

서울 북부 지역 옹달샘에서 분리한 *Yersinia* 속균에 관한 연구

변신철 · 노우섭*

서울시 보건환경연구원, *한국식품위생연구원

A study on the *Yersinia* Isolated from Spring Water in Northern Area of Seoul

Shin Cheol Byun and Woo Sup Roh*

Public Health and Environment Institute of Seoul, Seoul 137-130, Korea

*Korea Institute of Food Hygiene, Seoul 156-050, Korea

ABSTRACT

This study was performed to investigate the distribution of *Yersiniae* and correlation between *Yersiniae* and indicator organism by time and area in spring water located in northern part of Seoul. Samples collected from 46 spring waters located in four mountains(Dobong, Bukhan, Surak, Bulam) were inspected to detect *Yersiniae* and indicator organisms. And also there were examined bioserological characteristics and resistance of antibiotics of the isolated *Yersiniae*.

The result were as follows.

1. The isolation rate of *Yersiniae* was 22% in February and 20% in April. The isolated species were 6 strains of *Y. enterocolitica*, 6 strains of *Y. albovioleta*, 4 strains of *Y. intermedia* and 43 strains of *Y. pseudotuberculosis*. The serotype of *Y. pseudotuberculosis* isolated from was all O:5 and biotype of *Y. enterocolitica* isolated from was all O:3.

2. The Geometric mean of standard plate count, coliform, and psychrotrophic bacteria were 3.4 CFU/ml, 1.2 MPN/100 ml and 33.0 CFU/ml in February and 3.1 CFU/ml, 1.5 MPN/100 ml and 20.5 CFU/ml in April respectively. There was no significant difference by time and area but the indicator organisms were correlated significantly with each other ($p<0.05$).

3. Because detection of *Yersiniae* was not statistically associated with indicator organism, *Yersiniae* can be detected in the spring water approved microbiologically ($p<0.05$).

4. The *Yersiniae* isolated were resistant to Ampicillin, Colistin, Carbenicillin and Colistin. All isolated *Y. enterocolitica* were resistant to Ampicillin (100%). In the case of *Y. pseudotuberculosis*, only 1 of 3 isolated was resistant to Colistin but susceptible to other antibiotics.

Key words : *Yersinia*, Indicator organism, Correlation, Spring water drug resistance, Biochemical characteristics

I. 序 論

최근 각종 수질 오염 사건으로 국민의 수질에 대한 관심은 증대되고 있으나, 수돗물에 대한 불신으로 약수를 음용하는 인구가 증가되고 있다. 약수는 엄격히 관리되는 수돗물과는 달리 주변 환경으로부터 각종 세균 특히 *Yersinia* 속균과 같은 저온세균에 오염될 가능성이 높다.

원래 *Yersinia* 속은 *Pasteurella* 속에 속하였으나 *En-*

*terobacteriaceae*의 *Yersinia* 속으로 독립되었다.¹⁾ *Yersinia* 속은 11종의 species가 있으나,²⁾ 이 중 사람에게 병원성이 있는 것은 *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis* 그리고 *Yersinia enterocolitica* 3 균종으로 알려져 있다.³⁾

이 중 *Y. pestis*는 페스트의 원인균이고 감염양식은 식품과 직접적인 관계는 없다. 따라서 식품위생에 관여하는 것은 *Y. enterocolitica*와 *Y. pseudotuberculosis*로 볼 수 있다.¹⁾

*Y. enterocolitica*는 1960년 이후 주목을 받은 균으로 급성위장염 증상을 일으키며 장간막림프절염, 충수염, 결절성홍반, 관절염 및 패혈증 환자에게서도 이 균이 분리되었다.⁴⁾ *Y. enterocolitica*는 유럽, 캐나다, 일본 등지에서 동물과 사람에게 주로 설사를 일으키는 인수공통전염병이지만, 다른 장내세균과 비교하여 분리율이 낮아 최근까지 중요시하지 않았으나 *Listeria monocytogenes*와 함께 냉장 온도에서도 증식할 수 있는 호저온성 장내병원성 세균으로 식품, 식수 및 하수에 의한 위장질환을 일으키는 식중독세균으로 알려지면서 주목을 받게 되었다.⁵⁾

또한, *Y. pseudotuberculosis*도 병원성 세균으로서 큰 주목을 받지 못하다가 일본 등지에서 약수나 우물 등 소독되지 않은 물을 마시고 발병한 환자의 변에서 분리되므로서 재인식되었다. 특히 우리나라에서도 1994년 1월에 상계백병원에서 약수물과 환자의 변에서 동시에 분리해냄으로서⁶⁾ 이 균으로 인한 급성 위장염 증상을 규명한 바 있다.

*Yersinia*에 관한 우리나라의 연구 결과를 보면 사람에 대한 몇 가지 임상례가 있고,^{6,8)} 한국인 혈청에서 *Y. enterocolitica* 항원 응집 역가를 보고한 논문도 있으며,⁹⁾ 동물의 경우 비교적 많은 연구보고가 있었다.^{5,10,11)} 그러나 대부분의 연구는 분변을 대상으로 하고 있으며 음용수에서 *Yersinia* 속에 대한 연구자료는 거의 없다. 외국 예를 보면 Kapperud,¹²⁾ Harvey 등,¹³⁾ Highsmith 등¹⁴⁾이 물에서 이균의 분리를 보고했으며, 최근에는 일본의 Fukushima 등이 물에서의 직접 분리법¹⁵⁾ 및 감염원¹⁶⁾에 대한 논문을 발표한 바 있다. 그 밖에 인체와 동물(특히 돼지)에서의 발병 및 분리 예와 병원성 등에 관해서는 많은 보고가 있었다.¹⁶⁻²⁷⁾

