

病院綠膿菌의 同種菌接合에 의한 多劑耐性の 傳達

漢陽大學校 醫科大學 微生物學教室

金 靜·韓王洙·徐仁銖

=Abstract=

Transmission of Multiple Drug-Resistance in Hospital *Pseudomonas aeruginosa* by Intraspecies Conjugation System

Chung Kim (Directed by Professor Inn Soo Suh)

Department of Microbiology, Hanyang University School of Medicine
Seoul, Korea

Two hundred and ninety-five strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical sources were tested for drug resistance and demonstration of R plasmids by intraspecies conjugation system.

Sixty strains were found highly resistant to two or more of drugs.

The rate of resistant strains were 38.9% to kanamycin(km), 33.2% to streptomycin(sm), 22.7% to sulfisomidine(Sa), 14.2% to chloramphenicol(Cp), 13.8% to tetracycline(Tc), 3.0% to carbenicillin(Cb), and to gentamicin (Gm), respectively. But no strains was resistant to nalidixic acid and colistine. They were resistant to per milliliter to more than 400 μ g per ml. of Tc, 800 μ g per ml of Cp and of Sm, 6400 μ g per ml. of Sa, 200 μ g per ml. of Cb, 100 μ g per ml. of Gm, and 25 μ g per ml. of colistine.

Forty-three strains of *Pseudomonas aeruginosa* could be transferred their resistance to *Pseudomonas aeruginosa* 2-70, 1005 rifampin resistant FP⁻ auxotrophic mutant.

Of sixty multiple resistant strains, forty-three (71.6%) demonstrated R plasmids; nineteen carried resistance to (Tc Cp Sm Sa), six to (Tc Cp Sm), three to (Tc Cp Sa), and Cp, five to (Tc Sm Sa), two to (Tc Sa), (Cp Sm) and Tc, and one to (Cp Sm Sa).

Degree of resistance of recipients receiving R plasmids from donors were almost the same level of resistance as the donor in regardless of mating temperature at 25°C and 37°C.

Resistance to Tc, Sm, and Sa were transferred to a very few of recipient cells at five minutes after mating with donor and recipient cells but resistance to Cp were transferred to the majority of recipient cells.

The transfer frequency of Tc, Cp, Sm, and Sa resistance from donors to recipients were from $1.0^{-1.4}$ to $1.0^{-3.5}$ at 25°C for 18 hours of incubation and were from $1.0^{-1.5}$ to $1.0^{-3.5}$ at 37°C for 18 hours of incubation.

목 차

I. 서 론

II. 재료 및 그 방법

1. 실험균주
2. 항균제
3. 내성측정
4. 내성전달 실험
5. 내성전달 빈도

III. 성 적

1. 실험균주의 각 항균제별 최대발육기능 및 최소 발육저지농도별 분포
2. 실험균주의 항균제내성 및 내성 pattern
3. 병원녹농균의 내성전달
4. 내성전달에 미치는 접합온도의 영향
5. R plasmid의 전달소요시간
6. R plasmid의 전달내성치
7. R plasmid의 전달빈도

IV. 고 찰

V. 결 론

인용문헌

영문초록

I. 서 론

화학요법제에 대한 내성균의 출현은 세균세포의 돌연변이에 의한 세포내 유전자의 변이로 일어나는 것이나 이러한 내성은 세포내염색체의 대립인자에 의해 지배^{1,2)}되는 경우와 염색체 바깥에 있는 유전자 즉 R plasmid 위에 있는 내성유전자에 의해 지배^{3,4)}되는 경우로 구분된다.

약제내성 plasmid에 대표적인 것은 gram 음성간균의 약제내성을 지배하는 R plasmid와 포도구균의 약제내성을 지배하는 penicillinase plasmid⁵⁻⁹⁾가 있으며 이들은 다같이 세포성 유전자로서 자기복제하며 유전된다.^{10,11)}

R plasmid에 의해 내성을 나타내는 항균제의 종류에는 penicillin제, cephalosporine제, amino당계, chloramphenicol 및 tetracycline 등이며 합성화학요법제 중에는 sulfa, nalidixic acid 및 nitrofuran 등이 있으나 대부분의 R plasmid는 위의 모든 내성 유전자를 가지지 않고 주로 chloramphenicol, streptomycin, sulfisomidine 및 tetracycline의 4제내성

형이 많다.¹²⁻¹⁴⁾

그리고 각종 금속이온 내성을 지배하는 유전자는 화학요법내성유전자와 연관되고 있다.¹⁵⁾

접합성 R plasmid는 병원 및 비병원균에 널리 분포되어 있고 모든 장내세균^{16,16)}, 녹농균¹⁸⁻²⁰⁾, vibrio²¹⁾, serratia^{20,21)}, pasteurella²²⁾ 등 종 또는 속을 달리하는 세균에게도 전달되어 이를 내성화하며 감염유전을 일으키는 전형적인 인자^{10,23)}이다.

따라서 이러한 R⁺내성균의 존재는 주변의 감수성균에 접합하여 짧은 시간안에 많은 내성균을 발생케하므로 병원, 가축^{13,24,25,26)}, 수산물^{27,28)}로부터 고도내성균이 검출되고 있어 R plasmid 내성은 역학상 중요한 의의를 지닌다고 볼 수 있다.

녹농균은 많은 화학요법제 및 항균제에 대하여 내성이므로 화학요법실시 중 균교대중의 한 원인균이 되며 중증감염을 일으키는 빈도 또한 높아져 주목되고 있다.^{29,30)}

녹농균의 R plasmid는 다제내성녹농균의 대장균 FP⁻ 균주에 접합하여 낮은 빈도로 내성이 전달되는 것이 보고³¹⁾된 후 carbenicillin³²⁾ 및 gentamicin^{33,34)} 고도내성균의 출현으로 이들에게도 R plasmid가 보유되어 있는 것이 발견되어 녹농균감염증의 치료에 큰 문제를 가져왔다.

녹농균 R plasmid는 녹농균 사이에서만 전달되며 대장균에는 전달되지 않는 것이 특징으로 되어 있으나^{17,35)} 전달된다는 보고도 있어³¹⁾ 아직까지는 충분한 해석이 되어 있지 아니하다.

저자는 유타³⁶⁾라에 유행하는 병원녹농균의 각종 항균제내성과 관련하여 전달성약제내성인자의 분포 및 그의 몇가지의 전달조건에 대하여 실험한 바 있으므로 이에 그 성적을 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험균주

임상재료에서 분리하여 소정의 성상을 검토한후^{36,37)} 녹농균으로 동정한 295주를 Dorset 배지에 이식, 실온에 보관한 것을 실험에 사용하였다.

