

경기도에서 분리된 *Campylobacter jejuni*의 유전자 패턴 분석 연구

김운호* · 최옥경 · 정진아 · 박성희 · 이예은 · 박광희 · 윤미혜

경기도보건환경연구원 감염병조사팀

Genetic analysis of *Campylobacter jejuni* isolates from diarrhea patients in Gyeonggi-do

Woon-Ho Kim*, Ok-Kyung Choi, Jin-A Jeong, Sung-Hee Park, Yea-Eun Lee, Gwang-Hee Park, and Mi-Hye Yoon

Team of Infectious Disease Investigation, Gyeonggi Province Institute of Health & Environment, Suwon 16205, Republic of Korea

(Received October 18, 2017; Revised January 16, 2018; Accepted January 23, 2018)

Campylobacter jejuni is an important food-borne pathogen causing gastroenteritis in human. We isolated 208 strains of *Campylobacter jejuni* from 430 diarrhea patients and food employees with 17 food-poisoning outbreaks between 2014 and 2016 in Gyeonggi area. The strains were tested for genetic relationship and the genotype distribution using PFGE and multiplex-PCR typing. Among the 47 Penner-serotypes known for *C. jejuni*, it was identified as a genotype consisting of 35 genotypes by multiplex-PCR typing and represented 7 genotypes (HS2, HS4A, HS8, HS15, HS29, HS41, and HS53) in the selected strain. From the PFGE analysis of 11 food-poisoning outbreaks, 5 group of PFGE profile were obtained, and genetic similarity in these clusters ranged from 61.8 to 66.6%. This study examines the genetic diversity of *C. jejuni* that have been separated in the Gyeonggi area through various genetic analysis methods and identifies the correlation between strains in patients who have been infected with the disease in the future.

Keywords: *Campylobacter jejuni*, multiplex-PCR typing, PFGE

캠필로박터 제주니 균은 세균성위장관감염증을 일으키는 수인성식품매개질환의 중요한 원인균으로 선진국에서는 병원성대장균, 살모넬라균과 함께 중요한 식중독 원인세균으로 알려져 있다(Altekruse *et al.*, 1999). 캠필로박터 제주니 균은 나선형 막대기 모양의 세균으로 대부분의 종은 한쪽 끝 또는

양쪽 끝에 극성 편모를 가지고 있으며, 이로 인해 매우 특징적인 코르크-스크류(cork-screw) 형태의 운동성을 보인다. 또한 5~10% 산소에서 주로 증식하는 미 호기성 균이며 42°C에서 잘 증식하기 때문에 호열성 균으로 분류된다(EFSA, 2005).

캠필로박터 제주니 균의 분리와 동정은 항생제가 첨가되어 있는 mCCDA (modified Charcoal Cefoperazone Deoxy cholate Agar) 배지에 접종하여 미 호기성 조건(5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂)으로 42°C에서 48시간 배양한 후, API CAMPY kit (bioMérieux)를 이용하여 생물학적 동정을 할 수 있다(Poly *et al.*, 2011).

임상증상은 묽은 설사, 변, 복통, 열, 메스꺼움, 구토 등을 나타내며 3일에서 5일 정도 지속되지만 증상이 심하지 않고 대부분 1주일 안에 치료되기 때문에 항생제 치료가 필요하지 않는 것으로 알려져 있다. 증상이 심한 경우 엘리트로마이신(erythromycin), 퀴놀론(quinolone), 테트라사이클린(tetracycline), 아지트로마이신(azithromycin) 등을 사용하는데 최근 항생제 저항성을 보이는 균들이 증가하고 있는 추세이다(Zaman, 1992; Szczepanska *et al.*, 2017). 주요원인으로는 요리하지 않은 가금류 식품을 취급한 경우, 덜 익은 가금류 식품을 섭취한 경우, 살균 처리되지 않은 생우유의 섭취 등이었다(Wei *et al.*, 2014).

또한 캠필로박터 제주니 감염증은 자가면역반응으로 인한 말초 신경계에 수초(myelin)가 소실됨으로써 유발되는 길랭-바레증후군의 주요 원인으로 알려져 있다(van den Berg *et al.*, 2014). 캠필로박터 제주니 균의 LOS (Lipo-Oligo-Saccharides)는 인간신경의 강글리오사이드(ganglioside)와 구조가 유사하여 캠필로박터 제주니 균에 대한 면역반응에 혼선이 생겨

*For correspondence. E-mail: uno2001@gg.go.kr;
Tel.: +82-31-250-2552; Fax: +82-31-250-2559

강글리오사이드에 대한 자가항체가 만들어짐으로써 신경 손상이 유발되는 것으로 추측되고 있다. 길랭-바레증후군과 연관된 캄필로박터 제주니 감염증은 주로 Penner heat-stable (HS) 혈청형 HS19와 HS41인 것으로 밝혀졌다(Takahashi et al., 2005). 이러한 분리경향을 구별하기 위해서는 환자와 환자 또는 감염원과 환자의 유전적 상관관계가 증명이 필요하다. 유전적 상관관계를 증명하기 위하여 혈청형 등의 표현형을 분석하는 방법과 MLST (multi-locus sequence typing), PFGE (pulsed-field gel electrophoresis), 또는 multiplex-PCR typing 등의 유전형을 분석하는 방법이 있다(Noormohamed and Fakhr, 2014).

