

## 서울시내 수계시설에서 분리된 *Legionella* spp.의 병원성에 대한 분자역학적 연관성

김진아\* · 정지현 · 김수진 · 진영희 · 오영희 · 한기영

서울특별시 보건환경연구원 역학조사팀

레지오넬라균은 치명적인 폐렴을 일으킬 수 있는 균으로서, 기후 온난화와 함께 노출의 수위가 높아지고 있는 병원성균이다. 본 연구는 2008년 6월부터 8월까지 서울시내 25개구 소재 수계시설에서 분리한 레지오넬라균 73개주에 대해 혈청형, *Dot/Icm*라 일컬어지는 병원성 유전자 분석 그리고 Pulsed field gel electrophoresis (PFGE)를 실시하여 유전자형과 그들 사이의 상관관계를 파악하였다. 73개주 중 69주는 *Legionella pneumophila*로 혈청형의 분포는 sg1 43주, sg6 9주, sg5 8주, sg3 8주, sg2 1주로 파악되었으며, *Legionella* spp. 4개주는 *Legionella nautarum*였다. 분리된 *Legionella pneumophila* 대부분이 여러 개의 병원성 유전자를 보유하고 있었으며, 반면에 *Legionella nautarum*은 병원성 유전자가 많이 결핍되어 있었다. PFGE pattern을 분석해 볼 때, *Legionella pneumophila*가 동일한 혈청형안에서 다양하게 분화되어감을 볼 수 있었으며, 병원성 유전자의 분포와 깊은 상관관계를 보였다.

**Key words** □ *dot/icm*, *Legionella*, pathogenicity, PFGE

레지오넬라증(Legionellosis)은 레지오넬라 폐렴(폐렴형)과 열성 질한인 폰티악열(비폐렴형)의 2가지 임상증상을 가지는 호흡기질환으로 레지오넬라균의 감염에 의해 발병한다(7). 특히 어린이나 노약자, 환자와 같이 면역력이 떨어진 개체에 대해서 치명적인 폐렴을 유발한다. 레지오넬라균은 자연계의 토양과 수환경(하천, 호수, 강 등) 내에 범(凡)환경적으로 존재하며 환경 속에서 자연적인 변동을 지속한다(8). 이러한 레지오넬라균이 여러 가지 경로를 통하여 인공의 수계시설로 유입이 되면서 인간에게 새로운 병원균으로서 작용을 하게 되었다. 인공의 수계시설로는 건물의 냉각 순환수로 사용되는 냉각탑을 비롯하여, 목욕탕, 분수, 샤워 시설 등이 있으며, 이러한 시설 등에 대한 접근 빈도는 상당히 높다. 남녀노소를 불문하고 불특정 다수인의 접근이 쉽게 이루어지고 지구온난화가 가속화되면서 냉방기를 비롯한 수계시설에의 접근빈도가 급증하고 있는 상황에서 레지오넬라균에 대한 정보와 연구가 더욱 필요하며, 이는 전염병의 예방 및 전파차단에 중요하다 하겠다.

레지오넬라균으로 하여금 사람에 대한 병원성을 가지게 하는 유전자에는 *mip* (macrophage infectivity potentiator)가 대표적이며, *Legionella pneumophila*를 다른 레지오넬라균에 대하여 구별할 수 있게 하는 표적 유전자이기도 하다(1, 14). 이 *mip* 유전자는 효과적으로 초기의 macrophage 내 감염을 일으키게 하는 역할을 한다(5, 10). 또한 레지오넬라균은 세포 내에서 숙주 세포의 phagosome-lysosome fusion을 막음으로써 숙주 세포 내에서 증식하여 결국 숙주 세포를 죽이는 병원성을 나타내게 되는데, 이

때 phagosome-lysosome fusion을 막는 역할을 하는 유전자가 *icm* (intracellular multiplication)이다(3, 12, 18). *dot* (defective for organelle trafficking) 유전자는 세포들 사이에서 plasmid DNA의 이동이 가능하게끔 하는 것으로 추정되어지는 세포막의 복합체를 만든다. 그러므로 *dot* 유전자가 결핍되어있는 개체는 숙주 세포로의 접근성의 결여로 인해 병원성이 떨어지게 된다(2, 18). 결국 *icm/dot* 유전자는 레지오넬라균에 있어서 세포 내 감염, 성장, 증식에 필수적이며, 이로 인하여 사람의 macrophage의 apoptosis를 유발하고(20) 사람에 대한 병원성을 나타내게 된다(4, 9, 13).

본 연구는 2008년 6월부터 8월까지 서울시 25개구 소재 대형 찜질방을 비롯한 목욕시설과 병원의 욕탕수 및 샤워수, 대형건물의 냉각탑수로부터 레지오넬라균을 검출하였다. 그리고 분리주들의 혈청형, 병원성 유전자의 파악 및 Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) pattern을 분석하고 각 요소들 간의 연관성을 파악하고자 하였다. 그러므로써 현재 서울시에 상존하고 있는 레지오넬라균의 유전적 상관관계 및 병원성에 대한 역학 자료 마련을 그 목적으로 한다.

