pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 39, No. 3, pp. 260~265 (2024)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2024.39.3.260

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

울산지역 하수기반역학을 이용한 코로나19 감시 연구

김경남* · 최재선 · 이연수 · 김대교 · 박준영 · 김영민 · 최영선
울산광역시보건환경연구원 감염병검사과

COVID-19 Surveillance using Wastewater-based Epidemiology in Ulsan

Gyeongnam Kim*, Jaesun Choi, Yeon-Su Lee, Dae-Kyo Kim, Junyoung Park, Young-Min Kim, Youngsun Choi
Department of Infectious Disease Examination, Ulsan Research Institute of Public Health and Environment, Ulsan, Korea

(Received May 30, 2024/Revised June 12, 2024/Accepted June 14, 2024)

ABSTRACT - During the coronavirus 2019 (COVID-19) pandemic, wastewater-based epidemiology was used for surveying infectious diseases. In this study, wastewater surveillance was employed to monitor COVID-19 outbreaks. Wastewater influent samples were collected from four sewage treatment plants in Ulsan (Gulhwa, Yongyeon, Nongso, and Bangeojin) between August 2022 and August 2023. The samples were concentrated using the polyethylene glycol-sodium chloride pretreatment method. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) RNA was extracted and detected using real-time polymerase chain reaction. Next generation sequences was used to perform correlation analysis between SARS-CoV-2 concentrations and COVID-19 cases and for COVID-19 variant analysis. A strong correlation was observed between SARS-CoV-2 concentrations and COVID-19 cases (correlation coefficient, r = 0.914). The COVID-19 variant analysis results were similar to the clinical variant genomes of three epidemics during the study period. In conclusion, monitoring COVID-19 via analyzing wastewater facilitates early recognition and prediction of epidemics.

Key words: Wastewater surveillance, COVID-19, RT-PCR, NGS, Variants

하수기반역학(wastewater-based epidemiology, WBE)이란, 사람들이 배출하는 하수를 분석하여 사람들의 건강 상태나 생활환경을 파악하는 방법이다[1]. 감염성 질병에 이환된 사람들은 배설물을 통해 바이러스를 배출하기 때문에 하수를 분석하면 특정 지역사회에 얼마나 코로나바이러스가 광범위하게 퍼져 있는지, 또는 어떤 변이가 유행하고 있는지 등을 추정할 수 있다[2]. 특히 배설물을 통한 바이러스 배출은 대체로 증상이 나타나 병원에 가거나 검사를 하기 전에 나타난다는 점에서 하수를 이용한 감염병 감시는 유행 예측이나 신종 변이의 출현을 미리 알려주는 조기경보 시스템 역할을 한다[3].

하수기반역학을 활용한 지금까지의 연구는 약물류 사용 및 지역사회의 건강과 라이프스타일을 알 수 있는 의약품과 위생용품, 식품 속 성분 검출 및 영양과 관련된 물질들에 대한 조사 그리고 감염성 병원체에 대한 조사가 있었다[4]. 코로나 팬데믹이 시작된 후 2020년부터는 점차 감염성 질병 검출 분야로 관심과 연구가 늘어나고 있다. Damià Barceló[5]의 연구에서는 코로나19의 하수 내 검출 분석을 이용하여 확진자 수와의 상관성 입증 등 최적의 방법을 찾아내며 하수역학의 가능성을 보았다. 특히 Kim 등[6]의 연구에 따르면 코로나19 모니터링을 통해 하수 감시와 임상 감시와의 상관성을 확인하였으며, 국가적 감시 사업을 실시하여 하수 시료의 농축 전처리 방법 비교 및 유전자 추출 방법 비교분석을 실시하였다. 또한 Daughton[7]의 연구에서는 코로나19를 통해 하수기반의 전반적인 연구경향에 대해 분석하였다.

이에 따라 본 연구에서는 2022년 8월부터 2023년 8월까지 울산지역의 하수감시를 통한 코로나19 감염병 감시를 실시하였다. 이를 통해 감염병의 조기 발견 및 확산 예측 가능성을 알아보고, 하수감시 데이터베이스를 통한 새로운 감염병의 선제적 대응체계 구축에 필요한 자료를 제공하여 위생환경의 증진에 도움을 주고자 하였다.

