

부산지역의 냉각탑수에서 분리한 *Legionella* 속의 분포 및 특성

미생물과

박은희 · 김미희 · 차인호 · 박지현 · 민상기 · 이영숙 · 박흥식

Distribution and Characteristics of *Legionella* spp. Isolated from Cooling tower-waters in Busan

Microbiology Division

Eun-Hee Park, Mi-Hee Kim, In-Ho Cha, Jee-Hyeon Park,
Sang-Kee Min, Young-Sook Lee and Heung-Sik Park

Abstract

The *Legionellaceae* are ubiquitous in natural fresh-water habitats as well as artificial water-systems such as cooling tower-waters and air-conditioning condensers. These artificial water-systems contaminated with *Legionellaceae* are the major sources of legionellosis because of artificial water-systems provided appropriate environment to survive the *Legionellaceae*. The present study was undertaken to fine the isolation ratio, biochemical properties and serological distribution of this species in cooling tower-waters of buildings during the summer of 1998 and 1999 in Busan.

151 strains of *Legionella* spp. were isolated from cooling tower-waters in Busan. The isolation ratio of *Legionella* spp. was 41.7% in 1998 and 26.2% in 1999. 151 strains of *Legionella* spp. were classified as 116 strains of *L. pneumophila* (42.4%), 6 strains of *L. parislensis* (4.0%), 5 strains of *L. feeleii* (3.3%), 2 strains of *L. bozemanii* (1.3%), one strain of *L. gormanii* (0.7%) and one strain of *L. spiritensis* (0.7%). All *Legionella* spp. isolates required L-cysteine as growth factor and the other biochemical properties were identical as previously reported. MIC range of *Legionella* spp. isolates against erythromycin, gentamicin, roxithromycin, nalidixic acid, vancomycin, tobramycin, tetracycline, doxycycline, olendomycin, chloramphenicol and ampicillin were 0.125-0.25, 1-4, 0.125-0.25, 0.5-1, 8-32, 0.5-2, 16-64, 4-16, 0.5-8, 0.5-1 and 0.25-16 $\mu\text{g/ml}$, respectively.

Key Words : cooling tower-waters, *Legionella* spp.

서론

국내에서 *Legionella* spp.에 대한 연구는 1984년 K병원의 중환자실에서 집단으로 발생한 *L. gormanii*에 의한 비폐렴형의 레지오넬라증이 계기가 되어¹⁾, 1985년 냉각탑수에서 균 분리가 처음 시도됨으로서 시작되었다²⁾. 인체에 병원성을 일으키는 *Legionella* spp.은 그 종류가 다양하지만, 레지오넬라균 감염증의 90% 이상이 *L. pneumophila*에 의하여 유발되며, 현재까지 밝혀진 15종류의 *L. pneumophila* 혈청형 중에서 1, 4, 6이 레지오넬라균 감염증의 주원인으로 작용한다³⁾. 환자 이외에서 분리되는 즉, 자연환경이나 인공환경에서 분리되는 *L. pneumophila*의 혈청형은 균의 서식환경이나 성장에 미치는 다양한 요인에 따라 그 분포도가 달라질 수 있으며, 이러한 분포도를 조사하여 규명하는 것은 레지오넬라균 감염증 예방을 위한 역학의 기초자료로 중요한 의의를 가진다고 할 수 있다.

Legionella 속은 자연환경 뿐만 아니라, 냉각탑수, 온수 탱크 및 건물내의 급배수시설에 형성된 생물막 등과 같은 다양한 인공환경에서도 증식할 수 있다^{4,5)}. *Legionella* 속이 포함되어 있는 aerosol의 흡입으로 감염되는 레지오넬라증의 발생은 산발적이고, 하절기인 7월에서 9월 까지 주로 발생하여 계절적 양상을 띠는

데 이는 중앙냉방장치의 사용과 관련이 있으며⁶⁾, 우리나라의 성인 지역사회 폐렴의 2.3%가 *Legionella* 폐렴인 것으로 보고되고 있다⁷⁾. 1985년 이후부터 최근까지 전국 주요 도시의 냉각탑수에서 *Legionella* 속의 평균 분리율이 60% 이상으로 보고되고 있어 국내에서도 레지오넬라증의 발생 우려가 높은 편이다²⁾. 하절기에 기온의 상승과 함께 냉각탑수의 수온이 15~34℃로 높아지며, 또한 절수를 위하여 배관의 물은 제외한 채 냉각탑의 물만 교환하여 가동함으로써 냉각탑수는 레지오넬라균을 포함한 미생물의 증식에 적합한 환경이 될 뿐만 아니라, 여기서 *Legionella* 속은 남조류나 원생동물 등과 공생하기 때문에^{8,9)}, 냉각탑수는 *Legionella* 속의 증식과 확산시키는 원인이 된다^{10,11)}. 특히 여기서 발생하는 감염성의 aerosol은 레지오넬라증을 유발시킬 수 있기 때문에⁴⁾ 집단 발병의 근원지라 할 수 있다.