### 재료 및 방법

#### 시료준비 및 균 검출

2008년 6월부터 8월까지 서울시 25개구 소재 대형 찜질방, 목욕탕, 사우나 등 목욕시설의 탕내온수, 샤워온수 및 병원시설의 샤워수, 수도꼭지수, 대형건물의 냉각탑수를 대상으로 총 708건에 대하여 일제히 레지오넬라균 검출 실험을 실시하였다. 대상 시료 1L를 여과한 다음 그 여과지를 잘게 분쇄하여 멸균증류수 20 ml에 넣어서 강하게 와류한 다음, 50°C에서 30분간 열처리한

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 82-10-5133-3624, Fax: 82-2-570-3418  
E-mail: kja0324@seoul.go.kr

후 이것을 검액으로 하였다. 검액 0.1 ml과 0.01 ml을 GVPC (glycine-vancomycin-polymyxin B-colistatin)를 첨가한 BCYE- $\alpha$  (buffered charcoal yeast extract-ketoglutarate) 선택배지에 각각 도말한 후, 37°C에서 7일간 배양하였다. 이 후 해부현미경 상에서 cut-glass의 형태를 띠는 집락에 대해 BCYE- $\alpha$ , L-cystein 결핍 BCYE- $\alpha$ , 혈액한천배지에 계대 배양하여 BCYE- $\alpha$ 에서는 생장하지만, 후술 2가지의 배지에서는 생장하지 않는 그람 음성간균을 레지오넬라균으로 동정하였다(16).

**Serotype 동정**

*Legionella pneumophila*에 대한 serotype은 serotyping kit (Denka Seiken, Japan)을 사용하여 동정하였다. 생리식염수에 분리균을 진하게 푼 다음 100°C에서 1시간 또는 120°C에서 15분간 가열처리한 후, 슬라이드 응집 시험법에 의한 항혈청-항원액 반응으로 1분 이내에 강한 응집을 보이는 혈청을 혈청형으로 하였다(6, 16).

*Legionella* spp.는 염기서열을 분석한 후 NCBI의 GenBank와 비교하여 serotype을 확인하였다.

**PCR을 이용한 mip, icm, dot 유전자의 검출**

분리균주들에 대하여 16S rRNA 및 mip 유전자(Table 1)에 대한 PCR (polymerase chain reaction)을 실시하여 *Legionella pneumophila*와 *Legionella* spp.을 분류하였다. 반응조건은 95°C에서 5분간 initial denaturation한 후, 95°C에서 1분, 60°C에서 1분, 72°C에서 1분간의 cycle을 30회 반복한 후 최종 72°C에서 5분간 증폭시켰다. 같은 분리균주들에 대하여 icmTSRQ, icmJB, icmWX, icmLK, dotDCB primer (17)(Table 1)를 이용하여 각각의 유전자가 존재하는지 확인하였다. 반응조건은 95°C에서 5분간 initial denaturation한 후, 95°C에서 1분, 55°C에서 1분, 72°C에서 1분 30초간의 cycle을 30회 반복한 후 최종 72°C에서 5분간 증폭시켰다. 이 PCR 산물을 1.5% agarose gel을 이용하여 전기영동한 후 유전자의 유무를 확인하였다.

**Pulsed field gel electrophoresis (PFGE)**

BCYE 한천배지에서 72시간 이상 배양한 실험균주를 cell suspension용 TE buffer (100 ml Tris, 100 mM EDTA, pH 7.5)에 현탁하여 탁도를 13~15%가 되게 조정후, proteinase 10  $\mu$ l와 균 현탁액 200  $\mu$ l를 혼합한다. 균 현탁 혼합액 200  $\mu$ l에 1.2% agarose solution을 동량 첨가하여 plug mold에서 4°C, 5분간 성형시킨다. Proteinase K (20 mg/ml stock) 40  $\mu$ l와 ES buffer 1.5 ml의 혼합액에 균 현탁 plug를 넣어서 55°C 진탕 항온수조에서 2시간동안 처리한 후, 55°C의 멸균증류수로 15분간 1회, 55°C의 Plug Wash TE buffer로 30분간 5회 세척하였다. 세척이 끝난 plug를 1 mm 두께로 자른 다음, SfiI이 첨가된 반응 혼합액에 넣어 50°C 항온수조에서 2시간동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 plug를 gel 성형용 comb에 위치시킨 다음, 1% agarose를 gel 성형틀에 부어 균현 후 CHEF Mapper PFGE system (BioRad, USA)를 이용하여 gradient 6.0 V/cm, included angle 120°, initial time 2.16 sec, final time 54.17 sec의 조건으로 14°C에서 18시간 동안 전기영동을 실시하였다. EtBr (0.5  $\mu$ g/ml) 용액에서 gel을 30분간 염색한 후, 증류수로 탈색과정을 거친 다음 transilluminator를 이용하여 밴드를 확인하였다. PFGE 결과는 BioNumerics software version 3.5 (Applied Maths, Belgium) 를 이용하여 dendrogram을 작성하여 분석하였다.