*Correspondence to: Ulsan Research Institute of Public Health and Environment, 157 Munsu-ro, Nam-gu, Ulsan 44642, Korea
Tel: +82-52-229-5234, Fax: +82-52-229-5239
E-mail: kgn1113@korea.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal 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.

Table 1. Characteristics of sewage treatment plant

	A (Gulhwa)	B (Yongyeon)	C (Nongso)	D (Bangeojin)
Treatment capacity (m^3/day)	47,000	250,000	100,000	140,000
Treatment region	Ulju, Nam-gu	Ulju, Nam-gu	Jung-gu, Buk-gu	Dong-gu, Buk-gu
Population	144,226	296,219	316,000	155,802
Sampling method	grab	grab	composite	composite
Treatment method	MSBR[a]	DeNiPho[b]	MLE[c]	MSBR[a]

[a]MSBR: modified sequence batch reactor, continuous inflow, treatment, discharge.
[b]DeNiPho: intermittent aeration contact oxidation method.
[c]MLE: modified ludzack ettinger, removing organic matter and nitrogen (N) in sewage.

Materials and Methods

실험재료

하수처리장 지역 선정은 울산지역 하수처리장 중 처리 인구수, 처리지역의 면적, 인구밀집도, 대형병원의 유무 및 공장밀집 지역 등을 파악하여 특성이 각각 다른 4곳을 연구 대상으로 선정하였다. 대상 지역은 A(굴화), B(용연), C(농소) 그리고 D(방어진) 하수처리장이며 각각의 특징은 Table 1과 같다. 하수처리장 A(굴화)는 인구밀집도가 높은 신도시 지역을 포함하고 있어 도시민의 생활상을 잘 파악할 수 있는 특징이 있는 반면, B(용연)은 울산지역의 온산 공단 등의 공단밀집지역으로서 공업폐수 등이 많이 유입되어 인구특성에 대한 반영은 부족하다는 특징이 있다. 따라서 2022년 8월부터 A(굴화)와 B(용연) 두 곳의 하수처리장을 시작으로 하여, 2023년 2월부터는 인구밀집도가 높고 대형병원이 존재하여 도시민의 생활상과 질병의 특징을 더 잘 파악할 수 있도록 C(농소) 및 D(방어진) 두 곳의 하수처리장을 추가로 하여 총 4곳의 하수처리장에서 유입수를 시료로 채취하였다. 검사주기는 주 1회로 2022년 8월부터 2023년 8월까지 총 174건의 시료를 분석하였다. 시료는 무균채수병(NewKukje Scientific Corporation, Namyangju, Korea)을 사용하여 유입수 1 L를 채취하였다. 하수처리장 A와 B에서는 grab 방법으로, C와 D에서는 30분 composite 방법으로 채취하여 아이스박스 등을 이용하여 4°C로 운송하였다.

PEG-NaCl 농축

하수 농축 방법은 Kim 등[6]의 연구를 참고하여 PEG-NaCl 농축법을 사용하였다. PEG-NaCl 농축법을 사용하게 되면 큰 분자량의 PEG-8000(polyethylene glycol)과 NaCl을 이용하여 염을 형성하는 과정에서 바이러스와 같은 단백질이 거대분자를 형성하는데, 이를 통해 저온, 고농도의 염농도 조건에서 천천히 침전하게 하는 방법이다. 농축 순서는 Fig. 1과 같다. 하수 유입수 시료 40 mL를 취하여 4°C, 4,000 xg에서 30분간 원심분리기(Centrifuge 5810R, Eppendorf, Hamburg, Germany)를 사용하여 부피가 큰 오염물질 등을 1차적으로 제거하였다. 상등액을 사용하여 99.0% 이상의 PEG-8000 (V3011, Promega Korea, Ltd., Seoul, Korea) 4 g, NaCl (1.06404.1000, MERCK KGaA, Darmstadt, Germany) 0.9 g과 함께 진탕기(Incubated shaker IST-4075, JEIOTECH, Seoul, Korea)를 이용하여 교반한 후 (250 rpm에서 5분, 200 rpm에서 25분), 4°C, 11,400 xg에서, 2시간 동안 2차 원심분리(Centrifuge 5810R, Eppendorf)하여 바이러스를 침전시켜 유전자 추출에 사용하였다.

