

*Yersinia enterocolitica*의 병원성 검정에 관한 연구

임순영 · 윤석권

동덕여자대학교 식품영양학과

Studies on the Pathogenic Test of *Yersinia enterocolitica*

Soon Young Lim and Suk-Kwon Yoon

Department of Food and Nutrition, Dongduk Women's University

The pathogenicity for one hundred strains of domestic and foreign *Y. enterocolitica* was tested with HEp-2 cell invasion method as a reference. The serotyping, biotyping, PCR and esculin hydrolysis, salicin fermentation, pyrazinamidase activity, indole production, xylose fermentation, CRMOX and autoagglutination were compared to determine the possibility of pathogenic detection method. According to the test results, serotyping was limited to verify pathogenicity, however, biotyping was quite related to pathogenicity up to 99%. The biotype 1A strains were non-pathogenic, while all strains of biotype 1B-4 showed pathogenicity with the exception of one strain belonged to type 1B. The esculin and salicin test results were completely close and correlated to pathogenicity up to 99%. The HEp-2 cell invasion and pyrazinamidase test were related to pathogenicity by 95%. Biochemical tests such as D-xylose fermentation, CRMOX agar test and autoagglutination in broth were effective as a support test. It is strongly recommended that sequential esculin test and PCR test could be done to verify pathogenicity of *Y. enterocolitica* as the easiest and accurate procedure.

Key words : *Y. enterocolitica*, pathogenic test, polymerase chain reaction, serotyping, biotyping, pathogenicity

서 론

*Yersinia enterocolitica*는 사람에게서 처음으로 분리된 이후⁽¹⁾ 소⁽²⁾, 돼지⁽³⁾, 닭⁽⁴⁾을 비롯한 양⁽⁵⁾, 개⁽⁶⁾ 등의 동물들과 우유공장과 같은 주변환경등에서 분리되어 왔다⁽⁷⁾. 이 균에 감염될 경우 사람과 동물에게 급성 위장질환과 패혈증을 일으키며 다발성 관절염, 피부의 결절성 홍반 등을 일으킬 수 있으며 특히 어린이들에게 가성맹장염등의 병을 유발한다. 이 균으로 인한 모든 질병 즉 예시니아증(yersiniosis)은 병원성 *Y. enterocolitica*에 의해서 일어난다⁽⁸⁾.

모든 *Y. enterocolitica*는 병원성을 가지고 있는 것이 아니라 오히려 비병원성인 것이 더 많으므로 이 균의 병원성 확인은 매우 중요하여 병원성 판별을 위한 많은 연구가 진행되어왔다. 가장 일반적으로 사용되는 방법은 serotyping과 biotyping으로 병원성을 판단하는 방법이다. 즉, 특성의 serotype과 biotype들만 병원성을 지니고 있다는 것을 기초로 하여 병원성을 확인한다. 박등⁽⁹⁾은 Congo red magnesium

oxalate(CRMOX) agar와 자동응고반응방법은 *Y. enterocolitica*의 병원성 균주에만 있다고 알려진 40~48 megadalton plasmid의 보유여부를 확인할 수 있으며 이들 실험이 병원성 확인에 적합하다고 하였다. 또한 진핵세포에 대한 침투능력과 관련된 attachment-invasion locus(*ail* gene)는 *Y. enterocolitica*의 chromosome에 위치하고 있는데 이 *ail* gene의 존재여부로 병원성을 확인하는 방법도 있다⁽¹⁰⁾. 그러나 이러한 여러 가지 병원성 확인 방법에 관하여 종합적으로 다루어 비교한 보고가 거의 없는 편이다.

본 연구에서는 *Y. enterocolitica*의 정확하고 신속한 병원성 확인을 위해 국내외에서 수집한 100균주에 대하여 HEp-2 cell 침투성 실험을 기준으로 하였을 때 지금까지 알려진 병원성 확인시험방법 즉 serotype, biotype, 발효대사 및 발효특성등을 고려한 여러 가지 생화학 실험들과 polymerase chain reaction(PCR)방법등의 실험을 하고 이들 결과를 통하여 *Y. enterocolitica*의 병원성 확인 방법에 대한 총괄적인 평가를 하고자 하였다.

