

Research Article



CrossMark

Open Access

농업용수의 미생물학적 안전성 조사 및 위생지표세균 농도와 병원성미생물 검출률과의 상관관계 분석

황인준¹, 이태권², 박대수¹, 김은선¹, 최송이¹, 현정은¹, 나겐드란 라자린감¹, 김세리^{1*}, 조민^{3**}

¹농촌진흥청 국립농업과학원 유해생물과, ²연세대학교 환경공학과, ³전북대학교 생명공학부

Investigation of Microbial Safety and Correlations Between the Level of Sanitary Indicator Bacteria and the Detection Ratio of Pathogens in Agricultural Water

Injun Hwang¹, Tae Kwon Lee², Daesoo Park¹, Eunsun Kim¹, Song-Yi Choi¹, Jeong-Eun Hyun¹, Nagendran Rajalingam¹, Se-Ri Kim^{1*} and Min Cho^{3**} (¹Microbial Safety Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea, ²Department of Environment Engineering, Yonsei University, Wonju 26493, Korea, ³Division of Biotechnology, Chonbuk National University, Iksan 54596, Korea)

Received: 14 October 2021/ Revised: 23 October 2021/ Accepted: 26 October 2021

Copyright © 2021 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID

Injun Hwang

<https://orcid.org/0000-0001-8960-9354>

Se-Ri Kim

<https://orcid.org/0000-0001-6857-8317>

Abstract

BACKGROUND: Contaminated water was a major source of food-borne pathogens in various recent fresh produce-related outbreaks. This study was conducted to investigate the microbial contamination level and correlations between the level of sanitary indicator bacteria and the detection ratio of pathogens in agricultural water by logistic regression analysis.

METHODS AND RESULTS: Agricultural water was collected from 457 sites including surface water (n=300 sites) and groundwater (n=157 sites) in South Korea from 2018 to 2020. Sanitary indicator bacteria (total coliform, fecal coliform, and *Escherichia coli*) and food-borne pathogens (pathogenic *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes*) were analyzed. In surface water, the coliform, fecal coliform, and *E. coli* were 3.27±0.89 log CFU/100 mL, 1.90±1.19 log CFU/100 mL, and 1.39±1.26

log CFU/100 mL, respectively. For groundwater, three kinds of sanitary indicators ranged in the level from 0.09 - 0.57 log CFU/100 mL. Pathogenic *E. coli*, *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* were detected from 3%-site, 1.5%-site, and 0.6%-site water samples, respectively. According to the results of correlations between the level of sanitary indicator bacteria and the detection ratio of pathogens by logistic regression analysis, the probability of pathogen detection increased individually by 1.45 and 1.34 times as each total coliform and *E. coli* concentration increased by 1 log CFU/100mL. The accuracy of the model was 70.4%, and sensitivity and specificity were 81.5% and 51.7%, respectively.

CONCLUSION(S): The results indicate the need to manage the microbial risk of agricultural water to enhance the safety of fresh produce. In addition, logistic regression analysis is useful to analyze the correlation between the level of sanitary indicator bacteria and the detection ratio of pathogens in agricultural water.

*Corresponding author: Se-Ri Kim
Phone: +82-63-238-3395; Fax: +82-63-238-3840;
E-mail: seri81@korea.kr

**Co-Corresponding author: Min Cho
Phone: +82-63-850-0850; Fax: +82-63-850-3834;
E-mail: cho317@jbnu.ac.kr

Key words: Agricultural water, Food-borne pathogens, Indicator bacteria, Monitoring, Water quality

서론

농산물로 인한 식중독사고로 사회적, 경제적 피해가 지속적으로 발생하고 있어 농산물과 농업환경 내 미생물 안전관리의 중요성이 증대되고 있다[1-3]. 1999년부터 2019년까지 유럽과 미국에서는 신선식품을 통해 발생한 식중독 사고 중 34.1%, 47.4%가 채소류에 의한 사고로 보고되었고[4], 국내에서는 2015년부터 2020년까지 병원성 *Escherichia coli*에 의한 식중독 사고 중 55.2%가 채소류에 의한 것으로 보고되었다(MFDS, 2020). 농산물이 식중독세균에 오염되는 경로는 오염된 토양, 퇴비, 농업용수, 농자재 등의 농업환경에 노출되거나 비위생적인 작업자, 주변 야생동물과의 접촉이 있다[5-7]. 이 중 농업용수는 관수나 세척 등을 통하여 작물에 직접 접촉되는 경우가 많아 농산물로 미생물이 전파되는데 중요한 매개체가 될 수 있다[8-10]. 2005년 스웨덴에서 *E. coli* O157:H7에 오염된 양상추에 의해 발생한 식중독 사고[11]와 같은 해 미국에서 발생한 *Salmonella* Newport에 오염된 토마토에 의해 발생한 식중독 사고 원인이 농업용수로 지목되었다[12]. 2018년 미국에서 *E. coli* O157:H7과 *E. coli* O61에 오염된 로메인상추에 의해 발생한 대규모 식중독 사고도 농업용수와 환자에서 분리된 병원균의 유전자형이 일치하여 농업용수가 식중독 사고의 주원인으로 확인되었다[13]. 따라서, 미국, 캐나다, 호주 등의 국가에서는 농업용수에 의한 식중독 세균의 전파를 예방하기 위하여 미생물 안전관리 기준을 설정하고 농산물 안전관리를 강화하고 있다[14]. 하지만 국내 농업용수 관리기준에는 pH, 전기전도도, 생물학적 산소요구도, 화학적 산소요구도 등의 이화학적 항목에만 국한되어 있고 미생물에 관한 기준이나 안전관리 방안은 부족한 실정이다. 따라서 국내 농산물의 미생물학적 안전성을 확보하기 위해서는 농업용수의 미생물 모니터링을 통해 농업용수 오염상태를 파악하고, 미생물학적 위해성 평가를 통하여 농업용수의 미생물 안전관리기준을 마련하는 것이 필요하다. 전세계적으로 농업용수의 미생물 오염도를 위생지표세균을 중심으로 조사하고 관리해 오고 있다[15]. 위생지표세균은 수계 내 분변 유입을 설명하고, 병원성미생물의 유입을 간접적으로 파악하는 지표이며, 안전관리 기준 항목으로 정하고 있다[16-18]. 수계 내 위생지표세균 분포는 지역별, 계절별로 달라질 수 있고, 오염원이나 주변 환경요인에 영향을 받을 수 있기 때문에 위생지표세균 기준은 농업용수의 작물 노출량, 오염원 유형, 주변환경요인 등을 고려해 설정되어야 한다[19]. 따라서 국내 실정에 맞는 기준을 설정하기 위해서는 국내 농업용수 미생물 모니터링 결과를 활용해 위생지표세균 오염수준과 식중독 세균의 검출과의 관계를 분석하는 것이 중요하다. 위생지표세균의 오염수준과 식중독세균의 검출과의 관계를 파악하기 위한 다양한 시도가 있었다. Truchado 등(2018)은 병원균 검출 지점과 불검출 지점 간의 위생지표세균 농도를 비교하였고[20], Pachepsky 등(2016)은 상관분석을 통해 위생지표세균 농도와 병원성미생물 농도와의 상관성을 확인하였다[17]. 이들의 연구에서 위생지표세균과 병원성미생물과의 관계를 분석하기 위해 사용된 단순 평균 비교는 단순히 병원균 검출

지점에서 지표 미생물 농도가 높은 것을 확인하였고[20], 상관분석의 경우 특정 병원성 미생물과 특정 위생지표세균 사이의 상관성이 있다는 것을 확인하였지만, 얼마나 영향을 미치는지 알 수 없었다[17]. 이들 연구의 한계를 극복하기 위하여 Savichtcheva 등(2007)은 로지스틱 회귀분석을 통해 위생지표세균 종류에 따른 병원성미생물과의 상관성을 비교하였다[21]. 로지스틱 회귀분석(binary logistic regression)은 양적변수와 질적변수의 관계를 분석하기 위하여 타 연구 분야에서도 널리 활용되고 있다. 로지스틱 회귀분석은 환자의 부상정도에 따른 사망예측[22], 나이, 소득, 성별, 인종 학력 등에 기반한 특정 정당 투표 예측[23], 소비자 특성에 따른 제품 구매 예측[24] 등 주로 의학, 사회과학 분야, 기계학습 등에서 변수에 따른 사건 발생 가능성을 예측하는 모델로 활용된다[25]. Savichtcheva 등(2007)이 로지스틱 회귀분석을 통해 전통적인 위생지표와 새롭게 제시된 위생지표 간의 설명력 차이를 확인하였지만, 종속변수를 위생지표세균 농도별 병원균 출현 확률로 설정하여 독립변수(위생지표세균 농도)들 간의 상대적인 설명력 비교를 하는데 그쳐 구축된 모델의 정확도, 민감도, 특이성 등에 대해서는 제시하지 못하였다[21].