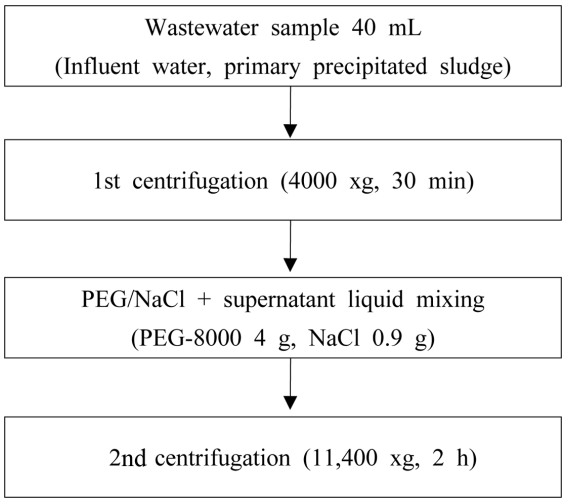

Fig. 1. PEG-NaCl concentration method.

RNA 핵산 추출

하수 시료 농축 후 최종적으로 남은 바이러스 침전물(pellet)을 잔여 상등액 140 μL에 녹이고, 10초간의 원심분리를 하여 상등액을 취해 RNA 추출에 사용하였다. QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)의 추출방법에 따라 Qiacube (QIAGEN)를 이용하여 실험을 진행하였고, 최종 60 μL의 RNA를 추출하여 RT-PCR (ABI 7500 Fast, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 및 차세대염기서열분석 NGS (Ion Torrent Genexus, Thermo Fisher Scientific)의 주형(template)으로 사용하였다.

RT-PCR

RT-PCR은 역전사 중합효소 연쇄 반응(reverse transcription polymerase chain reaction , RT-PCR)으로, ABI 7500 Fast realtime PCR (Thermo Fisher Scientific) 장비를 사용하여 유전자 분석을 실시하였다. SARS-CoV-2 분석은 Real-Q Direct SARS-CoV-2 Detection kit (Biosewoom, Seoul, Korea)를 사용하였고, 두 가지 유전자 E gene과 RdRP의 Ct값(cut off값)이 모두 38 이하일 때 양성으로 판정하였다. Threshold는 RdRP (20,000), E (10,000), HRP (5,000)로 설정하였다. SARS-CoV-2의 RT-PCR 증폭 조건은 Reverse transcription (50°C 10분), Initial denaturation (95°C 3분), Pre-amplification (95°C 10초, 62°C 20초) 3회 그리고 Amplification (95°C 10초, 62°C 30초) 40회 사이클로 하였다.

Next generation sequencing (NGS)

하수 내 코로나바이러스-19(SARS-CoV-2)의 변이 유전형을 확인하기 위해 차세대 염기서열분석(Next Generation Sequencing, NGS)을 실시하였다. NGS 분석 장비는 Ion Torrent Genexus (Thermo Fisher Scientific)를 사용하였다. 분석 시료는 인구특성, 분석기간 및 RT-PCR 결과를 고려하여 A 하수처리장의 시료를 이용하였다. A 하수처리장에서 처리구역으로 포함하는 곳은 울산지역 중 인구 밀집지역으로 유동인구가 많고 신도시의 특성을 나타내고 있다. 분석 기간 또한 13개월 동안 진행되어 코로나19 유행의 변이 추세를 볼 수 있다. 또한 RT-PCR 실험 결과, Ct값이 4곳 중 대체적으로 가장 낮은 값을 나타내어 SARS-CoV-2 바이러스량이 상대적으로 높았다. 하수처리장 A 시료를 PEG-NaCl 농축법으로 농축 후 유전자 추출을 한 후, 32개의 RNA를 각각 20 μL씩 NGS 분석에 사용하였다. Ion Torrent Genexus (Thermo Fisher Scientific)의 SARS-CoV-2 kit로 NGS Ion Ampliseq SARS-CoV-2-LowTiter Research Assay 2.0 프로그램으로 분석하였다. 결과 분석은 FASTQ 파일의 시퀀싱 데이터를 Pangolin site (http://pangolin.cog-uk.io)에서 맵핑(mapping)하여 코로나19 변이를 파악하였다.