본 연구는 냉방기가 가동되는 하절기에 부산지역에 위치한 대형건물의 냉각탑수에서 *Legionella* 속을 분리하여 분포도와 분리된 *Legionella* 속의 생화학적 특성, 항균제 감수성 등을 조사하여, 향후 *Legionella* 속에 의한 질병 발생 시 신속한 치료와 방역을 위한 역학의 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 균분리

1998년과 1999년 6월에서 8월까지 부산 시내 대형건물 28개소를 대상으로 냉각탑수 1ℓ 이상을 무균 채수병에 채수하여 냉장상태를 유지하면서 실험실로 운반하였다. 냉각탑수 1ℓ를 0.2 μm pore size의 nitrocellulose membrane filter(φ90 mm, Millipore Co.)를 사용하여 여과기(Sartorius GmbH, Germany)로 농축하였다. 이 여액 20 ml를 멸균된 시험관에 무균적으로 취하여 여과된 membrane filter를 절단하여 넣은 다음, 강하게 혼합하였다. 또한 여과지에 부착되어 있는 균을 떼어내기 위해 초음파로 35초간 처리한 후, 50℃에서 30분간 열처리하였다¹²⁾. 열처리한 시료를 단계 희석하여 희석액 100 μℓ를 glycine, vancomycin, polymyxin B, cyclohexamide(GVPC)와 enrichment로 L-cysteine과 ferric pyrophosphate가 첨가된 buffered charcoal yeast extract (BCYE) 한천배지에 멸균 유리병으로 접종한 다음, 90% 습도를 유지한 37℃ 배양기에서 10일간 배양하였다. 배양 4일 후부터 자라 나온 회백색의 집락을 BCYE 한천배지와 혈액한천배지에 동시에 접종하여 배양할 경우, BCYE 한천배지에서는 자라지만 혈액한천배지에서는 자라지 못하는 L-cysteine 요구주를 대상으로, gram 음성의 catalase 양성인 균을 *Legionella* 속으로 추정하여, 연도별 및 월별 분리율을 조사하였고, 분포도는 모든 분리균에 대하여 혈청형으로 분류하여 조사하였다. 혈청형은 *Legionella*

O antisera (Denka Seiken Co.)을 사용하여 슬라이드 응집법으로 실시하였다.

2. *Legionella* 속 분리주의 생화학적 특성

냉각탑수에서 분리한 *Legionella* 속의 생화학적 특성 시험은 “Legionnaires” the disease, the bacterium and methodology 에 준하여 다음과 같이 실험하였다¹³⁾.

(1) Cytochrome oxidase

BCYE 한천배지에서 자란 집락 1 백금이를 Whatman No. 1 여과지 위에 놓고 ascorbic acid로 안정화된 tetramethyl phenylenediamine dehydrochloride를 점적하여 30초 이내에 강한 보랏빛으로 변하는 것을 양성으로 판정하였다.

(2) β - lactamase

BCYE 한천배지에서 자란 집락 1 백금이를 cefinase disk(BBL Co.)에 도말하여 30분간 반응시킨 후 분홍색으로 변하는 것을 양성으로 판정하였다¹⁴⁾.

(3) Hippurate 가수분해

분리균에 대한 hippurate 가수분해 실험은 Hebert 등¹⁵⁾의 방법에 준하였다. 멸균된 cap tube에 1% sodium hippurate 용액 0.4 ml를 넣고 여기에 BCYE 한천배지에서 48시간 자란 집락을 잘 현탁하여 37℃에서 20시간 배양하였다. 배양액에 3.5% ninhydrin 용액[acetone :

buthanol 1:1(v/v)] 0.2 ml를 tube의 측면을 따라 조심스럽게 첨가하고 37°C 항온수조에서 30분간 배양하였을 때 짙은 자주색 또는 보라색으로 변하는 것을 양성으로, 그렇지 않은 것은 음성으로 판정하였다. 양성 대조균으로 *L. pneumophila* ATCC 33152를 사용하였으며, 음성 대조균으로는 균을 접종하지 않은 시험관과 hippurate 대신 증류수를 넣은 시험관을 사용하였다.

(4) Whole-cell peroxidase test

Whole-cell을 이용한 combined peroxidase-catalase 시험은 Pine 등¹⁶⁾의 방법에 준하였다. 0.01 M KH₂PO₄ (pH 6.0) 용액 0.1 ml, 0.1 M EDTA disodium salt (pH 4.6) 용액 0.2 ml, o-dianisidine (1% solution in methanol, ICN biochemistry Co.) 용액 0.005 ml, 균 부유액 (absorbance at 660 nm, ≥1.0) 0.1 ml를 plastic stick으로 잘 혼합하고, 3% hydrogen peroxide (Sigma Co.) 0.1 ml를 넣어 다시 혼합한 다음, mineral oil 0.1 ml를 첨가하여 밀봉한 후 실온에서 반응이 일어나는 회백색 시험관을 수직으로 세워 60분간 방치하였다. Catalase 활성은 10분 후 표면에 거품을 형성하거나, oil 경계면을 빠르게 통과하는 작은 거품이 강하게 형성된 것을 양성으로 판정하였다. Peroxidase 활성은 거품이 강하게 형성되지 않지만 점차적으로 형성되어 물층의 표면에 다다를

때까지 시험관의 벽면을 따라 올라오면서 크기가 커지고 oil층 아래에서 거품이 멈추며, 색깔은 밝은 녹색 및 회백색에서 갈색 또는 purple-brown색으로 점차 변하는 것을 양성으로 판정하였으며, 색깔 반응은 60분까지 관찰하였다.