따라서 본 연구에서는 농업용수 미생물 안전관리기준 설정을 위한 기초자료를 확보하기 위해 전국 농업용수의 위생지표세균과 식중독세균의 오염상태를 조사하고, 로지스틱 회귀분석을 이용하여 위생지표세균의 농도와 식중독세균의 검출간의 관계를 분석하였다. 또한 본 연구에서 구축된 모델의 정확도, 민감도, 특이도를 평가하였으며 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

조사지점 및 시료수집

국내 농업용수의 미생물학적 특성을 분석하기 위해 농촌진흥청에서 시행하고 있는 농업환경변동조사(환경부 수질오염공정시험기준. 환경부고시 제 2017-57호, 2017) 수질조사지점(지표수 300지점, 지하수 157지점)에서 농업용수 시료를 채취하였다(Fig. 1). 2018년에는 전북(지표수 31지점, 지하수 20지점)지역, 2019년에는 경기(지표수 32지점, 지하수 20지점), 강원(지표수 34지점, 지하수 19지점)지역, 2020년에는 충북(지표수 59지점, 지하수 20지점), 충남(지표수 43지점, 지하수 19지점), 경북(지표수 28지점, 지하수 20지점), 경남(지표수 39지점, 지하수 19지점), 전남(지표수 37지점, 지하수 20지점)지역 농업용수를 채취하였다. 지표수는 비커봉(Angular beaker, Bürkle GmbH, Germany)을 이용해 하천 중앙지점에서 수면으로부터 2m 이내의 물을 연간 3회(4월, 7월, 10월) 채취하였다. 지하수는 용수 펌프를 5분 이상 가동하여 관정 내의 고인물을 제거한 후 무균채수병을 이용하여 연간 2회(4월, 7월) 채취하였다. 모든 시료는 채취 후 아이스박스를 이용하여 실험실로 이송하였으며, 실험실에서는 4℃ 조건으로 보관하여 24시간 이내에 분석하였다.

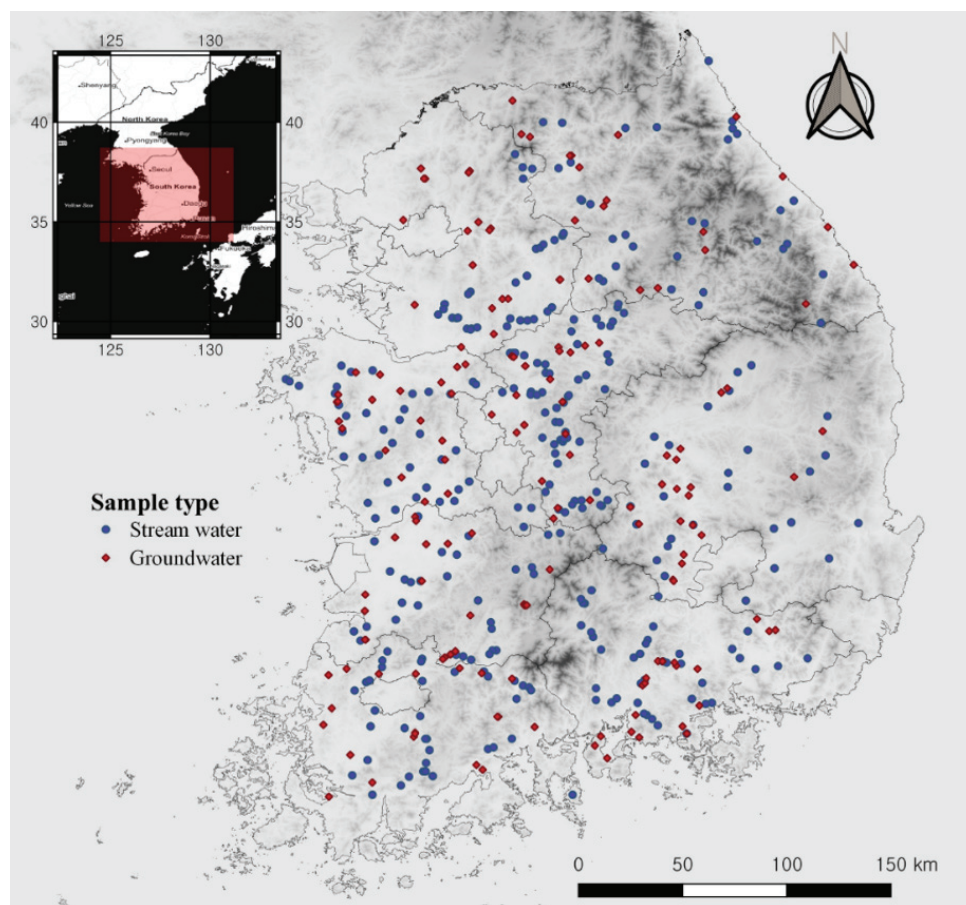


Fig. 1. Geographical map and sampling sites of the Republic of Korea.

위생지표세균 정량분석

수집된 시료에서 위생지표세균인 총대장균군(Total coliforms), 분원성대장균군(Fecal coliforms), *E. coli*를 분석하였으며, 분석방법은 막여과법을 이용하였다. 먼저 위생지표세균 집락이 100 mL 당 20 ~ 80개가 되도록 단계별로 희석한 농업용수 100 mL를 나이트로셀룰로스 여과막(pore size = 0.45 μ m; Merck Millipore, Tullagreen, Ireland)에 여과시켰다. 이후 총대장균군의 분석을 위하여 여과막을 m-Endo LES (Membrane Endo's Lawrence Experimental Station Agar) Agar 배지(Difco Laboratories, MI, USA)에 올린 후 $35\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, 24시간 조건으로 배양하고 금속성의 붉은 집락을 계수하였다. *E. coli*는 총대장균군을 계수한 여과막을 NA-MUG (Nutrient Agar with MUG) 배지(Difco)에 무균적으로 옮겨 $35\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 4시간 배양한 후 붉은색 금속성 집락 중 UV (366nm)상에서 형광을 띄는 집락을 계수하였다. 분원성대장균군을 분석하기 위하여 여과막을 m-FC Agar (Membrane Fecal Coliform Agar) 배지(Difco)에 올린 후 $41\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양한 후 청색 집락을 계수하였다. 집락수는 아래의 (1)식과 같이 계산하였고 log10 로 환산한 값(log CFU / 100 mL)으로 표기하였다.

$$\frac{\text{집락수}}{100 \text{ mL}} = \frac{\text{생성된 집락수}}{\text{여과한 시료량(mL)} \times 100} \quad (1)$$

주요 식중독세균 정성분석

수집한 시료에서 *E. coli*를 비롯해 주요 식중독세균인 *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*)를 정성분석하였다. 농업용수 250 mL를 나이트로셀룰로스 여과막(pore size = 0.45 μ m)에 여과시킨 후 여과막을 각각의 증균배지에서 증균시킨 후 선택배지를 이용하여 식중독세균을 분리하였다. *E. coli*는 여과막을 40 mL의 Buffered Peptone Water (BPW; Oxoid, Hampshire, England)에 넣고 $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양한 후 배양액 1 mL을 취하여 9 mL의 *Escherichia coli* Broth (EC broth; Oxoid)에 접종하고 $44.5\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양하였다. 이후 배양액을 Eosin Methylene Blue (EMB; Oxoid)에 루프 (SPL life sciences, Gyeonggi, Korea)를 이용해 희선 도말한 다음 $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양하였다. *E. coli* O157:H7은 여과막을 40 mL의 modified Tryptone Soya Broth (mTSB; Oxoid)에 넣고 $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 4시간 배양한 후 noboviocin(Oxoid)을 20 mg/L 농도로 첨가하고, 20시간을 추가로 배양하였다. 이후 배양액을 Chromogenic O157 Media (CHROMagar, Paris, France)에 루프를 이용해 희선 도말한 다음 $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양하였다. *Salmonella* spp.는 여과막을 40 mL의 BPW에 넣고 $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양한 후 배양액 1 mL을 취하여 9 mL의 Tetrathionate broth(TT broth; Oxoid)에 넣고 $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양

