

## 먹는샘물의 녹농균 분포 및 검사방법 개선에 관한 연구

정현미\* · 김동빈

국립환경연구원 수질연구부 수질미생물과

1995년 먹는물 관리법 제정 이후 공식적으로 분석이 이루어진 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)은 국내 시판중인 먹는샘물의 원수 및 제품수에서 각각 2.3%와 1.2% 수준으로 검출되어 세균항목 중 대장균군 다음으로 중요한 수질 세균 항목으로 나타났다. 최초 제정된 공정시험법은 asparagine-acetamide 배지를 사용하는 일본 및 미국의 방법(A-A법)을 따랐는데, 녹농균의 검출민감도는 뛰어났으나 검출특이성이 높지 않았다. 검출특이성을 강화하기 위하여 수용성 형광색소형성, pyocyanin 색소 발생, 카제인 가수분해, 42°C 성장 등 녹농균에 특이적인 생화학적 특성을 녹농균 및 유사균 기준주 및 먹는샘물 분리주에 실험한 결과 42°C 성장이 유사균을 녹농균과 가장 잘 구별시켜주는 특징이 었다. 따라서 민감도가 높은 A-A 법에 42°C 성장실험을 녹농균의 여타 생화학적 동정시험 이전에 추가로 검사항으로 서 37°C 에서 오염성으로 판정되는 유사균의 상당수를 효과적으로 제외시킬 수 있으리라 사료되었다.

**Key words** □ *Pseudomonas(P.) aeruginosa*, bottled water, official detection methods, recovery, sensitivity, specificity

녹농균은 크기 0.6×2 μm크기의 그람음성 호기성 운동성 간균으로 식물, 곤충, 어류, 양서류, 파충류, 새, 포유류 등에 널리 분포하여 가장 넓은 감염대상을 가진다. 사람에게는 오염된 물을 통하여 상처에 감염되거나 병원 등에서 환자의 호흡기, 눈에 감염하여 병원감염성 폐렴의 주원인이므로 수영장이나 병원 등에서 녹농균은 주요 감시대상이 된다(12). 음용수의 수질평가에서 녹농균은 기회성 병원균으로 구분되기도 하며, 분원성 오염과 직접적인 연관성은 없으나 배급수관에서의 재성장이나 병입 과정의 위생상태를 점검하는데 사용한다(16). 즉 음용수에서 녹농균의 존재는 수질의 심각한 저하를 나타내어 종종 배급수관에서 물 흐름의 저하나 수온상승과 관련하여 물맛, 냄새, 탁도 등에 대한 불평과 연관되어 나타난다. 또한 녹농균은 먹는샘물을 생산하는 기계류, 고무링(rubber gasket), 종사자, 소독용 비누 등에서 검출되기도 하여 병입 공장의 위생상태 결여에 대한 지표가 된다. 녹농균은 증류수처럼 유기물이 최소화 된 환경에서도 생존능이 뛰어나 bottled mineral water에서 70일에서 1년까지 생존하였고(10), 실온에서 보관 시에 >10<sup>5</sup>cfu/ml까지 성장하였다(15).

우리나라에서는 먹는샘물의 원수 및 시장에서 유통되는 제품수에서 녹농균을 상시 검사하도록 규제하고 있고(Table 1), 유럽공동체나 일본, 캐나다 등에서도 먹는샘물에서 규제를 하고 있거나 규제를 제안하고 있으며(8), 국제식품규격위원회(6)에서도 녹농균의 검사를 규정하고 있다. 그러나 이와 같이 녹농균 검사를 권장 혹은 의무화하는 추세에 있으나 미국은 아스파라진-아세트아미드검사법과 mPAC-밀크배지법을(9), 일본은 아스파라진-아세트아미드검사법을(1) 유럽공동체는 modified King's Agar배지법

을(8) 채택하였고, 국제표준기구(International Standard Organization=ISO)는 드레이크19 혹은 10-세트리마이드첨가 밀크배지법을 1988년에 제정하였다가(11) 1996년에 취소하는 등, 현재까지 검사방법상 완전하지 않기 때문에 대장균군이나 분원성연쇄상구균과 같이 국제 공통으로 사용되는 검사방법이 부족한 실정에 있다. 현재 우리나라는 미국 및 일본의 아스파라진-아세트아미드방법에 준하여 사용하고 있는데(4), 정확도를 높이기 위하여 처음 제정된 방법(3)에서 변형, 개선하였다.

