

먹는 샘물에서 분리한 *Yersinia* spp.의 분리 및 특성

이택수 · 박부길 · 오덕환*†

강원도 보건환경연구원

*강원대학교 식품생명공학부

Isolation and Characteristics of *Yersinia* spp. from Mineral Spring Waters

Tex-Soo Lee, Boo-Kil Park and Deog-Hwan Oh*†

Institute of Health and Environment, Kangwondo, Chunchon 200-702, Korea

*Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

Abstract

A total of 277 mineral spring water samples in Kangwon province from 1999 to 2000 were analyzed for the presence of *Yersinia* spp. by the conventional Food and Drug Administration protocol, and presumptive strains were identified by morphological, cultural and biochemical tests according to Bergey's manual. Also, the biotypes, serotypes, and susceptibility to 12 antibiotics were tested. Among the total 277 mineral spring water samples, 40 samples (14.4%) were found to be contaminated with *Yersinia* species. Among the 40 strains of *Yersinia* spp. isolates, 33 strains (82.5%) for *Yersinia enterocolitica*, 4 strains (10%) for *Yersinia frederiksenii*, 2 strains (5%) for *Yersinia intermedia*, and 1 strain (2.5%) for *Yersinia sakazaki* were identified, respectively. Of 40 *Yersinia* spp. isolates, *Yersinia enterocolitica* (82.5%) was the most predominant species in the mineral spring water samples compared to other *Yersinia* species. Compared to direct culture method after KOH treatment and KOH treatment method after cold enrichment for better isolation ratio of according to comparison of *Yersinia* species, the detection ration (18.5%) of KOH treatment method after cold enrichment was about 3 times better than that (6.1%) of direct culture method after KOH treatment. According to serotypes of *Y. enterocolitica* isolates, O : 5 (12.9%) was the most predominant and followed by O : 3 (9.7%), O : 8 (6.5%) and O : 9 (3.2%), and others. For biotypes of *Y. enterocolitica* isolates, 1A (71.0%) was the most predominantly abundant and followed by 3A (12.9%), 3B (9.7%), 1B (3.2%) and 5 (3.2%). Also, an antibiotic susceptibility test showed that *Yersinia* spp. isolates were very susceptible to the antibiotics tested, but they were very strongly resistant to ampicillin, cephalothin and carbenicillin.

Key words: *Yersinia* species, mineral spring water, serotype, incidence

서 론

*Yersinia*속은 Gram 음성 통성혐기성 간균으로 장내세균과에 속하며 대표적인 병원균으로 *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* 및 페스트의 원인균인 *Y. pestis* 3종이 알려져 있다(1-3). 장내질환균으로 알려진 *Y. enterocolitica*는 인축 공통병원균으로 1939년 사람에서 최초분리 되었으며 냉장온도 5°C에서도 성장이 가능한 저온세균으로서 25°C에서는 운동성이 있으나 37°C에서는 운동성이 없는 특성을 가진다(4,5). 이 균은 다른 장내세균과 비교하여 분리율이 낮기 때문에 최근까지 중요시 되지 않았으나 냉장온도에서도 증식할 수 있는 호저온성 장내 병원성 세균으로 냉장식품 또는 물을 통한 식중독 원인균으로 밝혀지면서 주목을 받게 되었다(6). *Y. enterocolitica*에 의해 발생하는 질병을 Yersiniosis라 하는데 이 질병은 *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*속 같은

장내세균과 유사하게 사람과 동물에게 내열성 장독소를 분비하여 복통, 설사 등 급성위장염, 패혈증, 충수염, 장간막림프절염, 관절염 등의 다양한 증상을 일으킨다(7). *Y. enterocolitica*는 전세계적으로 야생동물(8), 돼지, 소, 닭, 양 등의 가축과(9), 원유, 유제품 및 식육(10,11), 야채류(12) 등의 식품 및 계곡수, 하천수 등 수질환경 중에 널리 분포되어 있다(13,14).

