

## 소와 돼지도체에서 *Yersinia enterocolitica*의 분리 및 특성

채희선\*, 김주영, 김지은, 양윤모, 진경선, 신방우, 김선홍, 이정학

서울특별시 보건환경연구원  
(접수 2008. 5.15. 게재승인 2008. 6.24)

## Characteristics of *Yersinia enterocolitica* isolates from beef and pork carcass

Hee-Sun Chae\*, Joo-Young Kim, Jee-Eun Kim, Yun-Mo Yang,  
Kyung-Sun Jin, Bang-Woo Shin, Sun-Heung Kim, Jung-Hark Lee

Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health & Environment,  
Seoul 427-070, Korea

(Received 15 May 2008, accepted in revised from 24 June 2008)

### Abstract

*Yersinia enterocolitica* is a zoonotic agent, and to cause food poisoning. This study was carried out to get some basic information for the control of *Yersinia* infection. A total of 1,680 samples were collected from beef and pork carcasses from January 2006 to December 2007 in Seoul. The isolation rate was higher in pork carcass than in beef carcass. Five(0.59%) *Yersinia enterocolitica* were isolated from the 840 of beef carcasses, and eighteen(2.14%) were isolated from the 840 of pork carcasses. Among 23 strains, 22 were classified into biotype 1A, and one was biotype 6. In serotyping of *Y enterocolitica* isolates, 21 strains were untypable (UT), and 2 were O5 and O8 respectively. In PCR, Ail gene was not detected in all of 23 strains that determined non-pathogenic. In antimicrobial susceptibility test, twelve strains(52.2%) of 23 isolates showed the multi-resistant patterns with over 3 drugs. PFGE was performed after the genomic DNA of twenty three isolates, which was digested with

---

\* Corresponding author :

Phone : +82-2-570-3437, Fax : +82-2-570-3043

E-mail : heedoogy@hanmail.net

Xba I. the 23 isolates showed 12(A~L) PFGE type.

Key words : *Yersinia enterocolitica*, Ail gene, Serotype, PFGE

## 서 론

*Yersinia enterocolitica*는 각종동물, 식품, 환경 등에 널리 분포되어 있으며, 사람은 본균에 오염된 식품을 통하여 감염되며 급성위장염, 장간막임파절염, 말단회장염, 다발성관절염, 골수염, 패혈증 등 다양한 질병을 일으키는 인수공통전염병균이다<sup>1)</sup>.

*Yersinia* 속균은 그람음성의 간균 및 장내세균의 통성혐기성 세균으로 *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. ruckeri* 및 *Y. kristensenii*의 7개의 균종으로 분류되어 있다. 이 중 *Y. enterocolitica*는 1964년 이전에는 *Bacterium enterocoliticum*, *Pasteurella pseudotuberculosis* type b 또는 *Pasteurella X*등으로 알려지다가 1964년 *Y. enterocolitica*로 명명 사용되고 있다<sup>2)</sup>.

모든 *Y. enterocolitica*는 병원성을 가지고 있는 것이 아니라 오히려 비병원성인 것이 더 많으므로 이 균의 병원성 확인은 매우 중요하며 많은 연구가 진행되어 왔다. 가장 일반적으로 사용되는 방법은 serotyping과 biotyping 방법이며, 최근에는 진핵세포체 대한 침투능력과 관련된 Ail gene의 존재여부를 알아보기 위해 PCR을 이용하여 병원성유전자를 검출하여 병원성을 확인하거나, HEp-2 세포의 침투성의 여부로 병원성을 판단하기도 한다<sup>3-4)</sup>.

*Y. enterocolitica*는 증식속도의 지연과 분리조건이 까다로워 다른 장내세균에 비해 분리빈도가 낮기 때문에 병원균으로 중요시되지 않았다. 그러나 최근 들어 각종 증균 및 선택배양에 대한 기술개발 및 배지의 보완으로

사람, 동물 및 자연환경에서 본 균의 분리율이 높아질 뿐 아니라 냉장온도에서도 증식이 가능하여 저온식품을 많이 이용하는 현대사회에서 감염의 증가를 야기 시킬 수 있는 가능성이 높아지면서, 냉장식품을 통한 사람의 식중독 원인균으로 부각되면서 공중위생학적 및 식품위생학적인 측면에서 중요시 되고 있다<sup>5)</sup>.

