Journal of Bacteriology and Virology 2013. Vol. 43, No. 2 p.131 – 139
http://dx.doi.org/10.4167/jbv.2013.43.2.131

Original Article

Study of the Detection of Enteric Viruses and Bacteria in Spring-water and Groundwater in Busan ('10~'11)

Seoung-Hwa Choi[1*], Jae-Eun Jeong[1], Na-Na Yun[1], Nam-Ho Kim[1], Yon-Koung Park[1] and Eun-Young Jung[2]

[1]Busan Metropolitan City Institute of Health & Environment, Busan; [2]Water Quality Institute, Water Works HQ of Busan Metropolitan City, Kyoungnam, Korea

We analyzed the occurrence of enteric viruses and bacteria at 22 places of drinkable groundwater (civil defense emergency water-supply facility), 8 places of the groundwater used for drinking water in group food services, and 10 places of spring-water. When the 40 concentrated samples were analyzed using nested RT-PCR and real-time RT PCR methods, norovirus and other enteric viruses were not detected in all samples tested. The detection percentages for total coliforms, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica* of fecal indicator were 57.5%, 22.5% and 7.5%, respectively. Colipages were not detected. These results suggest that high levels of fecal indicator bacteria in groundwater and spring-water are not directly related to occurrence of enteric viruses.

Key Words: Enteric viruses, Bacteria, Norovirus, Groundwater, Spring-water

서 론

사람의 분변에는 140종 이상의 장관계 바이러스가 존재하고 있으며 (1), 그 중 다수가 다양한 수계 환경에 노출되어 사람의 위장관계에 감염하여 질병을 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있다 (2). 이러한 바이러스는 대부분 오염된 물, 음식, 토양 등을 통해 분변-구강경로로 전파가 가능하며 (3), 특히 지하수 내에서는 바이러스의 생화학적 분해가 극소화될 수 있으며 매우 작은 크기의 바이러스는 토양을 통과하여 대수층까지 침투할 수 있는 것으로 알려져 있다 (4). 미국에서 1997년에서 1998년 동안 발생한 바이러스성 병원체와 관련된 수인성 질병의 80%가 오염된 샘물로 인한 것이었으나 (5), 1971년부터 2002년 사이에 발생한 수인성 질병의 1/3이 오염된 지하수에서 기인하는 것으로 보고되어 있다 (6).

현재 부산 지역에는 음용수로 사용 가능한 민방위비상급수시설 500여 개소가 운용 중에 있으며, 이 중 360여 개소가 주거 지역에 위치하고 있다. 수돗물을 대신하는 음용수로서 지하수에 대한 관심이 커진 가운데, 주변에서 가장 손쉽게 이용할 수 있는 지하수가 바로 민방위비상급수시설이다. 민방위비상급수시설이란 원래 전쟁, 풍수해, 수원지 파괴 등으로 상수도 공급이 중단될 시 최소한의 음용수 및 생활용수를 안정적으로 공급하기 위해서 관리하고 있는 지하수 시설이지만, 구·군에서는 민방위 지침에 따라 연 4회 정기적인 수질검사 관리를 하면서 평상시에도 시민들이 이용할 수 있도록 개방하고 있다. 또한, 보다 더 깨끗하고 좋은 물을 찾아 사찰, 등산로, 체육시설 등에 위치한 약수터를 이용하는 인구 또한 증가하고 있다. 이런 약수터의 행정적 명칭은 먹는물공동시설이라고 하며, 부산 지역에 190여 개소가 지정되어 있고, 먹는물공동시설 관리 규정에 따라 연 6회 수질검사 관리

Received: Feburay 19, 2013/ Revised: May 3, 2013/ Accepted: May 9, 2013
*Corresponding author: Seoung-Hwa Choi. Busan Metropolitan City Institute of Health & Environment, 120, Hambakbong-ro 140 beon-gil, Buk-gu, Busan, 616-842, Korea.
Phone: +82-51-309-2919, Fax: +82-51-309-2969, e-mail: csw95@korea.kr
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/license/by-nc/3.0/).

가 이루어지고 있다.

이렇듯 많은 부산 시민들이 마실 물로 즐겨 찾는 지하수(민방위비상급수) 및 약수터수(먹는물공동시설)가 먹는 물 수질 기준에 의해서 지속적으로 수질이 관리되고는 있지만, 수질 기준 항목에 없는 노로바이러스 등 장관계 바이러스의 오염에 대해서는 한번도 검증된 바가 없다. 특히 약수터수의 경우에는 주변 환경에 의해서 쉽게 수질이 오염될 우려가 있지만 아직 어느 지역에서도 약수터수 중 장관계 바이러스에 대한 조사가 이루어진 바가 없다.