하였다. 이후 배양액을 Xylose Lysine Deoxycholate(XLD; Difco)에 루프를 이용해 희석 도말한 다음 $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양하였다. *L. monocytogenes*는 여과막을 40 mL의 *Listeria* Enrichment Broth (LEB; Difco)에 넣고 $30\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 48시간 배양한 후 배양액 1 mL을 취하여 9 mL의 Fraser broth (Oxoid)에 넣고 $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양하였다. 이후 배양액을 Palcam (Oxoid)에 루프를 이용해 희석 도말한 다음 $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양하였다. 각각의 선택배지에서 양성집락을 보인 *E. coli*, *E. coli* O157:H7과 *Salmonella* spp.는 TSA에 접종 후 $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양하고, *L. monocytogenes*는 0.6% yeast extract가 첨가된 TSA에 접종 후 $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양하였다. 이후 VITEK2 system (bioMérieux, North Carolina, USA)를 이용해 생화학적동정을 실시하였고, 상용화된 PCR kit(PowerChek™ Detection Kit; Kogenbiotech, Seoul, Korea)를 활용해 분자생물학적 동정으로 교차검정 하였다. 분리된 *E. coli*는 병원성 검정 KIT(PowerChek™ Diarrheal *E. coli* Detection Kit; Kogenbiotech, Seoul, Korea)를 통해 5가지 유형의 병원성(장출혈성, 장병원성, 장침투성, 장독소성, 장응집성)을 확인하였다.

병원성미생물 출현 예측모델 구축 및 평가

위생지표세균 농도와 병원성미생물 출현과의 연관성을 파악하기 위해 로지스틱 회귀분석을 수행하였다. 회귀분석에 사용된 데이터는 지표수 미생물 모니터링 결과를 활용하였고, 지하수 모니터링 결과는 주요식중독세균 검출빈도가 낮아 분석에서 제외하였다. 회귀분석의 종속변수는 승산(odds = 병원균 출현 확률)의 로그변환값을 사용하였고, 독립변수는 총대장균군, 분원성대장균군, *E. coli*의 정량분석값으로 설정하였다. 일반화 선형모델(generalized linear models)은 최대우도법으로 모수를 추정해 작성하고, AIC (Akaike information criterion)를 기반으로 후진소거하여 유의미한 변수를 선택해 최종 모델을 구축하였다. 구축된 모델에서 변수별 승산비(odds ratio)를 계산해 위생지표세균 농도가 한 단위(1 log CFU/100 mL) 변할 때 병원성미생물 검출 확률의 변화를 예측하였다. 모델의 정확도는 ROC(Receiver operation characteristic) 커브를 작성하여 확인하였다. ROC 커브의 AUC(Area under curve) 값으로 모델 정확도를 확인하였고, 실제 병원성미생물 검출지점에서 검출을 예측할 확률인 민감도(sensitivity)와 실제 불검출지점에서 불검출을 예측할 확률인 특이도(specificity)를 확인해 예측모델의 유효성을 평가하였다.

통계분석

농업용수의 계절별 위생지표세균 농도 차이와 병원성미생물 검출 유무에 따른 위생지표세균 농도 차이를 확인하기 위해 R 프로그램(R core group)의 “stats”패키지와 “agricolae”패키지의 t 검정(Student's t-test)과 던컨 다중검정(Duncan's multiple range test)을 이용하였다. 위생지표세균 농도가 병원성미생물 출현 확률에 영향을 주는지 확인하기 위해 기본 패키지 내 glm() 함수를 이용해 로지스틱 회귀분석의 일반화

선형모형을 작성하였다. 승산비(odds ratio)와 95% 신뢰구간은 “moonBook” 패키지를 통해 추정하였고, 회귀모델의 ROC (Receiver operation characteristics) 커브는 “multipleROC” 패키지를 통해 작성하였다. 모든 분석은 Rstudio server Pro (ver.1.3.959-1)을 이용해 수행하였다.

결과 및 고찰

농업용수 내 위생지표세균 3종 오염도

조사시기별 지표수와 지하수의 위생지표세균 오염도를 Table 1, Table 2와 Fig. 2에 나타내었다. 총대장균군은 지표수에서 4월에 97.3%(292/300)지점, 7월 98.3%(295/300)지점, 10월 98.7%(296/300)지점에서 검출되었고, 지하수에서는 4월 24.2%(38/157) 7월 46.5%(73/157)지점에서 검출되었다. 총대장균군 밀도는 지표수에서 4월 2.96 ± 1.06 , 7월 3.38 ± 0.77 , 10월 3.43 ± 0.77 log CFU/100 mL수준으로 검출되었고, 지하수에서는 4월 0.34 ± 0.77 , 7월 0.80 ± 1.14 log CFU/100 mL수준으로 검출되었다. 조사시기별로 검출량을 비교하면 지표수에서는 7월과 10월이 4월보다 밀도가 높았고, 7월과 10월 사이에는 통계적인 차이가 없었다($p<0.05$). 지하수는 7월이 4월보다 검출지점수와 밀도가 높았다($p<0.05$). 분원성대장균군은 지표수에서 4월에 72.3%(217/300)지점, 7월 91.7%(275/300)지점, 10월 90.0%(270/300)지점에서 검출되었고, 지하수에서는 4월 5.7%(9/157)지점 7월 24.2%(38/157)지점에서 검출되었다. 분원성대장균군 밀도는 지표수에서 4월 1.26 ± 1.15 , 7월 2.43 ± 1.11 , 10월 2.00 ± 1.02 log CFU/100 mL수준으로 검출되었고, 지하수에서는 4월 0.04 ± 0.20 , 7월 0.26 ± 0.62 log CFU/100 mL수준으로 검출되었다. 조사시기별로 검출량을 비교하면 지표수에서는 7월 > 10월 > 4월 순으로 밀도가 높았고, 지하수는 7월이 4월보다 검출지점수와 밀도가 높았다($p<0.05$). *E. coli*는 지표수에서 4월에 59.0%(177/300)지점, 7월 80.3%(241/300)지점, 10월 68.0%(204/300)지점에서 검출되었고 지하수에서는 4월 4.5%(7/157)지점 7월 16.6%(26/157)지점에서 검출되었다. *E. coli* 밀도는 지표수에서 4월 0.92 ± 1.16 , 7월 1.93 ± 1.26 , 10월 1.31 ± 1.16 log CFU/100 mL수준으로 검출되었고, 지하수에서는 4월 0.02 ± 0.15 , 7월 0.16 ± 0.56 log CFU/100 mL수준으로 검출되었다. 조사시기별로 검출량을 비교하면 지표수에서는 7월 > 10월 > 4월 순으로 밀도가 높았고, 지하수는 7월이 4월보다 검출지점수와 밀도가 높았다($p<0.05$).

위의 결과를 종합해보면 지표수에서는 위생지표세균 3종 모두 7월에 가장 높은 농도로 검출되었다. 총대장균군은 7월과 10월 검출량의 통계적인 차이가 없었고 4월에 검출량이 가장 낮았으며, 분원성대장균군과 *E. coli*는 10월이 4월에 비해 검출량이 높았다(Table 1). 지하수의 경우 지표수에 비해 위생지표세균 오염도가 1.3 ~ 2.4 log CFU/100mL 낮았으며 위생지표세균 3종 모두 7월이 4월에 비해 검출지점수와 오염도가 높았다(Table 2). 계절별 미생물 농도에 영향을 미치는 것은 기온, 강수량, 오염원 변화 등 여러 환경요인이 있다[26-36]. 여름철 수온 증가로 인한 수계 내 용존산소 증가