본 연구에서는 우리시 관내 도축되는 소와 돼지의 도체표면에서 *Y. enterocolitica*를 분리하고 분리균에 대하여 혈청형검사, 생화학검사를 통한 biotyping 및 병원성 검사를 위한 polymerase chain reaction(PCR), pulsed-field gel electrophoresis(PFGE)를 이용한 molecular typing 등의 실험을 실시하여 본균에 대한 분포 및 분리균의 특성을 연구하고자 하였다. 또한 축산물의 위생관리 및 안전성을 보다 더 향상시키고 소비자에게 안전한 식육을 공급함으로써 시민보건 향상에 이바지 하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 공시시료

*Y. enterocolitica* 분리를 위한 재료는 2006년 1월부터 2007년 12월까지 서울시 소재 도축장에 출하되는 소 840두와 돼지 840두의 도체표면을 Easy swab(Komed, Korea)으로 채취하여 사용하였다.

### *Y. enterocolitica*의 분리 및 동정

*Y. enterocolitica*의 선택배양 및 순수분리 소와 돼지의 도체표면을 easy swab으로 swabing한 액체 1ml를 9ml의 *Yersinia* enrichment broth와 peptone sorbitol bile broth(PSSB)에 접종하여 10°C에서 10일간

배양하였다. 증균배양액 0.1ml를 1ml의 0.5% KOH/0.5% NaCl에 넣어 잘 섞은 후 Cefsulodin irgasan novobiocin agar (Merck, France)에 도말하여 30°C에서 48시간 배양하였다. 배지 상에서 집락 중앙이 짙은 붉은 색을 띠고 주위가 투명한 모양을 띠는 전형적인 집락을 선별하여 Tryptic soy agar (Merck, France)에 계대배양한 후 API 20E (Biomerieux, France)에 접종하고 37°C에서 24시간 배양한 후 결과를 판독하였다.

#### 생물(아)형의 동정

Tryptic soy agar에 계대배양한 후, API 20E (Biomerieux, Lyon, France)에 접종하여 37°C에서 18~24시간 배양하여  $\beta$ -galactosidase 외 19종에 대한 효소 활성과 당분해, 기질생산 등의 생화학적 성장검사와 biotyping을 위해 lipase, esculin, indole, xylose, trehalose,  $\beta$ -D-glucosidase, pyrazinamidase, proline peptidase test를 실시하였다.

#### 혈청학적 검사

*Y. enterocolitica*로 분리 동정된 23주에 대하여 O 항혈청을 이용한 응집반응은 rapid slide agglutination test로 수행하였으며 *Y. enterocolitica* antisera (Denka Seiken, Japan)는 type 1·2, type 3, type 5, type 8, type 9를 사용하여 실시하였다.

#### PCR을 이용한 병원성 검사

분리주의 병원성여부를 확인하기 위하여 병원성과 관련 있는 Ail gene에 대한 PCR을 실시하였다. template DNA는 BHI broth에 증균된 배양액을 사용하였으며, 배양액을 3,000rpm에서 5분간 원심분리 후 pellet을 멸균증류수 50 $\mu$ l에 균일하게 푼 다음, 100°C에서 20분간 끓였다. 이것을 얼음에 5분간

방치한 후 12,000rpm에서 3분간 원심분리한 후 상층액을 template DNA로 사용하였다. PCR에 사용된 primer는 Ail gene에 특이적인 primer로서 Ail 1의 sequence는 5'-CGTCTGTTAATGTGTAC-3'이고, Ail 2는 5'-GGTGCCAACCTTTTATGCTATCG-3'이다<sup>2,6)</sup>. PCR mixture는 1 $\times$ PCR buffer (Takara, Japan), 0.2mM dNTP, 1 $\mu$ M의 각각의 primer와 2.5U Taq DNA polymerase (Takara, Japan)를 사용하였으며 template로 1 $\mu$ l를 넣어 PCR을 실시하였다. PCR 반응조건은 94°C 1분간 denaturation, 56°C 1분간 annealing, 72°C 1분 30초간 extension과정을 35 cycle 실시하였으며, 최종 cycle의 extension은 10분으로 하였다. PCR 반응산물 2 $\mu$ l을 1.5% agarose gel에 전기 영동하여 특이밴드를 확인하였다.

#### 분리균의 항생제 내성시험

National committee for clinical laboratory standards (NCCLS)의 기준에 따라 디스크확산법 (disk diffusion method)을 이용하여 분리된 *Y. enterocolitica*에 대하여 항생제 내성시험을 실시하였다<sup>7)</sup>. TSA에서 자란 집락을 Mueller Hinton broth (Difco, USA)에 McFarland 0.5가 되도록 조정된 다음 Mueller Hinton agar (Difco, USA)에 도말하고 3분간 건조시킨 후 Disk dispenser (Becton dickinson, USA)를 이용하여 디스크를 심고 37°C, 24시간 배양 후 결과판독하였다. 항생제는 amikacin (AN30), amoxicillin/clavulanic acid (AMC30), ampicillin (AM10), carbenicillin (CB100), cefazolin (CZ30), cefotaxime (CTX30), chloramphenicol (C30), ciprofloxacin (CIP5), colistin (CL10), gentamicin (GM10), kanamycin (K30), neomycin (N30), streptomycin (S10), sulfisoxazole (G25), tetracycline (TE30), trimethoprim/sulfamethoxazole (STX)을 사용하였다.