따라서 본 연구에서는 1995년 2월과 4월에 각각 채수한 서울북부지역 약수에서 분리한 *Yersinia*균을 대상으로 지역별, 시기별, 종별분포 및 생물학적 특성, 항생제내성 등을 조사하고 지표세균과의 상관성을 규명하여 식중독관리의 기초자료로 삼고자 했다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 시험 대상 약수

본 실험은 1995년 2월과 4월에 월 1회씩 채취한 북한산(10 개소), 도봉산(9 개소), 수락산(14 개소), 불암산(13 개소) 일대 약수터 46 개소의 약수 총 92건을 대상으로 하였다. 약수는 채취 즉시 냉장하

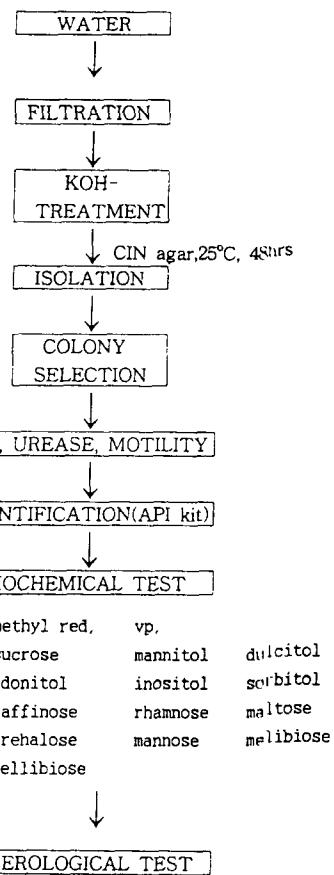


Fig. 1. Isolation and identification for *yersinia* species isolated from spring water.

여 실험실로 옮긴 후 균 분리를 시도하였다.

2. 균의 분리 동정 및 생물형 조사

日本食品衛生検査指針,¹⁾ Edward and Ewing's identification of Enterobacteriaceae,²⁸⁾ Bergey's manual of systematic bacteriology²⁹⁾ 등을 참조하여 다음과 같은 방법으로 *Yersinia*를 분리 동정하였다.

즉, 약수 1리터를 Millipore사의 여과 장치를 이용하여 구멍지름 0.45 μm인 여과지를 사용하여 음압여과한 후 이를 식염수와 KOH처리(0.1%)를 30초간 병행하고, CIN(Cefsulodin Irgasan Novobiocin Difco, USA)배지에 놓고 25°C에서 48시간 배양한 후 의심되는 붉은 집락을 선택하여 TSI, Urease, Motility test를 거쳐 API 20E kit로 동정하였다.

*Yersinia*로 추정되는 균은 다시 tube method로 생화학 실험을 실시하여 확인하였다. 이 과정은 Fig.

Table 1. Biotypes of *Y. enterocolitica* (incubation at 28°C)*

Test or substrate	Biotypes				
	1	2	3	4	5
Indole	+	+	-	-	-
Sucrose	+	+	+	+	- or +
Trehalose	+	+	+	+	-
D-Xylose	+	+	+	-	-
Lipase(Tween 80)	+	-	-	-	-
DNase	-	-	-	+	+
Nitrate to nitrite	+	+	+	+	-

Key + positive within 3 days at 28°C

- negative at the end of 3 days(final reading)

* Adapted from Bercovier et al.(1980)²⁸⁾

1에 요약되어 있다. *Y. enterocolitica*의 경우 생물형 확인 시험도 병행하였다(Table 1 참조).

3. 세균보존

세균은 1% peptone-34% glycerol로 진한 균액을 만들어 -72°C에서 보관하면서 실험에 사용했다.

4. 분리균의 혈청형 조사

*Y. enterocolitica*과 *Y. pseudotuberculosis*에 대한 혈청형은 평판응집반응을 이용하여 실시했다(항혈청 Denka Seiken Co., Ltd).

5. 항생제 내성 실험

항생제 내성 실험은 Bauer 등의 disc diffusion method³⁰⁾ 의하여 시험하였다. 항생제 감수성 디스크는 BBL사 제품으로 Ampicillin(Am : 10 µg), Carbenicillin(Cb : 100 µg), Cephalothin(Cf : 30 µg), Nalidixic acid(Na : 30 µg), Streptomycin(Sm : 10 µg), Neomycin(N : 10 µg), Tetracycline(Te : 30 µg), Tobramycin(NN : 10 µg), Colistin(CL : 10 µg), Chloramphenicol(Cm : 30 µg) 등 12종의 항생제를 사용하였으며 감수성은 National Committee for Clinical Laboratory Standard(NCCLS)³¹⁾의 기준에 의하여 판정되었다.

즉 접종 균액은 Tryptic soy agar에서 24시간 배양한 균을 Muller Hinton broth에서 8시간 배양한 후, 멸균 생리식염수를 흐석하여 MacFarland scale No 0.5 BsSO₄ 표준비색관(0.048 M BaCl₂ 0.5 ml+1% H₂SO₄ 99.5 ml: 10⁸ CFU)에 맞추었다. 평판배지는 Muller Hinton agar를 12°C에서 15분간 멸균한 후 45~50°C로 식히고 직경 87 mm의 페트리

디쉬에 20 ml씩 분주하였다.

접종 균액을 배지 전체에 골고루 바른 다음 배양기 내에서 10분간 정치시켜 습기를 제거하였다. 항균제 디스크를 20 mm 간격으로 배지 표면에 부착시킨 후 37°C에서 18시간 배양하였다. Zone Reader(Fisher)를 사용하여 발육 억제대를 측정하고 NCCLS의 기준에 따라 감수성 여부를 판단하였다,

6. 일반세균 및 저온세균 시험

시험 약수 1 ml를 채취하여 멸균 페트리디쉬 3매에 각각 분리하고 10배 단계회석하여 동일하게 분주한 후, 일반세균은 plate count agar, 저온세균은 R/A agar을 이용하여 배양하였다. 일반세균은 36°C에서 24시간, 저온세균은 25°C에서 5일간 배양하였다(Standard method).³²⁾

7. 대장균군

대장균군은 5관법을 이용한 최학수법(most probable number)에 의해서 측정하였다.

