

## 서울지역 먹는물 공동시설에서 분리한 *Yersinia Enterocolitica*의 특성

먹는물분석팀

전수진 · 최현숙 · 박진아<sup>B</sup> · 김진아 · 박진아<sup>A</sup> · 김현정 · 전재식 · 정 권

### Characteristics of *Yersinia Enterocolitica* Isolated from Spring Water in Seoul

Drinking Water Analysis Team

Su-jin Jeon, Hyun-suk Choi, Jin-a Park<sup>B</sup>, Jin-a Kim, Jin-a Park<sup>A</sup>,  
Hyun-jeong Kim, Jae-sik Jeon and Kweon Jung

#### Abstract

*Yersinia enterocolitica* is a gastrointestinal pathogen that causes yersiniosis, an illness characterized by diarrhea, ileitis, and mesenteric lymphadenitis. *Y. enterocolitica* has been detected in surface water and untreated drinking water is therefore a risk factor for infection. We collected 484 water samples between 2015 and 2016 from spring water in Seoul, Korea, which is considered a major habitat of *Y. enterocolitica*. From 484 spring water samples, 24(5.0%) isolates of *Y. enterocolitica* were obtained by microbial culture. The 24 *Y. enterocolitica* isolates included serotypes O : 5(20.8%), O : 1,2(20.8%), O : 9(16.7%), O : 8(12.5%), O : 3(4.2%), and NT(not typed)(25.0%). The presence of the 16S rDNA gene of *Y. enterocolitica* was confirmed in the genome of isolated strains by PCR. In order to detect the virulence genes, we developed a PCR method using *ail*, *ystA*, and *ystB* genes. All isolates were found to be negative for *ystA* and 12 isolates(50.0%) were positive for *ail* and *ystB*. On PFGE(pulsed-field gel electrophoresis) analysis using *Xba* I, the genetic types of *Y. enterocolitica* from spring water were classified into 4(A to D) patterns by band similarity with an excess of 70%. The PFGE patterns indicate a tendency for genetic diversity in *Y. enterocolitica* in Seoul. Antibiotic resistance tests showed that all strains were resistant to ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, cefalotin, and cefoxitin.

**Key words :** *Yersinia enterocolitica*, Pulsed-field gel electrophoresis(PFGE), Antibiotic resistance

## 서 론

*Yersinia enterocolitica*는 세계 여러 나라에서 세균성 장염의 원인으로서 *Shigella*보다 많이 발생하며 *Salmonella*, *Campylobacter* 만큼 발생되고 있다고 보고되고 있다(1). 최근에는 이 균의 분리율이 점점 증가하는 추세로 다른 장내세균과 달리 가을과 겨울에 가장 많이 분리되는 특징이 있다(2). 식품뿐만 아니라 물은 *Y. enterocolitica* 균의 주요한 서식지로써 국민 보건위생상 매우 중요한 의미가 있다. 미국에서는 음용수로 인한 장염 사례가 보고되었으며(3), 터키에서는 먹는물 공동시설 및 상업용 물 등에서의 *Y. enterocolitica* 오염사례가 있었고, 그 중 먹는물 공동시설에서 가장 많이 분리되었음을 보고하였다(4). 한편, 국내에서도 1994년 먹는물 공동시설의 물을 음용한 소아로부터 *Y. pseudotuberculosis* 균에 의한 급성 위장염 발생이 서울지역에서 보고된 바 있다(5).

*Yersinia* spp.는 그람 음성 통성혐기성 간균으로 장내세균과 속하는 인수공통감염병 원인체 중 하나이다. 대표적인 병원성 균주는 *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* 3종이 알려져 있다(6~8). *Y. enterocolitica*는 1939년 사람에서 최초 분리되었으며 냉장온도에서도 증식 할 수 있는 호저온성 장내병원성 세균으로 냉장식품 또는 물을 통한 식중독의 원인체로 알려지면서 주목을 받게 되었다(9~11). 주로 *Y. enterocolitica*에 의해 발생되는 질병을 Yersiniosis라 하는데 유럽에서는 Campylobacteriosis, Salmonellosis와 함께 장질환을 유발시키는 3대 중요한 식중독으로 알려져 있다(12). 자연계에 널리 분포하는 *Y. enterocolitica*는 생태학적, 지리학적 분포, 생화학적, 항원 특성 및 염색체와 플라스미드에 존재하는 유전자의 상호작용에 따라 병원성이 차이가 난다(13~14). 모든 *Y. enterocolitica*가 병원성을 가지고 있는 것이 아니라 오히려 비병원성인 것�이 더 많으므로 이 균의 병원성 확인은 매우 중요하며 많은 연구가 진행되어 왔다(15). 최근 병원성 *Y. enterocolitica*의 신속한 동정을 위하여 PCR기법이 이용되고 있는데 chromosomal *ail*(attachment invasion locus)과 virulence에 관계된 chromo-

somal *yst*(heat-stable enterotoxin) gene들은 병원성 균주에만 존재하는 특이유전자로써 신속하고 정확한 병원성 균주를 검출하기 위한 매우 효과적인 방법이라 볼 수 있다(16~17). 표적유전자인 *ail*(attachment invasion locus)은 숙주세포 안으로 침습하는 첫번째 역할을 하는 유전자이며, *yst*(heat-stable enterotoxin)gene은 Yersiniosis의 diarrhea에 관계하는 유전자로 알려져 있다(18~19).

