

## PCR법을 이용한 옹달샘물의 대장균군 및 대장균 검출

류승희\* · 박석기

서울특별시 보건환경연구원

### Detection of Coliform and *Escherichia coli* in Spring Water by Polymerase Chain Reaction

Ryu, Seung-Hee\* · Park Seog Gee

Seoul Metropolitan Government Research Institute of Health and Environment

#### ABSTRACT

The polymerase chain reaction(PCR) of target *lacZ* and *uidA* genes were used to detect total coliform and *Escherichia coli* for determining water quality, respectively.

Of 109 spring waters, coliform were detected from 38 spring waters by *lacZ* PCR method but 21 spring waters by culture method accepted by the Ministry of Environment for water quality monitoring. The *lacZ* PCR method gave the results statistically equivalent to those of the culture method( $\kappa=0.62$ , McNemar=17.00). The *uidA* PCR method gave the same results to those of the culture method. The sensitivity and specificity of coliform and *E. coli* by PCR method were 100% and 80.7%, respectively.

Therefore, PCR can be used for the rapid identification of *Escherichia coli* and coliform in potable water using *uidA* and *lacZ*.

**Keywords:** Coliform, *Escherichia coli*, Spring water, Polymerase chain reaction

#### I. 서 론

물은 사람의 생명유지에 필요할 뿐만 아니라 일상생활에서도 필수 불가결하다. 미생물이나 중금속에 오염된 유해한 물을 음료수나 생활용수로 사용하게 되면 인간은 매우 위험하게 된다.

물을 공급하는 측은 유해한 물을 공급하지 않도록 충분한 처리와 수질관리를 하지 않으면 안되며, 기업이나 주민도 물의 안전성만을 요구할 것이 아니라 물을 오염시켜 안전성을 저하시키는 데 자기 자신이 가담하고 있다는 점을 자각해야만 한다.<sup>1)</sup>

우리 나라는 1960년대 중반 이후 급격한 공업화에 의해 각종 오염물질이 수질을 오염시켜 문제가 되고 있지만, 수질오염에서 병원미생물이

차지하는 비중이 결코 적지 않다. 우리 나라나 기타 선진국에서도 물 이용시 미생물에 의한 질병이 계속 꼬리를 물고 발생하고 있으며, 오히려 그 정도가 심해지고 있는 형편이다.<sup>2~17)</sup> 현재 우리나라에서는 낙동강의 폐물 오염사건을 계기로 1995년 먹는물 관리법이 제정되어 먹는물을 총괄하고 있다.

대장균군검사의 표준방법으로 사용하고 있는 배양법의 최대 장점은 목적 미생물을 배양 증식 시킴으로써 감염성 유무를 판정할 수 있다는 것이다. 그러나 단점은 결과의 판정까지 상당한 시간이 소요되기 때문에 신속성이 결여된다는 점이다.<sup>18)</sup>

PCR(Polymerase Chain Reaction)은 최근 들어, 환경중의 미생물을 동정해 내는데 효과적인 도구로 활용되고 있다.<sup>19)</sup> 비록 어떤 종류의 시료는 직접 PCR기술을 적용하는데 실용적이지 않지만, PCR기술은 결과를 얻어내는데 걸리는 시

\* Corresponding author : Seoul Metropolitan Government  
Research Institute of Health and Environment  
Tel : 02-570-3421 Fax : 02-570-3470  
E-mail : chanul@snu.ac.kr

간을 현저히 줄일 수 있다.<sup>20)</sup>

본 연구는 옹달샘의 대장균과 대장균군을 검출하는데 일반적으로 이용되고 있는 배양법과 최근 활용범위가 넓어지고 있는 PCR법의 통계적 유의성을 조사하여 대장균과 대장균군의 신속한 검출 및 신뢰성 있는 동정을 위한 방법을 찾고자 하였다. 이로서 옹달샘물의 미생물학적 안전성을 확보함으로써 국민보건 향상에 이바지하고자 한다.

## II. 연구방법

### 1. 시험 옹달샘물

서울시에 산재에 있는 109곳의 옹달샘물을 대상으로 배양법 및 PCR법을 이용하여 대장균군 및 대장균 검출 시험을 하였다.

