

## 부산시 상수원수와 수돗물에서의 수인성 장관계 바이러스 분포조사

박홍기\*<sup>1</sup> · 정은영 · 이유정 · 정종문 · 최동훈 · 손희종 · 권기원 · 홍용기<sup>1</sup>

부산광역시 상수도사업본부 수  
<sup>1</sup>부경대학교 생물공학과

### Distribution of Waterborne Enteric Viruses in Raw Water and Tap Water in Busan Metropolitan City

Hong-Ki Park\*<sup>1</sup>, Eun-Young Jung, You-Jung Lee, Jong-Moon Jung, Dong-Hoon Choi,  
Hee-Jong Son, Ki-Won Kwon and Yong-Ki Hong<sup>1</sup>

Water Quality Institute, Water Works HQ of Busan Metropolitan City, Kyoungnam 621-813, Korea  
<sup>1</sup>Department of Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

#### Abstract

We detected waterborne enteric viruses from the raw water and tap water in Busan metropolitan city by the total culturable virus assay of EPA standard method. According to the results of survey from July 2001 to November 2002, thirteen out of twenty one in raw water samples were positive (61.9%) for enteric viruses and all of the treated water and tap water samples were negative. The enteric viruses in raw water were mainly distributed through the summer to the early winter, suggesting the seasonal characteristics of virus distribution in water. The titer of enteric viruses per 100 liters of the raw water was ranged from 1.92 to 9.70 MPN by TCVA-MPN program. The isolated viruses were identified as either human poliovirus type 1 or enteroviruses by the immunofluorescent assay.

**Key words** – total culturable virus assay (TCVA), waterborne enteric viruses, poliovirus, enterovirus, immunofluorescent assay

#### 서 론

장관계(enteric viruses)바이러스는 인체의 소화관에서 증식하거나 이들을 경유하여 분변과 함께 체외로 방출되는 것들을 통틀어 일컫는다. 이들은 공통적으로 강산성 조건 하에 매우 안정한 특징이 있어 사람의 위(胃)와 같이 생물이 서식하기 힘든 조건에서 견뎌내어 생존한다[14]. 이들

장관계 바이러스는 바이러스에 감염된 환자의 분변에서 많은 수(분변 g당  $10^8 \sim 10^{10}$  입자)로 배출되어 하수를 거쳐 지표수·지하수 등 자연수계에 널리 분포한다[1]. 또한 어패류 등에 축적되어 사람이 섭취할 시 인체에 감염되어 다양한 수인성 질병의 원인이 될 수 있음이 보고되고 있다[9]. 현재까지 알려진 수인성 장관계 바이러스는 엔테로바이러스(enteroviruses), 아데노바이러스(adenoviruses), 레오바이러스(reoviruses), 로타바이러스(rotaviruses), A형 간염바이러스(hepatitis A viruses) 등 140여 종류로 열성마비, 무균성 수막염, 호흡기 감염 등의 질병을 일으킬 수 있다[13].

\* To whom all correspondence should be addressed  
Tel : 82-55-323-4718, Fax : 82-55-323-4719  
E-mail : pkruac@hanmail.net

수인성 장관계 바이러스는 환경에서 일반적인 세균보다 적은 농도로 분포하지만 생존력이 높고 염소처리에 대한 내성도 세균보다 강하며, 적은 수로도 감염이 가능하여 장관계 바이러스의 검출은 공중보건학적으로 매우 중요한 부분으로 인식되고 있다[5].

현재 환경 시료수에서 바이러스를 검출하기 위해 주로 사용하는 방법은 세포배양법이다. 전통적인 검출방법인 세포배양법은 농축된 시료를 세포에 감염시켜 세포병변 증상을 관찰하는 것으로써 감염성 있는 바이러스의 유무를 확인할 수 있는 유일한 방법이다. 장관계 바이러스의 대부분은 영장류 및 인간의 신장세포를 이용하여 임상 및 환경시료로부터 쉽게 분리가 가능하고, 이들 바이러스는 배양세포에 특이적인 세포병변효과(cytopathic effect)를 일으키므로 쉽게 확인이 가능하다. 일반적으로 다수의 장관계 바이러스 감염이 가능한 원숭이 신장세포에서 유래한 BGM 혹은 Vero 세포주, 인간 세포주에서 유래한 Hela 세포주를 많이 이용한다[21]. 그러나, 이 방법은 시간이 많이 소요되고, 바이러스의 숙주 특이성으로 인하여 여러 종류의 세포를 이용하여야 하는 등 경제적인 부담이 드는 단점이 있다. 또한 바이러스 중 아데노바이러스(adenoviruses), 아스트로바이러스(astroviruses) 등은 BGM 세포와 같은 특정세포에 배양되지 않아 검출되지 않는 경우도 생긴다[45]. 이에 반해 분자생물학적 방법인 PCR (Polymerase Chain Reaction)법은 적은 양의 시료로도 검출이 가능하고, 바이러스 종류도 확인 할 수 있는 장점이 있다[4]. 그러나, 감염성 여부를 확인 할 수 없고 수중에 휴믹산(humic acid)과 펄빅산(fulvic acid)과 같은 유기물질이 존재하면 PCR에 사용되는 효소의 활성이 억제되어 검출감도가 저해되는 단점이 있다[2]. 최근에는 이들 방법의 한계를 극복하기 위한 ICC (Integrate Cell Culture)-PCR에 대한 연구가 활발히 보고되고 있는 실정이나[4,12,13], 위양성의 가능성을 배제하는 동시에 배양세포에서 증식하지 않는 기타 감염성이 있는 수인성 바이러스를 검출할 수 없는 단점이 있으며 아직까지 ICR (Information Collection Rule)의 표준방법으로 확립되어 있지 않아 앞으로 이 방법의 취약점을 지속적으로 보완해야 하는 추가적인 검증이 이루어져야 할 것이다[11]. 최근 몇 년간 우리나라에서는 먹는 물에서의 바이러스 검출여부로 인해 크게 논란의 대상이 되고있다. 이러한 논란의 주된 이유는 국내적으로 통일된 바이러스 검출방법

