

患者에서 分離한 Enterococcus의 藥劑耐性과 R Plasmid

(Drug Resistance and R Plasmid of Enterococcus Isolated from Patients)

全北大學校 醫科大學 微生物學 教室

李 憲 九 · 河 大 有

=Abstract=

Drug Resistance and R Plasmid of Enterococcus Isolated from Patients

Hern-Ku Lee, M.D. and Tai-You Ha, M.D.,

Department of Microbiology, Jeonbuk National University Medical School, Jeonju, Korea

One hundred and three clinical isolates of enterococci were examined for susceptibility to 8 antibiotics, and transferability and transfer frequency of R plasmid.

Ampicillin was the most active, followed in decreasing order by rifampin, amikacin and chloramphenicol, and tetracycline.

High-level resistance ($\geq 2,000\mu\text{g/ml}$) to kanamycin, streptomycin, and gentamicin, known as the most active of the aminoglycosides to enterococcus, was present in 26.2%, 21.4%, and 18.3% of the isolates, respectively.

In the drug susceptibility of the species, *S. zymogenes* was the most resistant and *S. durans* was the most sensitive to tested antibiotics.

We could observed the transferability of enterococcal R plasmid in mixed culture: among the 28 strains which showed multiple drug resistance, 17 strains transferred all or part of their resistance with 2×10^{-4} - $2 \times 10^{-6}\%$ of transfer frequency to a plasmid-free recipient, *S. faecalis* strain JH 2-2.

緒 論

R plasmid가 大腸菌群, 痢疾菌, salmonella, 變形菌, 肺炎桿菌, 綠膿菌, 콜레라菌 등 주로 Gram陰性腸內桿菌의 藥劑耐性과 藥劑耐性傳達到 關與함은 잘 알려진 事實이며 이들 菌에서 檢出된 R plasmid에 對해서는 그 遺傳의 特性이나 分子의 構造에 關하여

많은 研立가 行하여져 R plasmid는 自動的으로 複製되는 細菌의 染色體外 DNA粒子로서 covalently closed circular form으로 存在함에 糾明되었으며^{1,2)} 우리나라에서도 現在 이에 關한 研究報告가 相當히 많 다^{3,4)}. 그러나 Gram陽性球菌의 R plasmid에 關해서는 잘 알려져 있지 않은 것 같다.

腸球菌(enterococcus)은 Lancefield group D streptococcus로서 *S. faecalis*, *S. faecium*, 및 *S.*

durans 그리고 *S. faecalis*의 variants로 *S. liquefaciens*와 *S. zymogenes*로 分類되고 있으며¹⁾ 腸內細菌의 하나로 Gram陽性球菌이며 사람에게 細菌性心內膜炎을 비롯하여 尿道炎, 膀胱炎, 腹膜炎, 腦髓膜炎, 創傷感染 등을 惹起시키며²⁾ 1950年代 以後 다른 腸內細菌이나 葡萄狀球菌에서와 같이 腸球菌에 있어서도 抗生劑에 對한 耐性이 急激히 增加하고 그 耐性樣狀도 多劑耐性³⁾이라는 點에서 醫學界의 關心을 끌게 되면서 부터 이 菌에 있어서도 R plasmid에 依한 藥劑耐性獲得의 可能性이 臺頭되게 되었는데 1963年 Raycroft等⁴⁾이 最初로 接合에 依한 藥劑耐性傳達을 報告하였고 1972年 Courvalin等⁵⁾이 tetracycline과 erythromycin의 耐性에 關與하는 R plasmid의 存在를 最初로 確認한 以後 많은 研究者들^{10,11,12,13,14,19)}이 依해 腸球菌에 있어서도 藥劑耐性傳達 現象이 R plasmid 仲介에 依한다는 事實을 再確認하였으나 우리나라에서는 이에 對한 報告가 전혀 없는 實情이다.

따라서 著者들은 臨床可檢物에서 分離한 103株의 腸球菌을 對象으로 우리나라에서 分離한 腸球菌의 抗生劑感受性狀態를 調査하고 나아가서 R plasmid에 依한 藥劑耐性傳達有無를 確認하고자 本 實驗을 實施하여 興味있는 結果를 얻었으므로 그 結果를 提示하고자 한다.

實驗材料 및 方法

菌株의 分離 및 同定: 1977年 12월부터 1978年 2月 사이에 全北大學校 醫科大學 附屬病院에 來院한 外來患者 및 入院患者의 大便, 尿 및 腔分泌物로부터 腸球菌을 分離하였다.

腸球菌의 分離는 Facklam^{15,16)} Frankel等¹⁷⁾ 및 Quadri等¹⁸⁾이 記述한 結果를 參酌하여 修飾한 方法

(河大有·李憲九: Enterococcus의 分離方法의 檢討 및 分離菌의 生物學的 性狀, 未發表)에 따라 實施하였다.

