

## 豚에서分離한 *Shigella*菌由來 R plasmid의 遺傳的 特性에 관한 研究\*

崔源弼·權海秉·鄭錫贊\*

慶北大學校 獸醫科大學, 農村振興廳 家畜衛生研究所\*

(1988.11.18 접수)

### Genetic properties of R plasmids in *Shigella* isolates of swine origin in Korea

Won-pil Choi, Hae-byeng Kwun, Suk-chan Jung\*

College of Veterinary Medicine, Kyeongpook National University

Veterinary Research Institute, Rural Development Administration\*

(Received July 29, 1988)

**Abstract:** This paper dealt with the distribution of *Shigella* spp. on 5 piggeries in Taegu and Kyungpook during the period from August to October 1987. Isolated *Shigella* were examined for serogrouping, antimicrobial drug resistance and detection of R plasmid.

Genetic properties of R plasmid in *Shigella* have examined to fertility inhibition (Fi) and gel electrophoresis was performed for the isolation of plasmid DNA.

The results obtained were summarised as followings;

1. Of total 2,978 samples from 5 piggeries, 82 strains (2.8%) of *Shigella* spp. were isolated from 82 samples. The isolated strains were identified as *S dysenteriae* (60 strains), *S flexneri* (20 strains) and *S sonnei* (2 strains).

2. Of the 82 strains examined 67 (95.1%) were resistant to one or more antibiotics, such as ampicillin (Am), chloramphenicol (Cm), kanamycin (Km), nalidixic acid (Na), rifampicin (Rf), streptomycin (Sm), sulfademethoxine (Su), and tetracycline (Tc) and higher resistant to Su (90.2%), Sm (63.4%) and Tc (63.4%).

3. Of the 78 resistant *Shigella* strains 26 (33.3%) harbored conjugative R plasmids and the transfer frequency of Sm (50.0%), Cm(33.3%) resistance was much higher than that of the other drug resistance.

4. The most common resistant patterns were SmSuTc, Su and AmSmSuTc.

5. Out of the 26 *Shigella* R plasmids examined for Fi, 14(53.8%) were Fi<sup>+</sup> and the remainder were Fi<sup>-</sup>.

6. The plasmid DNA profiles in *Shigella* spp. (9 strains) isolated from pigs were confirmed as being 2 to 9 fragments by the gel electrophoresis. Their molecular size ranged 2.17 to 87.62 kilobase (Kb). All strains of *Shigella* spp. consisted in 15.4 Kb plasmids.

**Key words:** swine, *Shigella*, drug resistance, plasmid profile

\* 이 研究는 1987년도 문교부 자유공모과제 학술연구 조성비에 의하여 수행되었음.

## 結 論

細菌性痢疾은 원인체가 *Shigella* 屬菌이고 生化學的 및 血清學的으로 A, B, C, D group으로 分類되고 있으며 사람에게 있어서 腸管傳染病으로 알려져 있다.<sup>2</sup> 動物에서는 원숭이가 感受性 동물로 알려져 있으나 다른 動物로 부터 이들 菌이 종종 分離되고 있어 사람에게의 感染源으로서 가능성이 예상되고 있다.<sup>2</sup>

근년에 細菌性痢疾의 疫學研究에 있어서 *Shigella* 菌이 보유하고 있는 R plasmid의 分子生物學의 特徵을 精明함으로써 더욱 正確한 疫學資料를 얻을 수 있어 이 領域에 관한 研究가 많이 이루어지고 있다.<sup>3</sup> 우리나라에서는 小兒에서 여름철에 많이 發生하는 疾病이며 *Shigella flexneri*가 대부분을 이루고 있으나 1987年 이후는 *S sonnei*가 다소 增加하는 경향을 나타내고 있으며,<sup>4</sup> 사람에게서 分離한 이들 菌 由來 R plasmid의 分析에 의한 病院內 感染疫學에 관한 研究가 이루어지고 있다.<sup>5</sup> 한편 動物에 있어서는 1973年 설사를 하고 있는 韓牛로 부터 *Shigella* 菌 16株(29%)를 分離 報告<sup>6</sup>한 것에 불과한 실정이다.