*Y. enterocolitica*는 세계 여러 나라에서 세균성 장염의 원인으로 *Shigella*보다 많이 발생하며 *Salmonella*, *Campylobacter* 만큼 발생되고 있다고 보고되고 있으며(15), 최근에는 이 균의 분리율이 점점 증가하는 추세이고 다른 장내세균과는 달리 가을과 겨울에 가장 많이 분리되는 특징이 있다(16). 식품뿐만 아니라 물은 *Y. enterocolitica*균의 주요한 서식지로서 국민 보건위생상 매우 중요한 의미가 있다. 미국에서는 음용수로 인한 장염사례가 보고되었으며(17) 터키에서는 우

†Corresponding author. E-mail: deoghwa@kangwon.ac.kr
Phone: 033-250-6457. Fax: 033-250-6457

물, 샘물 및 상업용 물 등에서 *Y. enterocolitica*균이 오염되었으며 그중 샘물에서 가장 많이 분리되었음을 보고하였다(18). 한편, 국내에서도 1994년 약수터물을 음용하는 소아로부터 *Y. pseudotuberculosis*균에 의한 급성위장염의 발생이 서울 지역에서 보고된 바 있다(19). 이같은 사실은 정수처리되지 않은 물은 *Y. enterocolitica*균에 의한 오염이 될 수 있음을 시사하였다. 따라서 환경부에서는 1997년에 먹는 샘물 공동시설(샘터수, 약수)의 안전성 확보를 위하여 *Yersinia*균 규격 기준(음성/2 L)을 설정하였다.

최근에 수돗물에 대한 안전성의 불안으로 먹는 샘물, 약수 등 비소독 음용수의 섭취가 급증함에 따라 산간계곡에 위치한 샘터의 경우 불결한 주변환경이나 주변 야생동물의 분변 등에 노출되어 *Y. enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* 등 저온성병원균의 오염증식에 의한 식중독 등의 집단발생 우려가 있다. 따라서 본 연구는 1999과 2000년 중에 강원도 전역에 산재하고 있는 샘터와 약수터 물의 미생물학적 안전성 확보와 위생관리를 위해 관내 샘터수에 대하여 *Yersinia*균의 분포실태와 분리균의 특성조사, 항생제 내성경향 및 균 배양법의 적용에 따른 검출율을 비교 검토하여 수인성 장내질환 예방의 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험은 1999년 10월부터 2000년 8월까지 강원도내 18개 시·군에 소재한 먹는 물 공동시설 샘터 137개소에서 총 277건의 먹는 샘물을 채수하여 *Yersinia* spp. 균의 분리를 위한 시료로 사용하였다.

*Yersinia*균속의 분리 및 확인시험

Yersinia spp. 분리실험은 Bergey's manual(1), Edward and Ewing's(2) 및 미국 FDA method(20) 등을 참조하여 저온증균분리배양법으로 수행하였으며 *Y. enterocolitica*균의 분리효율을 비교하기 위하여 직접분리배양과 저온증균분리배양을 각각 사용하였다. 직접분리법은 무균적으로 채취된 샘터수 1 L를 멸균된 여과장치를 이용하여 멸균상태의 여과지(membrane filter, 0.45 µm pore size)를 통과시킨 후 여과지에 0.288% KOH 생리식염수 20~30 mL를 통과시켜 20초간 알카리 처리후 이 여과지를 Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin(CIN) 평판배지에 그대로 올려놓고 25°C에서 48시간 배양한 후 배지상에서 전형적인 집락을 선별하여 brain heart infusion(BHI) agar(Difco)에 계대배양하여 *Yersinia* spp.의 동정시험을 실시하였다. 저온증균분리법은 샘터수 1 L를 상기와 같이 멸균 membrane에 여과시킨후 그 여지를 10 mL peptone sorbitol bile broth(PSBB)배지에 넣어 10°C에서 10일간 저온증균배양 후에 이 배양액 0.1 mL를 0.5% KOH/0.5% NaCl 1 mL에 넣어 30초간 알카리처리 후 CIN배지에 분리배양하여 *Yersinia* spp.의 동정시험을 실시하였다.

CIN 배지상에서 자란 *Yersinia* spp.의 전형적인 집락(집락 중앙이 짙은 적색을 띠고 집락주위가 투명한 일명 bull's eye 형태)을 선별하여 Triple Sugar Iron agar(TSI; Difco)에 접종하여 30°C에서 24시간 배양하였다. *Yersinia* spp.의 TSI 배지내 전형적인 반응은 alkaline slant/acid butt로서 가스생성은 없었으며, H₂S 반응은 음성이다. 추가적으로 Urease 생성반응, Citrate 이용반응 등 생화학시험과 운동성시험에서 35°C에서는 음성이고 25°C에서만 양성을 나타내는 *Yersinia* spp.의 추정균주를 선별하여 API 20E(BioMerieux)에 접종하여 35°C에서 18~24시간 배양하여 결과를 판독하였다. 최종적으로 분리된 *Yersinia* spp.는 -70°C에 냉동보관하며 필요시 사용하였다.

