Journal of Bacteriology and Virology 2006. Vol. 36, No. 4 p.279 – 285

한국 지표수에서 이화학적 환경 요인이 수인성 바이러스의 검출 빈도에 미치는 영향

한국수자원공사 수자원연구원 수돗물분석연구센터[1],
한국수자원공사 경남지역본부 낙동강남부권수질검사소[2], 충북대학교 자연과학대학 생명과학부[3]

이규철[1*] · 지연숙[2] · 이찬희[3] · 이상태[1]

Influence of Physicochemical Environmental Factors on the Occurrence of Waterborne Viruses in Korean Surface Water

Gyucheol Lee[1*], Younsuk Jee[2], Chanhee Lee[3] and Sangtae Lee[1]

[1]Water Research and Analysis Center, Korea Institute of Water and Environment, Korea Water Resources Corporation, Daejeon 306-711, Korea
[2]Southern Nakdong River Regional Center, Korea Water Resources Corporation, Changwon 641-190, Korea
[3]Division of Life Science, College of Natural Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Received : November 1, 2006
Accepted : November 29, 2006

In order to survey the occurrence of waterborne viruses in Korean surface water, a total of 192 water samples from July 2003 to January 2006 were collected and analyzed. The presence of waterborne viruses was investigated by total culturable virus assay (TCVA) using buffalo green monkey kidney (BGMK) cells. The results showed that 63 of 192 samples (32.8%) were positive for waterborne viruses with the average concentration of 3.1±18 most probable numbers (MPN)/100 L. The relationship between the occurrence of the viruses and the physicochemical environmental factors revealed that there was a significant correlation between the turbidity of water and the occurrence of the viruses. It was also noted that the water temperature might have some relationship with the occurrence of the viruses, as the frequency of the viruses was higher in low temperature or winter season. Therefore, the occurrence of waterborne viruses in Korean surface water might be affected by the physicochemical environmental factors such as turbidity and water temperature.

Key Words: Waterborne viruses, Total culturable virus assay, Physicochemical environmental factors

서 론

수인성 바이러스 (waterborne viruses)란 주로 지표수, 하수, 해수 등에 존재하며 물을 통해 감염되는 바이러스로, 사람 또는 동물의 장내에서 증식하고 이를 경유하여 분변과 함께 체외로 배출된다 (3,5,9,22,25,28). 수인성 장관계 바이러스는 크게 *Picornaviridae* (polioviruses, enteroviruses, coxsackieviruses, hepatitis A virus, and echoviruses), *Adenoviridae* (adenoviruses), *Caliciviridae* (noroviruses, caliciviruses, astroviruses, and small round-structured viruses), 그리고 *Reoviridae* (reoviruses and rotaviruses)로 분류되며 (12,26,27), 다양한 질병을 유발한다 (8,13).

바이러스에 감염된 환자로부터 체외로 배출된 바이러스들은 주로 분변 1 g당 10^8~10^{10} 입자의 농도로 존재한다 (10). 이러한 바이러스들이 적절한 처리를 거치지 않고 하천이나 호소로 직접 유입될 경우 상수원을 심각하게 오염시킬 수 있다 (1). 또한 이러한 바이러스는 주로 성인보다는 어린이나 노인 등 면역체계가 약한 사람들에게 치명적일 수 있으며 (6, 13,18,21), 낮은 개체수가 인체에 감염하여도 심각한 급성 질병을 일으킬 수 있으므로 매우 위험하다 (17). 이러한 바이러

*교신저자: 이규철. 360-711 대전광역시 대덕구 신탄진로 560, 한국수자원공사 수자원연구원 수돗물분석연구센터
Phone: +82-42-629-2034, Fax: +82-42-629-2079,
e-mail: devilsoldier@hanmail.net

스의 위험성으로 인해 바이러스 관련 수질 기준이 세계적으로 강화되고 있는 실정이며, 바이러스를 상수 원수에서 검출하고 모니터링하는 것은 공중보건학적 측면에서 매우 중요하게 인식되고 있다 (1,7).

한국 상수 원수에서 바이러스를 검출하기 위해 제시된 표준시험방법은 총배양성바이러스분석법 (total culturable virus assay, TCVA)이다 (4). 이 방법은 감염성 바이러스가 세포에 감염하여 세포병변효과 (cytopathic effect, CPE)를 나타내는지 여부로 바이러스를 정량하는 방법으로 비교적 많은 수인성 바이러스에 대해 감수성이 있는 원숭이 신장세포를 사용하며, 바이러스의 검출양을 100 L 당 최적확수단위 (most probable number (MPN)/100 L)로 표현한다. 이 방법은 시간이 많이 소요되고, 검사 비용이 높다는 단점이 있지만, 감염성 있는 바이러스를 정량적으로 검출할 수 있다는 장점을 가지고 있다.