이 존재하지 않아 실험자들마다 사용한 검사방법이 달라 그 결과와 해석이 일치하지 않기 때문인 것으로 생각되어진다[6].

본 연구는 미국 EPA (Environment Protection Agency)와 환경부에서 규정하고 있는 표준검출법인 총세포배양법(Total Culturable Virus Assay)으로 부산시 상수원수 및 수돗물을 대상으로 바이러스 검사를 실시하여 바이러스 검출과 동정 그리고 분포특성에 대해 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 조사기간

상수원수에 대한 조사는 물금, 매리 및 회동 지점을 대상으로 2001년 7월에서 2002년 11월까지, 3개 정수장(덕산, 화명, 명장) 계통별 조사는 정수 및 수도꼭지를 대상으로 2002년 1월부터 2002년 11월까지 실시하였다(Fig. 1).

### 이화학 및 미생물학적 조사

수온, pH 및 잔류염소는 각각 온도계, pH meter (Orion, Model 260) 및 잔류염소 측정기로 현장에서 즉시 측정하였으며, 탁도는 탁도계(HACH, 2100N Turbidimeter)로 실험실에서 측정하였다. 생물학적 산소요구량(BOD)은 시료를 5일 동안 20℃로 저장하여 Winkler 변법에 따라 측정하였다[3]. Chl-a 농도는 500 ml의 시료를 0.45 µm filter로 여과시킨 후 90% acetone 용액에서 24시간 chlorophyll을 추

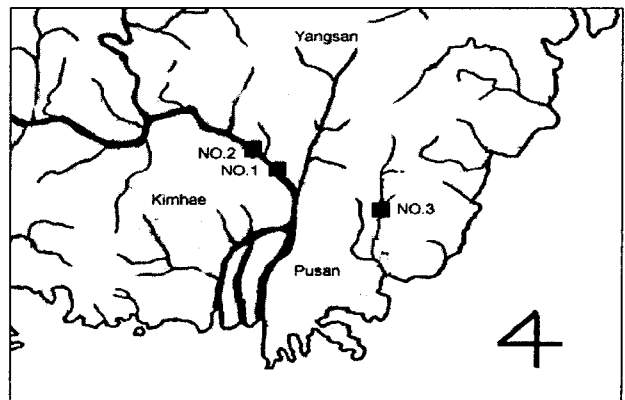


Fig. 1. Sampling sites for surveying of viruses in Nakdong river.

(No.1 site : Maeri, No.2 site : Mulgum, No.3 site : Heidong)

출하였다. 이때 chlorophyll의 안정화를 위하여 포화  $MgCO_3$  용액으로 서척하였다. 추출된 용액을 4,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상등액을 취해 각각 750, 664, 647, 630 nm에서의 흡광도를 측정하여 trichromatic method의 계산식에 따라 측정하였다[3].

총대장균군(Total coliforms) 및 대장균(*E.coli*) 실험은 막여과법을 이용하여 실시하였다[15]. 시료 100 ml를 0.45  $\mu m$  filter로 여과시킨 후 m-Endo LES 한천배지에 옮겨 35°C 배양기에서 1~2일 배양한 후 총대장균군 검출여부를 확인한 후 여지를 NA (Nutrient Agar)-MUG 배지에 다시 옮겨 35°C 배양기에서 4시간 배양한 후 자외선 형광램프(366 nm)하에서 대장균 유무를 확인하였다. 빈영양 종속영양세균(HPC; Heterotropic Plate Count)은 R<sub>2</sub>A agar (Difco.) 평판배지에 시료 1 ml를 도말한 후 25°C 배양기에서 14일간 배양하여 형성된 colony를 계수하였다[16].

#### 바이러스 및 세포주

CPE 양성 대조균으로 사용한 바이러스는 약독화된 polio virus type 3을 사용하였다[7]. 사용한 세포주는 미국 ATCC에서 분양받은 BGM (Buffalo Green Monkey kidney) 세포이다. BGM 세포주의 배양액은 항생제와 10% 혈청이 첨가된 MEM/L-15 배지를 사용하였다. 세포의 계대는 우선 monolayer가 형성된 BGM 세포주를 CO<sub>2</sub> 배양기에서 꺼내어 배양용기 안에 있는 배지를 우선 제거한 후 EDTA-trypsin을 세포배양용기에 적정량(약 10 ml)을 넣고 37°C 배양기에 5분 정도 방치하였다. BGM 세포들이 배양용기의 바닥에서 완전히 떨어지는 것을 확인한 후 떨어진 세포들을 1,000 × g, 10분간 실온에서 원심 분리한 후에 상등액을 깨끗이 제거하고 침전된 세포를 새로운 증식용 배양액에 혼합한 후 세포배양플라스크에 분주하여 37°C 배양기에서 배양하였다.

