

부산 지역 약수터수 및 지하수의 노로바이러스 검출 특성 연구('10~'11)

최성화[†] · 황인정 · 정재은 · 정경원 · 윤나나 · 김남호 · 박연경
수질보전과

Detection of Norovirus in Spring-water and Groundwater in Busan

Seong-Hwa Choi[†], In-Jeong Hwang, Jae-Eun Jeong, Kyung-Won Jung, Na-Na Yun, Nam-Ho Kim and Yon-Koung Park
Water Preservation Division

Abstracts

We analyzed in order to monitor the occurrence of norovirus and other enteric virus at 22 places of drinkable groundwater (civil defense emergency water-supply facility), 8 places of the groundwater using as a drinking water in a group food service and 10 places of a spring-water. As a result that analyzed 40 concentrated samples obtained finally by using nested RT-PCR and Real-Time RT PCR method, a norovirus was not detected in all the target samples. And an existence of virus could not be confirmed even in the results regarding other enteric virus (enterovirus, rotavirus, adenovirus, astrovirus) by RT-PCR and antigen capture EIA (Enzyme immuno assay). As a result of indicator organism of fecal pollution, total coliforms showed a detection ratio of 57.5 %, *E. Coli* 22.5 % and *Yersinia enterocolitica* 7.5 %. And a coliphage was not detected. 32 of 40 samples (80.0%) did not meet drinkable water quality standards under the indicator items of bacteria and organic matter, but it was confirmed not to be directly related to detection of pollutions of enteric virus. And the continuous maintenance managements such as steady water quality inspections, remodeling and repairing of old groundwater and mineral spring facility and disinfection processing before drinking are required.

Key words : Norovirus, Enteric virus, Groundwater, Spring-water

서 론

사람의 분변에는 140종 이상의 장관계 바이러스가 존재하고 있으며¹⁾, 그 중 다수가 사람의 위장관계에 감염하여 질병을 일으킬 수 있는 다양한 수계환경에 노출되어 있는 것으로 알려져 있다²⁾. 이러한 바이러스는 대부분 오염된 물, 음식, 토양 등을 통한 분변-구강경로를 통하여 전파가 가능하며³⁾, 특히 지하수에서는 이들의 생화학적 분해를 극소화할 수 있으며 매우 작은 크기의 바이러스들은 토양을 통과하여 대수층까지 침투할 수 있는 것으로 알려져 있다⁴⁾. 미국에서는 1997년에서 1998년 동안 발생한 바이러스

성 병원체와 관련된 수인성 질병의 80 %가 오염된 샘물로 인한 것이었으나⁵⁾, 대체적으로 1971년부터 2002년에 이르기까지 위장염을 유발하는 수인성 질병의 1/3이 지하수 수계로부터 발생하는 것으로 보고되어 있다⁶⁾. 또한, 질병관리본부의 최근 보고에 따르면 2006년부터 2010년까지 발생한 전체 위장염 발병의 20 % 이상이 로타바이러스(rotavirus, RoV), 노로바이러스(Norovirus, NoV), 아데노바이러스(Adenovirus, AdV) 그리고 아스트로바이러스(Astrovirus, AsV) 감염에 의한 것으로 알려져 있다⁷⁾.

2011년 5월 경기도 내 5개 초·중·고교에서 345명의 식중독 환자가 발생하였고, 증상자 가검물 59건에서 노로바이

[†] Corresponding author, E-mail : csw95@korea.kr

Tel : +82-51-757-7504, Fax : +82-51-759-2964

러스가 검출되었다. 식중독의 역학조사 결과 5개 학교에 동일하게 김치를 납품한 식품업체의 지하수 및 김치 그리고 종사자에게서 노로바이러스가 동일하게 검출됨을 확인한 바 있다⁶⁾. 2004년 5월, 국내에서 제주도에 수학여행을 다녀왔던 학생 200여명에서 급성위장염이 발생했고, 검사 결과 지하수에서 노로바이러스가 검출되었다. 이 식중독 사건을 계기로 질병관리본부에서는 2005년부터 매주 노로바이러스의 발생율을 감시 및 보고하는 시스템을 전국적으로 시행하고 있다⁷⁾. 환경부 국립환경과학원에서도 2008년부터 수질오염 우려가 높은 전국 600개의 지하수 관정에 대해 노로바이러스 오염 정도를 조사하였고, 그 결과, 17.3%에 해당하는 지하수 104개소에서 노로바이러스가 검출되었으며 이 가운데 음용수로 사용되는 곳은 63곳이나 되었다⁸⁾. 또한, 식품의약품안전청에서는 2009년부터 집단급식이 이루어지거나 지하수를 음용의 목적으로 사용해야만 하는 각급 학교와 수련원 등을 중심으로 노로바이러스 검출 여부를 조사하였고, 그 결과 노로바이러스 검출률이 1차 조사결과 4.6% (49건/1,060건), 2차 조사 결과 1.3% (13건/972건)로 보고한 바 있다⁸⁾.

현재 부산 지역에는 음용 목적의 민방위비상급수시설 500여개소가 운용 중에 있으며, 이 중 360여개소가 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 민방위지침¹⁰⁾에 따라 연 4회 정기적인 수질검사 관리를 하면서 평상시에도 시민들이 이용할 수 있도록 개방하고 있다. 또한, 시민들의 웰빙 욕구가 커지고 보다 더 깨끗하고 좋은 마실 물을 찾아 사찰, 등산로, 체육시설 등에 위치한 약수터를 이용하는 인구 또한 증가하고 있다. 이런 약수터의 행정적 명칭은 먹는물공동시설이라고 하며, 부산 지역에 190여개소가 지정되어 있고, 연 6회 수질검사 관리가 이루어지고 있다¹¹⁾.

이렇듯 많은 부산 시민들이 마실 물로 즐겨찾는 지하수(민방위비상급수) 및 약수터수(먹는물공동시설)가 먹는물 수질기준에 의해서 지속적으로 수질이 관리되고는 있지만, 수질기준 항목에 없는 노로바이러스 등 장관계바이러스의 오염에 대해서는 한번도 검증된 바가 없다. 특히 약수터수의 경우에는 주변 환경에 의해서 쉽게 수질이 오염될 우려가 있지만 아직 어느 지역에서도 약수터수 중 장관계바이러스에 대한 조사가 이루어진 바가 없다.