簡記하면 可檢物을 適當量 Streptococcus faecalis broth (SFB)¹⁷⁾에 接種하여 37°C에 約 48時間 培養한 後 이 培養液을 eosine methylene blue (EMB) agar에 接種하여 48時間 培養하였다. 그 後 EMB培地에 形成된 集落을 Gram染色하여 連鎖狀을 나타낸 球菌만을 選擇하여 6.5% salt broth (SB)¹⁸⁾에 接種 培養하여 SB에 增殖한 菌株를 bile-esculine medium (BEM)¹⁶⁾에 다시 接種하여 72時間 37°C에 培養하여 黑色集落을 나타낸 菌株를 推定同定(presumptive identification)하였으며 그 後 tellurite tolerance, heat-tolerance, 人血球, 家兔血球, 緬羊血球의 溶血反應, gelatin 液化能, 糖 (sorbitol, mannitol, sucrose, arabinose) 分解 및 gas 產生能 등의 生物學的 性狀을 檢査하여 最終 同定하고 等 1表와 같이 Topley等¹⁹⁾이 記述한 分類法에 따라 菌을 分類하였다.

이렇게 하여 分離된 菌株는 5% 脫纖維 緬羊血液 添加 寒天培地 (pH 7.2)에 保管하면서 實驗에 使用하였다.

供試菌株: 上記한 方法에 準하여 臨床可檢物로부터 103株의 腸球菌을 分離하여 이들을 供試하였으며 分離菌은 第 2表에서 보는 바와 같이 *S. liquefaciens* 45株, *S. zymogenes* 및 *S. durans* 各 16株, *S. faecalis* 와 *S. faecium* 各 11株 및 種別不能株 4株 등을 抗生劑感受性檢査에 供試하였으며 藥劑耐性傳達試驗에는 Swiss의 Zurich 醫科大學 H.P Marder 教授로부터 分讓받은 HK 282 *Streptococcus faecalis* JH 2-2 (JH2-2)를¹⁹⁾ 受容菌(recipient)으로 使用하였는데 JH2-2는 fusidic acid 및 rifampin에 耐性菌株이었다.

Table 1. Classification of species of enterococcus by biochemical test*

Species	Tellurite resistance	Gelatin hydrolysis	Hemolysis on rabbit blood agar	Acid production**			
				Sorbitol	Mannitol	Sucrose	Arabinose
<i>S. faecalis</i>	+	-	-	+	+	+	-
<i>S. zymogenes</i>	+	±	β	+	+	+	-
<i>S. liquefaciens</i>	+	+	-	+	+	+	-
<i>S. faecium</i>	-	-	α	-	+	+	+
<i>S. durans</i>	-	-	α or β	-	-	±	-

*Modified from Topley and Wilson¹⁹⁾

**No one strain produced gas.

Table 2. Species of Enterococcus isolated

Species	No. of isolates	Percent of totals
<i>S. liquefaciens</i>	45	43.7
<i>S. zymogenes</i>	16	15.5
<i>S. durans</i>	16	15.5
<i>S. faecalis</i>	11	10.7
<i>S. faecium</i>	11	10.7
Variant	4	3.9
Total	103	100

感受性檢査用 培地 및 藥劑: 抗生劑感受性 檢査用 培地로는 nutrient broth (pH 7.2)를 抗生劑 耐性傳 達試驗을 爲한 培地로는 brain-heart infusion (BHI) broth와 BHI agar (pH 7.2)를 使用하였다.

使用한 抗生劑는 ampicillin (AP, 日同製藥), ri-fampin (RP, 韓獨藥品), tetracycline (TC, 鍾根堂 製藥), kanamycin (KM, 東亞製藥), streptomycin (SM, 韓獨藥品) chloramphenicol (CP, 鍾根堂製藥) gentamicin (GM, 柳韓洋行), amikacin (AK, 權華 製藥)等 8種 이었으며 RP와 CP는 各各 10% dime-thyl sulfoside와 95% 에칠알콜에 溶解한 後 滅菌된 蒸溜수로 稀釋하였으며 나머지 藥劑는 모두 滅菌된 蒸 溜수로 溶解시켜 使用하였다.

抗生劑感受性檢査: 液體培地稀釋法으로 實施하여 最 少阻止濃度(MIC)를 求하였다. 即 2ml의 BHI broth 에 菌을 接種, 一晝夜 培養하여 滅菌生理食鹽수로 5배 稀釋 後 이 稀釋 菌液을 直徑 5mm의 loop를 利用하 여 nutrient broth로 2배系列 稀釋한 抗生劑溶液 1ml 에 한번 接種하여 菌 接種量을 10^5 — 10^6 cells/ml 되게 하였다. 이를 37°C에 約 24時間 培養 後 肉眼的으로 混濁度를 觀察하여 菌의 增殖與否를 判讀하였으며 MIC는 菌의 增殖을 完全히 抑制한 最少의 抗生劑濃 度로 定하였다.

藥劑耐性 傳達試驗: 抗生劑感受性檢査 結果 CP 또 는 TC 100 μ g/ml 濃度, GM, KM 또는 SM 2,000 μ g/ml 濃도에 各各 耐性을 보인 菌株를 供與菌(donor) 으로, 上記한 JH2-2를 受容菌으로 使用하였다.