### 2. 배양법에 의한 대장균군 및 대장균 검출

대장균군은 5관법을 이용한 최확수법(most probable number)에 의해 측정하였다. 추정시험은 lactose broth(Difco)를 사용해 36℃에서 48±2시간 배양하여 가스를 생성한 경우를 양성으로 판정하였다. 추정시험 결과 양성인 경우 BGLB(Difco)에 이식하여 36℃에서 48시간 배양하여 가스가 생성되면 확정시험 양성으로 하였다. 가스발생을 보인 BGLB배지로부터 EMB(Difco)배지에 1 백금 루프량을 도말 접종하고 36℃에서 24±2시간 배양하여 그 성상을 관찰하고 그람염색과 lactose 분해 가스생성 여부를 다시 확인하여 최종 판정하였다.<sup>21)</sup>

### 3. PCR를 이용한 대장균군 및 대장균 검출

#### 1) Template DNA 분리

시료의 genomic DNA는 다음과 같이 분리하였다. 옹달샘물 50ml를 12,000rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 버리고, 침전물을 TE(Tris-EDTA ; Sigma) buffer 567 $\mu$ l에 재부유시켰다. 재부유액을 1.5ml Eppendorf tube에 옮

기고, 여기에 10% SDS(sodium dodecyl sulfate ; Sigma) 30 $\mu$ l, Proteinase K(20mg/ml in TE ; Sigma) 3 $\mu$ l, RNase (10mg/ml in TE ; Sigma) 5 $\mu$ l를 가하고 손으로 흔들었다. 37℃에서 1시간 반응시킨 후 5M NaCl 100 $\mu$ l, 65℃의 CTAB 용액(0.7M NaCl에 10% hexadecyltrimethyl ammonium bromide ; Sigma) 80 $\mu$ l를 가하여 섞고 65℃에서 10분간 반응시켰다. 이 반응액에 chloroform/isoamyl alcohol(24:1) 800 $\mu$ l을 가하여 섞고 15,000rpm에서 5분간 원심분리하였다. 점액성의 상층액을 새 Eppendorf tube에 옮기고 동량의 PCI(phenol/chloroform/isoamyl 25 : 24 : 1 ; Sigma)를 가하여 손으로 흔들었다. 재차 15,000rpm에서 5분간 원심분리를 하고 상층액을 새로운 Eppendorf tube에 옮겨 isopropanol 0.6용량(500 $\mu$ l)을 가한 후 DNA 침전이 생길 때까지 가볍게 흔들어 섞었다. 15,000rpm으로 5분간 원심분리를 하고 침전물에 70% 에탄올을 가하여 세척하였다. Vacuum evaporator(VR-1 ; Heto Lab)에서 에탄올을 완전히 증발시키고 TE buffer 30 $\mu$ l를 가해 DNA농도를 측정하고, template DNA로 사용하였다.

#### 2) PCR Primer

대장균군을 검출하기 위한 primer는  $\beta$ -galactosidase와 관련한 *lacZ* 유전자의 염기서열 1675번째에서 1698번째에 위치하는 ZL-1675(5'-ATGAAAGCTGGCTACAGGAAGGCC-3')와, 염기서열 2001번째에서 2025번째에 해당하는 ZR-2025(5'-GGTTTATGCAGCAACGA GACGTCA-3')를 사용하였고, 이들은 총 264bp 크기의 유전자를 생성하였다.<sup>22)</sup>

대장균을 검출하기 위한 primer 쌍은 *uidA* 유전자의 염기서열 754번째에서 773번째에 해당하는 UAL-754 (5'-AAAACGGCAAGAAAA GCAG-3')와, 염기서열 880번째에서 900번째에 해당하는 UAR -900(5'-ACGCGTGGTTACAG TCTTGCG-3')을 사용하였고, 이들은 총 147bp

크기의 유전자를 생성하였다.<sup>21)</sup> 각 primer는 (주) Bioneer에 의뢰 제작한 것을 사용하였다.

3) PCR 증폭반응

대장균군과 대장균 검출을 위한 DNA의 PCR 증폭은 다음과 같이 실시하였다. Template DNA 2 $\mu$ l, 각각 50pmol primer 0.25 $\mu$ l, Premix Taq(TaKaRa, R004A) 25 $\mu$ l를 포함하는 50 $\mu$ l 반응액을 Thermal Cycler(GeneAmp PCR system 9700; Applied Biosystem)로 증폭하였으며 증폭조건은 다음과 같았다.