본 연구에서는 2003년 7월부터 2006년 1월까지 24개 상수원수, 총 192건의 시료를 대상으로 수인성 바이러스 검출 빈도와 이화학적 환경 요인들이 이에 미치는 영향에 대해 연구하였다.

재료 및 방법

1. 조사 대상 및 기간

일 정수량이 50,000 톤 이상인 26개 정수장의 24개 상수원수를 조사 대상으로 하였으며 (Table 1), 조사 기간은 2003년 7월부터 2006년 1월까지였다. 시료 채취는 각 상수 원수에 대해 분기당 1회씩 총 8회에 걸쳐, 192건을 채수하였다.

2. 세포 및 바이러스

바이러스 배양을 위해 국립환경과학원으로부터 분양받은 Buffalo green monkey kidney (BGMK) 세포를 사용하였다. 세포배양을 위해 5% fetal bovine serum (FBS, Gibco^{TM}, Invitrogen, Grand Island, NY, USA), penicillin (Invitrogen)과 streptomycin (Invitrogen)이 각각 100 units/mL, 100 μg/mL이 포함된 MEM/L-15 배지 (Invitrogen)를 사용하였으며, 36.5±0.5℃, 5% CO_2 조건의 세포배양기에서 배양하였다. 세포병변효과 양성 대조군으로 약독화된 폴리오바이러스 3형 (poliovirus type 3)을 사용하였다.

3. 시료 채수

채수장비와 방법은 환경부의 정수처리에 관한 기준 (4)에 의거하였다. 간단히 요약하면, 200 L의 원수를 1-MDS 양전하 필터 (CUNO, Meriden, CT, USA)를 이용하여 수압이 30 psi를 넘지 않도록 채수하였다. pH, 수온, 그리고 탁도는 채수 전 측정하였으며, pH가 8.0 이상일 경우 0.1 M HCl을 이용하여 pH가 6.5~7.5로 유지되도록 하였고, 11.4 L/분 이하 유속을 유지하며 채수하였다.

4. 탈리 및 유기응집농축

멸균된 1 L의 1.5% 소고기엑기스 (beef extract, pH 9.5, 0.375% glycerin, Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 용액을 압력을 가하여 필터 카트리지로 흘러가도록 한 후, 필터가 완전히 잠기면 압력을 가하지 않고 1분간 방치하여 바이러스가 소고기엑기스 용액으로 방출되도록 하였다. 이를 회수하고 다시 주입하여 용출하는 과정을 총 2회 반복하였다. 농축을 위해 용출액을 교반기를 사용하여 거품이 생기지 않도록 적절한 속도로 섞어 주며 1 M HCl 용액을 사용하여 pH를 7.0~7.5 사이로 조정하였다. 용출액의 부피를 측정한 후 나머지 용출액의 pH를 3.5±0.1로 조정하고 실온에서 30분간 천천히 교반하였다. 2,500×g의 속도로 4℃에서 15분간 원심분리하고 상층액을 버려 침전물을 취하였다. 이를 30 mL의 0.15 M 인산1수소나트륨 용액으로 완전히 용해시키고 용액의 pH를 측정하였으며, pH를 9.0~9.5로 재적정하여 실온에서 10분간 섞어주면서 완전히 용해시켰다. 이 때 침전물이 잘 용해되지 않을 경우 1 M HCl로 pH를 7.5로 적정한 다음 완전히 용해되면 pH를 9.0~9.5로 적정하였다. 4,000×g의 속도로 4℃에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 pH를 7.0~7.5로 적정하고 실험에 사용하였다.

5. 시료 접종 및 바이러스 정량

환경부에서 제시한 표준시험방법에 따라 접종량을 계산하여 접종량이 0.04 mL/cm^{2}이 넘지 않도록 T25 세포배양용기 (Nalge Nunc, Rochester, NY, USA)에 접종하였다. 바이러스 흡착을 위해 80~120분간 세포배양기에 방치하면서 15~20분 간격으로 흔들어 주어 흡착과정 동안 배양용기의 세포가 마르지 않도록 하였다. 총 14일간 세포병변효과를 현미경으로 관찰하였으며, 시료 접종 후 4~5일 사이에 새로운 2% FBS를 함유한 MEM/L-15 배지로 교환하였다. 제1분할시료와 제2분할시료로 나누어 실험하였으며, 각 시료의 1, 2차 배양에서 모두 세포병변효과가 관찰된 것을 양성으로 판정하였고, 2차 배양에서만 세포병변효과가 관찰된 경우 3차 배양을 수행하여 2, 3차 모두 세포병변효과가 관찰될 경우 바이러스 양성으로 판정하였다. 바이러스의 농도는 미 환경보호청 (United States Environmental Protection Agency)에서 제공하는 MPN 계수 소프트웨어 (ICR MOST PROBABLE NUMBER CALCULATOR Version 1.00)를 이용해 정량하였다.