따라서, 이번 연구에서는 부산 지역 민방위비상급수시설 및 약수터수 중 정기적 검사 기록상 분변 오염이 의심되는 지점을 선정하여 수질 세균 및 노로바이러스를 포함한 장관계 바이러스의 오염 여부를 조사하였으며, 더불어 대장균 파지 그리고 유기물 이화학적 지표에 대해서도 함께 분석하였다. 또한, 식중독 예방 관리의 목적으로 부산 지역에서 지하수를 단체급식에 사용하는 시설도 포함하여 이번 연구를 수행하였다. 아울러, 미생물학적으로 보다 안전한 지하수 및 약수터수를 유지하기 위한 관리 방안을 고찰해보고자 하였다.

재료 및 방법

시료 채취

노로바이러스 및 기타 장관계 바이러스의 검출 여부를 확인하기 위해 부산 지역 민방위비상급수시설 중 음용수로 사용되는 지하수 22건 및 지하수를 사용하는 단체급식시설 시료 8건(노인복지시설 4, 어린이보육시설 3, 기타 1) 그리고 약수터수 10건 등 총 40 곳의 시료를 채취하였다.

민방위비상급수시설 및 약수터는 비교적 이용 인구가 많고, 주변 환경에 의해서 오염이 우려되는 지점을 우선 선정하였다. 민방위비상급수시설 22개 지점 중 16곳은 주로 주거 지역(학교 8, 아파트단지 내 4, 공공건물 4)에 위치하였고, 4곳은 녹지 지역(주거시설 4) 나머지 2곳은 상업 지역(공공건물 2)이었다. 약수터의 경우 모두 지표수를 원수로 하고, 일일 이용객이 많은 편이면서, 비교적 다량의 현장 여과 샘플링이 가능한 곳을 우선 선정하여 채취하였다.

시료의 채취는 2010년 7월부터 2011년 7월까지 실시하였으며, 지하수에 대해서는 관정에서 직접 올라오는 원수를 대상으로 하되, 원수 채수가 불가한 경우 일부는 탱크수를 채취하였다. 약수터수의 경우 지표수를 원수로 하는 시설에 대해서만 집수정 꼭지수를 채취하였다. 현장 시료 채취에 필요한 실험 재료는 국립환경과학원 지하수 중 노로바이러스 분석지침 및 Information Collection Rule (ICR) (7)에 제시된 재료 및 시료 채취용 기구를 사용하였고, 상기 분석 방법에 준하여 시료 채취를 실시하였다. 본 연구에서는 positive charge Nanoceram filter (Argonid, USA)를 이용한 여과법을 사용하였다. 채취 기구와 연결되는 부분을 화염멸균한 뒤 필터하우징을 제외한 시료 여과 장치를 연결하고 수압이 30 PSI가 넘지 않도록 하여 약 10 ℓ 정도의 물을 흘려보낸 후 시료채취기록부에 시료번호, 지점명, 수온, 탁도, pH, 잔류염소를 측정하여 기록하였다. 그 다음, 필터하우징을 연결하고 30 PSI 이하의 압력으로 500 ℓ 이상 시료를 통과시킨 후, 필터하우징을 시료 여과 장치로부터 분리하여 멸균된 호일로 기구의 양쪽 끝 부분을 감아 주고 냉장 상태로 실험실로 운반하였다. 더불어 미생물검사 및 이화학검사를 위한 시료 1 ℓ를 멸균 채수병에 담아 냉장 상태로 실험실로 운반하였다.

미생물학적 검사

일반 세균(total colony counts), 총대장균군(Total coliforms), 대장균(*Escherichia coli*) 그리고 여시니아균(*Yersinia enterocolitica*) 검사는 먹는물공정시험방법(환경부, 2007)에 따라 실시하였으며, 일반 세균은 중온일반세균-평판집락시험법, 총대장균군 및 대장균 시험은 막여과법으로 검사하였다.

이화학적 검사

수소이온농도(pH), 잔류염소, 수온, 탁도, 암모니아성 질소, 질산성 질소 항목은 먹는물공정시험방법에 따라 수행하였고, 분석 방법과 분석에 사용한 장비는 Table 1과 같다.