따라서, 이번 연구에서는 부산 지역 민방위비상급수시설 및 약수터수 중 노로바이러스 및 기타 장관계 바이러스의 오염 여부를 파악하기 위해 정기적 검사 기록상 분변 오염이 의심되는 지점을 우선 선정하여 조사하였으며, 더불어 수질 세균 및 대장균 파지 그리고 유기물 오염 지표에 대해서도 분석하여 수질오염의 지표와 바이러스 오염의 연관성을 판단해 보고자 하였다. 또한, 식중독 예방 관리의 목적으로 부산 지역에서 지하수를 단체급식에 사용하는 시설도 포함하여 이번 연구를 수행하였다. 아울러, 미생물학적으로 보다 안전한 지하수 및 약수터를 유지하기 위한 관리 방안을 고찰해보고자 하였다.

재료 및 방법

시료 채취

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

민방위비상급수시설 및 약수터는 비교적 이용 인구가 많고, 주변 환경에 의해서 오염이 우려되는 지점을 우선 선정하였다. 민방위비상급수시설 22개 지점 중 16곳은 주로 주거지역(학교 8, 아파트단지 내 4, 공공건물 4)에 위치하였고, 4곳은 녹지지역(주거시설 4) 나머지 2곳은 상업지역(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 ICR (Information Collection Requirments Rule, USEPA)¹²⁾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. 채취기구와 연결되는 부분을 화염멸균한 뒤 필터하우징을 제외한 시료여과 장치를 연결한 뒤, 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, 필터 하우징을 시료 여과 장치로부터 분리하여 멸균된 호일로 기구의 양쪽 끝 부분을 감아 준 후, 냉장상태로 실험실로 운반한다. 더불어 미생물검사 및 이화학검사를 위한 시료 1 L 를 멸균 채수병에 담아 냉장 상태로 실험실로 운반하였다.

시료의 미생물학적 검사

일반세균, 총대장균군 및 대장균 그리고 여시니아균 검사는 먹는물공정시험방법(환경부, 2007)에 따라 실시하였으며, 일반세균은 중온일반세균-평판집락시험법, 총대장균군 및 대장균 시험은 막여과법으로 검사하였다.

시료의 이화학적 검사

수소이온농도(pH), 잔류염소, 수온, 탁도, 암모니아성 질소, 질산성 질소 항목은 먹는물공정시험방법(환경부, 2007)에 따라 수행하였고, 분석방법과 분석에 사용한 장비는 Table 1과 같다.

시료의 바이러스 시험

바이러스 탈리

시료 채취 시작부터 72시간 이내에 탈리를 시작하였다. Nanoceram 필터가 들어있는 필터 하우징의 유입구와 배출구를 튜브로 연결하고 유입구는 공기 압력원에, 배출구는 멸균된 유리 비커 순으로 각각 연결하였다. 600 mL의 1.5 % beef extract (Difco, France) 완충액 (pH 9.5)을 압력 용기에 넣고, 뚜껑을 닫은 후 압력조절밸브를 닫는다. 그 후 필터하우징의 감압 단추를 누른 상태로 압력용기의 압력조절밸브를 서서히 열어 beef extract 완충액이 필터 하우징 내에 완전히 차도록 한 다음 감압단추를 통해 용액이 흘러나오기 시작하면, 감압 단추에서 손을 떼고 압력조

절 밸브를 닫은 후 5분간 방치하여 필터에 흡착된 바이러스를 탈리시킨다. 비커에 수집된 beef extract 완충액을 압력용기로 다시 옮겨 담고, 위 과정을 2회 반복하여 총 3회의 탈리 과정을 반복 수행하였고, 비커에 수집된 최종 탈리 용액은 1 M HCl (Sigma, Germany)로 pH 를 7.0-7.5 사이로 조절하였다.

탈리 시료의 농축

탈리액이 담긴 비커에 교반막대를 넣고 교반기로 천천히 섞으면서 1 M HCl 로 서서히 pH를 3.5 ± 0.1 로 맞춘 다음 30분 이상 천천히 섞은 후 침전물이 생기면 beef extract 탈리액을 $2,500 \times g$, 4 °C에서 15분간 원심분리한다. 원심분리 후, 상등액을 버리고 바닥의 침전물을 0.15 M 인산1수소나트륨용액 20 mL (pH 9.0-9.5) 로 녹여 완전히 재부유시키고, 이를 다시 $4,000-10,000 \times g$, 4 °C에서 10분간 원심분리한 후 침전물은 버리고 상등액을 모아 pH를 7.0-7.5로 맞춘다. 미생물의 오염을 방지하기 위해 상등액을 멸균용 필터로 여과한다.

바이러스 RNA의 분리

RNA를 추출하기 위해 QIAamp viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Germany)를 사용하였고, 제조자의 매뉴얼에 따라 추출하였으며 분석 전까지 -70 °C에 보관하였다.

노로바이러스 검출을 위한 RT-PCR

국립환경과학원의 지하수 중 노로바이러스 분석 지침 (NIER 2007)에 따라 seminested RT (reverse transcription) - PCR을 수행하였으며 primer 조건은 Table 2에 기술하였다. RNA template 2 μ L에 2X RT-PCR Master mix 12.5 μ L, 노로바이러스 RNA polymerase와 capsid 부위에서 유래한 sense primer와 antisense primer를 각각 2 μ L (10 pmol), DW 6 μ L를 넣어 총 25 μ L를 반응액으로 사용하였다. 유전자 증폭을 위해 Thermal cycler (C-1000 thermal cycler,

Table 1. Analysis items and instruments

Items	Instruments
pH	pH Meter (HACH, USA)
Residual Chlorine, Turbidity	Multiparameter (Hanna Instruments, Woonsocket, USA)
Ammonia nitrogen (NH ₃ -N)	UV-Vis Spectrophotometer(varian, Cary3, USA)
Nitrate nitrogen (NO ₃ -N)	Ion Chromatograph (IC-3000,Dionex, USA)