Table 1. Sampling sites and the frequency of waterborne viruses

Water systems	Sampling sites	Sources	Total	Frequency (%)
Geumgang · Seomjingang	DC	Lake	1/8	12.5
	HD1	Lake	1/8	12.5
	HD2	Lake	2/8	25.0
	BR	Lake	4/8	50.0
	GS	Lake	0/8	0.0
	BA	Lake	2/8	25.0
	JA	Lake	1/8	12.5
	DH	Lake	2/8	25.0
	GG	River	5/8	62.5
	CB	River	4/8	50.0
Nakdongang	HY	Lake	1/8	12.5
	MR	Lake	2/8	25.0
	YS	Lake	1/8	12.5
	NG	Lake	1/8	12.5
	ND	River	5/8	62.5
	BP	River	5/8	62.5
Hangang	PD1	Lake	3/8	37.5
	PD2	Lake	3/8	37.5
	PD3	Lake	5/8	62.5
	DS	Lake	3/8	37.5
	WJ	Lake	1/8	12.5
	GD	Lake	3/8	37.5
	JY	River	7/8	87.5
	CJ	River	1/8	12.5
			63/192	32.8

6. 통계분석

본 연구의 경우 바이러스 검출농도의 최저값과 최고값 사이에 심한 차이를 보였고, 불검출 된 경우가 많았으므로, 일부 낮고 높은 수치의 영향을 줄이고, 통계분석을 효과적으로 수행하기 위해 바이러스의 검출 빈도를 이용하여 환경 요인들과의 관계를 분석하였다. 통계분석은 Excel 2002 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA)를 이용하였으며, 바이러스 검출 빈도와 수소이온농도와의 상관관계 분석을 위해 Pearson 상관분석 및 회귀분석을 SPSS (SPSS version 12.0)를 이용하여 실시하였다.

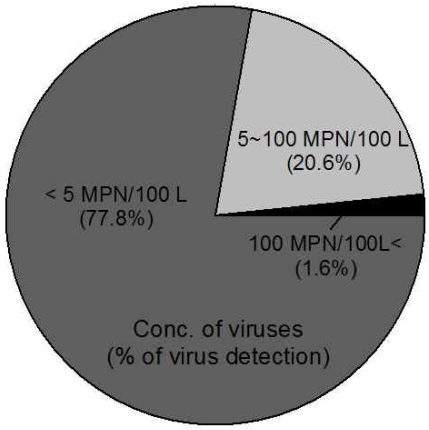

Figure 1. Concentrations of waterborne viruses occurred in Korean surface water.

결과 및 고찰

1. 수인성 바이러스의 검출

26개 정수장의 원수 24지점에 대하여 2003년 7월부터 2006년 1월까지 바이러스 분포실태조사를 실시하여, 총 192건 중 63건 (32.8%)에서 바이러스를 검출하였다 (Table 1). 바이러스가 검출된 농도는 0~240 MPN/100 L 범위였으며, 평균 검출농도는 3.1±18 MPN/100 L 였다 (Fig. 1). 바이러스가 검출된 빈도를 농도별로 살펴보면, 100 MPN/100 L 이상인 경우가 1건, 5~100 MPN/100 L 범위가 13건으로 5 MPN/100 L 이상의 농도로 바이러스가 검출된 경우는 22.2%였다 (Fig. 1). 반면 양성으로 검출된 사례 중 5 MPN/100 L 미만으로 검출된 경우가 총 49건 (77.8%)으로 대부분 시료에서 바이러스가 5 MPN/100 L 미만의 낮은 농도로 검출됨을 알 수 있었다 (Fig. 1). 본 연구의 바이러스 검출 빈도 (32.8%)는 이 등 (2)이 보고한 경우 (33.4%)와 매우 유사하였으나, 박 등 (1)이 보고한 검출 빈도 (61.9%)에 비해 비교적 낮았다. 이러한 차이는 박 등 (1)에 의한 연구는 일부 지역을 대상으로 한 것이었고, 본 연구의 경우 전국을 대상으로 수행하였으므로 지역적 차이에 의한 것이라고 판단되었다.