(5) Gelatin 액화

Gelatin의 액화여부는 Orrison 등¹⁷⁾의 방법에 준하였다. BCYE 배지의 agar 대신 3% gelatin을 첨가하여 시험관 (13×100 mm)에 분주한 후 고압증기멸균하여 4°C 냉장고에서 고형화시켰다. 24시간 배양된 *Legionella* 속을 gelatin 배지에 접종하여 35°C에서 4일간 배양한 후, 다시 4°C 냉장고에 하루정도 보관한 후 gelatin의 액화여부를 확인하였다. 음성 대조균으로는 균을 접종하지 않은 gelatin 배지를 사용하였다.

3. 항균제에 대한 최소억제농도

분리균주의 항균제에 대한 최소억제농도 시험은 BCYE를 기초배지로 한천평판 희석법으로 실시하였다¹⁸⁾. BCYE 한천배지에서 37°C, 48시간 배양하여 자란 집락을 멸균된 생리식염수에 현탁시켜 McFarland's standard No. 0.5가 되도록 탁도를 조절하였다. 이 현탁액을 각각의 항균제가 농도별로 함유된 BCYE 한천배지에 Steer's inoculator로 접종하였다. 이 때의 균 접종량은 약 3×10⁵ CFU/spot

정도이며 90% 습도를 유지하여 37°C 에서 48시간 배양하였다. 각 항균제에 대한 최소억제농도는 육안으로 균의 성장이 확인되지 않는 최저농도로 결정하였다. 모든 실험은 두 번씩 실시하였으며, 사용한 항균제는 Sigma 제품을 사용하였다. 항균제의 조제는 National Committee for Clinical Laboratory Standard의 guideline (NCCLS)에 준하였으며¹⁹⁾, 사용된 항균제의 종류와 농도 범위는 다음과 같다. Erythromycin(0.125~1µg/ml), gentamicin(0.5~8 µg/ml), roxithromycin(0.125~0.5µg/ml), nalidixicacid(0.25~2µg/ml), vancomycin(8~64µg/ml), tobramycin(0.125~1µg/ml), tetracycline(16~128µg/ml), doxycycline(4~16µg/ml), olendomycin(0.5~8µg/ml), chloramphenicol(0.5~2µg/ml), ampicillin(0.25~16µg/ml) 등 11종을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. *Legionella* 속의 분리율 및

분포도

1) 분리율

부산 시내에 위치하는 대형건물의 냉각탑수 168건 (1998; 84건, 1999; 84건)을 채수하여 냉각탑수 중의 *Legionella* 속에 대한 오염도를 조사한 결과는 Table 1, Table 2와 같다. *Legionella* 속은 1998년과 1999년에 각각 35개소와 22개소에서 분리되어 41.7%, 26.2%의 분리율을

보였으며, 분리된 균은 151주(1998; 105주, 1999; 46주)였다. 이와 같은 결과는 1985년 국내의 냉각탑수로부터 *Legionella* 속을 최초 분리했을 때의 분리율인 50~90% 보다는 다소 낮으나²⁾, 1997년 서울지역 분포도 조사에서의 분리율인 18.3% 보다는 다소 높은 분리율을 보였다²⁰⁾.

또한 월별로는 6월, 7월, 8월의 평균 분리율이 각각 16.1%, 55.4%, 30.4%로 7월에 분리율이 가장 높았다. 이것은 서울에서 냉각탑수 중의 *Legionella* 속 분리율이 8월에 가장 높았다고 보고한 이등²¹⁾의 결과와는 차이를 보였으나, 냉방기가 가동되기 시작하는 6월부터 *Legionella* 속이 분리되기 시작하여 기온이 상승하여 냉방기의 가동이 많아지는 7월과 8월에 분리율이 증가되는 경향은 동일하였다. 검출되는 *Legionella* 속의 밀도는 6월의 200 CFU/ℓ에서 8월의 4.8×10^5 CFU/ℓ이었다.