耐性傳達試驗은 前報²⁰⁾에서와 같이 實施하였다. 簡 記하면 5ml의 BHI broth에 18時間 培養한 供與菌과 受容菌의 各 培養液을 1:10의 比率로 混合하여 37°C 에 18時間 混合培養하였다. 그 後 耐性因子를 傳達받 은 受容菌을 檢出하기 爲하여 混合培養液 0.2ml을 各

種 選擇培地에 接種하여 37°C에 48時間 培養 後 增殖 하던 藥劑耐性傳達 陽性으로 判定하였다. 그리고 對照 로 供與菌과 受容菌을 個別的으로 같은 條件下에서 培 養, 接種하여 供與菌과 受容菌의 藥劑에 對한 自然突 然變異의 發現與否와 選擇培地의 抗生劑 效果를 觀察 하였다.

이 때 耐性을 傳達받은 受容菌을 檢出하기 爲한 選 擇培地로는 RP (100 μ g/ml)에 CP (25 μ g/ml), TC (100 μ g/ml) 그리고 GM, KM 및 SM(共히 500 μ g/ml) 中 必要에 따라 1劑를 添加한 培地를 使用하였다.

藥劑耐性 傳達頻度檢査: Siekman等²¹⁾이 記述한 方 法을 多少 修飾하여 前報²⁰⁾와 같은 方法으로 實施하였 다. 即, 供與菌과 受容菌의 混合培養液을 10倍系列稀釋 하고 各 稀釋菌液 0.2ml을 選擇培地에 接種하여 37°C 에 48時間 培養 後 나타난 集落數를 觀察하여 供與菌 으로부터 耐性을 傳達받은 受容菌數를 計算하였으며 培地 1ml當 100 μ g 濃度の RP를 添加한 BHI agar에 混合培養液 0.2ml을 接種하여 約 48時間 培養 後 나 타난 集落菌를 觀察하여 混合培養液에 들어 있는 受容 菌(JH 2-2)의 總數를 計算하여 다음 式에 依하여 傳 達頻度を 求하였다.

$$\text{傳達頻度} = \frac{\text{耐性을 傳達받은 受容菌의 總數}}{\text{混合 培養液內의 受容菌의 總數}} \times 100$$

實驗成績

抗生劑感受性: 第 1圖에서 보는 바와 같이 全 菌株 에 對한 藥劑의 MIC는 AP가 4 μ g/ml로 가장 낮았으 며 RP가 16 μ g/ml, AK와 CP가 各各 125 μ g/ml, TC 가 250 μ g/ml이었으나 分離菌株中 19株(18.5%), 27 株(26.2%), 그리고 22株(21.4%)가 各各 高濃度 (2000 μ g/ml)의 GM, KM 및 SM에 耐性이었다.

可檢物別 分離菌株의 藥劑에 對한 高度耐性은 第 3 表에서 보는 바와 같이 尿에서 分離된 28株中 15株 (53.6%)가 GM에, 18株(67.9%)가 KM에 그리고 12 株(42.5%)가 SM에 各各 耐性을 보여 耐性株가 比較 的高頻度였으며 大便과 膽分泌物에서 分離된 菌株의 耐性도는 尿에서 分離된 菌株에 比해 낮았다.

各 菌種別 藥劑耐性도는 第 4表에서 보는 바와 같이 分離된 *S. zymogenes* 16株中 2,000 μ g/ml 濃度の GM, KM 및 SM에 7株(43.8%), 11株(68.8%), 및 9株(56.3%)가 各各 耐性이었으며 100 μ g/ml濃度の CP, TC에 8株(50.0%), 13株(81.3%)가 各各 耐性 을 보여 그 耐性株가 많음을 알 수 있었으며 分離된