수계별로 바이러스 검출 빈도를 살펴보면 한강 수계에서 바이러스 검출 빈도 (40.6%)가 낙동강 수계 (31.2%)나 금강·섬진강 수계 (27.5%)의 검출 빈도에 비해 높았다 (Fig. 2). 하천수와 호소수로 분류하여 바이러스 검출 빈도를 살펴본 결과 하천수에서 검출 빈도 (56.3%)가 호소수에서의 검출 빈도 (25.0%)에 비해 2배 이상 높음을 알 수 있었다 (Fig. 2). 이는 유량이 많은 하천수에서 바이러스가 보다 많이 검출되었음을 의미하는 결과로 한국 상수원의 상당수가 하천수라는 점 (본 연구의 경우 24곳 원수 중 18곳이 하천수)을 고려

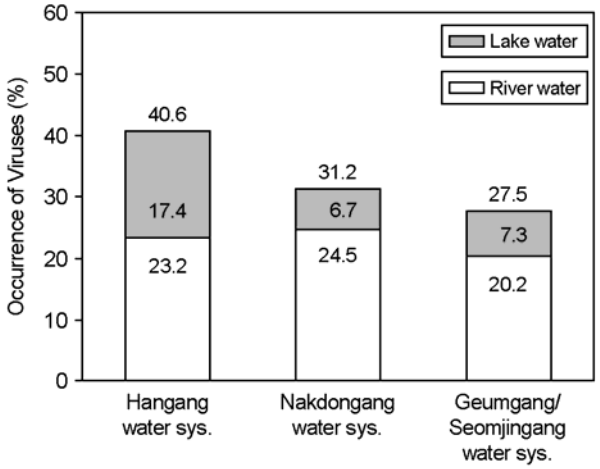

Figure 2. The distribution of waterborne viruses in various water systems in Korea and the difference of occurrence of the viruses between lake and river water.

할 때 상수 원수의 바이러스 모니터링이 매우 중요하다는 것을 나타낸다.

2. 바이러스 검출 빈도와 탁도

탁도 (turbidity)는 물의 흐림 정도를 나타내는 것으로 호소와 같이 비교적 정체된 상태에 있는 물에서의 탁도는 대부분 콜로이드 입자와 대단히 미세한 입자에 의하여 생겨난다. 본 연구의 경우, 탁도 범위는 최소 0.03 Nephelometric Turbidity Units (NTU)부터 최고 58.00 NTU였고, 평균 탁도는 7.67 NTU였다. Fig. 3A에서 보는 바와 같이 탁도가 2.08 NTU 이하였던 경우 바이러스 검출율은 13.5%였으며, 탁도가 증가할수록 바이러스의 검출 빈도가 높아져 탁도가 8.51 NTU 이상일 경우 바이러스 검출 빈도가 51.0%로 약 3.8배 증가함을 관찰할 수 있었다 (Fig. 3A). 이는 한국 지표수에서 바이러스의 검출율이 탁도에 의해 영향을 받고 있음을 의미하는 결과로, Stetler 등이 보고한 탁도와 바이러스 검출이 밀접한 상관관계가 있다는 내용과 일치하며 (29), Keswick 등이 보고한 우기에 원수의 수질이 저하되면서 건기에 비해 탁도가 6.4 NTU에서 24 NTU로 증가함에 따라 바이러스의 검출 빈도가 증가했다는 내용과 일치하는 결과였다 (19).

3. 바이러스 검출 빈도와 수소이온농도

수소이온농도는 알칼리 또는 산의 상태를 나타내는 지표 항목으로, 물 중 모든 화학적, 생물학적 변화에 매우 중요한 오염지표 항목 중 하나이다. 또한 바이러스를 농축할 때 사용되는 필터의 최적조건과 밀접한 관계를 가지고 있으므로 시료를 채취할 때 매우 중요한 인자로 작용한다. 본 연구에서 pH 6.8 이하, 6.8~7.2, 7.3~7.6, 그리고 7.7 이상으로 나누