2. 항균제

Tetracycline(Tc; 종근당, 970 μ g/mg), chloramphenicol(Cp; 종근당, 995 μ g/mg), streptomycin(Sm; 일본 明治제약, 1,000 μ g/mg), sulfisomidine sodium (Sa; 일본 Sogo제약, 100.2%), carbenicillin(Cb; 일본 Daito Pfizer Co. Geepen, 1,000 μ g/mg), kana-

Table 1. Bacterial strains used

Strain*	Chromosomal gene	Level of resistance($\mu\text{g/ml}$) to								
		Tc**	Cp	Sm	Sa	Cb	Km	Gm	Cl	Rif
<i>Ps. aerug.</i>										
2-70 1005	leu ⁻ arg ⁻ pro ⁻ ilv ⁻ his ⁻ FP ⁻	3.12	100	25	1600	25	50	1.56	1.56	25
2-70 1005	Rif ^r	6.25	100	12.5	1600	25	50	1.56	1.56	1600
33-72 2703	his ⁻ lys ⁻ FP ⁻	6.25	50	25	1600	50	25	1.56	1.56	25
33-72 2703	Km ^r	3.12	50	100	1600	25	1600	1.56	1.56	25

* *Pseudomonas aeruginosa* 2-70 1005 and 33-72 2703 strains were donated by Prof. Hideki Matsumoto, Shinshu University, Japan.

** Abbreviations: Tc, Cp, Sm, Sa, Cb, Km, Gm, Cl, and Rif are tetracycline, chloramphenicol, streptomycin, sulfisomidine, carbenicillin, kanamycin, gentamicin, colistine, and rifampicin respectively.

mycin(Km; 일본 明治제약, 1,000 $\mu\text{g/ml}$), rifampin (Rif; 일본 第一제약, 150,000 $\mu\text{g/ml}$), gentamicin(Gm; 일본 鹽野製藥, 40,000 $\mu\text{g/ml}$) 및 colistine methane sulfonate(Cl; 일본 科樂藥생물질연구소, 66,800 $\mu\text{g/ml}$) 등을 사용하였으며 항균제의 종류에 따라 적당한 용매로 용해³³⁾시켜 완충식염수(pH 7.2)로 희석하였다.

3. 내성측정

실험균주를 0.4% KNO₃, peptone수에 일주야 배양한 것을 peptone수로 100배 희석한 다음 내경 1mm 전후의 백금이트 각종 항균제의 2배 희석농도계열의 항균제가 첨가되어 있는 heart infusion agar(Difco) 평판에 2cm 정도로 희선도말한 다음 37°C, 18시간 배양하여 약제가 첨가되어 있지 않은 배지에서와 같은 정도로 발육한 최대발육가능농도(maximal growth concentration; MGC)를 그 균의 내성으로 표시하였으며 발육이 억제된 최소희석농도(minimal inhibiting concentration; MIC)를 그 균의 감수성으로 표시하였다. Sa 내성측정은 Sa를 첨가한 Mueller-Hinton 배지(BBL)를 사용하였다.

내성기준은 MGC($\mu\text{g/ml}$)가 Tc에 400, Cp 및 Sm에 각각 800, Sa에 6,400, Cb에 200, Km에 100, Gm에 50, Cl에 25 이상인 것으로 하였다.

4. 내성전달실험

내성전달실험에 사용한 숙주균은 *Pseudomonas aeruginosa* 2-70 1005(1005; leu⁻, arg⁻, pro⁻, ilv⁻, his⁻, FP⁻)와 동 33-72 2,703(2,703; his⁻, lys⁻, FP⁻)의 두 주로서 일본 信州대학 Hideki Matsumoto 교수로부터 분양받은 것이다. 이 두 주는 본교실에서

농도구배평판법³³⁾을 이용하여 Rif과 Km에 대하여 각각 1,600 $\mu\text{g/ml}$ 까지 내성을 획득시킨 다음 내성전달의 숙주균으로 사용하였으며 MGC는 표 1과 같다. 실험의 전기간 중 두 숙주균의 각 항균제내성은 완전 유지되었다.

내성전달실험은 각 항균제별내성실험균주와 숙주균의 큰 콜로니를 각각 0.4% KNO₃, peptone수에 37°C 18시간 배양하여 그 한방울을 각각 상기배지 5ml에 접종, 37°C에 약 4시간 배양한 후 1:5 비율로 혼합, 가끔 흔들면서 37°C, 2시간 배양한 다음 선택배지에 도말, 37°C 18시간 배양한 다음 콜로니가 발생하면 자평판마다 3~5개의 콜로니를 따서 동일 선택배지에 이식하여 다른 항균제가 든 선택배지에 도말하여 내성 pattern을 관찰하고 한편 평판희석법으로 내성도를 측정하였다. 그리고 내성실험균주 및 숙주균은 매 실험마다 각각 선택배지에 도말하여 그 발육이 억제되는 것을 확인하였다.

선택배지에는, heart infusion 또는 Sa 내성전달에는 Mueller-Hinton agar를 사용하였으며 숙주균의 종류에 따라 Rif 200 $\mu\text{g/ml}$ 혹은 Km 800 $\mu\text{g/ml}$ 에 다음의 선택약제 중 한 종류의 항균제를 넣은 것을 사용하였다. 즉 Tc 혹은 Cb는 100 $\mu\text{g/ml}$, Cp 혹은 Sm은 400 $\mu\text{g/ml}$, Sa는 6,400 $\mu\text{g/ml}$, Gm은 12.5 $\mu\text{g/ml}$, Cl은 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 이었다.

5. 내성전달빈도

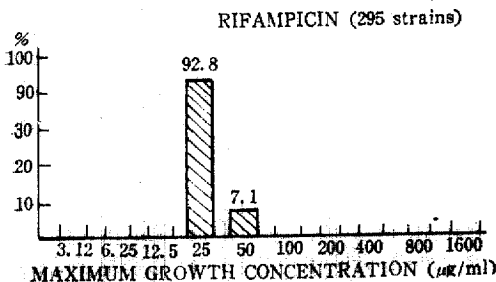
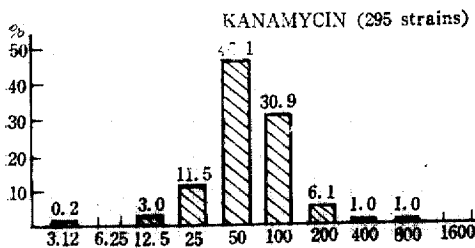
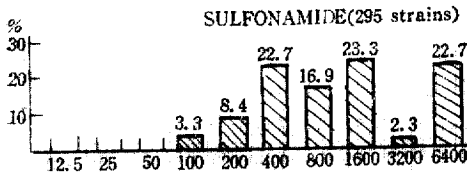
수용균과 접합시킬 때의 내성실험균주의 균수에 대한 내성피전달균의 균수의 비로서 표시하였다.³⁴⁾

III. 성 적

1. 실험균주의 각 항균제별 MGC 및 MIC별 분포

실험균주 295주의 각종 항균제에 대한 MGC($\mu\text{g/ml}$)의 최대분포(그림 1)는 Tc에는 6.25에서 54.2%(160주), Cp에는 25—50에서 70.1%(207주), Cb에는 25에서 51.8%(153주), Km에는 50—100에서 76.9%(227주), Gm에는 3.12—6.25에서 66.4%(196주), Cl에는 1.56에서 63.3%(187주), Rif에는 25에서 대부분의 균주(92.8%, 274주)가 각각 집중분포하여 1 봉성경향을 보였으며 Sm에는 25에서 48%(142주), 1600에서 29.8%(88주)가 집중분포하여 2 봉성경향을 나타냈으나 Sa에는 400 이상의 각종도에서 균등하게 폭넓은 분포상을 나타냈다.