통계분석

코로나19의 임상감시와 하수감시의 상관성 분석을 위해 2022년 8월부터 2023년 8월까지 울산지역의 코로나19 확진자 수와 하수 내 코로나바이러스-19 (SARS-CoV-2) 농도와의 상관관계를 분석하였다. RT-PCR을 통해 분석한 E gene의 Ct값으로 standard curve 기반 환산식을 사용하여 바이러스농도를 ‘copies/μL’로 나타내었고 단위환산을 통해 ‘copies/mL’로 분석에 이용하였다. 울산지역 코로나19 확진자 수는 질병관리청에서 배포한 「코로나19 양성자(표본) 감시현황」[10]. 자료를 이용하였다(2023년 8월 31까지 코로나19 전수감시 집계). 데이터 분석은 미국 Biobot사에서 사용하는 데이터 표현 방법(https://biobot.io/data)을 참고하였고, 4곳의 하수처리장에 처리구역 인구수로 가중치를 적용하여 데이터를 통합분석하였다. 또한 데이터의 안정성과 경향성 분석을 위해 각 주차 별 바이러스 농도와 코로나19 확진자 수는 3주 이동평균을 이용하여 상관관계 분석에 이용하였다. Excel 2016(Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) 프로그램을 이용하여 Pearson Correlation Coefficient 상관분석을 실시하였다.

Results and Discussion

하수처리장별 SARS-CoV-2 유전자 검출 결과

SARS-CoV-2의 RT-PCR 결과는 RdRP와 E gene의 Ct값(cut off값)으로 분석하였다. 분석 결과, 모든 시료에서 SARS-CoV-2가 검출되었다. 하수처리장별 평균 E gene의 Ct값은 28.87(A), 31.11(B), 29.83(C), 30.32(D)로 분석되었으며 Ct값을 바이러스농도로 변환하여 viral genome concentrations (copies/mL)로 나타낸 결과는 Fig. 2와 같다. 하수처리장 중 전체적으로 A 하수처리장에서 SARS-CoV-2의 바이러스 농도가 높았다. A 하수처리장에서는 신도시의 인구 특성을 반영하여 생활하수로서의 분석이 가능함을 확인할 수 있었다. 반면 전반적으로 Ct값이 가장 높아 바이러스 농도가 낮은 곳은 B 하수처리장이었다. 이는 많은 부분 공장 등을 포함하고 있으므로 사람들의 생활상을 반영하는 것보다는 공장 폐수 등이 함유되어 있어, 바이러스의 검출과의 관련성은 가장 낮음을 알 수 있다. 2023년 2월부터 감시가 시작된 C, D 하수처리장은 대형 병원 등이 포함되어 A 하수처리장과 마찬가지로 인구특성을 잘 반영하였다. 이러한 결과는 코로나19뿐만 아니라 다양한 감염병에 적용될 수 있으며, 마약류 및 식품 내 활성물질이나 영양성분 등의 분석에도 이용될 수 있다.

코로나19 변이분석

차세대염기서열(NGS)을 이용한 코로나19 변이 시퀀싱 결과는 Table 2에 나타내었다. 하수처리장 하수 시료 중 32개의 RNA를 분석하였고, 시퀀싱이 되지 않은 ‘FAILED’된 6개의 시료를 제외하고 26개의 RNA의 시퀀싱을 pangolin site에서 맵핑하였다. 그 결과, 세 번의 재유행 시기별로 각각 다른 변이가 유행했다. 2022년 8월부터 12월까지 BA.5 및 그 하위 변이인 BA.5.2가 우점하였고, 2022년 12월 중순부터 재유행된 시기에는 BA.2 및 BA.2.75가 분석되었다. 2023년 5월부터 유행된 시기에는 새롭게 재조합된 XBB 변이가 우세하였다.

