

UV 소독에 의한 마이코박테리아 불활성화

Inactivation of Mycobacteria by UV Disinfection

이은숙 · 윤태호 · 이목영 · 한선희

Eun-sook Lee · Tae-ho Yoon · Mok-young Lee · Sun-hee Han

서울특별시 상수도연구소

1. 서론

마이코박테리아는 물, 토양, 에어로졸을 포함하는 모든 자연 생태계에 공통적인 부생 생물(saprophyte)이다. 특히 수원과 관련된 에어로졸뿐 만 아니라 폐수, 지표수, 지하수에서 발견되며, 영양분이 결핍된 물에서도 증식할 수 있다. *M. kansasii*, *M. avium* complex(MAC), *M. marinum*, *M. xenopi*는 기회성 병원균으로서 폐렴, 육아종 등을 일으키며 오염된 물을 섭취, 흡입하거나 상처에 접촉하면서 감염될 수 있다. 특히 MAC(*M. avium*, *M. intracellulare*)는 USEPA(United States Environmental Protection Agency)의 CCL(Contaminant Candidate List) 목록에 포함되어 있고 이는 염소에 대한 저항성, 파이프(관)에 집락을 형성하는 능력, 공중 보건상의 중요성 등 때문이다. 마이코박테리아의 세포벽은 두꺼운 지방질로 구성되어 있어 소수성 표면을 갖는다. 따라서 여러 화학 소독제에 대하여 높은 저항성을 갖는다(WHO, 2004). 특히 먹는물 소독에 주로 사용하는 염소에 대해 강한 내성을 갖는다. Talyor 등(2000)은 *M. avium* strains에 대한 유리염소 $CT_{99.9\%}$ 값이 *E. coli*보다 700~3000배 더 크다고 하였고 Le Dantec 등 (2002)은 *M. aurum*과 *M. gordonae*의 CT 값이 *E. coli*보다 염소에 대해서 각각 100배, 330배 더 저항성이 있다고 보고하였다. 이러한 연구결과는 염소소독을 한 먹는물에서 마이코박테리아가 자주 검출된다는 보고를 뒷받침해 주며, 먹는물에서 마이코박테리아 제거를 위해서는 염소이외의 다른 소독방법이 필요함을 제시한다.

UV(Ultraviolet) 소독은 염소소독에 내성이 강하여 쉽게 불활성화 하기 어려운 병원균들을 효과적으로 처리하기 위한 대체 소독방법 중의 하나이다. 특히 지아디아와 크립토스포리디움과 같은 염소에 내성이 매우 강한 원생동물을 효과적으로 불활성화할 수 있고 염소나 오존 소독과 달리 소독부산물을 발생시키지 않는다는 장점 때문에 UV 소독에 대한 관심과 연구가 급증하고 있다(USEPA, 2003). 하지만 먹는물에서 자주 검출되고 보건학적 중요성이 대두되고 있는 마이코박테리아에 대한 UV 소독 감수성에 대한 자료가 부족하고 국내에서는 연구가 거의 이루어지고 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 저압과 중압 램프의 UV 조사량에 따른 다양한 종(species)의 마이코박테리아 불활성화율을 평가하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 대상

M. avium, *M. fortuitum*, *M. intracellulare* and *M. lentiflavium* 종(species)에 대해서 UV 소독 실험을 하였고 수질지표세균인 대장균(*E. coli*)도 함께 실험하여 비교하였다.

M. avium(ATCC 35717), *M. fortuitum*(ATCC 23010), *M. intracellulare*(ATCC 700662)는 미국종균협회(American Type Culture Collection)에서 구입하였고 *M. lentiflavium*은 수돗물에서 자주 검출된 종으로 수돗물 시료에서 직접 분리하고 동정한 균주를 사용하였다. 대장균은 Bioball(B-EC9001, equivalent ATCC 11775, BTF)을 사용하였다.

마이코박테리아는 10%(vol/vol) oleic acid albumin enrichment(Difco)가 포함된 Middlebrook 7H9 broth (Difco)에 접종하여 37°C에서 5일 이상 배양하였다. 대장균은 tryptic soy broth(Difco)에 접종하여 37°C에서 하루 동안 배양하였다.

배양물은 6000 rpm에서 10분 동안 원심분리하고 멸균된 인산완충용액(pH 7.0)으로 두 번 씻어낸 다음 다시 멸균된 인산완충용액으로 재부유하여 최종 농도가 약 10^6 CFU/mL가 되게 하여 사용하였다.