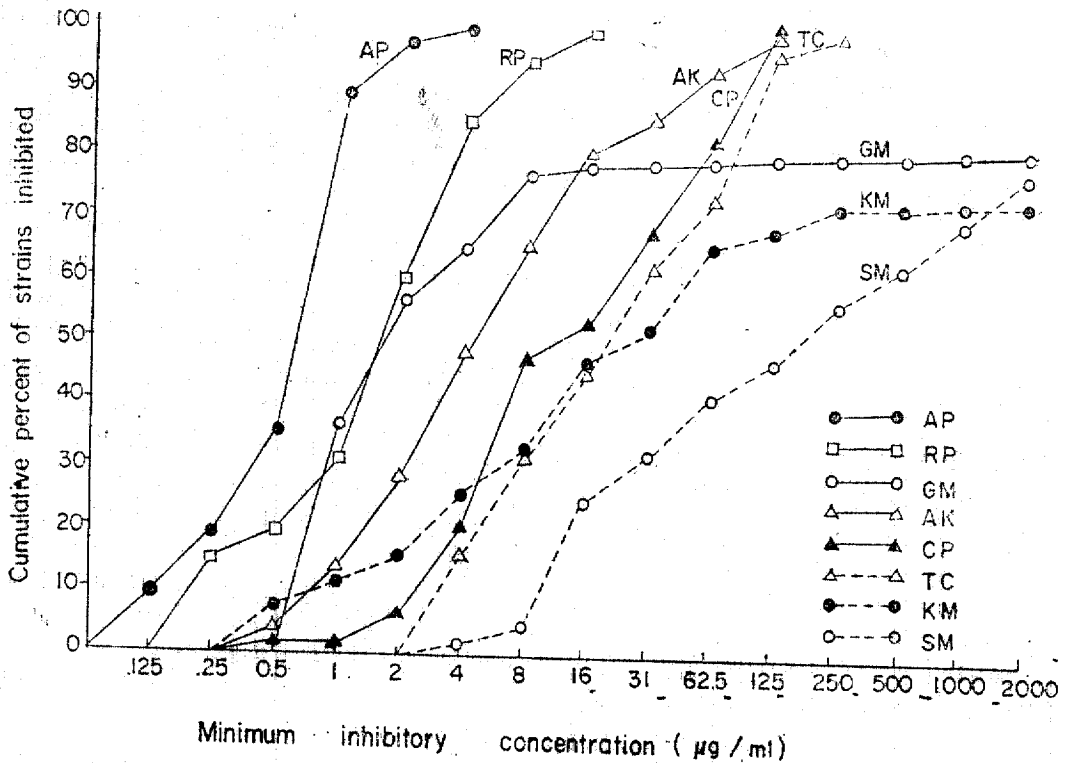


Fig. 1. Minimum inhibitory concentrations for 103 isolates of enterococcus against eight antibiotics. Abbreviation: AP, ampicillin; RP, rifampin; GM, gentamicin; AK, amikacin; CP, chloramphenicol; TC, tetracycline; KM, kanamycin; SM, streptomycin.

Table 3. Prevalence of high-level resistance among enterococci isolated from different source to 8 antibiotics

Source	No. of isolates	% resistance							
		≥2000µg/ml			>100µg/ml				
		GM*	KM	SM	CP	TC	AP	AK	RP
Stool	56	5.4	10.8	14.3	8.9	14.3	0	0	0
Urine	28	53.6	67.9	42.5	42.5	42.5	0	0	0
Vagina, cervix	19	5.3	5.3	5.3	0	26.3	0	0	0
Total	103	18.5 (19)**	26.2 (27)	21.4 (22)	18.4 (19)	26.2 (27)	0	0	0

*Abbreviation: GM, gentamicin; KM, kanamycin; SM, streptomycin; CP, chloramphenicol; TC, tetracycline; AP, ampicillin; AK, amikacin; RP, rifampin.

**Figure in parenthesis indicate the number of strain.

16株의 *S. durans* 中 3株만이 100µg/ml 濃度の TC 에 耐性을 보였을 뿐 其他 藥劑의 高濃度에 耐性을 보인 菌株는 1株도 없었다.

各 抗生劑에 對한 各 分離菌種別 耐性은 第 2 및 3

圖에서 보는 바와 같이 RP와 AK에 對한 感受性은 菌種間에 着異가 없었으나 其他 抗生劑 即, CP, AP, TC, KM, GM 및 SM에 對해서는 다른 菌種에 比해 *S. zymogenes*가 顯著한 耐性을 示하였으므로, TC를

Table 4. Prevalence of high-level resistance of different species of enterococci to 8 antibiotics.

Species	No. of isolates	% resistance							
		≥2000μg/ml			≥100μg/ml				
		GM*	KM	SM	CP	TC	AP	AK	RP
<i>S. liquefacience</i>	45	22.2	26.5	22.2	20.0	15.6	0	0	0
<i>S. zymogenes</i>	16	43.8	68.8	56.3	50.0	81.3	0	0	0
<i>S. durans</i>	16	0	0	0	0	18.8	0	0	0
<i>S. faecalis</i>	11	9.1	9.1	9.1	0	9.1	0	0	0
<i>S. faecium</i>	11	9.1	9.1	9.1	0	0	0	0	0
Variant	4	0	0	0	0	25.0	0	0	0
Total	103	18.5	26.2	21.4	18.4	26.2	0	0	0