바이러스의 탈리 및 농축

시료 채취 뒤 72시간 이내에 필터에 부착된 바이러스를 탈리하였다. Nanoceram 필터가 들어있는 필터하우징의 유입구와 배출구를 튜브로 연결하고 유입구는 공기압력원에, 배출구는 멸균된 유리 비커에 각각 연결하였다. 압력용기에 600 ml의 1.5% beef extract (Difco, France)

완충액(pH 9.5)을 넣고, 뚜껑을 닫은 후 압력조절밸브를 닫았다. 필터하우징의 감압 단추를 누른 상태로 압력용기의 압력조절밸브를 서서히 열어 beef extract 완충액이 필터하우징 내에 완전히 차도록 한 다음 감압단추를 통해 용액이 흘러나오기 시작하면, 감압 단추에서 손을 떼고 압력조절밸브를 닫은 후 5분간 방치하여 필터에 흡착된 바이러스를 탈리시켰다. 비커에 수집된 beef extract 완충액을 압력용기로 다시 옮겨 담고 위 과정을 2회 반복하여 총 3회의 탈리 과정을 반복 수행하였다. 비커에 수집된 최종 바이러스 탈리용액은 1 M HCl (Sigma, Germany)로 pH를 7.0~7.5 사이로 조절하였다. 탈리액이 담긴 비커에 교반막대를 넣고 교반기로 천천히 섞으면서 1 M HCl로 서서히 pH를 3.5±0.1로 맞춘 다음 30분 이상 천천히 섞은 후 침천물이 생기면 beef extract 탈리액을 2,500 × g, 4℃에서 15분간 원심분리 하였다. 원심분리 후, 상등액을 버리고 바닥의 침전물을 0.15 M 인산1수소나트륨용액 20 ml (pH 9.0~9.5)로 녹여 완전히 재부유 시키고, 이를 다시 4,000~10,000 × g, 4℃에서 10분간 원심분리한 후 침전물은 버리고 상등액을 모아 pH를 7.0~7.5로 조절하였다. 미생물의 오염을 방지하기 위해 상등액을 멸균용 필터로 여과하였다.

Table 1. Analysis items and instruments

Items	Instruments
pH	pH Meter (HACH, USA)
Residual Chlorine, Turbidity	Multiparameter (Hanna Instruments, Woonsoket, USA)
Ammonia nitrogen (NH_3-N)	UV-Vis Spectrophotometer (Varian, Cary3, USA)
Nitrate nitrogen (NO_3-N)	Ion Chromatograph (IC-3000, Dionex, USA)

바이러스 핵산의 추출

RNA를 추출하기 위해 QIAamp viral RNA Mini Kit (QIAgen, Germany)를 사용하였다. 제조자의 매뉴얼에 따라 RNA를 추출하였으며 분석 전까지 -70℃ 냉장고에 보관하였다.

노로바이러스 유전자 검출

국립환경과학원의 지하수 중 노로바이러스 분석지침(2007)에 따라 semi-nested Reverse Transciption (RT)-PCR을 수행하였으며 사용된 primer는 Table 2에 기술하였다 (8, 9). RNA template 2 μl에 2X RT-PCR Master mix 12.5 μl, 노로바이러스 RNA polymerase와 capsid 유전자에 상응하는 sense primer와 antisense primer를 각각 2 μl (10 pmol), DW 6 μl를 넣어 총 25 μl 반응액을 준비하였다. Thermal cycler (BIO-RAD, USA)를 이용하여 47℃에서 40분간 reverse transcription (RT)을 수행하고, PCR 반응은 94℃ 15분 동

Table 2. Primers used for the detection of enteric viruses using conventional RT-PCR

Genogroup	Primer	Primer Sequence (5'-3')[a]	Polarity[b]	Product size (bp)	Reference
Norovirus GI	GI-F1M	CTGCCCGAATTYGTAAATGATGAT	F	314	Kim *et al*. (8)
	GI-R1M	CCAACCCARCCATTRTACATYTG	R		
	GI-F2	ATGATGATGGCGTCTAAGGACGC	SF		
Norovirus GII	GII-F1M	GGGAGGGCGATCGCAATCT	F	313	Kim *et al*. (8)
	GII-R1M	CCRCCIGCATRICCRTTRTACAT	R		
	GII-F3	TGTGAATGAAGATGGCGTCGART	SF		
Pan-Enterovirus	EV1	CAAGCACTTCTGTTTCCCGG	F	362	Lee & Jeong (2)
	EV2	ATTGTCACCATAAGCAGCCA	R		
	EV3	CTTGCGCGTTACGAC	SR		
Astrovirus	Mon269	CAACTCAGGAAACAGGGTGT	F	449	Noel JS *et al*. (9)
	Mon270	TCAGATGCATTGTCATTGGT	R		

[a] Y=C/T, R=A/G, I=C/G/A/T
[b] F, forward primer; R, reverse primer; SF, seminested forward primer; SR, seminested reverse primer

Table 3. Kind of bacteria and antibiotic used for coliphage test

Coliphage	Host bacteria	Antibiotic solution
Somatic coliphage (X174)	*E.coli* F_{amp}	Ampicilin/streptomycin sulfate (1.5 mg/mL)
Male-specific coliphage (MS2)	*E.coli* C	Nalidixic acid (10 mg/ mL)