본 연구는 95년 먹는샘물의 허용 이후부터 본격적으로 법정 검사를 시작한 녹농균의 전국자료를 조사함으로써 녹농균 항목이 차지하는 비중을 여타 세균 항목과 비교하여 평가하였고, 국제적으로 정립되지 않은 녹농균의 분석방법을 기존 아스파라진-아세트아미드법의 검출특이성과 민감성 분석을 통한 단점의 보완으로 개선하였으며, 향후 먹는샘물 분석법 개선의 방향을 제시

**Table 1.** Present regulation of bacteriological limits for bottled water of the source and the products

Parameters	Source	Product
Heterotrophic plate counts	22°C	20 cfu/ml 100 cfu/ml*
	37°C	5 cfu/ml 20 cfu/ml*
Coliforms	0/25 0ml	0/250 ml
Fecal Streptococci	0/250 ml	0/250 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/250 ml	0/250 ml
Sulfite-reducing spore forming anaerobe	0/50 ml	0/50 ml
<i>Salmonella</i>	0/250 ml	0/250 ml
<i>Shigella</i>	0/250 ml	0/250 ml

\*tested within 12 hours after bottling, in a condition maintained at 4°C.

\*To whom correspondence should be addressed.  
 Tel: 032-560-7134 Fax: 032-560-7122  
 E-mail : hyenmic@me.go.kr

하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 먹는샘물 분석자료

먹는샘물의 세균항목 분석자료는 1995년 5월부터 1996년 12월까지 전국 15개 시도보건환경연구원에서 공정시험법(3)에 따라 먹는샘물 원수 및 제품수를 분석한 자료를 수집하여 전국적인 경향성을 분석하였다.

### 사용균주

기준주로는 녹농균 *P. aeruginosa* 3주(ATCC 10145, ATCC 27853, ATCC 29336), 유사균주 *P. fluorescens* 2주(ATCC 948, ATCC 17397)와 *P. putida* 2주(ATCC 17433, ATCC 12633)을 국립보건원 및 생명공학연구소 유전자원센터에서 분양 받아 API20NE(bioMerieux, France)로 종을 확인하여 사용하였다. 또한 본 실험실에서 먹는샘물에서 분리 동정한 녹농균 한 균주와 한 강수계에서 분리 동정하고 유사도 분석에서 strain의 구분이 뚜렷한 분리주 15주를 선별하여, 국내 분리주로 사용하였다. 녹농균의 동정은 API20NE와 Gas Chromatography(GC)를 이용한 fatty acid methyl ester(FAME) profile 분석의 두 가지 방법으로 수행하였다(2).

### 녹농균 분석

액체배양법으로 아스파라진-아세트아미드(A-A)법과 드레이크 10-세트리마이드첨가필크(D10-M)법 그리고 막여과법으로 m-PAC 법과 드레이크 19-세트리마이드첨가필크(D19-M)을 미국의 표준시

험법과 ISO에 명시되어 있는 절차에 의하여 분석하였다(9,11). 각 녹농균 분석방법과 배지 조성은 Table 2에 나타내었다.

### 녹농균과 유사균의 검출특이성 조사

목적하는 종류인 녹농균만이 특이적으로 검출되는지의 여부를 조사하기 위하여 녹농균과 유사균에 대하여 각 분석방법에서 쓰이는 배지 및 배양조건에 대한 양성 반응여부를 실험하였다. 각각의 균주를 Trypticase soy broth(TSB)에서 각각 35°C, 8시간 동안 배양한 후 TSB배지 영향을 최소화하기 위하여 phosphate buffered saline(PBS)로 2회 세척 후 세포를 수확하였다. 수확된 현탁액 0.1 ml을 A-A법, D10-M법 그리고 D19-M법에서 사용되는