* Abberriation: See table 3

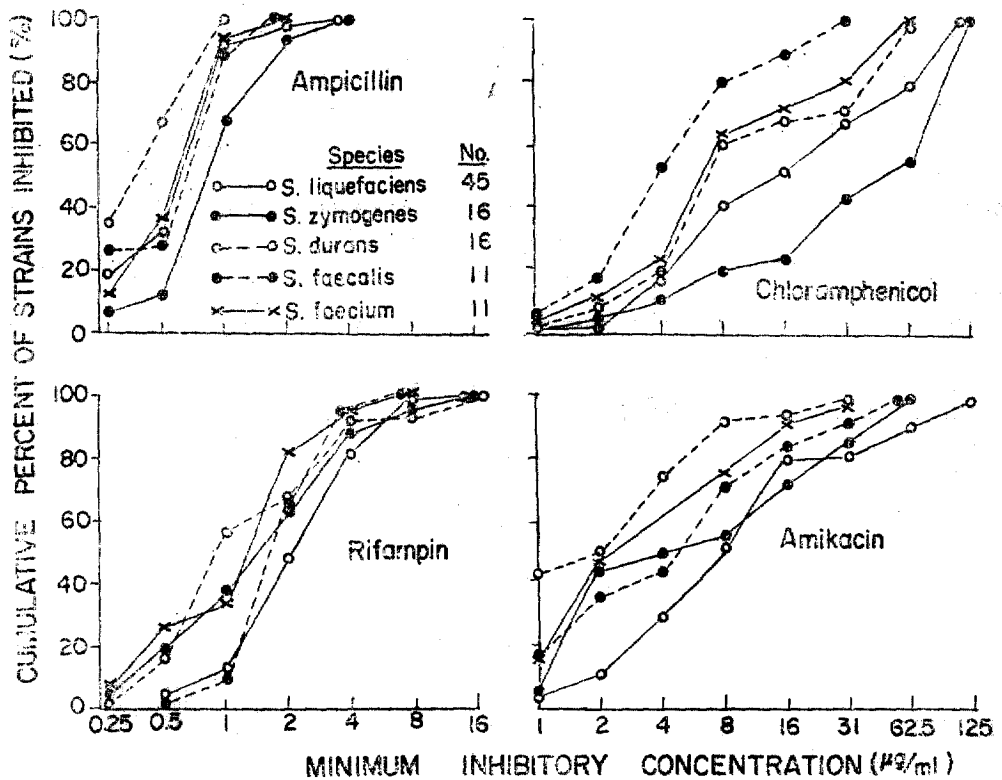


Fig. 2. Susceptibility of strains of five species of enterococcus to four antibiotics: ampicillin, rifampin, chloramphenicol and amikacin.

除外한 다른 藥劑, 特히 GM과 KM에 對해서 *S. durans*는 顯著한 感受性を 示하였다.

分離菌株의 여러 가지 濃度の GM에 對한 感受性은 興味있었는데 第3圖에서 보는 바와 같이 16μg/ml

以下の 比較的 낮은 濃度에서 *S. zymogenes*를 除外한 다른 4種의 80% 以上이 感受性を 보였으나 16μg/ml 以上에 耐性を 보인 모든 菌株가 2000μg/ml 濃度에도 耐性を 나타낸 點이 다른 藥劑에 對한 菌株의 耐

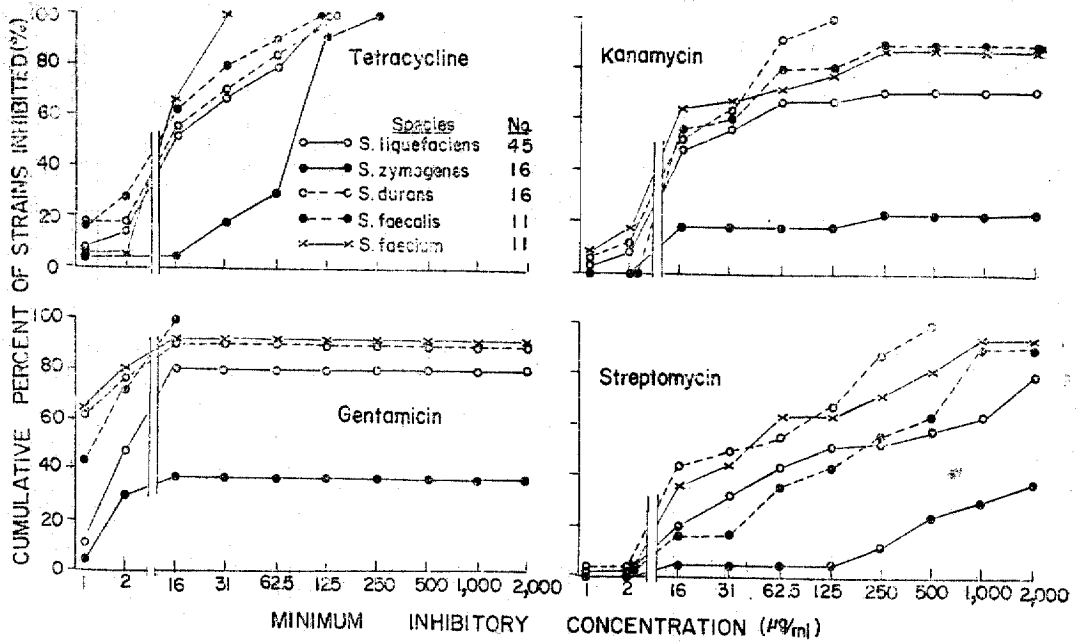


Fig. 3. Susceptibility of strains of five species of enterococcus to four antibiotics: tetracycline, gentamicin, kanamycin and streptomycin.

Table 5. Resistant pattern and distribution of R plasmids among drug-resistant enterococcus strain

Resistant pattern	Incidence of pattern	Strains transferring all or part of pattern	Resistance transferred	
			Pattern	No
CP TC	1	1	CP	1
KM SM	2	0		
GM KM CP	1	0		
			KM	1
			GM SM	1
GM KM SM CP	8	6	KM SM	1
			GM KM CP	1
			GM KM SM CP	2
KM SM CP TC	5	2	KM CP	1
			KM SM	1
			GM	1
			GM KM CP	3
GM KM SM CP TC	11	8	KM SM TC	1
			GM KM SM CP	2
			GM KM CP TC	1
Total	28	17		17