BIO-RAD, USA)를 이용하여 47 °C에서 40분간 reverse transcription (RT)을 수행하여, 94 °C 15분 동안 denaturation 반응시킨 뒤 94 °C 30초, 54 °C 30초, 72 °C 45초로 35 cycle을 반복한 후 72 °C에서 7분간 extension하였다. Nested PCR은 RT-PCR 산물 2 μL를 이용하여 10 X PCR reaction buffer, 2.5 mM dNTP, 20 pmol primer, 1 U Taq polymerase (Bioneer, Korea)를 넣어서 50 μL 반응액을 제조한 후 실험에 사용하였다. 94 °C에서 3분간 denaturation 반응시킨 후 94 °C 30초, 56 °C 30초, 72 °C 45초로 25 cycle을 반복한 후 72 °C에서 7분간 반응시켰다. PCR생성물은 prestaining (SYBR safe, Invitrogen, USA)된 1.5 % agarose gel (TaKaRa, Japan)에 100 bp DNA ladder (TaKaRa, Japan)와 함께 loading 하고 25분간 전기영동 (Advance, Japan)하여 Image analyzer (Geldoc XR image system, BIO-RAD, USA)로 노로바이러스 GI은 313 bp, GII 는 314 bp에서 band를 확인하였다. 본 실험의 양성 대조군으로 사용된 표준 바이러스는 설사변 유래 노로바이러스 (GI, GII)로 동정된 바이러스를 사용하였다.

장관계 바이러스 검출을 위한 RT-PCR

엔테로바이러스 및 아스트로바이러스 핵산의 증폭을 위해 RNA template 2 μL 씩, 각각의 바이러스 특이적 primer set가 10 pmol 씩 첨가된 18 μL PCR 반응 혼합액 (Bioneer, Korea)과 섞어주었다. 반응조건은 42 °C 45분간 reverse transcription을 수행하여, 94 °C 5분간 denaturation 반응시킨 뒤, 94 °C 30초, 55 °C 30초,

72 °C 40초간, 40 cycle을 반복한 후 72 °C 5분간 extension하였다. 유전자 증폭을 위해 Thermal cycler (C-1000 thermal cycler, BIO-RAD, USA)를 이용하였다. PCR 생성물의 확인은 앞서 기술한 바와 같다. 본 실험의 양성 대조군으로 사용된 표준 바이러스는 설사변 유래 엔테로바이러스, 아스트로바이러스로 동정된 바이러스를 사용하였다.

노로바이러스 Real-time RT PCR

Real-time RT PCR을 위해 Taqman probe는 GI은 Texas Red, GII는 FAM을 사용하였고, Real-time RT PCR 반응액은 AccuPower Norovirus Quantitative PCR kit (Bioneer, Korea)를 사용 master mix에 RNA template 5 μL을 넣어 총 50 μL 이 되도록 하였다. 유전자 증폭을 위해 Excycler^{RM}96 (Bioneer, Korea)를 이용하여 50 °C에서 30분간 reverse transcription (RT)을 수행하여, 94 °C 15분 동안 denaturation 반응시킨 뒤 94 °C 15초 annealing 및 extension 반응은 55 °C 1분간 수행하였다.

EIA

로타바이러스 및 장 아데노바이러스의 검출을 위해서는 시료 최종농축액을 이용해 Adenovirus and Rotavirus kit (BioFocus, Korea)를 이용하여 antigen capture EIA (Enzyme immno assay)방법으로, 제조자의 매뉴얼에 따라 수행하였다.

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,2005 ¹³⁾
	GI-R1M	CCAACCCARCCATTRTACATYTG	R		
	GI-F2	ATGATGATGGCGTCTAAGGACGC	SF		
Norovirus GII	GII-F1M	GGGAGGGCGATCGCAATCT	F	313	Kim et al,2005 ¹³⁾
	GII-R1M	CCRCCIGCATRICCRTTRTACAT	R		
	GII-F3	TTGTGAATGAAGATGGCGTTCGART	SF		
Pan- Enterovirus	EV1	CAAGCACTTCTGTTTCCCGG	F	362	Lee&Jeong, 2004 ²⁾
	EV2	ATTGTCAACCATAAGCAGCCA	R		
	EV3	CTTGCGCGTTACGAC	SR		
Astrovirus	Mon269	CAACTCAGGAAACAGGGTGT	F	449	Noel JS et al 1995 ¹⁴⁾
	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. Kinds of bacteria and antibiotic according to kinds of coliphage

Coliphage	host bacteria	Antibiotic solution
somatic coliphage (X174)	<i>E. coli</i> F _{amp}	Ampicilin/streptomycin sulfate (1.5 mg/mL)
male-specific coliphage (MS2)	<i>E. coli</i> C	Nalidixic acid (10 mg/mL)

대장균 파지의 검출

대장균 파지의 분석은 미국 EPA 방법¹⁵⁾에 준하여 실시하였다. 숙주 박테리아를 준비하기 위하여 항생물질이 첨가된 TSB (Tryptic Soy Broth)에 각각의 박테리아를 접종하고 대수증식기가 될 때까지 37 °C에서 배양하였다. 대장균 파지 종류에 따른 박테리아와 항생물질의 종류는 Table 3과 같다. 항생제가 들어있는 멸균된 2 x TSA (0.8 %) 배지에 최종 농축 시료 5 mL과 4 M MgCl₂·6H₂O를 0.025 mL 첨가한 후 37 °C에서 5분간 반응시킨 후 숙주 박테리아 500 μL를 넣어 잘 섞은 후 평판 배양하였다. 37 °C에서 24시간 배양한 후 플라크를 개수하였다.

결과 및 고찰

2010년에서 2011년까지 부산 지역에서 음용수로 사용

하는 지하수(민방위비상급수시설) 및 약수터수 그리고 단체급식에 지하수를 이용하는 시설을 대상으로 노로바이러스 및 기타 장관계 바이러스의 오염 여부를 조사하였다. 더불어 수질 지표 세균 및 대장균 파지 그리고 유기물 오염 지표에 대해서도 분석을 수행하였다.