국내에서는 캄필로박터 제주니 균의 분리율이 낮아 그 중요성이 낮게 평가 되어왔으나, 2014년부터 경기도내 식중독 발생률이 점진적으로 증가를 보이며, 그 원인은 우리나라 기상 조건이 온대에서 아열대로의 변동에 따른 기후 온난화, 배양방법의 발전, 닭고기 소비량 증가 등의 식생활의 변화 등 환경적 요인으로 예상된다(Jeong et al., 2017; Oh et al., 2017). 이러한 캄필로박터 제주니 균의 분리율 증가의 원인을 확인하기 위해 캄필로박터 제주니 균의 특성과 국내분리 경향, 감염원 등에 관한 고찰이 필요하다. 캄필로박터 제주니 균의 유전자학적 특성연구는 주로 pulsed field gel electrophoresis (PFGE) 나 multiplex-PCR typing법을 주로 사용하고 있다(Revez et al., 2014; Samosornasuk et al., 2015). 국내에서는 PFGE를 통한 환자에게서 분리된 캄필로박터 제주니 균의 유전학적 다양성에 대한 연구는 다수 보고 되었지만(Cha et al., 2014; Oh et al., 2017), multiplex-PCR typing법을 이용한 캄필로박터 제주니 균의 유전학적 특성연구는 거의 보고된 바가 없다.

본 연구에서는 경기도지역 집단식중독 설사환자로부터 분리된 캄필로박터 제주니 균의 PFGE를 통하여 유전적 상관관계를 확인하고 합병증을 유발할 수 있는 캄필로박터 제주니 균의 유전형을 구분할 수 있는 다양한 방법을 통하여 분석하였다. 또한 분석된 균 종간의 유전적 상관관계를 비교하고 유전형을 분석하여 캄필로박터 제주니 균에 의한 질환 발생 시역학 연구의 기초 자료를 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

캄필로박터 제주니 균의 분리 및 동정

2014년과 2016년 8월까지 경기도지역 식중독 발생되어 캄필로박터 제주니 감염증의 원인으로 확인된 17건의 식중독이 발생하였으며, 그 중 430명의 환자와 조리종사자에게서 균주를 분

리였다. 캄필로박터 제주니 균의 분리를 위해 mCCDA (Oxoid) 평판배지에 검체를 도말한 후 Campygen (Oxoid)를 첨가하여 42°C에서 48시간 동안 미호기 상태로 배양한 다음 원형 또는 불규칙한 형태의 회백색 집락을 순수 분리하였다. 분리된 집락은 campylobacter triplex PCR kit (Kogene), catalase, 그리고 API campy (bioMérieux)를 사용해 최종 동정하였다. 분리된 균주는 0.2% yeast extract, 20% glycerol, 5% FBS를 첨가한 BHI (Oxoid) 배지에 넣어 -70°C 초저온냉동고에 보관하였다가 실험에 사용하였다.

Multiplex-PCR (CPS typing)

Multiplex-PCR은 유전적 다양성을 가지고 있는 박테리아 표면에 탄수화물 구조의 합성 및 변형과 관련된 polysaccharide capsule (CPS)을 합성하는 유전자를 이용하였다. 이러한 CPS는 기존의 캄필로박터 제주니 균의 혈청형을 47개의 타입으로 구별할 수 있는 Penner type과 매우 일치하는 것으로 확인되어 캄필로박터 제주니 균의 유전형연구에 많이 사용되고 있다(Pike et al., 2013). Multiplex-PCR을 통한 유전형을 확인하기 위해 Poly 등(2015)의 방법을 참고하여 형-특이성을 갖는 프라이머쌍을 제작하였다. 47개의 혈청형으로 구별할 수 있는 Penner type을 기반으로 하여 35개의 프라이머쌍을 제작하였다(Table 1). 사용하는 프라이머의 수가 많기 때문에 4번에 나누어 수행하였으며 각 프라이머 혼합그룹을 편의상 α , β , γ , δ -mix로 구분하였고, PCR 생성물의 크기의 차이가 20개의 염기쌍 이상 날 수 있도록 구성하였다. 실험이 잘 되었는지 확인하기 위해 양성대조군으로 모든 캄필로박터 제주니 균에서 동일하게 확인가능 하고 매우 보존적인 유전자 *lpxA*를 γ -mix PCR의 331 bp에 확인할 수 있게 만들었다.