### 민감성 조사

민감성은 녹농균이 양성으로 판정되는 최소 균주 수의 조사와, 동일한 양을 접종하였을 때 최대로 계수되는 회수율(recovery)의 조사를 통하여 수행되었다. 분석방법별 양성판정 최소 균주 수를 조사하기 위하여 검출특이성 분석에서 양성을 나타낸 균주를 특이성 조사와 동일한 방법으로 배양하여 수확하였다. 수확된 현탁액은 10배 단계 희석하여 아스파라진, mPAC, 드레이크 10, 드레이크 19 추정시험배지에 접종하고 계수하였으며 2회 반복하여 평균을 구하였다. 또한 각 균주별 접종량을 확인하기 위하여 적당량 희석된 현탁액 0.1 ml을 trypticase soy agar(TSA)배지에 도말 계수하였다. 분석방법별 회수율 조사는 한강에서 분리한 15개 녹농균 균주를 각각 TSB배지에 35°C, 24시간 배양한 후 각 배양액을 OD값으로 동량이 되도록 합하고, PBS로 2회 세정하여 1L의 PBS에 고르게 혼합 후, 시험원액으로 사용하였다. 이 시험

Table 2. Methods and composition of media for analyzing *P. aeruginosa* in water

Methods	Composition of media
Asparagine-Acetamide (A-A)	<i>Asparagine broth</i> DL-asparagine 3.0 g, Dipotassium hydrogen phosphate 1.0 g, Magnesium sulfate heptahydrate 0.5 g, Water 1 l <i>Acetamide Broth</i> Acetamide 10 g, Sodium chloride 5 g, Dipotassium hydrogen phosphate 1.39 g, Potassium dihydrogen phosphate 0.73 g, Magnesium sulfate heptahydrate 0.5 g, Phenol red 0.012 g, Water 1 l
m-PAC - Milk agar (mPAC)	<i>Modified mPA(mPAC) agar</i> L-lysine HCl 5 g, Sodium chloride 5 g, Yeast extract 2 g, Xylose 1.25 g, Sucrose 1.25 g, Lactose 1.25 g, Phenol red 0.08 g, Ferric ammonium citrate 0.8 g, Oxoid agar(no. 4) 12 g, Magnesium sulfate 1.5 g, Sodium thiosulfate 5 g, Kanamycin 8 mg, Nalidixic acid 37 mg, Water 1 l <i>Milk agar(Brown and Scottoster Modification)</i> Mixture A: Instant nonfat milk 100 g, Water 0.5 l Mixture B: Nutrient broth 12.5 g, Sodium chloride 2.5 g, Agar 15.0 g, Water 0.5 l
Drake's 10-Milk agar with cetrimide (D10-M)	<i>Drake's medium 10 (Asparagine broth with ethanol)</i> DL-asparagine 2 g, L-proline 1 g, Dipotassium hydrogen phosphate 1 g, Magnesium sulfate heptahydrate 0.5 g, Potassium sulfate 10 g, Ethanol 25 ml, Water 1 l <i>Milk agar with cetrimide</i> Skim milk powder 100g, Water 0.75 l Cetrimide 0.3 g, Agar 15 g, Yeast extract broth(Yeast extract 0.75 g, Peptone 2.5 g, Sodium chloride 1.25 g, water 0.25 l)
Drake's 19-Milk agar with cetrimide (D19-M)	<i>Drake's medium 19</i> Peptone 20 g, Ethanol 25 ml, Potassium sulfate 10 g, Magnesium chloride 1.4 g, Cetrimide 0.5 g, Water 1 l <i>Milk agar with cetrimide</i> (same as mentioned above)

원액을 액체배양법은 10~0.001 ml까지 희석 접종하여 최적화수법으로 계수하였고, 막여과법은 100~0.1 ml까지 복수로 여과 시험하여 계수하였으며, 이 시험을 3회 반복하여 한강시료 분리군의 검사방법별 민감도를 비교하였다.

### 환경시료조사

우리나라 생태를 대상으로 분석방법을 비교하기 위하여 시료 채취가 용이한 한강에서 5~8월에 시료를 채수하여 비교 검사하였다.

### 생화학적 특성조사

Casein 가수분해, 42°C성장, fluorescence 형성, pyocyanin 색소 생성의 생화학적 특성을 관찰하기 위하여 milk agar with cetrimide에 실험 균주를 접종하여 37°C와 42°C에서 배양 후, 배지의 투명화, 군집의 형성, 장파장 자외선에 형광형성, 녹푸른 색소형성 여부로 각각 판정하였다. 또한 42°C 성장여부는 TSB에서도 실험하였다.