**결 과**

**분리균주의 혈청형**

*Legionella pneumophila*로 동정된 분리균주의 혈청형 분포는 1형이 43주(62.3%), 6형이 9주(13.0%), 5형이 8주(11.6%), 3형이 8주(11.6%), 2형이 1주(1.4%)로 확인되었다(Table 2).

Seung 등(16)의 결과와 비교해 볼 때 전년도에 검출되지 않았던 *Legionella* spp.가 4주 검출되었으며, *Legionella pneumophila*의 혈청형의 분포는 전년도에 비해 시료 채취지역의 확대에도 불구하고 검출빈도의 순서는 달라진 바가 없고, 4형은 여전히 검

**Table 1.** Primer sequence used in this study

| Primer   | Sequence (5' → 3')  | Product size |
|----------|---|--------------|
| 16S rRNA | F : AGGGTTGATAGGTTAAGAGC<br>R : CAACAGCTAGTTGACATCG               | 386 bp       |
| mip      | F : GGTGACTGCGGCTGTTATGG<br>R : GGCCAATAGGTCCGCCAACG              | 630 bp       |
| icmTSRQ  | F : CACAGTTAAAACCTCAAGCTGAACC<br>R : CTGCTCAGAGCTATTTTT           | 2.1 kb       |
| icmJB    | F : TGCCATGTTCTTTTTTGIGCTATTAC<br>R : GAGCGTAAACCAGATCAATCCAAGTAG | 1.8 kb       |
| icmWX    | F : TGGGTTGGTTCCTGAGGATGA<br>R : TGGGGCGCTGAAATTTTGATAT           | 1.0 kb       |
| icmLK    | F : CGGAAGGCTGGGACCAATT<br>R : CCACTCGATAATCCACGGCTTTC            | 1.0 kb       |
| dotDCB   | F : CGATTGGTCTGGTCCGATTGA<br>R : TCTCGAATAATGGAAGCTAACAATGTC      | 1.6 kb       |

**Table 2.** Descending order of serogroup of *L. pneumophila*

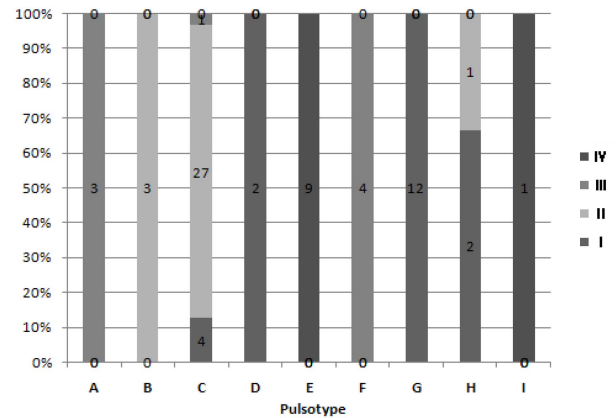
| Species               | Serogroup | Number of isolates (%) |
|-----------------------|-----------|------------------------|
| <i>L. pneumophila</i> | 1         | 43(62.3%)              |
|                       | 6         | 9(13.0%)               |
|                       | 3         | 8(11.6%)               |
|                       | 5         | 8(11.6%)               |
|                       | 2         | 1(1.4%)                |
|                       | 4         | 0                      |
| Total                 |           | 69                     |

출되지 않았다. 6형의 경우 절반정도의 검출률에 그쳤는데 이는 2007년에 6형이 대다수 검출된 서대문구에서의 시료건수 및 검출건수가 전체대비 감소한 영향으로 보여진다. 그럼에도 여전히 6형의 검출빈도가 1형을 제외한 다른 혈청형의 검출빈도보다 높 이 나타난 것을 볼 때, 우리나라에 우세하게 상존하는 레지오넬라 혈청형인 것으로 예측할 수 있다.

*Legionella* spp. 균주의 경우에는 보유하고 있는 항혈청으로 동정이 되지 않아 염기서열 분석방법을 이용하였다. 그 결과 4주 모두 *Legionella nautarum*으로 동정되었다.