Table 1. Concentration of indicator bacteria in stream water

Location	Season	No.		Total coliform		Fecal coliform		<i>E. coli</i>	
		D ^{a)}	ND ^{b)}	Mean \pm SD ^{c)}	Range	Mean \pm SD	Range	Mean \pm SD	Range
Gyeonggi	April	2	30	2.84 \pm 1.25 ^b	0-4.74	1.13 \pm 1.40 ^c	0-4.31	0.98 \pm 1.59 ^c	0-4.59
	July	10	22	4.05 \pm 0.39 ^a	3.04-4.65	3.36 \pm 0.70 ^a	2.00-4.72	3.27 \pm 0.88 ^a	0-4.65
	October	2	30	3.96 \pm 0.42 ^a	3.41-4.87	2.47 \pm 0.89 ^b	0-4.25	1.87 \pm 1.26 ^b	0-4.00
Gangwon	April	1	33	3.00 \pm 0.67 ^b	2.00-4.88	0.68 \pm 1.18 ^b	0-3.69	0.37 \pm 1.04 ^b	0-3.72
	July	1	33	3.32 \pm 0.94 ^{ab}	0-4.94	2.09 \pm 1.13 ^a	0-4.32	1.69 \pm 1.30 ^a	0-4.08
	October	4	30	3.50 \pm 0.80 ^a	0-4.76	2.14 \pm 0.94 ^a	0-3.56	2.04 \pm 1.14 ^a	0-3.82
Chungbuk	April	2	54	2.70 \pm 0.86 ^c	0-5.00	1.12 \pm 1.20 ^b	0-3.50	0.65 \pm 1.12 ^b	0-3.46
	July	3	53	3.21 \pm 0.50 ^b	1.42-3.84	1.82 \pm 0.88 ^a	0-3.47	1.85 \pm 1.11 ^a	0-4.00
	October	5	51	3.58 \pm 0.75 ^a	0-4.88	1.98 \pm 1.05 ^a	0-4.36	0.99 \pm 1.11 ^b	0-3.41
Chungnam	April	0	43	3.24 \pm 1.50 ^a	0.6-5.00	1.57 \pm 0.92 ^b	0-3.00	1.44 \pm 0.98 ^a	0-3.00
	July	4	39	3.31 \pm 0.43 ^a	1.61-4.03	2.38 \pm 0.79 ^a	0-4.30	1.84 \pm 1.04 ^a	0-4.58
	October	2	41	3.31 \pm 0.29 ^a	2.38-3.87	2.46 \pm 0.90 ^a	0-3.77	1.65 \pm 1.32 ^a	0-3.69
Jeonbuk	April	5	26	2.94 \pm 0.62 ^a	1.26-3.62	1.29 \pm 0.94 ^b	0-2.96	0.80 \pm 0.89 ^{ab}	0-2.24
	July	2	29	3.00 \pm 0.64 ^a	1.50-4.05	1.96 \pm 1.20 ^a	0-3.74	0.90 \pm 1.10 ^a	0-3.41
	October	9	22	2.24 \pm 0.66 ^b	0.79-2.88	0.64 \pm 0.62 ^c	0-1.65	0.39 \pm 0.45 ^b	0-1.29
Jeonnam	April	5	32	2.75 \pm 0.81 ^c	0-4.20	1.11 \pm 0.88 ^c	0-2.82	0.63 \pm 0.79 ^c	0-2.89
	July	2	35	4.00 \pm 0.34 ^a	3.24-4.77	3.06 \pm 0.66 ^a	1.28-4.63	2.03 \pm 0.84 ^a	0.10-3.77
	October	4	33	3.55 \pm 0.51 ^b	2.24-5.04	2.16 \pm 0.71 ^b	0.10-3.42	1.49 \pm 0.79 ^b	0-3.11
Gyeongbuk	April	1	27	3.30 \pm 0.99 ^a	0-5.00	2.37 \pm 1.16 ^b	0-3.84	2.00 \pm 1.35 ^b	0-3.47
	July	1	27	3.34 \pm 0.42 ^a	1.58-4.08	3.22 \pm 0.40 ^a	2.38-4.71	2.95 \pm 0.53 ^a	2.15-4.63
	October	0	28	3.61 \pm 0.39 ^a	2.96-4.39	1.59 \pm 0.91 ^c	0-2.94	0.69 \pm 0.90 ^c	0-2.36
Gyeonnam	April	1	38	3.05 \pm 1.25 ^{ab}	1.00-5.00	0.99 \pm 0.79 ^b	0-3.00	0.74 \pm 0.63 ^b	0-3.00
	July	1	38	2.69 \pm 1.18 ^b	0-4.11	1.66 \pm 1.38 ^a	0-4.00	0.90 \pm 1.16 ^{ab}	0-3.43
	October	0	39	3.48 \pm 0.90 ^a	0-4.54	2.17 \pm 0.91 ^a	0-4.14	1.26 \pm 1.04 ^a	0-3.59
Total	April	17	283	2.96 \pm 1.06 ^b	0-5.00	1.26 \pm 1.15 ^c	0-4.32	0.92 \pm 1.16 ^c	0-4.60
	July	24	276	3.38 \pm 0.77 ^a	0-4.94	2.43 \pm 1.11 ^a	0-4.73	1.93 \pm 1.26 ^a	0-4.66
	October	26	274	3.43 \pm 0.77 ^a	0-5.05	2.00 \pm 1.02 ^b	0-4.36	1.31 \pm 1.16 ^b	0-4.01
Total		67	833	3.27 \pm 0.89	0-5.05	1.90 \pm 1.19	0-4.73	1.39 \pm 1.26	0-4.66

^{a)} Number of pathogen detected sites, ^{b)} Number of pathogen not detected sites, ^{c)} Log CFU / 100 mL = log₁₀(number of colony forming unit / volum of sample(mL) * 100), Letters represent means separated at $p < 0.05$, Duncan's multiple range test

Table 2. Concentration of indicator bacteria in groundwater

Location	Season	No.		Total coliform		Fecal coliform		<i>E. coli</i>	
		D ^{a)}	ND ^{b)}	Mean \pm SD ^{c)}	Range	t-test (p)	Mean \pm SD	Range	t-test (p)
Gyeonggi	April	0	20	0.20 \pm 0.46	0-1.88	0.080	0.03 \pm 0.15	0-0.69	0.163
	July	0	20	0.66 \pm 1.03	0-4.06		0.34 \pm 0.93	0-3.95	
Gangwon	April	0	19	0.36 \pm 0.82	0-2.58	0.003	0.01 \pm 0.06	0-0.30	0.204
	July	1	18	1.65 \pm 1.49	0-3.88		0.24 \pm 0.73	0-2.69	
Chungbuk	April	0	20	0.08 \pm 0.30	0-1.36	0.308	0.03 \pm 0.15	0-0.69	0.334
	July	0	20	0.20 \pm 0.39	0-1.43		0.15 \pm 0.50	0-2.05	
Chungnam	April	0	19	0.03 \pm 0.13	0-0.60	0.048	N.D. ^{d)}	N.D.	-
	July	0	19	0.34 \pm 0.63	0-2.07		0.12 \pm 0.37	0-1.27	
Jeonbuk	April	1	19	0.86 \pm 1.24	0-3.18	0.265	0.08 \pm 0.35	0-1.53	0.014
	July	0	20	1.27 \pm 0.93	0-3.01		0.60 \pm 0.78	0-2.10	
Jeonnam	April	0	20	0.88 \pm 1.05	0-3.34	0.006	0.03 \pm 0.16	0-0.71	0.007
	July	0	20	2.01 \pm 1.35	0-4.22		0.46 \pm 0.59	0-2.00	
Gyeongbuk	April	0	20	0.09 \pm 0.33	0-1.50	0.528	N.D.	N.D.	-
	July	0	20	0.17 \pm 0.47	0-1.75		0.15 \pm 0.41	0-1.47	
Gyeonnam	April	0	19	0.18 \pm 0.57	0-2.30	0.689	0.09 \pm 0.37	0-1.55	-
	July	0	19	0.11 \pm 0.34	0-1.32		N.D.	N.D.	
Total	April	1	156	0.34 \pm 0.77	0-1.56	<0.001	0.04 \pm 0.20	0-1.56	<0.001
	July	1	156	0.80 \pm 1.14	0-4.23		0.26 \pm 0.62	0-3.95	
	Total	2	312	0.87 \pm 1.00	0-4.23		0.15 \pm 0.48	0-3.95	

^{a)} Number of pathogen detected sites, ^{b)} Number of pathogen not detected sites, ^{c)} Log CFU / 100 mL = log₁₀(number of colony forming unit / volum of sample(mL) * 100), ^{d)} Not detected