## 결 과

### 먹는샘물에서 녹농균의 분포

먹는샘물에서 녹농균은 매우 낮은 농도로 존재하여, 검출수준이 아닌 검출여부를 분석하도록 되어 있다. 조사기간동안 총 3107건의 시료가 분석되었고, 그 중 먹는샘물 원수가 1545건, 제품수가 1562건으로 집계되었다. 원수는 그중 23.8%의 시료에서 세균이 검출되었는데 그 대부분이 저온 및 중온 일반세균이었고 (21.1%), 검출시료수의 10%가량인 2.3%의 시료에서 녹농균이 검출되었는데(Fig. 1), 녹농균 단독 양성은 그 중 10%에 불과하여 다른 항목과 중복 검출된 경우가 단독 검출보다 더 많은 비중을 차지하였다. 제품수에서는 3.3%의 시료에서 세균이 검출되어 전체적인 검출률이 크게 감소하였으나, 녹농균은 제품수에서 대장균군 다음으로 자주 검출되어 검출된 시료의 약 3분의 1가량인 1.2%를 차지하였고 단독 양성이 또한 66%를 차지하였다. 따라서, 원수 보다 시민들이 직접 마시는 제품수에서 녹농균이 상대적으로 큰 비중을 차지하는 것으로 나타났다.

### 검출특이성

A-A법, D10-M법, 그리고 D19-M법의 녹농균에 대한 검출특이성 시험 결과 A-A법은 추정시험인 아스파라진배지에서는 녹농균 4주 중 3주에 대하여만 양성반응을 나타내었고 유사균에 대하여는 *P. putida* ATCC 17433에 대하여 양성반응을 나타내었다(Table 3). D10-M법에서는 추정시험인 트레이크10배지에서 녹농균에 대하여 아스파라진배지와 동일하게 세 균주에 대하여만 양성반응을 나타내었고 유사균 모두에게 음성반응을 보였다. 막여과법인 D19-M법에서는 녹농균 모두에 양성과 유사균 모두에게 음성을 나타내어 검출특이성이 가장 뛰어났다.

### 민감성 검사

각 분석방법에 대한 민감성은 모든 방법에 양성반응을 보인 녹농균 3주와 *P. putida* ATCC 17433를 대상으로 분석하였다. 그 결과 아스파라진배지에서는 모든 균주에 대하여 녹농균이 수 cfu/ml 수준으로 존재하면 양성반응을 보여 우수하였으나 트레이크10배지는 각각 수십, 수백 cfu/ml의 녹농균이 존재하여야 양성반응을 나타내어 매우 저조하였고 트레이크19배지는 수에서 수십 cfu/ml 존재하여야 양성반응을 나타내었다. 따라서 아스파라진배지가 가장 검출민감도가 뛰어났다(Table 4).

녹농균 기준주가 아닌 환경에 있는 녹농균에 대한 반응을 보기 위하여 한강수계에서 분리한 국내분리녹농균 15주를 대상으로 수행한 실험 결과 회수율이 A-A방법이 가장 높았고, 다음이 mPAC법이었으며, 두 가지 ISO 방법은 아스파라진 배지법의 1/3에서 1/2수준이었다(Fig.2).

### 현장시료의 녹농균 검출 및 확인

먹는샘물은 오염가능성이 희박한 지하암반수로서 녹농균의 검출률이 매우 낮고 농도도 낮으므로, 상대적으로 오염된 지표수를 대상으로 녹농균의 분포를 상기 분석방법으로 조사하고, 그중 일부를 동정하여 환경시료에서 분석방법의 평가를 시도하였다. 채수 시기의 한강시료는 탁도가 6.4~8.1 NTU로 비교적 높았고 음성집락에 의한 간섭 현상이 심하여 막여과법에 의한 계수에 어려움이 있었다. mPAC는 24시간 배양 후 전형적인 집락을 나타내지 못하는 것들이 24시간 추가 배양시 전형적인 녹갈색의

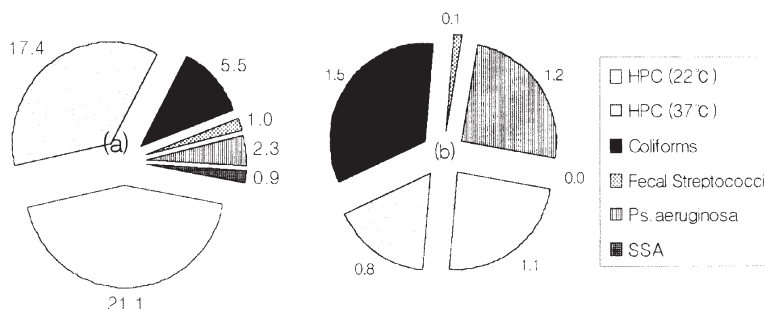


Fig. 1. Percent noncompliance characteristics of each bacteriological parameter\* in source water (a) and bottled water (b) (\*HPC(22°C)= heterotrophic plate count grown at 22°C on R2A media; HPC(37°C)= heterotrophic plate count grown at 37°C on plate count agar media; SSA=sulfite-reducing spore forming anaerobe).