한편 공시균 295주의 각 항균제에 대한 MIC의 누적 백분율에 의한 항균 스펙트럼(그림 2)에서 보는 바와 같이 Cl에 대하여 가장 높은 감수성을 나타냈으며 다음이 Gm, Tc, Cb, Cp 및 Km의 순위이며 Sm 및 Sa



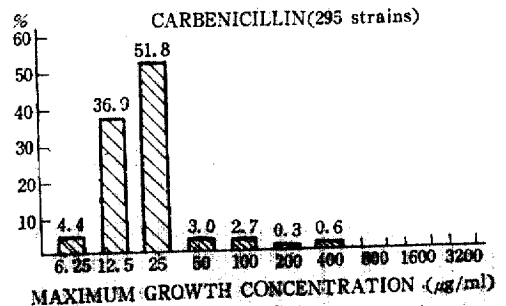
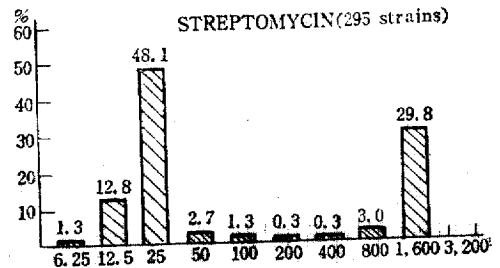
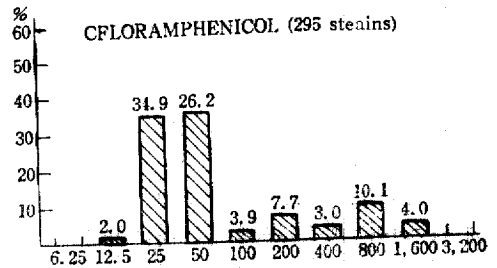
에 감수성이 가장 낮았다.

Table 2. Incidence of antimicrobial resistance in hospital *Ps. aeruginosa* strains

Drug*	No. of strains tested	MGC** ($\mu\text{g/ml}$)	Resistant strain	
			No.	%
Tc	295	≥ 400	41	13.8
Cp	295	≥ 800	42	14.2
Sm	295	≥ 800	98	33.2
Sa	295	≥ 6400	67	22.7
Cb	295	≥ 200	9	3.0
Km	295	≥ 100	115	38.9
Gm	295	≥ 50	9	3.0
Cl	295	≥ 25	0	—

* Abbreviation: See Table 1.

** Maximal growth concentrations.



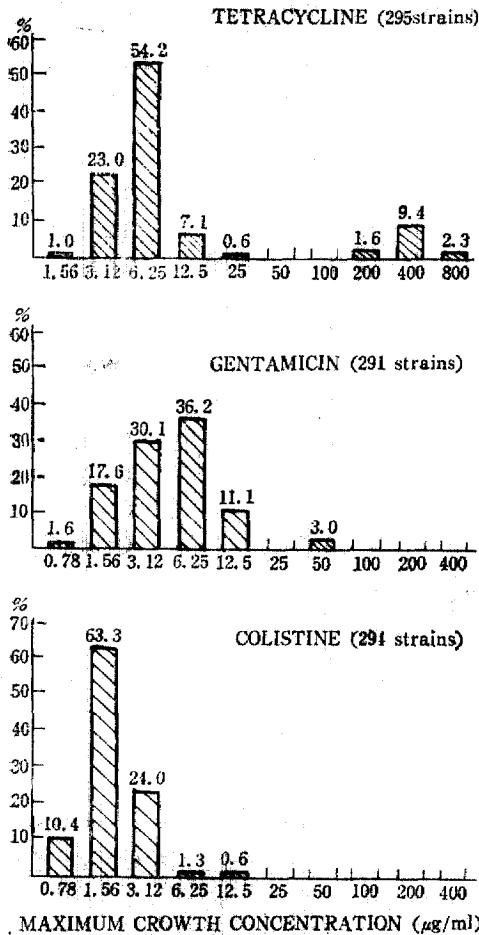


Fig. 1. Distribution of resistance to antibiotics of hospital *Pseudomonas aeruginosa*.

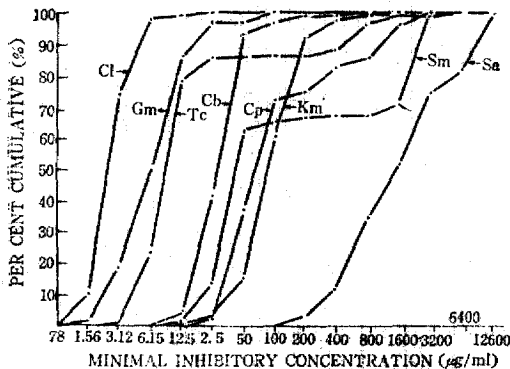


Fig. 2. Comparison of minimal inhibitory concentration of 7 antimicrobial agents against 295 *Pseudomonas aeruginosa*.

Table 3. Multiple drug resistance patterns of 295 hospital *Ps. aeruginosa* strains

Pattern*	No. of strains(%)
Tc Cp Sm Sa Km Gm	2(0.6)
Tc Cp Sm Sa Km	14(4.7)
Cp Sm Sa Km Gm	4(1.3)
Tc Cp Sm Sa	18(6.1)
Sm Sa Km Gm	3(1.0)
Tc Cp Sa	1(0.3)
Tc Sm Sa	2(0.6)
Sm Sa Km	7(2.3)
Sm Sa Cb	2(0.6)
Cp Sm	3(1.0)
Sm Sa	3(1.0)

* Abbreviation: See Table 1.

2. 실험균주의 항균제내성 및 내성 Pattern

실험균주 295주의 각 항균제에 대한 내성출현율(표 2)은 가장 높은 것은 Km(38.9%) 및 Sm(33.2%)에 대해서이며 다음이 Sa(22.7%), Cp(14.2%), Tc(13.8%)에 대해서이나 Cb(3.0%) 및 Gm(3.0%)에 대해서는 가장 낮았으며 Cl 내성은 나타내지 않았다.

공시내성균의 내성형(표 3)은 Tc, Cp, Sm, Sa(18주)가 제일 많고 다음이 Tc, Cp, Sm, Sa, Km(14주)이며 Sm, Sa, Km(7주), Cp, Sm, Km, Gm(4주), Sm, Sa, Km, Gm(3주), Cp, Sm(3주), Sm, Sa(3주), Tc, Cp, Sm, Sa, Km, Gm(2주), Tc, Sm, Sa(2주), Sm, Sa, Cb(2주), Tc, Cp, Sa(1주)의 순위이었다.

3. 병원녹농균의 내성전달

다제내성균 60주의 약제내성전달 pattern(표 4)은 Tc, Cp, Sm 혹은 Sa 중 어느 것으로 선택하여도 같았으며 내성을 전달한 공여균은 43주이었다.