안 denaturation 반응시킨 뒤 94℃ 30초, 54℃ 30초, 72℃ 45초로 35 cycle을 반복한 후 72℃에서 7분간 extension으로 하였다. Nested PCR은 RT-PCR 산물 2 μl에 10X PCR reaction buffer, 2.5 mM dNTP, 20 pmol primer, 1 U *Taq* polymerase (Bioneer, Korea)를 넣어서 50 μl 반응액을 준비한 후, 94℃에서 3분간 denaturation, 94℃ 30초, 56℃ 30초, 72℃ 45초로 25 cycle, 72℃에서 7분간 extension으로 하였다. PCR 생성물은 prestaining (SYBR safe, Invitrogen, USA)된 1.5% agarose gel에서 전기영동을 수행하여(노로바이러스 GI은 313 bp, GII는 314 bp band를 확인하였다. 본 실험의 양성 대조군으로 사용된 바이러스는 노로바이러스 양성환자의 설사 변에서 노로바이러스(GI, GII)로 동정된 바이러스를 사용하였다. 노로바이러스 real-time RT-PCT을 위한 Taqman probe는 GI은 Texas Red, GII는 FAM을 사용하였고, real-time RT-PCR 반응액은 AccuPower Norovirus Quantitative PCR kit (Bioneer, Korea)의 master mix에 RNA template 5 μl을 넣어 총 50 μl이 되도록 하였다. 유전자 증폭을 위해 Excylcler^{RM}96 (Bioneer, Korea)를 이용하여 50℃에서 30분간 RT-PCR을 수행하여 94℃ 15분 동안 denaturation 반응시킨 뒤 94℃ 15초 annealing 및 extension 반응은 55℃ 1분간 수행하였다.

장관계 바이러스의 유전자 검출

엔테로바이러스 및 아스트로바이러스 핵산의 증폭을 위해 RNA template 2 μl에 각각의 바이러스 특이적 primer set가 10 pmol 씩 첨가된 18 μl PCR 반응 혼합액 (Bioneer, Korea)과 섞어주었다. 반응조건은 42℃ 45분간 reverse transcription을 수행하였고 PCR 반응은 94℃ 5분간 denaturation 94℃ 30초, 55℃ 30초, 72℃ 40초간 40 cycle, 72℃ 5분간 extension으로 수행하였다. 유전자 증폭을 위해 Thermal cycler (BIO-RAD, USA)를 이용하였다. 본 실험의 양성 대조군으로 사용된 바이러스는 환자의 설사 변에서 동정된 엔테로바이러스와 아스트로바이러스를 사용하였다.

Enzyme immunoassay (EIA)

로타바이러스 및 장 아데노바이러스의 검출을 위해서는 시료 최종 농축액을 이용해 Adenovirus and Rotavirus kit (BioFocus, Korea)를 이용하여 antigen capture EIA법으로, 제조자의 매뉴얼에 따라 수행하였다.

대장균 파지 분석

숙주 박테리아를 준비하기 위하여 항생물질이 첨가된 Trypic Soy Broth (TSB)에 각각의 박테리아를 접종하고 대수증식기가 될 때까지 37℃에서 배양하였다. 대장균 파지 종류에 따른 박테리아와 항생물질의 종류는 Table 3과 같다. 항생제가 들어있는 멸균된 2 × TSA (0.8%) 배지에 최종 농축 시료 5 ml과 4 M $MgCl_6 \cdot 6H_2O$를 0.025 ml 첨가한 후 37℃에서 5분간 반응시키고 숙주 박테리아 500 μl를 넣어 잘 섞은 후 평판 배양하였다. 37℃에서 24시간 배양한 후 플라크 수를 세었다.

결 과

채취 지점의 특성

부산 지역에서 미생물의 부적합율이 비교적 높은 민방위비상급수시설 중 음용수로 사용되는 지하수 22건 및 지하수를 사용하여 단체급식을 하는 시설 시료 8건 그리고 약수터수 10건, 총 40건의 시료를 채취하였고, 채취 지점의 특성은 Table 4에 나타내었다.

시료 채취량은 국립환경과학원 지하수 중 노로바이러스 분석지침에 따라 500 ℓ 이상을 원칙으로 하였으나, 현장 채수 여건과 탁도 등에 따라 채수량에 다소 차이가 있었다.