추정시험은 lactose broth에서 36°C, 48시간 배양시 가스를 형성하면 양성으로 판정하였고, 추정시험 양성 검체를 이식하여 36°C, 48시간 배양시 brilliant green lactose bile(BGLB)에서 가스를 생성하면 확정시험 양성으로 하였다. 확정시험 양성 검체는 EMB(Eosin Methylene Blue)배지에 도말하여 36°C에서 24시간 배양하여 그 성상을 관찰하고 gram 염색과 lactose 분해 가스생성 여부를 다시 확인하여 최종적으로 판단하였다(Standard method).³²⁾

8. 자료의 처리 및 분석($\alpha=0.05$)

자료 처리는 GLM(General Linear Model)과 X²-test를 사용하였다.

III. 결과 및考察

1. *Yersinia*속균의 분포 현황

*Yersinia*속균의 종별, 시기별 분포는 Table 2와 같다. 2월과 4월의 검출율은 각각 22%와 20%로서 비슷하였다. 한편 Fukushima¹⁵⁾등은 담수에서 *Y. pseudotuberculosis*의 검출율은 추운 계절에 높다고 보고한 바 있는데, 본 연구에서도 2월에 2주(4.3%), 4월에 1주(2.2%)가 검출되어 비슷한 결과를 보였다. 그러나 *Yersinia*속균 전체 검출율은 2월과 4월에서 큰 차이를 보이지 않았다.

Table 2. Distribution of *Yersinia* spp. from 46 spring waters in northern area of Seoul in February and April 1995

Species of <i>Yersiniae</i>	Month	
	February	April
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	2	1
<i>Y. enterocolitica</i>	2	4
<i>Y. aldova</i>	4	2
<i>Y. intermedia</i>	2	2
Total	10(22%)	9(20%)

또한 백 등¹⁹⁾이 21 군데 약수물에서 11 군주(52.3%)의 *Y. pseudotuberculosis*를 분리한 보고와 비교하면 검출율이 상대적으로 낮게 나타났다. 이는 백 등이 환자가 마신 물을 대상으로 했기 때문에 높은 분리율을 보인 것으로 판단된다.

조사 대상 약수터 중 2월과 4월 모두 *Yersinia* 속균이 검출된 곳은 7곳(15.2%)이었고, 2월과 4월 중 한 시점에만 검출된 곳은 5곳(10.9%)이었다. 동시에 검출된 7곳 중 6곳(85.7%)에서 동일한 종이 검출되었는데 이것은 약수에 *Yersinia* 군속이 지속적으로 생존 가능하다는 것과 오염원이 상존할 가능성을 시사한다. 또한 시기별로 군종이 변화하거나 검출 여부가 다른 것은 비병원성으로 알려진 군주라 하더라도 상당한 시간 경과한 후 오염원이 상존하는 한 병원성 군주로 교대될 수도 있음을 보여 주는 것이다. 따라서 비병원성 군주가 검출하더라도 병원성 군주와 동일한 주의와 관리가 필요한 것으로 생각된다.

Yersinia 군속 중 병원성이 있는 것은 *Y. enterocolitica*와 *Y. pseudotuberculosis*로서 *Y. enterocolitica*는 57개 혈청형 중 일부만 병원성이 있고, *Y. pseudotuberculosis*는 6개 혈청형 모두 병원성이 있는 것으로 알려져 있다.²⁰⁾ *Y. enterocolitica*는 1939년 Schleifstein과 Coleman²¹⁾이 처음 보고한 이래 유럽, 일본, 북미 등으로 이 군의 분포 보고가 확대되었다.²²⁾ 우리나라에서는 음용수에서 직접 분리된 적은 없지만 김 등²³⁾ 여러 연구자의 임상에 보고가 있었다. 국내외 여러 연구에 의하면 돼지가 중요한 보균 동물로 추정되고 있다. 그밖에 소, 개, 고양이, 설치류 등도 주요한 감염원으로서 추정되고 있으며, 특히 이 군은 저온에서 잘 자라며 영양요구가 간단하기 때문에 물이 중요한 전파체 역할을 할 것으로 보이지만 역학적 증거는 부족하다.²⁴⁾ 즉 Thompson²⁵⁾과 Eden 등²⁶⁾이 식중독 발생지역 음용수에서 이 군을 발견하였지만 발병에서 이 군의 역할이

확실히 규명되지는 않았다.

오염원을 찾는데 생물형과 혈청형이 유용하다. 본 실험에서는 인체에 병원성이 있는 것으로 알려져 있는 O1, O2, O3, O4, O5, O6, O7, O9, O13, O16, O18, O20 및 O21의 13개 주요 혈청형을 조사하였다.¹¹⁾ 그러나 실험 결과 모든 군주가 이 혈청형들로는 분류되지 않아 분리된 *Y. enterocolitica*는 비병원성인 자연 유래 군주인 것으로 추정된다. 생물형은 모두 3형으로 분류되었다.

한편, *Y. pseudotuberculosis*는 1883년 malassez에 의하여 처음 보고된 후²⁷⁾ 많은 가축과 야생동물에서 분리되었으며(새, 파충류, 포유류, 설치류, 육식동물, 유인원 등) 동물과의 접촉이 인간으로의 전파에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 파악되고 있다. 특히 쥐와 같은 보균 동물은 식품과 물을 통해서 전염원으로 작용하는 것으로 추정되고 있다.²⁸⁾

본 실험에서도 3주의 *Y. pseudotuberculosis*가 분리되었는데 혈청형은 모두 5형이었다. 이것은 1992년 백 등¹⁹⁾이 수락산 지역 약수에서 분리한 *Y. pseudotuberculosis*의 혈청형이 5형과 6형이라는 결과와 일치한다.