본 연구에서는 서울시 먹는물 공동시설에서 *Y. enterocolitica*의 지역적 분포특성을 조사하고, 분리된 균주들의 병원성 유전자의 존재유무, 항생제 내성 경향, 균주간의 유전학적 상호 연관성을 살펴봄으로써, 먹는물 공동시설로부터의 Yersiniosis을 차단하고 집단발병의 감염경로 추적과 효과적인 예방을 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료채취

2015년부터 2016년까지의 서울시 소재 25개 자치구내 먹는물 공동시설(약수터) 266개소를 대상으로 총 484건에 대하여 *Yersinia* spp. 검출 실험을 실시하였다.

### 2. 균주의 분리 및 동정

*Yersinia* spp. 균주 분리는 먹는물 수질기준 관련규정집(20), A.P.H.A의 Standard method 및 Edward and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae(7)에 준하여 실시하였다. 채취시료 2 L를 여과지(membrane filter, 0.45 μm pore size)를 통과시킨 후 여과지에 0.288% KOH 용액 20~30 mL를 통과시켜 30초간 알칼리 처리 후 이 여과지를 *Yersinia Selective Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin(CIN)* agar(Difco, USA) 배지에 옮려놓고 25°C에서 48시간 배양한 후 전형적인 집락(집락 중앙이 짙은 적색을 띠고 집락주위가 투명한 일명 bull's eye 형태)을 선별하여 Brain Heart Infusion Agar(Difco, USA)에 계대배양하여 *Yersinia* spp.의 동정시험을 실시하

였다. 생화학적 실험에서 *Yersinia* spp.의 전형적인 반응은 Triple Sugar Iron(TSI) agar(Difco, USA)에 접종하여 37°C 24시간 배양하였을 때 밑면과 사면이 황변하고 가스 및 황화수소를 발생하지 않는다. 추가적으로 urease 양성과 citrate 음성을 나타내는 *Yersinia* spp.의 추정균주를 선택하여 장내세균 진단용 Kit인 API 20E(BioMerieux, France)를 사용하여 *Yersinia* spp.를 확인·동정하였다(21).

### 3. 분리균주의 혈청학적 동정

분리된 *Y. enterocolitica* 시험균주를 다시 Brain Heart Infusion Agar(Difco, USA)배지에서 배양 후, rapid slide agglutination test로 수행하였으며 *Y. enterocolitica* antisera(Denka Seiken, Japan)는 type 1·2, type 3, type 5, type 8, type 9를 사용하여 혈청형을 확인하였다.

### 4. PCR(Polymerase chain reaction)에 의한 병원성 유전자 검출

병원성 *Y. enterocolitica* 균주를 검출하기 위해 chromosome에 위치한 병원성 관련 유전자로 *ail* (attachment invasion locus)gene과 *yst*(heat-stable enterotoxin)gene, 그리고 *Yersinia* spp.을 감별할 수 있는 subgenus-specific primer인

*Y16S* gene을 사용하였다(표 1). 가열법으로 추출한 DNA를 GeNeT Bio premix(Genet Bio, Korea)를 사용하여 94°C에서 1분간 denaturation, 56°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분 30초간 extension과정을 35 cycle 실시하였으며, 최종 cycle의 extension은 10분으로 하였다. 이 PCR산물을 1.5% agarose gel을 이용하여 25분간 전기영동한 후 병원성 유전자의 증폭유무를 확인하였다. 대조균주인 표준균주 *Y. enterocolitica* ATCC 27729와의 비교를 통해 병원성 유전자의 유무를 확인하였다.

### 5. Pulsed field gel electrophoresis(PFGE)

TSA 한천배지에서 37°C, 24시간 배양한 실험균주를 cell suspension-용 TE buffer(100 mM Tris, 100 mM EDTA, pH 7.5)에 혼탁하여 탁도를 15% 정도로 조정한 후, 균 혼탁액 200 µl에 1.2% agarose solution을 동량 첨가하여 plug mold에서 4°C, 5분간 성형시켰다. Proteinase K(20 mg/ml stock) 40 µl와 ES buffer 1.5 ml의 혼합액에 굳힌 plug을 넣어서 55°C 진탕 항온수조에서 1시간 동안 처리한 후, 55°C의 멸균증류수로 15분간 1회, 55°C의 Plug Wash TE buffer로 30분간 5회 세척하였다. 세척이 끝난 plug를 1 mm 두께로 자른 다음, 50 Unit *Xba* I (Takara, 15 Unit/µl)가 첨가된 반응 혼합액에 넣어 37°C 항

**Table 1.** Primers used in this study for the detection of pathogenic *Y. enterocolitica*

Target gene & primer direction		Sequence(5'→3')	Product size(bp)
Subgenus specific-primer(Y16s)	Forward	GCGGCAGCGGGAAAGTAGTTA	749
	Reverse	TACAGCGTGGACTACCAGGGT	
<i>ail</i>	Forward	TAATGTGTACGCTGCGAG	351
	Reverse	GACGTCTTACTTGCAGTG	
<i>ystA</i>	Forward	ATCGACACCAATAACCGCTGAG	79
	Reverse	CCAATCACTACTGACTTCGGCT	
<i>ystB</i>	Forward	GTACATTAGGCCAACAGAGACG	146
	Reverse	GCAACATACCTCACACACC	

온수조에서 4시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 plug를 gel 성형용 comb에 위치시킨 다음, 1% agarose를 gel 성형틀에 부어 굳힌 다음 CHEF Mapper PFGE system(BioRad, USA)를 이용하여 Two block으로 실시하였다. 1st block은 initial time 2초, final time 10초의 조건으로 14°C에서 13시간 동안 전기영동을 실시하였으며, 2nd block은 initial time 2초, final time 10초에서 6시간 수행하였다. gradient 6.0 V/cm, included angle은 각각 60°와 -60°에서 실시하였다. EtBr(0.5 µg/mL) 용액에서 gel을 20분간 염색한 후, 증류수로 탈색과정을 거친 다음 transilluminator를 이용하여 밴드를 확인하였다. PFGE 결과 분석을 위하여 BioNumerics software(Applied Maths, Belgium) version 3.5를 이용하여 dendrogram을 작성하였다(22).