수소이온농도는 약수터수가 지하수에 비해 약간 낮았으며, 평균 6.9와 7.2를 나타내었다. 탁도의 경우 평균적으로 약수터수가 조금 높았으나 평균적으로 1 NTU 미만으로 양호한 상태를 나타내었다. 수온의 경우, 8.0℃에서 26.0℃ 범위로 측정되었다. 채취 지점의 개발 시기는 대

Table 4. Characteristics of sampling sites

Sample type	Item (unit)	Min	Max	Mean	S.D.[a]
Groundwater (n=30)	Sampled volume of water (liter)	150	1500	762.0	465.7
	Turbidity (NTU)	0.10	1.27	0.30	0.30
	Temperature (℃)	10.0	26.0	18.0	3.9
	pH	6.3	7.8	7.2	0.4
	Depth to aquifer (meter)	45	400	142	65.6
	Elapsed time after developing (month)	36	324	211	62.9
	Daily capacity (ton)	52	300	131	77.0
Spring-water (n=10)	Sampled volume of water (liter)	85	509	248	158.0
	Turbidity (NTU)	0.30	1.73	0.75	0.50
	Temperature (℃)	8.0	21.2	13.2	4.4
	pH	6.1	7.7	6.9	0.6
	Daily capacity (ton)	1.5	3.0	2.4	0.7
	Elapsed time after developing (month)	84	432	272	12.0
	Daily visitors (people)	50	200	140	46.9

[a] S.D.: standard deviation, [b] NTU: nephalometric turbidity unit

부분 15년 이상된 곳이었으며, 지하수 관정의 깊이는 대부분 100미터 이상이었다.

지하수 및 약수터수 중 노로바이러스와 기타 장관계 바이러스의 검사

노로바이러스의 검출을 위해 최종적으로 얻어진 40개의 지하수 및 약수터수의 농축 시료들을 nested RT-PCR 및 real-time RT-PCR법을 이용하여 분석한 결과, 40개 시료 전부에서 노로바이러스는 검출되지 않았다. 노로바이러스 분석과 더불어 40개 시료에 대해 엔테로바이러스, 로타바이러스, 장 아데노바이러스, 아스트로바이러스에 대한 분석을 함께 수행한 결과, 전 지점에서 바이러스의 존재를 확인할 수 없었다(Table 5). 또한, 별도로 설사 환자에서 획득한 노로바이러스 및 기타 장관계 바이러스 양성 분변 부유액을 이용하여 바이러스 검출 시험을 수행한 결과, 노로바이러스가 검출됨을 확인할 수 있었고 노로바이러스와 동일한 시험법으로 기타 장관계 바이러스의 검출이 가능함을 확인하였다.

수질 오염 지표 항목의 분석

먹는물 중 지표 세균 인자인 일반 세균(standard plate count bacteria)과 총대장균군(total coliforms) 및 대장균 그리고 여시니아균을 검사한 결과, 총 40개의 시료 중 22개의 시료(55.0%)가 일반 세균 기준 100 CFU/ml을 초과하였으며, 23개 시료(57.5%)에서 총대장균군이 확인되었다. 그 중 9개 시료(22.5%)에서 대장균이 검출되었다. 따라서, 40개 지점 중 32개 지점(80.0%)이 세균 지표 항목에서 먹는물 수질 기준을 만족하지 못하였다(Table 5). 또한, 평균적으로 지하수 보다 약수터수에서 지표 세균의 분포도가 높았고, 직접적인 분변 오염 지표인 대장균이 특히 약수터에 많이 검출되어 사람 및 동물의 분변 오염에 상당히 취약함을 확인할 수 있었다(Table 6). 집단급식시설 시료 8건 중 1건(12.5%)만이 일반 세균 및 총대장균군이 검출되었고 나머지 7건은 모두 먹는물 수질 기준을 만족하는 것으로 확인되었다. 또한, 여시니아균 검사 결과는 지하수에서는 30개소 모두 불검출이었으나 약수터수 10개소에 대해서는 총 3개소(30%)에서 여시니아균이 검출되었다. 또한, 암모니아성 질소는 전 지점에서 검출되지 않았으나, 지하수 4개소(13.3%)에서 질산성 질소 항목이 수질 기준치를 초과하였다. 탁도의 경우 지하수에서는 3개소(10.0%), 약수터수 중에서는 5개소(50.0%)에서 수질 기준치를 초과하는 수준을 나타내었다(Table 6).

Table 5. Detection of viral pathogens and fecal indicators

Virus and Indicator		No. positive[a] (%)		
		Groundwater (n=30)	Spring-water (n=10)	Overall (n=40)
Viral pathogen	Norovirus	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Pan-enterovirus	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Rotavirus	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Adenovirus	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Astrovirus	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Fecal indicator	TCC bacteria	14 (46.7)	8 (80.0)	22 (55.0)
	Total coliforms	14 (46.7)	9 (90.0)	23 (57.5)
	E. coli	2 (6.7)	7 (70.0)	9 (22.5)
	Yersinia enterocolitica	0 (0.0)	3 (30.0)	3 (7.5)
	Somatic coliphage	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Male-specific coliphage	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Nitrate nitrogen (NO_3-N)	4 (13.3)	0 (0.0)	4 (10.0)
	Ammonia nitrogen (NH_3-N)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Turbidity	3 (10.0)	5 (50.0)	8 (20.0)