재료 및 방법

*Y. enterocolitica*의 수집

실험에 사용한 100균주중 58균주는 표준균주 및 국내, 외 연구자들이 감염환자, 식육 및 동물로부터 분리한 것을

Corresponding author : Suk-Kwon Yoon, Dept. of Food and Nutrition, Dongduk Women's University, Weolgokdong Seongbukgu, Seoul 136-714, Korea
Tel: 82-2-940-4461
Fax: 82-2-940-4193
E-mail: sky@dongduk.ac.kr

분양받은 것이고 42균주는 본 연구자가 국내 소고기, 돼지고기, 닭고기 등의 식육에서 분리한 것이다. 각 균주들을 분리대상별로 보면, 돼지 31, 돼지고기 29, 닭고기 11, 소고기 9, 사람 8, 야생취 2, 원숭이 1, 개 1, ATCC 3 그리고 기타 5 균주이다.

HEp-2 세포 침투성 시험

실험대상균주가 HEp-2 세포에 침투하는 능력은 Miller 등⁽¹¹⁾의 방법으로 행하였다. 즉 24 well에 HEp-2 세포 monolayer를 만들고 하루 밤 지난 후 각plate에 약 2×10⁷ 세포의 세균을 넣었다⁽¹²⁾. Microdilution plate를 162×g로 10분간 원심분리를 한 후 5% CO₂, 37°C에서 90분간 배양하였다. 각 plate에 있는 조직배양액을 제거하고, 인산완충식염수로 접촉되어있지 않은 cell을 제거하기 위해 3번 세척하였다. 즉시 조제한 Gentamicin(100 µg/mL) 함유 조직배양액을 넣고 다시 위와 같은 방법으로 배양하였다. 90분 후에 배양액을 제거하고, 인산완충식염수로 monolayer를 세척하여 gentamicin을 제거하였다. 그리고 세포내 침투된 세포를 세포 밖으로 추출하기 위해 1% Triton X-100을 0.2 mL을 넣고 5분 후에 0.8 mL의 BHI broth을 넣어서 Triton X-100의 최종 농도가 0.2%가 되도록 하였다. 그런 다음 50 µL의 균액을 BHI agar plate에 넣어 도말하고 25°C에서 18-24시간 배양하여 잘 자라지 않거나 뚜렷한 경우를 INV+로 자라지 않았을 경우에는 INV-로 판독하였다.

Polymerase Chain Reaction(PCR)

PCR에 사용된 primer는 *Y. enterocolitica*의 병원성과 관련 있는 *ail* gene에 특이적인 것⁽¹⁰⁾을 사용하였고 template DNA 제조 및 반응용액은 전보^(13,14)와 동일하게 수행하였다. PCR 조건은 denaturation 95°C 30초, annealing 60°C 30초 그리고 extension 72°C 20초를 1 cycle로 하여 35 cycle을 반응시켰다. PCR이 끝난 후 1.0% agarose gel을 이용하여 확인하였다.

Serotyping 및 biotyping

시험균의 serotyping은 slide agglutination 방법^(13,14)으로 실시하였다. 항혈청으로는 상품화된 제품(Denka Seiken Co., Japan)을 사용하였다. Biotyping은 Fukushima등⁽¹⁵⁾ 여러 연구

자들의 분류법⁽¹⁶⁻¹⁸⁾을 종합하여 Table 1과 같이 분류하였다.

Pyrazinamidase 시험

Pyrazinamidase 시험은 Kandolo등⁽¹⁹⁾의 방법을 사용하였다. 배지조성은 tryptic soy agar(TSA, Difco) 30 g, yeast extract(Difco) 3 g, pyrazine carboxamide(Merck) 1 g, tris-maleate(0.2 M, pH 6) 1000 mL이며 이들 배지를 혼합하여 튜브(160×16 mm)에 5 mL 정도씩 분주하고 멸균한 후 기울여서 굳혔다. 이 slant에 TSA 에서 배양한 균주를 접종하고 25~30°C에서 48시간 배양한 후 새로이 만든 1%(w/v) ferrous ammonium sulfate용액 1 mL를 넣고 15분 후에 색깔변화를 관찰하였다.