Table 6. Frequency of resistance transfer of enterococcus isolated

Resistant pattern	Lab No. of strain	Frequency of resistance transfer(%)*				
		GM	KM	SM	CP	TC
CP TC	4				4×10 ⁻⁵	
	66		5×10 ⁻⁴			
GM SM KM CP	7	4×10 ⁻⁵		2×10 ⁻⁴		
	8		2×10 ⁻⁵		2×10 ⁻⁵	
	45	4×10 ⁻⁵	9×10 ⁻⁵		4×10 ⁻⁵	
GM SM KM CP	56	8×10 ⁻⁴	5×10 ⁻⁴	4×10 ⁻⁵	6×10 ⁻⁴	
	96	1×10 ⁻⁵	1×10 ⁻⁵	4×10 ⁻⁵	1×10 ⁻⁵	
KM SM CP TC	20	1×10 ⁻⁵	4×10 ⁻⁵		2×10 ⁻⁶	
	43	1×10 ⁻⁵		1×10 ⁻⁵		
	3	4×10 ⁻⁵				
	37	2×10 ⁻⁴	3×10 ⁻⁴		2×10 ⁻⁴	1×10 ⁻⁶
	39	1×10 ⁻⁵	1×10 ⁻⁵		1×10 ⁻⁵	
GM SMKM CP TC	49	2×10 ⁻⁴	2×10 ⁻⁴		4×10 ⁻⁴	
	67		4×10 ⁻⁵	4×10 ⁻⁵		4×10 ⁻⁵
	68	1×10 ⁻⁵	2×10 ⁻⁵	8×10 ⁻⁵	2×10 ⁻⁵	
	71	2×10 ⁻⁵	4×10 ⁻⁵	4×10 ⁻⁵	2×10 ⁻⁵	

*Transfer frequency = $\frac{\text{Number of transconjugates}}{\text{Total number of recipients in mixture}} \times 100$

性樣相과 다른 點이었다.

藥劑耐性類型 및 耐性傳達性: 第5表에서 보는 바와 같이 全 分離菌株中 28株(27.2%)가 多劑藥劑耐性を 보였으며 이 中 CP TC 및 KM SM 等 2劑 耐성이 3株, CP GM KM 等 3劑 耐성이 1株, CP GM KM SM 및 CP KM SM TC 等 4劑 耐성이 13株이었으며 CP GM KM SM TC 等 5劑耐성이 11株나 되었다.

이러한 耐性菌株 中 17株(61%)가 耐性類型的 一部 또는 全部를 傳達하여 腸球菌에 있어서도 菌과 菌의 接觸에 依하여 R plasmid의 傳達을 觀察할 수 있었는데 CP GM KM SM의 耐性類型的을 보인 6株 中 單 2株만이 그 耐性類型的의 全部를 傳達하였을 뿐 나머지 菌株의 大部分은 一部分을 傳達하였다.

耐性傳達頻度: 第6表에서 보는 바와 같이 耐性傳達 頻度は 藥劑와 菌株에 따라 큰 差異를 觀察할 수 없었 으며 그 範圍는 2×10⁻⁴-2×10⁻⁶이었다.

考 按

緒論에서도 言及한 바와 같이 腸球菌은 近來 抗生劑

에 對한 耐性이 急激히 增加하고 있기 때문에 本 菌의 抗生劑에 對한 感受性を 把握하면 本 感染症의 治療에 도움이 될 것으로 思料되는 바 著者들의 抗生劑感受性 結果는 全 分離菌株에 對한 AP의 MIC가 4μg/ml로 가장 低濃度로 나타났는데 이와같은 著者들의 成績은 30株에 對한 AP의 MIC가 6.25μg/ml이었다는 Glotzbecker等²²⁾의 報告, 57株에 對한 AP의 MIC가 1.56μg/ml이었다는 Eickhoff等²³⁾의 報告와 大同小異 하였으며 aminoglycoside系統의 藥劑 中 KM과 SM의 2,000μg/ml濃度에 耐性を 보인 菌株가 各各 26.2%, 21.4%인 本 實驗結果는 亦是 著者들이 使用한 同一한 濃度の KM 및 SM에 分離菌株中 16~49%가 KM에 36~54%가 SM에 耐性を 보였다는 Krogstad 等²⁴⁾의 報告나 23%가 KM에, 26%가 SM에 各各 耐성이었다는 Eickhoff等²³⁾의 報告와 비슷하였으나, 高濃度の GM에는 耐性菌株가 없었다는 이들의 報告와는 對照의으로 2000μg/ml의 高濃度에 18.5%가 耐성을 보인 本 實驗結果는 注目할만하였는데 이러한 原因의 하나로 現在 우리나라에서 GM가 臨床의으로 廣範圍하게 使用되고 있기 때문에 이 藥劑에 對한 選擇 (selection pressure)에 基因한 것인지 또는 다른 要

因에 基因한 것인지의 與否는 本 實驗成績만으로는 알 수 없었다.

各 抗生劑에 對한 菌種의 藥劑耐性度는 *S. zymogenes*이 AP와 RP를 除外한 GM, AK, CP, TC, KM, 및 SM 等の 藥劑에 對해서 그 耐性도가 높았는데 Toala等⁷⁾은 *S. faecium*이 KM에 *S. liquefaciens*가 CP 및 GM에 높은 耐性を 보였다고 報告하였고 SM과 TC의 境遇는 本 實驗成績과 一致하였다.

