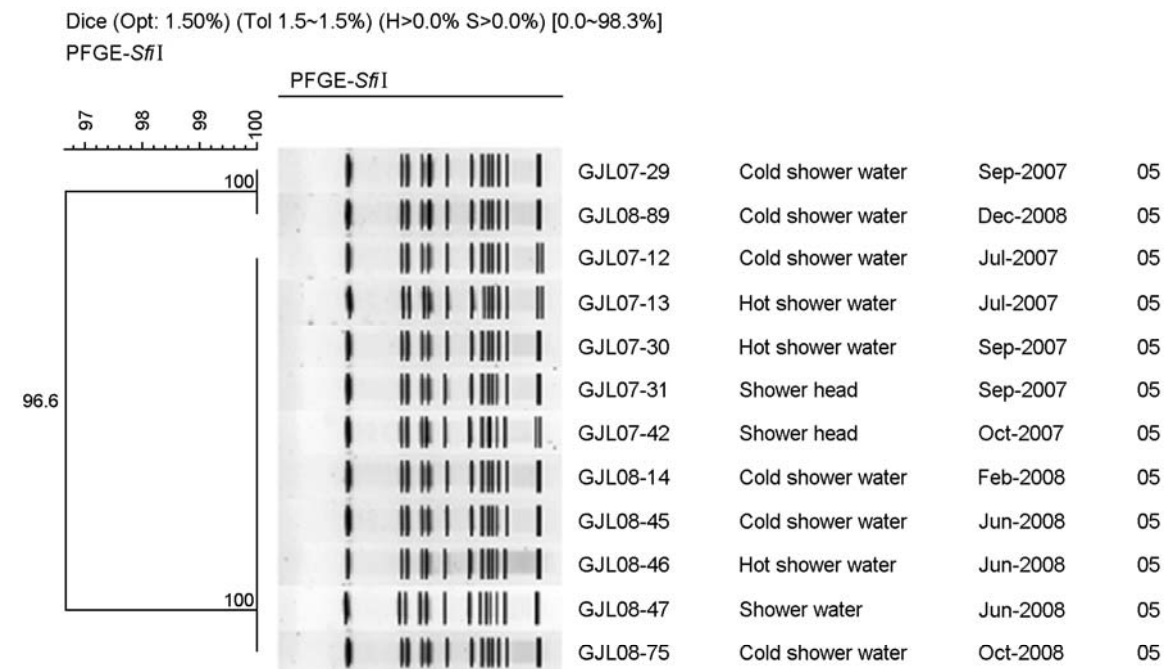
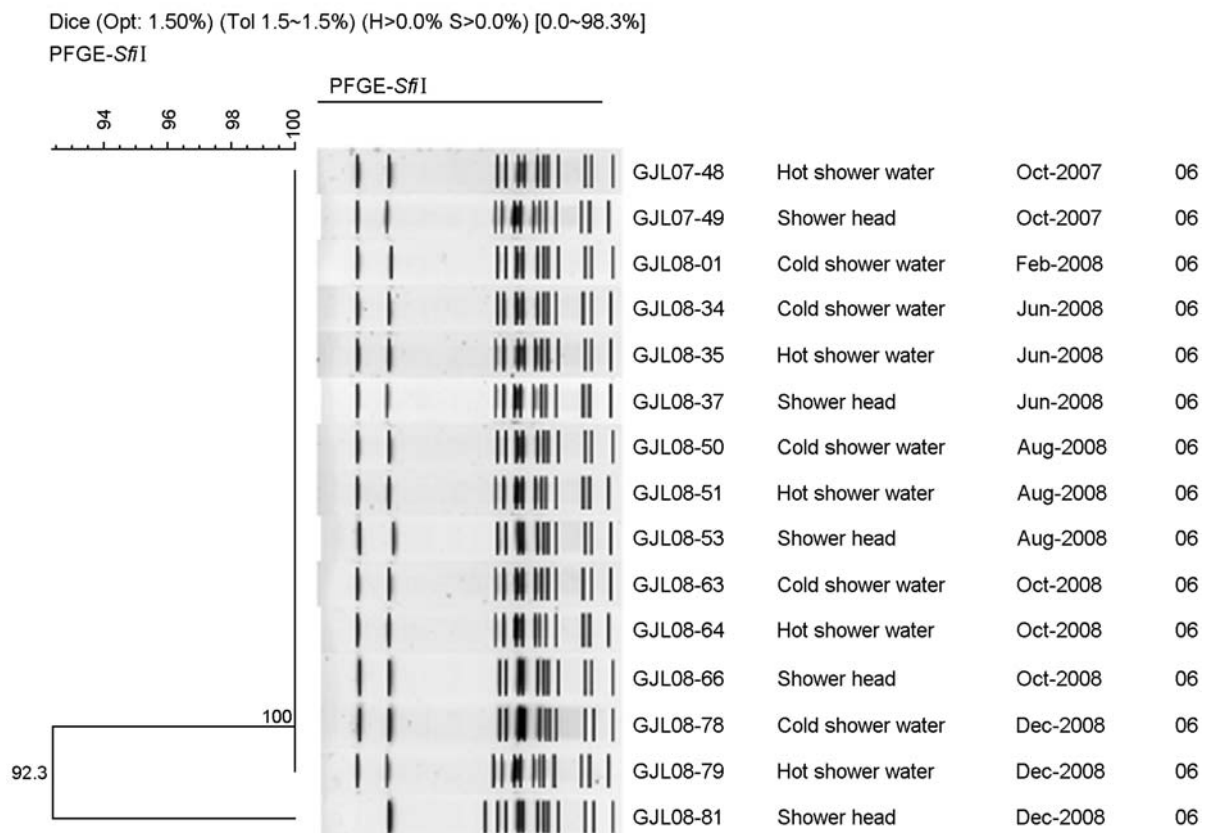
A**B**