대장균군의 경우 초기 denaturation 과정으로 94 $^{\circ}$ C에서 3분간 수행하였고, denaturation 과정으로 94 $^{\circ}$ C에서 1분, primer annealing 과정으로 50 $^{\circ}$ C에서 1분, extension 과정으로 72 $^{\circ}$ C에서 2분간씩 35회 실시하였고, 최종적으로 72 $^{\circ}$ C에서 7분간 extension시켰다.<sup>22)</sup>

대장균의 증폭조건은 대장균의 경우 초기 denaturation 과정으로 95 $^{\circ}$ C에서 3분간 수행하였고, denaturation 과정을 94 $^{\circ}$ C에서 1분, primer annealing 과 extension 과정을 50 $^{\circ}$ C에서 1분간씩 25회 실시하였고, 최종적으로 72 $^{\circ}$ C에서 7분간 extension시켰다.<sup>23)</sup> 음성대조 실험으로는 각각의 반응물에 template DNA를 넣지 않은 것을 사용하였다.

4) Agarose Gel Electrophoresis

0.5 $\times$ TBE buffer에 Nusieve 3:1 agarose gel(FMC Bioproducts ; Rockland)을 녹여 만

들었다. 증폭된 PCR products 5 $\mu$ l와 6배로 농축된 sample loading dye(TaKaRa) 1 $\mu$ l를 섞어 1.8% agarose gel에서 50V로 2시간 동안 전기영동을 실시하였으며 molecular size marker는 100bp DNA ladder(Gibco/BRL)를 사용하였다.

전기영동한 Gel은 0.5 $\mu$ g/ml 농도의 ethidium bromide(Sigma) 용액에 30분간 염색한 후, 다시 증류수에 30분 이상 세척하여 탈염색을 한 후 UV transilluminator(Vilber Lumart)로 밴드를 분석하였다.

III. 결과 및 고찰

웅달샘물의 대장균군수는 Table 1과 같다. 도봉산 소재 웅달샘이 0.038MPN/100ml으로 가장 높았으며, 남산 0.029MPN/100ml, 북한산 0.008MPN/100ml, 모락산 0.007MPN/100ml, 불암산 0.005MPN/100ml, 관악산 및 구룡산 각 0.004MPN/100ml, 수락산 및 우면산 각 0.002MPN/100ml 순이었으며, 대모산과 청계산 모두 검출되지 않았다. 10MPN/100ml 이상인 곳이 도봉산과 북한산 각 2개소, 관악산과 구룡산 각 1개소 총 6개소이었으며, 10MPN/100ml 이하로 검출된 곳이 총 15개소로 남산 4개소, 북한산 3개소, 불암산과 관악산 각 2개소, 도봉산, 모락산, 수락산 그리고 우면산 각 1개소이었다.

Table 1. Distribution of total coliform of spring water in Seoul

Location	No. of tested sample	No. of coliform(MPN/100ml)			Geometric mean
		No detected	1~10	Over 10	
Mt. Gwanak	19	16	2	1	0.004
Mt. Guryong	7	6		1	0.004
Mt. Nam	10	6	4		0.029
Mt. Daemo	10	10			0
Mt. Dobong	8	5	1	2	0.038
Mt. Morak	4	3	1		0.007
Mt. Bookhan	21	16	3	2	0.008
Mt. Boolam	10	8	2		0.005
Mt. Soorak	10	9	1		0.002
Mt. Woomyun	9	8	1		0.003
Mt. Cheonggye	1	1			0
Total	109	88	15	6	0.005

대장균군은 그람음성의 무아포성 간균으로 유당을 분해 가스를 생성하는 모든 호기성 또는 통성혐기성 세균을 의미하며 반드시 분류학적으로 대장균에 가까운 것을 말하는 것은 아니다. 즉 분류학적 용어가 아니고 공중위생과 응용세균학적으로 사용되는 편의상의 용어이다.<sup>24)</sup>

먹는물에서 병원미생물 오염을 관찰하기 위해, 번잡한 조작과 시간을 요하는 각종 병원균의 검출 동정을 실시한다는 것은 수질관리상 비현실적이다. 수인성 전염병이 분변을 매개체로 하여 감염된다는 사실에서 분변에 다량 존재하며, 수중에서 또한 정수 과정에서 병원균보다도 내성이 있는 대장균 성장 중 특징적인 것을 확인하는 것으로 간접적이지만 간편하게 병원미생물에 의한 오염 가능성을 알 수 있어 인축의 배설물 등에 의한 오염도를 표시하는 지표로서 대장균을 실시하고 있다.