공여균 43주 중 전내성을 전달한 것은 28주이며 4제내성균 31주 중 19주 3제내성균 9주 중 7주, 2제내성균 20주 중 2주이었다. 부분적으로 내성을 전달한 것은 15주였고 내성전달을 못하는 것은 16주이었다.

검출된 R plasmid는 43주로부터 9종이며 R(Tc Cp Sm Sa), R(Tc Cp Sm), R(Tc Cp Sa), R(Tc Sm Sa), R(Cp Sm Sa), R(Tc Sa), R(Cp Sm), R(Cp), R(Tc) 등이며 R(Tc Cp Sm Sa)가 19주로 제일 많이 검출되었다.

Table 4. Demonstration of R plasmids from *Ps. aeruginosa* strains to 1005 Rif^r recipient

Resistance patterns of donor strains	No. of strains tested	No. of R ⁺ strains (%)	Resistance pattern transferred	
			No. of strains	pattern
Tc Cp Sm Sa*	31	31(96.9)	19	Tc Cp Sm Sa
			3	Tc Cp Sm
			5	Tc Cp Sa
			1	Tc Sa
			2	Tc
			1	Cp
Tc Cp Sa	2	2(100)	1	Tc Cp Sa
			1	Tc Sa
Tc Sm Sa	5	5(100)	5	Tc Sm Sa
Cp Sm Sa	2	2(100)	1	Cp Sm Sa
			1	Cp
Cp Sm	4	3(75.0)	2	Cp Sm
			1	Cp
Tc Sm	1	0	0	—
Sm Sa	15	0	0	—
Total	60	43(71.6)		

* Abbreviation: See Table 1.

4. 내성전달에 미치는 접합은도의 영향

공시실험균 중 Tc, Cp, Sm, Sa 혹은 Gm의 3제 또는 그 이상의 약제에 대하여 내성을 나타내는 16주를 임의로 선정하여 두 주의 수용균에 대한 Sm, Cp, Gm 및 Sa 내성의 전달에 미치는 접합은도의 영향을 관찰하였다.

다제내성실험균과 수용균과의 접합은 기재된 실험방법에 따라 실시하였으며 공여균과 수용균의 혼합물은 4개의 소시험관에 대체로 동일량이 되도록 나누어 넣고 이를 20, 25, 30 및 37°C에서 5시간 접합시킨 다음 그 0.02ml를 각종 항균제가 들어 있는 선택배지에 떨어뜨린 다음 이를 37°C 18시간 배양하여 균발육의 유무 및 발육정도에 따라 전달도를 비교(표 5)하였다.

공여균 16주의 2종 수용균에 대한 Sm, Cp, Sa 및 Gm 내성의 전달도는 37°C, 30°C 및 25°C 사이에서 비등하게 나타났으나 20°C에서는 떨어지거나 혹은 전달되지 않는 것이 있었다.

대조로 2종 수용균 및 공여균은 각종 항균제가 든 선택배지에서 발육하지 않는 것을 확인하였다.

5. R plasmid의 전달 소요시간

Tc Cp Sm Sa 4제내성균 6주를 임의로 선택하여

이것과 수용균 1,005Rif^r를 각각 별도의 0.4% KNO₃ peptone수에 37°C, 18시간 배양한 다음 실험방법에 기재된 내성전달방법에 따라 접합시킨 다음 선택기초 배지에 Rif 200µg/ml와 선택약제로 Sm 200µg/ml, Tc 100µg/ml, Sa 3,200µg/ml 혹은 Cp 400µg/ml 중 한 약제를 넣은 선택배지에 도말, 37°C, 18시간 배양한 후 균발육의 유무를 관찰하였다.

표 6에서와 같이 공여균 6주의 Tc, Sm 및 Sa 내성은 혼합배양 5분 후부터 극히 소수의 수용균에게 그 내성이 전달되기 시작했으나 혼합배양 2시간에 이르기까지도 전달도에 큰 증가는 없었으며 24번균주의 Tc 및 Sm 내성의 전달은 각각 접합시간 30분과 2시간에 이르기까지도 수용균에게 전달되지 않았다.

공여균 6주의 Cp 내성전달은 다른 어떤 약제의 내성 전달보다도 빨리 일어났으며 접합 5분에서 이미 다수의 수용균에 전달되었다. 이때 대조로서 각 공여균 및 수용균의 선택배지상의 발육은 없었다.

6. R plasmid에 의한 전달 내성치

Tc Cp Sm Sa 또는 Gm의 4제 또는 5제내성균 18:주를 임의로 선정하여 이를 공여균으로 하고 2종 수용균에게 전달되는 내성치를 평판회색법으로 측정하였

Table 5. Effect of temperature on transfer of antibiotic resistance

Strain No.	Resistance pattern	Selecting drug	Resistance transfer after incubation (18h) at									
			1005 Rif ^r				2703 Km ^r					
			37°C	30°C	25°C	20°C	37°C	30°C	25°C	20°C		
315	Tc Sm Sa Gm*	Sm	###**	##	##	##	—	—	—	—	—	—
40	Tc Cp Sm Sa	Sm	##	##	##	##	—	—	—	—	—	—
3	Tc Sm Sa	Sm	##	##	##	+	—	—	—	—	—	—
296	Cp Sm Sa Gm	Sm	—	—	—	—	##	##	##	##	##	##
209	Tc Cp Sm Sa	Sm	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—
94	Tc Cp Sm Sa Gm	Cp	##	##	+	+	##	##	##	##	##	##
144	Tc Cp Sm Sa	Cp	##	##	##	+	##	##	##	##	##	##
240	Tc Cp Sm Sa	Cp	##	##	##	+	##	##	##	##	##	##
299	Tc Cp Sm Sa Gm	Cp	##	##	##	##	—	—	—	—	—	—
174	Tc Cp Sm Sa	Cp	—	—	—	—	##	##	##	##	##	##
315	Tc Sm Sa Gm	Sa	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##
299	Tc Cp Sm Sa Gm	Gm	##	##	##	—	+	##	##	##	—	—
313	Tc Sm Sa Gm	Gm	##	##	##	—	##	##	##	##	+	+
315	Tc Sm Sa Gm	Gm	##	##	##	+	+	##	##	##	—	—
296	Cp Sm Sa Gm	Gm	—	—	—	—	##	##	##	##	+	+
318	Sm Sa Gm	Gm	—	—	—	—	##	##	##	##	+	+

* Same as in Table 1.

** Growth on selecting media: —, no growth; +, few colonies; ##, numerous colonies; ###, confluent growth.

다. 내성전달시험은 실험방법에서 기재된 것과 같이 하였으며 접합요도는 37°C, 30°C 및 25°C에서 실시하였다.

공여균 18주의 각 내성은 접합요도의 조건에 관계없이 거의 완전하게 2종의 수용균에게 전달되었으며 공여균 2주의 2종 수용균에게 전달된 전달치성적은 표 7에서와 같다.