Salicin 발효시험

Salicin시험은 purple broth base(Difco)를 121°C 15분간 멸균한 후 salicin(Sigma)을 전체 용량의 1%가 되도록 넣은 후 튜브에 무균적으로 분주하여 사용하였다. 각각의 균을 접종하고 25°C에서 배양하였다. Salicin은 7일간 매일 결과를 비교 판독하였다⁽²⁰⁾.

Esculin시험

Bile-esculin agar(Difco)를 무균적으로 slant로 만든 후, 각각의 균을 접종하고 25°C에서 배양하였다. 1~2일 후에 결과를 판독하였다⁽²⁰⁾.

D-xylose 발효시험

일반적인 당발효 시험법을 사용하였다⁽²¹⁾. Purple broth base를 121°C 15분간 멸균한 후 1%가 되도록 xylose를 넣어 섞고 튜브에 분주한 후 실험대상 균주를 배지에 접종하고 25°C에서 1~2일간 배양하였다.

자동응고반응(Autoagglutination)

MR-VP broth(Difco)를 튜브에 1 mL 넣고 121°C, 15분간 멸균한 후 실험대상 균주를 2개의 배지에 각각 접종하고 하나는 25°C, 다른 하나는 36°C에서 18~24시간 배양한 다음 바닥의 침전물을 관찰하였다. 이때 바닥이 흔들리지 않도록 유의하였다.

Table 1. Main biochemical features of biotypes of *Y. enterocolitica*

Biochemical feature	Biotypes							
	1A	1B	2	3	3A	3B	4	5
Esculin hydrolysis	+	-	-	-	-	(+)	-	-
Salicin fermentation(acid in 24 h)	+	-	-	-	(+)	(+)	-	-
Pyrazinamidase activity	+	-	-	-	+	+	-	-
Indole production	+	+	-	-	-	-	-	-
Acid production from xylose	+	+	+	+	+	+	-	V
Voges - Prokauer test	+	+	+	± ¹⁾	-	-	+	+
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	-
Inositol fermentation	+	+	+	+	± ²⁾	-	+	+

+: positive, -: negative, (+): positive in 3-7days, V: variable
 ±¹⁾:rarely a serotype O:3 strain may be negative for Voges-Prokauer test
 ±²⁾:rarely a serotype O:3 strain may be negative for inositol fermentation

CRMOX agar 실험

Riley와 Toma⁽²²⁾의 방법으로 Congo red magnesium oxalate (CRMOX) agar를 제조하였다. 우선 TSA(40 g)를 825 mL의 증류수에 첨가한 후 121°C에서 15분간 멸균하고 55°C로 식힌 후 0.25 M sodium oxalate 80 mL, 0.25 M magnesium chloride 80 mL, 20% D-galactose 10 mL 그리고 1% Congo red 5 mL을 넣었다. 첨가되는 용액들은 121°C에서 15분간 멸균하였으며, 단 galactose 용액은 115°C에서 15분간 멸균하여 사용하였다. 혈액배지(5% sheep blood)에서 실험대상 균주를 접종하여 22°C 18시간 배양한 후 CRMOX에 접종하고 36°C 24시간 배양하여 결과를 판독하였다. 큰 무색의 집락들의 경우 CRMOX 음성으로, 작고 붉은 집락(small red colony)들은 CRMOX 양성으로 판독하였다.

결과 및 고찰

HEp-2 세포 침투성

*In vivo*에서 *Y. enterocolitica*가 장내점막을 침투할 경우 병원성이 있다고 할 수 있으며 *In vitro*에서 장내 점막을 침투할 수 있다고 가정할 수 있는 실험은 HEp-2 배양세포에 대한 *Y. enterocolitica*의 침투성을 확인하는 것이다. Hanski등⁽²³⁾은 상피세포 표피막은 장내점막과 달라서 *in vivo*와 *in vitro*가 항상 일치하지는 않는다고 하였지만 병원성을 확인하는데는 최선이라고 하였다. 본 실험에서 여러 가지 실험 방법 간 병원성 균주의 판단은 HEp-2 세포의 침투성을 기준으로 하고 병원성 확인 방법간 비교를 하였다.