배양법으로 확인한 웅달샘의 대장균군은 기하평균 0.005MPN/100ml로 박 등<sup>25)</sup>의 290±11.4 MPN/100ml보다 상당히 수질이 우수한 것으로 나타났다. 또한 본 실험에서 대장균군 검출율도 19.3%로 변 등<sup>26)</sup>의 16.2%에 비해 다소 높게 나왔으나, 박 등<sup>25)</sup>의 61.7%, 유 등<sup>27)</sup>의 34%에 비해 낮은 수준으로 나타났다. 이 것은 본 실험의 대상 웅달샘이 비교적 관리 상태가 양호하고, 또한 최근 웅달샘의 수질검사를 정기적으로 실시하고 있기 때문인 것으로 생각된다. 웅달샘에서 분리한 대장균군의 균종별 분포는 다음과 같았다. 총 21개소의 대장균군 양성 웅달샘에서 분리한 대장균군 중 가장 많은 비율을 차지하는 것은 *E.coli* 7주로 전체 대장균군중 33%를 차지하였으며, *Klebsiella* 5주(24%), *Enterobacter* 4주(19%), *Citrobacter* 3주(14%), *Serratia*가 2주(10%) 순으로 나타났다. 대장균군에 속하는 세균 중에는 *E. coli*와 *Klebsiella pneumoniae*는 분변유래균이지만, *Enterobacter aerogenes*와 *Enterobacter cloacae*는 분변 및 자연계에 모두 존재하는 중간형이고, *Erwinia corotovor*a, *Citrobacter freundii* 등은 식물, 토양, 물 등에서 유래하는 자연환경균이다. 또한 *Serratia*는 기회

감염균으로 면역부전 환자에게 질병을 일으키며, 소동물, 가축, 물, 식물 및 병원환자에 존재한다. 토양에서, *Serratia*는 유기철분을 미네랄화하며, 금과 동을 분해하는 생물환에서 중요한 역할을 한다.<sup>28)</sup>

웅달샘의 대장균군을 검출하기 위한 PCR결과는 Table 2와 같다. 배양법으로는 총 21건의 대장균군이 검출되었으나, PCR법에 의해서는 38건이 검출되었다. 지역별로는 관악산은 배양법에서 3개소이나 PCR법으로 5개소에서 검출되었으며, 구룡산은 배양법 1개소, PCR법 2개소, 남산은 배양법 5개소, PCR법 7개소, 대모산은 배양법에서 검출되지 않았으나 PCR법으로 2개소가 검출되었다. 도봉산은 배양법에서 2개소 PCR법으로 5개소가 검출되었다. 북한산은 배양법에서 5개소에서 검출되었으나 PCR법으로 8개소가 검출되었고 수락산은 배양법에서 1개소 PCR법으로 5개소가 검출되었다. 우면산 및 모락산은 배양법 및 PCR법 모두 1개소씩 검출되었고, 불암산은 모두 2개소씩 검출되어 배양법과 PCR법이 일치하였다.

현재 웅달샘의 대장균군 검사방법은 lactose broth 등의 배지를 이용한 배양법으로 되어 있다. 물 공급의 미생물학적 안전성을 일상적으로 확인하는 과정에 배양법을 이용하는 데에는 몇 가지 문제점이 있다.<sup>22)</sup> 물 속의 화학물질에 의해 손상을 받은 미생물의 경우 배지에서 자라지 않아 배양법으로 검출이 되지 않는 반면, 영양분이 확보될 경우 증식을 하여 질병을 일으킬 수 있다. 또한 배양법의 경우 확인까지 오랜 시간이 걸리며, 실제 분원성 대장균군 검출에는 특이도가 떨어진다는 단점이 있다.<sup>22)</sup>

대장균군을 검출하기 위한 *lacZ* primer를 이용한 PCR법과 배양법의 비교 결과는 Table 3과 같다. 배양법 검사결과 대장균군 양성으로 나타난 21건은 모두 PCR법에서 양성으로 나타났다. 음성으로 나타난 88건 중 17건이 PCR 검사결과 대장균군 양성으로 나타났으며, 71건은 PCR 결과도 대장균군 음성이었다.

**Table 2.** Distribution of total coliform detected by PCR of spring water in Seoul

Location	No. of Tested Sample	No. of spring water which coliform detected by culture method	No. of spring water which coliform detected by PCR
Mt. Gwanak	19	3	5
Mt. Guryong	7	1	2
Mt. Nam	10	4	7
Mt. Daemo	10	0	2
Mt. Dobong	8	3	5
Mt. Morak	4	1	1
Mt. Bookhan	21	5	8
Mt. Boolam	10	2	2
Mt. Soorak	10	1	5
Mt. Woomyun	9	1	1
Mt. Cheonggye	1	0	0
Total	109	21	38

**Table 3.** Comparison of detection of coliform between culture method and PCR method

		No. of spring water by PCR		
		Positive	Negative	Total
No. of spring water by culture method	Positive	21	0	21(19.3%)
	Negative	17	71	88(80.7%)
	Total	38(34.9%)	71(65.1%)	109

*lacZ* primer를 이용한 PCR의 최종산물은 264bp크기의 유전자를 생성하였으며, PCR product의 전기영동 결과는 Figure 1 및 Figure 2와 같다.