이 研究에서는 養豚場의 돼지분변에 *Shigella* 菌의 分布狀況, 分離菌의 serogrouping 藥劑耐性 및 耐性菌 R plasmid의 fertility inhibition 그리고 agarose gel electrophoresis에 의한 plasmid DNA 分析 등을 실시하여 *Shigella* 屬菌의 R plasmid profile을 밝히고 이 感染症의 疫學的인 研究와 公衆保健에 기여코자 한다.

## 材料 및 方法

供試材料: 1987年 8月부터 10月까지 大邱 및 慶北지역 5個 養豚場의 돼지 2,879頭를 대상으로 直腸糞 또는 排泄直後의 新鮮한 糞을 멸균면봉으로 채취하여 供試하였다.

**Shigella 屬菌의 分離:** 增菌 및 分離培養은 上記材料를 Salmonella-Shigella (SS) agar 평판배지에 培養하고 또는 동일재료 약 1g을 Selenite F broth에 18~24시간 增菌 後 SS agar 및 MacConkey agar에 1夜 培養하였다. *Shigella* 屬菌으로 의심되는 2개 이상의 菌을 鈎菌하여 triple sugar iron agar 사면배지에 1夜 培養 後 alkaline slant, acid butt이며 H<sub>2</sub>S와 gas 産生 음성인 菌을 선택하여 이들 菌中 urease 음성菌에 대하여 生化學的 및 血清學的의 檢사를 실시하였다.

**生化學的 및 血清學的의 檢査:** Edwards와 Ewing<sup>7</sup>의 方法에 따라 IMVIC 試驗, urease, malonate 이용성, gelatin 액화능, glucose, lactose, salicin 分해능, 운동성 등의 性狀을 檢査하였으며 血清學的의 檢査로는 國立

保健院 *Shigella* A,B,C 및 D group 診斷用血清을 사용하여 slide 凝集反應으로 檢査하였다.

**抗生物質에 대한 耐性檢査:** Steer's 등<sup>8</sup>의 寒天平板 稀釋法에 의하였으며 사용한 藥劑는 ampicillin(Am), chloramphenicol (Cm), kanamycin (Km), nalidixic acid (Na), rifampicin (Rf), streptomycin (Sm), sulfadimethoxine (Su) 및 tetracycline (Tc)을 사용하였고, 藥劑의 溶解는 MacLowry 등<sup>9</sup>의 方法에 準하였으며 brain heart infusion agar (BHIA)를 供試培地로 사용하였고 Su의 경우에는 Muller-Hinton agar 를 사용하였다. 耐性의 判定는 Am, Cm, Km, Na, Tc 및 Sm은 25 µg/ml, Rf 50 µg/ml, Su 200 µg/ml 이상 일 때 耐性菌으로 判定하였다.

**耐性傳達試驗:** Sato 등<sup>10</sup>의 方法에 따라 供與菌은 1種 이상의 藥劑에 耐性을 가진 *Shigella* 屬菌을, 被傳達菌은 *Escherichia coli* ML 1410을 사용하였다. 이들을 2 ml BHIB에 혼합배양하 다음 Na(25 µg/ml)와 Am, Cm, Km, Sm, Tc (25 µg/ml) 또는 Su(200 µg/ml)을 함유하는 選擇培地에 培養한 후 集락의 형성유무를 보아 耐性傳達을 判定하였다.