本 實驗에서 抗生劑感受性 結果, 分離菌株가 AP에 가장 感性이였으나 腸球菌에 依한 感染症의 治療에서는 腸球菌이 一般的으로 血中濃度의 penicillin(PC)에 耐性を 나타내기 때문에 PC를 利用한 單一療法은 거의 使用하지 않게 되었으며 PC와 SM과의 併合療法²⁰⁾이 오래전 부터 널리 使用되어 왔으나 이 治療方法 亦是 腸球菌의 藥劑耐性 增加에 依해 治療에 큰 效果를 볼 수 없다는 報告^{26,27)} 또한 PC와 SM의 相乘作用을 分離한 腸球菌中 40%에서 觀察할 수 없었다는 報告²⁸⁾와 더불어 다른 併合療法^{22,23,24,29,30)}이 널리 試圖되고 있는 바 本菌에 依한 感染症의 治療에도 原則적으로 抗生劑 感受性檢査를 實施하여 治療時 抗生劑를 選擇해야 할 것으로 思料되었다.

腸球菌間에 있어서 藥劑耐性의 傳達는 Raycroft等⁸⁾에 依해 最初로 報告되었고 Courvalin等⁹⁾이 tetracycline과 erythromycin의 耐性에 關與하는 R plasmid를 報告하고 Hobbs等¹¹⁾이 *Streptococcus faecalis subsp. zymogenes*에서 多劑藥劑耐性에 關與하는 50×10^6 의 分子量을 가진 R plasmid의 檢出에 成功하여 葡萄狀球菌 以外の Gram陽性菌에서도 R plasmid의 存在를 確認하였다.

本 實驗에서도 混合培養에 依하여 多劑藥劑耐性を 보인 28株 中 17株가 그 耐性의 一部 또는 全部를 傳達하여 腸球菌에 있어서 R plasmid의 存在를 確認할 수 있었는데 그 傳達機轉은 아직 明確히 究明되지 않았으나 Hobbs等¹¹⁾은 그 機轉으로 接合(conjugation)에 依해서 藥劑耐性이 傳達된다는 證據를 提示하였으며 本 實驗에서도 著者들의 實驗成績과 Hobbs等¹¹⁾의 報告 등으로 더하여 藥劑耐性은 R plasmid에 依한 것으로 思料되었다.

一般的으로 接合에 依한 藥劑耐性 傳達는 sex pili의 存在下에서 이루어지며 淋菌과 같은 Gram陰性球菌에 있어서도 R plasmid와 sex pili가 發見¹¹⁾되었는데 과연 腸球菌에 있어서도 sex pili가 存在하는지 또는 sex pili가 없는 狀態下에서도 다른 機轉에 依하여 傳達되는지의 與否는 앞으로의 研究課題가 되리라 思

料 된다.

要 約

患者로부터 分離한 103株의 腸球菌을 對象으로 抗生劑感受性檢査와 더불어 R plasmid에 依한 藥劑耐性 傳達를 實驗하였다.

全 菌株에 對한 MIC는 ampicillin이 $4 \mu\text{g/ml}$ 로 가장 낮았으며 rifampin이 $16 \mu\text{g/ml}$, amikacin과 chloramphenicol이 共히 $125 \mu\text{g/ml}$, tetracycline이 $250 \mu\text{g/ml}$ 이었고, 分離菌株 中 $2,000 \mu\text{g/ml}$ 의 高濃度의 GM, KM 및 SM에 耐性を 보인 菌株는 各各 19株 (18.5%), 27株 (26.2%) 그리고 22株 (21.4%)이었다.

可檢物別 分離菌株의 藥劑耐性度는 尿에서 分離된 菌의 耐性도가 가장 높았으며 各 抗生劑에 對한 菌種의 藥劑耐性度는 *S. zymogenes*의 耐性도가 ampicillin과 rifampin을 除外한 其他 藥劑에 對해 가장 높았다.

多劑藥劑耐性を 보인 28株中 17株 (61%)가 耐性類型의 一部 또는 全部를 傳達하였으며 이 中 2株만이 그 類型의 全部를 傳達하였고 耐性傳達頻度는 $2 \times 10^{-4} - 2 \times 10^{-6}$ 이었다.

以上の 實驗結果 著者들은 우리나라에서 分離된 腸球菌이 數種의 抗生劑에 耐性이며 腸球菌에 있어서도 藥劑耐性傳達이 R plasmid에 依해 이루어짐을 結論 지을 수 있었다.

REFERENCES

1. Clowes, R.C.: Molecular structure of bacterial plasmid. *Bacteriol. Rev.*, 36 : 361, 1972.
2. Watanabe, T.: Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria. *Bacteriol. Rev.*, 27 : 87, 1963.
3. 河大有: 抗生劑에 對한 耐性, 大韓內科學會 雜誌, 17 : 402, 1974.
4. 李正鎬·河大有: 犬에서 分離한 salmonella의 藥劑耐性과 R plasmids, 中央醫學 33 : 275, 1977.
5. Wilson, G.S., and Miles, A.A.: Topley and Wilson's principles of bacteriology, virology and immunity. 6th ed., Butler and Tanner Ltd., Frome and London., p.742, 1975.
6. Thorn, G.W., Adams, R.D., Braunwald, E.,