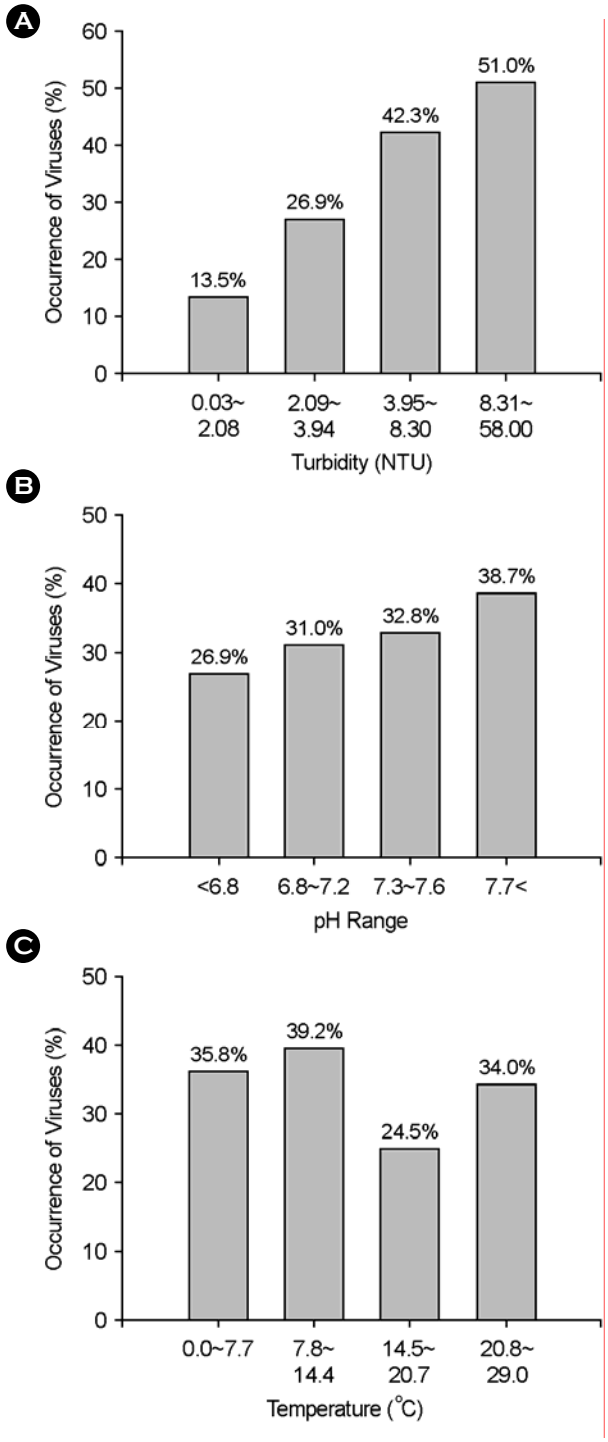

Figure 3. Relationship between the occurrence of waterborne viruses and physicochemical environmental factors; turbidity **(A)**, pH **(B)**, and temperature **(C)**.

어 바이러스의 검출 빈도를 살펴본 결과, pH 6.8 이하의 약산성에서는 바이러스의 검출 빈도가 26.9%였고, pH 6.8~7.2인 경우와 7.3~7.6사이인 경우 각각 31.0%과 32.8%였다. pH

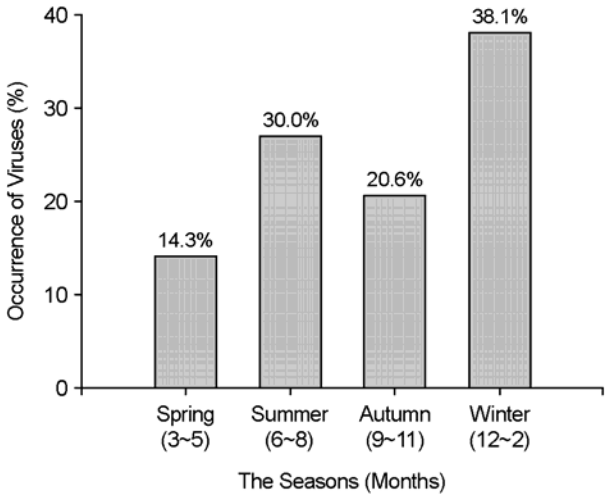

Figure 4. Seasonal variations of waterborne viruses detected by TCVA in Korean surface water.

7.7 이상인 경우 바이러스 검출 빈도가 38.7%로 가장 높았다 (Fig. 3B).

수소이온농도가 바이러스의 생존에 어떠한 영향을 주는가에 대해 아직 많은 연구가 이루어지지 않았지만, 일반적으로 수소이온농도가 증가할수록 바이러스가 탁질이나 토양에 흡착이 잘 된다는 보고가 있었으며 (15), 자연 환경 조건에서 장관계 바이러스가 매우 넓은 수소이온농도 범위 (pH 3~10)에서 생존 가능하다는 보고가 있었다 (20). 그러나 물에는 다양한 환경 요소들이 존재하므로 명확하게 수소이온농도와 바이러스의 검출 빈도에 대해 설명할 수는 없으며, 본 연구의 경우 바이러스 검출 빈도가 수소이온농도가 증가할수록 다소 증가하는 양상을 보였으나, Pearson 상관분석 및 회귀분석 결과 바이러스 검출농도와 수소이온농도는 상관관계가 없는 것으로 나타나 (상관계수 R = -0.070, 기여율 R^2 = 0.005), 수소이온농도가 바이러스와 상관관계가 있다고 설명할 수 없었다.