#### 시료 채수 및 여과

시료채수 여과장비는 미국 EPA의 ICR 및 환경부에서 권장하는 표준필터장치를 조합하여 사용하였다[7,22]. 원수와 수도꼭지에 대한 시료 채수는 1-MDS filter (Cuno사)를 이용하여 여과하였으며, 원수는 최소 200 L, 정수 및 수도꼭지는 1,200 L 이상을 여과하였다.

#### 탈리 및 유기응집농축

채수한 시료의 전처리에는 미국 EPA의 ICR 방법에 준하

여 수행하였다[8]. 1-MDS 여과지가 장착된 여과기(cartridge housing module)의 관내로 1,000 ml의 1.5% beef extracts (pH 9.5)를 부은 후 용출액의 거품발생을 최대한 줄일 수 있도록 천천히 압력을 가하여 3회 반복하여 용출시켰다. 탈리된 beef extract 용출액의 pH를 1 M HCl로 3.5±0.1로 조절한 후 실온에서 30분간 교반시켰다. 탈리액을 5,000×g에서 4°C로 15분간 원심분리 하고 상등액을 제거한 후 0.15 M PBS (phosphate buffered saline, pH 9.4) 30 ml를 첨가한 후 완전히 용해시켰다. 용해된 침전물을 7,000×g로 4°C에서 10분간 원심분리 한 후, 상등액만 취하여 1 M HCl로 pH 7.0~7.5로 조정하고 미생물 오염을 제거하기 위해 50 ml 주사기에 상등액을 넣어 pH 7.5의 beef extract 용액을 통과시킨 0.22  $\mu m$  멸균 필터를 이용하여 여과하였다.

#### 세포배양 및 정량

여과시킨 상등액을 3~6일간 배양된 BGM 세포주에 접종하였다. 접종량은 바닥 면적당( $cm^2$ ) 0.04 ml가 넘지 않게 조절하여 결정하였다. 음성대조구 및 양성대조구는 각각 pH 7.4의 0.15 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 용액과 순화된 polio-virus type 3을 0.15 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O (pH 7.4) 용액으로 희석하여 시료 접종량과 동일하게 접종하였다. 바이러스 흡착을 위해 80~120분간 CO<sub>2</sub> 배양기에 정치시키고, 15~20분 간격으로 흔들여 주었다. 세포 배양플라스크에 2% 혈청이 함유된 MEM/L-15 배지를 적절하게 분주한 후 37°C CO<sub>2</sub> 배양기에 배양하면서 14일간 CPE (Cytopathic Effect)를 관찰하였다. 검출된 바이러스의 정량은 양성대조구와 음성시료의 결과를 기록지에 기입한 후 US EPA에서 공급한 MPN program을 사용하여 결과를 분석하였으며, 원수는 100 L, 수돗물은 1,000 L를 기준으로 환산하였다.

#### 면역형광 분석

2차 세포배양에서 CPE가 확인된 바이러스의 동정을 위해 간접적인 면역형광법으로 시험하였다[26]. 먼저 슬라이드에 CPE가 확인된 monolayer의 세포를 PBS로 부유시켜 원심분리 한 후 cell pellet을 0.2 ml의 PBS로 현탁하여 슬라이드에 cell spot (약  $2 \times 10^4$  cell/ml)을 만들고 공기중에서 완전하게 건조시켰다. 건조가 다 되면 2~8°C의 acetone으로 10분간 슬라이드를 고정시켰다. 고정 후 형광염색은

슬라이드를 상온에 두고 탐지하고자 하는 바이러스에 대한 mouse monoclonal antibody (CHEMICON Cat. No. 3303, 3311, 3321, 3336, 3360)를 cell spot에 접종하여 습기가 충분한 chamber에 슬라이드를 넣고 37°C, 30분간 배양을 하였다. monoclonal antibody를 제거하고 PBS로 10~15초 동안 조심스럽게 씻은 후 anti-mouse IgG/FITC (Light Diagnostics Catalog No. 5013)를 접종하였다. 다시 동일하게 습기가 충분한 chamber내에 슬라이드를 넣고 37°C, 30분간 배양하고 수용성 mounting media (pH 8.5)를 사용하여 커버슬립을 덮은 후 형광 현미경으로 FITC의 apple-green 색의 형광을 확인 하였다.