## Chromosomal DNA의 제한효소 처리 및 PFGE

PFGE는 Gautom 등<sup>8)</sup>과 Matushek 등<sup>9)</sup>의 방법을 변형하여 사용하였다. 순수 분리한 25개의 분리주와 표준균주를 TSA agar에 37°C, 24시간 배양시킨 후 면봉을 이용하여 cell suspension TE(Tris-EDTA) buffer (10mM Tris, pH 8.0 and 1mM EDTA, pH 8.0)에 colorimeter 15%의 투명도로 조정하여 현탁하였다. 만들어진 균 현탁액 200  $\mu$ l에 동량의 1.2% seakem gold agarose를 균일하게 섞은 후 바로 plug mold(Bio-rod, USA)에 넣어 4°C에서 10분간 굳혔다. 이 plug를 ES buffer(0.5M EDTA, pH 9.0; 1% sodium-lauroyl sarcosine) 1.5ml와 proteinase K 40  $\mu$ l (20mg/ml)를 섞은 용액에 55°C에서 1시간동안 진탕처리 하였다. proteinase K가 처리된 plug는 멸균증류수로 55°C에서 10분간 진탕하여 세척한 후 plug wash TE buffer에 넣어 55°C, 30분간 4회 세척하였다. 세척이 끝난 plug는 1mm의 두께로 자른 다음 50Unit의 *Xba* I(Takara, 15Unit/ $\mu$ l)로 37°C, 4시간동안 제한효소를 처리하였다. 제한효소반응이 끝나면 반응액을 제거하여 PFGE에 사용하였으며, seakem gold agarose를 사용하여 1% agarose gel에 loading하였다. 다 만들어진 gel은 전기영동 cell에 넣어 Chef mapper PFGE (Bio-Rad, USA)를 이용하여 Two block으로 실시하였다. 1st block은 initial 2s, final 10s에서 13시간 전기영동하였으며 2nd block은 initial 20s, final 25s에서 6시간 수행하였다. gradient 6.0V, angle은 각각 60도와 -60도에서 실시하였다. 전기영동이 완료되면 ethidium bromide 용액(0.5mg/mg)에 gel을 넣어 30분간 염색 후 증류수에서 24시간 탈색하였다. PFGE 결과는 Tenover 등의 방법<sup>10)</sup>에 따라 각 균주의 DNA 위치가 다른 절편 수에 따라서 group을 결정하였고, BioNumerics software(Core-Bio, Korea)를 이용하여 Dice법으로 dendrogram을 작

성하여 균주간의 유연관계를 비교분석 하였다.

## 결과 및 고찰

### *Y. enterocolitica* 분리

2006년 1월부터 2007년 12월까지 총 1,680건 중 23주(1.36%)의 *Yersinia enterocolitica*를 분리하였다(Table 1). 소에서는 총 840건 중 5건(0.59%)이 분리되었으며, 돼지에서는 총 840건 중 18건(2.14%)이 분리되어 돼지에서 더 높은 분리율이 나타났다. 임 등<sup>11)</sup>은 유통 중인 쇠고기와 돼지고기에서 *Y. enterocolitica*의 분리율을 조사한 결과 쇠고기에서 8.5%, 돼지고기에서 17%를 분리하였다. 본 연구와 전체적인 분리율을 비교할 때 도축장의 소와 돼지의 도체표면에서 분리했을 때보다 훨씬 높게 나타났으나, 쇠고기보다 돼지고기에서 월등히 높은 분리율을 보인 것은 본 결과와 일치하였다. 조 등<sup>12)</sup>은 각종 동물의 분변에서 *Y. enterocolitica*를 분리하였는데 돼지에서 23.6%를, 개의 분변에서 22.4%를 분리하였다. *Y. enterocolitica*는 각종동물의 분변, 고기, 유유 등의 식품에서도 분리되고 자연계와 환경에 널리 분포되어 있다고 한다<sup>13-14)</sup>. 이렇게 주위환경에 상재해 있으며, 냉장상태에서도 생존율이 높기 때문에 도축과정이나 식육의 유통 과정에서 교차 오염에 대한 주의가 필요할 것으로 사료된다.