#### PCR을 이용한 유전자의 검출

분리균주 73주 모두에서 16S rRNA가 검출되었고 4건의 *Legionella* spp.를 제외한 68주에서는 모두 *mip* 유전자가 검출됨으로써 *Legionella pneumophila*임이 확인되었다. *Legionella pneumophila*의 22-kb DNA locus에 위치하고 있는 18개의 유전자 중 16개가 *icm* 유전자로써 macrophage killing이나 접합 (conjugation)에 일부 관여하게 되고(15), *dot* 유전자는 약 20-kb 정도 크기의 region I과 II로 나뉘어져 있으며 이 유전자에서 만들어지는 단백질은 접합에 관여하거나, 세포막과 관련되어 있어서 이 유전자가 결여된 균주는 DNA의 이동이 어렵게 된다(18). 그러므로 *icm/dot* 유전자는 레지오넬라균으로 하여금 숙주세포로의 접근부터 최종적으로 숙주세포로부터의 탈출까지 모든 과정에 영향을 끼치는 요소라 할 수 있다. 본 연구에서 분리된 *Legionella pneumophila* 중에서 *icm*TSRQ, *icm*JB, *icm*WX, *icm*LK, *dot*DCB가 모두 검출된 균주는 20주였고, 이 중 네 가지만 검출된 균주는 39주, 세 가지만 검출된 균주는 10주였고 그 이하로 검출된 균주는 없었다. 검출된 5가지 병원성 유전자의 조합에 의하여 I, II, III, IV, V, N형으로 정리하였다. I형은 *icm*TSRQ-*icm*JB-*icm*WX-*icm*LK-*dot*DCB, II는 *icm*TSRQ-*icm*JB-*icm*WX-*icm*LK-ND, III형은 *icm*TSRQ-*icm*JB-ND-*icm*LK-*dot*DCB, IV형은 ND-*icm*JB-ND-*icm*LK-*dot*DCB, 그리고 기타 V형은 한 개 내지 두 개의 유전자를 가지고 있는 균주이고, 한 가지도 가지지 못한 균주는 N형으로 표시하였다(Fig. 1). 반면 본 실험에서 분리된 *Legionella nautarum*에서는 병원성 유전자의 검출이 확연히 감소하였다. 한 가지만 검출된 균주가 1주였고, 나머지 3주에서는 한 가지도 검출되지 않았다. 이는 *Legionella* spp.가 *Legionella pneumophila*에 못지않게 병원성 유전자를 보유하고 있었던 Terry Alli 등의 연구결과(17)와는 많이 다른 것으로, 본 실험에서 분리된 *Legionella* spp.는 *Legionella pneumophila*에 비해



**Fig. 1.** A cumulative bar graph showing contribution of pathogenic gene patterns to each pulsotype. A, B, D, E, F, G, and I pulsotype consist of their one pathogenic pattern. The number in each bar means the number of isolates.

병원성이 많이 결여되어 있다 할 수 있겠다. Seung 등(16)의 결과와 비교해 보면, 2007년도에는 한 건도 검출되지 않았던 *Legionella* spp.가 2008년도에는 4건이 검출되었다. 이는 앞으로 *Legionella* spp.가 얼마든지 검출될 수 있음을 시사하고 있으며, 그 중에는 높은 병원성을 내재하고 있는 균주의 출현가능성도 아울러 시사하고 있다. 그러므로 레지오넬라균의 검출뿐만 아니라 균주의 병원성에 대한 지속적인 감시도 필요하다 하겠다.

#### PFGE 패턴 분석

Fig. 2는 plug를 *Sfi*I를 사용하여 처리한 PFGE 결과를 clustering 한 것이다. 65% 이상의 상동성을 기준으로 하여 A~J까지 10개의 유형으로 pulsotype을 나누었고, 이를 다시 82% 이상의 상동성을 기준으로 A는 A1~A2, B는 B1~B2, C는 C1~C4, D는 D1~D2, E는 E1~E2, F는 F1~F2, G는 G1~G5, H는 H1~H2, J는 J1~J3의 subtype으로 각각 분류하였다. *Legionella pneumophila* 중 가장 많은 유형은 C pulsotype으로 69주 중 32주로 46.4%였으며, 그 외 G pulsotype 17.4%, E pulsotype 13.0%, F pulsotype 5.8%, A, B, H pulsotype 4.3%, D, I pulsotype 각각 2.9%, 1.4%로 다양한 유전적 양상을 보였다. Lee 등(11)의 결과와 마찬가지로 서울지역에서 분리되는 레지오넬라균의 유전형이 다양함을 나타내고 있다. C pulsotype을 분석해 보면(Table 3 and Fig. 2), 32주 중 29주가 serogroup 1으로서 높은 상관관계를 나타내고 있으나, serogroup 6의 C1, serogroup 3의 C2는 다른 C 균주들과 상동성 66.3%로서 연관성이 다소 떨어졌다. C3의 28주는 상동성이 89.5%로 동일한 유래의 균주로 추정되고, 지역적으로 집중됨이 없이 고루 출현함을 볼 때, 이 유래 균주가 서울 전 지역으로 퍼져 있음을 추측할 수 있다. C4 두 균주 역시 상동성 90%로 같은 균주로 추정된다. D의 두 균주, F의 4균주는 모두 serogroup 1으로 나타났지만 D1, D2는 69.6%로 다른 유래균이며, F1 세 균주는 모두 강남지역에서 분리된 균으로서 상동성 82.6%로 같은 유래균이라 추정할 수 있다. 하지만 F2는 상동성이 떨어져서 다른 F 균주와는 다른 균이라 추정된다. H 균