혈청형(serotyping) 시험

분리균주의 serotyping은 slide agglutination 방법을 사용하였으며, 항혈청으로는 상품화된 *Y. enterocolitica* O:1, 2, O:3, O:5, O:8, O:9 등 5가지 항혈청(Denka Seiken제품)을 사용하였다.

생물형(biotyping)시험

분리균주는 Fukushima 등(21)이 제안한 방법에 따라 Esculin hydrolysis, Salicin·Xylose·Inositol fermentation, Pyrazinamidase activity, Indol production, Voges-Proskauer test, Nitrate reduction test 등 생화학적 특성에 따라 5가지로 구분하였다

항생제 감수성 시험

항생제 감수성시험은 Bauer-Kirby(22)의 디스크 확산법으로 실시하였다. Paper-disc는 BBL사의 ampicillin(10 µg), cephalothin(30 µg), nalidixic acid(30 µg), streptomycin(10 µg), tetracycline(30 µg), tobramycin(10 µg), chloramphenicol(30 µg), kanamycin(30 µg), gentamycin(10 µg), carbenicillin(100 µg), trimethoprim(10 µg), ciprofloxacin(5 µg) 등 12종의 항생제를 사용하였으며, 분리균을 Muller Hinton broth에서 37°C, 6시간 배양하여 그 균액을 Muller Hinton agar에 접종하고 항생제 디스크를 올려놓은 후 37°C, 24시간 배양하여 결과 판독은 National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS)법(23)을 사용하였다.

결과 및 고찰

샘터수에서의 *Yersinia* spp. 분리 실태

1999년부터 2000년 동안 강원도내 공동샘터 물에 대한 *Yersinia* spp. 균 조사 결과는 Table 1과 같다. 즉 강원도내 18개 시군에서 채취한 먹는샘물 277건(137개 샘터) 중에 14개 시군의 먹는 샘물 40건(34개 샘터)에서 *Yersinia* spp.가 검출되어 14.4%의 검출율을 나타내었다. 분리균의 균종별 분리빈도는 40건중 *Y. enterocolitica*가 33주(82.5%)로 가장 많은 분리율을 나타내었으며, *Y. frederiksenii* 4주(10%), *Y.*

Table 1. Detection ratio of *Yersinia* spp. from mineral spring water samples in Kangwon province (1999. 6~2000. 4)

Sampling areas	Number of samples	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Y. frederikseni</i>	<i>Y. intermedia</i>	<i>Y. sakazaki</i>
		Isolates (%)	Isolates (%)	Isolates (%)	Isolates (%)
Chunchon city	18	1(5.5) ¹⁾			
Wonju "	15				
Kangnung "	20				1(5.0)
Donghae "	14		2(14.3)		
Sokcho "	3	1(30.0)			
Taebaek "	17	2(11.8)			
Samchok "	4				
Hongchon gun	11	3(27.3)			
Hoengsong "	7	1(14.3)			
Yongwol "	15	3(20.0)			
Pyongchang "	15	3(20.0)	1(6.7)		
Chungson "	24	3(12.5)			
Cholwon "	46	6(13.0)	1(2.2)		
Hwachon "	10	2(20.0)			
Yanggu "	8	1(12.5)			
Inje "	25	5(20.0)		1(4.0)	
Kosong "	6	1(16.7)			
Yangyang "	19	1(5.3)		1(5.3)	
Total	277	33(11.9)	4(1.4)	2(0.7)	1(0.4)

¹⁾The number in parenthesis means detection ratio.

intermedia 2주(5%), *Y. sakazaki* 1주(2.5%)로 다양한 *Yersinia* spp.가 분포하였다. 국내의 수질환경에 대한 *Y. enterocolitica* 분리조사에 의하면 '98년 Nam 등(24)의 대전지역 약수에서 24.2%, 공동우물에서 6.1%, Choi 등(25)의 경남지역 약수에서 7.5%, Lee(13)의 '98년 서울지역 약수에서 6.5% 등 다양한 분리실태가 보고되었다. 본 강원지역 먹는샘물에서의 *Y. enterocolitica* 검출율 11.9%는 전국적인 검출율과 비슷한 경향을 나타내었다. 또한 외국의 *Y. enterocolitica* 조사보고를 보면 노르웨이·덴마크의 시내물과 호수에서 31%(14), 미국 캘리포니아의 호수에서 29.4%(26) 등 광범위하게 분포되었다. 한편, 국내에서는 Park 등(8)이 동물원 야생동물에서 포유류 6.9%, 파충류 15.4%, 소 및 돼지 분변에서 각각 2.5%, 35%가 오염되었다고 보고하였으며, Lim 등(10)은 닭고기 25.6%, 돼지고기 17% 등 식육제품에도 널리 분포하는 것으로 보고하였다. 한편, 1999년 본 연구실에서 시판 단순가공 야채류인 파에서 2%, 미나리에서 10% 등 재배과정에서 가축 분뇨에 의한 식품환경에도 다양한 분포를 나타내었다. 본 샘터수내 *Y. enterocolitica* 분포조사 결과로 보아 샘터수 주변 산간계곡의 야생동물이나 불결한 환경으로부터 수인성병원균의 광범위한 전파를 확인할 수 있었다. 따라서 공동샘터 주변환경의 청결유지 등 철저한 위생관리가 요구된다.