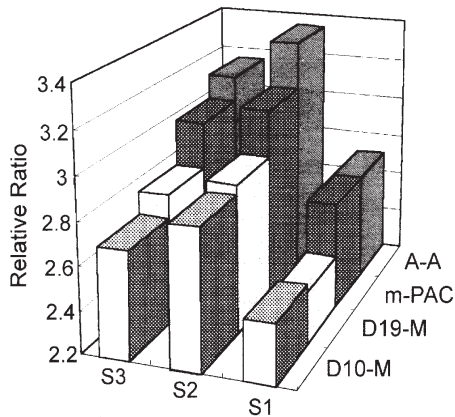


Fig. 2. Comparison of detection methods by relative recoveries of natural *P. aeruginosa* isolates cocktail (S1, S2, S3=each set of experiment performed independently).

집락을 형성하는 경우가 많았으며, 드레이크19 역시 3일 후에야 pyocyanin을 분비하는 집락이 다른 집락들 사이에서 드러나기 시작하였다. 따라서 본 시료에서 막여과법에서의 계수는 통계적인 의미가 없고, 다만 양성 혹은 의양성 균주를 분리하여 동정하였으며, 녹농균으로 동정된 균주의 일부를 민감도 시험에 사용하였다(재료 및 방법 참조). 반면 액체배양법의 경우는 최적확수로 계수결과 모든 시료에서 A-A법이 D10-M법보다 수배에서 수백 배까지 높게 나타났다(Fig. 3). 각 분석방법으로 양성 판정된 균주를 API20NE로 동정한 결과 A-A법은 분리균주의 74%가 녹농균으로 판정된 반면, D10-M법, D19-M법, mPAC법은 분리균주의 각각 80%, 95%, 그리고 100%가 녹농균으로 동정되어, 녹농균 분석방법으로 녹농균을 백퍼센트 완전하게 판정할 수가 없었고 추가로 동정 과정이 필요하였다.

#### 녹농균검사방법의 개선

검출특이성과 민감도를 동시에 비교하여 보았을 때 각각의 방법 모두 검출특이성과 민감도에 있어서 장단점을 보였다. 특히 국내에서 준용하는 A-A 검사방법은 ISO의 두 방법과 비교하여 민감도가 매우 우수하여 녹농균이 존재할 때 낮은 농도에서도

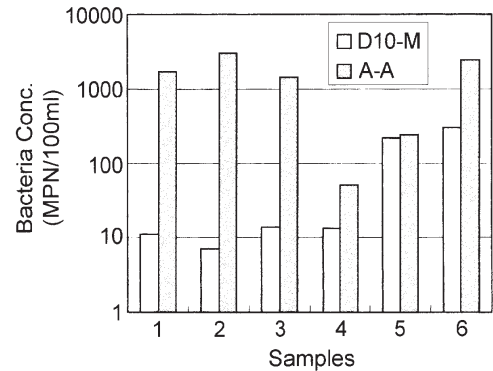


Fig. 3. The comparison of detection levels by two methods in the natural river samples.

잘 검출하여 안전한 수질의 지표기능을 수행할 수 있으나 *P. putida* ATCC 17433 같은 유사균을 녹농균으로 판정할 가능성이 있으므로 검출특이성을 높이도록 보완할 필요가 있었다.

녹농균의 일반적인 생화학적 특징-oxidase (+), catalase (+), 42°C 성장 및 4°C 성장불가능, 수용성 형광색소형성(98% 정도), oxidative metabolisms in Hugh & Leifson test, nitrate reduction, 젤라틴(gelatin) 이용, 카제인 가수분해(casein hydrolysis), 전분이 용불가능, pyocyanin 색소 발생-중에서 녹농균으로 판정되는 유사균을 구분하기 위해 녹농균에 특징적인 생화학적 특성을 검토하였을 때 수용성 형광색소형성, pyocyanin 색소 발생, 카제인 가수분해, 42°C 성장이 녹농균 특유의 특징이었고(13,14) 위의 특징을 기준주 및 먹는샘물 분리주에 실험한 결과 42°C 성장이 유사균을 녹농균과 가장 잘 구별시켜주는 특징이었다(Table 5). 따라서 민감도가 높은 A-A 검사법에 42°C 성장실험을 녹농균의 여타 생화학적 동정시험 이전에 추가로 검사함으로써 37°C에서 오양성으로 판정되는 유사균의 상당수를 효과적으로 제외시킬 수 있으리라 사료되었다.

