

乳酸菌의 生物學的特性에 관한 研究

II. 藥劑耐性 乳酸菌의 R Plasmids 傳達頻度

金鍾冕 · 宋熹鍾

全北大學校 理科學

緒 論

乳酸菌에 藥劑耐性因子(R plasmids)가 存在한다는 事實에 대해서 Chassy 등³⁾이 처음으로 밝혀낸 이래, Gibson 등²⁾이 *Streptococci*에서 *Lactobacillus*로, 著者 등²³⁾은 *Lactobacillus*에서 *E. coli*로 R plasmid가 接合試驗에 의해 傳達된다는 것을 報告하였다. 이러한 報告들은 *Lactobacillus*屬에 있어서도 腸內細菌間^{4, 6, 8, 12, 15, 20)}에서와 마찬가지로 腸內正常細菌叢間에 耐性因자를 傳達하고 있음을 示唆하고 있어 乳酸菌製劑나 飲料 및 醱酵乳 등에 使用되고 있는 乳酸菌種에 대하여 耐性因자의 分布, 傳達性 및 傳達頻도에 대한 檢討가 必要한 것으로 思料되었다.

著者들은 國內에서 市販되고 있는 乳酸菌飲料와 醱酵乳에서 使用中인 乳酸菌種을 分離同定하여 藥劑感受性檢査, 耐性因자의 傳達性 및 傳達頻度 등을 測定하고 그 成績을 報告하는 바이다.

材料 및 方法

菌株의 分離 및 同定: 1980年 3月 國內에서 製造市販中인 乳酸菌醱酵乳와 飲料에서 乳酸菌을 分離하고, Harrigan 등¹¹⁾, Rogosa¹⁷⁾, 麻生 등²⁴⁾이 記述한 結果를 修飾한 方法에 따라 同定하였다. 簡記하면, 材料를 滅菌生理食鹽水로 10倍系列稀釋한 稀釋液 1 ml를 各各 Rogosa agar(pH 5.4)¹¹⁾에 重層接種 凝固시킨 후, 37°C에 48時間 candle jar에 培養하여 자라난 菌株의 一般의 形態를 觀察하고, Sharpe's milk medium²⁴⁾에 3日間隔으로 繼代保存하면서 gram 陽性, catalase 反應 陰性임을 確認한 後, MRS agar(pH 6.5)¹¹⁾에 2% glucose 및 0.3% arginine을 添加, 37°C에 48時間 培養하여 ammonia 生成有無를 檢査하였다. 糖分解能檢査는 MRS fermentation broth¹¹⁾에 各各 2%의 糖(arabinose, cellobiose, glucose, lactose, maltose,

mannitol, raffinose, rhamnose, sorbitol, sucrose, xylose, mannose, galactose)을 添加하여 分解能을 觀察함과 同時에 溫度(15°C)培養性 등의 生物學的性狀을 檢査하여 Rogosa의 分類法¹⁷⁾에 따라 同定하였다.

供試藥劑 및 藥劑感受性檢査: 이 實驗에 供試한 藥劑는 streptomycin(SM, 韓獨藥品), chloramphenicol(CP, 鍾根堂製藥), tetracycline(TC, 鍾根堂製藥), penicillin G sodium(PC, 權華製藥), ampicillin(AP, 日東製藥), kanamycin(KM, 東亞製藥), erythromycin(EM, 鍾根堂製藥), nalidixic acid(NA, Sterling-Winthrop Lab.) 등 8種이었으며, 上記한 藥劑들의 溶媒 및 稀釋液은 MacLowry 등¹⁴⁾과 Wolf 등²²⁾이 記述한 方法에 따라 製造 使用하였다.

藥劑感受性檢査를 實施할 때는 MRS broth를 增菌培地로, MRS fermentation broth를 感受性檢査用 基礎培地로 하여 液體培地 稀釋法으로 最少阻止濃度(MIC)를 求하였다. 即, 5ml의 MRS broth에 分離菌을 接種, 一晝夜 培養하여 滅菌生理食鹽水로 稀釋後, 稀釋菌液을 直徑 5mm의 白金耳를 利用하여 MRS fermentation broth로 2培系列稀釋한 各藥劑溶液 2ml에 한번 接種하여 菌接種量을 $10^5 \sim 10^6$ cells/ml 되게 하였다. 이를 37°C에 約48時間 培養한 後 色調의 變化 및 混濁度를 對照試驗管과 肉眼的으로 比較 觀察하여 分離菌의 增殖與否를 判讀하였으며, MIC는 菌의 增殖을 完全히 抑制한 最少의 藥劑濃度로 定하였다.