Figure 2. Analysis of PFGE of *L. pneumophila* sg 5 (**A**) and *L. pneumophila* sg 6 (**B**) isolates derived from 2 sentinel public baths, respectively.

되고 있다 (10, 11). 또한 레지오넬라균에 대한 항체가 양성자는 매년 3~5%에 달하는 것으로 알려져 있다 (12). 그러나 레지오넬라증이 임상적으로나 방사선학적 소견이 특이적이지 않고, 실험실 진단에 있어서도 배양법이 일반적이지 않아 일선실험실에서 많은 제한성을 갖기 때문에, 레지오넬라증 발생 빈도에 대한 보고는 실제와 많은 차이가 있을 것으로 생각된다.

2009년 질병관리본부에서 개정한 레지오넬라증 관리 지침에 따르면, 종전에 6~9월 사이에 실시하던 환경수계 레지오넬라균 오염도 조사를 계절에 관계없이 연중 실시하는 것으로 바뀌었다. 이는 종전에 대형건물에 설치된 냉방기기의 냉각수에 중점을 두었던 관리체계를, 변화된 생활양식에 맞추어 찜질방, 사우나, 스파시설 등의 형태를 포함한 다양한 다중이용시설로 확대한 것이라 설명될 수 있다. 실제로 지역사회에서 산발적으로 환자가 발생하는 경우, 정확한 원인을 규명하는 것이 현실적으로 매우 어려운 일이다. 따라서 레지오넬라균의 오염 가능성이 있는 수계환경에 대하여 오염여부를 조사하여 효율적인 소독 및 관리방안을 제시하고 분리된 레지오넬라균에 대한 유형을 분석하여 환자 발생시 비교 가능한 데이터를 확보하는 것은 레지오넬라증 예방관리에 있어 중요한 일이라 생각된다. 이에, 본 연구에서는 병원을 포함한 대형건물의 냉각탑수 287건, 병원온수시설 129건, 공공목욕장 온수시설 57건 및 분수대 7건의 수계검체를 확보하여 레지오넬라균 오염여부를 조사하였다. 각 검체별 오염도는 공공목욕장온수 33.3% > 냉각탑수 17.4% > 병원온수 9.3% 순으로 확인되었으며, 분수대의 경우 레지오넬라균 오염은 확인되지 않은 것으로 조사되었다. 또한, 검출된 레지오넬라균수 (CFU/l)에 있어서는, 온수시설보다 냉각탑수에서 보다 많은 양의 레지오넬라균에 오염된 상태로 존재하였으며, 공공목욕장의 온수가 병원온수보다는 더 많은 양으로 존재함이 확인되었다. 이와 같은 결과는 냉각탑수의 경우, 대부분의 냉각탑이 건물옥상에 설치되어 가동기간인 하절기 강력한 태양광으로 인한 온도상승으로 미생물이 증식하기 좋을 뿐 아니라, 개방된 구조로 많은 양의 공기가 시설 안으로 들어가는 동시에 흙이나 먼지, 다른 분진이 함께 들어가 냉각수 안에 축적됨으로써 외부 자연환경계에 존재하는 레지오넬라균의 유입도 용이하고 이들이 증식할 수 있는 영양물질 또한 제공되기가 쉬운 까닭으로 생각된다. 또한, 온수시설은 냉각탑수와 같이 폐쇄된 순