막여과법인 mPAC법은 특이성시험을 수행하지 않았으나, 환경시료 분석 후 양성반응 균주가 모두 녹농균으로 동정된 결과로 볼 때 특이성이 최소한 A-A법 보다 뛰어날 것으로 보이며, 현장분리균주의 회수율로 본 민감성은 A-A법에 상응한 것으로 나타났다.

Table 3. Test of specificity on *P. aeruginosa* against related species

Tested Strains	Culture media	Asparagine	Acetamide	Drake's10	Drake's19	Milk w/cetrimide
<i>P. aeruginosa</i> , an bottled water isolate		(+) pig.*	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145		(+) pig.	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853		(+) pig.	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 29336		(-)	(+)	(-)	(+)	(+)
<i>P. fluorescens</i> ATCC 948		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>P. fluorescens</i> ATCC 17397		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>P. putida</i> ATCC 17433		(+) pig.	(+)	(-)	(-)	(-)
<i>P. putida</i> ATCC 12633		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

\*pig.= typical pigment of *P. aeruginosa* in asparagine media

**Table 4.** Sensitivity test : the minimum cell levels to be shown as positive reaction

<i>P. aeruginosa</i> (an bottled water isolate)	Inoculation level <sup>a</sup>	67000	6700	670	67	6.7	0.67
	asparagine	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(-)(-)
	Drake's 10	(+)(+)	(+)(+)	(+)(-)	(-)(-)	(-)(-)	(-)(-)
	Drake's 19	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	Inoculation level <sup>a</sup>	27000	2700	270	27	2.7	0.27
	asparagine	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(+)(-)
	Drake's 10	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(+)(-)	(-)(-)	(-)(-)
	Drake's 19	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Inoculation level <sup>a</sup>	14000	1400	140	14	1.4	0.14
	asparagine	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(+)(-)
	Drake's 10	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(-)(-)	(-)(-)
	Drake's 19	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
<i>P. putida</i> ATCC 17433	Inoculation level <sup>a</sup>	50000	5000	500	5	0.5	50
	asparagine	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(+)(+)	(-)(-)	(-)(-)

<sup>a</sup>(unit:cfu/ml), on Trypticase soy agar**Table 5.** Biochemical characteristics of *P. aeruginosa* and related species

Test strain	Casein hydrolysis	Fluorescence	Pyocyanin pigment	42°C Growth (Milk agar w/ cetrimide)	42°C Growth (TSB)
<i>P. aeruginosa</i> (an bottled water isolate)	+	+	-	+	+
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 29336	-	-	-	+	+
<i>P. fluorescens</i> ATCC 948	NG*	NG	NG	NG	NG
<i>P. fluorescens</i> ATCC 17397	NG	NG	NG	NG	NG
<i>P. putida</i> ATCC 17433	NG	NG	NG	NG	NG
<i>P. putida</i> ATCC 12633	NG	NG	NG	NG	NG

\*NG: No Growth

## 고 찰

법정 수질항목 분석의 목적은 수질의 상태를 파악하고 이를 개선하는데 있는데 대부분의 경우 법정 세균항목은 병원균 자체 보다는 병원균이 유래하는 분원성 오염 혹은 수질 저하 등을 지표하는 지표세균이다. 세균항목의 분석법은 그 분야의 과학기술의 발전 수준을 반영하므로 단점을 개선하거나 새로운 기술을 적용하면서 개선, 보완의 과정을 거친다. 가장 대표적인 예가 대장균 항목으로서, 최초의 대장균 분석법은 현행 대장균군 분석법이였으나, 점차 분원성 유래 대장균이 아닌 환경미생물이 포함됨이 보고되면서, 분원성 대장균군, 대장균 분석방법으로 세분화되었고, 현재에도 이들 각 그룹의 분석방법이 계속 개발되어 국제적인 표준 시험법에 반영되고 있다. 공식분석방법에서 중요한 요인은 그 분석방법으로 얼마나 분석대상을 정확하게 민감하고 재현성 있게 검출하는가에 있다. 그럼에도 언제나 이상적인 목표하

에 그 항목의 중요성이 인정되면 기술적, 경제적인 현실하에 가장 가능한 방법을 채택하게 된다.