유전자의 PCR 반응은 추출한 주형 DNA (1~10 ng), forward 와 reverse primer (20 pmole/ μ l) 각각 1 μ l, PCR mastermix (Bioneer)를 사용하여 최종 20 μ l가 되게 하였다. PCR 조건은 94°C에서 5분간 pre-denaturation한 후 94°C에서 1분간 denaturation, 52°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분간 extension 조건으로 30 cycle 반복한 다음 72°C에서 10분간 post-extension 하였다. PCR 반응 후 생성물은 QiaExcel (Qiagen)에서 전기영동하여 결과를 확인하였다(Fig. 1).

PFGE (Pulsed-field gel electrophoresis)

혈액배지에 순수 분리된 균을 면봉에 묻혀낸 다음 cell suspension용 TE buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0)에 넣어 20%의 투명도로 현탁시켰다. 균 현탁액 200 μ l에 lysostaphin 20 μ l와 lysozyme 10 μ l를 섞고 37°C에서 20분간 반응시켰다.

Table 1. Nucleotide sequences of primers used in this study

Target	Forward sequence	Reverse sequence	Product size (bp)	Accession number
α -mix				
HS2	CAGCATTGGAGGATTTACAATATAT	CATCTAGCACAACTCACTTCA	62	AL111168
HS3	GGTAAGGTTGATTCTGGGTTTAAT	AGATTAGGCCAAGCAATGATAA	149	HQ343268
HS4A	TATATTTGGTTAGGGATCCA	CCTAACATATCATACTACTACGGT	370	HQ343269
HS6	CATACATTTGCTTTCAGATTCTTTAC	ACACGCCTATTGTTGTTGTTTC	185	NC009839
HS10	TCTTATGCAGCACGCTGAT	CAAATTCAATCGACTAGCCACT	229	HQ343271
HS15/31/58	ACAGGTAATAAAATGTGCGAGTTT	ATGCATCTGCAACATCATCC	325	HQ343271
HS41	CTTACATATGCTGGTAGAGATGATATG	TGCAATCTCTAAAGCCCAAG	279	BX545857
HS53	AGGCAAGCAGGAATTGTTT	TTAATTGCTCTTTGGCAATCTT	251	CP000025
HS19	CGAGGATGAAAATGCCTCAA	GGCAACAAAACAACATATTCAGA	450	BX545860
HS63	AAATTTGTTTTTCATATTTTTACGG	TTAGGTGCGGTTACCAAAAGG	522	KT893438
HS33/35	GTAGCGGATCAGCAGCATTAA	CATCAAAATCATCTTTTAACACCAA	819	KT893436
β -mix				
HS1	TTGGCGGTAAGTTTTTGAAGA	GCAAGAGAAACATCTCGCCTA	610	BX545859
HS4B	GTGGACATGGAACCTGGGACT	AAAACGTTTAAAGTCAGTGGAAA	652	AASY0100000
HS8/17	TTCACGTGGAGGATTATTGG	TTGAACATTTTCATGTGTATTCCTA	342	HQ343270
HS23/36	GCTTGGGAGATGAATTTACCTTTA	GCTTTATATCTATCCAGTCCATTATCA	161	BX545858
HS42	ATGGTAAAACCGGCATTTC	ATGCTTCAGTTCACCCAAA	440	HQ343274
HS57	GGGGTAAAATAGCCAATATTCCA	CCAACAAGCCATATTTGTTTTTC	100	KT893428
HS12	GGAGGTAAAACGATATTCTCCTTAAA	TGAAGATTTTGAATGGATGTGTG	201	KT868848
HS27	GAATAAATATTGCTTCCATACTTTCAA	GCAAAATGAGAATCTCCACCA	280	KT893437
HS21	TGGATGGGATATTGATGACAA	CCCTGGAAGAGTATGGGACA	801	KT868849
HS5/31	GGCAAAGAGCTTTATTTTGTGA	GCCGTAGCAACATCAAATACA	857	KT868847
γ -mix				
HS44	AGAAGATGCACTAGGCTCTAG	GCTATCTAATCCATCCCTG	148	JF496678
HS5/32/45/60	TCCACTTGGGATGAAAAGGA	ACCGCATACTTTGAGCCTGT	128	KT893432
HS29	CCCATATTTAAACAATGGAGTGA	TCATACTTTGAAAAACATTATCTGGA	185	KT868846
HS22	TCATGGAGCTGGAACAACAG	GCTGGAACCTCTTTTGAATC	216	KT893439
HS9	AAAACATATTAGCTTGATTTTACCTTGG	GCGAAAGACGGATTGTTTCAT	278	KT868844
HS37	TGGATGAAGGGGACTTATGG	TGGTTTGAAGAGCATCAGCA	541	KT893431
HS18	CAGCTATAAATCATGGGTATTGGA	GTAATCAATACATTTTTCTTGCTT	653	KT932997
lpxA	ACAACCTGGTGACGATGTTGTA	CAATCATGDGCDATATGASAATAHGCCAT	331	
δ -mix				
HS32/58	TCCGGAAAAATTTTATTTAGATTCTC	AACAATACCAGGATACCAATCTTCA	85	KT893427
HS52	AAAACACGCTATTAATCATGGTGAC	ATGTAGGCCAAGTTATACAACCTTTT	170	KT893429
HS60	GAAATCATTTTTATGATATTGTGGTT	TCACAGTCACAATAAATAGCCAAA	241	KT893426
HS55	GAGATGGTGGTGGTCATCAA	ACGTTGCAACCAATCCTTTG	341	KT893433
HS32	GCATACCAGATGGCTTTGG	AATGCAGCGTGCTTCTTATTT	420	KT893435
HS11	GAATTGGACATAACCACGGAAT	ATGCAAAGTGACATATTCTCC	540	KT868845
HS40	CAACCCTTGGATGACAATAGAGA	ACCGTCAATATCATCAGGATTTA	636	KT893434
HS38	GCCGCAGGAGATAATGAAGA	TTTGCCTTTTAGATCTTGAGGA	741	KT893430