### 결과 및 고찰

#### 물리·화학적 수질특성

2001년 7월부터 2002년 11월까지 조사한 시료들의 물리·화학적 및 미생물학적 실험결과를 Table 1과 2에 요약하였다. 먼저 수온은 생물의 활성을 지배하는 중요한 환경요인으로 미생물의 영양요구성 정도를 변화시킬 뿐만 아니라 세포내의 생화학적 반응을 결정하기도 한다. 조사기간중 상수원수의 경우 수온의 변화는 7월부터 9월까지 22°C 이상의 수온을 유지하였고, 10월부터 11월 사이에는 점차 감소를 보였으며 12월에서 2월까지 10°C 이하로 떨어져 계절적 특성을 잘 보여 주었다. 물 중의 화학적·생물학적

변화에 대한 중요한 오염지표 항목인 pH는 바이러스 채수 시 주요한 인자인데 특히 2001년 하절기 및 동절기에는 대체로 8.5 이상의 높은 수치를 보여 0.1 M HCl로 pH 값을 7.0 내외로 유지하며 채수를 실시하였다. 이 시기에 pH 수치가 높은 이유는 하계의 *Microcystis aeruginosa*, 동계의 *Stephanodiscus hantzschii*에 의한 식물플랑크톤 등이 대량 증식하였기 때문인 것으로 생각되어진다[20]. 탁도의 경우 원수는 3.5~25.7 NTU로 비교적 높은 분포를 보였으나, 정수 및 수도꼭지에서 나오는 물의 경우 대부분 0.1 NTU 이하로 나타나 미국 EPA에서 권장하고 있는 기준이하로 처리되고 있는 것으로 나타났다. 수질오염의 대표적인 오염지표인 BOD와 Chl-a의 경우 각각 0.8~4.1 mg/ℓ, 7.2~185.9 mg/m<sup>3</sup> 범위를 보였는데 주로 하절기 보다 동절기 시기의 수치가 대체로 높은 경향을 보였다. 상수원수의 수질은 Chl-a 항목을 OECD의 영양화 기준으로 평가할 때 이미 부영양화상태에서 과영양화 상태로 전이한 것으로 보여진다[19]. 정수 및 수도꼭지에서 잔류염소는 0.2~0.8 mg/ℓ로 수질기준(0.2 mg/ℓ 이상)에 모두 적합한 것으로 나타났다.

#### 미생물학적 수질특성

상수원수에서 병원성 미생물의 존재는 언제나 공중위생에 있어 큰 관심사가 되고 있다. 따라서 미생물학적 감사는 채수 시점에서 채취된 시료의 수인성 질병을 일으키는

Table 1. Water quality in raw water from July 2001 to December 2001

Sample number	Sampling sites	Sampling time (day/mo/yr)	pH	Temp. (°C)	Tur. (NTU)	Total coliforms (MPN/100mL)	E.coli (MPN/100mL)	HPC (CFU/mL)	BOD (mg/L)	Chl-a (mg/m <sup>3</sup> )
1	No.1	30/07/2001	8.5	30.7	12.6	1800	3	52500	2.7	33.8
2	No.3	14/08/2001	8.9	23.0	25.7	2500	5	15600	2.3	78.5
3	No.2	18/08/2001	8.2	29.4	18.7	2100	ND	76400	2.4	61.5
4	No.2	25/09/2001	9.0	23.1	13.7	690	ND	3000	2.9	83.2
5	No.1	26/09/2001	9.4	23.0	11.4	690	ND	36500	3.0	81.2
6	No.3	28/09/2001	6.9	23.0	3.5	460	ND	4700	1.2	54.7
7	No.1	29/11/2001	9.4	9.5	9.7	400	ND	9800	4.1	133.3
8	No.3	20/12/2001	8.8	6.3	11.6	330	ND	7000	3.0	15.5
9	No.2	21/12/2001	9.5	3.3	10.5	460	ND	23000	4.1	185.9

※No.1 site = Maeri, No.2 site = Mulgum, No.3 site = Heidong.

부산시 상수원수와 수돗물에서의 수인성 장관계 바이러스 분포조사

Table 2. Water quality in water treatment plants from January 2002 to November 2002