환구조가 아니기 때문에 오염도가 보다 낮은 것으로 생각된다.

레지오넬라균속에는 50개의 species와 73개의 serogroup (sg, 혈청군)이 있으며, 레지오넬라증의 80~90%가 *L. pneumophila*에 의한 것으로 알려져 있다. *L. pneumophila*에는 15개의 혈청군이 존재하는데, 그 중에서 *L. pneumophila* sg 1이 레지오넬라증 환자의 주요 원인병원체일 뿐 아니라 수계환경에서 가장 높은 분포율을 나타내는 것으로 보고되고 있다 (1, 13). 또한, Bartram 등이 보고한 수계환경에서 레지오넬라균종의 분포 현황을 살펴보면, 냉각탑수에서는 *L. pneumophila* sg 1이, 냉·온수 시스템에서는 *L. pneumophila* sg 1, 2, 4, 6, 12, *L. micdadei*, *L. bozemanii*, *L. feeleei* 등이, 온천 등에서는 *L. pneumophila* sg 1, *L. micdadei*, *L. gormanii*, *L. anisa* 등이, 원예용 토양에서는 *L. longbeachae*가 주로 분리되는 것으로도 나타났다 (14). 국내자료로는 2008년 질병관리본부가 13개 시·도 환경수계시설별 레지오넬라균의 분포를 발표하였는데, *L. pneumophila* sg 1이 전체분리균주의 47.2%로 가장 높은 분리율을 보였으며, 다음으로 *L. pneumophila* sg 5와 sg 6이 각각 10%와 9.7% 순으로 나타났다. 또한 non-*L. pneumophila* species도 전체분리주의 14.5%를 차지하였는데 여기에는 *L. anisa*, *L. bozemanii*, *L. spiritensis*, *L. dumoffii*, *L. rubrilucens* 등 다양한 종들의 존재가 확인되었다 (15). 본 연구결과에서도 *L. pneumophila* sg 1이 전체분리균주 81주 중 33주 (40.7%)를 차지하였으며, sg 5와 sg 6은 8주 (9.8%)와 7주 (8.6%)로 확인되었다. 나머지 혈청군에 대한 실험이 행해지지 않아 정확한 비교는 될 수 없었지만, 냉각탑수와 온수시설을 구분하여 비교하여 볼 때, 두 곳 모두에서 *L. pneumophila* sg 1의 검출률이 가장 높았으며, 냉각탑수보다는 온수시설에서 *L. pneumophila* sg 5와 sg 6의 우세한 검출률을 확인할 수 있었다. 그리고 균종의 확인은 이뤄지지 않았으나, non-*L. pneumophila* species가 20주 (24.7%)를 차지하여 전국적인 데이터와 마찬가지로 광주지역에서도 다양한 균종의 레지오넬라균이 분포하고 있는 것으로 생각된다. 또한, 가장 높은 검출률을 보인 *L. pneumophila* sg 1 분리균주를 대상으로 분자생물학적 유연관계를 규명하고자 PFGE를 실시한 결과, 총 11개의 유형으로 구분할 수 있었으며, 냉각탑수 유래균주와 온수시설 유래균주들이 별도의 유형을 이루는 것을 확인할 수 있었다. 따라서, 향후 환자 발생시 감염원의 확인에 유용한 검사법의 하나로 PFGE가 사용될 수 있으리라

생각된다. 다만, 몇 개의 예외적인 균주가 존재하고 다른 연구자의 결과에서도 서로 간의 역학적인 관련성이 없는 것으로 판단되는 균주들 사이에도 PFGE 절단 양상이 동일한 것으로 확인되어, PFGE 결과에 대한 신중한 해석이 요구되어야 할 것으로 생각된다 (16~19).