7. R plasmid의 전달빈도

Tc Cp Sm Sa 4제 내성균 12주를 임의로 선정하여 각 공여균과 수용균 1005Rif^r를 각각 별도의 0.4% KNO₃, peptone수, 37°C 18시간 배양한 다음 그 한 방울을 위의 세 배지 5ml에 접종, 37°C 4시간 배양한 후 각 공여균의 생균수와 실험방법에 따라 접합시험후의 수용균의 생균수를 각각 평판법으로 계산하여 각 공여균의 내성전달빈도를 계산하였다(표 8).

즉 공여균 12주의 Tc Cp Sm 및 Sa 내성전달빈도는 25°C 18시간 접합에서 10^{-1.4}~10^{-3.5} 범위, 37°C 18시간 접합에서 10^{-1.5}~10^{-5.5} 범위이며 내성전달빈도의 기하평균치는 25°C 및 37°C 18시간 접합에 있어

Tc로 선택하는 경우 10^{-2.1}과 10^{-2.3}, Cp로 선택하는 경우 동일하게 10^{-2.6}, Sm으로 선택하는 경우 10^{-2.9}와 10^{-2.3}, Sa로 선택하는 경우 10^{-1.9}와 10^{-2.6}이었다. 이로서 녹농균의 내성전달빈도에는 접합온도와 선택약제의 종류는 큰 영향을 미치지 못하였다.

한편 공여균의 종류에 따라 전달빈도에 차이가 있었으나 동일 공여균에서는 접합온도 및 선택약제의 종류에 관계없이 대체로 동일한 전달빈도를 나타냈다.

IV. 고 찰

본실험에 있어 공시균 295주의 50% 이상의 분포율을 나타내는 MGC, µg/ml는 (Tc), (Cp), (Cb), (Km), (Gm), (Cl) 및 (Sm)에 대하여 각각 (6.25), (25-50), (25), (50-100), (3.13-6.25), (1.56) 및 (25와 1,600)인테 비하여 일본은 각각 (200 또는 50), (400 또는 200), (100 또는 50), (100-400, 50-100, 또는 >100), (3.13, 3.13, 또는 1.56), (3.13, 3.13, 또는 1.56-3.13), (25와 >400)로서 Tc, Cp 및 Cb에 대한

Table 6. Degree of resistance transfer at various mating hours

Strain No.	Selecting drug	Mating hours at 37°C for						37°C
		5m	10m	30m	1h	2h	4h	18h
5	Tc	c9*	c5	c5	c15	c25	+	
24	Tc	—	—	—	c1	c4	c6	
40	Tc	c2	c5	c3	c4	c6	+	
88	Tc	c4	c21	c11	c7	c23	+	
99	Tc	c17	c10	c11	c22	+	c15	
107	Tc	c8	c13	c18	c13	+	‡	
D&R**	Tc							—
5	Sm	—	c1	c1	—	c2	c14	
24	Sm	—	—	—	—	—	c3	
40	Sm	c10	c5	c11	c3	c8	‡	
88	Sm	c1	c3	c5	—	c5	c5	
99	Sm	c2	c6	c7	c8	c8	c5	
107	Sm	c15	c4	c10	+	+	+	
D&R	Sm							—
5	Cp	‡	‡	‡	‡	‡	‡	
24	Cp	‡	‡	‡	‡	‡	‡	
40	Cp	‡	‡	‡	‡	‡	‡	
88	Cp	‡	‡	‡	‡	‡	‡	
99	Cp	‡	‡	‡	‡	‡	‡	
107	Cp	‡	‡	‡	‡	‡	‡	
D&R	Cp							—
5	Sa	c1	c17	c6	c18	c12	c9	
24	Sa	c1	—	c4	c1	—	c2	
40	Sa	c2	c9	c4	c3	c4	c20	
88	Sa	c8	c6	c20	c30	c10	+	
99	Sa	c20	c18	+	+	+	+	
107	Sa	c20	c20	+	+	+	+	
D&R	Sa							—

* Growth on selecting media: c, colony formation; +, numerous colonies; ‡, confluent growth; ‡‡, more confluent growth.

** D, donor strain; R, recipient strain, *Ps. aerug.* 2-70 1005 Rif^r.

50% 이상 분포 MGC는 일본이 우리보다 높으나 Km, Gm, Cl 및 Sm에 대한 그것은 대체로 비등했다.⁴¹⁻⁴³⁾

공시균 295주 중 고도내성균의 출현백분율은 (Tc), (Cp), (Sm), (Km), (Gm), (Cl) 및 (Cb)에 대하여 각각 (13.8), (14.2), (33.2), (38.9), (3.0), (0) 및 (3.0)에 비하여 일본은 (1.4 또는 15), (0 또는 11.2), (0 또는 41.3), (32.7 또는 46), (1.6 또는 4.0), (0.1, 2.8 혹은 9.4) 및 (8.9)로서 Tc, Cp, Sm, Km 및

Gm에 대한 고도내성균 백분율은 일본과 비등하나 Cl 및 Cb에 대한 그것은 일본이 우리보다 높았었다.^{41,43)}

50% 이상 분포 MGC의 성적과 내성균백분율 사이에 Cb에 대한 것을 제외하고는 다른 약제간에 완전히 관련되지 않는 것은 저자가 실험의 편이상 내성기준을 높게 잡은데 기인하는 것이며 내성기준을 2단계 낮추어 분석하면 Tc, Cp, Cb 및 Cl에 대한 내성은 일본이

Table 7. Degree of resistance of recipients after transmission

	MGC($\mu\text{g/ml}$)*				
	Tc	Cp	Sm	Sa	Gm
Donor: Strain 91	800	1,600	1,600	6,400	12.5
Recipient: 1,005 Rif ^r					
Before transm.	6.25	100	12.5	1,600	1.56
After transm. at 37°C	400	800	800	6,400	12.5
After transm. at 25°C	400	800	800	6,400	12.5
Recipient: 2,703 Km ^r					
Before transm.	3.12	50	100	1,600	1.56
After transm. at 37°C	800	1,600	1,600	6,400	25
After transm. at 25°C	800	1,600	1,600	6,400	12.5

* Same as in Table 2.