Fukushima 등¹⁶⁾은 1,530 마리의 쥐와 139 마리의 두더지를 대상으로 장에서 *Yersinia* 속균을 검출한 결과, 쥐의 번식기 후 몇 개월간 이 군을 보균한 신생쥐가 주요 오염원이라는 보고를 하였다(즉 늦가을에서 초봄 사이). 우리나라에서도 이들이 주요한 오염원일 가능성이 있다.

한편, *Y. intermedia*는 보통 물이나 식품에서 분리되며 사람에게서는 잘 분리되지 않는 군이며,²⁹⁾ *Y. aldova*는 Bercovier 등³⁰⁾이 여러 종류에서 40 주를 분리 보고하면서 최초로 제안하였다. 이 군에 대하여서는 잘 알려진 바는 없으나 Fukushima 등¹⁶⁾이 쥐와 두더지에서 *Yersinia* 속균을 분리한 결과에 따르면 쥐에서 분리된 군주의 약 0.3% 정도가 분리된 바 있다.

2. 지표세균의 분포 현황

1) 지표세균의 분포 현황

일반세균, 대장균군, 저온세균 등의 지표세균의 지역별, 시기별 분포현황은 Table 3 및 Table 4와 같다. 일반세균은 2월과 4월 각각 3.4 CFU/ml, 3.1 CFU/ml이었는데 이것은 박 등³¹⁾의 440 CFU/ml보다 양호하였다. 대장균군은 각각 1.2 MPN/100 ml, 1.5 MPN/10 ml, 저온세균은 33.0 CFU/ml, 20.5 CFU/ml로서 박 등³¹⁾의 대장균군 22±17 CFU/ml, 저온세

Table 3. Geometric mean of indicator organism in spring water in February

	Regions				Total
	Dobong (9)	Bukhan (10)	Surak (14)	Bulam (13)	(46)
SPC(/ml)	5.3	2.6	14.4	3.0	3.4
Coli(MPN/ 100 ml)	1.2	0.0	1.2	1.2	1.2
Psych(/ml)	116.8	30.9	26.9	20.4	33.0

() are the number of tested samples.

Table 4. Geometric mean of indicator organism in spring water in April

	Regions				Total
	Dobong (9)	Bukhan (10)	Surak (14)	Bulam (13)	(46)
SPC(/ml)	1.9	2.7	4.4	3.8	3.1
Coli(MPN/ 100 ml)	0.0	1.7	1.8	1.2	1.5
Psych(/ml)	29.5	16.9	18.2	19.7	20.5

() are the number of tested samples.

균 750 ± 170 CFU/ml와 비교하여 역시 양호하였으며, 특히 대장균군은 유 등³⁰⁾이 서울 일원 150 개소의 약수를 대상으로 보고한 48 MPN/100 ml와 비교하면 상당히 수질이 우수하다고 볼 수 있다. 이것은 본 실험의 대상 약수터가 비교적 관리 상태가 양호하고 높

Table 5. Correlationship matrix between each items in spring water in February

	Standard plate count	Coliform	Psychro- trophic
SPC(/ml)	1		
Coli(MPN/ 100 ml)	0.94266*	1	
Psych(/ml)	0.94287*	0.89282*	1

*p<0.05

Table 6. Correlationship matrix between each items in spring water in April

	Standard plate count	Coliform	Psychro- trophic
SPC(/ml)	1		
Coli(MPN/ 100 ml)	0.60012*	1	
Psych(/ml)	0.67424*	0.31437*	1

*p<0.05

은 고도에 위치하기 때문인 것으로 생각된다.

2) 지표세균간 상관 관계

Table 세균간의 상관 관계는 Table 5 및 Table 6에 요약되어 있다.

즉 2월과 4월 모두 지표세균간에는 고도의 상관관계를 보였는데 ($p<0.05$), 특히 저온세균과 일반세균(2월 $r=0.94287$, 4월 $r=0.67124$) 그리고 일반 세균과 대장균군(2월 $r=0.94266$, 4월 $r=0.60012$) 사이에서 보다 고도의 유의성 있는 상관 관계를 보였고, 대장균군과 저온세균 사이에서는 (2월 $r=0.89282$, 4월 $r=0.31437$) 상대적으로 낮은 상관 관계를 보였다. 이 같은 결과는 박 등³⁰⁾의 결과와 유사하였다. 시기별로 보면 2월의 지표세균간 상관관계가 4월보다 높았다.

3. Yersinia 속균과 지표세균과의 연관성

Yersinia군 검출유무와 일반세균, 저온세균, 대장균군 등의 지표세균과의 연관관계를 비교한 결과는 Table 7, Table 8 및 Table 9와 같다. 일반세균은 먹는 샘물의 원수 기준⁴⁰⁾을 참조하였으며(5 CFU/ml 이하), 저온세균도 역시 동 기준을 참조하였다(20 CFU/ml).