耐性因子 傳達試驗: 이 實驗은 前報의 方法²³⁾에 따랐으며, 藥劑感受性檢査結果 各供試藥劑濃度 25 μ g/ml 以上에 耐性을 나타낸 分離菌을 供與菌으로, *E. coli* ML 1410 NA⁷을 受容菌으로 하였다.

耐性因子 傳達頻度檢査: 耐性因子 傳達頻度檢査는 Sieckman 등¹⁹⁾이 記述한 方法에 따랐으며, 上記한 耐性因子傳達試驗에서 耐性因자를 傳達한 菌株에 限해서 受容菌과 供與菌의 混合培養液을 10倍系列稀釋하고, 그 稀釋液 0.2ml를 NA 100 μ g/ml 含有培地 및 供與菌이 耐性을 나타내었던 藥劑와 NA 100 μ g/ml가 含有되도록

製造한 選擇培地(MacConkey agar)에 各各 接種, 37°C에 48時間 培養하여 자라난 細菌集落數 即, 混合培養液內에 들어 있는 受容菌의 總數와 供與菌으로부터 耐性因子를 傳達받은 受容菌의 總數를 計算하고 다음식에 의하여 傳達頻度(%)를 求하였다.

$$\text{傳達頻度(}\%) = \frac{\text{耐性因子를 傳達받은 受容菌의 總數}}{\text{混合培養液內의 受容菌의 總數}} \times 100$$

結 果

分離菌株: 9種의 乳酸菌種 即, *Lactobacillus plantarum*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *tolerans*, *L. salivarius* subsp. *salivarius* 各 1株와 *L. cellobiosus*,

Table 1. Species of *Lactobacillus* Isolated

Species	No. of Isolates
<i>L. plantarum</i>	FM 1 1
<i>L. cellobiosus</i>	FM 2, FM 5 2
<i>L. lactis</i>	FM 3 1
<i>L. acidophilus</i>	FM 4 1
<i>L. helveticus</i>	FM 6, FM 9 2
<i>L. delbrueckii</i>	FM 7 1
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	FM 8 1
<i>L. casei</i> subsp. <i>tolerans</i>	FM 10 1
<i>L. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>	FM 11 1
Total of Isolates	11

Table 2. *In Vitro* Sensitivities to Antibiotics of *Lactobacilli* Isolated from Fermented Milk Products

Strains	MIC(μg or unit/ml)							
	SM ^a	CP	TC	PC	AP	KM	EM	NA
FM 1	100	50	12.5	0.1	50	200	0.025	>400
FM 2	25	50	0.2	0.05	100	100	0.05	>400
FM 3	3.125	25	0.4	0.8	25	100	0.025	>400
FM 4	12.5	50	0.4	0.05	25	50	0.0125	>400
FM 5	100	25	6.25	0.2	25	50	0.4	>400
FM 6	25	25	0.4	0.05	100	50	0.025	>400
FM 7	3.125	25	0.8	0.025	25	3.125	0.0125	>400
FM 8	50	25	0.8	0.025	25	12.5	0.2	>400
FM 9	6.25	12.5	0.8	0.025	50	6.25	0.05	>400
FM 10	3.125	25	0.2	0.1	3.125	12.5	0.025	>400
FM 11	50	25	1.6	0.4	25	100	0.1	>400

a Abbreviation; SM:streptomycin, CP:chloramphenicol, TC:tetracycline, PC:penicillin, AP:ampicillin, KM:kanamycin, EM:erythromycin, NA:nalidixic acid

L. helveticus 各 2株로 都合 11株였다(第 1 表).

藥劑感受性: 第 2 表에서 보는 바와 같이 供試菌에 대한 藥劑의 MIC는 EM이 0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 가장 낮았으며, PC가 0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$, TC가 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었으나 CP와 AP에 10株, SM에 6株, KM에 7株가 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上에 耐性이었으며, NA에는 全菌株가 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上 3,200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에 耐性を 나타내었다.

耐性類型 및 耐性因子 傳達性: 供試한 菌株의 耐性類型은 6種으로 全部가 2劑以上 5劑까지의 多劑耐性類型을 나타냈으며, 이中 NA, AP 및 CP, NA 등 2劑耐性이 2株, CP, NA, AP型이 1株, CP, NA, AP, KM, 및 CP, NA, AP, SM 등 4劑耐性이 3株, CP, NA, AP, SM, KM의 5劑耐性型이 5株이었다.