## 6. 항생제 감수성 시험

항생제 내성 유형을 파악하기 위한 항생제 감수성 실험은 VITEK System에 의한 최소억제농도 (Minimum Inhibitory Concentration : MIC)를 이용하였다. 실험방법으로는 실험균주를 TSA 한 천배지에서 37°C, 24시간 배양한 후 단일 접락을 벌균된 0.45% NaCl 3 ml에 부유한 후, VITEK colorimeter에서 최종 탁도를 0.6 McFarland barium sulfate turbidity standard에 맞추고 교반기로 2~3초 동안 교반한 다음 이 부유액을 취하여 VITEK AST-N169 card에 접종하였다. 그리고 VITEK System에서 요구하는 방법 및 기준에 따라 MIC를 측정하였다. MIC의 측정은 penicillin계 ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin/sulbactam, cephalosporin계 cefalotin, cefazolin, cefotetan, cefoxitin, cefotaxime, ceftriaxone, carbapenem계 imipenem, aminoglycoside계 amikacin, gentamicin, quinolone계 nalidixic acid, ciprofloxacin, tetracycline계 tetracycline, sulfar계 trimethoprim/sulfamethoxazole, 그 외 chloramphenicol 등 17종의 항생물질을 사용하였다.

결과

## 1. 먹는물 공동시설 중 *Yersinia* spp. 검출결과

배양 및 PCR법을 이용하여 2015년부터 2016년 까지 채취한 시료 484건에 대하여 *Yersinia* spp. 확인검사를 실시한 결과 2015년 19건(7.5%), 2016년 19건(8.3%)이 검출되어 평균 검출율은 7.9%를 나타내었다. 분리된 *Yersinia* spp. 균종은 각각 *Yersinia enterocolitica* 24건(63.2%), *Yersinia frederiksenii* 13건(34.2%), *Yersinia pseudotuberculosis* 1건(2.6%)이었다. 분리된 24주의 *Y. enterocolitica*의 지역적 분포를 살펴보면, 노원구 6주, 강남구 6주, 관악구 5주, 북한산 국립공원 4주 등으로 서울의 강북지역과 강남지역 구분없이 골고루 분포되어 검출되었다(그림 1).

## 2. 분리군주의 혈청형

2015년부터 2016년까지 먹는물 공동시설에서 분리된 24주의 *Y. enterocolitica* 혈청형을 조사한 결과, O:5형과 O:1,2형이 20.8%로 가장 많이 나타났고, 그 다음으로는 O:9(16.7%), O:8(12.5%), O:3(4.2%) 순으로 검출되었으며, 나머지 6주(25.0%)는 NT(not typed)로 나타났다(표 2).

### 3. *Yersinia enterocolitica*의 병원성 유전자 검사

*Yersinia* spp.을 감별할 수 있는 subgenus-specific

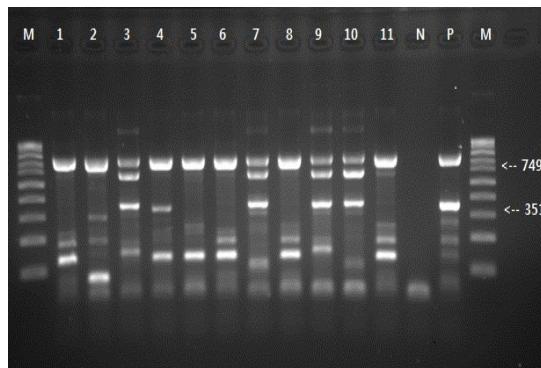


**Fig. 1.** Regional distribution of *Y. enterocolitica* isolated from spring water in Seoul.

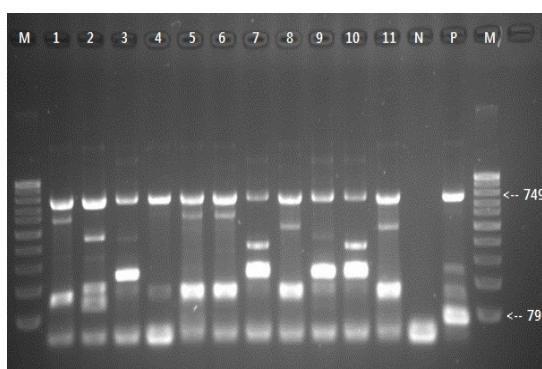
primer인 Y16S rDNA gene을 사용하여 *Y. enterocolitica*를 확인한 후 분리된 24주에 대해 병원성 유전자인 *ail*, *ystA*, *ystB*의 확인시험을 한 결과 *ail* 유전자, *ystB* 유전자 모두 12주 (50.0%) 검출되었고, *ystA* 유전자는 검출되지 않았다(그림 2~4).