4. 바이러스 검출 빈도와 수온

본 연구 결과 시료 채수시 수온은 1~3월까지 평균 6℃ 이하였으며, 4월과 5월에 온도가 상승하기 시작하여, 6월부터 10월까지는 19℃ 이상을 유지하는 것으로 관찰되었다. 수온이 가장 높았던 8월의 경우 평균 22.6℃였고, 10월부터 수온이 내려가는 전형적인 계절적 특성을 보여주었다. 수온별로 바이러스 검출 빈도를 살펴보면, 비교적 낮은 수온에서 높은 빈도로 검출되었다가 (7.7℃ 이하 35.8%, 7.7~14.4℃의 경우 39.2%), 14.5~20.7℃ 사이에서 검출 빈도가 24.5%로 낮아졌으나, 20.8℃ 이상일 경우 다시 바이러스 검출 빈도가 34.0%로 높아짐을 알 수 있었다 (Fig. 3C). 낮은 수온에서 바이러스의 검출 빈도가 높았음에도 불구하고, 수온이 20.8℃ 이상일 때 바이러스 검출 빈도가 증가했던 이유는, 수온이 20.8℃ 이상일 경우 채수 시기가 하절기 우기였으므로 많은 강우에 의해 탁도가 증가함으로서 바이러스의 검출 빈도가 높아졌던 것이라 사료된다. 실제 채수 당시 수온이 20.8℃ 이상이었던 경우 평균 탁도가 12.03 NTU로 20.8℃ 미만인 경우의 평균 탁도 6.13 NTU에 비해 약 1.9배 높았다.

바이러스의 검출은 자연 환경의 조건과 매우 밀접한 관계가 있다. 바이러스의 생존에 영향을 미치는 환경 요소들로 수온, 강우량, 수소이온농도, 탁도, 토질, 강수량, 유량 등 여러 요인들이 보고되었지만 (24,30,33), 이중 특히 자연 환경에 존재하는 바이러스의 생존에 많은 영향을 주는 것은 수온이다. 낮은 수온일 경우 바이러스가 오래 생존하며 더 높은 빈도로 검출된다고 보고되었으며 (16,23,24,32), Fong 등도 낮은 수온에서 바이러스가 높은 빈도로 검출된다고 보고한 바 있다 (11). 본 연구에서도 Fig. 4에 나타낸 바와 같이 바이러스의 검출 빈도를 계절적으로 판단해도 비교적 수온이 낮은 겨울에 바이러스 검출 빈도가 36.5%로 가장 높음을 관찰할 수 있었다. 이상의 결과들은 수온이 낮을수록 바이러스의 검출 빈도가 높아진다는 것을 의미한다. 한국과 계절적 특성이 유사한 일본의 경우에도 바이러스의 검출 빈도가 여름보다 겨울철에 높다고 보고된 바 있으며, 이들은 바이러스의 검출이 지역적 특성에 따라 많은 차이가 있기 때문이라고 보고하였다 (30,31).

이상에서 살펴본 바와 같이 수온이나 탁도가 바이러스의 검출 빈도에 영향을 미치고 있음을 알 수 있었다. 바이러스에 의한 상수원의 오염은 국민의 보건에 심각한 위협이 될 수 있다. 본 연구 결과 한국 수계에서 바이러스 검출 빈도가 높지 않았으나, 수계에 존재하는 바이러스의 분포나 생존은 다양한 환경적 요인에 의해 영향을 받을 수 있으므로 국한된 일부 지역이나 단기간의 조사 결과로 바이러스의 검출 빈도 전반에 대해 예측하기가 어렵다. 한국 수계에 존재하는 바이러스들이 어떠한 환경 요인에 의해 검출 빈도나 생존에 영향을 받고 있는지에 대한 자료는 향후 정수장의 개선에도 적용될 수 있으므로 이에 대한 연구가 지속되어야 할 것으로 사료된다. 아울러 본 연구의 결과 및 바이러스의 양성 시료는 향후 분자생물학적 방법을 이용하여 바이러스의 유전형을 분석하고 오염원을 추적하는 연구 등에 중요한 자료로 활용될 것으로 기대된다.

결 론

1. 26개 정수장의 취수 원수 24지점에 대하여 총배양성바이러스분석법을 이용하여 바이러스 분포실태를 조사한 결과

총 192건 중 63건에서 바이러스가 검출되었으며, 평균 검출 빈도는 32.8%, 평균 검출농도는 3.1±18 MPN/100 L였다.