Figure 1은 배양법 검사결과 대장균군 양성으로 나타난 21건의 시료를 *lacZ* primer를 이용하여 PCR을 실시한 결과이다. 배양법 검사결과 대장균군 양성으로 나타난 21건 모두 *lacZ* primer를 이용한 PCR결과 대장균군 양성으로 판정되었다. Figure 2은 배양법 검사결과 대장균군 음성으로 판정된 시료가 PCR product의 전기영동 결과 band를 확인할 수 있어 양성으로 나타난 경우를 보여주고 있다.

Bej<sup>22)</sup> 등은 시료의 양을 100ml로 하고 있는데 이는 WHO에서 먹는물 원수나 배수관망에서의 처리수의 대장균군 기준을 시료 100ml에서 불검출로 규정하고 있기<sup>29)</sup> 때문이라 생각된다. 그러나 우리 나라의 수질기준은 50ml에서 불검출로 규정하고 있다.<sup>20)</sup> 따라서 본 연구에서는 우리 나라 시료에의 적용가능성을 살펴보고자 시료의 양을 50ml로 하였다. 대장균군을 검출하기 위해 Bej<sup>22)</sup> 등이 고안한 *lacZ* primer를 사용하였다. 이는 전통적인 대장균군 측정이 대장균군에 의해 생산된 *lacZ*의 유전산물( $\beta$ -galactosidase)의 activity를 검출하는데 의존하기 때문이다.<sup>22)</sup>

용달샘의 대장균을 검출하기 위한 PCR 결과는 Figure 3과 같았다. 배양법으로 검사하여 대장균으로 검출된 7건의 시료는 모두 *uidA*를 이용한 PCR결과 대장균 양성으로 나타났다. 배양법 결과 기타 다른 대장균군 양성으로 나타난 시료나, 배양법 결과 음성이면서 PCR결과 양성인 시료는 *uidA*를 이용한 PCR에 증폭 band가 나타나지 않았다. 따라서 대장균을 검출하기 위해 *uidA*를 이용한 PCR결과는 배양법을 통해 대장균을 검출한 결과와 완전히 일치하였다.

본 연구의 결과는 Fricker 등<sup>29)</sup>이 대장균 117주를 물에 접종하여 *uidA* primer를 이용한 PCR을 실시한 결과 117주 모두 양성으로 나타나 100%의 sensitivity를 나타낸 것과 일치하는 결과이었다. *uidA* primer를 이용한 PCR법은 물에서 배양법에 의해 대장균을 동정한 결과와 일치하므로, 대장균을 신속·정확하게 확인할 수 있는 방법으로 최적이라고 생각된다.

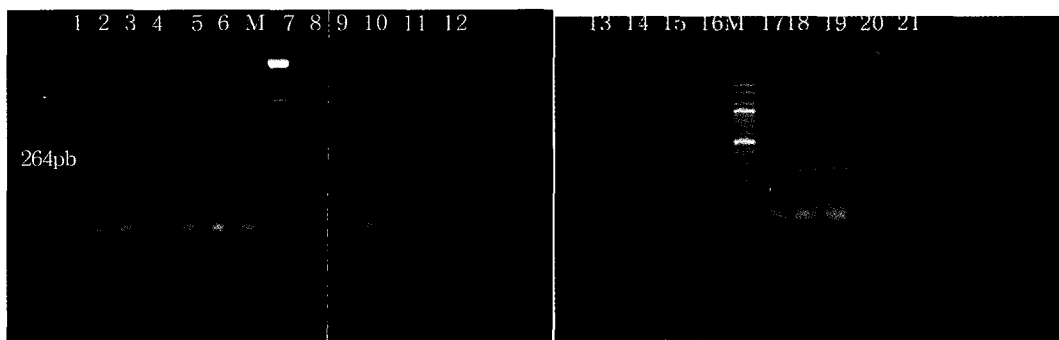
본 연구에서는 배양법으로 검사한 109건 중 17건이 PCR 결과와 일치하지 않았으며 92건은 일치하는 결과를 보였다. Bej 등<sup>27)</sup>의 연구에서는 대장균군을 검출하는 방법으로 Standard Method<sup>21)</sup>

의 Plate count법과 Colilert ONPG법을 *lacZ* primer를 이용한 PCR과 비교하고 있다. 그 결과 Plate count법은 90건 중 13건이, Colilert ONPG법은 90건 중 7건만이 PCR결과와 일치하지 않는 것으로 보고하고 있어, 본 실험과 유사한 결과를 나타내었다.