#### 4. *Yersinia enterocolitica*의 PFGE 패턴 분석

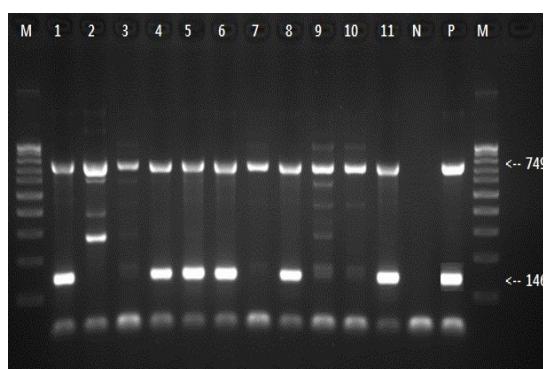
*Y. enterocolitica*로 분리 동정된 24주에 대해 PFGE를 실시하였다. Bushrieser 등(23)이 제시한 *Y. enterocolitica* PFGE 실험 시 fragment가 다수 형성되어 분석하기가 어려운 문제가 발생함으로 12~15개의 커다란 뱀드만을 판독한다는 방법에 따라 PFGE pattern을 dendrogram으로 나타낸 분석 결과, 70% 이상의 상동성을 기준으로 A~D까지 4개의 유형으로 분류되었다(그림 5).



**Fig. 2.** Gel electrophoresis of PCR products of *ail* gene(351 bp) and 16S rDNA (749 bp) on 1.5% agarose gel. M : 100 bp DNA ladder, Lane 1~11 : *Y. enterocolitica* strain isolated from spring water, P : *Y. enterocolitica* ATCC 27729, N : Negative.



**Fig. 3.** Gel electrophoresis of PCR products of *ystA* gene(79 bp) and 16S rDNA (749 bp) on 1.5% agarose gel. M : 100 bp DNA ladder, Lane 1~11 : *Y. enterocolitica* strain isolated from spring water, P : *Y. enterocolitica* ATCC 27729, N : Negative



**Fig. 4.** Gel electrophoresis of PCR products of *ystB* gene(146 bp) and 16S rDNA (749 bp) on 1.5% agarose gel. M : 100 bp DNA ladder, Lane 1~11 : *Y. enterocolitica* strain isolated from spring water, P : *Y. enterocolitica* ATCC 27729, N : Negative.

**Table 2.** Distribution of serotypes of *Y. enterocolitica* isolated from spring water in Seoul

No. of strains tested	Serotype(%)					
	O : 1,2	O : 3	O : 5	O : 8	O : 9	not typed
24	5 (20.8)	1 (4.2)	5 (20.8)	3 (12.5)	4 (16.7)	6 (25.0)

이를 다시 85% 이상의 상동성을 기준으로 A유형은 A1~A2, B유형은 B1~B6, C유형은 C1~C4 subtype으로 D유형은 D1 subtype으로 분류한 결과, B유형과 C유형이 83.3%로 많은 부분을 차지하였다.

### 5. 항생제 감수성 검사 결과

Vitek 자동 분석기를 사용하여 각각의 항생제에 대한 MIC를 측정한 결과 carbapenem계 imipenem, aminoglycoside계 amikacin, gentamicin,

quinolone계 nalidixic acid, ciprofloxacin, tetracycline계 tetracycline, sulfar계 trimethoprim /sulfamethoxazole, cephalosporin계 cefotetan, cefotaxime, ceftriaxone 그리고 chloramphenicol에 24주 모두 높은 감수성을 나타내었고, penicillin 계 ampicillin, amoxillin/clavulanic acid, cephalosporin계 cefalotin, cefoxitin, cefazolin의 항생제에는 24주 모두 높은 내성을 나타냈다. ampicillin/sulbactam, chloramphenicol에는 중등의 저항성을 나타내었다. 다제내성 양상을 살펴