실험을 한 100균주의 HEp-2세포 침투성은 Table 2와 같이 표준균주 및 국내외에서 분양 받은 58균주중 48균주가 병원성이 있는 것으로 판명되었는데 이미 병원성이 있다고 알려진 균주는 HEp-2세포를 침투할 수 있었고 본 연구자들이 전국시장의 육류 및 냉동식품에서 분리한 42균주중 약17%인 7균주가 병원성이었다.

Serotyping

*Y. enterocolitica*의 혈청형은 균체응집반응에 의하여 57개의 O 혈청군으로 분류되며⁽²⁴⁾ 사람에게 병원성을 나타내는 혈청형들은 일정하다고 알려져 왔다⁽²⁵⁾. 본 연구에 사용된 균주들의 혈청형 분포는 O:3(26%); O:5(10%); O:5,27(5%); O:8(10%); O:9(13%)가 대부분이었으며, 이외에도 O:7,8; O:6,30; O:10; O:13,7; O:12; O:34등이 있었다. 일반적으로 병원성 혈청형으로 알려져 있는 O:3; O:5,27; O:8;

O:9 등의 혈청형들은 본 연구에서도 대부분 HEp-2 세포 침투성과 일치하였으나 O:3중 한 균주가 혈청형은 병원성인 분류에 포함되지만 이외의 실험결과 비병원성이었고, 또한 비병원성으로 알려져 있는 O:5중의 한균주는 병원성을 나타내기도 하였다. 이와 같이 실험대상 균주들 중 동일 serotype 간에 병원성에 차이를 보이고 있는 것이 있어 serotyping만으로 병원성여부를 판단하기는 어렵다. 그러므로 병원성여부를 정확히 판단하기 위해서는 serotype이외의 부가적인 실험이 병행되어야 한다고 생각된다.

Biotyping

*Y. enterocolitica*는 생화학적 특성에 따라서 8 가지의 biotype으로 나누어진다(Table 1). 본 연구에 사용된 *Y. enterocolitica* 100 분리균주의 biotype은 Table 3과 같이 1A, 1B, 2, 3, 4등이었으며 3A, 3B, 5는 없었다. Biotype은 병원성과 깊은 연관성을 보이는 데 biotype 1B, 2~5의 그룹들은 병원성을 지니고 있으나 1A, 3A 그리고 3B는 병원성이 없는 것으로 알려져있다. 임상분리주중 biotype 1A가 병원성을 지니고 있었다는 최근의 연구보고⁽²⁶⁾가 있어서 1A중에도 병원성 균주가 있을 수 있다는 것을 알 수 있다. 본 실험에서 biotype 1A 균주들은 병원성을 보이지 않았으며 병원성 biotype인 1B-4중 1B인 균주 하나만 제외하고 모두 병원성을 나타내었다. 따라서 biotype이 HEp-2 세포 침투성의 병원성여부와 매우 밀접한 연관(99% 일치)이 있는 것을 알 수 있었다.

Biotyping은 생화학적인 반응을 기초로 하기 때문에 반응 결과를 정확히 판단하기 어렵고 현재 사용하고 있는 정의들도 각 biotype간의 구분이 명확하지 않다는 문제점이 있다. 예를 들면 biotype 1A의 경우, pyrazinamidase 음성반응을 제외하고 biotype 1A와 동일한 반응을 나타내었거나, 또 pyrazinamidase와 Voges-Prokauer시험에서 음성을 나타내어 일반적인 biotype 1A와 차이를 나타낸 균주들도 있었다. 이들 균주들은 이러한 차이에도 불구하고 이외의 다른 여러 가지 실험결과들이 다른 biotype에 비하여 biotype 1A와 가장 유사한 경향을 나타내어 biotype 1A로 구분하였다. 이러한 모호성은 계속적인 연구를 통하여 해결해 나가야 할 것이다.