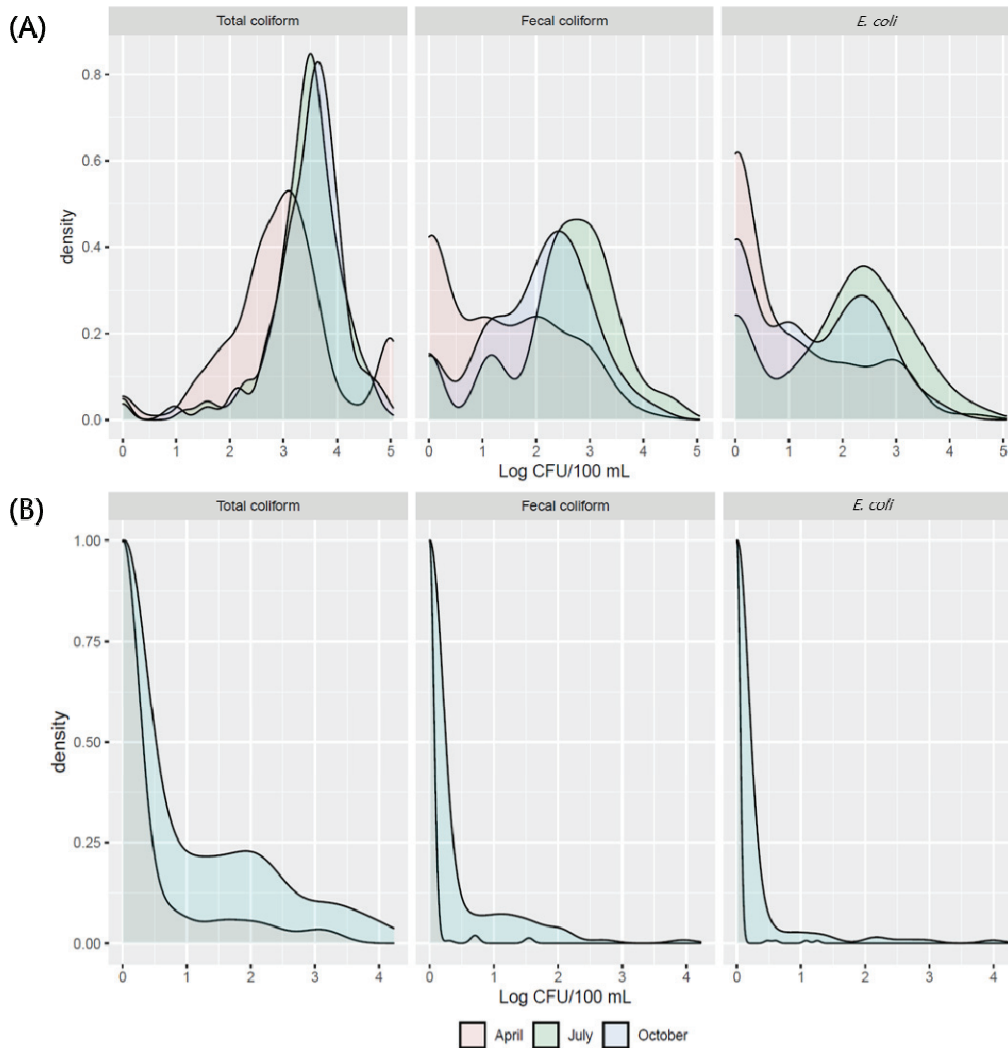


Fig. 2. Density of indicator bacteria in agricultural water. (A) Indicator bacteria in stream water (B) Indicator bacteria in groundwater.

로 미생물상이 변동할 수 있고[26], 태양에너지(자외선)에 의한 하천 표면 미생물 사멸하거나[27], 인간활동(농경지, 시가지, 수상스포츠, 야영지 등)으로 수계 내 미생물 오염이 증가할 수 있으며[28], 봄에 스키장 눈이 녹아 수계 미생물 변동에 영향을 줄 수 있다[29]. 또한 강우가 증가하거나 홍수가 발생할 경우 주변 축사, 농지 등에서 분변오염원을 비롯한 여러 오염원이 수계로 유입되어 미생물 농도에 영향을 줄 수 있다[30-36]. 여러 환경 요인 중 강수량은 수계 미생물 변동에 가장 큰 영향을 주는 인자로 알려져 있는데, 온도나 이화학적 수질 등의 요소는 수계 내 존재하는 미생물의 증식과 사멸에 영향을 줄 수 있지만 강우는 오염원의 수계 내 유입과 직접 관련이 있는 요소이기 때문이다. 샘플링 시기 강수량 데이터(기상청 기상자료개방포털, 2021)를 보면 4월 평균 강수량은 57 mm, 7월 360.5 mm, 10월 50.8 mm로 7월에 가장 높은 강수량을 보였다(Table 3). 본 실험에서도 Kleinheinz 등(2010)과 Auld 등(2004)의 결과처럼 강수량이 높은 시기에 위생지표세균 농도가 높게 나온 것으로 보아 강수량이 수계 위생지표세균 농도에 영향을 주었을 것으로 판단된다[31,33].

또한, 여름철(7월)에는 인간활동(농사, 레저, 야영 등) 증가, 야생동물의 활동성 증가 등으로 인해 수계 주변 오염원이 증가할 수 있어 7월 위생지표세균 농도에 영향을 미쳤을 것으로 판단된다[28].

농업용수의 식중독세균 오염도

전국 농업용수(지표수 300지점, 지하수 157지점)에서 분석한 병원성세균 분석결과는 Table 4와 Table S1과 같다. 병원성 *E. coli*는 457지점 중 42지점(9.1%)에서 검출됐고, 이 중 2지점에서는 계절별로 연속 검출(4월-7월, 1지점; 7월-10월, 1지점)되었다. 수원별로 보면 지표수에서 4월 2.3%지점(7/300), 7월 5.7%지점(17/300), 10월 5.7%지점(17/300)에서 검출되었고, 지하수에서 7월 0.6%지점(1/157)에서 검출되었다. 분리된 *E. coli*의 병원성을 조사한 결과 장병원성(Enteropathogenic)이 52.3%로 가장 많았고, 장독소성(Enterotoxigenic) 25%, 장출혈성(Enterohemorrhagic) 11.4%, 장침투성(Enteroinvasive) 6.8%, 장응집성(Enteraggregative) 2.3% 순으로 비율이 높게 나타났다. 장출혈성대장균 5군주 중 3군주는 *E. coli* O157:H7

Table 3. The average of rainy days and rainfall in Republic of Korea

Year ^{a)}	Location	April		July		October	
		Rainy days (days)	Rainfall (mm)	Rainy days (days)	Rainfall (mm)	Rainy days (days)	Rainfall (mm)
2019	Gyeonggi	9.2	44.2	15.3	231.5	5.3	54.6
2019	Gangwon	8.2	58.4	14.6	208.55	7.85	153.85
2020	Chungbuk	3.8	29.2	19.8	411.3	2.6	7.4
2020	Chungnam	4.7	20.6	19.0	449.5	3.3	9.9
2018	Jeonbuk	10.4	131.6	6.4	178.7	10.0	132.3
2020	Jeonnam	5.1	69.1	18.6	391.7	2.4	22.1
2020	Gyeongbuk	5.4	35.2	19.0	412.7	2.9	4.4
2020	Gyeonnam	5.7	67.5	19.5	600.1	2.8	21.9
Total		6.6	57.0	16.5	360.5	4.6	50.8

^{a)} years of sampling

Table 4. Number of pathogen detected sites in agricultural water in Republic of Korea