2) 혈청형별 분포도

냉각탑수에서 분리한 *Legionella* 속 151주의 혈청형을 확인한 결과는 Table 3과 같다. 분리된 151주중에서 *L. pneumophila*는 116주로 76.8%였고, 이들의 혈청형별 분포는 serogroup 1이 64주(42.4%), serogroup 2가 39주(33.6%), serogroup 5가 6주(5.2%), serogroup 6이 4주(3.4%), serogroup 13이 2주(1.7%), serogroup 7이 1주(0.9%)의 순이었다. *L. pneumophila*

Table 1. Isolation ratio of *Legionella* spp. isolated from cooling tower-waters by year

Year	No. of samples	Isolation ratio(%)
1998	84	35 (41.7)
1999	84	2 (26.2)

Table 2. Isolation ratio and density of *Legionella* spp. from cooling tower-waters by month

Year	Month	Isolation ratio (%)	Density (CFU/ ℓ)
1998	6	14.3	200 ~ 27,000
	7	78.6	400 ~ 160,000
	8	32.1	200 ~ 480,000
1999	6	17.9	2,000 ~ 8,000
	7	32.1	200 ~ 40,000
	8	28.6	8,000 ~ 19,000

Table 3. Serological type of *Legionella* spp. isolated from cooling tower-waters

Species	No. of isolated strains (%)	
	1998	1999
<i>L. pneumophila</i> serogroup 1	46 (43.8)	18 (39.1)
serogroup 2	29 (27.6)	10 (21.7)
serogroup 5	4 (3.8)	2 (4.3)
serogroup 6	4 (3.8)	0
serogroup 7	0	1 (2.2)
serogroup 13	0	2 (4.3)
<i>L. feeleii</i>	0	5 (10.9)
<i>L. bozemanii</i>	1 (0.9)	1 (2.2)
<i>L. gormanii</i>	1 (0.9)	0
<i>L. parislensis</i>	3 (2.9)	3 (6.5)
<i>L. spiritensis</i>	0	1 (2.2)
<i>Legionella</i> like organism ^a	17 (16.2)	3 (6.5)
Total isolates of <i>Legionella</i> spp.	105	46

^a *Legionella* like organism were not identified by tested serological type.

외에 인체 병원성으로 알려져 있는 *L. feeleii*, *L. bozemanii* 및 *L. gormanii*가 각각 5주, 2주, 1주 분리되었고, 현재까지 국내에서 분리보고가 없는 *L. parislensis*와 *L. spiritensis*가 각각 6주와 1주 분리되었다. 사용한 항혈청으로 확인되지 않은 *Legionella* like organism이 20주 분리되어 비교적 다양한 *Legionella* 속이 분포하였다. 또한 동일한 검체에서 다른 *Legionella* sp. 및 혈청형이 동시에 분리되어서 *Legionella* 속이 함께 공존하고 있음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 1985년 성 등²⁾이 서울지역의 냉각탑수에서 분리한 *L. pneumophila*의 분리율 및 혈청형 분포에 관한 보고 결과와는 다소 차이를 보였다. 성 등²⁾은 분리된 *Legionella* 속 68주 중 63주인 94.2%가 *L. pneumophila*였으며, 이들의 혈청형 별로는 serogroup 1이 28주(41.2%), serogroup 2가 2주(2.9%), serogroup 3, 5, 6이 각각 1주(1.5%)의 순이었다고 보고하여 혈청형 serogroup 1을 제외한 다른 혈청형의 분포는 본 연구와 상이하였다. 또한 호수, 강, 하천 등의 자연환경에서 분리되는 *L. pneumophila*의 혈청형이 serogroup 1(63.8%), serogroup 4(27.7%), serogroup 2, 6(4.3%), serogroup 3(2.1%)의 순으로 보고한 Fliermans 등²²⁾의 결과와 혈청학적인 분포 면에서 다소의 차이를 보였으나, 환경으로부터 *L. pneumophila*의 분리율은 성 등²⁾의 결과 뿐만 아니라 Fliermans 등²²⁾의 결과와도 유사하였다. 세계적으로 발생되고 있는 *L. pneumophila*

에 의한 레지오넬라증의 95% 이상은 *L. pneumophila* serogroup 1이 원인인 것으로 알려져 있고²³⁾, 또한 다양한 환경에서 *L. pneumophila*가 분리되고 있을 뿐만 아니라, 본 균을 포함하는 aerosol의 흡입이 레지오넬라증을 야기한다는 다수의 역학조사 결과가 보고되고 있다³⁾. 이와 같이 선행연구자들이 보고한 결과들과 냉각탑수에서 *L. pneumophila*의 높은 분리율과 serogroup 1이 높은 분포를 나타낸 본 연구결과를 고려해 볼 때, 도심지에 많은 냉각탑은 레지오넬라증을 유발할 수 있는 원인으로 작용할 수 있고, 본격적으로 냉각탑이 가동되는 하절기에는 주위 생활인들의 *Legionella* 감염증이 심히 우려되고 있다. 따라서 *Legionella* 속에 대한 지속적인 홍보와 냉각탑수에 대한 자체소독 및 관리 등으로 레지오넬라균을 감소시키는 것이 레지오넬라증 발생을 최소화 할 수 있는 가장 중요한 방법이라 사료된다.