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 등의 차이에 따라 여과 채수량에 다소 차이가 있었다.

Table 4. Summary of sampling site conditions

Sample type	Item (unit)	Min	Max	Mean	S. D.
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 (°C)	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 (°C)	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

S.D., Standard Deviation; NTU, nephelometric turbidity unit

수소이온농도는 약수터수가 지하수에 비해 약간 낮았으며, 탁도의 경우 평균적으로 약수터수가 조금 높았다. 탁도는 대부분 콜로이드 입자와 대단히 미세한 입자에 의하여 생겨나는데, 일반적으로 지표수에서는 탁도가 높을수록 바이러스의 입자들이 이런 입자들 간의 부착으로 인해 바이러스의 검출률이 높아진다고 보고되어 있다¹⁶⁾. 반면, 지하수의 경우 지표와 대수층을 뚫고 지하 깊숙이 침투하는 과정에서 바이러스와 콜로이드 입자간의 엉킴이 자연적인 필터링에 의해 오히려 제거되는 것으로 판단하기도 하였다¹⁷⁾. 평균 수온의 경우, 지하수가 조금 높았고 수온의 편차도 약수터수와 비슷한 것으로 나타났는데, 일반적으로 심정의 지하수는 수온의 변화가 적지만, 일부 지하수의 경우 관정의 깊이가 얇고, 탱크수를 채취한 지하수 결과의 영향도 있는 것으로 판단하였다. 채취 지점의 개발 시기는 지하수의 경우 평균 17년 6개월, 약수터수는 평균 22년 7개월 정도로, 대부분 개발된지 15년 이상 된 곳이었다. 지하수 관정의 깊이는 45미터에서 400미터로 관정의 깊이가 다양한 편이었으며 대부분 100미터 이상이었다. 일일 채수 가능량은 지하수는 평균 131톤이고 약수터수는 2.4톤 정도였으며, 약수터수는 지하수에 비해 수압 및 유량 차이 등에 의해 채수에 일부 어려움이 있었다.

표준 시료에서의 노로바이러스와 기타 장관계 바이러스의 검출

설사 환자의 분변 검체로부터 획득한 노로바이러스, 엔테로바이러스, 장 아데노 바이러스, 로타바이러스, 아스트로바이러스의 양성 분변 부유액을 이용하여 바이러스 검출

을 위한 검증과정을 수행하였다. 먼저 증류수 10 L에 각 바이러스에 대한 양성시료 1 mL씩을 주입하여 잘 섞은 후 positive charge를 띠고 있는 Nanoceram 필터가 들어있는 필터 하우징을 장착하여, 양성 시료를 통과시킨 후, 바이러스의 탈리 및 농축 과정을 수행하였고, 별도로 증류수를 사용하여 동일한 과정을 수행하였다. nested RT-PCR을 수행한 결과, 노로바이러스 뿐만 아니라 엔테로바이러스, 아스트로바이러스에 있어서도 민감도의 차이는 있었지만 검출되는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 로타바이러스와 장 아데노바이러스의 경우 시료 최종농축액을 이용해 EIA 시험 결과 유의적인 양성 (OD, optical density ≤ 2) 결과를 확인할 수 있었다. 따라서, 노로바이러스와 동일한 시험법으로 기타 장관계 바이러스의 검출이 가능함을 확인할 수 있었다 (Fig. 1).

또한, 노로바이러스 검출을 위해 사용되고 있는 유전자 검색법인 nested RT-PCR 및 Real time RT PCR법을 비교해 보았다. 앞선 시험에서 확보한 노로바이러스 G II 양성 시료를 희석하여 검출 효율을 살펴본 결과, 검출 민감도면에서 Real-time RT PCR법을 이용했을 때 10배 이상의 검출 감도를 나타내었다 (Fig. 2).

지하수 및 약수터수 중 노로바이러스와 기타 장관계 바이러스의 검사

노로바이러스의 검출을 위해 최종적으로 얻어진 40개의 지하수 및 약수터수의 농축 시료들을 nested RT (reverse transcription)-PCR 및 Real-Time RT-PCR법을 이용하여 분석한 결과, 40개 시료 전부에서 노로바이러스는 검출되지 않았다. 노로바이러스 분석과 더불어 40개 시료

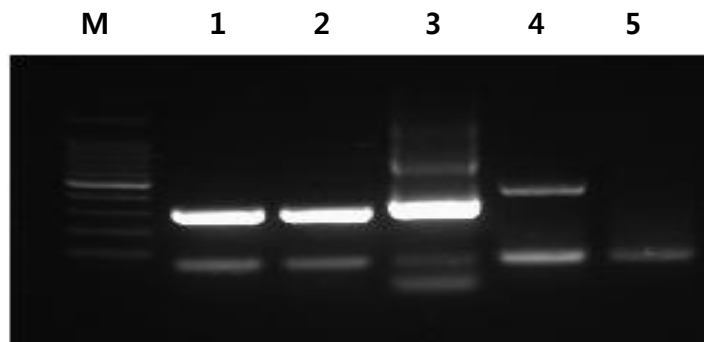


Fig. 1. The results of gel electrophoresis of RT-PCR products for enteric viruses. Lane M, 100 bp ladder DNA molecular marker; lane 1, norovirus G I (314 bp); lane 2, norovirus G II (313 bp); lane 3, pan-enterovirus (362 bp); lane 4, astrovirus (449 bp); lane 5, negative control.