Yersinia군의 오염 여부는 일반세균, 대장균군, 저온세균의 적합, 부적합 및 검출, 불검출과 통계적인 연관성이 없는 것으로 나타났다. 이 결과는 이들 지표세균이 Yersinia의 오염에 대해서 지표역할을 하지 못함을 의미하며 다른 지표세균이 개발되지 않는 한 Yersinia군은 직접 분리, 동정할 수 밖에 없음을

Table 7. Relation between Yersiniae and SPC(CFU/ml)

	Standard plate count		Total
	≤ 5	>5	
Yersiniae positive	13	6	19
Yersiniae negative	54	19	73
Total	67	25	92

$X^2=0.235(p>0.05)$

Table 8. Relation between Yersiniae and Coliform (MPN/
100 ml)

	Coliform		Total
	positive	negative	
Yersiniae positive	3	16	19
Yersiniae negative	11	62	73
Total	14	78	92

$X^2=0.006(p>0.05)$

Table 9. Relation between Yersiniae and psychrotrophic bacteria(CFU/ml)

	Psychrotrophic bacteria		Total
	≤20	>20	
Yersiniae positive	9	10	19
Yersiniae negative	39	34	73
Total	48	44	92

X²=0.222(p>0.05)

나타낸다. 즉 음용수 미생물 기준에 의하여 적합한 약수라 하더라도 *Yersinia* 속균은 검출될 수 있다. 19 균주 중 4 균주(21.1%)만이 미생물학적으로 부적합한 약수에서 검출되었다.

4. 분리된 *Yersinia* 속균의 생화학적 특성

1) *Y. enterocolitica*의 생화학적 성상

Y. enterocolitica 속균 19 주 중 *Y. enterocolitica*는 총 6 주(31.6%)가 검출되었는데 자세한 생화학 성

Table 10. Biochemical characteristics of *Y. enterocolitica* (N=6) isolated from spring water in northern area of Seoul

Test or substrate	Result%(+)	Ewing%(+) ²⁸⁾
H ₂ S(TSI agar)	0.0	0.0
Indole	0.0	39.8
M.R. 37°C	100.0	100.0
25°C	100.0	97.5
V.P. 37°C	0.0	0.0
Urease	100.0	85.6
Motility 37°C	0.0	0.0
25°C	100.0	97.5
Lys. decarboxylase	0.0	0.0
Argn. decarboxylase	0.0	0.0
Orn. decarboxylase	100.0	93.2
Sucrose	100.0	94.1
Mannose	100.0	100.0
Dulcitol	0.0	0.0
Salicin	33.3	22.9
Adonitol	0.0	0.0
Inositol	16.7	0.9
Sorbitol	100.0	98.3
Arabinose	100.0	97.5
Raffinose	0.0	0.0
Rhamnose	0.0	0.0
Maltose	100.0	94.9
Xylose	100.0	47.4
Trehalose	100.0	92.4
Mannitol	100.0	100.0
Melibiose	0.0	0.0
Sorbose	100.0	95.1
Cellibiose	100.0	92.4

상은 Table 10과 같다.

*Y. enterocolitica*의 특징적인 생화학 성상을 보면 H₂S 음성, Gas 음성(TSI), urease 양성, motility 음성(37°C), lysine decarboxylase 음성, arginine decarboxylase 음성, 그리고 ornithine decarboxylase 양성 등인데, ornithine decarboxylase는 *Y. pseudotuberculosis*에서는 음성이므로 감별시 유용하다.

당분해 시험 중 특징적인 성상으로는 sucrose 양성, raffinose 음성, rhamnose 음성, melibiose 음성을 들 수 있는데, 이중 sucrose 분해 능력은 *Y. pseudotuberculosis*와 *Y. albovora*는 음성이므로 이들 균과의 감별에 유용하며, raffinose, rhamnose, melibiose 등은 *Y. intermedia*에서는 모두 양성을 보이므로 이 균을 구별하는데 결정적인 역할을 한다. indole과 xylose 분해 능력에서 다소 차이가 있었을 뿐 본 실험에서 대부분의 생화학 성상은 Ewing²⁹⁾의 결과와 동일하였고 사람 분변에서 분리하여 보고한 오 등³⁰⁾의 결과와도 일치하였다.

2) *Y. pseudotuberculosis*의 생화학적 성상

분리된 *Yersinia* 속균 19 주 중 *Y. pseudotuberculosis*는 총 3주(15.8%)가 검출되었는데 자세한 생화학 성상은 Table 11가 같다.

*Y. pseudotuberculosis*의 특징적인 생화학 성상을 보면 H₂S 음성, gas 음성(TSI), urease 양성, motility 음성(37°C), lysine decarboxylase 음성, arginine decarboxylase 음성, 그리고 ornithine decarboxylase 음성 등인데, ornithine decarboxylase는 *Y. enterocolitica*에서는 양성이므로 감별시 유용하다.

당분해 시험 중 특징적인 성상으로는 sucrose 음성, sorbitol 음성, sorbose 음성, melibiose 양성 등을 들 수 있는데, 이중 sucrose 분해 능력은 *Y. enterocolitica*와 *Y. intermedia*는 양성이므로 이들 균과의 감별에 유용하며, sorbitol, sorbose, melibiose 등도 *Y. enterocolitica*에서는 모두 반대 성상을 보이므로 이 두 종을 감별하는데 중요하다.

본 실험에서는 25°C motility test에서 모두 운동성이 없었다는 점이 특이하였으나 대부분의 생화학 성상은 Ewing²⁹⁾의 결과와 동일하였고, 사람 분변 환자가 마신 약수물에서 26주를 분리하여 보고한 백 등³¹⁾의 결과와도 비슷하였으나, 백 등³¹⁾은 rhamnose에서 23.1%의 양성을 보고했으나 본 실험에서는 3주 모두 양성을 나타냈다.