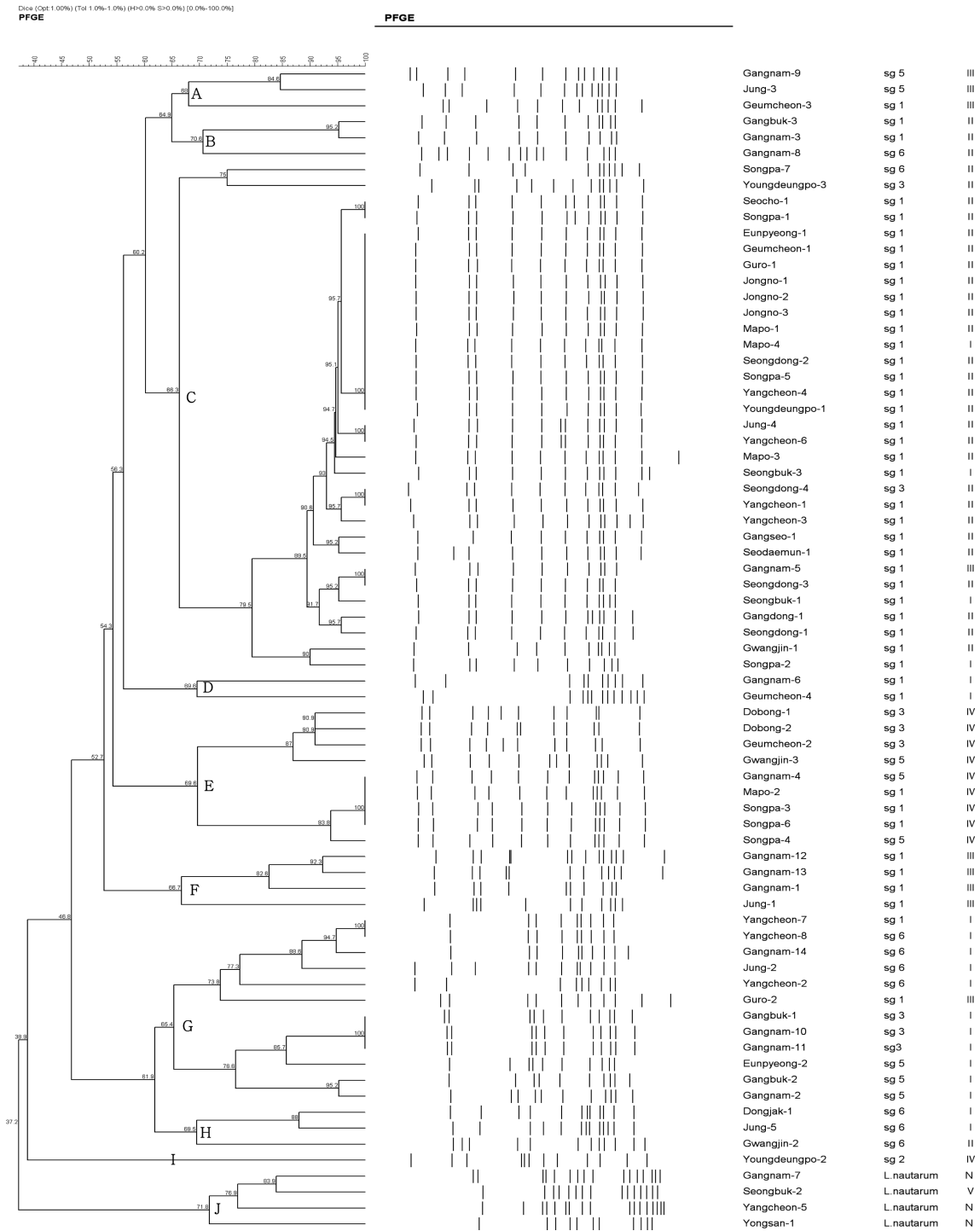


Fig. 2. Dendrogram showing the clustering of PFGE patterns after *Sfi*I digestion for the *Legionella* spp.

주 중 H1 두 균주는 상동성 88%, serogroup 6으로 동일 유래균이지만, H2는 serogroup은 6이나 상동성이 많이 떨어짐으로 인해 다른 균주라 할 수 있다. Seung 등(16)의 결과와 비교해 봤을 때, 그 외의 pulsotype은 serogroup에 따른 특이점이나 공통점을 보이지 않는 결과를 알 수 있으며 이는 레지오넬라균이 같은 serogroup이라 할지라도 유전형이 다양하게 분화되어감을 보여주

고 있다. 본 연구에서 유일하게 출현한 serogroup 2는 유전적 연관관계가 다른 *Legionella pneumophila*에 대해 상동성이 40%이하로 떨어짐으로써 독립적인 유전형을 형성하고 있다. 또한 4주의 *Legionella nautarum*은 예상했던 대로 *Legionella pneumophila*에 대해 낮은 상동성(37.2%)를 보여주고 있다.