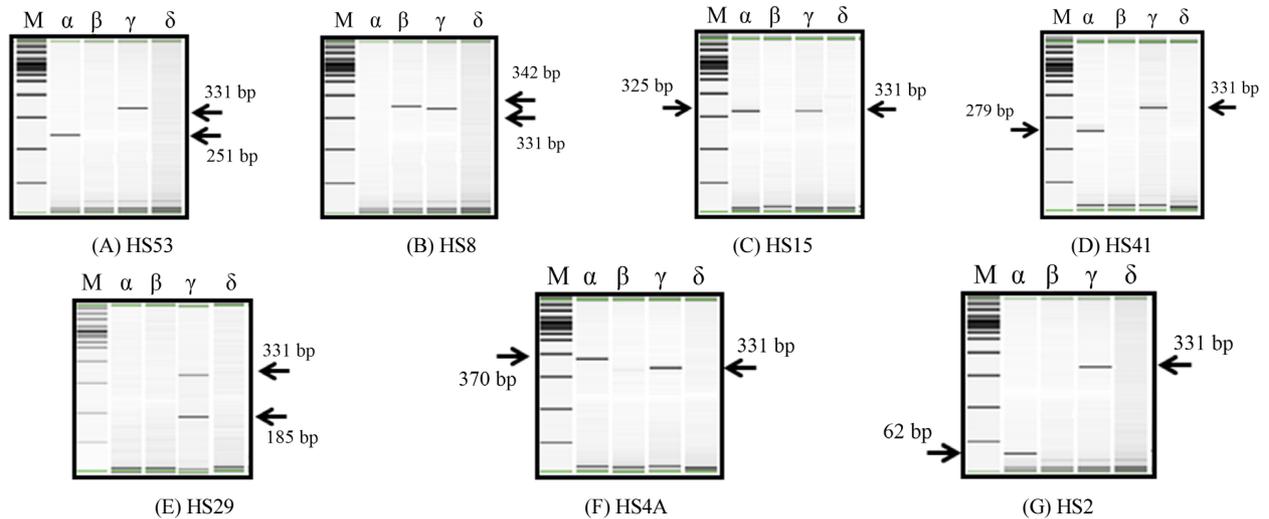


Fig. 1. Multiplex-PCR pattern of *C. jejuni* genotypes.

1.2% agarose solution 200 μ l를 추가하고 가볍게 섞은 후 바로 plug mold에 넣어 굳혔다. 굳힌 plug를 1.5 ml ES buffer (0.5 M EDTA; pH 8.0, 1% sodium lauroylsarcosine), 50 μ l의 proteinase K (40 mg/ml)에 옮기고 55°C 진탕 항온수조에서 1시간 동안 반응시킨 후, plug wash용 TE buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0)로 20분간 5번 plug를 세척하였다. 세척이 끝난 plug를 1 mm 두께로 잘라 40 U/ μ l의 제한효소 *Sma*I (Roche)을 이용하여 25°C에서 5시간 동안 반응시켰다. 제한효소를 처리한 plug 절편을 전기영동 장치(CHEF DR3, Bio-Rad)를 사용해 initial time 6.76 sec, final time 35.38 sec, gradient 6 v/cm, included angle 120° 조건으로 14°C에서 18시간 동안 전기영동하였다. 표준균주로 *S. enterica* serotype Braenderup H9812 (ATCC #BAA-664)를 size marker로 사용하였으며 *Xba*I (40 U/ μ l, Roche)을 처리하여 37°C에서 2시간 30분 동안 반응시켰다. 전기영동이 완료되면 SYBR gold 염색시약(Invitrogen)에 gel을 넣어 30분 염색 후, 증류수에 1시간동안 탈색 DNA image analyzer (Bio-Rad)로 확인하였다. 확인된 사진은 BioNumerics (Applied Maths) 프로그램을 이용하여, 1.5% tolerance, 1.5% optimization Dice co-efficient로 유사도를 계산하였으며, UPGMA (unweight pair group method of average linkage)법으로 유전적 유연관계를 분석하였다.