본 연구에서는 대장균군을 검출하기 위한 PCR법의 민감도(sensitivity)가 100%, 특이도(specificity)가 80.7%로 비교적 높게 나타났다. 특히 배양법 검사결과 대장균군 양성인 21건의 시료 모두가 *lacZ* primer를 이용한 PCR결과 대장균군 양성으로 나타나 PCR법이 수질 모니터링에 이용될 수 있는 가능성을 보여주고 있다.

이상적인 검사법은 실제 양성을 양성으로 검출하는 민감도와 실제 음성을 음성으로 검출하는 특이도를 모두 갖추고 있어야 한다. 검사법의 타당성은 이 민감도와 특이도에 의하여 정해지며, 이 두 가지가 모두 높을 때 그 검사법의 타당성이 인정된다.<sup>30)</sup>

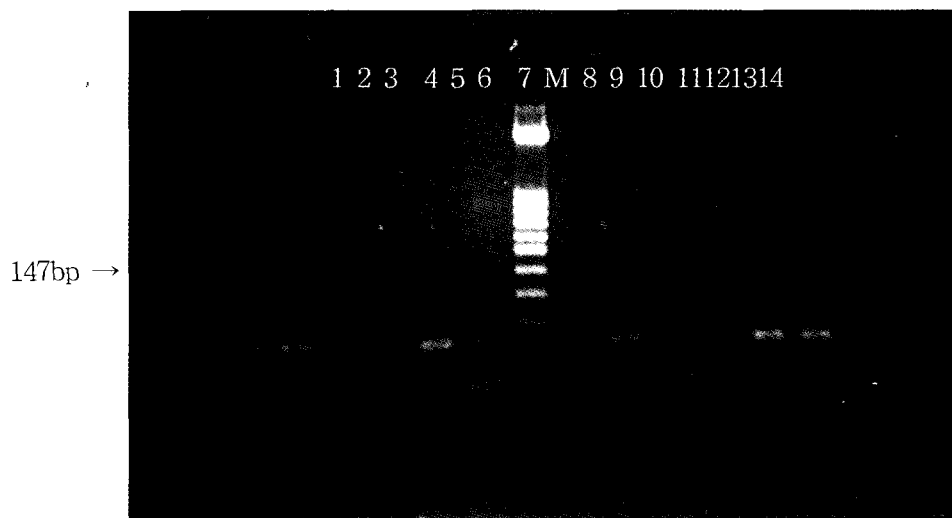
배양법과 PCR법의 판정의 일치도를 살펴보기 위해 통계 분석을 실시하였다. 통계 분석의 결과는 Table 4와 같았다.



**Figure 1.** Agarose gel electrophoresis of nucleic acid amplification products from spring water confirmed the positive coliform by culture method using *lacZ* primer. From lane 1 to 21 is Indeokjeong, Deokwoam, Yongdoocheon, Jangchoong, Beombawi, Namsansanakhoi, 100bp DNA ladder, Mansoocheon, Yeseong, Jangsoo(down), Bagaji, Youngshin Woman's high school, Tongilsaem, Nockcheonsaem, Soonheung, Hoam2, Hoam1, Madangbawisaem, Seokgoolammitsaem, Yongdamsoo, Academy mit, Yonghwacheon, respectively.



**Figure 2.** Agarose gel electrophoresis of nucleic acid amplification products from spring water confirmed negative coliform by culture method using *lacZ* primer. From lane 1 to 16 is 2nd Boolamsanakhoi, Sinsangga badminton, Seokcheon, Sooamsaem, Dongmakgol, Dolsansaem, Bonghwangsaem, 3rd yayoungjang, 100 bp DNA ladder, Pokpo, Surakgolsaem, Myeongsangsaem, Youngwonamsaem, Suamgaegoksaem, Baeggot, Mansucheon, Sihocheon, respectively.



**Figure 3.** Agarose gel electrophoresis of nucleic acid amplification products from spring water using *uidA* primer. From lane 1 to 14 is Indeokjeong, Deokwooam, Yongdoocheon, Jangchoong, Beombawi, Namsansanakhoi, 100bp DNA ladder, Mansoocheon, Yeseong, Jangsoo(down), Bagaji, Youngshin Woman's high school, Tongilsaem, Nokcheonsaem and Soonheung, respectively.