**Table 3.** Categories of PFGE pattern, serogroup, and pathogenic gene pattern of *Legionella* spp. isolates

| PFGE pattern | PFGE sub-pattern | Sample name    | Serogroup | Pathogenic gene pattern |
|--------------|------------------|----------------|-----------|-------------------------|
| A            | A1               | Gangnam-9      | sg 5      | III                     |
|              |                  | Jung-3         | sg 5      | III                     |
|              | A2               | Geumcheon-3    | sg 1      | III                     |
| B            | B1               | Gangnam-3      | sg 1      | II                      |
|              |                  | Gangbuk-3      | sg 1      | II                      |
|              | B2               | Gangnam-8      | sg 6      | II                      |
| C            |                  | Songpa-7       | sg 6      | II                      |
|              | C1               | Youngdeungpo-3 | sg 3      | II                      |
|              | C2               | Yangcheon-1    | sg 1      | II                      |
|              | C3               | Yangcheon-3    | sg 1      | II                      |
|              |                  | Yangcheon-4    | sg 1      | II                      |
|              |                  | Yangcheon-6    | sg 1      | II                      |
|              |                  | Jung-4         | sg 1      | II                      |
|              |                  | Guro-1         | sg 1      | II                      |
|              |                  | Geumcheon-1    | sg 1      | II                      |
|              |                  | Mapo-1         | sg 1      | II                      |
|              |                  | Mapo-3         | sg 1      | II                      |
|              |                  | Mapo-4         | sg 1      | I                       |
|              |                  | Seongdong-1    | sg 1      | II                      |
|              |                  | Seongdong-2    | sg 1      | II                      |
|              |                  | Seongdong-3    | sg 1      | II                      |
|              |                  | Seongdong-4    | sg 3      | II                      |
|              |                  | Songpa-1       | sg 1      | II                      |
|              |                  | Songpa-5       | sg 1      | II                      |
|              |                  | Youngdeungpo-1 | sg 1      | II                      |
|              |                  | Eunpyeong-1    | sg 1      | II                      |
|              |                  | Jongno-1       | sg 1      | II                      |
|              |                  | Jongno-2       | sg 1      | II                      |
|              |                  | Jongno-3       | sg 1      | II                      |
|              |                  | Seocho-1       | sg 1      | II                      |
|              |                  | Seongbuk-1     | sg 1      | I                       |
|              |                  | Seongbuk-3     | sg 1      | I                       |
|              |                  | Gangseo-1      | sg 1      | II                      |
|              |                  | Seodaemun-1    | sg 1      | II                      |
|              |                  | Gangnam-5      | sg 1      | III                     |
|              |                  | Gangdong-1     | sg 1      | II                      |
|              | C4               | Gwangjin-1     | sg 1      | II                      |
|              |                  | Songpa-2       | sg 1      | I                       |
| D            | D1               | Gangnam-6      | sg 1      | I                       |
|              | D2               | Geumcheon-4    | sg 1      | I                       |
| E            | E1               | Geumcheon-2    | sg 3      | IV                      |
|              |                  | Dobong-1       | sg 3      | IV                      |
|              |                  | Dobong-2       | sg 3      | IV                      |
|              | E2               | Gwangjin-3     | sg 5      | IV                      |
|              |                  | Gangnam-4      | sg 5      | IV                      |
|              |                  | Mapo-2         | sg 1      | IV                      |
|              |                  | Songpa-3       | sg 1      | IV                      |
|              | Songpa-4         | sg 1           | IV        |                         |
|              | Songpa-6         | sg 5           | IV        |                         |
| F            | F1               | Gangnam-1      | sg 1      | III                     |
|              |                  | Gangnam-12     | sg 1      | III                     |
|              |                  | Gangnam-13     | sg 1      | III                     |
|              | F2               | Jung-1         | sg 1      | III                     |

**Table 3.** Categories of PFGE pattern, Serogroup, and Pathogenic gene pattern of *Legionella* spp. isolates (continued)

|    |            |                |      |    |
|----|------------|----------------|------|----|
| G  | G1         | Yangcheon-7    | sg 1 | I  |
|    |            | Yangcheon-8    | sg 6 | I  |
|    |            | Gangnam-14     | sg 6 | I  |
|    |            | Jung-2         | sg 6 | I  |
|    | G2         | Yangcheon-2    | sg 6 | I  |
|    |            | Guro-2         | sg 1 | I  |
|    | G3         | Gangnam-10     | sg 3 | I  |
|    |            | Gangnam-11     | sg 3 | I  |
|    | G4         | Gangbuk-1      | sg 3 | I  |
|    |            | Eunpyeong-2    | sg 5 | I  |
|    |            | Gangnam-2      | sg 5 | I  |
|    | G5         | Gangbuk-2      | sg 5 | I  |
| H1 |            | Dongjak-1      | sg 6 | I  |
|    | Jung-5     | sg 6           | I    |    |
|    | Gwangjin-2 | sg 6           | II   |    |
| H2 |            |                |      |    |
| I  | I1         | Youngdeungpo-2 | sg 2 | IV |