지역별 *Y. enterocolitica* 분리 실태

관내 시군별 *Y. enterocolitica* 분리결과를 보면 철원군에서 6주로 가장 많이 분리되었고, 인제군 5주, 홍천·영월·평창·정성·화천군이 각각 3주씩, 태백시 2주, 춘천시 등 6개 시군에서 각각 1주씩이 분리되어 넓은지역에서 다양한 분포를 나타내었다. 특히 지역적 군 검출율 결과를 비교해 보면 시 지역의 평균 1.3주(3개 시, 1~2주)에 비해 군지역에서는 평

균 2.6주(11개 군, 1~5주)가 분리되어 도시지역보다도 시골 지역 먹는 샘물에서 약 2배 높은 분리 빈도를 보였다. 이같은 결과는 시골지역 샘터주변이 깊은 산간계곡과 농경지로서 자연계에 서식하는 야생동물 등에 쉽게 노출될 수 있는 환경 요인에 의한 것으로 사료된다(Table 1).

배양방법에 따른 *Y. enterocolitica* 분리율 비교 평가

강원도내 18개 시군에서 채취한 먹는 샘물 277건(137개 샘터)으로부터 배양조건을 달리하여 직접배양법과 저온중균법을 사용하여 *Y. enterocolitica* 균의 분리효율을 조사한 결과, 직접배양법에서는 6.1%(9/147건)가 분리된 반면에 저온중균법에서는 18.5%(24/130건)가 분리됨으로서 시료를 저온중균 후에 KOH를 처리하여 CIN배지에 도말분리한 저온중균 분리방법이 직접 분리방법에 비해 3배 이상 높은 검출율을 나타내었다(Table 2). 이같은 결과는 Lee 등(27)의 *Yersinia*속 저온중균법(4°C, 4주간)조사가 직접배양법보다 3.5배 높은 검출율을 나타내었다는 보고와 비슷한 결과를 얻었다.

생화학적 성상

분리된 *Yersinia* spp. 38주의 생화학적 검사결과는 Table 3과 같다. Edward and Ewing's(2)의 *Y. enterocolitica* 생화학적 성상과 비교해 보면, 본 분리주의 경우 indol, VP, inositol, rhamnase 등에서 각각 79.2%, 54.2%, 62.5%, 0%의 양성반응으로 Ewing's의 39.8%, 76.3%, 43.7%, 0% 양성과 다소의 차이를 보였으나 API test 결과 97%이상의 *Y. enterocolitica* 와 일치함을 나타내었다. *Y. frederiksenii*도 ornithine decarboxylase, VP, inositol, sorbitol 양성이 각각 100%, 66.7%, 33.3%, 100%로서 Ewing's의 100%, 98%, 81%, 100%와 다소의 차이를 나타내었으며, 나머지 urease, motility 등의 생

Table 2. Comparison of detection method for isolation of *Yersinia* spp. from mineral spring water in Kangwon province

Test method	No. of samples	Number of isolated <i>Yersinia</i> spp. (%)				Total
		<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Y. frederiksenii</i>	<i>Y. intermedia</i>	<i>Y. sakazaki</i>	
Direct isolation	147	9(6.1) ¹⁾	1(0.7)	1(0.7)		11(7.4)
Cold enrichment	130	24(18.5)	3(2.3)	1(0.8)	1(0.8)	29(22.3)

¹⁾The number in parenthesis means detection ratio.