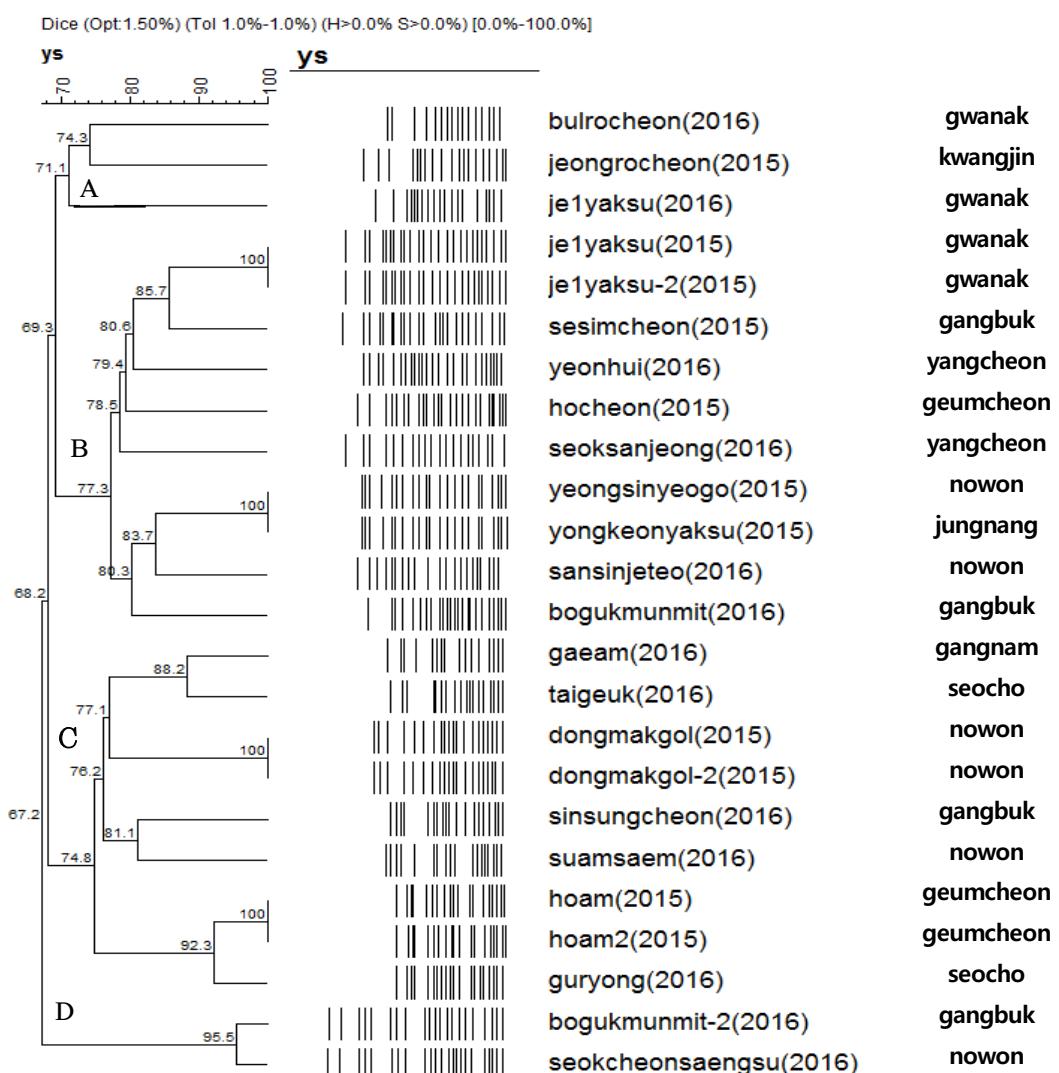


Fig. 5. Dendrogram showing the clustering of PFGE patterns of isolated strains of *Y. enterocolitica* after Xba I digestion from spring water in Seoul.

보면 AM-AMC-CF-CFZ-CXT에 내성을 보인 군 주는 10주(41.7%)였고, AM-AMC-CF-CXT는 7 주(29.2%), AM-AMC-SAM-CF-CFZ-CXT는 5 주(20.8%), AM-AMC-SAM-CF-CXT-CHL 2주(8.3%)에서 다제내성을 나타내었다(표 3).

## 고 찰

*Yersinia enterocolitica*의 오염 가능성이 있는 수계환경에 대하여 오염여부를 조사하여 효율적인 소독 및 관리방안을 제시하고 분리된 *Y. enterocolitica*에 대한 유전자 유형을 분석하여 환자 발생 시 비교 가능한 데이터를 확보하는 것은 예방관리에 있어 중요한 일이라 생각된다. 이에 본 연구에서는 2015년, 2016년 서울지역 먹는물 공동시설 총 484건에 대한 검출실험을 실시한 결과 24건의 *Y. enterocolitica*가 검출되어 5.0%의 검출율을 나타내었다. 국내의 *Y. enterocolitica* 검출결과와 비교해 보면 Hwang 등(24)이 2003-

2004년 서울지역 약수에서 분리한 검출율 4.1%, Lim 등(25)이 2000년 냉동식품에서 분리한 *Y. enterocolitica* 검출율 5.6%, Yeo 등(26)이 2015년 서울지역 유통식육에서 분리한 검출율 6.1%로 보고되고 있어 본 연구와 비슷한 결과로 나타나 지난 10년 전의 먹는물 공동시설의 *Y. enterocolitica* 검출율과 변화가 없었으며, 냉동식품과 유통식육에서 분리한 *Y. enterocolitica* 검출율과도 비슷한 결과를 보여 *Y. enterocolitica*이 거의 모든 환경에서 비슷하게 분포되고 있는 것으로 추론할 수 있다. *Y. enterocolitica*는 세균성 장염의 원인중의 하나로 야생동물(27), 돼지, 소, 닭 등의 가축(28), 식육(29), 야채류(30) 등의 식품 및 하천수, 지표수 등 수계환경 중에 널리 분포되어 있는 것을 알 수 있으므로 다양한 서식지로부터의 *Y. enterocolitica*의 분포를 지속적으로 조사하여 미생물학적 안정성을 확보해야 한다.

*Y. enterocolitica*의 혈청형은 현재 51종의 O항원, 19종의 H항원, 6종의 K항원이 있고 그 조합에 따라 다수의 혈청형으로 분류된다(31). 유

**Table 3. Antibiotic susceptibilities of *Y. enterocolitica* strain isolated from spring water in Seoul**

Antibiotics	No.(%)of susceptible strains(Total=24)			Antibiotics	No.(%)of susceptible strains(Total=24)		
	S	I	R		S	I	R
Ampicillin(AM)	0(0)	0(0)	24(100)	Ceftriaxone(CRO)	24(100)	0(0)	0(0)
Amoxicillin /Clavulanic Acid(AMC)	0(0)	0(0)	24(100)	Imipenem(IPM)	24(100)	0(0)	0(0)
Ampicillin /Sulbactam(SAM)	2(8.3)	15(62.5)	7(29.2)	Amikacin(AMK)	24(100)	0(0)	0(0)
Cefalotin(CF)	0(0)	0(0)	24(100)	Gentamicin(GM)	24(100)	0(0)	0(0)
Cefazolin(CFZ)	0(0)	9(37.5)	15(62.5)	Nalidixic Acid(NAL)	24(100)	0(0)	0(0)
Cefotetan(CTT)	24(100)	0(0)	0(0)	Ciprofloxacin(CIP)	24(100)	0(0)	0(0)
Cefoxitin(CXT)	0(0)	0(0)	24(100)	Tetracycline(TET)	24(100)	0(0)	0(0)
Cefotaxime(CTX)	24(100)	0(0)	0(0)	Chloramphenicol(CHL)	3(12.5)	19(79.2)	2(8.3)
				Trimethoprim /Sulfamethoxazole(SXT)	24(100)	0(0)	0(0)