결과 및 고찰

식중독 양상 및 균주 분리현황

2014년과 2016년 8월까지 경기지역 발생한 식중독 중 캄필

로박터 제주니 감염증이 원인으로 확인된 430명의 환자와 조리종사자에게서 208건의 균주를 분리였다. 동일기간 동안 경기도에서 발생한 353건(3,858명)의 세균성식중독 중 캄필로박터 제주니 감염증에 의한 식중독은 17건(430명)으로 전체의 케이스의 4.8%이며 전체 식중독환자와 종사자중 11.1%가 캄필로박터 제주니 균을 보유한 것으로 확인되었다. 건당 평균 25.3명으로 발생인원이 높은 이유는 캄필로박터 제주니 감염증의 경우 소규모식중독보다 대형으로 발생하는 집단식중독의 경우가 많기 때문인 것으로 보인다. 월별 분리현황을 살펴보면, 여름철(6~8월)에 많이 발생하였고, 지역별로는 안양이 4건으로 가장 많았으며 그 다음으로 용인이 3건이었다. 10인 이상의 환자가 발생한 집단식중독의 경우 17건 중 9건(52%)이었으며 전체 353건에 식중독 중 집단식중독이 62건(17.5%)으로 캄필로박터 제주니 감염증은 다른 식중독에 비해 집단식중독의 경우가 많았으며 그 원인은 단체급식소에서 대량으로 발생한 것이 원인이었다. 9건의 집단식중독 중 5건은 학교식중독이 원인이며 4건은 학교가 아닌 급식시설이었다(Table 2). 국내에 유통되고 있는 육류의 캄필로박터 제주니 균의 오염도를 조사한 결과 81.5%의 닭고기에서 캄필로박터 제주니 균의 분리되었다는 보고가 있다(Hong et al., 2007). 실험의 사용된 캄필로박터 제주니 균의 균주도 집단식중독의 역학조사를 치킨, 삼계탕 등 닭고기 음식이 많은 비중을 차지하였으며 집단급식소의 위생적 조리와 취급이 필요하다고 예상된다.

Multiplex-PCR

식중독으로 분리된 균주를 multiplex-PCR typing을 통한 캄필로박터 제주니 균의 Penner-type을 기반으로 한 유전형을

Table 2. Distribution and Multiplex-PCR typing result of *C. jejuni* causing outbreak in Gyeonggi

Year	Month	Region	Occurrence place	Outbreak origin			Strain		
				Patient	Employee	Food	Subtype	Isolated	Typed
Total						-	-	208	175
2014	6	Yongin	Restaurant	2/2	0/2	-	HS29	2	2
	8	Gunpo	School	41/62	3/11	0/24	HS15	44	42
	11	Hanam	Restaurant	1/2	-	-	HS4A	4	3
	12	Suwon	Restaurant	1/1	0/3	-	HS2	4	2
2015	4	Anyang	Mass feed	24/26	5/51	-	HS53	29	25
	5	Kimpo	School	35/49	1/11	0/27	HS8	36	30
	7	Seongnam	Restaurant	4/9	0/2	-	HS2	4	4
	7	Yongin	Mass feed	14/18	1/3	0/4	HS2	15	12
	7	Hwaseong	School	16/26	0/9	0/6	HS2	16	14
	8	Pyeongtaek	Restaurant	2/4	0/5	-	HS2	2	2
	11	Suwon	Restaurant	2/4	0/3	-	-	2	0
2016	4	Anyang	Mass feed	13/24	0/14	-	HS2	13	13
	5	Pyeongtaek	Mass feed	6/16	0/3	-	HS2	6	6
	5	Anyang	School	13/19	0/6	-	HS41	13	11
	6	Kimpo	School	13/24	1/7	0/71	HS15	14	8
	6	Anyang	Restaurant	2/5	0/2	-	-	2	0
	8	Yongin	Restaurant	3/3	0/4	-	HS29	3	1