[a] Positive; TCC (total colony counts) bacteria ≥100 CFU/ml, total coliforms and *E. coli* ≥1 CFU/100 ml, Somatic coliphage and male-specific coliphage ≥1 PFU/ml, NO_3-N ≥10 mg/ml, NH_3-N ≥0.5 mg/l, Turbidity ≥1 NTU

Table 6. Distribution of indicator bacteria of groundwater and spring water

	Grounwater (n=40)				Spring-water (n=10)			
Item (unit)	Min	Max	Mean	S.D.	Min	Max	Mean	S.D.
TCC bacteria (CFU/ml)	1	2500	358.5	595.3	15	2500	760.3	716.8
Total coliforms (CFU/100 ml)	0	95	12.8	24.7	0	1600	320.7	498.7
E. coli (CFU/100 ml)	0	23	1.2	4.7	0	700	77.3	207.6

대장균 파지의 확인

본 연구에서 40개 시료 최종 여과, 탈리 농축액으로 somatic 대장균 파지와 male-specific 대장균 파지에 대해 분석한 결과 대장균 파지가 관찰되지 않았다.

고 찰

2010년에서 2011년까지 부산 지역에서 음용수로 사용하는 지하수 30건, 등산로나 사찰 등에 위치한 약수터수 10건 총 40건의 시료를 대상으로 노로바이러스 및 기타 장관계 바이러스의 오염 여부를 조사하였다. 더불어 수질 지표 세균 및 대장균 파지 그리고 유기물 오염 지표 항목에 대해서도 분석을 수행하였다.

그 결과, 전 지점에서 장관계 바이러스는 검출되지 않았다. 2009~2010년 부산, 울산 및 경남 지역의 지하수 중 노로바이러스 오염 실태 조사 결과 지역별 검출률이 경남 32%, 부산 15% 그리고 울산 7%로 보고하였고 (10), 또한 2008년 전국에서 300개의 지하수에서 노로바이러스 검출 실태를 조사한 결과 600개의 시료 중에서 117건 (19.5%)에서 노로바이러스가 검출되었으며, 서울(64.3%), 경상남도(46.2%), 울산(37.5%), 경기도(32.9%), 경상북도(31.1%), 전라북도(27.5%), 제주도(25.0%), 부산(23.3%) 등

의 순으로 검출률을 보였다 (11). 상기 발표된 결과들은 전국 지하수 수질측정망을 통해 수질 오염도가 높은 음용 지하수 외에도 비음용 지하수를 포함하여 환경부 용역과제로 조사된 내용이었으며, 주된 검출 지역은 농업 활동이 주를 이루는 농촌 지역 및 주거 지역과 농촌의 특성이 혼합된 중소도시에서의 검출률이 92%로 대부분을 차지하였고, 그 외 전형적인 주거 밀집형의 대도시의 경우 5% 이내의 검출률을 나타내었다. 그러나, 음용수로 사용하는 서울 지역 공공 지하수 48건 중 2건(4.2%)에서 노로바이러스가 검출되었다는 보고 (12)와 대구와 광주 지역에서는 노로바이러스가 전혀 검출되지 않은 것으로 확인된 것은 (11) 비교적 주변 환경 등에 의해 지하수 오염 요인이 적은 대도시의 지하수의 경우에는 노로바이러스 등 장관계 바이러스의 오염 현황이 매우 낮음을 확인할 수 있었다.

분변 오염 지표 세균 검사 결과, 총대장균군은 57.5%, 대장균은 22.5%, 여시니아균은 7.5%의 검출률을 나타내었고 바이러스성 지표로 사용되는 대장균 파지는 검출되지 않았다. 또한, 단백질 같은 질소화합물이 분해되는 과정에서 생기는 암모니아성 질소 및 질산성 질소 항목에 대해 분석한 결과 질소화합물에 의한 비교적 최근 오염을 암시하는 암모니아성 질소는 전 지점에서 검출되지 않았으나, 비교적 과거 오염을 의미하는 질산성 질소가 지하수 4개소(10.0%)에서 수질 기준치를 초과하였다. 탁도의 경우 총 8개소(20.0%)에서 수질 기준치 1 NTU를 초과하였다. 탁도는 대부분 콜로이드 입자와 대단히 미세한 입자에 의하여 생겨나는데, 일반적으로 지표수에서는 탁도가 높을수록 바이러스의 입자들이 이런 입자들 간의 부착으로 인해 바이러스의 검출률이 높아지고 (13, 14), 대장균 파지는 사람의 바이러스와 유사한 특성을 가지고 있어 종종 장관계 바이러스의 분변 오염 근원을 좀 더 구체적으로 판단하는데 사용되었다 (1, 15). 이번 연구에서는 대상 시설이 모두 음용 용도로 사용되는 시설이었고 평균 탁도는 1 NTU 이하 수준을 나타내어 바이러스의 부착 가능성이 적었으며 대장균 파지도 모든 시료에서 확인되지 않아 장관계 바이러스의 오염 가능성은 적었던 것으로 판단하였다. 연구 대상 총 40건의 시료 중 미생물 항목에서 먹는물 수질 기준을 만족하지 못하는 비율이 32건(80.0%)으로 매우 높고, 탁도 및 유기물 등에 의한 오염원이 있는 지하수 및 약수터수가 다수 있었지만, 장관계 바이러스의 오염 여부와는 직접적으로 연관성이 없음을 확인할 수 있었다.