### 고찰

레지오넬라균은 환경에서 유래하여 사람에게 병원균으로 작용하는 균으로서, 타 *Legionella* spp.에 비해 높은 병원성을 가지는 것으로 알려져 있는 *Legionella pneumophila*만 하더라도 그 혈청형이 십 수 가지에 이르는 것을 볼 때, 인공의 수계시설에서 분리한 레지오넬라균의 유전적인 다양성을 충분히 예측할 수 있다 (11, 16). Fig. 1과 Table 3을 보면 A pulsotype에 속하는 균은 serogroup은 다르지만 모두 III형의 pathogenic pattern을 가지고 있고, B는 모두 II형, D는 I형, E는 9주 모두가 IV형으로 이루어져 있으며, F는 III형, G는 12주 모두가 I형으로 이루어져 있다. 가장 많은 균주를 가지는 C형은 32주 중 27주가 II형의 pathogenic pattern을 보였고 본 실험에서 분리된 *Legionella nautarum*은 V형 또는 N형으로 파악되었다. 이 결과는 PFGE pattern과 pathogenic gene pattern이 유의한 관계에 있음을 보여 주고 있으며, PFGE pattern 분석에 의한 병원성의 예측을 가능하게 한다. *Icm/Dot* 유전자는 레지오넬라균으로 하여금 병원성을 갖게 하는 대표적인 유전자로서, 레지오넬라균이 인체를 숙주로 하여 생존할 수 있게끔 하는 필수적인 요소이다(3, 18, 19 etc). 그러므로 유전자의 측면에서만 단언하자면, *Icm/Dot* 유전자의 有無, 多少에 따라 레지오넬라균의 병원성을 가늠해 볼 수 있다는 것이다. 연장선상에서 본 실험의 I~V형, N형의 pathogenic gene pattern에 의미를 부여하자면, I>II=III>IV>V>N의 순으로 병원성을 가진다 할 수 있다. 본 연구의 레지오넬라균의 pathogenic gene pattern은 II형이 가장 많은 30주로 41.1%를 차지했고, I형이 20주 27.4%, IV형 10주 13.7%, III형 8주 11%, N형 3주 4.1%, V형 1주 1.4%로 나타났다. 본 연구에서 분리된 *Legionella nautarum*의 양상과는 달리 *Legionella pneumophila*에서는 3개 이상의 유전자를 가진 균주가 100%였다. 단 한 주가 분리되었던 serogroup 2의 pathogenic gene pattern은 IV로서, *Legionella pneumophila* serogroup 2의 증식 및 분리가 떨어지는 것에 대한 한 가지 이유로서 유전적인 결론을 추측할 수 있겠다. 더불어 본 연구에서 분리되었던 3주의 *Legionella nautarum*

은 V형이거나 N형으로서 병원성이 많이 떨어짐을 추정할 수 있다.

73주의 분리주에 대하여 PFGE를 실시한 결과를 분석해 보았을 때, 혈청형에 따른 특이적인 pattern을 나타내는 pulsotype도 여전히 존재하였으나, 같은 혈청형일지라도 다른 pulsotype 및 pathogenic gene pattern으로 나타나는 경우로 미루어보아, *Legionella* spp.가 유전적으로 다양하게 분화되어감을 추측할 수 있었다. 또한 pulsotype과 pathogenic gene pattern의 밀접한 관련성을 확인할 수 있었으며, 이로써 PFGE분석을 통하여 *Legionella* spp.의 잠재적 병원성 추측에 대한 자료를 제공할 수 있을 것이다.

레지오넬라균에 대한 노출이 증가하고 있는 상황에서 레지오넬라균에 의한 위험의 예측은 공중보건상 중요하다. 앞으로 환경 뿐만 아니라 사람에서 분리한 레지오넬라균을 함께 연구, 분석하고, 더불어 genetic pathogenicity 뿐만 아니라 intracellular pathogenicity 연구를 병행함으로써 레지오넬라균에 대한 학문적 이해도를 더욱 심화할 수 있으며, 현실적으로 감염원과 감염경로의 파악 및 대책 수립에 유용한 자료를 제공할 수 있을 것이다.

### 참고문헌

- Amemura-Maekawa, J., F. Kura, B. Chang, and H. Watanabe. 2005. *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates from cooling towers in Japan form a distinct genetic cluster. *Microbiol. Immunol.* 49, 1027-1033.
- Berger, K.H., J.J. Merriam, and R.R. Isberg. 1994. Altered intracellular targeting properties associated with mutations in the *Legionella pneumophila dotA* gene. *Mol. Microbiol.* 14, 809-822.
- Brand, B.C., A.B. Sadosky, and H.A. Shuman. 1994. The *Legionella pneumophila icm* locus: a set of genes required for intracellular multiplication in human macrophages. *Mol. Microbiol.* 14, 797-808.
- Cianciotto, N.P. 2001. Pathogenicity of *Legionella pneumophila*. *Int. J. Med. Microbiol.* 291, 331-343.
- Cianciotto, N.P., B.I. Eisenstein, C.H. Mody, and N.C. Engleberg. 1990. A mutation in the *mip* gene results in an attenuation of