Table 3. Biochemical characteristics of *Yersinia* spp. from mineral spring water samples in Kangwon province (numbers is positive %)

Test or substrate	<i>Y. enterocolitica</i> (n=33)	<i>Y. frederiksenii</i> (n=3)	<i>Y. intermedia</i> (n=1)	<i>Y. sakazaki</i> (n=1)
ONPG	95.8	100	100	100
Arginine decarboxylase	0	0	0	100
Lysine decarboxylase	0	0	0	0
Ornithine decarboxylase	87.5	100	100	100
Citrate	0	0	0	100
H ₂ S	0	0	0	0
Urease	100	100	100	100
Tryptophane deaminase	0	0	0	0
Indol	79.2	100	100	100
VP (37°C)	54.2	66.7	100	100
Gelatine	0	0	0	0
Glucose	100	100	100	100
Mannitol	100	100	100	100
Inositol	62.5	33.3	100	0
Sorbitol	100	100	100	100
Rhamnose	0	33.3	100	0
Sucrose	100	100	100	100
Melibiose	0	0	100	0
Amygdaline	100	100	100	100
Arabinose	100	100	100	100
Oxidase	0	0	0	0

화학 특성은 일치하였다.

*Y. enterocolitica*의 혈청형 및 생물형

Slide agglutination 방법을 사용하여 *Y. enterocolitica*로 확인된 분리균주 31주에 대하여 serotyping 시험을 실시한 결과는 Table 4와 같다. 31주의 분리균 중 O:5형이 4주(12.9%)로 가장 많았고, 다음으로 O:3형 3주(9.7%), O:8형 2주(6.5%), O:9형 1주(3.2%)의 순이었으며 나머지 21주(67.7%)는 본실험에서 이용한 항혈청으로는 응집반응을 보이지 않았다. 이같은 결과는 국내에서 Lee(13)가 서울근교 약수물에

Table 4. Bio-serotype patterns of *Y. enterocolitica* isolated from mineral spring water samples in Kangwon province

Serotype	Biotype					Total
	1A	3A	1B	3B	5	
O:3	1	2	1			3(9.1)
O:5	4					4(12.1)
O:8	2					2(6.1)
O:9					1	1(3.0)
Untypable	15	2	2	3		21(63.7)
Total	22	4T	3	3	1	33(100)
	(67.7) ¹⁾	(12.1)	(9.1)	(9.1)	(3.0)	

¹⁾The number in parenthesis means percentage.

서 분리한 균에서 O:3형(33.8%), O:9형(12.3%)으로 O:3형이 많이 분리되었다는 보고와 Choi 등(25)의 경남지역 약수 분리주에서 O1-O2(25%), O5(16.7%), O9(16.7%)의 분포현황을 나타낸 보고와는 다소의 차이를 보였으나 Lim 등(10)이 식육에서 분리한 *Y. enterocolitica*균에서 O:5형(17.3%)이 가장 많이 분리되었다는 결과와 Park 등(8)의 소 분변 분리주에서 O:5형(16.7%), O:3형(8.3%) 순으로 분리되었다는 보고와는 비슷한 혈청형 분포를 나타내었다. 한편, 강원지역 샘터수에서 분리된 *Y. enterocolitica* 31주에 대한 Fukushima 등(21)의 생화학적 특성에 의한 8개의 생물형 분류 결과, 생물형 1A형이 22주로 71.08%로 가장 많았고, 3A형 4주(12.9%), 3B형 3주(9.7%), 1B형과 5형이 각각 1주(3.2%)씩 분포하였다(Table 5). 본 조사결과는 Lee(13)가 서울지역 약수물에서 분리한 균에서 1형(38.5%), 3A형(10.7%) 등이 분포되었다는 보고와 다소의 차이를 보였으나, Choi 등(25)의 경남지역 샘터수 분리주에서의 1형(58.3%), 3A형(16.7%) 분포 보고와 Park 등(28)의 소 분변 분리주에서 1형 66.7% 보고와는 비슷한 유형을 나타내었다.

항생제 감수성

샘터수에서 분리된 *Yersinia* spp.의 38주에 대한 12종의 항생제 감수성 시험 결과는 Table 5와 같다. 분리된 *Y. enterocolitica* 33주의 경우 ampicillin(Am), cephalothin(Cf), carbenicillin(Cb)에 각각 70%, 70%, 52% 수준의 높은 내성을 나타내었으며 나머지 항생제에 대하여 대부분 감수성을 나타내었다. 반면에, *Y. frederiksenii*는 Am과 Cb에 대하여 100% 내성을 나타내었으며 *Y. sakazaki*는 Am, Cf 및 Cb에 대하여 100% 내성을 내었고 *Y. intermedia* 1주는 kanamycin(Kn)에 100%의 내성을 보였다. 따라서, *Yersinia* spp.의 경우 다른 항생제보다는 Am, Cf 및 Cb의 항생제에 특히 강한 내성을 나타내었다. 이러한 결과는 Park 등(28)이 소에서 분리한 *Y. enterocolitica* 12주가 Am, Cf 및 Cb에 각각 91.7%, 91.7% 및 83.5%의 높은 내성을 나타내었다는 결과와 경남지역 약수터로부터 분리한 *Y. enterocolitica* 12균주중 11균주가 Am과 Cf에 내성을 보였다는 보고(27)와 비슷한 경향을 나타내었다.