### 생화학적 및 혈청학적 검사

*Y. enterocolitica*는 생화학적 성상에 의하여 7개 biotype으로 분류되며 균체의 내열성 다당체 O 항원에 대한 특이 O 항혈청을 이용한 균체응집반응에 의하여 약 57개의 혈청형으로 분류된다<sup>12)</sup>. 분리된 23주에 대하여 생화학적 검사결과 모두 API 20E에서 전형적인 생화학적 성상을 보였으며, 생화학적 성상

Table 1. Characteristics of the *Y enterocolitica* isolated from carcasses

Isolate number	Animal species	Sampling date	Biotype	Serotype	<i>Ail</i> gene PCR	PFGE type
S1	bovine	060207	1A	UT	-	B2
S2	bovine	060222	1A	UT	-	I
S3	porcine	060222	1A	UT	-	J3
S4	porcine	060306	1A	O5	-	B1
S5	porcine	060306	6	UT	-	G
S6	porcine	060314	1A	UT	-	L
S7	porcine	060314	1A	UT	-	C1
S8	bovine	060314	1A	UT	-	C2
S9	porcine	060323	1A	UT	-	A1
S10	porcine	060328	1A	UT	-	A1
S11	porcine	060328	1A	UT	-	A1
S12	porcine	060328	1A	UT	-	A2
S13	porcine	060404	1A	UT	-	H
S14	porcine	060404	1A	UT	-	A1
S15	bovine	060404	1A	O8	-	F
S16	porcine	060418	1A	UT	-	D1
S17	porcine	060418	1A	UT	-	D1
S18	bovine	070312	1A	UT	-	E
S19	porcine	070409	1A	UT	-	J2
S20	porcine	070423	1A	UT	-	K1
S21	porcine	071126	1A	UT	-	J1
S22	porcine	071126	1A	UT	-	J1
S23	porcine	071126	1A	UT	-	J1

을 이용한 biotyping결과에서는 1주 만이 biotype 6을 나타냈으며 나머지 22주는 모두 1A type을 나타내었다. 혈청학적 검사 결과는 O:5 1주, O:8 1주 그리고 나머지 21주는 UT(untypable)로 나타났다.

Brunens 등<sup>15)</sup>은 Biotype과 혈청타입의 연

관성은 병원성과 관련이 깊은 것으로 보고한 바 있는데, 이는 B2/O:9, B3/O:3 그리고 B4/O:3가 병원성과 밀접한 관련이 있다고 하였으며, 혈청타입과 biotype이 함께 고려되어 지는 것이 병원성 확인에 용이하다고 한다<sup>4)</sup>. 본 연구에서는 일반적으로 병원성이 있다고

알려진 O:3와 O:9형은 분리되지 않았으며, 전체 분리주 중 혈청에 응집반응을 보이지 않은 것이 21주(91.3%)나 차지하였다. 그 이유는 *Y enterocolitica*가 다양한 혈청형이 보이는데 비해 현재 상업적으로 이용 가능한 혈청이 5가지 뿐이기 때문이며 보다 정확한 혈청학적 시험을 위해서는 보다 많은 항혈청의 상업적인 보급이 필요하겠다.

### 병원성검사

본 연구에서는 Ail gene에 특이적인 primer를 이용하여 PCR을 실시하였으며, 458bp의 DNA product의 유무를 확인하여 병원성 유무를 판단하였다. 전체 23건의 *Y enterocolitica* 분리균주의 PCR 결과 특이밴드가 확인되지 않아 모두 병원성이 없는 것으로 판명되었다. 이는 분리주의 혈청형이 병원성을 나타내는 O:3나 O:9의 혈청형이 보이지 않았던 것과 일치하는 양상을 보였다. *Y enterocolitica*의 병원성과 관련된 인자는 크게 두가지로 구분되는데 그 중 하나는 plasmid의 존재이다. 40~48 Megadalton (MD) 크기의 plasmid를 보유할 경우 병원성과 관련성이 깊다고 알려져 있으나, 37°C에 균을 배양할 경우 쉽게 소실되는 특성이 있어 병원성을 판단하는데 적합하지 않다. 두번째는 진핵세포에 침투능력과 관련된 Ail gene(attachment-invasion locus)의 보유 유무로서 병원성을 100% 있는 것으로 밝혀졌다<sup>16-17)</sup>. 또한 이 유전자는 chromosome에 위치하여 배양조건에 관계없이 병원성을 확정하는 기준으로 적합하다.

### 항생제 내성시험

Amikacin외 15종의 항생제에 대한 내성시험을 실시한 결과, amikacin, cefotaxim, chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin, kanamycin, neomycin, streptomycin, sulfisoxazole, tetracycline, trimethoprim/

sulfamethoxazole에 23주 모두 감수성을 보였으며, 내성이 많이 관찰되는 항생제는 amoxicillin/clavulanic acid 11주(47.9%), ampicillin 18주(78.3%), carbenicillin 21주(91.3%), cefazolin 10주(43.5%)로 나타났다(Table 2). 3가지 이상의 다제내성 양상을 보인 분리주는 12주(52.2%)였으며, 이 중 1주는 colistin, ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, cefazolin에, 6주는 ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, cefazolin, carbenicillin에, 4주는 ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, carbenicillin에, 그리고 1주는 ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, cefazolin에 다제내성을 각각 보였다(Table 3). 임 등<sup>11)</sup>은 분리주의 대부분이 carbenicillin과 ampicillin에 높은 내성을 보인다고 보고하였으며, 조 등<sup>12)</sup>은 chloramphenicol, tetracycline, kanamycin, gentamicin에 높은 감수성을 보인다고 보고하여 본 연구결과와 비슷한 양상을 보였다.