광주지역 4개의 공중목욕장을 표본시설로 정하여 2개월 간격을 두고 9차례에 걸쳐 레지오넬라균 오염여부를 조사한 결과, 4개 표본시설 모두 매회 1개 이상의 검체에서 레지오넬라균이 검출되었다. 이와 같은 결과로 공중목욕장의 수계시스템이 냉각탑수와 달리 레지오넬라균의 연중 감염원임을 추정할 수 있겠다. 검체별로는 수도온수, 수도꼭지, 샤워헤드 순으로 높은 검출 빈도를 나타내었다. 수도꼭지와 샤워헤드의 내부는 습하고 이물질이 축적되기 쉬우며, 세척 또한 용이하지 않아 레지오넬라균이 서식하기 좋으므로 균 검출률이 높았던 것으로 생각된다. 또한, 각 표본시설별로 분리된 균주의 혈청군을 살펴본 결과, 4개 시설 중 2곳에서는 *L. pneumophila* sg 5, 다른 2곳에서는 *L. pneumophila* sg 6의 검출률이 가장 높게 나타났다. 이중 동일한 표본시설에서 유래한 *L. pneumophila* sg 5와 *L. pneumophila* sg 6 분리균주에 대하여 PFGE를 실시하여 이들의 유연관계를 알아본 결과, 각각 96.6%와 92.3%의 높은 상동성을 확인하였다. 이와 같은 결과는 2007년 서울시내 사우나 및 찜질방을 대상으로 일정기간 레지오넬라균 오염도를 실시한 결과에서와 마찬가지로, 시설에 따라서 동일한 종의 레지오넬라균이 지속적으로 존재할 뿐 아니라 서로 다른 다양한 종이 혼재하는 경향을 보이는 것과 일치하는 결과를 확인함에 따라, 주기적으로 철저한 세척 및 수온조절 등의 관리가 요구되어야 할 것으로 생각된다 (20).

이상에서 광주지역 다중이용시설의 냉각탑수, 냉·온수시설 등 수계시스템에 대한 레지오넬라균 오염도를 조사한 결과, 일반적으로 잘 알려진 *L. pneumophila* sg 1가 이 지역에서도 높은 검출률을 보이며 이외에도 다양한 균종이 함께 분포하고 있음을 확인하였다. 특히, 공중목욕장 수계환경은 레지오넬라균의 서식에 좋은 조건을 갖춰 지속적인 균 검출이 확인되었으며, 냉각탑수와는 달리 *L. pneumophila* sg 5와 sg 6의 검출률이 높게 나타나고 이들의 PFGE 유형 또한 동일한 것으로 확인되었다. 따라서 PFGE 유형분석은 환자의 집단 발생 및 산발적 발생에 있어서 감염원과 감염경로를 추적하는데 효율적인 분자역학적 분석도구로 사용 가능할 것으로 생각된다.