**Fertility-inhibition (Fi) 試驗:** Fi 檢査는 f<sub>2</sub> phage 를 사용하여 surface spot 方法<sup>11</sup>으로 檢査하였다.

**Plasmid DNA 分離:** Plasmid DNA 保有狀態를 조사하기 위하여 Maniatis 등<sup>12</sup>의 alkaline lysis 方法으로 plasmid DNA를 分離하였다. 各 菌株를 LB(Luria-Bertani) broth 10 ml에 37°C, 24時間 振盪培養하여 15,000 rpm으로 5分間 원심분리한 후 침전된 菌體를 GET solution (50 mM glucose, 10 mM EDTA, 25 mM Tris-Cl, lysozyme 4 mg/ml) 100 µl로 부유하고 lysing solution (0.2N NaOH, 1% SDS) 200 µl와 potassium acetate solution (5 M potassium acetate 60 ml, glacial acetic acid 11.5 ml, H<sub>2</sub>O 28.5 ml) 150 µl을 加하여 얼음에 5分間 방치하였다. 이것을 15,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 同量의 phenol/chloroform을 加한 후 원심분리하고, 2倍 容量의 ethanol을 加하여 -20°C에서 1夜 보존하고 plasmid DNA를 원심침전 후 TE solution(10mM Tris-Cl, 1mM EDTA) 20 µl에 용해하여 電氣泳動材料로 사용하였다.

**Agarose gel electrophoresis:** 分離된 plasmid DNA를 TBE buffer (89 mM Tris-HCl, 2.5 mM EDTA, 89mM Boric acid)에 녹인 0.7% agarose gel에서 電氣泳動하였다. 전기영동은 100 V에서 4時間 전개하였으며, 전계가 끝난 gel은 ethidium bromide (0.5 µg/ml)로 염색하여 UV 조사하에서 plasmid DNA를 관찰하였으며, 사진 촬영은 polaroid type 667 film을 사용하

**Table 1.** Distribution of subgroup of 82 *Shigella* strains isolated from 5 piggeries

Farms	No. of positive samples	Subgroup			
	No. of samples examined	Group A ( <i>S dysenteriae</i> )	Group B ( <i>S flexneri</i> )	Group C ( <i>S boydii</i> )	Group D ( <i>S sonnei</i> )
A	30/712(4.2)	22	8	0	0
B	8/724(1.1)	4	4	0	0
C	18/464(3.9)	14	4	0	0
D	24/788(3.0)	18	4	0	2
E	2/290(0.7)	2	0	0	0
Total	82/2978(2.8)	60	20	0	2

A,B,C : The farm in the vicinity of Taegu.

D,E : The farm in Gyeongbuk.

Figures in parentheses are percentages.

**Table 2.** Biochemical characteristics es of 82 *Shigella* Strains isolated from pigs

Test or Substrate	Sign	<i>Shigella</i> Group A(60)*		<i>Shigella</i> Group B(20)		<i>Shigella</i> Group D(2)	
		+	-	+	-	+	-
Hydrogen sulfide(TSI)	-	0	60	0	20	0	2
Indol(SIM)	-/+	6	54	14	6	0	2
Motility(SIM)	-	0	60	0	20	0	2
Methyl red	+	60	0	20	0	2	0
Voges-Prokauer	-	0	60	0	20	0	2
Urease	-	0	60	0	20	0	2
Citrate (Simmon's)	-	0	60	0	20	0	2
Lysine decarboxylase	-	0	60	0	20	0	2
Malonate utilization	-	0	60	0	20	0	2
Phenylalanine deaminase	-	0	60	0	20	0	2
Gelatinase	-	0	60	0	20	0	2
Sodium acetate	-	0	60	8	12	0	2
Gas from glucose	-	0	60	0	20	0	2
Acid from							
Glucose	+	60	0	20	0	2	0
Lactose	D	0	60	0	20	2	0
Salicin	-	0	60	0	20	0	2
Mannitol	+/-	0	60	20	0	2	0
Dulcitol	D	0	60	4	16	0	2
Xylose	D	20	40	18	2	0	2
Rhamnose	D	4	56	12	8	2	0
Raffinose	D	0	60	4	16	0	2

( )\* : Number of strains.