이러한 耐性菌株中 9株(81.8%)가 耐性類型의 一部를 受容菌에 傳達하여 乳酸菌에 있어서도 接合試驗에 의해 R plasmids의 傳達를 觀察할 수 있었으며, 傳達된 耐性因子는 R(AP), R(AP, CP) 및 R(SM, AP)因子이었다(第 3 表).

耐性因子 傳達頻度: 藥劑耐性菌株中 耐性因子를 傳達하는 菌株를 供與菌으로 하여 受容菌과 37°C에서 18時間 混合培養한 後 耐性傳達頻度を 보면 第 4 表에서와 같이 供與菌에 따라 다소 差異가 있었다. 即, R(AP) 因子 傳達株가 9株로 가장 많았으며, 傳達頻도는 $2.5 \times 10^{-1} - 5.6 \times 10^{-4}\%$, R(CP) 및 R(SM) 因子는 各 2株로 傳達頻도는 各各 $5.0 \times 10^{-1} - 5.0 \times 10^{-3}\%$, 및 $1.4 \times 10^{-5} - 6.0 \times 10^{-5}\%$ 의 範圍이었다.

考 察

近年 藥劑耐性菌, 特히 多劑耐性菌의 增加는 醫學的으로 深刻한 문제로 대두되고 있다. 藥劑耐性菌은 藥劑感受性菌이 藥劑에 접촉하기 이전에 染色體上의 遺傳子 變異에 의해서 出現하기도 하고, 細菌이 藥劑에 접촉하면 感性菌은 死滅되고 耐性菌만이 選擇되어 그 結果 耐性菌이 蔓延한다. 그러나 耐性菌 特히 多劑耐性菌의 出現과 그 耐性傳達은 上述한 突然變異와 選擇에 의하지 않고 染色體外 DNA 粒子(extrachromosomal DNA)로

Table 3. Resistant Pattern and Distribution of R Plasmids

Resistant Pattern ^a	Incidence of Pattern	Strains Transferring R Plasmids	Resistance Transferred Pattern	No.
NA AP	1	0		
CP NA	1	0		
CP NA AP	1	1	AP	1
CP NA AP KM	2	2	AP	1
			AP CP	1
CP NA AP SM	1	1	SM AP	1
CP NA AP SM KM	5	5	AP	3
			SM AP	1
			AP CP	1
Total	11	9		9

a See Table 2.

Table 4. Transfer Characteristics of R Factor-carrying Strains of Isolates

Strains	Resistance Pattern ^a	Resistance Transferred	Frequency of Transfer(%)		
			AP	CP	SM
FM 9	NA AP				
FM 10	CP NA				
FM 7	CP NA AP	AP	1.6×10^{-3}		
FM 3	CP NA AP KM	AP	7.1×10^{-3}		
FM 4	CP NA AP KM	AP CP	6.6×10^{-4}	5.0×10^{-1}	
FM 8	CP NA AP SM	AP SM	3.5×10^{-3}		6.0×10^{-5}
FM 1	CP NA AP SM KM	AP	9.2×10^{-3}		
FM 2	CP NA AP SM KM	AP SM	3.0×10^{-3}		1.4×10^{-5}
FM 5	CP NA AP SM KM	AP	1.6×10^{-3}		
FM 6	CP NA AP SM KM	AP	5.6×10^{-4}		
FM 11	CP NA AP SM KM	AP CP	2.5×10^{-1}	5.0×10^{-3}	

Transfer frequency = $\frac{\text{No. of transconjugates}}{\text{Total no. of E. coli ML 1410 in mixture}} \times 100$

a: See Table 2.

이루어진 細胞質性遺傳因子이며 一種의 plasmid인 resistant factor(R plasmid)의 仲介에 의하여 感染이 이루어진다⁷⁾. 이러한 R plasmids가 大腸菌群, 痢疾菌, Salmonella, 變型菌, 肺炎桿菌, 綠膿菌, 콜레라菌 등 주로 gram 陰性腸內細菌의 藥劑耐性과 耐性因子傳達에 關與함은 周知의 사실이며, 이들 菌에서 檢出된 R plasmids에 대해서는 그 遺傳的特性이나 分子構造에 關하여 많은 研究가 行하여 졌으며^{5,7,15,16,18)}, gram 陽性 球菌에 있어서도 Raycroft 등¹⁵⁾과 Courvalin 등⁶⁾에 의해서 接合에 의한 耐性因子의 傳達을 報告하고 있다.