Location	Season	Stream water				Groundwater			
		n	Pathogenic <i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	n	Pathogenic <i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>
Gyeonggi	April		2 (6.3%)	N.D. ^{a)}	N.D.		N.D.	N.D.	N.D.
	July	32	7 (21.9%)	N.D.	3 (9.4%)	20	N.D.	N.D.	N.D.
	October		2 (6.3%)	N.D.	N.D.		N.A. ^{b)}	N.A.	N.A.
Gangwon	April		N.D.	1 (2.9%)	N.D.		N.D.	N.D.	N.D.
	July	34	N.D.	1 (2.9%)	N.D.	19	1 (5.3%)	N.D.	N.D.
	October		4 (11.8%)	N.D.	N.D.		N.A.	N.A.	N.A.
Chungbuk	April		2 (3.6%)	N.D.	N.D.		N.D.	N.D.	N.D.
	July	56	3 (5.4%)	N.D.	N.D.	20	N.D.	N.D.	N.D.
	October		5 (8.9%)	N.D.	N.D.		N.A.	N.A.	N.A.
Chungnam	April		N.D.	N.D.	N.D.		N.D.	N.D.	N.D.
	July	43	4 (9.3%)	N.D.	N.D.	19	N.D.	N.D.	N.D.
	October		2 (4.7%)	N.D.	N.D.		N.A.	N.A.	N.A.
Jeonbuk	April		N.D.	5 (16.1%)	N.D.		N.D.	N.D.	1 (5.0%)
	July	31	1 (3.2%)	1 (3.2%)	N.D.	20	N.D.	N.D.	N.D.
	October		2 (6.5%)	6 (19.4%)	1 (3.2%)		N.A.	N.A.	N.A.
Jeonnam	April		2 (5.4%)	2 (5.4%)	1 (2.7%)		N.D.	N.D.	N.D.
	July	37	1 (2.7%)	1 (2.7%)	N.D.	20	N.D.	N.D.	N.D.
	October		2 (5.4%)	2 (5.4%)	N.D.		N.A.	N.A.	N.A.
Gyeongbuk	April		1 (3.6%)	N.D.	N.D.		N.D.	N.D.	N.D.
	July	28	N.D.	N.D.	1 (3.6%)	20	N.D.	N.D.	N.D.
	October		N.D.	N.D.	N.D.		N.A.	N.A.	N.A.
Gyeonnam	April		N.D.	N.D.	1 (2.6%)		N.D.	N.D.	N.D.
	July	39	1 (2.6%)	N.D.	N.D.	19	N.D.	N.D.	N.D.
	October		N.D.	N.D.	N.D.		N.A.	N.A.	N.A.
Total	April		7 (2.3%)	8 (2.7%)	2 (0.6%)		N.D.	N.D.	1 (0.6%)
	July	300	17 (5.7%)	3 (1%)	4 (1.3%)	157	1 (0.6%)	N.D.	N.D.
	October		17 (5.7%)	8 (2.7%)	1 (0.3%)		N.A.	N.A.	N.A.
	Total	300	41 (13.7%)	19 (6.3%)	7 (2.3%)	157	1 (0.6%)	N.D.	1 (0.6%)

^{a)} Not detected, ^{b)} Not analyzed

로 확인되었다. *Salmonella* spp.은 457지점 중 16지점(3.5%)에서 검출되었다. 이 중 3개 지점에서는 4월과 10월에 연속적으로 검출되어 총 19군주의 *Salmonella* spp.가 분리동정되었다. *Salmonella* spp.는 지표수에서만 검출되었고, 4월 2.7%지점(8/300), 7월 1%지점(3/300), 10월 2.7%지점(8/300)에서 검출되었다. *L. monocytogenes*는 457지점 중 8지점(1.8%)에서 검출되었고, 계절별 연속 검출지점은 없었다. *L. monocytogenes*는 지표수에서 4월에 0.6%지점(2/300), 7월 1.3%지점(4/300), 10월 0.3%지점(1/300)에서 검출되었고, 지하수에서는 4월 0.6%지점(1/157)에서 검출되었고, 7월은 검출되지 않았다. 본 연구에서는 동일 지점에서 2종 이상의 식중독세균이 동시 검출되는 경우는 없었다.

위 결과를 종합해보면 주요 식중독세균 3종 모두 지하수(0.6%, 2/314)보다 지표수(7.4%, 67/900)에서 높은 빈도로 검출되었고, 병원성 *E. coli*(3.5%, 42/1214) > *Salmonella* spp.(1.6%, 19/1214) > *L. monocytogenes*(0.7%, 8/1214) 순으로 높게 검출되었다. 지표수에서 계절별 주요 식중독세균 검출빈도를 보면 병원성 *E. coli*는 7월(5.7%, 17/300) = 10월(5.7%, 17/300) > 4월(2.3%, 7/300) 순으로 높았고, *Salmonella* spp.는 4월(2.7%, 8/300) = 10월(2.7%, 8/300) > 7월(1%, 3/300) 순으로 높았다. *L. monocytogenes*는 7월(1.3%, 4/300) > 4월(0.7%, 2/300) > 10월(0.3%, 1/300) 순으로 검출빈도가 높았다. 지표수에서 주요 식중독세균의 계절별 검출빈도는 10월(8.7%, 26/300) > 7월(8%, 24/300) > 4월(5.7%, 17/300) 순으로 높게 조사되었다. 농업용수 내 식중독세균 검출빈도에 영향을 줄 수 있는 요인은 위생지표세균과 마찬가지로 수온, 이화학적 수질, 강수량, 야생동물 활동량, 인간 활동 등이 있다[26-36]. 병원성 미생물 변동 역시 강수량이 가장 중요한 요소로 작용한다고 알려져 있는데[30-36], 병원성 미생물 검출결과를 보면 위생지표세균과 마찬가지로 강수량이 많은 지역과 계절에 검출빈도가 높았다. 2018년 전북지역 4월(131.6 mm)과 10월(132.3 mm), 2019년 강원지역 10월(132.3 mm), 2020년 전남지역 4월(69.1 mm) 조사지점은 다른 지역에 비해 높은 강수량을 보였고(Table 3), 병원성 미생물 검출빈도가 다른 지역보다 높아 강수량이 식중독세균 검출에 영향을 주었을 것으로 판단되었다. 하지만 충북지역 10월(7.4 mm) 조사지점과 같이 병원균 검출빈도가 높았지만 강수량은 적은 지점도 존재하기 때문에 강수량 외에 다른 요인도 병원균 검출에 관여하였을 것으로 보인다.

위생지표세균 농도와 식중독세균 검출과의 상관성

식중독세균 검출지점과 불검출지점 간 위생지표세균 밀도 차이는 Table 5에 나타났다. 총대장균군과 분원성대장균군은 4월과 7월에 식중독세균 검출지점에서 밀도가 높은 것을 알 수 있었고($p < 0.05$), 10월에는 식중독세균 출현에 따른 밀도 차이가 없었다($p > 0.05$). *E. coli*는 7월에 식중독세균 검출지점에서 밀도가 높게 나왔지만($p < 0.05$), 4월과 10월에는 식중독세균 출현에 따른 밀도 차이가 없었다($p > 0.05$).

위생지표세균 농도에 따른 식중독세균 검출 예측모델 구축 후, AIC를 기반으로 유의미한 변수로 총대장균군(TC)과 *E. coli*(EC)를 선정하여 최종 모델을 구축하였다. 구축된 회귀모델은 (2)와 같은 모델식에 의해 계산된 위생지표세균 농도에 따른 식중독세균 검출확률은 (3)과 같다.

$$\log\left(\frac{p}{1-p}\right) = -4.31 + 0.35 * TC + 0.27 * EC \quad (2)$$

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(4.31 + 0.35 * TC + 0.27 * EC)}} \quad (3)$$

변수별 승산비(odds ratio)는 총대장균군이 1.42(95% C.I., 1.09-1.93), *E. coli*가 1.3(95% C.I., 1.06-1.7)으로 계산되었다. 결과를 해석하면 총대장균군과 *E. coli* 밀도가 증가하면 식중독세균 출현확률이 증가했고, 총대장균군이 1수준(1 log CFU/100mL) 증가하면 식중독세균 출현확률이 1.42배 증가하고 *E. coli*가 1수준(1 log CFU/100mL) 증가하면 식중독세균 출현확률이 1.3배 증가하였다. 작성된 모델의 정확도를 살펴보기 위해 ROC 커브를 작성하였다. Fig. 3을 보면 AUC (area under curve) 값이 0.704로 AUC 값이 0.8 이하 0.7 이상이기 때문에 이 모델의 정확도는 수용할만한 수준으로 판단되었다[37]. 민감도(sensitivity)와 특이도(specificity)가 가장 큰 절단값(cut-off value)에서 민감도는 81.5%, 특이도는 51.7%였다(Fig. 3). 이 회귀모델에서 식중독세균이 검출될 것으로 예측된 지점에서 실제 식중독세균이 검출된 확률은 81.5%고, 식중독세균이 검출되지 않을 것으로 판단된 지점에서 실제 식중독세균이 검출되지 않을 확률은 51.7%였다. 이는 식중독세균이 검출되지 않을 것이라 판단한 지점에서 실제 식중독세균이 출현한 빈도가 높은 것을 알 수 있는데 이는 데이터 중 지표미생물이 낮지만 식중독세균이 검출된 지점이 있기 때문으로 판단된다. 본 연구에서 구축한 로지스틱 회귀

Table 5. Comparison of the concentration of indicator bacteria between the pathogen detected site and not detected site