2. 분리된 *Legionella* 속의 생화학적 특성

분리된 *Legionella* 속은 운동성이 있는 무포자의 그람음성균이었고, 전형적인 *Legionella* 속의 형태인 긴 사상체(Fig. 1, A) 또는 단간균(Fig. 1, B)으로 관찰되었으며, *L. pneumophila*로 동정된 균의 주사전자현미경으로 관찰시 1개의 극편모를 확인할 수 있었다(Fig. 2).

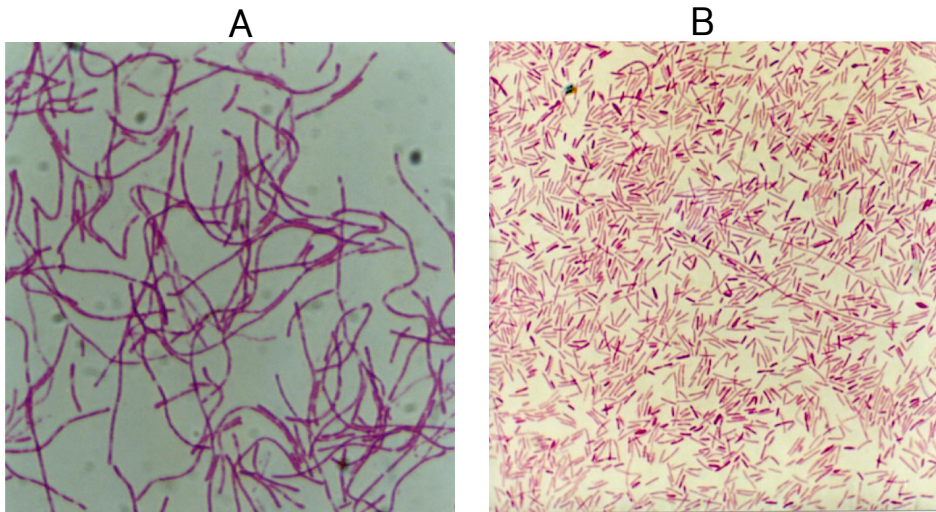


Fig. 1. Carbol fuchsin-stained *Legionella* spp. isolated from cooling tower-waters grown on BCYE agar, after incubation at 35°C for 2 days. A, filamentous form; B, short rod form($\times 1,000$).

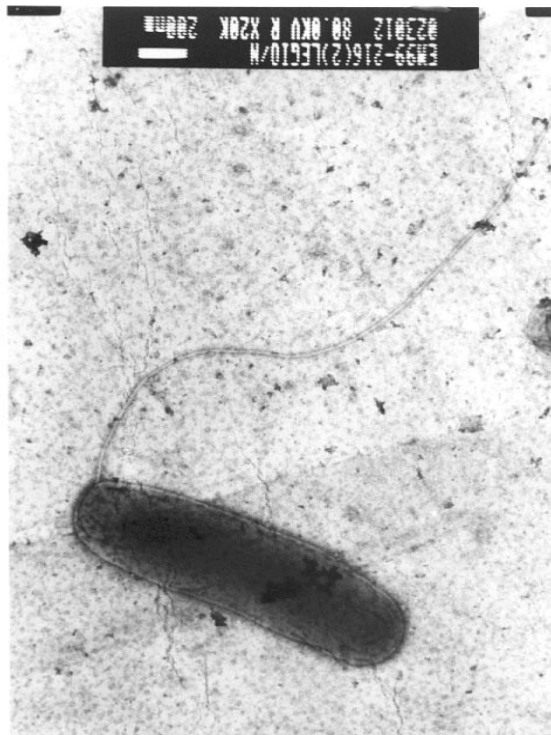


Fig. 2. Transmission electron micrograph of *L. pneumophila* isolated from cooling tower-waters($\times 20,000$).

분리된 151주 모두 BCYE 한천배지에서는 성장하였으나 혈액한천배지에서는 자라지 못하여 성장인자인 L-cysteine 요구주임이 확인되었다(Table 4). *L. pneumophila*는 hippurate를 가수분해할 수 있는 능력을 가지기 때문에 *Legionella* 속으로부터 본 균을 감별하기 위한 실험으로 hippurate 가수분해시험이 널리 이용된다^{16,17)}. 본 연구에서는 분리된 *L. pneumophila*와 *L. feeleii* 모두가 hippurate를 가수분해하여 Brenner 등²⁴⁾이 냉각탑수에서 분리한 *L. feeleii*가 hippurate를 가수분해하였다는 연구 결과와 동일하였다. 따라서 hippurate 가수분해시험만으로는 *Legionella*

속 중에서 *L. pneumophila*를 감별하기에는 어려움이 있는 것으로 사료된다. Whole-cell을 이용한 combined catalase-peroxidase 시험에서 116주의 *L. pneumophila*와 6주의 *L. parislensis* 분리주 모두가 중정도 이상의 강한 peroxidase 활성을 보인 반면, catalase 활성에는 음성반응을 나타내었으며, *L. gormanii*의 경우, 중정도 이상의 catalase와 peroxidase 활성을 가지고 있었다. Gelatin 액화능과 β -lactamase 활성에서는 *L. feeleii* 분리주를 제외한 모든 분리균이 양성 반응을 보여 *Legionella* 속으로부터 본 종을 감별하는 유용한 생화학적 시험으로 사료된다.