확인하였다. Table 1의 35개의 형-특이 프라이머쌍을 이용하여 17건의 경기도 식중독의 유전자 패턴을 분석한 결과, 2건을 제외한 15건의 식중독에서 7개의 서로 다른 유전형으로 구분되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 분리된 균주 208균주 중 175균주의 유전형을 확인하였다. 2015년 11월 수원과 2016년 6월 안양 식중독은 검체의 수가 적어서 모두 소실되었다. HS2는 15건 중 가장 많은 7건의 식중독 케이스에서 확인되었고 2014년 말부터 2016년 초까지 유행했던 것으로 확인된다. 유전형 중 HS53은 α -mix PCR의 251 bp로 확인되었고 2015년 4월 안양에서 발생한 식중독에서 발견되었다. HS8은 β -mix PCR의 342 bp로 확인되었고 2015년 5월 김포에서 발생한 식중독에서 발견되었다. HS15는 α -mix PCR의 325 bp로 확인되었고 2016년 6월 김포에서 발생한 식중독과 2014년 8월 군포에서 발생한 식중독에서 발견되었다. HS41은 α -mix PCR의 279 bp로 확인되었고 2016년 5월 안양에서 발생한 식중독에서 발견되었다. HS29는 γ -mix PCR의 185 bp로 확인되었고 2014년 6월과 2016년 8월 용인에서 발생한 식중독에서 발견되었다. HS4A는 α -mix PCR의 370 bp로 확인되었고 2014년 11월 하남에서 발생한 식중독에서 발견되었다. HS2는 α -mix PCR의 62 bp로 확인되었고 2014년 12월 수원, 2015년 7월 화성, 용인, 성남 2015년 8월 평택, 2016년 4월 안양, 2016년 5월 평택에서

발견되었다(Table 2).

같은 환자군과 분리된 캄필로박터 제주니 균의 유전형이 동일한 것으로 확인되었고 같은 식품을 섭취하여 발생된 것으로 확인된다. 조리종사자에게서도 동일한 유전형이 확인되었는데 복수로 확인된 경우가 많아 조리종사자의 의한 감염보다 같은 식품을 섭취함으로써 감염된 것으로 예상된다. 캄필로박터 제주니 균의 동일유전형이 산발적으로 발생하여 지역적 특색을 확인할 수 없었고 감염된 식품의 캄필로박터 제주니 균의 유전형을 확인하여 전국적인 유통망의 관리를 통하여 발생을 억제할 수 있을 것으로 예상된다.

PFGE 분석

2014년부터 2016년 8월까지 캄필로박터 제주니 감염증으로 확인된 17건의 식중독 중에서 분리된 11건의 식중독에 대한 균주의 표본에 대하여 PFGE를 실시하였다. DNA를 *Sma*I 제한 효소로 처리한 후 PFGE 실험법으로 유전형을 분석하였고 유전적 유사성이 80% 이하인 경우 서로 다른 그룹으로 분리하였다. 그 결과 11개의 식중독 케이스는 5개의 그룹(A-E)으로 분류되었다(Fig. 2). 11개의 식중독 케이스에서 분리된 균주의 유전형을 살펴보면 그룹 A는 2016년 6월 김포에서 발생한 식중독과 2014년 8월 군포에서 발생한 식중독으로 multiplex-PCR

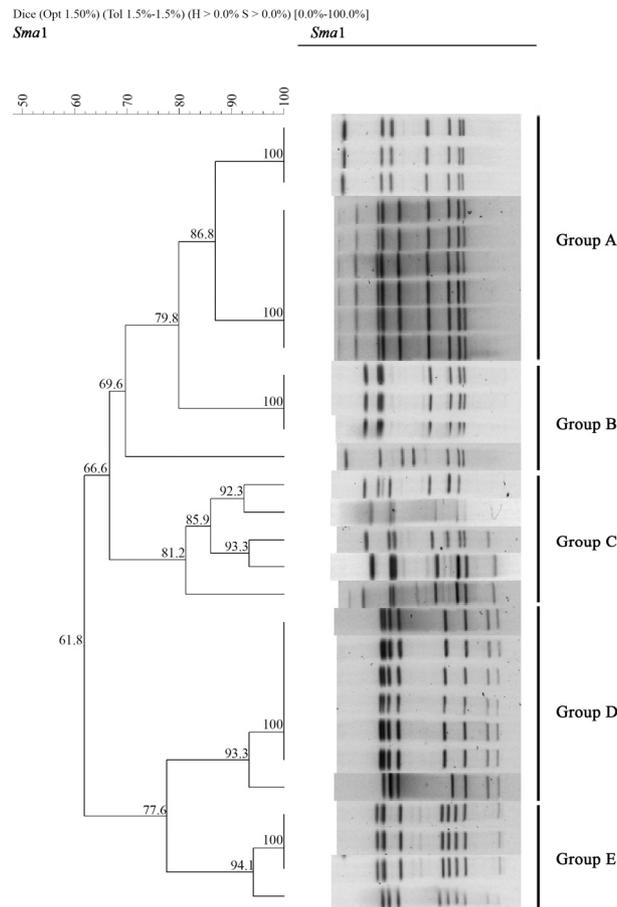


Fig. 2. Dendrogram of *SmaI* PFGE patterns from *C. jejuni* causing outbreak in Gyeonggi area.