Bioserogrouping

Biotype(B)과 serotype(O)의 연관이 병원성과 관련이 깊은 것으로 알려져 있다⁽²⁶⁾(Table 3). 즉, B2/O:9, B3/O:3 그리고 B4/O:3이 병원성과 밀접한 연관성을 보인다는 연구결과 보

Table 2. Invasion ability of one hundred *Y. enterocolitica* strains against to HEp-2 cell

Source	Invasive	Non-invasive	Sum
Strains donated from foreign country	23	9	32
Strains donated from domestic other lab.	25	1	26
Strains isolated from domestic market meat	7	35	42
Sum	55	45	100

Table 3. Biogroups and serogroups of *Y. enterocolitica* tested

Biogroups	No. of strains tested	Serogroups
1A	43	O:3*; O:5; O:7,8; O:8; O:6,30; O:10; O:13,7; O:12; O:34; UN
1B	10	O:8; UN**
2	19	O:5,27; O:9; O:21; UN
3	20	O:3; O:5; O:9
4	8	O:3

*: serotype O:3, nonpathogenicity

** : serotype UN biotype 1B, nonpathogenicity

UN: unknown

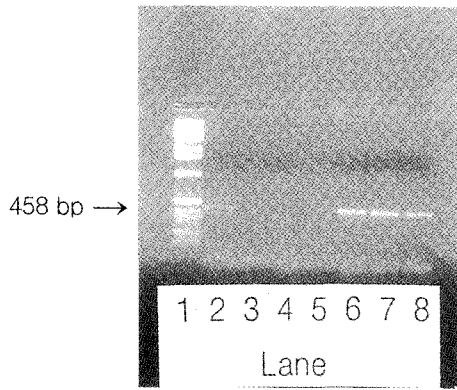


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis pattern of PCR amplified products(458bp) from some strains of *Y. enterocolitica*

Lane 1: Molecular marker(100 bp ladder); Lane 2: Sample No 1, ATCC 23715; Lane 3: Sample 45, donated from Chung-ang University; Lane 4: Sample No 52, donated from Canada; Lane 5: Sample No 65, isolated from domestic market chicken; Lane 6: Sample 20, donated from Canada; Lane 7: Sample 31, donated from Norway; Lane 8: Sample 8, donated from Chung-ang University

고⁽²⁷⁾와 같이 본 연구에서도 O:3은 B3과 B4, O:8은 1B 그리고 O:9와 O:5,27은 B2와 연관을 보였으며 이들은 모두 병원성을 나타내었다. 그러므로 serotype과 biotype이 함께 고려되어 지는 것이 병원성확인에 용이하며, 만약 serotype과 biotype간에 병원성의 차이를 보일 경우 serotype보다 biotype이 병원성판단에 좀 더 정확성이 있을 것 같다.

Polymerase chain reaction (PCR)

*Y. enterocolitica*가 장내 점막을 통과할 수 있는 것은 *ail* gene을 가지고 있기 때문이다. 본 PCR실험은 *ail* gene에 특이적인 primer로 하였으므로 Fig. 1과 같이 458 bp DNA fragment를 형성하여 PCR 양성으로 판정한다. 이론적으로 PCR결과와 HEp-2세포에 대한 *Y. enterocolitica*침투성 결과와는 일치하여야 한다. 병원성이 있는 균주는 대부분 일치하였으나 하나의 균주에서만 PCR 양성, HEp-2세포 침투성은 음성을 나타내어 PCR과 HEp-2세포 침투성은 99% 일치 하였다.

ail gene을 기초로한 PCR이 병원성 여부를 100% 정확하게 판단할 수 있다는 이전의 연구결과들과^(10,28) 본 연구의 병원성관련 실험결과를 종합적으로 볼 때(Table 4) PCR시험법은 HEp-2 침투성을 기준으로한 병원성 판단과 가장 잘 일치할 수 있는 방법으로 생각되었다.

Esculin과 salicin시험

이 두가지의 실험은 서로 100% 일치하였으며, 이들 반응이 양성일 경우 모든 실험에서 비병원성으로 확인되었으며 biotype 1A에 해당되었다. 그리고 병원성 균주들은 이들 반응이 음성이었으며 PCR과 HEp-2세포 침투성은 양성을 나타내었다. 그러나 2 종류의 균주만은 esculin과 salicin시험과 HEp-2세포 침투성 병원성 시험과 일치하지 않았으므로(Table 4) 이들 반응은 HEp-2세포 침투성의 병원성여부와 98% 일치하였다.