오미크론(Omiron) 변이는 2021년 11월 새롭게 발견된 변이로, ‘BA’라고 명명하였으며 전파력이 강하고 치명률이 낮으며, 오미크론 계통의 바이러스끼리 유전자가 결합하여 수많은 유전자 재조합 변이가 존재하였다. 이에 따

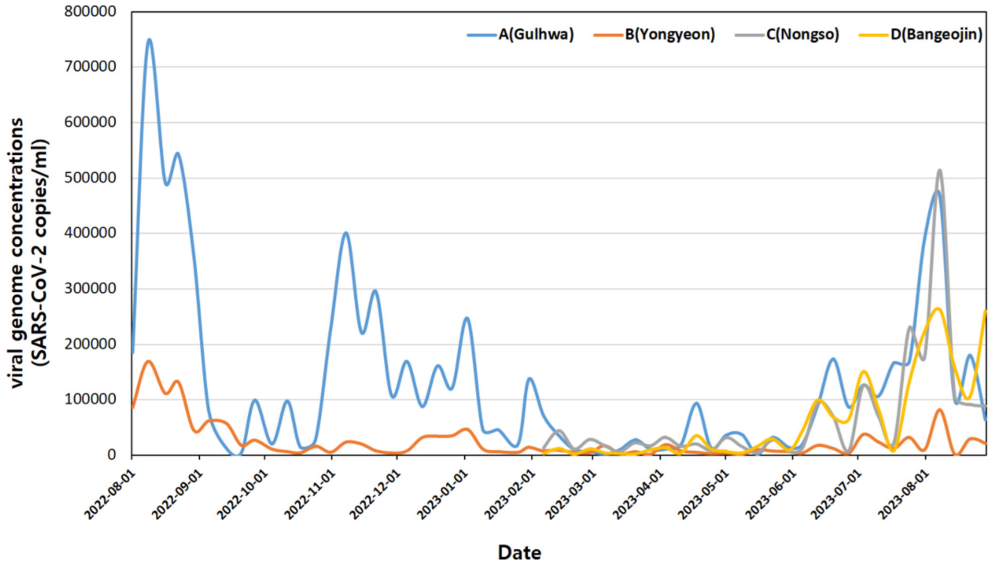

Fig. 2. SARS-CoV-2 viral genome concentrations results by RT-PCR.

Table 2. COVID-19 variants sequencing analysis results by NGS

No.	Date	Lineage	Note
1	2022-08-08	BA.5.2	Probable Omicron (Unassigned)
2	2022-08-22	BA.5.2	Probable Omicron (Unassigned)
3	2022-08-29	BA.5.2	Probable Omicron (Unassigned)
4	2022-09-05	BA.5.2	Probable Omicron (Unassigned)
5	2022-09-13	BA.5.2	Probable Omicron (Unassigned)
6	2022-09-26	BA.5.2	Probable Omicron (Unassigned)
7	2022-10-11	BA.5	Omicron (Unassigned)
8	2022-11-07	BA.5.2	Probable Omicron (Unassigned)
9	2022-12-12	BA.5	Omicron (Unassigned)
10	2022-12-19	BA.2	Omicron (Unassigned)
11	2023-01-02	BA.2	Probable Omicron (Unassigned)
12	2023-01-30	BA.2	Omicron (Unassigned)
13	2023-02-06	BA.2	Omicron (Unassigned)
14	2023-03-20	BA.2.75.6	Omicron (Unassigned)
15	2023-04-17	BA.2	Omicron (Unassigned)
16	2023-05-01	XBB.1.5	Omicron (XBB-like)
17	2023-05-22	XBB.1.22	Omicron (Unassigned)
18	2023-06-19	XBB.1.9.1	Omicron (Unassigned)
19	2023-06-26	XBB.1.5	Omicron (Unassigned)
20	2023-07-03	XBB.1.22	Omicron (Unassigned)
21	2023-07-10	XBB.1.22	Omicron (Unassigned)
22	2023-07-17	XBB.1.9.1	Omicron (Unassigned)
23	2023-07-24	XBB.1.22	Omicron (Unassigned)
24	2023-07-31	XBB.1.9.1	Omicron (Unassigned)
25	2023-08-21	XBB.1.9.1	Probable Omicron (Unassigned)
26	2023-08-28	XBB.1.9.1	Omicron (Unassigned)