### PFGE

분리된 23주의 *Y enterocolitica*에 대해 *Xba I* restriction enzyme으로 처리 후 PFGE를 실시한 결과 그림 1과 같이 33.3~1135kb에서 15~23개의 분획으로 나타났다(Fig 1). 85%의 상동성 기준으로 PFGE dendrogram을 그린 결과 12개의 PFGE type(A~L)으로 나뉘었다(Fig 2). 본 연구에서는 혈청형에 걸리지 않은 UT(untypable)이 21주나 되어 균주간의 구별되는 typing 방법으로 PFGE typing을 유용한 방법이라 사료되어 사용하였다. Bushrieser 등<sup>18)</sup>은 *Y enterocolitica*를 PFGE를 실시하였을 때 restriction fragment가 다수 형성되어 분석하기 어려운 문제가 발생하며 판독 범위를 75~100kb 이상에서 제한하거나 12~15개의 커다란 밴드만을 판독한다고 하였다. 본 연구에서도 잘라진 fragment가 다수

Table 2. Antimicrobial susceptibility of 23 *Y enterocolitica* isolates

Antimicrobial agents	Disc potency( $\mu\text{g}$ )	No of isolates(%)		
		Resistant	Intermediate	Susceptible
Amikacin	30	0	0	23(100)
Amoxicillin/ Clavulanic acid	20/10	11(47.9)	3(13.0)	9(39.1)
Ampicillin	10	18(78.3)	3(13.0)	2(8.7)
Carbenicillin	100	21(91.3)	0	2(8.7)
Cefazolin	30	10(43.5)	6(26.1)	7(30.4)
Cefotaxime	30	0	0	23(100)
Chloramphenicol	30	0	0	23(100)
Ciprofloxacin	5	0	0	23(100)
Colistin	10	1(4.3)	0	22(95.7)
Gentamicin	10	0	0	23(100)
Kanamycin	30	0	0	23(100)
Neomycin	30	0	0	23(100)
Streptomycin	10	0	0	23(100)
Sulfisoxazole	250	0	0	23(100)
Tetracycline	30	0	0	23(100)
Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	1.25/23.75	0	0	23(100)

Table 3. Multiple drug resistant patterns in *Y enterocolitica* isolates

Multiple drug resistance pattern	No of isolates(%)
Colistin, Ampicillin, Amoxicillin/clavulanic acid, cefazolin	1(4.3)
Ampicillin, Amoxicillin/clavulanic acid, cefazolin, Carbenicillin	6(26.0)
Ampicillin, Amoxicillin/clavulanic acid, Carbenicillin	4(17.4)
Ampicillin, Amoxicillin/clavulanic acid, cefazolin	1(4.3)
Total	12(52.2%)