Table 4. Biochemical characteristics of *Legionella* spp. isolated from cooling tower-waters

Test	Positive reaction(%)						LLO* (n=20)
	<i>L. pneu- mophila</i> (n=116)	<i>L. paris- lensis</i> (n=6)	<i>L. feeleii</i> (n=5)	<i>L. spiri- tensis</i> (n=1)	<i>L. gor- manii</i> (n=1)	<i>L. boze- manii</i> (n=2)	
Growth on BCYE agar	100	100	100	100	100	100	100
Growth on BAP	0	0	0	0	0	0	0
Oxidase	71	100	0	100	0	100	100
β-lactamase	100	100	0	100	100	100	100
Hippurate hydrolysis	100	0	100	0	0	0	0
Combined peroxidase	100	100	40	0	100	0	90
catalase	0	0	60	100	100	100	100
Gelatin liquefaction	100	100	0	100	100	100	100

* *Legionella* like organism were not identified by tested serological type.

n, number of tested strains.

3. 항균제에 대한 최소억제농도

Legionella 속 분리주 중에서 혈청형이 확인된 94주에 대하여 한천평판희석법으로 실시한 각종 항균제에 대한 최소억제농도 결과는 Table 5와 같다.

레지오넬라증의 치료제로 알려져 있는 erythromycin은 공시한 *Legionella* 속 전부에 대해 0.125~0.25 µg/ml 범위의 최소억제농도를 나타내었다.

특히 분리된 *L. pneumophila*의 erythromycin에 대한 최소억제농도는 평균 0.24 µg/ml로 분리된 다른 균 종의 최소억제농도보다 다소 높았으나, Schülin 등²⁵⁾이 임상에서 분리한 *L. pneumophila*의 erythromycin에 대한 최소억제농도 결과와는 유사하였다. *Legionella* 속 분리주의 gentamicin에 대한 최소억제농도는 1~4 µg/ml, roxithromycin에 대하여 erythromycin

Table 5. MICs of *Legionella* spp. isolated from cooling tower-waters to eleven antimicrobial agents

Antimicrobial agents	Minimum inhibitory concentration (µg/ml) for										
	<i>Legionella</i> spp. isolates										<i>L.pneumo- phila</i> ATCC 33152
	<i>L.pneumo- phila</i> (n=79)		<i>L.feeleii</i> (n=5)		<i>L.boze- manii</i> (n=2)		<i>L.parislen- sis</i> (n=6)		<i>L.gor- manii</i> (n=1)	<i>L.spiri- tensis</i> (n=1)	
GM*	Range	GM	Range	GM	Range	GM	Range				
Erythromycin	0.24	0.125-0.25	0.125	0.125	0.125	0.125	0.25	0.125-0.25	0.125	0.125	0.125
Gentamicin	2.81	2-4	1.8	1-4	4	4	2.67	2-4	4	1	2
Roxithromycin	0.2	0.125-0.25	0.125	0.125	0.125	0.125	0.21	0.125-0.25	0.125	0.125	0.125
Nalidixic acid	0.84	0.5-1	0.8	0.5-1	0.75	0.5-1	0.75	0.5-1	1	1	1
Vancomycin	19.6	8-32	28.8	16-32	24	16-32	24	16-32	8	8	16
Tobramycin	1.34	0.5-2	0.6	0.5-1	1.5	1-2	0.83	0.5-1	1	0.5	0.5
Tetracycline	59.9	32-64	64	64	48	32-64	64	64	32	16	64
Doxycycline	6.43	4-16	4	4	6	4-8	6.67	4-8	8	4	4
Olendomycin	7.39	4-8	1.5	0.5-4	1	1	8	8	4	0.5	2
Chloramphenicol	0.93	0.5-1	0.7	0.5-1	1	1	0.83	0.5-1	1	0.5	0.5
Ampicillin	6.07	0.25-16	0.55	0.25-1	2.12	0.25-4	4.33	2-8	2	0.25	16

* Geometric mean. n, number of tested strains.

에 대한 농도와 동일한 0.125~0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 범위의 최소억제농도를 나타내었으며, nalidixic acid에 대하여 0.5~1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, vancomycin에 대하여 8~32 $\mu\text{g}/\text{ml}$, tobramycin에 대하여 0.5~2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, tetracycline에 대하여 16~64 $\mu\text{g}/\text{ml}$, doxycycline에 대하여 4~16 $\mu\text{g}/\text{ml}$, olendomycin에 대하여 0.5~8 $\mu\text{g}/\text{ml}$, chloramphenicol에 대하여 0.5~1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ampicillin에 대하여 0.25~16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 범위의 최소억제농도를 나타내었다.

냉각탑수에서 분리된 79주의 *L. pneumophila*는 *L. pneumophila* ATCC 33152와 공시한 항균제에 대해 유사한 범위의 최소억제농도를 나타내었으며, *L. spiritensis*의 경우는 다른 균 중에 비해 공시 항균제에 대한 최소억제농도가 전반적으로 낮게 나타났다.