Sample number (Sampling sites)	Sampling time (day/mo/yr)	pH	Temp. (°C)	Tur. (NTU)	Residual Chlorine (mg/L)	Total coliforms (MPN/ 100mL)	E.coli (MPN/ 100mL)	HPC (CFU/mL)	BOD (mg/L)	Chl-a (mg/m <sup>3</sup> )	
10 (No.1)	RW	15/01/2002	8.4	4.0	7.6	-	10	ND	15000	2.9	78.7
	TW	15/01/2002	7.1	5.0	0.09	0.5	ND	ND	ND	-	-
	TW-1	15/01/2002	7.3	6.0	0.10	0.6	ND	ND	ND	-	-
11 (No.2)	RW	21/01/2002	7.7	2.5	18.1	-	200	ND	34000	3.2	69.1
	TW	21/01/2002	6.9	6.4	0.09	0.8	ND	ND	ND	-	-
	TW-1	21/01/2002	7.0	5.0	0.09	0.6	ND	ND	ND	-	-
12 (No.3)	RW	01/02/2002	7.2	6.0	3.4	-	17	ND	1600	1.5	6.1
	TW	01/02/2002	6.9	6.0	0.09	0.6	ND	ND	ND	-	-
	TW-1	01/02/2002	6.8	6.0	0.11	0.4	ND	ND	ND	-	-
13 (No.1)	RW	18/04/2002	7.7	17.2	10.6	-	2400	3	21000	2.8	10.9
	TW	18/04/2002	6.9	17.3	0.10	0.8	ND	ND	ND	-	-
	TW-1	18/04/2002	6.9	17.5	0.11	0.3	ND	ND	ND	-	-
14 (No.2)	RW	25/04/2002	7.9	17.0	12.2	-	700	ND	25000	2.1	20.1
	TW	25/04/2002	6.7	17.2	0.09	0.6	ND	ND	ND	-	-
	TW-1	25/04/2002	6.9	18.8	0.09	0.4	ND	ND	ND	-	-
15 (No.3)	RW	02/05/2002	7.1	15.0	2.6	-	430	8	5600	1.2	12.0
	TW	02/05/2002	6.7	15.2	0.08	0.6	ND	ND	ND	-	-
	TW-1	02/05/2002	7.0	15.3	0.12	0.2	ND	ND	ND	-	-
16 (No.1)	RW	10/07/2002	7.3	23.0	8.9	-	8100	300	19800	2.2	42.1
	TW	10/07/2002	6.7	23.1	0.11	0.7	ND	ND	ND	-	-
	TW-1	10/07/2002	6.7	26.2	0.11	0.4	ND	ND	ND	-	-
17 (No.2)	RW	20/08/2002	7.8	23.0	20.3	-	450	ND	34000	1.2	34.3
	TW	20/08/2002	6.8	24.0	0.09	0.7	ND	ND	ND	-	-
	TW-1	20/08/2002	6.9	24.5	0.09	0.6	ND	ND	ND	-	-
18 (No.3)	RW	22/08/2002	7.2	22.0	7.3	-	120	ND	10300	0.8	7.2
	TW	22/08/2002	6.9	22.2	0.08	0.7	ND	ND	ND	-	-
	TW-1	22/08/2002	6.9	23.1	0.11	0.2	ND	ND	ND	-	-
19 (No.2)	RW	04/11/2002	7.4	12.5	8.2	-	430	4	84700	2.9	58.9
	TW	04/11/2002	6.9	12.5	0.11	0.8	ND	ND	ND	-	-
	TW-1	04/11/2002	6.9	13.5	0.12	0.2	ND	ND	ND	-	-
20 (No.1)	RW	21/11/2002	7.4	11.0	9.5	-	390	10	39200	2.9	73.6
	TW	21/11/2002	6.7	11.5	0.08	0.7	ND	ND	ND	-	-
	TW-1	21/11/2002	6.9	11.5	0.10	0.4	ND	ND	ND	-	-
21 (No.3)	RW	26/11/2002	8.0	9.5	10.1	-	170	2	11000	1.3	10.1
	TW	26/11/2002	7.2	10.2	0.11	0.6	ND	ND	ND	-	-
	TW-1	26/11/2002	7.2	10.2	0.11	0.5	ND	ND	ND	-	-

※No.1 site = Maeri, No.2 site = Mulgum, No.3 site = Heidong.

※RW = Raw water, TW = Treated water, TW-1 = Tap water.

※HPC = Heterotropic Plate Count.

※ND = Not Detected.

감염체의 전염에 대하여 수원보호, 수처리, 급수 등이 어느 정도 효과적인 제어기능을 하는지에 대한 지표역할을 한다 [25]. 지표성 미생물 항목인 총대장균군과 대장균 실험결과는 상수원수의 경우 총대장균군은 10~8100 MPN/100ml, 대장균은 0~300 MPN/100ml 범위를 보였다. 이는 동일한 방법으로 국립환경연구원이 일부지역 상수원수를 대상으로 조사한 총대장균군 10~5300 MPN/100ml, 대장균 0~700 MPN/100ml 결과와 비교하였을 때 총대장균군 수치는 높게, 대장균 수치는 낮은 분포를 보였다[17]. 실험결과 탁도가 높은 경우에 지표성 미생물 오염 농도가 높아 탁도와 지표성 미생물 항목은 바이러스 검출 분포와 어느 정도 상관관계가 있는 것으로 보여지기 때문에 이에 대한 정확한 조사가 이루어져야 할 것으로 판단되어진다. 소독을 포함한 정수처리공정의 효율을 확인하는 항목으로 사용되고 있는 HPC (Heterotropic Plate Count)는 원수에서  $1.6 \times 10^3 \sim 8.5 \times 10^4$  CFU/ml로 나타났는데 이 수치는 1997년도에 측정된 물금 지점의  $2.8 \times 10^4 \sim 6.5 \times 10^5$  CFU/ml 보다는 적게, 1996년도에 조사된 서울시 상수원수의  $3.0 \times 10^2 \sim 2.7 \times 10^5$  CFU/ml와는 비슷한 결과를 보였다[20,24]. 그리고, 정수 및 수도꼭지 시료에서는 모두 검출되지 않았는데 이는 정수과정에서 미생물이 완전하게 제거된 것으로 보여진다. 조사된 측정항목의 결과를 토대로 종합해보면 3개 지점의 상수원수는 유기물과 미생물 오염수치가 높게 나타났으며, 특히 수온이 떨어지는 겨울철이 여름철 보다 오염정도가 높은 것으로 나타나 갈수기가 지속되는 겨울철에 보다 철저한 원수에 대한 수질관리 방안과 정수처리 대책이 요구되어진다.