3) *Y. intermedia*와 *Y. albovora*의 생화학적 성상

분리된 *Yersinia* 속균 19주 중 *Y. intermedia*는 4주

Table 11. Biochemical characteristics of *Y. pseudotuberculosis*(N=3) isolated from spring water in northern area of Seoul

Test or substrate	Result%(+)	Ewing%(+) ²⁸⁾
H ₂ S(TSI agar)	0.0	0.0
Indole	0.0	0.0
M.R. 37°C	100.0	100.0
25°C	100.0	97.1
V.P. 37°C	0.0	0.0
Urease	100.0	100.0
Motility 37°C	0.0	0.0
25°C	0.0	50.7
Lys. decarboxylase	0.0	0.0
Argn. decarboxylase	0.0	0.0
Orn. decarboxylase	0.0	0.0
Sucrose	0.0	0.0
Mannose	100.0	100.0
Dulcitol	0.0	0.0
Salicin	0.0	1.4
Adonitol	0.0	0.0
Inositol	0.0	0.0
Sorbitol	0.0	0.0
Arabinose	100.0	46.4
Raffinose	33.3	20.3
Rhamnose	100.0	100.0
Maltose	100.0	100.0
Xylose	100.0	100.0
Trehalose	100.0	100.0
Mannitol	100.0	100.0
Melibiose	100.0	90.0
Sorbose	0.0	0.0
Cellibiose	0.0	0.0

(21.1%), *Y. albovora*는 6주(31.6%)가 검출되었는데 자세한 생화학 성상은 Table 12 및 Table 13과 같다.

이들 균의 특징적인 생화학 성상을 보면 H₂S 음성, gas 음성(TSI), urease 양성, motility 음성(37°C), lysine decarboxylase 음성, arginine decarboxylase 음성, 그리고 ornithine decarboxylase 양성 등인데 sucrose의 분해능력은 *Y. intermedia*만 있어 감별시 유용하다.

한편, *Y. intermedia*는 생화학 성상이 *Y. enterocolitica*와 유사하여 감별이 곤란한 경우가 있는데 raffinose, rhamnose, melibiose 등의 당 분해능력이 *Y. intermedia*는 모두 양성이 보이나 *Y. enterocolitica*에서는 모두 음성을 보이므로 이 균을 감별하는데 결정적인 역할을 한다.

*Y. albovora*는 ornithine decarboxylase가 양성이므로 *Y. pseudotuberculosis*와 감별이 가능하다. 본 실험의 생화학 성상은 Ewing²⁸⁾의 결과와 일치하였다.

Table 12. Biochemical characteristics of *Y. intermedia*(N=4) isolated from spring water in northern area of Seoul

Test or substrate	Result%(+)	Ewing%(+) ²⁸⁾
H ₂ S(KIA agar)	0.0	0.0
Indole	100.0	99.0
M.R. 37°C	100.0	100.0
28°C	100.0	100.0
V.P. 37°C	0.0	0.0
Urease	100.0	99.0
Motility 37°C	0.0	0.0
28°C	75.0	100.0
Lys. decarboxylase	0.0	0.0
Argn. decarboxylase	0.0	0.0
Orn. decarboxylase	100.0	100.0
Sucrose	100.0	100.0
Mannose	100.0	100.0
Dulcitol	0.0	0.0
Salicin	100.0	100.0
Adonitol	0.0	0.0
Inositol	0.0	81.0
Sorbitol	100.0	100.0
Arabinose	100.0	100.0
Raffinose	100.0	95.0
Rhamnose	75.0	95.0
Maltose	100.0	100.0
Xylose	100.0	100.0
Trehalose	100.0	100.0
Mannitol	100.0	100.0
Melibiose	100.0	99.0
Sorbose	100.0	98.0
Cellibiose	75.0	100.0

5. 항생제 내성 실험

각 균종별 항생제 감수성 실험 결과는 Table 14와 같다.

1주 이상 내성을 보인 항생제는 Cephalotin(9주: 47.4%), Ampicillin(6주: 31.6%), Carbenicillin(3주: 15.8%) 및 Colistin(1주: 5.3%)이었다.

각 균종별로 내성을 보면 *Y. enterocolitica*는 Ampicillin, Cephalothin 에서는 100%, Carbenicillin에서는 16.7%의 내성을 보였으며 Am-Cb, Cb-Cf, Am-Cf 등의 2제 내성은 각각 16.7% 그리고 100%였고, Am-Cb-Cf의 3제내성은 16.7%에서 나타났다. 이 결과는 오 등²⁹⁾, 김 등³⁰⁾의 결과와 일치하며 특히 Ampicillin에 대한 내성은 *Y. enterocolitica*의 특성으로서 이 균의 동정에 유용하리라 생각된다. 이 균은 β-lactamase가 없는 *Y. pseudotuberculosis*와 달리 penicillin이나 그 유도체에 일반적으로 저항력이 있는 것으로 알려져 있다.²²⁾

Table 13. Biochemical characteristics of *Y. aldova*(N=6) isolated from spring water in northern area of Seoul

Test or substrate	Result%(+)	Ewing%(+) ²⁸⁾
H ₂ S(KIA agar)	0.0	0.0
Indole	0.0	0.0
M.R. 37°C	100.0	100.0
28°C	100.0	100.0
V.P. 37°C	0.0	0.0
Urease	100.0	95.0
Motility 37°C	0.0	0.0
28°C	100.0	95.0
Lys. decarboxylase	0.0	0.0
Argn. decarboxylase	0.0	0.0
Orn. decarboxylase	100.0	100.0
Sucrose	0.0	5.0
Mannose	100.0	100.0
Dulcitol	0.0	0.0
Salicin	0.0	0.0
Adonitol	0.0	0.0
Inositol	100.0	98.0
Sorbitol	100.0	100.0
Arabinose	100.0	100.0
Raffinose	0.0	0.0
Rhamnose	100.0	98.0
Maltose	100.0	23.0
Xylose	100.0	100.0
Trehalose	100.0	100.0
Mannitol	100.0	100.0
Melibiose	0.0	0.0
Sorbose	0.0	0.0
Cellibiose	16.7	0.0

Table 14. Multiple resistance patterns of *Yersinia* spp

Multiple resistance patterns	Y.e.	Y.p.	Y.i.	Y.a.
Am	6/6	0/3	0/4	0/6
Cb	1/6	0/3	2/4	0/6
Cf	6/6	0/3	3/4	0/6
Cl	0/6	1/3	0/4	0/6
Am-Cb	1/6	0/3	0/4	0/6
Cb-Cf	1/6	0/3	2/4	0/6
Am-Cf	6/6	0/3	0/4	0/6
Am-Cb-Cf	1/6	0/3	0/4	0/6

Am : Ampicillin, Cb : Carbenicillin, Cf : Cephalothin, Cl : Colistin, Y.e. : *Y. enterocolitica*, Y.p. : *Y. pseudotuberculosis*, Y.i. : *Y. intermedia*, Y.a. : *Y. aldova*.