+/- : Majority of strains positive, some cultures negative.

-/+ : Majority of clutures negative, some strains positive.

D : Different reactions.

**Table 3.** Frequency and transferability of drug resistance against 82 *Shigella* Strains isolated from pigs

Antimicrobial drugs	No. of resistant strains (%)	No. of strains transferred resistance (%)
Sulfadimethoxine (Su)	74(90.2)	2( 2.7)
Streptomycin (Sm)	52(63.4)	26(50.0)
Tetracycline (Tc)	52(63.4)	12(23.1)
Ampicillin (Am)	16(19.5)	2(12.5)
Chloramphenicol (Cm)	6( 7.3)	2(33.3)
Rifampicin (Rf)	6( 7.3)	—
Kanamycin (Km)	4( 4.9)	—
Nalidixic acid (Na)	2( 2.4)	—

였다. 分子量은  $\lambda$  DNA/Hind III 을 marker로 이용하여 측정하였다.

### 結 果

1987年 8月부터 10월까지 大邱 및 慶北지역 5個 養豚場의 돼지 2,978頭의 분변으로 부터 *Shigella* 屬菌의 分離狀況과 分離菌의 serogrouping은 Table 1과 같다. 총 2,978頭 中 82頭(2.8%)에서 82株의 *Shigella* 屬菌이 分離되었으며, 養豚場別 菌 分離率은 0.2~4.2%로 다양하였다. 분리된 82株는 *Shigella dysenteriae*가 60株(73.2%)로 가장 많았으며 *S flexneri*가 20株(24.4%), *S sonnei*가 2株(2.4%)였고, *S boydii*는 分離되지 않았다. 養豚場別 serogroup의 分布狀況을 보면 A,B,C,D 養豚場에서 分離된 *Shigella* 屬菌은 *S dysen-*

**Table 4.** Drug resistance patterns and transferable drug resistance of 82 *Shigella* Strains isolated from pigs

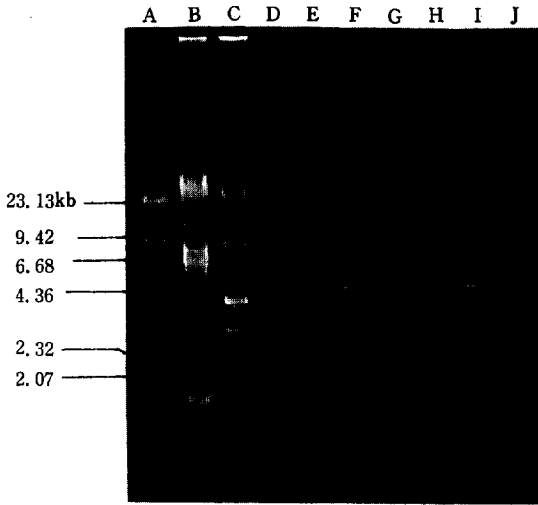
Resistant to drugs of	Resistance patterns	No. of strains	No. of strains with transferable resistance	Resistance pattern transferred	Fi*
5	Am Cm Km Sm Su	2	2	Sm Tc	—
	Am Cm Sm Su Tc	2	2	Am Cm Sm Su Tc	+
	Am Rf Sm Su Tc	2	—	—	—
	Na Rf Sm Su Tc	2	—	—	—
4	Am Sm Su Tc	8	2	Sm Tc	+
	Rf Sm Su Tc	2	—	—	—
3	Cm Sm Su	2	—	—	—
	Km Sm Su	2	—	—	—
	Sm Su Tc	28	4	Sm Tc	—
				2	Sm Tc
			6	Sm	—
			6	Sm	+
2	Am Su	2	—	—	—
	Sm Tc	2	2	Sm	+
	Su Tc	2	—	—	—
1	Su	18	—	—	—
	Tc	4	—	—	—
Total	14	78(95.1%)	26(33.3%)	6	

Abbreviations: See Table 3. \* Fi: Fertility inhibition.