typing에서 HS15로 확인된 균주와 일치하였다. 그룹 내에서는 86.8%의 유전적 유사성을 보여주었으며 케이스 간에는 조리종사자 균주를 포함하여 100%의 유사성을 보여주었다. 그룹 B는 2016년 5월 안양에서 발생한 식중독으로 HS41로 확인된 균주와 일치하였고 100%의 유사성을 보여주었다. 그룹 C은 2014년 6월과 2016년 8월 용인에서 발생한 식중독으로 HS29로 확인된 균주와 일치하였고 81.23~93.3%의 유사성을 보여 균주 간에도 매우 변이가 심한 것이 확인되었다. 그룹 D는 2014년 12월 수원, 2015년 7월 화성, 용인에서 발생한 식중독은 HS2로 확인된 균주와 일치하였으나 2014년 11월 하남에서 발생한 식중독은 HS4A로 확인된 균주와도 일치하였다. 그룹 E는 2016년 4월 안양, 2016년 5월 평택에서 발생한 식중독과 일치하였다. 위에 열거한 그룹 A, B, C는 multiplex-PCR typing과 PFGE의 패턴이 정확히 일치한 것을 보여주지만 그룹 D, E는 일치하지 않았다. 그룹 D의 HS2 균주는 HS4A로 확인된 2014년 11월 하남에서 발생된 식중독과 93.3%로 매우

유사도가 높은 반면 같은 HS2에 속하는 그룹 E의 균주와는 77.3%로 유사도가 높지 않은 것을 확인하였다. 기존의 고전적인 분류 방법인 혈청형을 이용하는 실험법과 혈청형을 기반으로 구성되는 multiplex-PCR typing의 경우 매우 높은 유사성을 보여주지만 PFGE의 실험법은 균주의 전체유전자를 확인하여 분석하기 때문에 상대적으로 낮은 유사성을 보여주는 것이라 생각된다.

본 연구를 통해 캄필로박터 제주니 균의 다양한 다양한 유전자형이 존재함을 확인할 수 있었고, multiplex-PCR typing을 이용한 유전자형분석은 캄필로박터 제주니 균의 유연관계를 분석하는 분자유전학적 분석에 좋은 방법임을 확인할 수 있었다. 기존에 CPS 유전자를 발현하여 혈청형을 분석하는 방법은 매우 복잡하고 많은 비용을 소모한다고 알려져 있다 (Bacon et al., 2001). 또한 새로운 균주가 발견되었을 때 기존 균주와 비교분석해야 하는 PFGE와는 달리 multiplex-PCR typing을 이용한 유전자형 분석은 개별 검체로 분석할 수 있다는 장

점이 있다고 생각한다. 향후 감염된 식품의 캄필로박터 제주니 균의 유전형을 확인하여 통계를 데이터베이스화 한다면 보다 신속하게 감염원 추적이 가능할거라 생각된다.

적 요

캄필로박터 제주니 균(*Campylobacter jejuni*)은 세균성위 장관감염증을 일으키는 수인성식품매개질환의 중요한 원인 균으로 알려져 있다. 2014년부터 2016년까지 경기지역에서 발생한 17번의 식중독에서 캄필로박터 제주니 균에 감염된 430명의 환자와 조리종사자에게서 208건의 균주를 선별하였다. 선별된 균주의 유전적 상관관계와 유전형분포를 확인하기 위하여 PFGE와 multiplex-PCR typing 방법을 사용하여 비교 분석 하였다. 47개의 Penner-type으로 구분되는 캄필로박터 제주니 균의 혈청형을 multiplex-PCR typing을 이용하여 35개의 유전형으로 구분할 수 있는 것을 확인하였고 선별된 균주에서 7개의 유전형(HS2, HS4A, HS8, HS15, HS29, HS41, HS53)으로 구분되는 것을 확인하였다. 가장 많은 케이스에서 분리된 유전형은 HS2였고 7건의 식중독케이스에서 확인되었다. PFGE를 통하여 11건의 식중독에서 모두 5개의 그룹으로 분류되었고 그룹간의 유사성은 61.8에서 66.6%였다. 본 연구는 다양한 유전자 분석방법을 통하여 경기도내에서 분리된 캄필로박터 제주니 균의 유전적 다양성을 파악하고 향후 집단발생 시 환자의 분리 균주 간의 상관관계 규명하며 캄필로박터 감염증의 발생 및 확산 방지에 필요한 기초자료를 마련하고자 한다.