Table 8. Transfer frequency of R plasmids of *Ps. aeruginosa**

Donor**	Transfer frequency at conjugation temperature of:							
	25°C				37°C			
	Tc	Cp	Sm	Sa	Tc	Cp	Sm	Sa
5	10 ^{-1.9}	10 ^{-2.4}	10 ^{-2.7}	10 ^{-2.1}	10 ^{-2.2}	10 ^{-2.5}	10 ^{-2.8}	10 ^{-2.1}
24	10 ^{-2.1}	10 ^{-2.5}	10 ^{-2.8}	10 ^{-1.4}	10 ^{-2.1}	10 ^{-2.3}	10 ^{-2.1}	10 ^{-2.2}
40	10 ^{-2.5}	10 ^{-3.2}	10 ^{-3.0}	10 ^{-2.5}	10 ^{-2.7}	10 ^{-2.7}	10 ^{-2.5}	10 ^{-2.5}
80	10 ^{-1.8}	10 ^{-2.4}	10 ^{-2.6}	10 ^{-2.6}	10 ^{-2.1}	10 ^{-2.4}	10 ^{-1.9}	10 ^{-2.3}
99	10 ^{-2.3}	10 ^{-2.7}	10 ^{-3.3}	10 ^{-2.4}	10 ^{-2.3}	10 ^{-2.7}	10 ^{-2.5}	10 ^{-3.0}
107	10 ^{-2.5}	10 ^{-2.9}	10 ^{-3.5}	10 ^{-2.2}	10 ^{-2.5}	10 ^{-2.9}	10 ^{-2.5}	10 ^{-2.1}
126	10 ^{-3.0}	10 ^{-3.2}	10 ^{-3.5}	10 ^{-2.0}	10 ^{-3.0}	10 ^{-3.0}	10 ^{-3.0}	10 ^{-3.5}
133	10 ^{-1.4}	10 ^{-1.8}	10 ^{-2.6}	10 ^{-0.8}	10 ^{-1.5}	10 ^{-1.7}	10 ^{-1.3}	10 ^{-2.2}
188	10 ^{-2.5}	10 ^{-2.7}	10 ^{-3.2}	10 ^{-2.1}	10 ^{-2.5}	10 ^{-3.0}	10 ^{-2.6}	10 ^{-3.4}
201	10 ^{-1.5}	10 ^{-2.3}	10 ^{-2.7}	ND***	10 ^{-2.1}	10 ^{-2.9}	10 ^{-2.2}	10 ^{-1.7}
241	10 ^{-1.7}	10 ^{-2.6}	10 ^{-2.7}	ND	10 ^{-2.1}	10 ^{-2.9}	10 ^{-2.4}	10 ^{-1.7}
244	10 ^{-2.8}	10 ^{-2.6}	10 ^{-3.2}	10 ^{-1.9}	10 ^{-3.1}	10 ^{-3.4}	10 ^{-2.8}	10 ^{-3.1}
G.M.*	10 ^{-2.1}	10 ^{-2.6}	10 ^{-2.9}	10 ^{-1.9}	10 ^{-2.3}	10 ^{-2.6}	10 ^{-2.3}	10 ^{-2.6}

* Frequency of transfer was calculated at the number of R plasmids containing recipients divided by the donor cell present at the beginning of the transfer.

** Multiply resistant to Tc Cp Sm and Sa.

*** Not done.

우리보다 높게 나타나므로 일본 균주가 우리의 것보다 내성화된 것으로 보이며 이는 지역에 따른 이질 약제의 사용량 및 그 빈도에 관계되는 것으로 생각된다.

R plasmid를 증명하기 위한 방법으로는 공여균과 수용균의 두 균주를 Roe** 등의 내성화한 수용균을

분리배양하는 생체내방법과 부이온을 이용하여 공여균과 수용균을 혼합배양한 후 내성화한 수용균을 선택분리하는 시험관내방법이 있으며 Bryan¹³⁾ 등은 이 방법으로 비교적 고빈도의 전달을 일으킬 수 있다 하며 그 조건으로서 혼합배양을 없애 하여 공기의 접촉면을

크게 하는 것이 좋다 하여 보통 접합 때에 온화한 진탕을 가하는 것으로서 본실험에서도 그러하였다.

약제내성의 접합전달은 일반적으로 조합되는 공여균과 수용균의 근연성에 좌우되나 결정적인 것은 아니다. 그러나 녹농균 R plasmid는 동종균접합에 의해서만 내성전달이 가능하고 대장균 균주에는 전달되지 않는 것^{17,35)}은 그 특징이라 할 수 있으나 일부의 녹농균 R plasmid는 대장균 균주에도 전달되는 것이 있어 대장균계에 있어서의 불화합성에 의한 분류가 시도되고 있다.⁴⁵⁾

Tc, Cp Sm 혹은 Sa 중 2제 이상에 고도내성을 나타내는 60주를 선택하여 동종 수용균에 내성전달을 시켰든바 43주에서 완전 또는 부분적으로 내성이 전달되었다.

따라서 공시한 295주에 대한 R plasmid 보유율은 14.5%인 바 이를 동일유래 녹농균의 다른 성적과 비교하면 Canada(3.3%)⁴⁶⁾에서의 성적보다는 높았으며 일본(40%)¹⁷⁾에서의 성적보다는 저율이었다.

공여균 43주에서 검출된 R plasmid의 종류는 9종이며 완전내성전달은 28주로 4제 내성균에서 제일 많은 것은 다른 보고에서와 같다.^{17,35)}

전달내성 pattern 은 2제 이상이 많음으로 미루어 녹농균유래 R plasmid는 대부분이 2제 이상 내성유전자를 조입하고 있는 것으로 생각된다.

한편 공여균의 내성 pattern에 따라 내성전달이 안 되는 것이 있으며 특히 Sm Sa에서 볼 수 있으나 이는 녹농균에 있어서의 restriction mechanism⁴⁷⁾에 의한 것으로 생각된다.

R plasmid의 접합전달은 주로 3단계를 거쳐 일어나는 것으로 보며 그 첫째는 R⁺ 세포와 R⁻ 세포와의 사이에 물리적 충돌이 일어나 유효접촉이 시작되는 것이며 둘째는 유효접촉후 형성되는 접합다리를 통해 R⁺ 세포에서 R⁻ 세포로 R plasmid가 전달되는 것이며, 셋째로 일정시간 후 약제내성형질이 나타난다고 생각하고 있다. 전달능은 pH 4.5 이하 또는 pH 9.5 이상에서 상실되며 증식지역(至適域)보다 약간 알칼리측에서 잘 일어나므로 pH 7.4~7.6의 역이 전달 지역(至適) pH이고 접합온도는 20°C 이하 또는 45°C 이상에서는 전달능이 상실되며 37°C가 최적온도라고 보고되고 있다.^{46,49)}

pH 및 온도조건을 위에서와 같이 충족시킨 경우 R⁺ 이질균×R⁻ 대장균의 계에서 형질발현개시점은 Sa는 약 1~2분, Cp는 약 4분, Tc는 약 5분, Sm은 약 11분이라고 하나^{46,49)} 본실험에서도 pH 7.2, 접합온도

37°C 조건하에서 R⁺ 녹농균×R⁻ 녹농균계는 접합 5분부터 극히 소수의 수용균에게 전달되었으나 그 후 4시간에 도달하기까지 별다른 전달도의 증가는 없었으며 Cp 내성의 전달은 이것과는 대조적으로 접합 5분에서 이미 강한 전달성을 나타내어 특이한 경향을 보였다. 즉 녹농균 R plasmid의 수용균에 전달시간은 R⁺균의 종류보다는 R⁺균 세포의 내성약제의 종류에 따라 좌우되는 것으로 생각된다.^{46,49)}

내성전달빈도는 일반적으로 조합되는 공여균과 수용균 사이의 두 균주의 근연성에 따라 좌우되며 동질유전형균주 사이 및 동종(同種)내 균주 사이에서 전달빈도가 높고 반대로 동종균 사이라도 유전자형이 다른 균주 사이라든가 서로 다른 종속(種屬) 사이의 균주 사이에서는 빈도가 떨어지는 경향이 있다.⁶⁰⁾ 본실험에서의 평균 전달빈도는 선택약제에 종류에 관계없이 25°C에서 10^{-2.8} 37°C에서 10^{-2.4}로서 대체로 비등하였으며 이는 S. typhimurium⁵¹⁾ 및 S. typhi⁵²⁾ 내성전달이 37°C에서보다 25°C에서 쉽게 일어나는 것과는 다른 것은 다제내성 녹농균에는 Salmonella⁵³⁾에서 널리 분포하는 H균 plasmid⁴⁴⁾의 결여 때문인 것으로 생각된다.