라 2021년 말부터 오미크론 계통 변이가 우점종이 되면서 BA.1 유행을 시작으로 BA.2 변이가 2022년 상반기에 대유행하였다[8]. 또한 우리나라에서는 SARS-CoV-2 변이분석 보고일에 따라 주간 변이 바이러스 검사건 중 50% 이상 검출된 주간을 기준으로 우세종화 시기를 구분하였다[9]. 본 연구 기간 중, 전국적인 우세종화별 시기는 오미크론 BA.5 변이 (2022.7.24.-2022.12.31.), 오미크론 BN.1 변이 (2023.1.22.-2023.3.25.), 오미크론 XBB 변이(2023.4.16.-2023.7.31.) 시기로 구분된다[9]. BN.1 변이는 BA.2의 하위종인 BA.2.75 (켄타우로스 변이)에서 파생된 세부변이이다. 이 시기 울산지역 하수 내에서는 BA.2가 주로 분석되었는데, BN.1 변이는 BA.2에서 파생된 하위 변이이므로 BN.1과 BA.2 변이가 검출된 것은 하수와 임상감시의 변이 추세가 비슷하다고 볼 수 있다. 또한 개별로 분석되는 임상검체보다 하수 시료는 지역사회 인구전체를 포함하기 때문에 하수 감시에서 더 포괄적인 유행양상을 볼 수 있다. BA.5와 XBB 유행시기는 전국 임상감시 경향과 동일하게 분석되었다.

하수 내 COVID-19와 확진자 수와의 상관분석

하수 내 코로나바이러스-19 바이러스 농도와 확진자 수와의 상관계수 r값(Pearson Correlation Coefficient, r은 -1에서 1 사이)은 0.914로 분석되었다. 이는 매우 높은 수준의 상관관계로서, 상관계수(r)가 1에 근접하는 산포도를 Fig. 3에 나타내었다. 코로나바이러스-19 농도와 확진자 수는 전반적으로 경향이 비슷했으며 이를 Fig. 4에 나타내었다. 특히 2022년 8월 코로나19 재유행 시기에 하수 내 코로나바이러스 역시 높은 농도를 나타내었다. 2022년 10월 말(2022.10.31)부터 코로나바이러스와 확진자 수가 함께 증가추세를 보이다가 하수 내 코로나바이러스 농도가 급증한 후, 2022년 12월 중순부터 2023년 1월까지 약 한