한편, *Yersinia* spp.의 38주에 대한 항생제 다제 내성에 대한 조사결과는 Table 6과 같다. *Y. enterocolitica* 33주의 경우 Am-Cf-Cb(39%), Am-Cf-S(3%) 및 Te-S-NA(3%) 3종 다제내성이 45%로 나타났고, Am-Cf 등 2종 내성이 30%이었으며, 15%에서는 12종 항생제에 모두 감수성을 나타내었다. 기타 *Y. frederiksenii*(3주), *Y. sakazaki*(1주)에서는 Am-

Table 5. Antibiotic susceptibility of *Yersinia* spp. isolates from mineral spring water samples in Kangwon province

Tested antibiotics	<i>Y. enterocolitica</i> (n=33)			<i>Y. frederiksenii</i> (n=3)			<i>Y. intermedia</i> (n=1)			<i>Y. sakazaki</i> (n=1)		
	S ¹⁾	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Ampicillin (Am, 10 µg)	27	3	70	0	0	100	100	0	0	0	0	100
Cephalothin (Cf, 30 µg)	27	3	70	33	0	67	100	0	0	0	0	100
Nalidixic acid (NA, 30 µg)	85	6	9	100	0	0	0	100	0	100	0	0
Streptomycin (S, 10 µg)	88	3	9	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Tetracycline (Te, 30 µg)	94	0	6	67	0	33	100	0	0	100	0	0
Tobramycin (NN, 10 µg)	100	0	0	100	0	0	0	100	0	100	0	0
Chloramphenicol (C, 30 µg)	97	3	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Kanamycin (K, 30 µg)	100	0	0	67	0	33	0	0	100	100	0	0
Gentamycin (GM, 10 µg)	100	0	0	67	33	0	0	100	0	100	0	0
Carbenicillin (CB, 100 µg)	39	9	52	0	0	100	0	100	0	0	0	100
Trimethoprim (SxT, 10 µg)	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Ciprofloxacin (CIP, 5 µg)	97	3	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0

¹⁾S: Susceptible (%), I: Intermediate (%), R: Resistant (%).

Table 6. Multiple antibiotics resistance patterns of *Yersinia* spp. isolates from mineral spring water samples in Kangwon province (numbers is resistance %)

Multiple antibiotics resistance patterns ¹⁾	<i>Y. enterocolitica</i> (n=33)	<i>Y. frederiksenii</i> (n=3)	<i>Y. intermedia</i> (n=1)	<i>Y. sakazaki</i> (n=1)
No resistance	15	0	0	0
Am-Cf-CB	39	67	0	100
Am-Cf-S	3	0	0	0
Te-S-NA	3	0	0	0
Am-Te-CB	0	33	0	0
Am-Cf	18	0	0	0
Am-CB	3	0	0	0
Cf-CB	3	0	0	0
NA-CB	3	0	0	0
NA-Te	3	0	0	0
Am	3	0	0	0
Cf	3	0	0	0
CB	3	0	0	0
K	0	0	100	0

¹⁾Am: Ampicillin, Cf: Cephalothin, CB: Carbenicillin, NA: Nalidixic acid, S: Streptomycin, Te: Tetracycline, K: Kanamycin.

Cf-Cb 3종 내성이 각각 67%, 100%의 다제내성 경향을 나타내었다. 본 샘플수에서 분리된 *Yersinia* spp.의 항생제 내성 경향은 Lee(13)가 보고한 샘플내 분리군에서의 Am과 Cf에 각각 80%, 95.4%의 내성율과 Cb에 50.8%의 내성율과 유사한 경향을 보였고, Choi 등(25)이 샘플수 분리주의 Am, Cf에 각각 91.7% 내성율과도 비슷한 유형을 나타내었으며 Park 등(28)이 소분변 분리주에서 Am과 Cf에 91.7%의 내성율을 나타낸 결과와 유사하였으나, Am-Cb-Cf 다제내성율 78.9%의 보고와는 다소의 차이를 보이는 항생제 내성경향을 나타내었다.