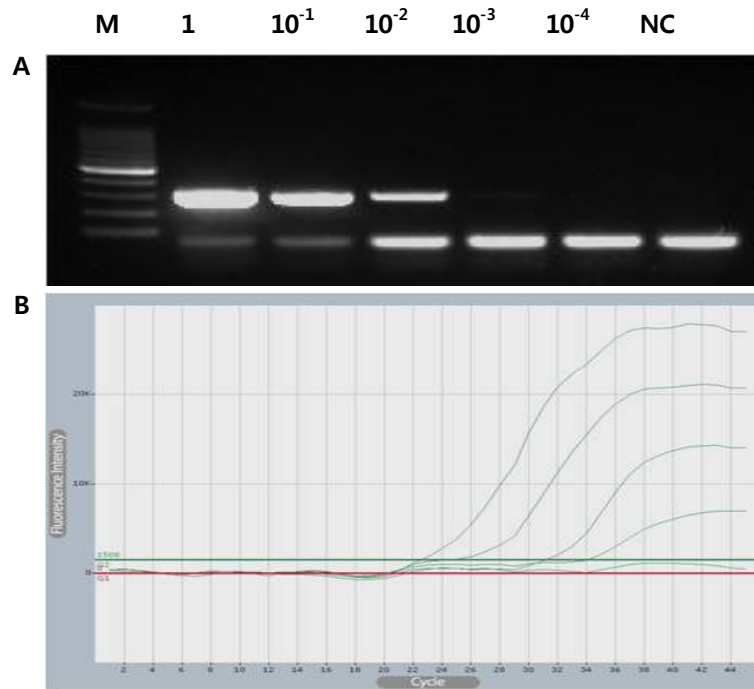


Fig. 2. Comparison of detection sensitivity according to Norovirus detection methods

A Results of seminested RT-PCR of Norovirus G II; M, 100 bp DNA ladder; NC, Negative control. **B** Quantitative real-time PCR presents amplification curves (green—amplification curve of Norovirus G II).

에 대해 엔테로바이러스, 로타바이러스, 장 아데노바이러스, 아스트로바이러스에 대한 분석을 함께 수행한 결과, 전 지점에서 바이러스의 존재를 확인할 수 없었다 (Table 5).

이러한 결과는 이전에 부산을 포함한 국내 노로바이러스 조사 결과들과는 차이가 있었다. 2009~2010년 부산, 울산 및 경남 지역의 지하수 중 노로바이러스 오염 실태 조사 결과 지역별 검출률을 경남 32%, 부산 15% 그리고 울산 7%로 보고하였고¹⁰⁾, 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%) 등의 순으로 검출률을 보인 결과와도 차이가 있었다¹⁸⁾. 상기 발표된 결과들은 전국 지하수 수질측정망을 통해 수질 오염도가 높은 음용 지하수 외에도 비음용 지하수를 포함하여 환경부 용역과제로 조사한 결과였으며, 주된 검출 지역은 농업활동이 주를 이루는 농촌지역 및 주거지역과 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 공공지하수 48건 중 2건 (4.2%)에서 노로바이러스가 검출되었다는 보고¹⁹⁾와 대구와 광주 지역에서는 노로바이러스가 전혀 검출되지 않은 것으로 확인된 것은¹⁸⁾ 비교적 주변 환경 등에 의해 지하수 오염 요인이 적은 대도시의 지하수의 경우에는 노로바이러스 등 장관계 바이러스의 오염이 매우 낮음을 확인할 수 있었다.

따라서, 이번 연구에서 대상으로 한 지하수는 부산 지역에서 공공시설이면서 음용수로 이용하는 민방위비상급수이고, 주로 도심지역의 주거단지에 위치한 시설들이어서, 현재까지는 노로바이러스 및 기타 장관계 바이러스의 오염에 대해 비교적 안전함을 확인할 수 있었다. 약수터의 경우, 지하수에 비해 강우, 주변 동물 및 사람 분변 등의 오염 등에 더욱 취약하여 바이러스의 오염을 우려하였으나, 조사 결과 대상 시료 모두에서 바이러스가 존재하지 않았다.

이번 연구는 지하수 및 약수터수 전체 시설을 모두 대상으로 할 수 없으므로, 정기적 검사 기록상 수질 지표세균 및 유기물 오염 인자를 고려하여 오염이 우려될 만한 시설만을 대상으로 하여 연구한 결과이므로, 시료의 수가 일부

Table 5. Detection of viral pathogen 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	SPC bacteria	14 (46.7)	8 (80.0)	22 (55.0)
	Total coliforms	14 (46.7)	9 (90.0)	23 (57.5)
	<i>E. coli</i>	2 (6.7)	7 (70.0)	9 (22.5)
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	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)

^a Positive ; SPC (Standard plate count) bacteria ≥ 100 CFU/mL, Total coliforms and *E. coli* ≥ 1 CFU/100 mL, Somatic coliphage and male-specific coliphage ≥ 1 PFU/mL, NO₃-N ≥ 10 mg/L, NH₃-N ≥ 0.5 mg/L

불충분하긴 하였으나 부산 지역 공공 지하수 및 약수터수에 대해 현재 먹는물수질기준에는 포함되어 있지 않은 수질 바이러스에 대해 처음으로 조사한 결과로서 의의가 있다고 판단하였다.

수질 오염 지표 항목의 분석

먹는 물 중의 지표세균 인자인 일반세균 (standard plate count bacteria)과 총대장균군 (total coliforms) 및 대장균 (*E. coli*) 그리고 여시니아균 (*Yersinia enterocolitica*)을 검사한 결과, 총 40개의 시료 중 22개의 시료 (55.0%)가 일반세균 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). 부산 지역 전체 민방위비상급수 및 약수터수의 최근 3년간 평균 미생물 항목 부적합율은 각각 23.5% 및 26.7% 수준이나³⁹⁾, 이번 연구에서 더욱 높은 미생물 부적합율을 보인 것은 연구 목적에 맞게 정기적 검사 상 미생물 오염도가 높은 곳을 위주로 선정한 결과이기 때문이다. 또한, 평균적으로 지하수보다 약수터수에서 지표 세균의 분포도가 높았고, 직접적인 분변오염 지표인 대장균이 특히 약수터에 많이 검출되

어 사람 및 동물의 분변 오염에 상당히 취약함을 확인할 수 있었다 (Table 6). 집단급식시설 시료 8건 중 1건 (12.5%)만이 일반세균 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 *Yersinia enterocolitica* 균이 검출되었다. 여시니아균은 동물과 사람에서 주로 설사를 일으키고, 야생동물이 여시니아균의 보유고가 될 수 있으므로 애완동물이나 야생동물의 분변에 노출될 가능성이 큰 약수터수에 대해서 먹는물 수질 기준(불검출/2 L)이 명시되어 있다²⁰⁾. 노로바이러스 역시 동물(취, 소)과 사람 분변 모두가 오염원이 될 수 있으므로²¹⁾, 노로바이러스를 감시하는데 중요한 지표세균이 될 수 있을 것으로 판단하였다. 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(Table 6).