한편, 乳酸菌에 있어서는 L. casei subsp. casei와 L. casei subsp. rhamnosus에서 23×10^6 과 19×10^6 의 分子量을 가진 plasmid가 存在한다고 Chassy 등³⁾이 最初로 報告한 以來, 石和 등²⁶⁾은 人에서 分離한 乳酸菌種에서 R plasmid가 存在함을 밝혔고, 石和 등²⁵⁾은 TC耐性株와 EM耐性株인 L. fermentum에서 各各 4.3 μm와 5.3 μm인 環狀 DNA 分子의 抽出에 成功하여 乳酸菌에도 R plasmids가 存在함이 分明히 밝혀졌다. 또한 Gibson 등⁹⁾은 plasmid 媒介로 Streptococci에서 Lactobacilli로 耐性因子가 傳達되고 있음을 報告하였으며, 著者들은 前報²³⁾에서 Lactobacilli에서 E. coli로 接合試驗에 의한 R plasmid의 傳達을 確認하였다. 이러한 研究報告들을 볼 때, 乳酸菌에 있어서도 비록 耐性因子의 傳達頻度에는 差異가 있을지라도 다른 腸內細菌에서와 같이 耐性因子를 受容할 뿐 아니라 他菌種에 供與할 수 있음을 알 수 있다.

이 實驗에 있어서 多劑耐性을 보인 11株中 9株가 混

合培養에 의해 耐性의 一部를 受容菌인 *E. coli*에 傳達하고 있어 乳酸菌에 있어서 R plasmid의 存在를 確認할 수 있었는데 그 傳達機轉에 대해서는 明確히 究明되지 않았으나, Jacob 등¹²⁾, Gibson 등⁹⁾은 그 機轉으로 接合(conjugation)에 의해서 耐性因子가 傳達된다는 證據를 提示하였으며, 이 實驗에 있어서도 Jacob 등¹²⁾과 Gibson 등⁹⁾의 報告 등으로 미루어 藥劑耐성은 R plasmid에 의한 것으로 思料된다. 一般的으로 接合에 의한 耐性因子의 傳達는 sex pili의 存在下에서 이루어지는데 과연 乳酸菌에 있어서도 sex pili가 存在하는지, 또는 sex pili가 없는 狀態下에서도 다른 機轉에 의하여 傳達되는지의 與否는 앞으로의 研究課題가 되리라 思料된다. 그러나 Gibson 등⁹⁾에 의하면 gram 陽性細菌間에 接合에 의한 傳達機轉은 明確히 說明되지 않으나 pili가 分明히 없음에도 불구하고 乳酸菌間에 plasmid의 傳達이 接合試驗으로서 防害되지 않는다고 하며, Achtman 등¹⁾의 最近 研究報告를 引用 sex pili가 缺損된 *E. coli*에서 接合에 의한 耐性因子傳達이 이루어지고 있다고 報告하고 있어, 接合試驗에 있어서 pili의 役割에 대한 좀 더 깊은 研究가 必要함을 強調하였다.

藥劑耐性因子의 傳達에 있어서 耐性因子의 傳達을 支配하는 遺傳子에는 적어도 하나의 tra-operon이 作用하여 耐性因子의 傳達에 關與한다는 Goodenough¹⁰⁾, Beale 등²⁾, Lewin¹³⁾의 理論을 勘案할 때, 이 實驗의 成績에서 R(NA)나 R(KM) 등이 受容菌에 傳達되지 않음은 이들 耐性因子는 chromosomal gene에 屬해 있거나 또는 R plasmid內의 tra-operon이 抑制되어 있는 狀態일 것으로 思料되며, 또한 耐性因子를 傳達함에 있어서도 傳達頻度數에 差異가 있음은 이들 理論에 符合되는 것으로 보며, 同一 供與菌(FM 2株와 FM 5株)의 경우 同一 受容菌에 相異하게 耐性因子를 傳達하고 있음은 tra-operon을 가진 傳達支遺傳子가 獨立的으로 그 機能을 發揮하는 것이 아니라 傳達耐性因子와 內的, 外的 狀態의 影響을 받아 그 機能이 發現되고 있는 것으로 보여진다.