Salicin시험의 경우 7일간 결과의 변화를 관찰한 결과 대부분 1~2일 사이에 반응을 나타내었지만 몇몇은 3일 이후에 변화를 보이는 경우도 있어 계속적인 관찰이 요구된다. Salicin 반응은 esculin반응보다 오랜 시간이 걸리므로 esculin반응이 salicin반응보다 좀더 빠른 시간 내에 병원성을 확인할 수 있는 방법이라 판단된다.

Pyrazinamidase시험

분홍색으로 변한 것은 pyrazinoic acid가 있는 것이므로, 양성(Pyr +)반응으로 판독하고 색깔의 변화가 없는 것은 음성(Pyr -)으로 판독하였다. 그러나 중간색 즉, 판단하기가 모호한 흐린 pink-brown의 경우 양성으로 판정하였다. Pyrazinamidase 시험과 HEp-2세포 침투성의 병원성 판단과는 94% 일치하였다. 병원성인 biotype 1B~4까지의 균주들중 2개의 균주를 제외한 모든 균주들은 음성을 나타내었고 비병원성인 biotype 1A중 대부분은 양성을 나타내었으나 4균주는 음성이었다.

Biotype 1에서 pyrazinamidase test가 esculin(Esc)시험보다 병원성판단에 효과적이었다는 Kandolo 등⁽¹⁹⁾의 연구는 본 연구결과와 차이를 보였다. 예를 들면 HEp-2세포 침투성의 병원성인 경우 반응이 모두 (Esc -), (Pyr -)을 나타내었고 비병원성인 경우는 (Esc +), (Pyr +)이 대부분이나 (Esc +), (Pyr -)를 나타낸 균주들이 있었다. 결과적으로 esculin시험이 pyrazinamidase 시험보다 HEp-2세포 침투성의 병원성 판단과 일치하는 비율이 더 높았다.

D-xylose 발효시험

이 방법은 병원성 확인에 직접적으로 연관은 없으나 *Y. enterocolitica* O:3중 biotype을 구별해 낼 수 있는 방법이다⁽²⁹⁾. Biotype 4를 제외하고 모든 biotype들은 D-xylose을 발효하며 biotype 4는 D-xylose를 발효하지 않았다. 그러므로 전체 균주들에서 특별히 biotype 4를 구분할 경우 효과적이었다.

Table 4. Biogroups and properties associated with virulence in *Y. enterocolitica*

Biogroups	No. of strains tested	Positive reactions by the following tests (%)						
		*Esc	Sal	Pyr	CRMOX	Auto	PCR	HEp-2
1A	43	100	100	91	0	0	0	0
1B	10	0	0	0	30	0	90	80
2	19	0	0	0	42	47	100	100
3	20	0	0	0	5	15	100	100
4	8	0	0	0	63	63	100	100

*Esc: esculin, Sal: salicin, Pyr: pyrazinamidase, CRMOX: Congo red magnesium oxalate agar, Auto: autoagglutination, PCR: Polymerase chain reaction, HEp-2: invasiveness(cell culture)

CRMOX agar 시험과 자동응고 반응(autoagglutination)

CRMOX agar 시험과 자동응고반응 두가지 실험을 통하여 plasmid 보유 여부를 확인하였다. CRMOX agar test는 작고 진한 붉은 색 집락을 형성할 경우를 양성으로 하였고, 자동응고 반응은 virulence plasmid를 포함한 병원성 균주들은 36°C에서 자동응고현상을 보이지만 25°C에서는 그렇지 않으며 virulence plasmid를 가지고 있지 않은 균주들은 두 개의 온도에서 자동응고현상을 보이지 않는다⁽²⁰⁾는 것을 기초로한 시험법이다. 실험결과 CRMOX agar 시험과 자동응고 반응은 서로 일치되지 않았다. 병원성으로 판단된 55균주중 CRMOX agar 시험과 자동응고반응에서 각각 17균주(31.0%)와 16균주(30.0%)에만 양성반응을 보였다. 각각의 biotype에 대한 이들 반응의 양성비율은 Table 4와 같이 Biotype 1A는 두반응 모두 음성을 나타내었으나 이외의 biotype에서 일부 균주들이 양성반응을 나타내었다.