연구 대상 시료에서 세균성 인자의 부적합율이 매우 높은 것은, 연구 목적에 부합하도록 세균성 지표의 검출률이 높은 곳을 위주로 선정하였기 때문이나, 이런 높은 지표

Table 6. Water quality indicator bacteria distribution in the groundwater and the spring water

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

SPC, Standard plate count; NTU, Nephelometric turbidity unit

세균 검출률을 보임에도 노로바이러스 및 기타 장관계바이러스의 검출이 확인되지 않은 것은 이런 분변 오염의 표준 세균성 지표가 지하수의 장관계 바이러스의 존재와는 통계적으로 연관성이 미약하다는 이전의 연구 결과들과^{4,22,23} 상통하는 결과였다.

그 외 참고적으로, 이번 연구를 위해 시료를 채취한 지점 중 이용객이 적어 일일 이용량이 적은 시설의 경우 장시간 시료 채취 후 이루어진 미생물학적 검사를 실시한 결과가, 기존 정기적 검사 결과보다 좋은 지점이 몇 곳 확인되었는데, 주기적 수질 검사를 위한 채수 시에는 반드시 충분한 시간 동안 대상 관정을 퍼징(purging)하거나, 충분한 양의 물을 빼내고 채수하여야 탁도 및 미생물의 오염 해석상 오류를 적게 할 수 있다²⁴는 것을 재확인 할 수 있었다.

대장균 파지의 확인

대장균에 감염하는 세균성 바이러스인 somatic 대장균 파지와 male-specific 대장균 파지는 형태학과 토양을 통한 수송력이 사람의 장관계 바이러스와 유사하여 분변 오염에 대한 바이러스성 지표로 사용되었다²³. 특히, male-specific 대장균 파지는 somatic 대장균 파지에 비해 좀 더 사람의 바이러스와 유사한 특성을 가지고 있어 종종 장관계 바이러스의 분변 오염 근원을 좀 더 구체적으로 판단하는데 사용되었다^{1,25}. 본 연구에서 40개 시료 최종 여과, 탈리 농축액으로 somatic 대장균 파지와 male-specific 대장균 파지에 대해 분석한 결과 대장균 파지의 존재를 확인 할 수 없었다(Table 5).

정 등의 결과²⁶에서 39개의 지하수 시료 중 6개의 시료 (15 %)에서 대장균 파지가 오염되어있었으며, 그 중 대장균 파지 양성 지하수 시료 중 1개의 시료만이 노로바이러스의 검출이 확인되었다고 보고한 바 있다. 또한 국립환경과학원 전국 지하수 노로바이러스 오염실태 조사에서는 대장

균 파지가 한건도 검출되지 않아, 대장균 파지가 노로바이러스의 검출과는 상관성이 없는 항목으로 판단한 바 있다²⁴. 따라서, 대장균 파지는 사람의 장관계 바이러스의 존재 여부를 예측하는데 연관성이 미약한 것으로 판단하였다.

또한, somatic 대장균 파지 양성 시료 중 다수의 시료에서 대장균이 공존하는 것이 확인되어¹, 대장균과 somatic 대장균 파지의 공존은 분변 오염의 가능성과는 상당히 연관성이 높다고 볼 수 있다. 그러나, 이번 연구 결과에서는 대장균이 검출된 시료수가 비교적 적어 대장균과 대장균 파지가 함께 공존하는 경우는 확인할 수가 없어, 그 연관성을 단언할 수는 없었다.

지하수 및 약수터수 미생물 관리 방안에 대한 제언

오랫동안 지하수는 분원성 세균과 기타 병원성 미생물의 오염에 대해 비교적 안전하다고 생각되어 왔으나, 이는 심부 피압(confined) 대수층의 경우만 해당된다. 일반적으로 세균, 바이러스 등의 생물오염원이 지하수로 침투하는 경로는 삼출(滲出) 작용에 의한 경우, 오래된 지하수의 덮개가 녹슬거나 파손되는 경우, 지하수 개발 시 이용하는 기계로부터 오염되는 경우, 지하수 수위가 변화되는 경우, 방치된 불용공에 의한 경우, 역류에 의한 오염 등으로 매우 다양하다¹⁵. 또한, 지하수의 특성상 토양오염과의 연관성이 높고 정화조, 지하저장탱크 등의 점오염원 뿐만 아니라 농약살포, 비료살포 등의 비점오염원에 의해서도 오염이 발생하여 토양 속의 오염원을 특정 짓기는 어렵다.

지하의 다공성 매질에서의 미생물의 이동 및 생존은 이류-분산 및 고체물질에의 부착에 의해 영향을 받는데, 특히 고체물질에의 부착은 다공성 매질 자체의 특성, 지하수의 화학성 뿐 아니라 미생물 자체의 특성 등에 의해 복잡하게 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 최근 지하수에 대해 바이러스를 포함한 미생물 조사와 지하수 성분 조사를 결

부지어 지하수 오염 조사 연구가 활발히 이루어지고 있지만^{17,18,24,26,27)}, 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.

노로바이러스 및 기타 장관계바이러스의 경우 감염된 사람의 분변으로부터 전파되므로, 이와 관련된 처리시설의 관리 소홀 또는 부주의로 인한 침투가 원인으로 추정된다. 장관계 바이러스가 지하수 혹은 지표수로 유입되는 대표적인 침투 경로는 분뇨를 정화 처리하기 위한 탱크인 정화조, 간이 및 재래식 화장실, 방치된 불용공, 도시 하수의 유출, 지표저류시설 등이다. 도시하수 유출의 경우 하수도의 누수현상으로 인하여 지하수가 오염되는 경우이며, 누수현상은 배관시설의 노후로 인한 파손, 식물뿌리의 침투, 상부하중, 지진, 부실시공으로 인한 파손 등의 원인에 의해 발생할 수 있으며, 지하수의 생물화학적산소요구량(BOD)을 높이고 질산염, 유기화합물 및 세균, 바이러스 등의 생물오염원을 지하수 내로 유입시킬 수 있다²⁸⁾. 또한, 노로바이러스는 적은 입자수로도 쉽게 감염이 이루어지는 특성을 가지고 있어²⁹⁾, 오염된 지하수를 직접 마시거나, 오염된 물로 씻은 식기나 야채 등을 먹은 경우 그리고 감염 환자에 의해 2차 감염되는 경우도 많다³⁰⁾.