2. 수계별로 바이러스 검출 빈도를 살펴본 결과 한강 수계에서 바이러스 검출 빈도 (40.6%)가 높았으며, 하천수에서의 바이러스 검출 빈도 (56.3%)가 호소수에서의 검출 빈도 (25.0%)에 비해 2배 이상 높았다.

3. 바이러스 검출 빈도는 탁도와 밀접한 관계가 있었으며, 수소이온농도의 경우 바이러스 검출 빈도에 영향을 미친다고 판단할 수는 없었다.

4. 비교적 낮은 수온에서 바이러스의 검출 빈도가 높았고, 계절적으로 겨울에 검출 빈도가 높았다. 수온이 20.8℃ 이상이었을 경우 바이러스 검출 빈도가 높았던 것은, 여름철 우기에 의한 탁도 증가 때문일 것으로 사료된다.

Short Summary

From July 2003 to January 2006, a total of 192 surface water samples were surveyed to investigate the occurrence of waterborne viruses and the effect of environmental factors on their occurrence. Sixty three samples (32.8%) were positive for the presence of viruses and the occurrence of viruses was affected environmental factors, such as turbidity and water temperature.

사사

본 연구는 한국수자원공사 수자원연구원 수돗물분석연구센터에서 이루어졌습니다. 본 논문을 세심히 살펴주신 수돗물분석연구센터 정상기 박사님께 감사드립니다.

참 고 문 헌

1) **박홍기, 정은영, 이유정, 정종문, 최동훈, 손희종, 권기원, 홍용기:** 부산시 상수원수와 수돗물에서의 수인성 장관계 바이러스 분포조사. 생명과학회지 **13:** 197-205, 2003.

2) **이보영, 황만식, 문지영, 정 용, 신영오, 이옥재:** 서울시 수돗물과 상수원수에서의 장바이러스 검출과 탁도 발생과의 관계. 대한상하수도학회·한국물환경학회 공동추계학술발표논문집 **A-14:** 69-72, 2000.

3) **정은영, 정종문, 류재익, 신판세, 전홍기, 장경립:** 지표수로부터 세포배양-연계 PCR법에 의한 장바이러스의 검출. 생명과학회지 **10:** 484-489, 2000.

4) **환경부**: 정수처리에 관한 기준. 환경부고시 제2002-106호, 2002.

5) **Abbaszadegan M, Huber MS, Gerba CP, Pepper IL:** Detection of enteroviruses in groundwater with the polymerase chain reaction. *Appl Environ Microbiol* **59:** 1318-1324, 1993.

6) **Beller M, Ellis A, Lee SH, Drebot MA, Jenkerson SA, Funk E, Sobsey MD, Simmons III OD, Monroe SS, Ando T, Noel J, Petric M, Middaugh JP, Spika JS:** Outbreak of viral gastroenteritis due to a contaminated well: international consequences. *JAMA* **278:** 563-568, 1997.

7) **Cho HB, Lee SH, Cho JC, Kim SJ:** Detection of adenoviruses and enteroviruses in tap water and river water by reverse transcription multiplex PCR. *Can J Microbiol* **46:** 417-424, 2000.

8) **Cukor G, Blacklow NR:** Human viral gastroenteritis. *Microbiol Rev* **48:** 157-179, 1984.

9) **Dubois E, Merle G, Roquier C, Trompette AL, Le Guyader F, Cruciere C, Chomel JJ:** Diversity of enterovirus sequences detected in oysters by RT-heminested PCR. *Int J Food Microbiol* **92:** 35-43, 2004.

10) **Farthing MJG:** Viruses and the gut. Smith Kline & French, Walwyn Garden City, Hertfordshire, United Kingdom, 1989.

11) **Fong TT, Griffin DW, Lipp EK:** Molecular assays for targeting human and bovine enteric viruses in coastal waters and application for library-independent source tracking. *Appl Environ Micrbiol* **71:** 2070-2078, 2005.

12) **Fong TT, Lipp EK:** Enteric viruses of humans and animals in aquatic environments: health risks, detection, and potential water quality assessment tools. *Microbiol Mol Biol Rev* **69:** 357-371, 2005.

13) **Fout GS, Martinson BC, Moyer MW, Dahling DR:** A multiplex reverse transcription-PCR method for detection of human enteric viruses in groundwater. *Appl Environ Microbiol* **69:** 3158-3164, 2003.

14) **Fout GS, Schaefer III FW, Messer JW, Dahling DR, Stetler RE:** ICR microbial laboratory manual, Publication no. EPA/600/R-95/178, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., U.S.A., online: www.epa.gov/microbes, 1996.