Plasmid는 균주 보관중이거나 계속되는 계대 배양중에 없어지기 쉽다고 Nesbakken⁽⁹⁾은 보고 하였던 데 본 연구에서 병원성으로 판단된 균주들의 일부에서만 이들 반응이 양성으로 나타나 병원성으로 확인된 일부균주에서 이 현상이 일어났을 가능성을 암시한다. 따라서 CRMOX agar 시험과 자동응고반응은 병원성 판단에 충분하지 않으며 다른 여러 가지 실험과 병행할 경우 병원성확인에 보조적인 역할을 할 수 있다고 생각된다.

요 약

국내외에서 분양 받고 국내식육에서 분리된 총 100균주의 *Y. enterocolitica*에 대한 병원성여부를 HEp-2 세포 침투성 시험법을 기준으로 하고 여러 가지 병원성 확인 방법을 비교하였다. 혈청형만으로 병원성을 판단하기에는 충분하지 않았고 이외의 방법 즉, esculin과 salicin시험, pyrazinamidase 시험, biotype 등의 생화학적 특성에 바탕을 둔 실험 단독으로 병원성을 판단하기에는 완전하지 않았다. D-xylose 발효실험, CRMOX agar 시험과 자동응고반응(Autoagglutination)들은 병원성확인에 보조적인 역할만을 할 수 있었다. HEp-2 세포 침투성 시험법은 시간과 노력이 많이 소요되므로 이 방법을 대체할 수 있는 간단하고 신속, 정확하게 *Y. enterocolitica* 병원성을 확인할 수 있는 방법은 esculin시험에서 음성반응을 보이는 것만 PCR시험을 행하여 판별하는 것이라고 사려된다.

문 헌

1. Ewing, W.H. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*. 4th ed., Elsevier, p. 461-478 (1986)
2. Park, S.G., Choi, S.M., Oh, Y.H. and Choi, C.S. Biotype, serotype and antimicrobial susceptibility of *Yersinia enterocolitica* isolated from cattle (in Korean). *J. Korean Soc. Microbiol.* 28(5): 453-461 (1993)
3. Nesbakken, T. Enumeration of *Yersinia enterocolitica* O : 3 from the porcine oral cavity, and its occurrence on cut surfaces of pig carcasses and environment in a slaughterhouse. *Int. J. Food Microbiol.* 6(4): 287-293 (1988)
4. Cox, N.A., Corral, A.D., Bailey, J.S., Shotts, E.B. and Para, C.M.

Research Note: The prevalence of *Yersinia enterocolitica* and other *Yersinia* species on the carcasses of market broilers. *Poult Sci.* 69(3): 482-485 (1992)