S : Sensitive, I : Intermediate, R : Resistant

럽, 캐나다, 일본에서는 혈청형 O:3가 많이 분리되고, 네덜란드에서는 혈청형 O:9, 그리고 미국에서는 O:5 및 O:8이 빈번하게 분리되고 있다(32). 본 연구에서는 O:5 및 O:1, 2가 주로 분포하는 것으로 조사되었다. 이 결과는 Lee 등(33)이 1994~1999년 서울 근교 약수물에서 분리한 군에서 혈청형 O:3(33.8%)가 많이 분리되었다는 보고와는 다소 차이를 보였으나, Lim 등(25)이 2000년 냉동식품에서 분리한 *Y. enterocolitica*에서 혈청형 O:5(16.7%)이 많이 분리되었다는 보고, Lee 등(34)이 2000년 강원도내 먹는물 공동시설에서 분리한 *Y. enterocolitica*에서의 혈청형 O:5(12.9%)이 다수 분리되었다는 보고, Yeo 등(26)이 2015년 서울지역 유통식육에서 분리한 *Y. enterocolitica*에서 혈청형 O:5(44.9%)이 분리되었다는 보고와는 비슷한 혈청형 분포를 나타내었다. 일반적으로 혈청형 O:1, 2와 O:5는 비병원성 혈청형으로 알려져 있지만(35~36), 아르헨티나의 냉동 대구류에서 분리된 12개의 군주 중 혈청형 O:5인 2개의 군주가 병원성을 나타냈다는 보고(37)도 있어 혈청형만으로 병원성을 판단하기에는 문제점이 있으므로 serotyping 이외에 병원성 확인실험이 필요하다.

*Y. enterocolitica*의 병원성 여부를 확인하기 위하여 병원성 유전자를 이용한 PCR(Polymerase Chain Reaction)을 수행하였다. 본 실험에서는 *Yersinia* spp.을 감별할 수 있는 subgenus-specific primer인 Y16S rDNA gene과 chromosome에 위치하고 속주 특이성과 선택성이 높은 ail, ystA, ystB primer를 사용하였다. 분리군주들에 대한 PCR실험결과 Y16S rDNA가 모두 검출되었으며 ail, ystB 각각의 검출율은 50%를 나타냈으며, ystA는 검출되지 않았다. Hwang 등(24)이 2003~2004년 서울지역 약수에서 분리한 *Y. enterocolitica* 42주에 대한 검사 결과 모두 음성으로 보고된 것과는 차이를 보였으나 Kim 등(38)이 서울시 약수에서 분리한 *Y. pseudotuberculosis* 9주에 대한 병원성 유전자 검출 결과 모두 양성으로 보고하였고, Yeo 등(26)이 2015년 서울 지역 유통식육에서 분리한 *Y. enterocolitica*의 병원성 유전자 검출 실험에서는 33.3%의 검출율을

나타낸 것과는 비슷한 결과였다. 이는 분리된 *Y. enterocolitica*에 대한 병원성 유전자 검출율이 증가하는 것을 볼 수 있으므로 정확한 병원성 확인을 위해 PCR 등의 분자생물학적 방법을 함께 사용하는 것이 효율적이라 생각된다.

*Y. enterocolitica*로 확인된 24주를 대상으로 분자생물학적 유연관계를 알아보고자 PFGE(pulsed-field gel electrophoresis)를 실시한 결과 85% 이상의 상동성을 기준으로 A유형은 A1~A2, B유형은 B1~B6, C유형은 C1~C4 subtype으로 D유형은 D1 subtype으로 분류되었다. B유형과 C유형이 83.3%로 많은 부분을 차지하였다. 분석결과 2015년 동일지역 예를 들면 관악구, 노원구, 금천구 먹는물 공동시설의 경우 같은 유전자 유형을 볼 수 있었다. 그러나 관악의 경우 2015년과 2016년의 각각의 유전자형이 낮은 상동성을 나타내고 있어 다른 유래 군주에 의한 감염이거나 *Y. enterocolitica*가 유전적으로 다양하게 분화되어 감을 추측할 수 있다. 노원구와 중랑구, 강북구와 노원구, 서초구와 강남구, 서초구와 금천구간 높은 유연관계를 나타내고 있어 한강을 사이에 두고 인근 지역간의 상동성이 높은 것을 확인할 수 있었으며(그림 5) 같은 유래 군주에 의한 감염임을 알 수 있었다. 앞으로의 연구에서도 시대적, 지역적으로 지속적인 자료 축적이 필요할 것으로 생각된다.