15) **Gerba CP, Bitton G:** Microbial pollutants: their survival and transport pattern to groundwater. p 78. *In* Groundwater Pollution Microbiology, J. Wiley & Sons, New York, 1984.

16) **Green DH, Lewis GD:** Comparative detection of enteric viruses in wastewaters, sediments and oysters by revers transcription PCR and cell culture. *Water Res* **33:** 1195-1200, 1999.

17) **Haas CN, Rose JB, Gerba CP, Regli R:** Risk assessment of viruses in drinking water. *Risk Anal* **13:** 545-552, 1993.

18) **Harris JR, Cohen ML, Lippy EC:** Water-related disease outbreaks in the United States. *J Infect Dis* **148:** 759-762, 1983.

19) **Keswick BH, Gerba CP, DuPont HL, Rose JB:** Detection of enteric viruses in treated drinking water. *Appl Environ Microbiol* **47:** 1290-1294, 1984.

20) **Kocwa-Haluch R:** Waterborne enteroviruses as a harzard for human health. *Polish J Environ Studies* **10:** 485-487, 2001.

21) **Lawson HW, Braun MM, Glass RI, Stine SE, Monroe SS, Atrash HK, Lee LE, Englender SJ:** Waterborne outbreak of Norwalk virus gastroenteritis at a southwest US resort: role of geological formations in contamination of well water. *Lancet* **337:** 1200-1204, 1991.

22) **Le Guyader F, Dubois E, Menard D, Pommepuy M:** Detection of hepatitis A virus, rotavirus and enterovirus in naturally contaminated shellfish and sediment by reverse transcription seminested PCR. *Appl Environ Microbiol* **60:** 3665-3671, 1994.

23) **Lipp EK, Jarrell JL, Griffin DW, Lukasik J, Jacukiewicz J, Rose JB:** Preliminary evidence for human fecal contamination in ocrals of the Florida Keys, USA. *Mar Poll Bull* **44:** 666-670, 2002.

24) **Lipp EK, Kurz R, Vincent R, Rodriguez-Palacios C, Farrah SR, Rose JB:** The effects of seasonal variability and weather on microbial fecal pollution and enteric pathogens in a subtropical estuary. *Estuaries* **24:** 266-276, 2001.

25) **Muscillo M, Carducci A, La Rosa G, Cantiani L, Marianelli C:** Enteric virus detection in Adriatic seawater by cell culture, polymerase chain reaction, and polyacrylamide gel electrophoresis. *Water Res* **31:** 1980-1984, 1997.

26) **Norder H, Bjerregaard L, Magnius L, Lina B, Aymard M, Chomel JJ:** Sequencing of 'untypable' enteroviruses reveals two new types, EV-77 and EV-78, within human enterovirus type B and substitutions in the BC loop of the VP1 protein for known types. *J Gen Virol* **84:** 827-836, 2003.

27) **Oberste M, Schnurr D, Maher K, al-Busaidy S, Pallansch M:** Molecular identification of new picornaviruses and characterization of a proposed enterovirus 73 serotype. *J Gen Virol* **82:** 409-416, 2001.

28) **Papaventsis D, Siafakas N, Markoulatos P, Papageorgiou GT, Kourtis C, Chatzichristou E, Economou C, Levidiotou S:** Membrane adsorption with direct cell culture combined with reverse transcription-PCR as a fast method for identifying enteroviruses from sewage. *Appl Environ Microbiol* **71:** 72-79, 2005.

29) **Stetler RE, Ward RL, Waltrip SC:** Enteric virus and indicator bacteria levels in a water treatment system modified to reduce trihalomethane production. *Appl Environ Microbio*l **47:** 319-324, 1984.

30) **Tani N, Dohi Y, Jurumatani N, Yonemasu K:** Seasonal distribution of adenoviruses, enteroviruses and reoviruses in urban river water. *Microbiol Immunol* **39:** 577-580, 1995.

31) **Tani N, Shimamoto K, Ichimura K, Nishii Y, Tomita S, Oda Y:** Enteric virus levels in river water. *Water Res* **26:** 45-48, 1992.

32) **Wetz JJ, Lipp EK, Griffin DW, Lukasik J, Wait D, Sobsey MD, Scott TM, Rose JB:** Presence, infectivity, and stability of enteric viruses in seawater: relationship to marine water quality in the Florida Keys. *Mar Poll Bull* **48:** 698-704, 2004.

33) **Yates MV, Gerba CP, Kelley LM:** Virus persistence in groundwater. *Appl Environ Microbiol* **49:** 778-781, 1985.