Season	Total coliform			Fecal coliform			<i>E. coli</i>		
	Detected	Not detected	t-test (p)	Detected	Not detected	t-test (p)	Detected	Not detected	t-test (p)
April	3.26±1.10	1.96±1.59	<0.001	2.06±0.92	0.76±1.07	<0.001	1.65±1.23	0.55±0.99	0.003
July	3.65±0.69	2.39±1.55	<0.001	2.74±1.11	1.59±1.41	<0.001	2.48±1.16	1.22±1.34	<0.001
October	3.32±0.68	3.44±0.77	0.403	1.78±0.94	2.02±1.03	0.243	1.42±1.12	1.30±1.17	0.622
Total	3.43±0.81	2.49±1.53	<0.001	2.21±1.08	1.38±1.30	<0.001	1.88±1.24	0.99±1.22	<0.001

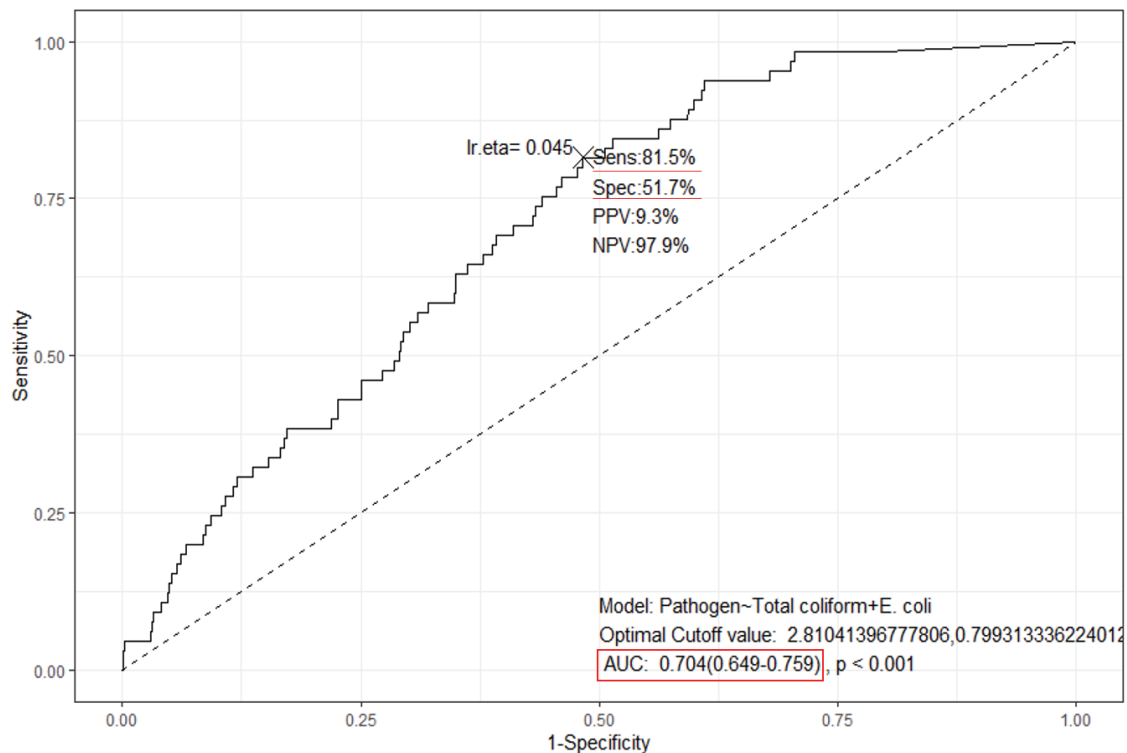


Fig. 3. Receiver operating characteristic curve (ROC) for prediction of pathogen appearance based on concentration of indicator bacteria.

모델은 지표미생물의 정량분석값을 통해 병원성미생물의 검출, 불검출을 예측할 수 있고 모델 정확도를 비롯해 민감도와 특이도를 제시해, 단순히 지표들 간에 상대적인 효율을 비교한 Savichtcheva 등(2007)이 구축한 로지스틱 회귀분석 모델에 비해 활용도가 높았다[21].

결과를 종합해보면 4월과 7월에 병원성미생물 검출지점에서 위생지표세균 농도가 높은 것을 확인하였고, 위생지표세균 중 총대장균군과 *E. coli* 농도가 높을수록 병원성미생물 출현 확률이 높아질 수 있다는 것을 확인하였다. 본 연구에서 구축된 로지스틱 회귀분석을 이용한 예측 모델은 위생지표세균의 농도와 식중독세균의 출현 관계를 예측하는데 활용이 가능할 것으로 판단된다. 하지만 구축된 모델의 정확도, 민감도를 높이기 위해서는 동일지점에서 수년간 누적된 위생지표세균과 식중독세균의 모니터링 정보가 필요할 것으로 생각된다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of "Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No. PJ01419401), National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Balali GI, Yar DD, Afua DVG, Adjei-Kusi P (2020) Microbial contamination, an increasing threat to the consumption of fresh fruits and vegetables in today's world. *International Journal of Microbiology*, 2020, 3029295. <https://doi.org/10.1155/2020/3029295>.
- Mikhail AFW, Jenkins C, Dallman TJ, Inns T, Douglas A, Martín AIC, Fox A, Cleary P, Elson R et al. (2018) An outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 associated with contaminated salad leaves: epidemiological, genomic and food trace back investigations. *Epidemiology & Infection*, 146(2), 187-196. <https://doi.org/10.1017/S0950268817002874>.
- Oh SY, Nam KW, Yoon DH (2017) Analysis of Pathogenic Microorganism's Contamination and Heavy Metals on Kimchi Cabbage by Cultivation Methods in Korea. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 32(6), 500-506. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2017.32.6.500>.
- Aiyedun SO, Onarinde BA, Swainson M, Dixon RA (2021) Foodborne outbreaks of microbial infection from fresh produce in Europe and North America: a systematic review of data from this millennium. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(5), 2215-2223. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14884>.
- Beuchat LR (2002) Ecological factors influencing survi-