### 바이러스 검출 및 분포특성

총세포배양법에 의한 상수원수에 대한 바이러스 검사는 총 21회, 정수 및 수도꼭지수의 바이러스 검사는 총 24회에 걸쳐 실시하였다. ICR 방법에 따라 200~1200 L 시료를 오염정도에 따라 25~30 ml 정도로 최종 농축하여 실험에 사용하였다. 바이러스 검출을 위한 세포의 관찰은 도립현미경을 사용하였으며, CPE 현상이 일어나는지를 확인하기 위해 첫 3일간은 매일, 그 다음은 이틀 간격으로 관찰하였다. 배지는 미리 36.5℃로 유지하여 4~7일마다 갈아주었다. 1, 2차 검사에서 양성을 보인 시료는 양성으로 판정하고 1차 음성, 2차 양성인 경우는 3차 검사를 시행하여 바이러스 검출여부를 확인하였다. 그 결과 총 21개의 원수 시료 중 13개 시료에서 CPE가 확인(Fig. 2)되어 61.9%의 양성율을 보였다. 검출된 13개 시료를 지점별로 살펴보면 물금 3회, 매리 4회 및 회동 6회로써, 회동 원수가 물금·매리 원수보다 검출율이 높았는데 이는 검출된 시기에 상대적으로 높은 원수의 탁도와 밀접한 상관성이 있는 것으로 생각되어진다. 총세포배양법에 의해 검출된 바이러스는 미국 EPA에서 공급한 MPN program을 사용하여 측정하였는데 1.92~9.70 MPN/100 L로 정량되었다. 이 수치는 서울시에서 1999년 4월에서 2000년 3월 동안 조사한 1.02~3.23 MPN/100 L, 이 등이 조사(1997. 9~1998. 7)한  $2.0 \times 10^3 \sim 2.9 \times 10^2$  MPN/L 보다 높은 것으로 나타나 부산시 상수원수는 서울시 상수원수에 비해 바이러스 등의 수인성 오염이 상대적으로 높음을 알 수 있었다[14,23]. 또한, 계절별로 볼 때 1~3월에 2회, 4~6월에 2회, 7~9월에 4회, 10~12월에 5회로 나타나 여름철부터 초겨울에 주로 분포하는 특성을 보여주었는데(Fig. 3), 이는 Tani 등이 1991년 일

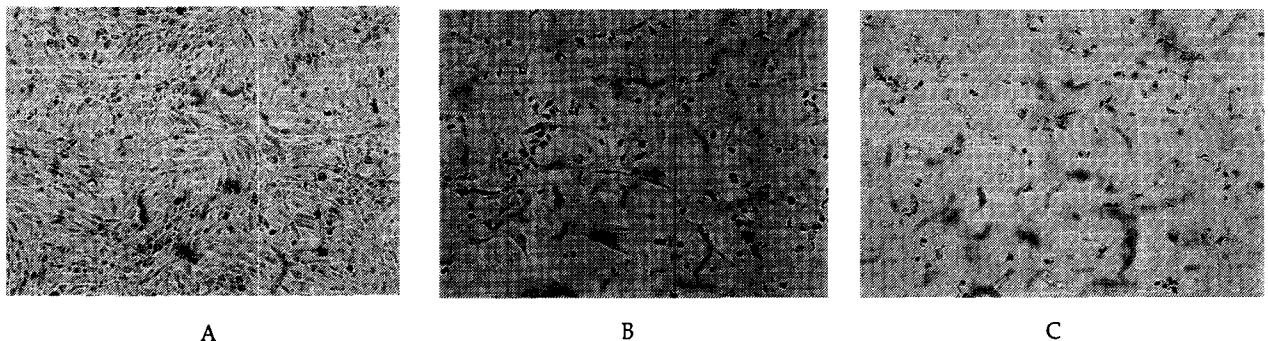


Fig. 2. Cytopathic effect in BGM cells.

A : Control, B : Poliovirus (Sample number 1, No.1 site), C : Enterovirus (Sample number 17, No.2 site).