2.2 UV 실험

UV 소독장치는 bench-scale collimated beam apparatus (Calgon Carbon Corp.)를 사용하였고 중압(1kW)과 저압(10W) UV 램프를 교체하면서 실험하였다. 조사량은 표준 광도계(International light IL1400A, detector SED240, International light Inc.)로 측정하였고 저압 UV 램프 조사량은 254nm에서 방출되는 빛을 측정하였고 중압 UV 램프 조사량은 200~300nm 파장에서 방출되는 빛을 측정하여 계산하였다. 셔터로 노출시간을 변화시킴으로써 UV 조사량을 조절하였다.

실험은 실온에서 이루어졌으며 각각의 세균 부유액을 10mL 씩 페트리접시에 넣고 계속적으로 교반하면서 UV를 조사하였다. 마이코박테리아는 저압, 중압 UV 각각 5, 10, 20, 50, 100mJ/cm²을 조사하였고 대장균은 저압 UV 2, 6, 8, 10mJ/cm²을 조사하였다.

2.3 미생물 접종 및 계수

UV 조사 후, 마이코박테리아 부유액을 멸균 시험관으로 옮기고 연속적으로 희석하여 M7H10 agar(Difco)에 접종하고 37°C에서 5일 이상 배양하였다. 대장균은 tryptic soy agar(Difco)에 접종하여 37°C에서 하루 동안 배양하였다. UV를 조사하지 않은 세균 부유액도 같은 방법으로 실험하여 초기 세균수를 결정하였다.

배양 후, 세균 집락수를 계수하여 UV 조사에 의한 마이코박테리아, 대장균의 불활성화율을 다음 식과 같이 계산하였다.

$$\log(N_0/N) = \text{Log inactivation}$$

N : UV 조사 후 미생물 수, N_0 : UV 조사 전 미생물 수

3. 결과

UV에 의한 마이코박테리아와 대장균의 불활성화율을 표1과 표2로 나타내었다. 대장균을 3.5로 그 불활성화 하기 위해서는 8mJ/cm²의 UV가 조사되어야 했지만 *M. fortitum*는 100mJ/cm², *M. avium*은 50mJ/cm²의 UV 강도가 필요하였다. 마이코박테리아는 종마다 다른 불활성화율을 나타내었는데 *M. lentiflavium*은 20mJ/cm² 조사시 4로그 이상의 불활성화율을 보였고 *M. intracellulare*과 *M. avium*은 3~4로그, *M. fortitum*은 2.5 로그가 불활성화 되었다.

*M. intracellulare*는 저압, 중압 UV 모두에서 5mJ/cm²의 낮은 UV 강도에서도 2log 이상 제거되었다. *M. intracellulare*를 제외한 다른 종의 마이코박테리아는 5, 10mJ/cm²의 낮은 조사강도에서는 중압이 저압 UV보다 낮은 불활성화율을 보였으나 20mJ/cm²이상의 조사 강도에서는 저압과 비슷하거나 오히려 더 높은 불활성화율을 보였다.

실험한 마이코박테리아 중에서 *M. fortitum*이 저압, 중압 UV 램프 모두에서 가장 큰 저항성을 보였다. 종마다 조금의 차이는 있으나 저압과 중압 램프 간의 소독효과는 통계적으로 유의한 차이가 없었다(p>0.05).

UV 강도와 로그불활성화율과의 관계를 가장 적절하게 설명할 수 있는 식을 평가하였다. 대장균의 경우, UV 강도와 로그 불활성화율 관계를 선형회귀식(y=kx, y: 로그불활성화율, k: 선형회귀상수, x: UV 강도; y=0.4596x, r²= 0.988)으로 설명할 수 있었다. Kumiko Oguma 등(2004)의 연구에서 대장균의 선형회귀상수가 0.44였고 Hijnen 등(2006)의 리뷰논문에서는 대장균의 선형회귀상수를 0.506 으로 나타내어 본 연구결과와 비슷하였다.

마이코박테리아의 로그불활성화율은 종마다 조금의 차이는 있었지만 20mJ/cm² 이상의 UV 강도에서 tailing이 관찰되어 선형회귀식으로 설명할 수 없었다.

Table 1. UV predicted dose for 3-log inactivation of mycobacteria and *E. coli*

UV Influence (mJ/cm ²)	Log Inactivation							
	<i>M. fortitum</i>		<i>M. avium</i>		<i>M. intracellulare</i>		<i>M. lentiflavum</i>	
	LP*	MP*	LP*	MP*	LP*	MP*	LP*	MP*
5	0.3	0.2	0.6	0.2	2.6	2.5	0.4	0
10	1.4	0.7	2.8	1.8	3.3	3.7	2.1	0.6
20	2.5	2.3	3.2	4.3	3.1	4.4	4.7	4.4
50	2.7	2.4	3.4	4.9	3.9	4.3	5.4	5.9
100	3.4	3.5	4.0	5.2	4.0	4.4	6.0	6.5

* LP : Low-Pressure UV lamp, MP: Medium-Pressure UV lamp

Table 2. Inactivation of *E. coli* by Low-Pressure UV lamp

UV Influence (mJ/cm ²)	Log Inactivation
2	0.6
5	2.5
8	3.5
10	4.7

4. 고 찰

마이코박테리아의 UV에 대한 감수성은 종마다 다른 결과를 나타내었다. 20mJ/cm²에서 *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. lentiflavum*을 모두 3로그 이상 불활성화할 수 있었지만 *M. fortuitum*은 이들 중에서도 UV에 가장 강한 저항성을 보여 100mJ/cm²를 조사해야 3로그 이상을 불활성화 할 수 있었다.