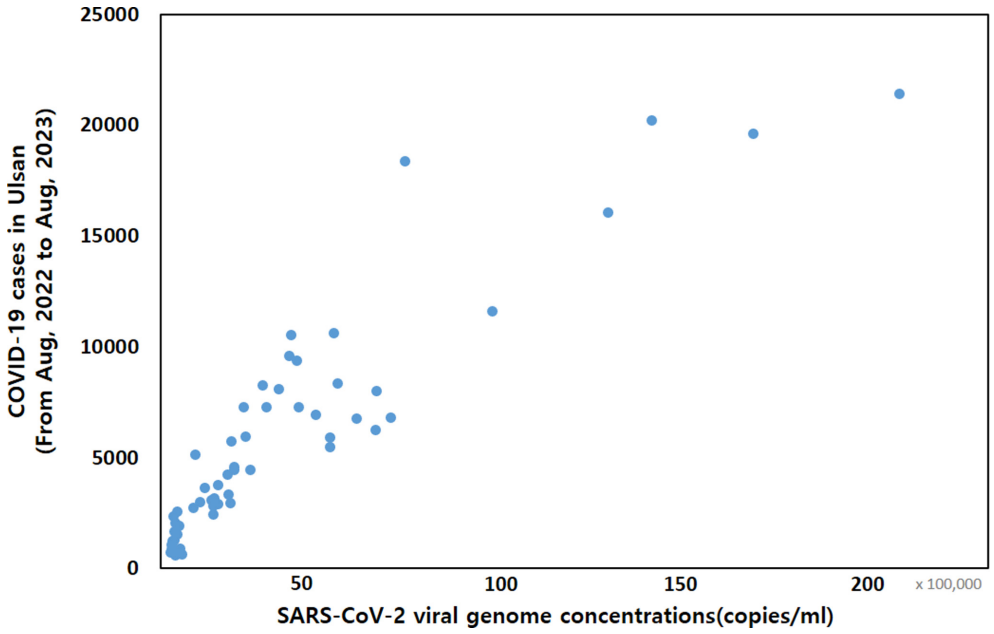

Fig 3. Correlation analysis scatter plot.

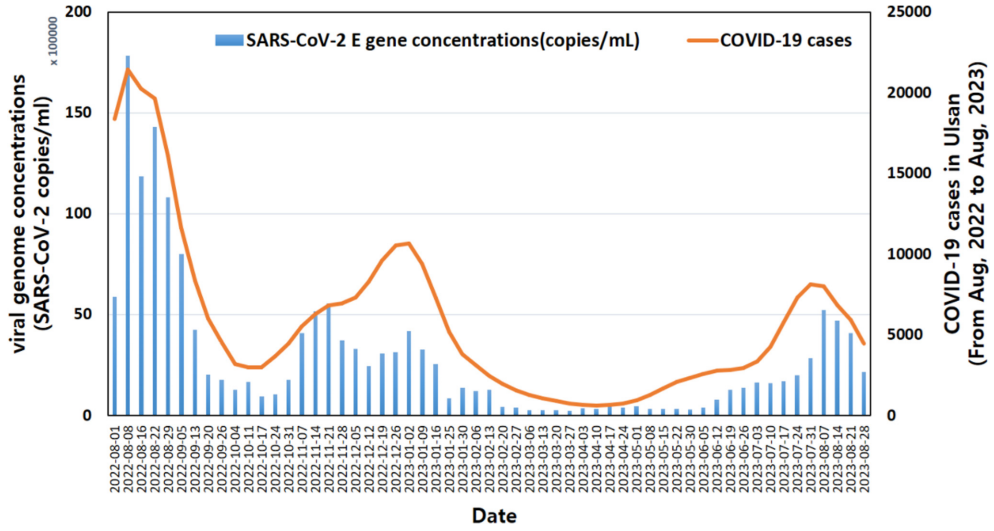

Fig 4. Correlation of SARS-CoV-2 concentrations and COVID-19 cases in Ulsan (‘22.8-’23.8).

달간 확진자가 급증하여 재유행을 예측하였다. 그 후로 점차 바이러스 농도와 확진자 수가 감소 추세에 있다가 2023년 5월부터 하수 내 바이러스 농도가 증가하는 경향을 보여 2023년 여름 재유행을 선제적으로 알 수 있었다. 코로나19의 발생은 점차 증가 추세를 보이며 2023년 7-8월 코로나19 마지막 재유행을 기점으로 표본감시로 전환되었다. 본 연구를 통해 다양한 감염병에 하수감시를 통한 역학조사의 방법이 활용될 수 있는 것을 확인하였으며, 이러한 기법은 식품연구 분야에도 활용되어 마약류 및 식품분석에도 도움을 줄 것으로 사료된다.

국문요약

하수기반역학을 이용한 코로나19 감시 결과, 연구기간(2022년 8월-2023년 8월)동안 울산지역 4곳 하수처리장의 전체 174건 모든 시료에서 코로나바이러스-19가 검출되었다. 확진자 수와 하수 내 코로나바이러스 농도와의 상관분석 결과, 높은 상관성이 나타났으며 특히 하수감시가 임상감시보다 2-3주 앞서 농도가 증가함으로써 조기 인지의 가능성도 볼 수 있었다. 또한 코로나19 변이 분석 결과 역시 유행 시기별 우세종화된 변이와 비교적 유사하여 변이 예측도 가능하였다. 하수감시가 전국적, 전세계적으로 적