이번 연구에서 대상으로 한 지하수는 부산 지역에서 공공시설이면서 음용수로 이용하는 민방위비상급수이고, 주로 도심 지역의 주거단지에 위치한 시설들이어서, 최근까지는 노로바이러스 및 기타 장관계 바이러스의 오염에 대해서는 비교적 안전함을 확인할 수 있었다. 약수터수의 경우, 지하수에 비해 강우, 주변 동물 및 사람 분변 등의 오염 등에 더욱 취약하여 장관계 바이러스의 오염을 우려하였으나, 조사 결과 대상 시료 모두에서 바이러스가 존재하지 않았다. 여시니아균은 동물과 사람에서 주로 설사를 일으키고, 야생동물이 여시니아균의 보유고가 될 수 있으므로 애완견이나 야생동물의 분변에 노출될 가능성이 큰 약수터수에 대해서 먹는물 수질 기준이 명시되어 있다. 노로바이러스 역시 동물(쥐, 소)과 사람 분변 모두가 오염원이 될 수 있으므로 (16), 노로바이러스를 감시하는데 간접적인 지표가 될 수 있을 것으로 판단하였으나, 이번 연구 대상 시료에서 여시니아균을 포함해 지표세균 검출률이 비교적 매우 높았음에도 노로바이러스 및 기타 장관계 바이러스의 검출이 확인되지 않은 것은 이런 분변 오염의 세균성 지표가 지하수의 장관계 바이러스의 존재와는 통계적으로 연관성이 미약하다는 이전의 연구 결과 (4, 17, 18)들과 상통하였다.

최근 지하수에 대해 바이러스를 포함한 미생물 조사와 지하수 성분 조사를 결부지어 지하수 오염 조사 연구가 활발히 이루어지고 있지만 (10, 11, 19, 20), 아직은 노로바이러스 등의 검출 여부와 직접적으로 연관 지을 수 있는 이화학적 특성을 찾기가 어려웠다. 따라서, 방대한 조사를 통해 지하수 중의 노로바이러스 오염 가능성의 확인과 제어와 관련된 새로운 변인을 찾아야 하며 각 변인들을 통계적으로 계량화하는 작업이 요구된다고 하겠다.

하루에도 수십, 수백톤의 방대한 양의 물이 끊임없이 소비되고 채워지는 지하수의 특성상, 이에 대한 생물학적 안전성을 확인하는 일은 일종의 확률적 사안이다. 장관계 바이러스의 오염이 발견되지 않았다고 해서 그 이전과 이후에도 계속 안전하리라는 단정은 불가하다. 따라서, 지속적으로 장관계 바이러스 등 미생물에 안전한 지하수를 유지하기 위해서는 주기적 수질 데이터를 통해 지하수 오염 요인을 신속히 파악하고, 오염원 유입이 될 수 있는 관정시설의 개보수 및 주변 오염원 차단 조치가 무엇보다 중요하다고 하겠다. 또한, 필요한 경우 지하수 저장 탱크에 소독구를 설치하여 주기적으로 소독 관리가

이루어지도록 해야 한다. 약수터수의 경우에는 강우 및 인간과 동물의 활동에 의해 비교적 쉽게 미생물의 오염이 이루어 질 수 있으므로, 약수터 주변의 청결 관리와 약수터 위쪽의 출입을 자제하고 애완동물 등의 분변 관리가 철저히 이루어져야 한다. 특히, 약수터 인근에 화장실이 위치할 경우 정화조에서 누수가 없도록 철저히 관리를 해야 하며, 현재의 약수터 구조는 주로 옹달샘을 막거나, 저수조를 만들어 파이프를 연결하여 사용하는 방식이므로 소독을 실시하기 어려운 구조이나, 저수조를 통해 소독이 일부 가능한 지점은 소독을 강화할 필요가 있고, 오염원으로 인해 수질이 악화된 경우 그 영향에서 회복되는 시기를 감안하여 시민들이 마실 수 있도록 게시판에 공지하여 안전하게 약수를 음용하도록 조치해야 한다.