저압 UV를 5~10mJ/cm² 조사시 *M. fortuitum* 1로그, *M. avium* 2로그가 불활성화 되어 *M. fortuitum*의 strain에 따라서 3.2~8.9mJ/cm²의 UV 강도가 필요하였다는 David 등(1971, 1973)의 연구와 7mJ/cm²의 UV를 조사시 *M. avium*이 2로그 불활성화 되었다는 McCarthy와 Schaeffer(1974) 연구결과와 유사하였다(WHO, 2004).

대장균은 5mJ/cm² 에서 2.5로그, 8mJ/cm² 에서 3.5로그가 불활성화되어 3로그 불활성화하는데 7.3mJ/cm²의 UV 강도가 요구된 Wilson 등(1993)의 연구결과와 큰 차이가 없었다.

회귀식을 이용하여 마이코박테리아와 대장균을 3로그 불활성화하기 위해 요구되는 UV 조사량을 예측한 결과, 마이코박테리아는 12~66mJ/cm², 대장균은 6.5mJ/cm²의 UV 조사가 필요하여 마이코박테리아는 대장균보다 2~10배 정도의 UV 저항성을 보였다.

UV 강도와 마이코박테리아의 로그불활성화율과의 관계에서 tailing이 관찰되었다. tailing이 소독 효율성에 큰 영향을 미치지만 이 원인에 대해서는 세균의 응집, 입자와 결합, 유전자 변형 등의 여러 가지 가설들이 제시되고 있다. Tailing의 정확한 원인에 대해서는 좀 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

마이코박테리아는 종, strain 마다 매우 다른 감수성을 나타내고 있어 UV 소독시에 어떤 종을 목표로 적용할 것인지에 대한 판단이 이루어져야 하며 UV에 대한 광회복, 암회복 능력이 있는지도 함께 평가되어야 할 것이다.

참고 문헌

- Le Dantec C., Jean -Pierre Duguet, Antoine Montiel, Nadine Dumoutier, Sylvie Dubrou, and Veronique Vincent, Chlorine Disinfection of Atypical Mycobacteria Isolated from a water Distribution System, *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**(3), pp.1025-1032 (2002).
- Taylor R. H., Joseph O. Falkinham III, Cheryl D. Norton and Mark W. Lechevallier, Chlorine, Chloramine, Chlorine Dioxide, and Ozone Susceptibility of Mycobacterium avium, *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**(4), pp.1702-1705 (2000).
- Zimmer J. L. and R. M. Slawson, Potential Repair of *Escherichia coli* DNA following Exposure to UV Radiation from Both Medium- and Low-Pressure UV Sources Used in Drinking Water Treatment, *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**(7), pp.3293-3299 (2002).
- Kumiko Oguma, Hiroyuki Katayama, and Shinichiro Ohgaki, Photoreactivation of *Escherichia coli* after Low-or Medium-Pressure UV Disinfection Determined by an Endonuclease Sensitive Site Assay, *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**(12), pp.6029-6035 (2002).
- Kumiko Oguma, Hiroyuki Katayama, and Shinichiro Ohgaki, Photoreactivation of *Legionella pneumophila* after inactivation by Low- or Medium-Pressure ultraviolet lamp, *Water Research*, **38**, pp.2757-2763 (2004).
- Hayes S. L., Karen M. White, and Mark R. Rodgers, Assessment of the Effectiveness of Low-Pressure UV Light for Inactivation of *Helicobacter pylori*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**(5), pp.3763-3765 (2006).

Bohrerova Z. and K. G. Linden, Assessment of DNA damage and repair in *Mycobacterium terrae* after exposure to UV irradiation, *Journal of Applied Microbiology*, **101**, pp.995-1001 (2006).

Hijnen W.A.M., E.F. Beerendonk, G.J. Medema, Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review, *Water Research*, **40**, pp.3-22 (2006).

World Health Organization(WHO), Pathogenic Mycobacteria in water, IWA Publishing, London, UK, pp.149-159 (2004).

USEPA, Ultraviolet disinfection guidance manual, 2003.