국제적으로 녹농균은 먹는샘물 제품수에서 대장균군 다음으로 중요하게 여겨지는 항목이나, 녹농균의 검출 시에 조치와 해석이 명확하지 않는 경향이 있고, 분석방법도 대장균군이나 분원성연쇄상구균처럼 국제적으로 단일하게 통일되지 않고 있는 실정이다. 국내에서는 녹농균을 1995년 최초의 먹는샘물 허용과 함께 법정세균항목의 일환으로서 정기적으로 분석하게 되었는데 일본 및 미국의 방법에 준하여 제정된 최초의 검사방법이 녹농균이 아닌 다른 유사균을 양성으로 판정할 가능성이 있으므로 이를 검토하여 달라는 지자체의 건의를 계기로 먹는샘물에서의 녹농균의 의미와 분석방법에 대한 평가를 수행하게 되었다.

국내에서 최초로 시도보건환경연구원에서 위탁시험 혹은 단속의 목적으로 1년 이상 분석한 공식 자료에 의하면 법정 항목 중 녹농균이 대장균군 다음으로 자주 검출되는 항목으로 나타났



며 전반적인 먹는샘물에서의 검출 빈도는 1.2% 정도였다. 녹농균은 기회성 병원균이지만 먹는샘물에서는 병원균으로서의 의미보다는 병원 과정상에서의 수질위생상태를 지표하는 의미가 더 크므로 자체적인 정기 검사용으로는 실제 일본 등에서도 적용하고 있는 방법인 최초의 검사방법도 경제적이고 타당한 것으로 사료되었다. 또한 최초의 1~2 년 간 국공립기관 조사와 분석규모에 미루어 잘못된 양성 판단의 영향은 크지 않았을 것으로 판단되었다. 그럼에도 불구하고 원수보다는 특히 시중에 유통되는 제품수에서 부적합에 차지하는 비중이 높고, 또한 단독 부적합의 비중이 커서 향후 장기적으로 한 건이라도 행정처분이 시행되는 단속검사에서 부적절한 부적합의 소지를 없애는 것이 중요하였다. 따라서 현재 가능한 방법 중 가장 민감성이 뛰어난 것으로 나타난 최초의 방법에 간단한 42°C 성장검사를 추가함으로써 양성 판정 시료 중에 있을 수 있는 유사균에 의한 부적절한 부적합 판정을 일차로 구분해 내고, 42°C 성장 양성 시에 생화학적 동정에 의한 확인으로 먹는샘물의 녹농균 검사에 대한 부하를 최소화하면서 분석 결과에 대한 신뢰성을 확보하도록 개선하였다.

액체배양법은 가장 보편적으로 오랜 기간 사용되어온 방법이지만, 먹는샘물에서는 다량의 물 (250 ml)에 대한 세균의 존재를 분석하므로, 검사에 많은 유기물이 소요되고, 넓은 배양공간을 차지하며, 배양 후에 생성되는 유기성 폐액의 양 또한 많아 검사 부하가 크고 친환경적이지 않은 면이 있다. 막여과법은 깨끗한 시료인 먹는 물에서는 간섭현상이 매우 낮고, 분석 수행에 편리하며, 특히 다량의 물 분석에 경제적이다. 참고로 액체배양법과 막여과법의 비용 분석비교에서 보면, 현재 먹는샘물 분석에서는 배지량의 차이에 의한 비용절감이 고가의 여과막 비용을 감당하고도 남을 정도이다. 본 연구에서는 막여과법인 mPAC법이 환경 분리주에 대하여 A-A법에 준하는 민감성을 나타내었고, 검출특이성이 우수하였는데, 이는 이전의 다른 연구결과와 유사하였다 (5,7). 특히 검출특이성의 결과는 Dutka 와 Kwan이 자연하천수에서 A-A법의 검출특이성이 mPA 방법의 64~86%정도로 낮음을 보고한 바와 일치하였다(7). 따라서 먹는샘물의 세균검사부하를 낮추고, 경제적, 환경적으로 나은 방법인 막여과법의 도입을 위한 기술적 뒷받침이 장기적으로 필요할 것이며, 녹농균의 막여과법 결과는 이의 가능성을 뒷받침하고 있다.