다. 또한, 이러한 수계환경에 대한 모니터링은 레지오넬라균의 감염원을 찾아내고 이들에 대한 효율적인 관리방안을 모색하여 제시함으로써 환자 발생을 예방할 수 있으리라 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Fields BS, Benson RF, Besser RE. *Legionella* and Legionnaires' Disease: 25 Years of Investigation. Clin Microbiol Rev 2002; 15:506-26.
- 2) Greig JE, Carnie JA, Tallis GF, Ryan NJ, Tan AG, Gordon IR, Zwolak B, Leydon JA, Guest CS, Hart WG. An outbreak of Legionnaires' disease at the Melbourne Aquarium, April 2000: investigation and case-control studies. Med J Aust 2004;180: 566-72.
- 3) García-Fulgueiras A, Navarro C, Fenoll D, García J, González-Diego P, Jiménez-Buñuales T, Rodriguez M, Lopez R, Pacheco F, Ruiz J, Segovia M, Balandrón B, Pelaz C. Legionnaires' disease outbreak in Murcia, Spain. Emerg Infect Dis 2003; 9:915-21.
- 4) Yamamoto H, Hashimoto Y, Ezaki T. Comparison of detection methods for *Legionella* species in environmental water by colony isolation, fluorescent antibody staining, and polymerase chain reaction. Microbiol Immunol 1993;37:617-22.
- 5) Riffard S, Lo Presti F, Vandenesch F, Forey F, Reyrolle M, Etienne J. Comparative analysis of infrequent-restriction-site PCR and pulsed-field gel electrophoresis for epidemiological typing of *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains. J Clin Microbiol 1998;36:161-7.
- 6) Pruckler JM, Mermel LA, Benson RF, Giorgio C, Cassidy PK, Breiman RF, Whitney CG, Fields BS. Comparison of *Legionella pneumophila* isolates by arbitrarily primed PCR and pulsed-field gel electrophoresis: analysis from seven epidemic investigations. J Clin Microbiol 1995;33:2872-5.
- 7) Breiman RF, Butler JC. Legionnaires' disease: clinical, epidemiological, and public health perspectives. Semin Respir Infect 1998;13:84-9.
- 8) Plouffe JF Jr, File TM Jr. Update of *Legionella* infections. Curr Opin Infect Dis 1999;12:127-32.
- 9) 國立感染症研究所, 衛生省保健醫療局, 結核感染症課. 病原微生物檢出情報, Infectious Agents Surveillance Report: ISAR 2000;21:1-8.
- 10) Kim JS, Lee SW, Shim HS, Oh DK, Cho MK, Oh HB, Woo

- JH, Chong YS. Outbreak of Legionellosis in ICU of K Hospital, Korea. Korean J Epidemiol 1985;7:44-58.
- 11) Choi TY. *Legionella* Infection. Korean J Clin Microbiol 1998; 1:24-32.
 - 12) Lee HK, Park EH, Yoo JY, Oh HB, Kang YH. IgM and IgG antibody response in paired sera of 58 patients confirmed as Legionnaires' disease in 1994-2006, Korea. 2007, Abstr. 39. p. S318. Infect. Chemother.
 - 13) Yu VL, Plouffe JF, Pastoris MC, Stout JE, Schousboe M, Widmer A, Summersgill J, File T, Heath CM, Paterson DL, Cheresky A. Distribution of *Legionella* species and serogroups isolated by culture in patients with sporadic community-acquired legionellosis: an international collaborative survey. J Infect Dis 2002;186:127-8.
 - 14) Bartram J, Chartier Y, Lee JV, Pond K, Suman-Lee S. *Legionella* and the prevention of legionellosis. 2007, p.13. World health Organization. Geneva, Switzerland.
 - 15) Diversity of *Legionella* isolates from public utilizing facilities, 2008, Public Health Weekly Report, KCDC 2009;2:433-7.
 - 16) Drenning SD, Stout JE, Joly JR, Yu VL. Unexpected similarity of pulsed-field gel electrophoresis patterns of unrelated clinical isolates of *Legionella pneumophila*, serogroup 1. J Infect Dis 2001;183:628-32.
 - 17) Lawrence C, Reyrolle M, Dubrou S, Forey F, Decludt B, Goulvestre C, Matsiota-Bernard P, Etienne J, Nauciel C. Single clonal origin of a high proportion of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates from patients and the environment in the area of Paris, France, over a 10-year period. J Clin Microbiol 1999;37:2652-5.
 - 18) Thouverez M, Godard C, Leprat R, Talon D. Is pulsed-field gel electrophoresis a valuable tool to identify nosocomial cases of *Legionella pneumophila* disease? J Hosp Infect 2003; 55:254-9.
 - 19) Kim JM, Jeong SH, Seo D, Park EH, Song EJ, Choi JC, Lee EY, Chang C. Molecular strain typing of *Legionella* isolates from water in cooling towers of big building in Busan, Korea. Korean J Clin Microbiol 2004;7:38-42.
 - 20) Seung HJ, Jung JH, Kim SJ, Jin YH, Lee SM, Kim MS, Kim JG. Molecular epidemiological study of *Legionella pneumophila* isolated from water systems in Seoul. The Report of Research Institute of Public Health & Environment 2007; 43:283-93.
-