부산시 상수원수와 수돗물에서의 수인성 장관계 바이러스 분포조사

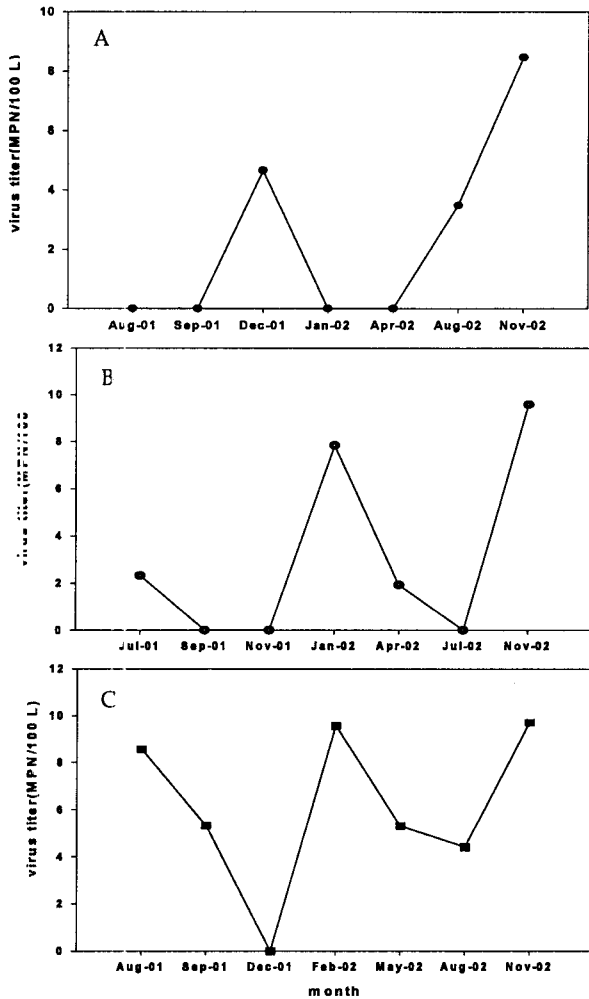


Fig. 3. Enteric viruses distribution of seasonal and sampling station in raw water.  
(A : Mulgum, B : Maeri, C : Heidong).

본 Safo강 지점을 대상으로 조사한 결과와 분포특성이 거의 일치하였다[18]. 정수 및 수도꼭지수 24개의 시료에서는

Table 3. Identification of enteric virus in raw water from July 2001 to November 2002

Sample Number	Sampling sites	Identification
1	No. 1	Poliovirus type 1
2	No. 3	Poliovirus type 1
8	No. 3	Poliovirus type 1
9	No. 2	Enterovirus
10	No. 1	Enterovirus
12	No. 3	Enterovirus
17	No. 2	Enterovirus
18	No. 3	Enterovirus

※No.1 site = Maeri, No. 2 site = Mulgum, No. 3 site = Heidong.

검사결과 모두 바이러스가 검출되지 않았는데, 이는 3개 정수장의 정수처리공정에서 감염성 바이러스를 적절하게 제어하여 불활성화 시킨 것으로 보여진다.

총세포배양법에 의해 정수 및 수도꼭지수에서 바이러스가 검출되지 않았지만 수돗물의 안전성을 확신하기 위해서는 앞으로 관말을 비롯한 넓은 범위의 많은 수도꼭지 시료에 대해 바이러스 오염여부를 확인하고, 검출하고자 하는 바이러스의 영역을 확대함은 물론 정수처리공정에서 바이러스를 효과적으로 제어할 수 있는 소독제에 대한 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것으로 판단된다[14,23]. 또한 환경시료 중에 매우 낮은 농도로 존재하고 있는 레오바이러스(reoviruses), 아스트로바이러스(astroviruses) 등은 BGM 세포에서는 증식하지 못해 CPE 현상을 관찰하기 어렵기 때문에 검출하고자 하는 바이러스 종류에 따른 세포주의 선정 및 선택에 대해서도 고려해야 할 것으로 생각되어진다[2,12]. 그리고 이러한 수인성 장관계 바이러스의 검출은 국민 보건학적 관점에서 보면 아주 중요하기 때문에 검출

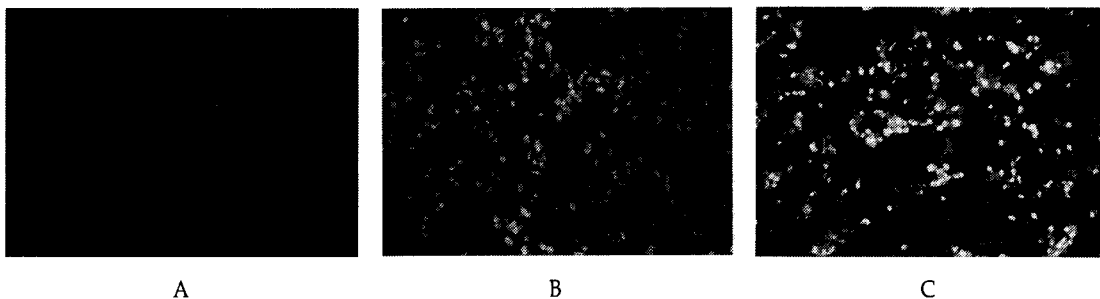


Fig. 4. Identification of enteric virus in raw water by immunofluorescent test  
A : Control, B : Enterovirus (Sample number 17, No.2 site) , C : Poliovirus (Sample number 1, No.1 site).

시간이 단축되고 낮은 농도에서도 검출 민감도가 높은 ICC-PCR 방법에 대해서도 바이러스 검출방법으로 추가하여 검증해야 할 것으로 생각된다[12,13].

#### 바이러스 동정

총세포배양법에 의해 상수원수 중에서 검출된 바이러스는 면역형광시험법을 이용하여 동정하였다(Table 3, Fig. 4). 분리된 13개 바이러스 중 8개는 human poliovirus type 1과 enterovirus로 확인되었으나, 5개의 시료는 사용된 항체에서는 동정되지 않았다. 이는 서울시 상수원수를 대상으로 서울시에서 동정된 coxsackie B, poliovirus[14], PCR 산물을 sequencing하여 동정한 adenovirus, enterovirus [23], 그리고 부산시 상수원수를 대상으로 PCR을 이용하여 동정한 human poliovirus type 1과 비슷한 경향을 보이는 것으로 나타났다[10].