R plasmid를 전달받은 피전달균의 내성치에는 변동이 있는 것으로 추정되나 다제내성인 Sh. flexneri로부터 내성전달을 받은 콜레라균과 EI Tor비브리오공여균의 Sa 및 Sm 내성치를 거의 전부 전달하며 Cp 및 Tc 내성은 일반적으로 공여균의 내성치보다 적게 전달되었다⁵⁵⁾고 한다. 저자의 실험에서는 공여균의 Tc, Cp, Sm, Sa 및 Gm 내성치는 25°C 및 37°C 접합온도에서 동일하게 거의 전부가 전달되는 것은 접합계의 이종 또는 동종의 차이에⁴⁶⁾ 기인하는 것으로 추정된다.

한편 R plasmid의 계대에 의한 자연탈락은 이질균과 콜레라균⁵⁵⁾, 대장균과 콜레라균⁵⁶⁾ 접합계에서 급속히 높은 빈도로 일어난다는 보고가 있으나 본실험에서는 내성전달에 사용한 4제 내성균 3주를 15대 계대한 후 동종 수용균에 접합시켜도 내성전달에 변동이 없었다.

따라서 공여균의 내성전달치와 계대에 의한 내성전달에 변동이 없는 것은 녹농균 R plasmid의 안정성을 입증하는 것으로 보며 또한 동종균 사이의 내성전달빈도가 비교적 높다는 사실과 더불어 앞으로 R⁺ 녹농균의 만연이 예측된다.

V. 결 론

우리 나라 병원녹농균의 항균제내성 및 동종균접합에 의한 R plasmid에 대하여 실험하였다.

1. 각 항균제별 고도내성 출현율은 kanamycin(Km) 38.9%, streptomycin(Sm) 33.2%, sulfisomidine(Sa) 22.7%, chloramphenicol(Cp) 14.2%, tetracycline(Tc) 13.8%, carbenicillin(Cb) 3.0%, gentamicin(Gm) 3.0%이고 colistine(CI) 내성은 없었으며 Tc Cp Sm Sa 내성 pattern이 전체의 6.1%를 차지하여 제일 많았다.

2. 고도내성균 60주 중 R plasmid를 가지고 있는 것은 43주(71.6%)이었다.

3. 검출된 R plasmid는 9종이며 R(Tc Cp Sm Sa)가 제일 많고 R(Tc Cp Sm), R(Tc Cp Sa), R(Tc Sm Sa), R(Cp Sm Sa), R(Tc Sa), R(Cp Sm), R(Cp), R(Tc) 등이다.

4. 내성전달은 접합온도 25°C 및 37°C에서 비등하게 전달되나 20°C에서는 이것이 현저하게 억제되었다.

5. Tc Sm 및 Sa 내성은 혼합배양 5분에서 극히 소수의 수용균에 전달되나 Cp 내성은 거의 완전하게 수용균에 전달되었다.

6. 녹농균의 Tc, Cp, Sm, Sa 및 Gm 내성치는 수용균에 거의 완전하게 전달되었다.

7. 녹농균의 Tc, Cp, Sm 및 Sa 내성의 전달빈도는 25°C에서 $10^{-1.4} \sim 10^{-3.5}$ 이며 37°C에서는 $10^{-1.5} \sim 10^{-2.5}$ 이었다.

참 고 문 헌

- Demerec, M.: *Origin of bacterial resistance to antibiotics*. *J. Bacteriol.*, **56** : 63-74, 1948.
- Demerec, M.: *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.*, **31** : 16, 1945.
- Ochiai, K., T. Yamanaka, K. Kimura, and O. Savada: *Studies on inheritance of drug resistance between shigella strains and E. coli strains*. *Nippon Iji Shimpo*, **1**, **861** : 34-46, 1959.
- Akiba, T. T. Koyama, T. Ishiki, S. Kimura, and T. Fukushima: *Studies on the mechanism of development of multiple drug resistant Shigella strains*. *Nippon Iji Shimpo*, **1**, **886** : 45-50, 1960.
- Mitsuhashi, S., H. Hashimoto, K. Harada, R. Egawa, and T. Mitsuyama: *Studies on the drug resistance of enteric bacteria*. 7. *Types of transmissible drug resistance factor*. *Gunma J. Med. Sci.*, **10** : 59-66, 1961.
- Nakayama, R., A. Nakamura, and Y. Murata: *Resistance transfer agents shigella*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **3** : 654-659, 1960.
- Hashimoto, H., M. Kono, and S. Mitsuhashi: *Elimination of penicillin resistance of Staphylococcus aureus by treatment with acriflavine*. *J. Bacteriol.*, **88** : 261-261, 1964.
- Novick, R.P.: *Analysis by transduction of mutations affecting penicillinase formation in Staphylococcus aureus*. *J. Gen. Microbiol.*, **33** : 121-136, 1963.
- Harmon, A., and J. N. Baldwin: *Nature of the determinant controlling penicillinase production in Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.*, **87** : 593-597, 1964.
- Watanabe, T.: *Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria*. *Bacteriol. Rev.*, **27** : 87-115, 1963.
- Wollman, E. L., and F. Jacob: *Sexuality and the genetics of bacteria*. 374pp., New York Aca. Press, 1961.
- Okamoto, S., and Y. Suzuki: *Chloramphenicol, dihydrostreptomycin, and kanamycin-inactivating enzymes from multiple drug-resistant E. coli carrying episome 'R'*. *Nature*, **208** : 1301-1303, 1965.
- Anderson, E. S., and N. Datta: *Resistance to penicillin and its transfer in enterobacteriaceae*. *Lancet*, **1** : 407-409, 1965.
- Watanabe, T.: *Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria*. *Bacteriol. Rev.*, **27** : 87-115, 1963.
- Novick, R. P., and M. H. Richmond: *Nature and interations of the genetic elements governing penicillinase synthesis in Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.*, **90** : 467-480, 1965.
- Harada, K., M. Suzuki, M. Kameda, and S. Mitsuhashi: *On drug resistance of enteric bacteria*. 2. *Transmission of drug resistance among*