- Isselbacher, K.G., and Petersdorf, R.G.: Harrison's Principles of internal medicine. 8th ed., McGraw-Hill Kogakusha, Ltd. Tokyo. p.819, 1977.
7. Toala, P., McDonald, A., Wilcox, C., and Finland, M.: Susceptibility of group D streptococcus (enterococcus) to 21 antibiotics in vitro, with special reference to species difference. *Am. J. Med. Sci.*, 258 : 416, 1969.
 8. Raycroft, R.E., and Zimmerman, L.N.: New mode of genetic transfer in *Streptococcus faecalis* var. *liquefaciens*. *J. Bacteriol.*, 87 : 799, 1964.
 9. Courvalin, P.M., Carlier, C., and Chabbert, Y.A.: Plasmid-linked tetracycline and erythromycin resistance in group D "streptococcus". *Ann. Inst. Pasteur.*, 123 : 755, 1972.
 10. Courvalin, P.M., Carlier, C., Croissant, O., and Blangy, D.: Identification of two plasmids determining resistance to tetracycline and erythromycin in group D streptococcus, *Mol. Gen. Genet.*, 132 : 181, 1974.
 11. Jacob, A.E., and Hobbs, S.J.: Conjugal transfer of plasmid-borne multiple antibiotic resistance in *Streptococcus faecalis* var. *zymogenes*. *J. Bacteriol.* 117 : 360, 1974.
 12. Clewell, D.B., Yagi, Y., Dunny, G.M., and Schultz, S.K.: Characterization of three plasmid deoxyribonucleic acid in a strain of *Streptococcus faecalis*: Identification of a plasmid determining erythromycin resistance. *J. Bacteriol.*, 117 : 283, 1974
 13. Dunny, G.M., and Clewell, D.B.: Transmissible toxin (hemolysin) plasmid in *Streptococcus faecalis* and its mobilization of a noninfectious drug resistance plasmid. *J. Bacteriol.*, 124 : 784, 1975.
 14. Yagi, Y., Clewell, D.B.: Plasmid-determined tetracycline resistance in *Streptococcus faecalis*: tandemly repeated resistance determined in amplified forms of pAMal DNA. *J. Mol. Biol.*, 102 : 583, 1976.
 15. Facklam, R.R., and Moody, M.D.: Presumptive identification of group D streptococcus: The bile-esculine test. *Appl. Microbiol.*, 20 : 245, 1970.
 16. Facklam, R.R.: Comparison of several laboratory media for presumptive identification of enterococci and group D streptococci. *Appl. Microbiol.*, 26 : 138, 1973.
 17. Frankel, S., Reitman, S., and Sonnenwirth, A.C.: Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis. C.V. Mosby Co., 7th ed., p.1096, 1976.
 18. Quadri, S.M.H., Nichols, C.W., and Quadri, S.G.M.: Rapid sodium chloride tolerance test for presumptive identification of enterococci. *J. Clin. Microbiol.*, 7 : 238, 1978.
 19. Marder, H.P., and Kayser, F.H.: Transferable plasmids mediating multiple-antibiotic resistance in *Streptococcus faecalis* subsp. *liquefaciens*. *Antimicrob. Agent Chemother.* 12 : 261, 1977.
 20. 河大有・全燾基・朴日圭: 腸内細菌의 藥劑耐性 第3報. 우리나라에서 分離한 shigella菌에 있어서의 R因子的 分布. 大韓醫學協會誌. 14 : 253, 1971.
 21. Siekmann, D.G., Reed, N.D., and Georgi, G.E.: Transferable drug resistance among enterobacteriaceae isolated from human urinary tract infection. *Appl. Microbiol.*, 17 : 701, 1969.
 22. Watanakunakorn, C., and Glotzbecker, C.: Comparison in vitro activity of nafciline, oxacillin and methicillin in combination with gentamicin and tobramycin. *Antimicrob. Agent Chemother.*, 11 : 88, 1977.
 23. Iannini, P.B., Ehret, J., and Eickhoff, T.C.: Effects of ampicillin-amikacin and ampicillin-rifampin on enterococci. *Antimicrob. Agent Chemother.*, 9 : 448, 1976.
 24. Calderwood, S.A., Wennersten, C., Moellering, R.C., Kung, L.J., and Krogstad, D.: Resistance to six aminoglycosidic aminocyclitol antibiotics among enterococci: Prevalence, evolution, and relationship to synergism with penicillin. *Antimicrob. Agent Chemother.*, 12 : 401, 1971.

25. Hunter, T.H.: Use of streptomycin treatment of bacterial endocarditis. *Am. J. Med.*, 2 : 436, 1947.
26. Jawetz, E., and Sonne, M.: Penicillin-streptomycin treatment of enterococcal endocarditis. *New Eng. J. Med.*, 274 : 710, 1966.
27. Tompsett, R., and Pizette, M.: Enterococcal endocarditis: Lack of correlation between therapeutic results and antibiotic sensitivity test. *Arch. Intern. Med.*, 109 : 146, 1962.
28. Standiford, H.D., deMaine, J.B., and Kirby, W.M.M.: Antibiotic synergism of enterococci. *Arch. Intern. Med.*, 126 : 255, 1970.
29. Bourque, M., Quintiliani, R., and Tilton, R.C.: Synergism of cefazolin-gentamicin against enterococci. *Antimicrob. Agent Chemother.*, 10 : 157, 1976.
30. Carrizosa, J., and Kaye, D.: Penicillin and netilmicin in treatment of experimental enterococcal endocarditis. *Antimicrob. Agent Chemother.*, 13 : 505, 1978.
31. Roberts, M., and Falkow, S.: Plasmid-mediated chromosomal gene transfer in *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Bacteriol.*, 134 : 66, 1978.