이 實驗의 成績을 감안해 볼 때 乳酸菌이 食品加工, 醱酵乳, 乳酸菌製劑 등 多目的으로 利用된다는 點²¹⁾에 비추어 R plasmids가 腸內病原細菌에 傳達될 우려가 없지 않아 公衆衛生學的인 面에 立脚하여 食品에 利用되는 乳酸菌種에 대해서 보다 徹底한 檢討와 選擇이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

結 論

著者들은 國內에서 製造 市販되고 있는 乳酸菌飲料와 醱酵乳에서 分離한 *L. plantarum*, *L. lactis*, *L.*

acidophilus, *L. delbrueckii*, *L. dasei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *tolerans*, *L. salivarius* subsp. *salivarius* 各 1株 및 *L. cellobiosus*, *L. helveticus* 各 2株 등 11株를 對象으로 藥劑感受性檢査와 R plasmid 分布 및 傳達頻度を 測定하였다.

供試菌株 11株를 streptomycin(SM), chloramphenicol(CP), tetracycline(TC), penicillin G Sodium(PC), ampicillin(AP), kanamycin(KM), erythromycin(EM) 및 nalidixic acid (NA) 등 8劑의 藥劑에 대한 感受性を 檢査한 結果, 全供試菌이 2劑 以上の 藥劑에 耐性이었다.

供試菌株의 各藥劑에 대한 耐性率은 NA (11株), CP 및 AP(10株), KM(7株), SM(6株) 順으로 低下되었으며 EM, PC 및 TC에는 感性이었다. 耐性菌株의 耐性類型은 NA AP, CP NA, CP NA AP, CP NA AP SM型이 各 1株, PC NA AP KM 型이 2株, CP NA AP SM KM 型이 5株 등 6類型이었다. 耐性菌株 11株中 9株가 AP, CP 또는 SM 因子를 傳達하였으며, 耐性因子의 類型은 R(AP), R(AP CP) 및 R(SM AP)이었다.

傳達性 耐性因子를 가진 菌株의 耐性因子傳達頻도는 AP가 $2.5 \times 10^{-1} - 5.6 \times 10^{-4}\%$, CP가 $5.0 \times 10^{-1} - 5.0 \times 10^{-3}\%$, SM이 $6.0 \times 10^{-5} - 1.4 \times 10^{-5}\%$ 의 範圍이었다.

參 考 文 獻

1. Achtman, M. and R. Skurray: A redefinition of the mating phenomenon in bacteria. (1977) p. 233—278. In J.L. Reissing(ed.), Microbial interactions. Vol. 3. Chapman and Hall, London. cited from 9.
2. Beale, G. and K. Jonathan: Extranuclear-genetics. Arnold, London. (1978) p. 66—67.
3. Chassy, B.M., E. Gibson and A. Giuffrida: Evidence for extrachromosomal elements in *Lactobacillus*. J. bacteriol. (1976) 127: 1576.
4. Chun, D., S.Y. Seol, D.T. Cho and R. Tak: Drug resistance and R plasmids in *Salmonella typhi* isolated in Korea. Antimicrobial Agents Chemother. (1977) 11: 209.
5. Clowes, R.C.: Molecular structure of bacterial plasmid. Bacteriol. Rev. (1972) 36: 361.
6. Couvalin, P.M., C. Carlier and Y.A. Chabbert: plasmid-linked tetracycline and erythromycin resistance in group D "*Streptococcus*".