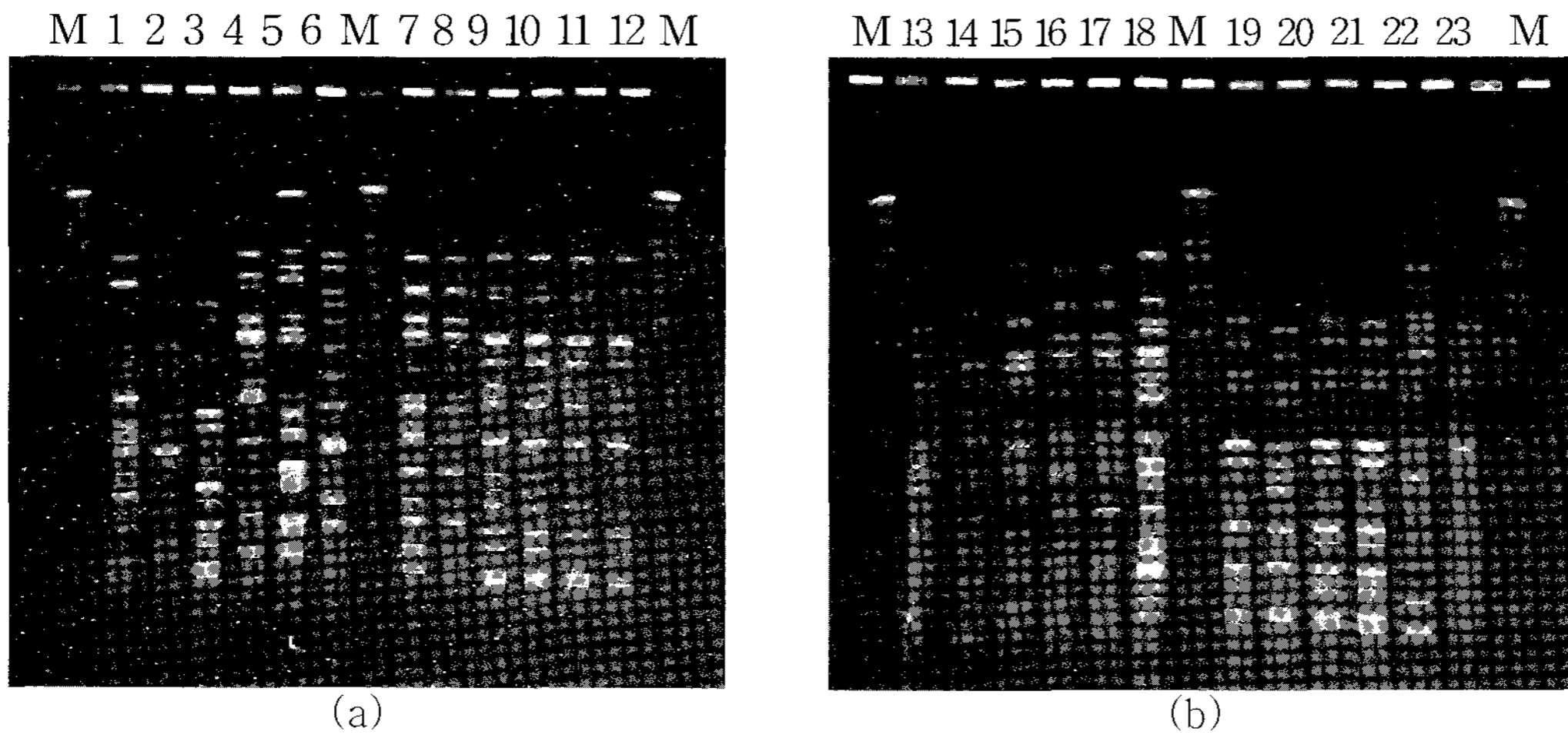


Fig 1. PFGE patterns of 23 strains of *Y enterocolitica* isolated from the carcass  
 Lane M ; Salmonella serovar Braendrup H9812 reference(Global) Standards treated with *Xba* I, 1;S1, 2;S2, 3;S3, 4;S4, 5;S5, 6;S6, 7;S7, 8;S8, 9;S9, 10;S10, 11;S11, 12;S12, 13;S13, 14;S14, 15;S15, 16;S16, 17;S17, 18;S18 19;S19, 20;S20, 21;S21, 22;S22, 23;S23.