- Legionella pneumophila* virulence. *J. Infect Dis.* 162, 121-126.
6. Denka Seiken Co. 1998. Bacteriology product information. Denka Seiken Co. Ltd.
  7. Field, B.S., R.F. Benson, and R.E. Besser. 2002. Legionella and Legionnaires' disease: 25 Years of investigation. *Clin. Microbiol. Rev.* 15, 506-526.
  8. Fliermans, C.B., W.B. Cherry, L.H. Orrison, S.J. Smith, D.L. Tison, and D.H. Pope. 1981. Ecological distribution of *Legionella pneumophila*. *Appl. Environ. Microbiol.* 41, 9-16.
  9. Gal-Mor, O., T. Zusman, and G. Segal. 2002. Analysis of DNA regulatory elements required for expression of the *Legionella pneumophila* *icm* and *dot* virulence genes. *J. Bacteriol.* 184, 3823-3833.
  10. Khler, R., J. Franghnel, B. Knig, E. Lneberg, and M. Frosch. 2003. Biochemical and functional analyses of the Mip protein: Influence of the N-terminal half and of peptidylprolyl isomerase activity on the virulence of *Legionella pneumophila*. *Infect. Immun.* 71, 4389-4397.
  11. Lee, H.K., H.S. Yang, S.R. Hong, M.S. Park, S.K. Sim, B.C. Lee, and M.Y. Park. 2001. Molecular typing of *Legionella pneumophila* Korean isolates from 1985 to 2001. *The Report of National Institute of Health* 38, 18-30.
  12. Marra, A., S.J. Blander, M.A. Horwitz, and H.A. Shuman. 1992. Identification of a *Legionella pneumophila* locus required for intracellular multiplication in human macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 9607-9611.
  13. Molmeret, M., M. Santic, R. Asare, R.A. Carabeo, and Y. Abu-Kwaik. 2007. Rapid escape of the *dot/icm* Mutants of *Legionella pneumophila* into the cytosol of mammalian and protozoan cells. *Infect. Immun.* 75, 3290-3304.
  14. Nintasen, R., F. Utrarachkij, K. Siripanichgon, A. Bhumiratana, Y. Suzuki, and O. Suthienkul. 2007. Enhancement of *Legionella pneumophila* culture isolation from microenvironments by macrophage infectivity potentiator (*mip*) gene-specific nested polymerase chain reaction. *Microbiol. Immunol.* 51, 777-785.
  15. Segal, G., M. Purcell, and H.A. Shuman. 1998. Host cell killing and bacterial conjugation required overlapping sets of genes within a 22-kb region of the *Legionella pneumophila* genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 1669-1674.
  16. Seung, H.J., J.H. Jung, S.J. Kim, Y.H. Jin, S.M. Lee, M.S. Kim, and J.G. Kim. 2007. Molecular epidemiological study of *Legionella pneumophila* isolated from water systems in Seoul. *The Report of Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment* 43, 283-293.
  17. Terry Alli, O.A., S. Zink, N.K. von Lackum, and Y. Abu-Kwaik. 2003. Comparative assessment of virulence traits in *Legionella* spp. *Microbiology* 149, 631-641.
  18. Vogel, J.P., H.L. Andrews, S.K. Wong, and R.R. Isberg. 1998. Conjugative transfer by the virulence system of *Legionella pneumophila*. *Science* 279, 873-876.
  19. Vogel, J.P. and R.R. Isberg. 1999. Cell biology of *Legionella pneumophila*. *Curr. Opin. Microbiol.* 2, 30-34.
  20. Zink, S.D., L. Pedersen, N.P. Cianciotto, and Y. Abu-Kwaik. 2002. The *Dot/Icm* type IV secretion system of *Legionella pneumophila* is essential for the induction of apoptosis in human macrophages. *Infect. Immun.* 70, 1657-1663.

(Received March 27, 2009/Accepted April 28, 2009)

---

**ABSTRACT : Molecular Epidemiological Relationship of the Pathogenicity of *Legionella* spp. Isolated from Water Systems in Seoul**

**Jin-Ah Kim\*, Ji-Hun Jung, Soo-Jin Kim, Young-Hee Jin, Young-Hee Oh, and Gi-Young Han** (Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Gwacheon 427-070, Republic of Korea)

*Legionella* spp. is the causative agent of Legionellosis, which induces a potentially fatal form of pneumonia. With a concentrated performance during the summer of 2008, we secured 73 isolates from the water systems of 25 wards in Seoul. We analysed serotypes, pathogenic genes (*Dot/Icm*), and patterns of pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) in an attempt to confirm relationships among them. Different from the previous year's pattern (2007), among the isolates, 69 were *Legionella pneumophila* and 4 were *Legionella* spp. The serotype distribution of *Legionella pneumophila* was sg1 43, sg6 9, sg5 8, sg3 8, and sg2 1. The serotype for the 4 *Legionella* spp. was *Legionella nautarum*. Most of the *Legionella pneumophila* had several pathogenic genes. On the other hand, the 4 *Legionella* spp. were defective in pathogenicity in genomic terms. The PFGE patterns of the serotypes showed a tendency for diversity of *Legionella pneumophila* and a close correlation with genetic pathogenicity.