- val and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and Infection*, 4(4), 413-423. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(02\)01555-1](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(02)01555-1).
6. Beuchat LR, Ryu JH (1997) Produce handling and processing practices. *Emerging Infectious Diseases*, 3(4), 459. <https://doi.org/10.3201/eid0304.970407>.
 7. Beuchat LR (1996) Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *Journal of Food Protection*, 59(2), 204-216. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-59.2.204>.
 8. Allende A, Monaghan J (2015) Irrigation water quality for leafy crops: a perspective of risks and potential solutions. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(7), 7457-7477. <https://doi.org/10.3390/ijerph120707457>.
 9. Van Der Linden I, Cottyn B, Uyttendaele M, Berkvens N, Vlaemynek G, Heyndrickx M, Maes M (2014) Enteric pathogen survival varies substantially in irrigation water from belgian lettuce producers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(10), 10105-10124. <https://doi.org/10.3390/ijerph111010105>.
 10. Steele M, Odumeru J (2004) Irrigation water as source of foodborne pathogens on fruit and vegetables. *Journal of Food Protection*, 67(12), 2839-2849. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.12.2839>.
 11. Söderström A, Österberg P, Lindqvist A, Jönsson B, Lindberg A, Blide Ulander S, Welinder-Olsson C, Löfdahl S, Kaijser B et al. (2008) A large *Escherichia coli* O157 outbreak in Sweden associated with locally produced lettuce. *Foodborne Pathogens and Disease*, 5(3), 339-349. <https://doi.org/10.1089/fpd.2007.0065>.
 12. Greene SK, Daly ER, Talbot EA, Demma LJ, Holzbauer S, Patel NJ, Hill TA, Walderhaug MO, Hoekstra RM et al. (2008) Recurrent multistate outbreak of *Salmonella* Newport associated with tomatoes from contaminated fields, 2005. *Epidemiology & Infection*, 136(2), 157-165. <https://doi.org/10.1017/S095026880700859X>.
 13. Bottichio L, Keaton A, Thomas D, Fulton T, Tiffany A, Frick A, Mattioli M, Kahler A, Murphy J, et al. (2020) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections associated with romaine lettuce—United States, 2018. *Clinical Infectious Diseases*, 71(8), e323-e330. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz1182>.
 14. Uyttendaele M, Jaykus LA, Amoah P, Chiodini A, Cunliffe D, Jacxsens L, Holvoet K, Korsten L, Lau M et al. (2015) Microbial hazards in irrigation water: standards, norms, and testing to manage use of water in fresh produce primary production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(4), 336-356. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12133>.
 15. Barrell RA, Hunter PR, Nichols GCDPH (2000) Microbiological standards for water and their relationship to health risk. *Communicable Disease and Public Health*, 3(1), 8-13. <https://europepmc.org/article/med/10743312>.
 16. Divya AH, Solomon PA (2016) Effects of some water quality parameters especially total coliform and fecal coliform in surface water of Chalakudy river. *Procedia Technology*, 24, 631-638. <https://doi.org/10.1016/j.protecy.2016.05.151>.
 17. Pachepsky Y, Shelton D, Dorner S, Whelan G (2016) Can *E. coli* or thermotolerant coliform concentrations predict pathogen presence or prevalence in irrigation waters? *Critical Reviews in Microbiology*, 42(3), 384-393. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.954524>.
 18. Tran NH, Gin KYH, Ngo HH (2015) Fecal pollution source tracking toolbox for identification, evaluation and characterization of fecal contamination in receiving urban surface waters and groundwater. *Science of the Total Environment*, 538, 38-57. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.155>.
 19. Isobe KO, Tarao M, Chiem NH, Minh LY, Takada H (2004) Effect of environmental factors on the relationship between concentrations of coprostanol and fecal indicator bacteria in tropical (Mekong Delta) and temperate (Tokyo) freshwaters. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(2), 814-821. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.2.814-821.2004>.
 20. Truchado P, Hernandez N, Gil MI, Ivanek R, Allende A (2018) Correlation between *E. coli* levels and the presence of foodborne pathogens in surface irrigation water: establishment of a sampling program. *Water Research*, 128, 226-233. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.10.041>.
 21. Savichtcheva O, Okayama N, Okabe S (2007) Relationships between *Bacteroides* 16S rRNA genetic markers and presence of bacterial enteric pathogens and conventional fecal indicators. *Water Research*, 41(16), 3615-3628. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.03.028>.
 22. Boyd CR, Tolson MA, Copes WS (1987) Evaluating trauma care: the TRISS method. Trauma Score and the Injury Severity Score. *The Journal of Trauma*, 27(4), 370-378.
 23. Harrell FE (2001) Regression modeling strategies: with applications to linear models, logistic regression, and survival analysis, pp. 215-330, Springer, USA.
 24. Berry MJ, Linoff GS (2004) Data mining techniques: for marketing sales, and customer relationship management, pp. 227-230, John Wiley & Sons, USA.
 25. Cox DR (1958) The regression analysis of binary sequences. *Journal of the Royal Statistical Society: Series*

- B (Methodological), 20(2), 215-232. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1958.tb00292.x>.
26. Xue J, Lamar FG, Zhang B, Lin S, Lamori JG, Sherchan SP (2018) Quantitative assessment of *Naegleria fowleri* and fecal indicator bacteria in brackish water of Lake Pontchartrain, Louisiana. *Science of the Total Environment*, 622, 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.308>.
27. de Brauwere A, Ouattara NK, Servais P (2014) Modeling fecal indicator bacteria concentrations in natural surface waters: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 44(21), 2380-2453. <https://doi.org/10.1080/10643389.2013.829978>.
28. Goh SG, Saeidi N, Gu X, Vergara GGR, Liang L, Fang H, Kitajima M, Kushmaro A, Gin KYH (2019) Occurrence of microbial indicators, pathogenic bacteria and viruses in tropical surface waters subject to contrasting land use. *Water Research*, 150, 200-215. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.11.058>.
29. Bojarczuk A, Jelonkiewicz Ł, Lenart-Boroń A (2018) The effect of anthropogenic and natural factors on the prevalence of physicochemical parameters of water and bacterial water quality indicators along the river Białka, southern Poland. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(10), 10102-10114. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1212-2>.
30. Buckerfield SJ, Quilliam RS, Waldron S, Naylor LA, Li S, Oliver DM (2019) Rainfall-driven *E. coli* transfer to the stream-conduit network observed through increasing spatial scales in mixed land-use paddy farming karst terrain. *Water Research X*, 5, 100038. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2019.100038>.
31. Kleinheinz GT, McDermott CM, Hughes S, Brown A (2009) Effects of rainfall on *E. coli* concentrations at Door County, Wisconsin beaches. *International Journal of Microbiology*, 2009, 876050. <https://doi.org/10.1155/2009/876050>.
32. Coulliette AD, Noble RT (2008) Impacts of rainfall on the water quality of the Newport River Estuary (Eastern North Carolina, USA). *Journal of Water and Health*, 6(4), 473-482. <https://doi.org/10.2166/wh.2008.136>.
33. Traister E, Anisfeld SC (2006) Variability of indicator bacteria at different time scales in the upper Hoosic River watershed. *Environmental Science & Technology*, 40(16), 4990-4995. <https://doi.org/10.1021/es0601437>.
34. Shehane SD, Harwood VJ, Whitlock JE, Rose JB (2005) The influence of rainfall on the incidence of microbial faecal indicators and the dominant sources of faecal pollution in a Florida river. *Journal of Applied Microbiology*, 98(5), 1127-1136. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02554.x>.
35. Auld H, MacIver D, Klaassen J (2004) Heavy rainfall and waterborne disease outbreaks: the Walkerton example. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 67(20-22), 1879-1887. <https://doi.org/10.1080/15287390490493475>.
36. Haile RW, Witte JS, Gold M, Cressey R, McGee C, Millikan RC, Glasser A, Harawa N, Ervin C et al. (1999) The health effects of swimming in ocean water contaminated by storm drain runoff. *Epidemiology*, 10, 355-363. <https://doi.org/10.1097/00001648-199907000-00004>.
37. Mandrekar JN (2010) Receiver operating characteristic curve in diagnostic test assessment. *Journal of Thoracic Oncology*, 5(9), 1315-1316. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e3181ec173d>.

Table S1. Pathogenicity of *E. coli* isolated from agricultural water

Location	Season	Type	Sample name	Pathogenic gene	Pathotype
Gyeonggi	April	Stream water	GG-S21	<i>bfpA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	GG-S22	<i>aggR</i>	Enterotoxigenic
	July	Stream water	GG-S5	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	GG-S6	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	GG-S7	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	GG-S13	<i>bfpA</i> , <i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	GG-S18	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	GG-S28	<i>ipaH</i>	Enteroinvasive
		Stream water	GG-S29	ST	Enterotoxigenic
	October	Stream water	GG-S12	ST	Enterotoxigenic
		Stream water	GG-S26	VT1	Enterohemorrhagic
Gangwon	July	Groundwater	GW-S38	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
	October	Stream water	GW-S64	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	GW-S65	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	GW-S66	ST	Enterotoxigenic
		Stream water	GW-S56	<i>inV</i>	Enteroinvasive
Chungbuk	April	Stream water	CB-S81	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	CB-S94	<i>E. coli</i> O157:H7 ^{b)}	Enterohemorrhagic
	July	Stream water	CB-S95	VT2, Stx2	Enterohemorrhagic
		Stream water	CB-S108	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	CB-S117	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
	October	Stream water	CB-S74	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	CB-S80	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	CB-S93	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	CB-S119	LT	Enterotoxigenic
		Stream water	CB-S120	LT	Enterotoxigenic
Chungnam	July	Stream water	CN-S123* ^{a)}	LT	Enterotoxigenic
		Stream water	CN-S125	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	CN-S144	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	CN-S165	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
	October	Stream water	CN-S123*	ST	Enterotoxigenic
		Stream water	CN-S126	ST	Enterotoxigenic
Jeonbuk	July	Stream water	JB-S6	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
	October	Stream water	JB-S14	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	JB-S19	<i>eaeA</i> , <i>inV</i>	Enteroinvasive
Jeonnam	April	Stream water	JN-S7*	ST	Enterotoxigenic
		Stream water	JN-S9	<i>ipaH</i>	Enteroinvasive
	July	Stream water	JN-S7*	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
		Stream water	JN-S10	<i>E. coli</i> O157:H7	Enterohemorrhagic
	October	Stream water	S8	<i>E. coli</i> O157:H7	Enterohemorrhagic
		Stream water	JN-S23	<i>eaeA</i>	Enteropathogenic
Gyeongbuk	April	Stream water	GB-S235	LT	Enterotoxigenic
Gyeonnam	July	Stream water	GN-S89	ST	Enterotoxigenic

^{a)} Seasonal continuous detection, ^{b)} Positive result by Chromogenic O157 Media