### 참고문헌

- 일본수도협회, 1993. 상수시험방법
- 정동미, 김동빈, 이종호, 류재근. 1998. 녹농균의 세포지방산 유사도 분석과 활용. p. 161-164. 한국수질보전학회, 강원대학교 추계학술발표회 논문초록집.
- 환경부, 1995. 먹는물 관리법, 먹는물 수질기준 및 검사 등에 관한 규칙.
- 환경부, 1997. 먹는물 공정시험방법
- Brodsky, M.H. and B.W. Ciebin. 1987. Improved medium for recovery and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* from water using membrane filters. *Appl. Environ. Microbiol.* 36, 36-42.
- Codex. 1994. Codex Standard for Natural Mineral Waters. *Codex Stan* 108-1981.
- Dutka, B.J. and K.K. Kwan. 1977. Confirmation of the single-step membrane filtration procedure for estimating *Pseudomonas aeruginosa* densities in water. *Appl. Environ. Microbiol.* 33, 240-245.
- EC Commission. 1980. EC Directive Relating to the Quality of Water Intended for Human Consumption, *Official Journal of European Communities*.
- Franson, M.A.H. 1992. Part 9000 Microbiological Examination, p. 9-31. In American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation (ed.), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18th ed., American Public Health Association, Washington, D.C.
- Gonzalez, C., C. Gutierrez, and T. Grande. 1987. Bacterial flora in bottled uncarbonated mineral drinking water. *Can. J. Microbiol.* 33, 1120-1125.
- International Standard Organization. 1988. Water quality - detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa*, *ISO* 8360-1,2.
- Jawetz, W., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., Brooks, G.F., Butel, J.S., and L.N. Ornston. 1989. Medical Microbiology, 18th ed., p215-217. Appleton & Lange, Norwalk, Connecticut/San Mateo, California.
- Krieg, N.R. and J.G. Holt. 1989. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams & Wilkins. Baltimore/London.
- Morais, P.V., Mesquita, C., Andrade, J.-L., and M.S. Costa. 1997. Investigation of persistent colonization by *Pseudomonas aeruginosa* like strains in a spring water bottling plant. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 851-856.
- Warburton, D.W., Bowen, B., and A. Konkle. 1994. The survival and recovery of *Pseudomonas aeruginosa* and its effect upon *Salmonella* in water: methodology to test bottled water in Canada. *Can. J. Microbiol.* 40, 145-148.
- World Health Organization. 1996. Vol 2. Health Criteria and Other Supporting Information. In Guidelines for Drinking Water Quality, 2nd ed., Geneva.

(Received August 23, 2000/Accepted September 4, 2000)

- 일본수도협회, 1993. 상수시험방법
- 정동미, 김동빈, 이종호, 류재근. 1998. 녹농균의 세포지방산 유사도 분석과 활용. p. 161-164. 한국수질보전학회, 강

---

**ABSTRACT : Improving Detection Method of *Pseudomonas aeruginosa*, an Important Index Organism of Bottled Water Quality**

**Hyen-Mi Chung\*** and **Dong-Bean Kim**(Water microbiology Division, Water Research Department, National Institute of Environmental Research, Incheon 404-170, Korea)

Since the official allowance of bottled water at Korean domestic market in 1995, *Pseudomonas aeruginosa* has been detected from 2.3% and 1.2% of source and products of bottled water sample tested, respectively, according to the nation-wide data from May 1995 to December 1996. Therefore, *P. aeruginosa* was the second most important parameter, next to coliforms, among the bacteriological parameters regulated for bottled water. The official standard method initially adopted the Japanese official method and Standard Methods of the US, which is using asparagin-acetamide media(A-A method). However, the method showed low specificity regardless of the high sensitivity. The 42°C growth test was the best biochemical feature differentiating the *P. aeruginosa* from *P. aeruginosa*-like species such as *P. putida* and *P. fluorescens* among the other characteristics such as fluorescence pigment, pyocyanin, casein hydrolysis, etc. Therefore, addition of the 42°C growth test in advance of the biochemical identification test, when sample is positive by A-A method, should strengthen the specificity with minimum addition of testing load.