수십, 수백톤의 방대한 양의 물이 동시에 끊임없이 소비되고 채워지는 지하수 및 약수터수의 특성상, 이에 대한 생물학적 안전성을 확인하는 일은 일종의 확률적 사안이다. 장관계바이러스의 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 이루어져야한다. 특히, 약수터 인근에 화장실이 위치할 경우 정화조에서 누수가 없도록 철저히 관리를 해야 하며, 현재의 약수터 구조는 주로 웅덩이를 막거나, 저수조를 만들어 파이프를 연결하

여 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 계시판에 공지하여 안전하게 약수를 음용하도록 조치해야한다.

결 론

2010년에서 2011년까지 부산 지역에서 음용수로 사용하는 지하수(민방위비상급수시설) 22건 및 지하수를 사용하는 집단급식시설 시료 8건 그리고 약수터수 10건 총 40건의 시료를 대상으로 노로바이러스 및 기타 장관계 바이러스의 오염 여부를 조사하였다. 더불어 수질 지표 세균 및 대장균 파아지 그리고 유기물 오염 지표 항목에 대해서도 분석을 수행하였다.

1. 설사 환자에서 획득한 노로바이러스 및 기타 장관계 바이러스 양성 분변 부유액을 이용하여 표준시료를 제작하여 positive charge Nanoceram 필터를 이용하여 여과, 탈리 및 농축 과정을 수행하여 바이러스 검출 시험을 수행한 결과, 노로바이러스가 검출됨을 확인할 수 있었고 노로바이러스와 동일한 시험법으로 기타 장관계 바이러스의 검출이 가능함을 확인하였다.
2. 제작한 표준시료에 대해 유전자 검색법인 nested RT-PCR 및 Real time RT PCR법으로 노로바이러스 검출 감도를 시험한 결과, 검출 민감도면에서 Real-time RT PCR법을 이용했을 때가 10배 이상 높은 검출 감도를 나타내었다.
3. 최종적으로 얻어진 부산 지역 지하수 및 약수터수 총 40건의 농축 시료들을 분석한 결과, 대상 시료 전부에서 노로바이러스는 검출되지 않았고, 기타 장관계 바이러스(엔테로바이러스, 로타바이러스, 장 아데노바이러스, 아스트로바이러스)에 대해서도, 전 지점에서 바이러스의 존재를 확인할 수 없었다. 그리고, 사찰 및 등산로 등에 위치한 약수터수에 대한 장관계 바이러스 조사는 전국에서 처음으로 수행한 결과였다.
4. 연구 대상 지하수 및 약수터수에 대한 분변오염 지표 세균 검사 결과, 총대장균군은 57.5%, 대장균은 22.5%, 여시니아균은 7.5%의 검출률을 나타내었고 바이러스성 지표로 사용되는 대장균 파아지는 검출되지 않았다. 연구 대상 시료는 평소 미생물 항목의 부적합이

높은 지점을 위주로 선정하였으며, 총 40건의 시료 중 미생물 항목에서 먹는물 수질기준을 만족하지 못하는 비율이 32건(80.0%)으로 매우 높았지만, 장관계 바이러스의 오염 여부와는 직접적으로 연관성이 없음을 확인할 수 있었다.

이번 연구 대상 지하수(민방위비상급수, 집단급식시설) 및 약수터수에서 노로바이러스 및 장관계 바이러스 오염이 발견되지 않았다고 해서 지속적인 안전을 확신할 수는 없고, 부산 지역 전체 민방위비상급수 및 약수터수로 보면 최근 3년간 미생물 부적합율이 평균 23.5% 및 26.7% 수준을 나타내고 있어, 꾸준한 수질 검사 관리를 통한 주변 오염 요인을 조기에 파악하고, 소독 처리 시설의 설치 등 지속적인 수질 유지 관리 노력이 이루어져야 하겠다.