분리된 *Y. enterocolitica*의 24주에 대한 17종의 항생제 감수성 실험 결과 penicillin계 ampicillin, amoxillin/clavulanic acid, cephalosporin계 cefalotin, cefoxitin, cefazolin의 항생제에 높은 내성을 나타내었다. Hwang 등(24)이 2003~2004년 서울지역 약수에서 분리한 *Y. enterocolitica*에서의 ampicillin(81%), cefalotin(86%)의 항생제 내성을 보고하였고, Lee 등(34)이 강원도내 먹는물 공동시설에서 분리한 *Y. enterocolitica*의 ampicillin(70%), cefalotin(70%)과도 비슷한 유형을 나타내었다. 또한 4제 내성균 7주(29.2%), 5제 내성균 10주(41.7%), 6제 내성균 7주(29.2%) 등으로 높은 다제내성을 나타냈다. 항생물질의 환경으로의 유출은 주로 체내에 투여된 항생물질 중 일부가 그대로 또는 생체내에서 대사체로 변환

되어 소변이나 대변으로 지표수 중으로 배설되어 진다. 점차 증가되고 있는 항생제 사용에 의해 미생물의 항생제 내성을 높아지는 경향이 있다고 보고되고 있으므로 항생제 내성조사의 지속적인 연구가 필요하다.

*Y. enterocolitica*은 인수공통감염병 세균으로 환경계에 존재하며 기회감염을 일으킨다. 이번 연구에서는 먹는물 공동시설로부터의 *Yersiniosis*의 집단적인 발생을 차단하기 위하여 지역적 분포특성을 조사하고, 분리된 군주들의 병원성 유전자의 확인, 항생제 내성 경향, 군주간의 유전학적 상호연관성 결과를 데이터베이스화하여 감염원과 감염 경로의 파악 및 대책수립에 유용한 자료를 제공할 수 있을 것이다.

## 결 론

2015년부터 2016년까지의 서울시 소재 25개 자치구내 먹는물 공동시설(약수터) 266개소를 대상으로 총 484건에 대하여 분리된 *Y. enterocolitica*에 대해 혈청형 검사, 병원성 유전자 확인검사, PFGE 분석, 항생제 감수성 검사를 실시하였다.

1. 2015년부터 2016년까지 채취한 시료 484건에 대하여 *Yersinia* spp. 확인검사를 실시한 결과 2015년 19건(7.5%), 2016년 19건(8.3%)이 검출되어 평균 검출율은 7.9%를 나타내었고 그 중 24건의 *Y. enterocolitica* 이 검출되어 5.0%의 검출율을 나타내었다.
2. 분리동정된 *Y. enterocolitica*의 혈청형 분포는 O:5형과 O:1, 2형이 20.8%로 가장 많이 나타났고, O:9(16.7%), O:8(12.5%), O:3(4.2%)순으로 검출되었다.
3. 분리된 *Y. enterocolitica* 24주에 대해 병원성 유전자인 *ail*, *ystA*, *ystB*의 확인시험을 한 결과 *ail* 유전자, *ystB* 유전자 모두 12주(50.0%) 검출되었고, *ystA* 유전자는 검출되지 않았다.
4. PFGE 분석을 한 결과 85% 이상의 상동성을 기준으로 A유형은 A1~A2, B유형은 B1~B6, C유형은 C1~C4 subtype으로 D유형은 D1 subtype으로 분류되었다.

5. *Y. enterocolitica* 24주는 penicillin계 ampicillin, amoxillin/clavulanic acid, cephalosporin계 cefalotin, cefoxitin, cefazolin의 항생제에 모두 높은 내성을 나타냈다.

## 참고문헌

1. Cover, TL and Aber, RC : Medical progress-*Yersinia enterocolitica*. N. Eng. J. Med., 321:16~24, 1989.
2. Kapperud, G : *Yersinia enterocolitica* in food hygiene. Int. J. Food Microbiol., 12:53~65, 1991.
3. AktugGonul, S and Karapmar, M : The microbiological quality of drinking water supplier of Izmir city. Int. J. Food Microbiol., 13:69~72, 1991.
4. Highsmith, AK, Feeley, JC, Skaliy, P, Wells, JG and Wood, BT : Isolation of *Yersinia enterocolitica* from well water and growth in distilled water. Appl. Environ. Microbiol., 34:745~748, 1977.
5. Joo, HJ, Chung, KH, Kim, YM, Kim, SG, Park, MS, Chang, JK and Shin, SW : An outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis*. J Korean Ped. Assoc., 33:341~350, 1990.
6. Noel, RK and John, GH : Genus *Yersinia* in Bergey's manual of Systematic Bacteriology. Baltimore, 1:498~506, 1984.
7. Edward, Ewing's : The Genus *Yersinia*. Identification of enterobacteriaceae, 4th ed., 19:461~478, 1986.
8. Koneman, EW, Allen, SD, Janda, WM, Schreckenberger, PC and Winn, WC : Color atlas and textbook of microbiology. 3th ed., Lippincott Co., Philadelphia, USA, 1992.