*Y. pseudotuberculosis*는 Colistin을 제외하고는 내성을 보이지 않았는데 백 등⁶⁾은 Ampicillin 등 다른 항생제에 대한 내성을 보고하여 다소 다른 결과를

보였다. *Y. intermedia*는 Cephalothin 75%(4주 중 3주), Carbenicillin 50%(4주 중 2주)에서 내성을 보였고 Cb-Cf 2제내성을 보인 균주도 2주가 있었으며 *Y. aldova*는 내성을 나타내지 않았다.

IV. 要約 및 結論

본 연구는 1995년 2월과 4월 2회에 걸쳐 서울 북부 지역에 소재한 46개소의 옹달샘에서의 *Yersinia* 속균의 분포를 시기별, 지역별로 조사하고 지표세균인 일반세균, 대장균, 저온세균 등과의 상관관계를 규명하고자 수행되었다.

도봉산(9개소), 북한산(10개소), 수락산(14개소) 및 불암산(13개소) 등 4개 산에 위치한 46개의 옹달샘에서 2월과 4월에 채수하여 *Yersinia*균과 지표세균을 검출하고 분리된 *Yersinia* 속균의 생물 혈청학적 특성과 항생제 내성을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. *Yersinia* 속균은 총 19주(20.7%)가 분리되었으며, 분리율은 2월 22%, 4월 20%이었다.

분리된 19주의 종별 분포는 *Y. enterocolitica* 및 *Y. aldova* 각각 6주(31.6%), *Y. intermedia* 4주(21.1%), 그리고 *Y. pseudotuberculosis* 3주(15.8%)였다. *Y. pseudotuberculosis*의 혈청형은 3주 모두 5형이었으며, *Y. enterocolitica*의 생물형은 6주 모두 3형이었다.

2. 2월의 지표세균의 기하평균은 일반세균 3.4 CFU/ml, 대장균 1.2 MPN/100 ml 및 저온세균 33.0 CFU/ml이었으며, 4월 지표세균은 일반세균은 3.1 CFU/ml, 대장균 15 MPN/100 ml 및 저온세균 20.5 CFU/ml 이었다. 지역별, 시기별 차이는 없었으며($p>0.05$), 지표세균 상호간에는 고도의 상관관계를 보였다($p<0.05$).

3. *Yersinia* 속균의 검출 여부와 지표세균의 기준초과 여부와는 통계적인 연관성이 없는 것으로 나타나 미생물학적으로 적합한 약수에서도 *Yersinia* 속균은 검출될 가능성이 있는 것으로 나타났다($p>0.05$).

4. *Yersinia* 속균이 내성을 보인 항생제는 Ampicillin, Cephalothin, Carbenicillin, Colistin 등이었는데, *Y. enterocolitica*는 Ampicillin에서 100% 내성을 보인 반면 *Y. pseudotuberculosis*는 3주 중 1주(33.3%)만이 Colistin에서 내성을 보였을 뿐 다른 항생제에는 내성이 없었다.