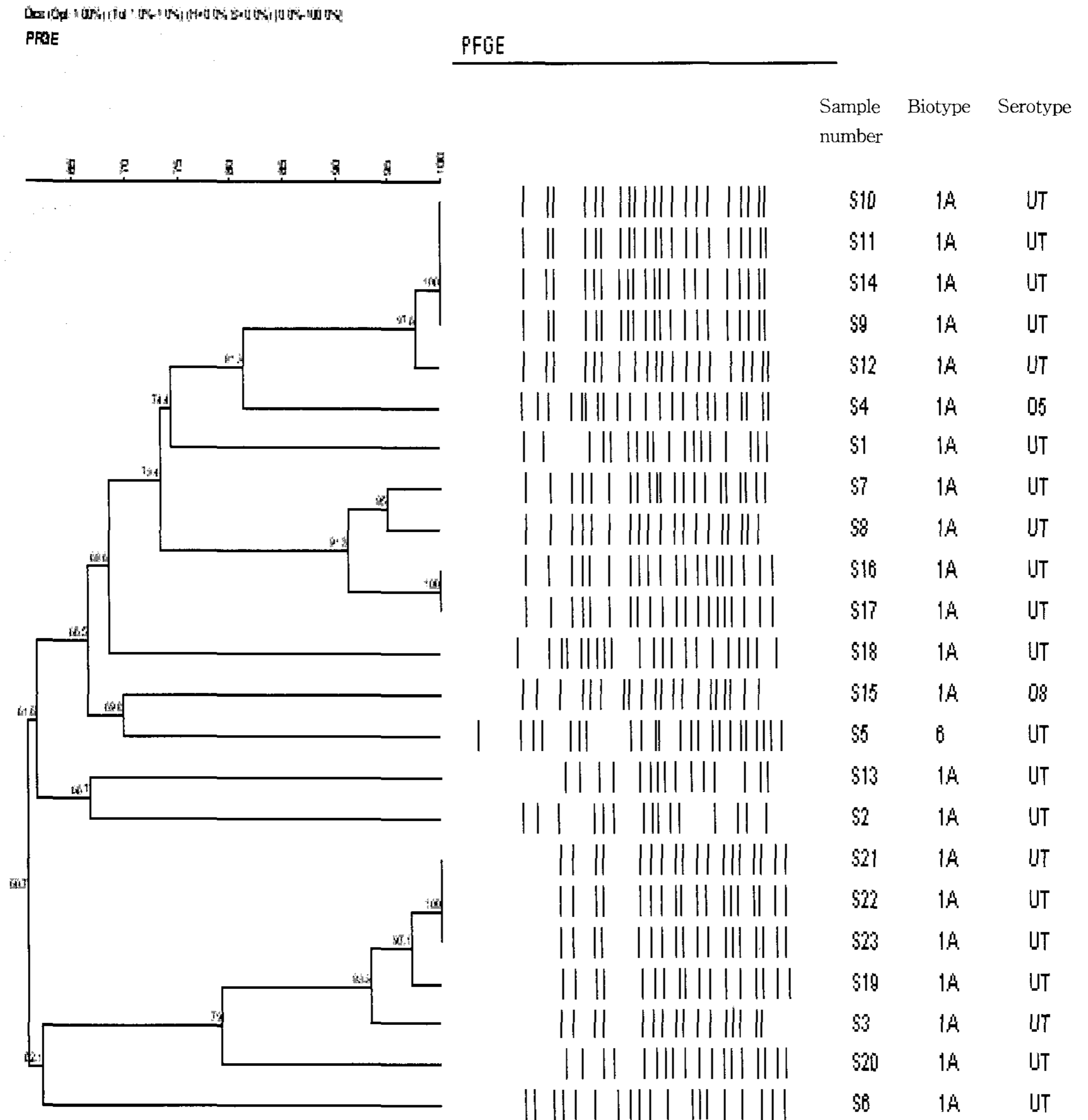
형성되어 Dedrogram 제작시 오차범위를 10%로 설정하여 분석하였다. S9부터 S12 균주, S16과 S17 그리고 S21부터 S23 분리주는 각각 같은 시기에 분리되었으며, 같은 시기에 분리된 균주 사이에 상동성이 97% 이상 보여 도축장 환경이나 작업라인에 균이 오염되어 도축과정 중 도체에 교차오염 되는 것으로 추정할 수 있었다. 예전에는 식품과 환자에서 같은 bioserotype이 나왔을 경우 유사성이 있다고 판단하였으나, Hristo 등<sup>19)</sup>은 같은 serobiotype사이에도 구별할 수 있는 molecular typing도 필요하다고 하였다. Interman 등<sup>20)</sup>은 3가지의 molecular typing 방법(PFGE, ribotyping 그리고 REAP (restriction enzyme analysis of the virulence plasmid) 중에서 PFGE는 sub-typing의 가장 적당한 방법이라고 하였으며, Lambertz 등<sup>21)</sup>은 같은 serobiotype의 구별되는 균주를 위한 유용한 역학적인 tool이라고 언급하였다.

## 결론

*Y enterocolitica*는 각종동물, 식품, 환경 등에 널리 분포되어 있으며, 냉장온도에서도 증식이 가능하여 공중위생학적 및 식품의생학적인 측면에서 중요시 되고 있다. 본 연구에서는 서울시 관내 도축장에서 도축되는 소와 돼지의 도체표면에서 2006년 1월부터 2007년 12월까지 총 1,680건 중 23주(1.36%)의 *Y enterocolitica*를 분리하였다. 소에서는 총 840건 중 5건(0.59%)이 분리되었으며, 돼지에서는 총 840건 중 18건(2.14%)이 분리되어 돼지에서 더 분리율이 높게 나타났다. 분리된 23주에 대하여 생화학적 검사결과 모두 API 20E에서 전형적인 생화학적 성상을 보였으며, 생화학적 성상을 이용한 biotyping결과에서는 1주 만이 biotype 6을 나타냈으며 나머지 22주는 모두 1A type을 나타내었다. 혈청학적 검사 결과는 O:5가 1주, O:8가 1주 그리고 나머지 21주는 UT(untypable)로 나타났다. 병원성 검사를 위한 *Ail* gene의



Fig 2. Dendrogram showing the clustering of PFGE patterns for 23 isolates of *Y enterocolitica* from the carcasses



PCR 결과는 23주 모두 병원성이 없는 것으로 확인되었다. 항생제 검사를 실시한 결과, amikacin, cefotaxim, chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin, kanamycin, neomycin, streptomycin, sulfisoxazole, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole에 23주 모두 감수성을 보였으며, 내성이 많이 관찰되는 항생제는 amoxicillin/clavulanic acid 11주(47.9%), ampicillin 18주(78.3%), carbenicillin 21주(91.3%), cefazolin 10주(43.5%)로 나타났다. 3가지 이상의 다제내성 양상을 보인 분리주는 12주(52.2%) 였다.