**Table 4.** Statistical analysis of *lacZ* PCR versus the culture method for total coliform bacterium detection

Test	Statistic ( <i>lacZ</i> PCR vs test)	
	kappa	McNemar
Culture method	0.62	17.00*

본 연구에서의  $\kappa$ 값은 0.62로 비교적 일치도가 높았으며, 또한 McNemar test 결과 통계량이 17.00,  $P < 0.0001$ 로 일치도가 높았다.

판정의 일치도를 나타내는 지표로는 5~6가지 정도가 제시되고 있으나 그 중 가장 흔하게 사용하는 것이 kappa치이다.  $\kappa$ (kappa)는 우연에 의해서도 올 수 있는 일치정도(=p<sub>e</sub>)를 배제하여 산출한 일치율의 지표이다.<sup>31)</sup>

일반적으로  $\kappa \geq 0.75$ 일 때 일치도가 excellent,  $0.4 \leq \kappa < 0.75$ 일 때 fair or good,  $\kappa < 0.4$ 일 때 일치도 poor로 해석하므로, 먹는 물에서의 대장균군 검출에 *lacZ* primer를 이용한 PCR법을 사용할 수 있는 가능성을 확인할 수 있었다.

그러나 PCR반응은 생세포뿐만 아니라 죽은 세포까지도 증폭시키기 때문에 먹는 물에서의 세균 검출에 PCR을 이용하는 것을 꺼려왔다. 따라서 생세포와 죽은 세포를 구별하기 위한 어떤 기작이 사용되어야 한다.<sup>20)</sup> 본 연구에서도 배양법으로 검사했을 때 대장균군 음성으로 나타난 시료들 중 여러 건이 PCR검사결과 양성으로 나타났다. 이를 보완하기 위한 연구들이 계속 진행되어야 할 것으로 생각된다.

#### IV. 결 론

대장균군 및 대장균에 대한 배양법 및 PCR법을 통하여 두 시험간의 민감도 및 특이도를 조사한 결과 서울 시내 109개 웅달샘물 대장균군의 기하평균은 0.005 MPN/100ml이었으며, 대장균군이 검출된 곳은 21개소(19.3%)이었다. 양성에 대한 대장균 검사는 배양법과 PCR 법에서 7건 모두 일치하였다. 배양법과 PCR법에 따

대장균의 균종분포는 *E. coli* 7주(33%), *Klebsiella* 5주(24%), *Enterobacter* 4주(19%), *Citrobacter* 3주(14%) 및 *Serratia* 2주(10%)순이었다. 웅달샘물의 대장균군을 PCR법으로 조사한 결과, 배양법의 양성건수 21건보다 17건이 많은 38건에서 양성으로 검출되었다. 대장균군 큰 대장균군과 대장균의 민감도 100% 특이도 80.7%를 나타내었으며,  $\kappa=0.62$ , McNemar =17.00으로 높은 일치도를 나타내었다.

#### 참고문헌

1. 국립환경연구원 : 환경교육교재. 수질측정검사반, 2001.
2. Moore, A. C., Herwaldt, B.L., Craun, G.F., Calderon, R.L., Highsmith, A.K., and Juranek, D.D. : Waterborne disease in the United States, 1991 and 1992. J Am. Water Works Assoc. 86, 87-99, 1994.
3. Furtado, C., Adak, G. K., Stuart, J.M., Wall, P.G., Evans, H.S. and Casemore, K. P. : Outbreaks of waterborne infectious disease in England and Wales, 1992-5. Epidemiol. Infect. 121, 109-119, 1998.
4. Craun, G.F : Waterborne disease outbreaks in the United States of America : Causes and prevention. Wld Health Stat. Qua. 45, 192-199, 1992.
5. 神子直之, 芦之德厚, 平田強, 保坂三継 : 健康關聯微生物汚染の評價・管理手法. 日本水環境學會誌 20, 139-144, 1997.
6. Andersson, Y., and Stenstrom, T. A. : Waterborne outbreaks in Sweden-causes and etiology. Water Sci. Tech. 18, 185-190, 1986.
7. Tulchinsky, T.H., Levine, I., Abrookin, R., and Halperin, R. : Waterborne enteric disease outbreaks in Israel. 1976-1985, Israel J. Med. Sci. 24, 644-651, 1988.