参考文献

- 1) 日本食品衛生協會：食品衛生検査指針(微生物編), 社團法人日本食品衛生協會, 東京, 127-133, 1990.
- 2) Balows, A., Hausler, W.J. Jr., Herrmann, K.L., Isenberg, H.D. and Shadomy, H.J.: Manual of Clinical Microbiology 5th ed., American Society For Microbiology, Washington, D.C., 360-381, 1991.
- 3) F.D.A.: Bacteriological Analytical Manual 6th ed., Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, 11.01-11.09, 1984.
- 4) 신호선, 신광순, 정영채, 이용욱: 개정증보, 최신 식품 위생학, 신광출판사, 97-144, 1987.
- 5) 박석기: 돼지에서 분리한 *Yersinia enterocolitica*의 시험관내 및 생체내 병원성에 관한 연구, 서울대 수의 대대학원 박사학위논문, 1991.
- 6) 백인기, 조종래, 구자우: 서울 동북부지역에서 산발적으로 발생한 *Yersinia pseudotuberculosis* 감염에 대한 연구, 감염학회지, 26, 1-7, 1994.
- 7) 김경숙, 정윤섭, 이삼열, 유연해, 설준희: 소아의 *Yersinia enterocolitica* 장염 1예, 대한병리학회지, 15: 429-434, 1981.
- 8) 오홍백, 김대식, 정조원, 서진열, 지현숙, 이중달: *Yersinia enterocolitica*의 생물형별에 관한 고찰, 대한 임상병리사회지, 6, 93-98, 1984.
- 9) 정귀섭, 이귀녕, 이삼열: 한국인 혈청의 *Yersinia enterocolitica* O:3 및 O:9항원 응집역가, 임상병리와 정도관리, 4, 23-27, 1982.
- 10) 성노창, 최원필: 동물에 있어서 *Yersinia* 속균의 분포와 특성에 관한 연구, 대한수의학회지, 27, 235-243, 1987.
- 11) 최철순, 박석기, 윤용덕, 정상인, 양용태: 돼지에서 분리된 *Yersinia* 균종의 Plasmid 보유 및 비보유 균주에 있어서의 내열성 장독소 생산과 병원성 연관 배양 특성, 대한 미생물학회지, 25, 135-147, 1990.
- 12) Kapperud, G.: *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia* like microbes isolated from mammals and water in Norway and Denmark. Acta path. microbiol. scand. Sect. B, 85, 129-135, 1977.
- 13) Harvey, S., Greenwood, J.R., Pickett, M.J., and Mah, R.A.: Recovery of *Yersinia enterocolitica* from Streams and Lakes of California. Appl. Environ. Microbiol., 32, 352-354, 1976.
- 14) Highsmith, A.K., Feeley, J.C., Skalny, P., Wells, T.G., and Wood, B.T.: Isolation of *Yersinia enterocolitica* from well water and growth in distilled water. Appl. Environ. Microbiol., 34, 745-750, 1977.
- 15) Fukushima, H.: Direct Isolation of *Yersinia pseudotuberculosis* from fresh water in Japan. Appl. Environ. Microbiol., 58, 2688-2690.
- 16) Fukushima, H., Gomyoda, M., and Kaneko S.: Mice and moles inhabiting mountainous area of Shimane peninsula as sources of infection with *Yersinia pseudotuberculosis*, J. of Clinical Microbiology, 28, 2448-2455, 1990.
- 17) Hedges, R.T., Carman, M.G. and Mortimer, W.J.: Serotypes of *Yersinia pseudotuberculosis* recovered from domestic livestock. New Zealand Veterinary J., 32, 11-13, 1984.
- 18) Slee, K.J., and Skilbeck, N.W.: Epidemiology of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica* infection in sheep in Austria. J. of Clinical Microbiol., 30, 712-715, 1992.
- 19) Pai, C.H., Mors, V., and Seemayer, T.A.: Experimental *Yersinia enterocolitica* enteritis in rabbits. Infection and Immunity, 28, 238-244, 1980.
- 20) Bottone, E.J.: Atypical *Yersinia enterocolitica*: clinical and epidemiological parameters. J. of Clinical Microbiol., 7, 562-567, 1978.
- 21) Mors, V., and Pai, C.H.: Pathogenic properties of *Yersinia enterocolitica*. Infection and Immunity, 28, 292-294, 1980.
- 22) Doyle, M.P.: Food borne bacterial pathogens, Marcel Dekker, INC., New York, 602-672, 1989.
- 23) Fukushima, H., and Gomyoda, M.: Intestinal carriage of *Yersinia pseudotuberculosis* by wild birds and mammals in Japan. Appl. and Environ. Microbiol., 57, 1152-1155, 1991.
- 24) Nesbakken, T., and Kapperud, G.: *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica-like* bacteria in Norwegian slaughter pigs. Internation J. of Food Microbiol., 1, 301-309, 1985.
- 25) Weissfeld, A.S., and Sonnenwirth A.C.: *Yersinia enterocolitica* in adults with gastrointestinal disturbances: Need for cold enrichment. J. of Clin. Microbiol., 11, 196-197, 1980.
- 26) Bissett, M.L., Powers, C., Abbott, S.L., and Janda, J.M.: Epidemiologic investigations of *Yersinia enterocolitica* and related species: Sources, frequency, and serogroup distribution. J. of Clin. Microbiol., 28, 910-912, 1990.
- 27) 최철순, 김정선, 정상인, 양용태: 한국의 동물에서 분리된 *Yersinia enterocolitica*의 O혈청형. 대한미생물학회지, 28, 7-12, 1993.
- 28) Ewing, W.H.: Edward and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae, 4th ed., Elsevier science publishing Co., New York, 461-476, 1986.
- 29) Krieg, N.R., and Holt, J.G.: Bergey's manual of systematic bacteriology, Williams and Wilkins, Baltimore, 498-506, 1984.
- 30) Bauer, L.W. and Kerby, W.M.J.C.: Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clinical Path., 36, 493, 1966.
- 31) NCCLS: Method for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. 2nd ed., National Committee for Clinical La-

- boratory Standards, Villanova, 1988.
- 32) APHA-AWWA-WPCF : Standard methods for the examination of water and wastewater. 17th ed., APHA, Washington, D.C., 9, 32-38, 1989.
- 33) Schleistein, J.I., and Coleman, M.B.: An unidentified microorganisms resembling *B. lignieri* and *Past. pseudotuberculosis*, and pathogenic for man. N. Y. St. J. Med., 39, 1749-1753, 1939.
- 34) Thompson, J.S., and Gravel, M.J.: Family outbreak of gastroenteritis due to *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 from well water. Can. J. Microbiol. 32(8), 700-701, 1986.
- 35) Eden, K.V., Rosenberg, M.L., Stoopler, M., Wood, B.T., Highsmith, A.K., Skaliy, P., Wells, J. G., and Feeley, J.C.: Gastro-intestinal illness at a ski resort. Public Health Rep., 92(3), 245-250, 1977.
- 36) Bottone, E.J.: *Yersinia enterocolitica*, CRC Press, Inc., Boca Raton, 31-36, 1981.
- 37) Bercovier, H., Steigerwalt, A.G., Guiyoule, A., Huntley-Carter, G. and Brenner, D.J.: *Yerisnia alvdovae*(formerly *Yersinia enterocolitica*-like group X2):2 new species of Enterobacteriaceas found in human stools. J. Clin. Microbiol., 19, 460-463, 1984.
- 38) 박석기, 김성원, 이강문, 최성민, 오영희 : 경기지역 목장수의 위생세균학적 분포. 한국환경위생학회지, 19(2), 10-15, 1993.
- 39) 유병태, 최병현, 권옥현, 최성민 : 서울시 일원 약수의 위생학적 조사. 서울시 보건환경연구소보, 22, 158-167, 1986.
- 40) 환경부 : 먹는 샘물의 기준과 규격 및 표시기준(환경부고시 1995-43호), 1995.