요 약

최근에 음용이 증가하고 있는 강원도지역 먹는 샘물로부터 *Yersinia* spp.의 분포현황을 조사하기 위하여 1999년과

2000년에 강원지역 18개 시군 전역에 산제한 공동샘터수 277건을 수거한 후 미국 FDA방법과 Bergey's manual을 참조하여 형태학적, 배양학적, 생화학적방법으로 균을 분리동정하였으며 분리군의 생물형, 혈청형, 항균제 감수성조사 및 효율적인 균분리방법에 대한 조사를 실시하였다. 샘플수 277건 중에 40건(14.4%)에서 *Yersinia* spp.가 분리되었으며, 균종별 분리빈도는 40건중에서 *Y. enterocolitica* 33주(82.5%)로 가장 많이 분리되었으며, *Y. frederiksenii* 4주(10%), *Y. intermedia* 2주(5%), *Y. sakazaki* 1주(2.5%) 순으로 분리되었다. 지역별로 *Y. enterocolitica* 분리실태를 보면 철원군(5주), 인제군(5주) 등 11개 군지역에서 평균 2.6주가 분리되었고, 태백시(2주), 춘천시(1주) 등 3개 시지역에서 평균 1.3주가 분리되어 군 소재 먹는 샘물이 도시지역 먹는 샘물에 비해 2배 정도 높은 균검출율을 나타내었다. 배양방법에 따른 *Y. enterocolitica* 분리율을 비교하면 시료를 KOH처리하여 직접 CIN배지에 분리한 직접배양법에서는 분리율이 6.1%이었고, 시료를 PSBB배지에 10°C, 10일간 저온배양 후 KOH로 처리하여 CIN배지에 분리한 저온증균배양법에서 18.5%의 분리율을 나타내어 저온증균법이 직접법에 비해 3배 높은 균검출효과를 나타내었다. 한편, *Y. enterocolitica* 33주에 대한 아형(subtype) 조사 결과 생물형 분포는 1A형이 22주(71.0%)로 가장 많았고 3A형 4주(12.9%), 3B형 3주(9.7%), 1B형과 5형이 각각 1주(3.2%)씩이었으며, 혈청형 분포는 O:5형이 4주(12.9%)로서 가장 많았으며 O:3형 3주(9.7%), O:8형 2주(6.5%) 및 O:9형 1주(3.2%)이었고 나머지 21주(67.7%)는 혈청형을 확인할 수 없었다. 또한, 분리된 *Y. enterocolitica*의 12종 항생제에 대한 감수성 시험결과는 ampicillin, cephalothin, carbenicillin에 각각 70%, 70%, 52%의 저항성을 보였고 나머지 nalidixic acid, streptomycin, tetracycline, tobramycin, chloramphenicol, kanamycin, gentamycin, trimethoprim, ciprofloxacin에 대하여는 대부분 감수성을 나타내었으며, ampicillin, cephalothin, carbenicillin 등 3종 항생제에 다제내성을 보인 경우는 39%이었다.