*Xba I* restriction enzyme으로 처리 후 PFGE를 실시한 결과 85%의 상동성 기준으로 12개의 PFGE type(A~L)으로 나뉘었다.

## 참고문헌

1. 탁현빈. 1992. *Yersinia enterocolitica*의 신속증균법. 한국수의공중보건학회지 16:1-6.
2. 오호정, 김창민, 성원근 등. 1996. Polymerase chain reaction을 이용한 *Yersinia enterocolitica*와 *Yersinia pseudotuberculosis*의 조기진단법 개발에 관한 연구. 대한미생물학회지 31:165-173.
3. Falcao JP, Falcao DP, Pitondo-Silva A et al. 2006. Molecular typing and virulence markers of *Yersinia enterocolitica* strains from human, animal and food origins isolated between 1968 and 2000 in Brazil. *J of Med Microbiol* 55: 1539 -1548.
4. Chiesa C, Pacifico L, Ravagnan G, 1991. Isolation of *Yersinia enterocolitica* serogroup O:8, biogroup 1B. *J Cli Microbiol* 29:2680.
5. 임순영, 윤석권. 2001. *Yersinia enterocolitica*의 병원성 검정에 관한 연구. 한국식품과학회지 33: 486-491.
6. Miller VL, Briska JB, Falkow S. 1990. Nucleotide sequence of the *Yersinia enterocolitica* ail gene and characterization of the Ail protein product. *J of Bacteriol* 172 : 1062-1069.
7. National Commitee for Clinical Laboratory Standards. 2000. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test*. Approved standard-seven edition 20: M100-S10.
8. Gautom RK. 1997. Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for typing of *Escherichia coli* O157:H7 and other gram-negative organism in 1 day. *J clin Microbiol* 35: 2977-2980.
9. Matushek MG, Bonten MJM, Hayden MK. 1996. Rapid preparation of bacterial DNA for pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbial* 34 : 2598-2600.
10. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis : Criteria for bacterial strain typing. *Journal of Clinical Microbiology* 33: 2233-2239.
11. 임순영, 이동하, 박선희 등. 1999. 식품에서 분리한 *Yersinia enterocolitica*의 특성조사. 한국식품과학회지 31: 183-188.
12. 조현호, 이제용, 서광욱 등. 1994. 수입 돼지 및 개의 분변 유래 *Yersinia enterocolitica*균의 분포와 특성. I. 생물형, 혈청형 및 항생제 감수성. 한국수의공중보건학회지 18:117-125.
13. Shagegani M, Stone WB, Deforge I, et al. 1986. *Yersinia enterocolitica*

- and related species isolated from wildlife in New York State. *Appl Environ Microbiol* 52 : 420-424.
14. Shavegani M, DeForge I, McGlynn DM, Root T. 1981. Characteristic of *Yersinia enterocolitica* and related species isolated from human, animal and environmental sources. *J Clin Microbiol* 14: 304-312.
  15. Brunens AP, Frey A, Nicolet J. 1996. Association between clinical presentation, biogroups and virulence attribute of *Yersinia enterocolitica* strains in human diarrhoeal disease. *Epidemiol. Infect* 116: 27-34.
  16. Fenwick SG, Murray A. 1991. Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* by polymerase chain reaction. *Lancet* 337: 496-497.
  17. Kwaga J, Iversen JO, Misra V. 1992. Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* by polymerase chain reaction and digoxigenin-labeled polynucleotide probes. *J Clin Microbiol* 30: 2668-2673.
  18. Buchrieser C, Weagant SD, Kaspar CW. 1994. Molecular characterization of *Yersinia enterocolitica* by pulsed-field gel electrophoresis and hybridization of DNA fragments to ail and pYV probes. *Appl Environ Microbiol* 60: 4371-4379.
  19. Najdenski H, Iteman I, Carniel E. 1994. Efficient subtyping of pathogenic *Yersinia enterocolitica* strains by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Journal of Clinical Microbiology* 32: 2913-2920.
  20. Iteman I, Guiyoule A, Carniel E. 1996. Comparison of three molecular methods for typing and subtyping pathogenic *Yersinia enterocolitica* strains. *J Med Microbiol* 45:48-56.
  21. Thisted Lambertz S, Danielsson-Tham ML, 2005. Identification and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* isolates by PCR and Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Applied and Environment Microbiology* 71: 3674-3681.