참고문헌

1. Leclerc, H., Edberg, S., Pierzo, V. & Delattre, J. M. "Bacteriophages as indicators of enteric viruses and public health risk in groundwaters", *J. Appl. Microbiol.* 88, pp.5~21(2000).
2. Lee, H. K. & Jeong, Y. S. "Comparison of total culturable virus assay and multiplex integrated cell culture-PCR for reliability of waterborne virus detection", *Appl. Environ. Microbiol.* 70, pp.3632~3636(2004).
3. Moore, B. E. "Survival of human immunodeficiency virus(HIV), HIV-infected lymphocytes, and poliovirus in water", *Appl. Environ. Microbiol.* 59, pp.1437~1443(1993).
4. Abbaszadegan, M., LeChevallier, M., & Gerba, C. "Occurrence of viruses in US groundwaters", *Am. Water Work Assoc. J.* 95, pp.107~120(2003).
5. Barwick, R. S., Levy, D. A., Craum, G. F., Beach, M. J. & Calderon, R. L. "Surveillance for waterborne-disease outbreaks-United States, 1997-1998", *MMWR Surveil. Summ.* 49, pp.1~21(2000).
6. Reynolds, K. A., Mena, K. D. & Gerba, C. P. "Risk of waterborne illness via drinking water in the United States", *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 192, pp.117~158(2008).
7. 질병관리본부 Home Page <http://www.cdc.go.kr>, Oct(2011).
8. Korea Food & Drug Administration Home Page <http://www.kfda.go.kr>, December(2011).
9. Korea Ministry of Environment Home Page <http://www.me.go.kr>, Nov(2011).
10. 민방위비상급수관리지침, 소방방재청(2008).
11. 환경부, 먹는물관리시설관리규정(환경부 훈령 제800호).
12. Fout G., Schaefer F. 3rd, Messer J., Dahling D., Stertler R., *ICR microbial laboratory manual*, US Environmental Protection Agency, Washington DC, Publication no. EPA/600/R-95/178(1996).
13. Kim, S. H., Cheon, D. S., Kim, J. H., Lee, D.H., Jheong, W.H., Heo, Y. J. et al. "Outbreaks of gastroenteritis that occurred during school excursion in Korea were associated with several waterborne strains of norovirus", *J. Clin Micro.* 43, pp.4836~4839(2005).
14. Noel J. S., Lee T. W., Kurtz J. B., Glass R. I., Monroe S. S. "Typing of human astroviruses from clinical isolates by enzyme immunoassay and nucleotide sequencing", *J. Clin Micro.* 33, pp.797~801(1995).
15. US EPA method 1602, Coliphage in water by single agar layer (SAL).
16. 이규철, 지연숙, 이찬희, 이상태, 한국 지표수에서의 이화학적 환경 요인이 수인성 바이러스의 검출 빈도에 미치는 영향, *J. Bacterio. & Viro.* 36, pp.279~285 (2006).
17. Park B. J., "Survey of Norovirus from groundwater of Busan, Ulsan, Gyeongnam", Thesis of Graduate School, Pusan National University(2011).
18. Lee S. G., Jheong W. H., Suh C. I., Kim S. H., Lee J. B. and Jeong Y. S. "Nationwide Groundwater Surveillance of Noroviruses in South Korea, 2008", *Applied and Environ. Microb.*, Feb. pp.1466~1474(2011).
19. S. H. Park, E. J. Kim, T. H. Yun et al, "Human Enteric Viruses in Groundwater", *Food Environ. Virol.* 2, pp.69~73(2010).
20. 먹는물수질기준및검사등에 관한 규칙, 환경부령 제 347호.

21. Ando, T., Noel J. S. & Fankhauser, R. L. "Genetic classification of Norwalk-like viruses", *J. Infect. Dis.* 181, Suppl 2, pp.336~348(2000).
22. Marzouk, Y., Goyal, S. M. & Gerba, C. P. "Prevalence of enteroviruses in ground water of Israel", *Ground Water*, 17, pp.487~491(1979).
23. Gerba, C. P. "Distribution of coliphages in the environment: General considerations". *Phage Ecology* (ed. S. M. Goyal, C. P. Gerba, & G. Bitton). Wiley-Interscience, New York, pp. 87~123(1987).
24. 정용석, 윤성택, 이중복, 장경립, 이규철, "지하수 중 노로바이러스 오염실태 조사", 국립환경과학원 최종 보고서 pp.139~147.
25. Borchardt, M. A., Bertz, P. D., Spencer, S. K. & Battigelli, D. A., "Incidence of enteric viruses in groundwater from household wells in Wisconsin", *Appl. Environ. Microbiol.* 69, pp.1172~1180(2003).
26. J. H. Jung, "Occurrence of Norovirus and Other Enteric Viruses in Untreated Groundwaters of Korea", Thesis of Graduate School, Kyung Hee University(2011).
27. H. T. Lee, M. S. Kim, J. E. Lee, M. Y. Lim, M. J. Kim, J. M. Kim, W. H. Jheong, J. M. Kim and G. P. Ko. "Investigation of norovirus occurrence in groundwater in metropolitan Seoul, Korea", *Science of the Total Environment*, 409, pp.2078~2084(2011).
28. 강형석 외, 지하수 오염, 신광문화사 pp.120(1996).
29. Friedman, D. S. , Heisey-Grove, D., Argyros, F. , Berl, E. , Nsubuga, J. , Stiles, T., Fontana, J., Beard, R. S., Monroe, S., McGrath, M. E., Sutherby, H., Dicker, R. C. & Matyas, B. T. "An outbreak of norovirus gastroenteritis associated with wedding cakes", *Epidemiol. Infect.*, 133, pp.1057~1063(2005).
30. 국립환경과학원, 지하수 중 노로바이러스 관리 매뉴얼 (2010).
31. Leena M., Ilkka T. M., and C. V. Bonsdorff. "Norovirus outbreak from drinking water", *Emerg. Inf. Disea.*, 11(11), pp.1716~1721 (2005).
32. S. H. Park, E. J. Kim, T. H. Yun, J. H. Lee, C. K. Kim et al. "Human Enteric Viruses in Groundwater". *Food Environ Virol*, 2, pp.69~73(2010).
33. 김일호, 와히드 마피야, 타나카 히로아키, UV 불활성화 효과에 의거한 E. coli, RNA 및 DNA 박테리오파지의 대체 지표 미생물로서의 적용성 검토, *대한환경공학회지*, original paper, pp.1063~1068(2010).
34. USEPA manual of methods for virology, EPA 600/4-84/013(N14), April (2001).
35. Kim, S. H., Cheon, D. S., Kim, J. H., Lee, D.H., Jheong, W.H., Heo, Y. J. et al. "Outbreaks of gastroenteritis that occurred during school excursion in Korea were associated with several waterborne strains of norovirus", *J. Clin. Micro.*, 43, pp.4836~4839(2005).
36. American Ground Water Trust. <http://www.agwt.org/info/bacteria.htm>, April(2011).
37. Mohammaad R. Karim, Eric R. Rhodes, Nichole Brinkman, Larry Wymer, and G. Shay Fout, "New Electropositive Filter for Concentrating Enteroviruses and Noroviruses from Large Volumes of Water", *Appl. Environ. Microbiol.*, Apr., pp.2393~2399(2009).
38. S. J. Koh, H. G. Cho, B. H. Kim, and B. Y. Choi. "An outbreak of gastroenteritis caused by norovirus-contaminated groundwater at a waterpark in Korea", *J Korean Med Sci.*, 26, pp.28~32(2011).
39. 부산광역시, 부산지역 민방위비상급수 및 먹는물공동시설 검사 통계 자료.