1981년 Orrison 등¹⁷⁾은 환경 유래 *L. pneumophila* 38주에 대한 최소억제농도 검정 결과 erythromycin, doxycycline 및 ampicillin에 대하여 각각 0.12~0.5, 8 및 0.5~4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도 범위를 나타내었으며, chloramphenicol과 gentamicin에 대하여는 각각 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 최소억제농도를 나타내었다고 하였다. 또한 Edelstein과 Meyer 등²⁶⁾은 33주의 *L. pneumophila* 임상 분리주들의 항균제에 대한 최소억제농도 범위는 gentamicin, doxycycline, chloramphenicol 및 ampicillin에 대하여 각각 0.25~2, 1~8, 0.5~1 및 0.5~4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도 범위를 나타내었다고 보고한 바, 본

시험결과는 이들의 결과와 유사하였다. *L. pneumophila*에 대한 이러한 결과는 20년 전의 환경 유래 분리주와 현 시점에서 분리되는 환경 유래 분리주의 항균제에 대한 변화가 거의 없다는 것을 의미하며 항균제 내성화로 인한 치료상의 어려움은 없을 것으로 사료된다.

요 약

1998년과 1999년 6월에서 8월까지 부산에 위치한 대형건물 28개소를 대상으로 총 168건의 냉각탑수에서 *Legionella* 속을 분리하여, 분리율, 분포도 및 생화학적 특성을 조사한 결과는 다음과 같다.

Legionella 속의 연도별 분리율은 1998년에 41.7%와 1999년에 26.2%였고, 월별로는 6월에서 8월까지 각각 16.1%, 55.4%, 30.4%가 분리되어 7월에 가장 높은 분리율을 보였다. 검출 균량은 6월의 200 CFU/l에서 8월의 480,000 CFU/l의 범위였으며, 모두 151주의 *Legionella* 속이 분리되었다. 분리된 151주의 *Legionella* 속 중에서 76.8%인 116주가 *L. pneumophila*였으며, 이외 *L. feeleii*, *L. bozemanii*, *L. gormanii*, *L. parislensis* 및 *L. spiritensis* 등이 분리되어 비교적 다양한 *Legionella* 속이 분포함을 알 수 있었다. 또한 분리된 151주 모두는 L-cysteine을 성장인자로 요구하였고, 간균 또는 긴 사상체의 그람음성균

으로 관찰되어 전형적인 *Legionella* 속의 특성을 나타내었고, hippurate가수분해는 *L. pneumophila*와 *L. feeleii* 만이 양성 반응을 나타내었다. 분리된 *Legionella* 속의 erythromycin, gentamicin, roxithromycin, nalidixic acid, vancomycin, tobramycin, tetracycline, doxycycline, olendomycin, chloramphenicol, ampicillin에 대한 최소억제농도의 범위는 각각 0.125~0.25, 1~4, 0.125~0.25, 0.5~1, 8~32, 0.5~2, 16~64, 4~16, 0.5~8, 0.5~1, 0.25~16 $\mu\text{g/ml}$ 였다.

참고문헌

1. 김정순, 이성우, 심한섭, 오대규, 조민기, 오희복, 우제홍, 정윤섭 : 1984년 7월 K병원중환자실을 중심으로 발생한 비폐렴성 legionellosis (Pontiac fever)에 관한 연구. *한국역학회지*, 7: 44~58, 1985.
2. 성원근, 이용우, 오현주, 이명숙, 박미연, 오희복, 박경석 : Cooling tower에서 분리된 레지오넬라균의 특성에 관한 연구. *국립보건원보*, 22: 105~114, 1985.
3. Stout, J. E., and V. L. Yu : Legionellosis. *N. Engl. J. Med.*, 337: 682~687, 1997.
4. Negron-Alvira, A. I. Perez-Suarez, and T. C. Hazen : *Legionella* spp. in Puerto Pico cooling towers. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54: 2331~2334, 1988.
5. Marrao, G. A., A. Verissimo, R. G. Bowker, and M. S. Dacosta : Biofilms as major sources of *Legionella* spp. in hydrothermal areas their dispersion into stream water. *FEMS Microbiol. Ecology.*, 12: 25~33, 1993.
6. Stout, J. E., and V. L. Yu, P. Muraca, J. Joly, N. Troup, and L. S. Tompkins : Potable water as a cause of sporadic cases of community acquired Legionnaires' disease. *N. Engl. J. Med.*, 326: 151~155, 1992.
7. 김민자, 정희진, 손장욱, 심희선, 박대원, 박승철, 우준희, 강재영, 김유겸, 신완식, 김양리, 이환중, 김지희 : 성인 지역사회 폐렴의 원인 미생물에 대한 전향적 대기관 연구, *Legionella, Leptospira, Hantaan virus and Orientia tsutsugamushi*. *감염*, 33: 24~31, 2001.
8. Tison, D. L., D. H. Pope, W. B. Cherry, and C. B. Fliermans : Growth of *Legionella pneumophila* in association with blue green algae (Cyanobacteria). *Appl. Environ. Microbiol.*, 39: 456~459, 1980.
9. Barker, J., M. R. Brown, P. J. Collier, I. Farrell, and P. Gilbert :