감사의 글

본 연구는 1999년도 한국학술진흥재단에서 지원한 학술연구 조성비에 의해 수행된 연구결과의 일부이며 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Noel, R.K. and John, G.H. : Genus *Yersinia*. In *Bergey's manual of Systemic Bacteriology*, Baltimore, Vol. 1, p.498-506 (1984)
2. Edward and Ewing's : *The Genus Yersinia, Identification of enterobacteriaceae*. 4th ed., Chapter 19, p.461-478 (1986)
3. Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C. and Winn, W.C. : *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 3th ed., Lippincott Co., Philadelphia, USA (1992)
4. Schieman, D.A. : *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis*. In *Foodborne Bacterial Pathogens*, 1st ed., Marcel Dekker, New York (1989)
5. Stern, N.J., Pierson, M.D. and Kotula, A.W. : Effects of pH and sodium chloride on *Y. enterocolitica* growth at room and refrigeration temperatures. *J. Food Sci.*, **45**, 64-67 (1980)
6. Swaminathan, B., Harmon, M.C. and Mehlman, I.J. : A review of *Yersinia enterocolitica*. *J. Appl. Bacteriol.*, **52**, 151-154 (1982)
7. Butler, T. : *Plaque and the Yersinia Infections*. Plenum Medical Book Co., New York (1983)
8. Park, S.G., Youn, E.S. and Kim, E.J. : Biotype, serotype and antibiotics susceptibility of *Yersinia enterocolitica* isolated from zoo animals. *Korean J. Vet. Res.*, **34**, 85-91 (1994)
9. Choi, C.S., Park, S.G., Youn, Y.D., Chung, S.I. and Yang, Y.T. : *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)
10. Lim, S.Y., Lee, D.H., Park, S.H. and Kim, C.M. : Characteristics of *Yersinia enterocolitica* isolated from foods. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31**, 183-188 (1999)
11. Delmas, C.L. and Vidon, D.J.M. : Isolation of *Y. enterocolitica* and related species from food in France. *Appl. Environ. Microbiol.*, **50**, 767-771 (1985)
12. Tassinari, A., Franco, B.D.G. and Landgraf, M. : Incidence of *Yersinia* spp. in foog in Sao Paulo, Brazil. *Int. J. Food Microbiol.*, **21**, 262-270 (1994)
13. Lee, Y.K. : Biological, serological and molecular typing of *Y. enterocolitica* isolated from spring water in seoul. *Ph.D Dissertation*, Dankook University (1999)
14. Georg, K. : *Y. enterocolitica* and *Yersinia* like microbes isolated from mammals and water in Norway and Denmark. *Acta Path. Micribiol. Scand Sect. B*, **85**, 129-135 (1977)
15. Cover, T.L. and Aber, R.C. : Medical progress-(*Yersinia enterocolitica*). *N. Eng. J. Med.*, **321**, 16-24 (1989)
16. Kapperud, G. : *Yersinia enterocolitica* in food hygiene. *Int. J. Food Microbiol.*, **12**, 53-65 (1991)
17. AktugGonul, S. and Karapmar, M. : The microbiological quality of drinking water supplier of Izmir city: The incidence of *Yersinia enterocolitica*. *Int. J. Food Microbiol.*, **13**, 69-72 (1991)
18. Highsmith, A.K., Feeley, J.C., Skaliy, P., Wells, J.G. and Wood, B.T. : Isolation of *Yersinia enterocolitica* from well water and growth in distilled water. *Appl. Environ. Microbiol.*, **34**, 745-748 (1977)
19. Joo, H.J., Chung, K.H., Kim, Y.M., Kim, S.G., Park, M.S., Chang, J.K. and Shin, S.W. : An outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis*. *J. Korean Ped. Assoc.*, **33**, 341-350 (1990)
20. Stophan, D., Weagant, P.F. and John, T.S. : *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis*. In *Bacteriological Analytical Manual*, 7th ed., Food and Drug Administration, Gaithersburg, USA (1992)
21. Fukushima, H., Tsubokura, M., Oksuki, K. and Kawaoka, Y. : Biochemical heterogeneity of serotype O:3 strains of 700 *Yersinia* strains isolates from humans, other mammals, flies, animal feed, and river water. *Curr. Microbiol.*, **11**, 149-154 (1985)
22. Bauer, A.W., Kirby, W.M.M. and Sherris, J.C. : Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, **45**, 493-496 (1966)
23. National Committee for Clinical Laboratory Standards : Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests (Approved Standard, M2-M5). Villanova, PA, National Committee for Clinical Laboratory Standards (1993)
24. Nam, S.W., Kwon, E.R., Park, S.K., Bing, S.H. and Kim, J.Y. : A research on the *Y. enterocolitica* isolated from mineral spring water in Taejon metropolitan city. *The Report of Public Health and Environment Institute of Taejon Metropolitan City*, **2**, 7-21 (2000)
25. Choi, S.M., Chung, J.H., Cha, H.G., Kang, Y.H., Kim, Y.R. and Lee, K.H. : Studies on isolation and pathogenicity of *Yersinia* from mineral spring water in Kyengnam area. *The Report of Public Health and Environment Institute of Kyongsangnamdo*, **5**, 34-62 (1998)
26. Sydney Harvey, J.R., Greenwood, M.J. and Robert, M.A.H. : Recovery of *Y. enterocolitica* from streams and lacks of California. *Appl. Environ. Microbiol.*, **32**, 352-354 (1976)
27. Lee, H., Choi, S.M., Ham, H.J., Lee, Y.G., An, M.J., Choi, C.M. and Oh, S.K. : Studies on comparison of detection method for *Yersinia* spp. and antibiotic resistance of isolates. *The Report of Public Health and Environment Institute of Seoul*, **12**, 3-9 (1998)
28. Park, S.G., Choi, S.M., Oh, Y.H. and Choi, C.S. : Biotype, serotype and antimicrobial susceptibility of *Yersinia enterocolitica* isolated from cattle. *J. Korean Soc. Microbiol.*, **28**, 453-458 (1993)

(2001년 6월 1일 접수)