8. Sabat, G., Rose, P., Hickey, W.J., and Harkin, F.M. : Selective and sensitive method for PCR amplification of *Escherichia coli* 16S rRNA genes in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 844-849, 2000.
9. Tulchinsky, T.H., Burla, E., Halperin, R., Bonn, J., and Ostroy, P. : Water quality, waterborne disease and enteric disease in Israel. 1976-92, *Israel J. Med. Sci.* 29, 783-790, 1993.
10. Levine, W.C., Stephenson, W.T. : Waterborne disease outbreaks, 1986-1988. *CDC. MMWR* 39(SS-1), 1-9, 1990.
11. Moore, A.C., Herwaldt, B.L., Craun, G.F., Calderon, R.L., Highsmith, A.K., and Juranek, D. D. : Surveillance for waterborne disease outbreaks-United States, 1991-1992. *CDC. MMWR* 42(SS-5), 1-2, 1993.
12. Kramer, M.H., Herwaldt, B. L., Calderon, R. L., and Jran다. D.D. : Surveillance for waterborne-disease outbreak-United States, 1993-1994. *CDC. MMWR* 45(SS-1), 1-33, 1996.
13. Levy, D.A., Bens, M.S., Craun, G.F., Calderon, R.L., and Herwaldt, B.L. : Surveillance for waterborne-disease outbreaks-United States, 1995-1996. *CDC. MMWR* 47(SS-5), 1-34, 1998.
14. Barwick, R.S., Levy, D.A., Craun, G.F., Beach, M.J., and Calderon, R.L. : Surveillance for waterborne-disease outbreaks-United States, 1997-1998. *CDC. MMWR* 49(SS-4), 1-36, 2000.
15. Craun, G.F. and McCabe, L.J. : Review of the causes of waterborne-disease outbreaks. *J. Am. Water Works Assoc.* 65, 74-84, 1973.
16. Herwaldt, B.L., Craun, G.F., Stokes, S.L., and Juranek, D.D. : Outbreaks of waterborne disease in the United States:1989-90. *J. Am. Water Works Assoc.* 84, 129-135, 1992.
17. Lippy, E.C. and Waltrip, S.C. : Waterborne disease outbreaks-1946-1980 : A thirty-five-year perspective. *J. Am. Water Works Assoc.* 76, 60-67, 1984.
18. 矢野一好, 市川久浩, 吉田靖子 : 指標微生物測定技術の現状と問題點. *日本水環境學會誌* 20, 145-149, 1997.
19. Tsai, Y., Palmer, C.J.m and Sangermano, L.R.: Detection of *Escherichia coli* in Sewage and sludge by polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 353-357, 1992.
20. Fricker, E.J. and Fricker, C.R. : Application of the polymerase chain reaction to the identification of *Escherichia coli* and coliforms in water. *Letters Appl. Microbiol.* 57, 320-323, 1994.
21. APHA-AWWA-WPCF : Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th ed. APHA, Washington, D.C. 1995.
22. Bej, A.K., Steffan, R.J., DiCesare, J.L., Haff, L., and Atlas, R.M. : Detection of coliform bacteria in water by polymerase chain reaction and gene probes. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 307-314, 1990.
23. Bej, A.K., Steffan, R.J., DiCesare, J.L., Haff, L., and Atlas, R.M. : Detection of *Escherichia coli* and *Shigella* spp. in water by using the polymerase chain reaction and gene probes for *uid*. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 1013-1017, 1991.
24. 김강자 : 서울 강남구 소재 약수의 수질오염 지표 분석에 관한 연구. 서울市立大學校 産業大學院 工學碩士學位論文, 1998.
25. 박석기, 최성민, 오영희, 임봉택 : 서울 地域 옹달샘물 중의 低溫細菌에 관한 調査. 서울

- 特別市 保健環境研究院報 27, 12-15, 1991.
26. 변신철, 최성민, 강신명, 최용석, 이영기, 유영아, 김성원 : 먹는 샘물 基準으로 評價한 응달샘물의 衛生細菌學的 調查研究. 서울特別市 保健環境研究院報 31, 1-5, 1995.
27. 유병태, 최병현, 권옥현, 최성민, 김무상, 김석례, 이찬수, 오수경, 어수미, 박성배 : 서울特別市 일원 藥水의 衛生學的 調查. 서울特別市 保健環境研究院報 22, 158-167, 1986.
28. 日本藥學會編 : 日本衛生試驗法註解. 金原出版社, 2000.
29. WHO: Revision of the WHO guidelines for drinking water quality. WHO, 1992.
30. 예방의학과공중보건편집위원회 : 예방의학과 공중보건. 계축문화사, 392-393, 1999.
31. 안윤옥 : 의학1통계론. 서울대학교출판부, 142-144, 1998.