### 요 약

미국 EPA (Environment Protection Agency)와 환경부에서 규정하고 있는 표준검출법인 총세포배양법 (Total Culturable Virus Assay : TCVA)을 이용하여 부산시 상수원수 및 정수장을 대상으로 2001년 7월에서 2002년 11월까지 바이러스 검사를 실시하였다. 검사결과 21개의 상수원수 시료 중 13개 시료에서 CPE (cytopathic effect)가 확인되어 61.9%의 양성률을 보였으며, 정수 및 수도꼭지수에서는 모두 검출되지 않았다. 또한, 검출된 바이러스를 계절별로 보면 주로 여름철과 초겨울에 분포하는 특성을 보였다. 검출된 바이러스는 TCVA-MPN 방법에 의해 1.92~9.70 MPN/100 L의 범위로 정량 되었으며, 면역형광법 (Immunofluorescent assay)에 의해 human poliovirus type 1 과 enterovirus종으로 동정되었다.

### 참 고 문 헌

1. Abbaszadegan, M., P. Stewart and M. Lechevallier. 1999. A strategy for detection of viruses in groundwater by PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 444-449.
2. Abbaszadegan, M., M. S., Huber, C. P. Gerba and I. L. Pepper. 1993. Detection of enteroviruses in groundwater with the polymerase chain reaction.

- Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 1318-1324.
3. APHA. 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA-AWWA-WPCF, New York.
4. C. D., Chapron, N. A., Ballester, J. H., Fontaine, N. F., Christine and A. B., Margolin. 2000. Detection of astroviruses, enteroviruses and adenovirus type 40 and 41 in surface waters collected and evaluated by the information collection rule and integrated cell culture-nested PCR procedure. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 2520-2525.
5. Cho, H. B., S. H. Lee, J. C. Cho and S. J. Kim. 2000. Detection of adenoviruses and enteroviruses in tap water and river water by reverse transcription multiplex PCR. *Can. J. Microbiol.* **46**, 417-424.
6. Cho, Y. H. and C. H. Lee. 2002. Detection of Poliovirus in Water by Cell Culture and PCR Methods. *The Korean J. of Microbiology.* **38**, 198-204.
7. EPA. 1996. ICR Microbial Laboratory Manual.
8. EPA. 1995. Information Collection Requirements Rule Protozoa and Enteric Virus Sample Collection Procedure.
9. Jung, E. Y. and K. L. Jang. 2000. An Effective Method for the Concentration and Detection of Enteroviruses from Water Samples by Combined Cell Culture-Polymerase Chain Reaction. *Korean J. of Life Science.* **10**, 368-373.
10. Jung, E. Y., J. M. Jung, J. I. Ryoo, P. S. Shin, H. K. Jun and K. L. Jang. 2000. Detection of Enteroviruses from Surface Water by Combined Cell Culture-PCR. *Korean J. of Life Science.* **10**, 484-489.
11. Jung Y. S. 2000. National survey research and significance from ICR method. *Forum collection of waterborne viral analysis.* 21-39.
12. K. A., Reynolds, C. P. Gerba and I. L. Pepper. 2001. ICC/PCR detection of infectious enteroviruses and hepatitis A virus in environmental samples. *Can. J. Microbiol.* **47**, 153-157.
13. K. A., Reynolds, C. P. Gerba and I. L. Pepper. 1996. Detection of enteroviruses by an integrated cell culture PCR procedure. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**, 1424-1427.
14. Lee, S. H. and S. J. Kim. 2002. Detection of infectious enteroviruses and adenoviruses in tap water in urban areas in Korea. *Wat. Res.* **36**, 248-256.
15. Ministry of Environment. 2002. Standard for Drinking



- Water Treatment.
16. Ministry of Environment. 2002. Standard Method for the Drinking Water Quality.
  17. National Institute of Environmental Research. 1998. Water Quality Management for Health and Treatment related microorganisms.
  18. N. Tani, K. Shimamoto, K. Ichmura, Y. Nishii, S. Tomita and Y. Oda. 1992. *Wat. Res.* **26**, 45-48.
  19. OECD. 1982. Eutrophication of Waters; Monitoring, Assessment and Control. 154. Paris.
  20. Park, H. K., C. M. Chung, J. R. Bahk and Y. K. Hong. 1999. The Relationship between Phytoplankton Productivity and Water Quality in Downstream of Nakdong River. *J. of the Korean Environmental Sciences Society*, **8**, 101-106.
  21. Wallis, C and J. L. Melinick. 1960. Cationic stabilization a new property of enterovirus. *Virology*, **16**, 683-700.
  22. Water Quality Institute of Busan Metropolitan City. 2000. Distribution of Viruses in Tap Water.
  23. Waterworks Research Institute of Seoul Metropolitan Government. 2000. A Study on the control and distribution of viruses in Tap Water.
  24. Waterworks Research Institute of Seoul Metropolitan Government. 1997. Research on expansion plan of water quality test items.
  25. WHO. 1996. Guidelines for Drinking-Water Quality.
  26. Yolken, R. H. and V. M. Torsch. 1980. Enzyme-linked immunosorbant assay for detection and identification of coxsackie B antigen in tissue cultures and clinical specimens. *J. Med. Virol.* **6**, 45-52.

(Received January 20, 2003; Accepted April 8, 2003)