References

- Altekruuse, S.F., Stern, N.J., Fields, P.I., and Swerdlow, D.L. 1999. *Campylobacter jejuni* - an emerging foodborne pathogen. *Emerg. Infect. Dis.* **5**, 28-35.
- Bacon, D.J., Szymanski, C.M., Burr, D.H., Silver, R.P., Alm, R.A., and Guerry, P. 2001. A phase-variable capsule is involved in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Mol. Microbiol.* **40**, 769-777.
- Cha, I., Kim, N., Nam, J., Choi, E., Chung, G., Kang, Y., and Hong, S. 2014. Genetic diversity of *Campylobacter jejuni* isolates from Korea and travel-associated cases from east and Southeast Asian countries. *Jpn. J. Infect. Dis.* **67**, 490-494.
- EFSA. 2005. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to *Campylobacter* in animals and foodstuffs. *EFSA J.* **173**, 1-10.
- Hong, J., Kim, J., Jung, W., Kim, S., Bae, W., Koo, H., Gil, J., Kim, M., Ser, J., and Park, Y.H. 2007. Prevalence and antibiotic resistance of *Campylobacter* spp. isolated from chicken meat, pork, and beef in Korea, from 2001 to 2006. *J. Food Prot.* **70**, 860-866.
- Jeong, J., Lee, J., Lee, H., Lee, S., Kim, S., Ha, J., Yoon, K., and Yoon, Y. 2017. Quantitative microbial risk assessment for *Campylobacter* foodborne illness in raw beef offal consumption in South Korea. *J. Food Prot.* **80**, 609-618.
- Noormohamed, A. and Fakhr, M.K. 2014. Molecular typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from various retail meats by MLST and PFGE. *Foods* **3**, 82-93.
- Oh, J., Kwon, Y., Wei, B., Jang, H., Lim, S., Kim, C., Jung, S., and Kang, M. 2017. Epidemiological relationships of *Campylobacter jejuni* strains isolated from humans and chickens in South Korea. *J. Microbiol.* **55**, 13-20.
- Pike, B., Guerry, P., and Poly, F. 2013. Global distribution of *Campylobacter jejuni* Penner serotypes: A systematic review. *PLoS One* **8**, e67375.
- Poly, F., Serichantalergs, O., Kuroiwa, J., Pootong, P., Mason, C., Guerry, P., and Parker, C. T. 2015. Updated *Campylobacter jejuni* capsule PCR multiplex typing system and its application to clinical isolates from South and Southeast Asia. *PLoS One* **10**, e0144349.
- Poly, F., Serichantalergs, O., Schulman, M., Ju, J., Cates, C.N., Kanipes, M., Mason, C., and Guerry, P. 2011. Discrimination of major capsular types of *Campylobacter jejuni* by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* **49**, 1750-1757.
- Revez, J., Llarena, A.K., Schott, T., Kuusi, M., Hakkinen, M., Kivistö, R., Hänninen, M.L., and Rossi, M. 2014. Genome analysis of *Campylobacter jejuni* strains isolated from a waterborne outbreak. *BMC Genomics* **15**, 1471-2164.
- Samornsuk, W., Asakura, M., Yoshida, E., Taguchi, T., Eampokalap, B., Chaicumpa, W., and Yamasaki, S. 2015. Isolation and characterization of *Campylobacter* strains from diarrheal patients in central and suburban Bangkok, Thailand. *Jpn. J. Infect. Dis.* **68**, 209-215.
- Szczepanska, B., Andrzejewska, M., Spica, D., and Klawe, J. 2017. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from children and environmental sources in urban and suburban areas. *BMC Microbiol.* **17**, 80.
- Takahashi, M., Koga, M., Yokoyama, K., and Yuki, N. 2005. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* isolated from patients with Guillain-Barre and Fisher syndromes in Japan. *J. Clin. Microbiol.* **43**, 335-339.
- van den Berg, B., Walgaard, C., Drenthen, J., Fokke, C., Jacobs, B.C., and van Doorn, P.A. 2014. Guillain-Barré syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis. *Nat. Rev. Neurol.* **10**, 469-482.
- Wei, B., Cha, S., Kang, M., Roh, J., Seo, H., Yoon, R., and Jang, H. 2014. Antimicrobial susceptibility profiles and molecular typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from ducks in South Korea. *Appl. Environ. Microbiol.* **80**, 7604-7610.
- Zaman, R. 1992. *Campylobacter* enteritis in Saudi Arabia. *Epidemiol. Infect.* **108**, 51-58.