5. Cox, N.A., Corral, A.D., Bailey, J.S., Shotts, E.B. and Para, C.M. The prevalence of *Yersinia enterocolitica* and other *Yersinia* species infection in sheep in Australia. *J. Clin. Microbiol.* 30(3): 712-715 (1992).
6. Fukushima, H., Gomyoda, M., Aleksic, S. and Tsubokura, M. Differentiation of *Yersinia enterocolitica* serotype O : 5,27 strains by phenotypic and molecular techniques. *J. Clin. Microbiol.* 31(6): 1672-1674 (1993)
7. Cotton, L.N. and White, C.H. *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, and *Salmonella* in dairy plant environments. *J. Dairy Sci.* 75: 51-57 (1992)
8. Choi, C.S., Park, S.G., Youn, Y.D., Chung, S.I. and Yang, Y.T. Production of heat-stable enterotoxin and virulence-associated cultural characteristics of porcine strains of *Yersinia enterocolitica* and related species with or without plasmid (in Korean). *J. Korean Soc. Microbiol.* 25(2): 135-146 (1990)
9. Carniel, E., Mazigh, D. and Mollaret, H.H. Expression of Iron-regulated proteins in *Yersinia* species and their relation to virulence. *Infect. Immun.* 55(1): 277-280 (1987)
10. Oh, H.J., Kim, C.M., Seong, W.K. and Min, H.K. Study on the development of rapid detection method for pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* by polymerase chain reaction (in Korean). *J. Korean Soc. Microbiol.* 31(2): 165-173 (1996)
11. Miller, V.L., Farmer III, J.J., Hill, W.E. and Falkow, S. The ail locus is found uniquely in *Yersinia enterocolitica* serotypes commonly associated with disease. *Infect. Immun.* 57(1): 121-131 (1989)
12. Finlay, B.B. and Fakow, S. A comparison of microbial invasion strategies of *Salmonella*, *Shigella*, and *Yersinia* species. *UCLA Symp. Mol. Cell. Biol.* 64: 227-243 (1987)
13. Lim, S.Y., Lee, D.H., Park, S.H., Park, Y.S., Yoon, S.K., and Kim, C.M. Characteristics of *Yersinia enterocolitica* isolated from food(in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.* 31(1): 183-188 (1999)
14. Lim, S.Y. and Yoon, S.K. Characteristics of *Yersinia enterocolitica* isolated from frozen foods(in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.* 32(6): 1336-1340 (2000)
15. Fukushima, H., Tsubokura, M., Oksuki, K. and Kawaoka, Y. Biochemical heterogeneity of serotype O : 3 strains of 700 *Yersinia* strains isolated from humans, other mammals, flies, animal feed, and river water. *Curr. Microbiol.* 11: 149-154 (1985)
16. Cornelis, G., Laroche, Y., Baligand, G., Sory, M.P. and Wauters, G. *Yersinia enterocolitica*, a primary model for bacterial invasiveness. *Rev. Infect. Diseases.* 9(1): 64-87 (1987)
17. Wauters, G., Janssens, M., Steogerwalt, A.G. and Brenner, D.J. *Yersinia mollaretii* sp. nov. and *Yersinia Bercovieri* sp. nov., formerly called *Yersinia enterocolitica* biogroups 3A and 3B. *Int. J. Sys. Bacteriol.* 38(4): 424-429 (1988)
18. Kaneko, S. and T. Maruyama. Pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 biotype 3 strains. *J. Clin. Microbiol.* 25: 454-455 (1987)
19. Kandolo, K. and Wauters, G. Pyrazinamidase activity in *Yersinia enterocolitica* and related organisms. *J. Clin. Microbiol.* 21(6): 980-982 (1985)
20. Faddin, M. and Jean, F. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 2th ed., p. 36-50 (1984)
21. Farmer J.J. 3rd., Carter G.P. and Miller V.L. Pyrazinamidase, CRMOX agar, salicin fermentation-esculin hydrolysis and D-xylose fermentation for identifying pathogenic serotypes of *Yersinia enterocolitica*. *J. Clin. Microbiol.* 30(10): 2589-2594 (1992)
22. Riley, G. and Toma, S. Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* by using Congo red-magnesium oxalate agar medium. *J. Clin. Microbiol.* 27: 213-214 (1989)
23. Hanski, C., Kutschka, U., Schmoranzler, H.P., Naumann, M., Stall-

- mach, A., Hahn, H., Menge, H. and Riecken E.O. Immunohistochemical and electron microscopic study of interaction of *Yersinia enterocolitica* serotype O : 8 with intestinal mucosa during experimental enteritis. *Infect. Immun.* 57(3): 673- 678 (1989)
24. Michael, P.D. and Dean O.C. *Yersinia enterocolitica*, Food borne diseases. Academic Press Inc., p. 223-228 (1990)
25. Swaminathan, B., Harmon, M.C. and Mehlamn, I.J. A review *Yersinia enterocolitica*. *J. Appl. Bacteriol.* 52: 151-183 (1982)
26. Burnens, A.P., Frey, A. and Nicolet, J. Association between clinical presentation, biogroups and virulence attribute of *Yersinia enterocolitica* strains in human diarrhoeal disease. *Epidemol. Infect.* 116: 27-34 (1996)
27. Fukushima, H. Isolation of *Yersinia enterocolitica* serogroup O : 8, biogroup 1B. *J. Clin. Microbiol.* 29: 2680 (1991)
28. Miller, V.L., Bliska, J.B. and Falkow, S. Nucleotide sequence of the *Y. enterocolitica* ail gene and characterization of the ail protein product. *J. Bacteriol.* 172: 1062-1069 (1990)
29. Wauters, G., Kandolo, K. and Janssens, M. Revised biogrouping scheme of *Yersinia enterocolitica*. The genus *Yersinia*: epidemiology, molecular biology and pathogenesis. *Contrib. Microbiol. Immunol.* 9: 14-21 (1987)

(2000년 7월 24일 접수)