- Ann. Inst. Pasteur. (1972) 123 : 755.
7. Falkow, S. : Infectious multiple drug resistance. Pion Ltd. London (1975).
 8. Farrar, W.E. Jr. and M. Eidson: Antibiotic resistance of *Shigella* mediated by R factors. J. Infect. Dis. (1971) 123 : 477.
 9. Gibson, E.M., N.M. Chace, S.B. London and J. London: Transfer of plasmid-mediated antibiotic resistance from *Streptococci* to *Lactobacilli*. J. Bacteriol. (1979) 137 : 614.
 10. Goodenough, U. : Genetics. 2ed. Holt, Rinehart and Winston. (1978) p. 539—572.
 11. Harrigan, W.F. and M.E. McCance: Laboratory methods in food and microbiology Academic press (1976) p. 319—380.
 12. Jacob, A.E. and S.J. Hobbs: Conjugal transfer of plasmid-borne multiple antibiotic resistance in *Streptococcus faecalis var. zymogenes*. J. Bacteriol. (1974) 117 : 360.
 13. Lewin, B. : Gene expression. Vol. 3., John Willy & Sons. New York (1977) p. 160—273.
 14. MacLowry, J.D., M.J. Jaqua and S.T. Spleak: Detailed methodology and implementation of a semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. Appl. Microbiol. (1970) 20 : 46.
 15. Raycroft, R.E. and L.N. Zimmerman: New mode of genetic transfer in *Streptococcus faecalis var. liquefaciens*. J. Bacteriol. (1964) 87 : 799.
 16. Roberts, M. and S. Falkow: Plasmid-mediated chromosomal gene transfer in *Neisseria gonorrhoeae*. J. Bacteriol. (1978) 134 : 66.
 17. Rogosa, M. : Gram positive, as progenes, rod-shaped bacteria. (1974) p. 576—593. In R.E. Buchanan and N.E. Gibbons ed., Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th. ed. The William & Wilkins Co., Baltimore.
 18. Sagai, H., S. Iyobe and S. Mitsuhashi: Inhibition and facilitation of transfer among *Pseudomonas aeruginosa* R plasmids. J. Bacteriol. (1977) 131 : 765.
 19. Siekmann, D.G., N.D. Reed and C.E. Geogi: Transferable drug resistance among Enterobacteriaceae isolated from human urinary tract infection. Appl. Microbiol. (1969) 17 : 701.
 20. Smith, H.W. : Transfer of antibiotic resistance from animal and human strains of *Escherichia coli* to resistant *E. coli* in alimentary tract of man. Lancet (1969) 1 : 117.
 21. Speck, M.L. : Interaction among *Lactobacilli* and man. J. Dairy Sci. (1975) 59 : 338.
 22. Wolf, P.L., B. Russell and A. Schimoda: Practical clinical microbiology and mycology: Techniques and interpretation, John Willy & Sons (1975) p. 198.
 23. 金鍾冕, 宋熹鍾 : 젖산균의 生物學的特性에 관한 研究. 1. 젖산 桿菌의 藥劑耐性과 傳達性 因子의 分布. 全北大學校論文集 (1979) 21 : 237.
 24. 麻生健治, 渡邊次男, 岩淵 明, 山下哲郎 : *Lactobacillus* の分類法とヒト腸内 *Lactobacillus* の分布について. ヤクルト研究所研究報告集 (1970) 1 : 1
 25. 石和浩美, 岩田 眞 : 乳酸桿菌の 藥劑耐性 プラスミドについて. 第38回 日本細菌學會關東支部講演抄録 (1977) p. 25.
 26. 石和浩美, 小平晋士, 田中隆郎, 菅 辰彦 : 人由來の乳酸桿菌の藥劑感受性について. 第36回 日本細菌學會 關東支部總會講演抄録 (1976) p. 23.

Studies on Biological Characteristics of *Lactobacillus*

II. Conjugal Transfer-frequency of R Plasmids from *Lactobacillus* to *Escherichia coli*

Jong-Myeon Kim, D. V. M., M. S., Ph.D. and Hee-Jong Song, D. V. M., M. S.

College of Natural Science, Jeonbug National University

Abstract

Total of 11 strains of *Lactobacillus* isolated from lactobacillus-fermented milk and-beverage in March

1980 were examined for susceptibility to 8 drugs, and transferability and transfer frequency of R plasmids by conjugation.

Of 11 isolates each 2 strains were classified as *L. cellobiosus* and *L. helveticus*, each 1 strain as *L. plantarum*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *tolerans* and *L. salivarius* subsp. *salivarius* by Bergey's manual.

Resistance was the most active to nalidixic acid(NA), followed in decreasing order by chloramphenicol(CP), ampicillin(AP), kanamycin(KM) and streptomycin(SM).

All of isolates were resistant to NA, each 10 strains to CP and AP, 7 strains to KM and 6 strains to SM, indicating all of the isolates were resistant to two or more drugs in combination. No strain was resistant to erythromycin(EM), penicillin(PC) and tetracycline(TC). The most frequently encountered resistant patterns were CP NA AP SM KM, followed by CP NA AP KM, NA AP, CP NA, CP NA AP and CP NA AP SM in order.

Transfer experiment of drug resistance showed that of 11 resistant strains, 9 strains transferred parts of their resistance to AP or AP CP or SM AP, indicating 9 strains carried R plasmids determining R (AP), R(AP CP) and R(SM AP).

The conjugal frequency of R(AP) from *Lactobacillus* to *E. coli* ranged from 2.5×10^{-1} to $5.6 \times 10^{-4}\%$, that of R(CP) ranged from 5.0×10^{-1} to $5.0 \times 10^{-3}\%$ and that of R(SM) ranged from 6.0×10^{-5} to $1.4 \times 10^{-5}\%$, at 37°C for 18 hours of incubation.