- Relationship between *Legionella pneumophila* and *Acanthamoeba polyphaga*: Physiological status and susceptibility to chemical inactivation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58: 2420~2425, 1992.
10. Yon, C. S., J. W. Suh, J. H. Chang, Y. H. Lim, C. H. Lee, Y. S. Lee, and Y. W. Lee : AL072, A novel anti-*Legionella* antibiotic produced by *Streptomyces* sp. *J., Antibiot.*, 48: 773~779, 1995.
 11. States, S. J., L. F. Conley, J. M. Kuchta, B. M. Oleck, M. J. Lipovich, R. S. Wolford, R. M. Wadowsky, A. M. McNamara, J. L. Sykora, G. Keleti, and R. B. Yee : Survival and multiplication of *Legionella pneumophila* in municipal drinking water systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53: 979~986, 1987.
 12. Boulanger, C. A., and P. H. Edelstein : Precision and accuracy of recovery of *Legionella pneumophila* from seeded tap water by filtration and centrifugation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61: 1805~1809, 1995.
 13. Weaver, R. F., and J. C. Feeley : Cultural and biochemical characterization of the Legionnaires' disease bacterium, p20~25 *In* G. L. Jones, and G. A. Hébert(ed.). "Legionnaires" the disease, the bacterium and methodology. Center for Disease Control, Atlanta, Ga, 1979.
 14. Lindquist, D. S., G. Nygaard, W. L. Thacker, R. F. Benson, D. J. Brenner and H. W. Wilkinson : Thirteenth serogroup of *Legionella pneumophila* isolated from patients with pneumonia. *J. Clin. Microbiol.*, 26: 586~588, 1988.
 15. Hébert, G. A : Hippurate hydrolysis by *Legionella pneumophila*. *J. Clin. Microbiol.*, 13: 240~242, 1981.
 16. Pine, L., P. S. Hoffman, G. B. Malcolin, R. F. Benson, and G. W. Gorman : Whole-cell peroxidase test for identification of *Legionella pneumophila*. *J. Clin. Microbiol.*, 19: 286~290, 1984.
 17. Orrison, L. H., W. B. Cherry, C. B. Fliermans, S. B. Dees, L. K. McDougal, and D. J. Dodd : Characteristics of environmental isolates of *Legionella pneumophila*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 42: 109~115, 1981.
 18. Pendland, S. L., S. J. Martin, C. Chen, P. C. Schreckenberger, and L. H. Danziger : Comparison of charcoal- and starch-based media for testing susceptibilities of *Legio-*

- nella* species to macrolides, azalides, fluoroquinolones. *J. Clin. Microbiol.*, 35: 3004~3006, 1997.
19. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 3rd ed., M7~A3. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Pennsylvania, 1993.
 20. 김권범, 김우주, 김민자, 박승철, 유세화, 심희선, 함희진, 박석기 : 서울시내 대형건물의 냉각탑수의 레지오넬라균의 오염도 조사와 분자형별에 관한 연구. *감염*, 30: 207~217, 1998.
 21. 이용우, 성원근, 오현주, 오희복, 박미연, 박경석, 백승복 : *Legionella* spp. 의 감염 및 분포에 관한 연구(3): 냉각탑수내 *Legionella pneumophila* 균 오염도에 관한 연구. *국립보건원보*, 23: 297~307, 1986.
 22. Fliermans, C. B., W. B. Cherry, S. J. Smith, D. L. Tison, and D. H. Pope : Ecological distribution of *Legionella pneumophila*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41: 9~16, 1981.
 23. Montanaro-Punzengruber, J. C., L. Hicks, W. Meyer, and G. L. Gilbert : Australian isolates of *Legionella longbeachae* are not a clonal population. *J. Clin. Microbiol.*, 37: 3249~3254, 1999.
 24. Brenner, D. J., A. G. Steigerwalt, G. W. Gorman, H. W. Wilkinson, W. F. Bibb, M. Hackel, R. L. Tyndall, J. Campbell, J. C. Feeley, W. Thacker, P. Skaliy, W. T. Martin, B. J. Brake, B. S. Fields, H. V. McEachern, and L. K. Corcoran: Ten new species of *Legionella*. *Intern. J. System. Bacteriol.*, 35: 50~59, 1985.
 25. Schülin, T., C. B. Wennersten, M. J. Ferraro, R. C. Moellering, JR., and G. M. Eliopoulos : Susceptibilities of *Legionella* spp. to newer antimicrobial in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 42: 1520~1523, 1998.
 26. Edelstein, P. H., and R. D. Meyer : Susceptibility of *Legionella pneumophila* to twenty antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 18: 403~408, 1980.