9. Schiemann, DA : *Y.enterocolitica* and *Y.pseudotuberculosis*. In Foodborne Bacterial Pathogens, 1st ed., Marcel Dekker, New York, 1989.
10. Stern, NJ, Pierson, MD, Kotula, AW : Effects of pH and sodium chloride on *Y.enterocolitica* growth at room and refrigeration temperatures. *J. Food Sci.*, 45:64~67, 1980.
11. Swaminathan, B, Harmon, MC and Mehlman, IJ : A review of *Yersinia enterocolitica*. *J. Appl. Bacteriol.*, 52: 151~154, 1982.
12. European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. EFSA Journal, 10:1~442, 2012.
13. Bercovier, H, Brenner, DJ, Ursing, J, Steigerwalt, AG, Fanning, GR, Alonso JM, et al: Characterization of *Yersinia enterocolitica* sensu stricto. *Curr. Microbiol.*, 4:201~206, 1980.09
14. Cornelis, GR : Yersinia pathogenicity factors. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 192:243~263, 1994.
15. Cornelis, GR, Boland, A, Boyd, AP, Genuijen, C, Iriarte, M, et al: The virulence plasmid of *Yersinia*: an antihost genome. *Micro Mol Biol Rev*, 62:1315~1352, 1998.
16. Harnett, N, Lin, YP and Krishnan, C : Detection of *Yersinia enterocolitica* using the multiplex polymerase chain reaction. *Epidemiol. Infect*, 117:59~67, 1996.
17. Thoerner P, et al : PCR detection of virulence genes in *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* and investigation of virulence gene distribution. *App. Env. Microbiol.*, 69:1810~1816, 2003.
18. Peirson, DE and Falkow, S : Nonpathogenic isolates of *Yersinia enterocolitica* do not contain functional inv-homologous sequences. *Infect Immun.* Apr., 58:1059~1064, 1990.
19. Miller, VL and Falkow, S : Evidence for two genetic loci in *Yersinia enterocolitica* that can promote invasion of epithelial cells. *Infect Immun.*, 56: 1242~1248, 1988.
20. Ministry of Environment : Rules on drinking water quality standards and inspections, 138, 2002.
21. BioMerieux: Analytical profile index 3rd ed., 1995.
22. Tenover, FC, Arbeit, RD, Goering, RV, Mickelsen, PA, Murray, BE, Persing, DH, et al : Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol*, 33:2233~2239, 1995.
23. Buchrieser, C, Weagant, SD and Kaspar, CW : Molecular characterization of *Yersinia enterocolitica* by pulsed field gel electrophoresis and hybridization of DNA fragments to ail and pyV probes. *Appl Environ Microbiol*, 60:4371~4379, 1994.
24. Hwang, KH, Lee, SD, Han, CH, Jin, YH, Choi, SJ, et al : Virulence and antibiotic resistance of *Yersinia enterocolitica* isolates from spring water in seoul. The report of Seoul Institute of Health and Environment, 40:265~272, 2004.
25. Lim, SY and Yoon, SK : Characteristics of *Yersinia enterocolitica* isolated from frozen foods. *Korean J. Food Sci.*

- Technol., 32:1336~1340, 2000.
26. Yeo, JM, Kim, JY, Yang, YM, Son, JW, Choi, TS and Lee, JH : Identification and characterization of *Yersinia enterocolitica* isolated from raw meat in markets of seoul. The report of Seoul Institute of Health and Environment, 51:116~126, 2015.
  27. Park, SG, Youn, ES and Kim, EJ : Biotype, serotype and antibiotics susceptibility of *Yersinia enterocolitica* isolated from zoo animals. Korean J. Vet. Res., 34:85~91, 1994.
  28. Choi, CS, Park, SG, Youn, YD, Chung, SI and Yang, YT : *Yersinia* species and serogroups and biotypes of *Yersinia enterocolitica* isolate from animals(pigs and dogs) in korea. J. Korean Soc. Microbiol., 25:1~8, 1990.
  29. Lim, SY, Lee, DH, Park, SH and Kim, CM : Characteristics of *Yersinia enterocolitica* isolated from foods. Korean J. Food Sci. Technol., 31:183~188, 1999.
  30. Tassinari, A, Franco, BDG and Landgraf, M : Incidence of *Yersinia* spp. in foog in Sao Paulo, Brazil. Int. J. Food Microbiol., 21:262~270, 1994.
  31. Bottom, EJ and Sheehan, DJ : *Yersinia enterocolitica*, guidelines for serologic diagnosis of human infections. Rev Infect. Dis., 5:898~906, 1983.
  32. Kapperud, G and Bergan, T : Biochemical and serological characterization of *Yersinia enterocolitica* in Bergen. Methods Microbiol., 15:295~302, 1984.
  33. Lee, YK, Choi, SM, Oh, SK and Shin, JY : Comparison of biotyping, serotyping and molecular typing of *Yersinia enterocolitica* isolated from spring water in seoul. Korean J. San., 14:99~109, 1999.
  34. Lee, TS, Park, BK and Oh, DH : Isolation and characteristics of *Yersinia* spp. from mineral spring waters. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 30:796~801, 2001.
  35. Choi, CS, Kim, KO, Chung, SI and Yang, YT : Species identification of *Yersiniae* isolated faeces of patients with acute gastroenteritis and serogroup and biotype of *Yersinia enterocolitica*. J.Korean Soc. Microbiol., 24:143~153, 1989.
  36. Brunens, AP, Frey, A and Nicolet, J : Association between clinical presentation biogroups and virulence attribue of *Yersinia enterocolitica* strains in human diarrhoeal disease. Epidemiol. Infect., 116:27~34, 1996.
  37. Velazquez, LC, Cudero, ME and Guaman, AMS : Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in hake fillets. J. Food Prot., 59:781~783, 1996.
  38. Kim, MS, Lee, YK, Kim, KS, Han, CH, Hwang, YS, et al : Distribution of pathogenic genes and molecular typing of *Yersinia pseudotuberculosis* isolated from spring water in seoul. The report of Seoul Institute of Health and Environment, 39:260~268, 2003.