이번 연구는 지하수 및 약수터수의 정기적 검사 기록상 수질 지표 세균 및 유기물 오염 인자를 고려하여 오염이 우려될 만한 시설만을 대상으로 하여 연구한 결과이므로, 시료의 수가 일부 불충분하긴 하였으나 부산 지역 공공 지하수 및 약수터수에 대해 현재 국내 먹는물 수질 기준에는 포함되어 있지 않은 노로바이러스 및 기타 장관계 바이러스를 포함하여 미생물 이화학적 조사를 처음으로 실시한 결과로써 의의가 있으며, 향후 관련 연구의 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 판단한다.

참 고 문 헌

1) Leclerc H, Edberg S, Pierzo V, Delattre JM. Bacteriophages as indicators of enteric viruses and public health risk in groundwaters. J Appl Microbiol 2000;88:5-21.
2) Lee HK, Jeong YS. Comparison of total culturable virus assay and multiplex integrated cell culture-PCR for reliability of waterborne virus detection. Appl Environ Microbiol 2004;70: 3632-6.
3) Moore BE. Survival of human immunodeficiency virus (HIV), HIV-infected lymphocytes, and poliovirus in water. Appl Environ Microbiol 1993;59:1437-43.
4) Abbaszadegan M, LeChevallier M, Gerba C. Occurrence of viruses in US groundwaters. J Am Water Work Assoc 2003; 95:107-20.
5) Barwick RS, Levy DA, Craun GF, Beach MJ, Calderon RL. Surveillance for waterborne-disease outbreaks--United States, 1997-1998. MMWR CDC Surveill Summ 2000;49:1-21.
6) Reynolds KA, Mena KD, Gerba CP. Risk of waterborne illness via drinking water in the United States. Rev Environ Contam Toxicol 2008;192:117-58.
7) Fout G, Schaefer F, Messer J, Dahling D, Stertler R. ICR microbial laboratory manual, Washington D.C.: US Environmental Protection Agency, 1996.
8) Kim SH, Cheon DS, Kim JH, Lee DH, Jheong WH, Heo YJ, *et al*. Outbreaks of gastroenteritis that occurred during school excursions in Korea were associated with several waterborne strains of norovirus. J Clin Microbiol 2005;43:4836-9.
9) Noel JS, Lee TW, Kurtz JB, Glass RI, Monroe SS. Typing of human astroviruses from clinical isolates by enzyme immunoassay and nucleotide sequencing. J Clin Microbiol 1995;33: 797-801.
10) Park BJ. Survey of Norovirus from groundwater of Busan, Ulsan, Gyeongnam: Pusan National University Thesis of Graduate School; 2011.
11) Lee SG, Jheong WH, Suh CI, Kim SH, Lee JB, Jeong YS, *et al*. Nationwide groundwater surveillance of noroviruses in South Korea, 2008. Appl Environ Microbiol 2011;77:1466 -74.
12) Park SH, Kim EJ, Yun TH, Lee JH, Kim CK, Seo YH, *et al*. Human Enteric Viruses in Groundwater. Food Environ Virol 2010;2:69-73.
13) Lee GC, Jee YS, Lee CH, Lee ST. Influence of physicochemical environmental factors on the occurrence of waterborne viruses in Korean surface water. J Bacteriol Virol 2006; 36:279-85.
14) Stetler RE, Ward RL, Waltrip SC. Enteric virus and indicator bacteria levels in a water treatment system modified to reduce trihalomethane production. Appl Environ Microbiol 1984;47: 319-24.
15) Borchardt MA, Bertz PD, Spencer SK, Battigelli DA. Incidence of enteric viruses in groundwater from household wells in Wisconsin. Appl Environ Microbiol 2003;69:1172-80.
16) Ando T, Noel JS, Fankhauser RL. Genetic classification of Norwalk-like viruses. J Infect Dis 2000;181:336-48.
17) Marzouk Y, Goyal SM, Gerba CP. Prevalence of enteroviruses in ground water of Israel. Ground Water 1979;17:487-91.
18) Goyal SM, Gerba CP, Bittonn G. Distribution of coliphages in the environment: General considerations of Phage Ecology. New York: Wiley-Interscience; 1987. p. 87-123.

19) Jung JH, Yoo CH. Koo ES, Kim HM, Na Y, Jheong WH, *et al*. Occurrence of norovirus and other enteric viruses in untreated groundwaters of Korea. J Water Health 2011;9:544-55.
20) Lee H, Kim M, Lee J, Lim M, Kim M, Kim JM, *et al*. Investigation of norovirus occurrence in groundwater in metropolitan Seoul, Korea. Sci Total Environ 2011;409:2078-84.