- Enterobacteriaceae*. *Japan J. Exp. Med.*, **30** : 289—299, 1960.
- 17) Iyobe, S., K. Harada, A. Fuse, and S. Mitshashi: *Demonstration of R factors from Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, **5** : 547—552, 1974.
 - 18) Bryan, L. E., H. M. Van Den Elzer, and Jui, Teng Tseng: *Transferrable drug resistance in Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, **1** : 22—29, 1972.
 - 19) Baron, E. S., and S. Falkow: *Genetic transfer of episomes from Salmonella typhosa to Vibrio cholerae*. *Genetics*, **46** : 849, 1961.
 - 20) Schaeffler, S., J. Winter, A. Catelli, J. Greene, and B. Toharski: *Specific distribution of R factors in Serratia marcescens strains isolated from hospital infections*. *Appl. Microbiol.*, **22** : 339—348, 1971.
 - 21) Falkow, S., J. Marmur, W. F. Carey, W. M. Spilman, and L. S. Baron: *Episomic transfer between Salmonella typhosa and Serratia marcescens*. *Genetics*, **46** : 703—706, 1961.
 - 22) Ginoza, H.S., and T. S. Matney: *Transmission of resistance transfer from Escherichia coli to two species of Pasteurella*. *J. Bacteriol.*, **85** : 1177—1179, 1963.
 - 23) Mitsuhashi, S.: *Transmissible drug resistance factor R. Gunma J. Med. Sci.*, **14** : 169—209, 1965.
 - 24) Datta, N.: *Transmissible drug resistance in episomic strains of Salmonella typhimurium*. *J. Hyg.*, **60** : 301—310, 1962.
 - 25) Anderson, E.S.: *The ecology of transferrable drug resistance in the Enterobacteriaceae*. *Ann. Rev. Microbiol.*, **22** : 131—180, 1968.
 - 26) Anderson, E. S., and M. J. Lewis: *Characterization of transfer factor associated with drug resistance in Salmonella typhimurium*. *Nature*, **208** : 843—849, 1965.
 - 27) 江草周三：養魚學總論(川本信之論) 慢果社在生閣(日本) 1968, p.227.
 - 28) 窪田三郎：日本水産學會誌 **34** : 253, 1968.
 - 29) Yow, E. M.: *Development of Proteus and Pseudomonas infections during antibiotic therapy*. *J.A.M.A.*, **149** : 1184—1188, 1952.
 - 30) Asay, L. D., R. Kochi: *Pseudomonas infections in infants and children*. *New. Engl. J. Med.*, **262** : 1062—1066, 1960.
 - 31) Smith, D.H., and S.E. Armcur: *Transferrable R factors in enteric bacteria causing infection of the genitourinary tract*. *Lancet*, *ii*: 15—18, 1966.
 - 32) Lowbury, E. J. L., A. Kudson, H.A. Lilly, G.A.J. Ayliffe, and R.J. Jones: *Sensitivity of Pseudomonas aeruginosa to antibiotics: Emergence of strains highly resistant to carbenicillin*. *Lancet*, *ii*: 448—452, 1969.
 - 33) Witchitz, J. L., and Y.A. Chabbert: *Resistance transferable a la gentamicine. I. Expression du caractere de resistance*. *Ann. Inst. Pasteur.*, **121** : 773—742, 1971.
 - 34) Witchitz, J. L., and Y. A. Chabbert: *Resistance transferable a la gentamicine. II. Transmission et liaisons du caractere de resistance*. *Ann. Inst. Pasteur.*, **122** : 367—378, 1972.
 - 35) Sagai, H., V. Kremery, K. Hasuda, S. Iyobe, H. Knothe, and S. Mitsuhashi: *Jap. J. Microbiol.*, **19** : 427—432, 1975.
 - 36) Girald, G. L.: *Characterization of non fermentative, non fastidious gram-negative bacteria encountered in medical bacteriology*. *J. Appl. Bacteriol.*, **34** : 623—644, 1971.
 - 37) Stanier, R. Y., N. J. Palleroni, and M. Douderoff: *The aerobic Pseudomonas: a taxonomic study*. *J. Gen. Microbiol.*, **43** : 159—271, 1966.
 - 38) MacLowry, J.D., M.J. Jaqua, and S.T. Selepak: *Detailed methodology and implementation of a semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing*. *Appl. Microbiol.*, **20** : 46—53, 1970.
 - 39) Szybalski, W., and V. Bryson: *J. Bacteriol.*, **64** : 489, 1952.
 - 40) Davey, R.B., and J. Pittard: *Genetic and biophysical study of R plasmids conferring sulfonamide resistance in Shigella strains isolated in 1952 and 1956*. *J. Bacteriol.*, **120** : 1186—1195, 1974.
 - 41) 吉岡一, 瀧山昌俊, 丸山靜男, 林山降志, 石山正

- 之：臨床材料から分離された緑膿菌の血清型と抗生剤感受性について。 感染症學雜誌 44(6)340—344, 1970.
- 42) 小栗豊子, 小酒井望：臨床材料からのハロイド型緑膿菌の検出と化學療法剤感受性, 最新醫學 28 : 2459—2463, 1973.
- 43) 小酒井望：第19回 日本化學療法學會東日本支部綜合新藥シンポジウム「DKB」1972.
- 44) Roe, E., R. T. Jones, and E. J. L. Lowbury: *Transfer of antibiotics resistance between Pseudomonas, Escherichia coli and other gram-negative bacilli in burns. Lancet, i: 149—152, 1971.*
- 45) Datta, N., and R. W. Hedges: *Compatibility group among fi factors. Nature, 234 : 222—223, 1971.*
- 46) Bryan, L. E., Semaka, S.D., Van Den Elzen, H.M., J.E. Kimmer, and R.L.S. Whitehouse: *Characteristics of R 931 and other Pseudomonas aeruginosa R factors. Antimicrob. Ag. Chemother., 3 : 625—637, 1973.*
- 47) Holloway, W. B., and V. Stanish: *Pseudomonas genetics. 5 : 425—446, 1971.*
- 48) Mitshashi, S.: *Gunma J. Med. Sci., 14 : 169, 1965.*
- 49) 鈴木ミツエ, 龍田湧 重原進, 三橋進：日本細菌誌 19 : 224, 1964.
- 50) Holloway, B. W., and M.H. Richmond: *R factors used for genetic studies on strains Pseudomonas and their origin. Genet. Res., 21 : 103—105, 1973.*
- 51) Tanaka, T. K. Ikemura, M. Tsunoda, T. Sakakawa, and S. Mitsuhashi: *Drug resistance and distribution of R factors in Salmonella strains. Antimicrob. Ag. Chemother., 9 : 61—64, 1976.*
- 52) Chun, D., S. Y. Seol, D. T. Cho, and R. Tak: *Drug resistance and R plasmids in Salmonella typhi isolated in Korea. Antimicrob. Ag. Chemother., 11 : 209—213, 1977.*
- 53) Anderson, E. S.: *The problem and infections of chloramphenicol resistance in typhoid bacillus. J. Hyg.,(Camb.), 74 : 289—299, 1975.*
- 54) Smith, H. W.: *Thermosensitive transfer factors in chloramphenicol-resistant strains of Salmonella typhi. Lancet, 2 : 281—282, 1974.*
- 55) Kuabara, S., T. Akiba, and T. Arai: *Transmission of multiple drug resistance from Shigella flexneri to Vibrio comma through conjugation. Jap. J. Microbiol., 7 : 61—67, 1963.*
- 56) 阿部久夫, 五鳥瑛智子, 桑原音五：大腸菌からVibrioへの多剤耐性の接合による傳達, T. Antibiotics Ser. B. XIX-5 : 346—349, 1966.