용되고 있으며 많은 연구가 국가적 사업으로 진행되고 있다. 이에 따라, 하수 분석방법 및 분석기기 발전 등의 지속적 연구 업데이트가 필요하다. 또한 코로나19를 통해 감염병의 선제적 모니터링 및 유행 예측의 가능성을 확인하였으므로 다양한 병원체 및 식품·의약품 등에 확대 적용이 진행 중이다. 따라서 본 연구는 감염병 검출분야에서 더 나아가 하수 내 식품 성분, 활성물질 및 미생물 등의 분석을 통해 지역사회의 식품안전 및 전반적인 위생환경 감시를 위해 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

Conflict of interests

본 연구는 2023년 질병관리청 위기대응연구담당관에서 주관하는 「새로운 역학감시체계 구축(하수감시)」 연구용역사업의 일환으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

ORCID

Gyeongnam Kim https://orcid.org/0009-0007-7749-057X
Jaesun Choi https://orcid.org/0000-0003-4642-8232
Yeon-Su Lee https://orcid.org/0009-0003-9087-1298
Dae-Kyo Kim https://orcid.org/0000-0001-5761-6955
Junyoung Park https://orcid.org/0009-0002-1007-4065
Young-Min Kim https://orcid.org/0000-0002-9593-1611
Young Sun Choi https://orcid.org/0009-0006-7192-9388

References

1. Lee, E.S., Kim, D.H., Lee, K.H., Lim, S.Y,, A Study on the use of WBE and geographic Information system to monitor the spread of infectious diseases. *J. Korean Soc. Geospatial Inf. Sci.*, **30**, 31-44 (2022).
2. Jho, E.H., Kim, H.I., Choi.Y.J., Youn, Y.H., Lee, D.Y., Kim, G.Y., Wastewater-based epidemiology for the management of community lifestyle and health: An unexplored value of water infrastructure. *J. Korean Soc. Water Wastewater*, **33**, 63-77 (2019).
3. Weidhaas, J., Aanderud, Z.T., Roper, D.K., VanDerslice, J., Gaddis, E.B., Ostermiller, J., Hoffman, K., Jamal, R., Heck, P., Zhang, Y., Torgersen, K., Laan, J.V., LaCross, N., Correlation of SARS-CoV-2 RNA in wastewater with COVID-19 disease burden in sewersheds. *Sci. Total Environ.*, **775**, 145790 (2021).
4. Eggimann, S., Mutzner, L., Wani, O., Schneider, M.Y., Spuhler, D., Moy de Vitry, M., Beutler, P., Maurer, M., The potential of knowing more: a review of data-driven urban water management. *Environ. Sci. Technol.*, **51**, 2538-2553 (2017).
5. Damià Barceló, Wastewater-Based Epidemiology to monitor COVID-19 outbreak: present and future diagnostic methods to be in your radar. *Case Stud. Chem. Environ. Eng.*, **2**, 100042 (2020).
6. Kim, L.H., Mikolaityte, V., Kim, S.P., Establishment of wastewater-based SARS-CoV-2 monitoring system over two years: case studies in South Korea. *J. Environ. Chem. Eng.*, **11**, 110289 (2023).
7. Daughton, C.G., Wastewater surveillance for population-wide Covid-19 = the present and future. *Sci. Total Environ.*, **736**, 139631 (2020).
8. Vitiello, A., La Porta, R., Trama, U., Ferrara, F., Zovi, A., Auti, A.M., Di Domenico, M, Boccellino, M., Advances in the Omicron variant development. *J. Int. Med.*, **292**, 81-90 (2022).
9. Jeong, S.J., An, M.S., Jang, M.J, Choi, S.Y., Choi, Y.J., Jang, J.H., Ryu, B.Y., Park, S.Y., Kim, S.S., Severity of COVID-19 Associated with SARS-CoV-2 variants dominant period in the Republic of Korea. *Public Health Weekly Report*, **16**, 1464-1474(Kor.) / 1475-1487(Eng.) (2023).
10. Korea Disease Control and Prevention Agency (KDCA), (2023, September 1). Accumulated COVID-19 positive cases (total surveillance). Retrieved from https://ncov.kdca.go.kr/pot/cv/trend/dmstc/selectMntrgSttus.do