*teriae*와 *S flexneri*였으며 *S sonnei* 2株는 D養豚場에서만 인정되었고 E養豚場에서는 *S dysenteriae*만 분포하고 있었다.

한편 分離된 82株의 同定을 위하여 生化學的 및 血清學的 檢査를 실시한 結果는 Table 2와 같이 *Shigella* 菌의 특징인 hydrogen sulfide, motility, Voges-pros-

kauer, urease, malonate, lysine decarboxylase 등에 모두 음성이었고, group의 分類에서는 lactose 분해능을 가진 D group을 제외하고는 A와 B group은 음성이며, manitol은 A group만 음성인 반면 B와 D group은 양성이었다. 또한 生化學的으로 Genus *Shigella*를 分類한 후 國立保健院 *Shigella* A,B,C 및 D group 診



**Fig 1.** Agarose gel electrophoresis of plasmid DNAs from *Shigella* spp. isolated from pigs. Laees contain: A,  $\lambda$ /Hind III; B, S-1; C, S-2; D, S-3; E, S-4; F, S-5; G, S-6; H, S-7; I, S-8; J, S-9. Kb: Kilobase.

斷用 血清을 사용하여 이들 菌의 serogroup을 확인하였다.

分離된 *Shigella* 屬菌의 藥劑耐性 및 耐性傳達性試驗 結果는 Table 3과 같다. 耐性菌 出現頻度는 供試菌 82株 中 78株(95.1%)가 供試藥劑 1種 이상에 대하여 耐性을 나타내었고 이들 耐性菌 中 Su 耐性菌이 74株 (90.2%)로 가장 많았으며 Sm 52株(63.4%), Tc 52株

(63.4%), Am 16株(19.5%), Cm 6株(7.3%), Rf 6株(7.3%), Km 4株(4.9%) 및 Na 2株(2.4%) 순이었다.

한편 耐性傳達頻度는 Sm 耐性菌 52株 中 26株(50.0%), Cm 耐性菌 6株 中 2株 (33.3%), Tc耐性菌 52株 中 12株(23.1%)로 비교적 다른 藥劑에 비해 높았으나 대체로 耐性傳達率은 다른 腸內細菌에 비해 낮게 나타났다. 특히 Su의 경우 耐性菌 出現頻度는 높았으나 耐性傳達率은 낮게 나타났으며 Km, Rf 및 Na 耐性菌은 傳達性 R plasmid가 인정되지 않았다.

分離菌의 藥劑耐性樣相과 耐性傳達樣相을 조사한 結果는 Table 4와 같이 供試藥劑 1種 이상에 대하여 耐性을 나타내었던 82株의 耐性樣相은 모두 14유형이었으며 이 中 56株(71.8%)가 多劑耐性菌이었다. 多劑耐性菌 中 3劑耐性菌이 32株(57.1%)로 가장 많았으며 이 中 Sm SuTc 耐性樣相이 28株로 가장 많았다. 耐性菌 78株에 대하여 傳達性 R plasmid를 調査한 結果 26株(33.3%)가 耐性的 일부 또는 전부를 被傳達菌에 전달하였으며, 전달 후 SmTc, Sm 耐性樣相이 24株 (92.3%)로 대부분을 차지하고 있었다. 한편 單劑耐性菌 全株는 傳達되지 않았으며, 傳達 後 모든 菌株는 Sm 耐性 R plasmid를 보유하고 있었다.

R plasmid를 보유하고 있는 26株에 대하여 Fertility inhibition (Fi) 試驗을 실시한 結果 14株(53.8%)가 Fi<sup>+</sup>였으며 12株(46.2%)가 Fi<sup>-</sup>였다.

Plasmid 보유상태를 調査하기 위하여 이미 serogroup이 확인된 菌株 中 *S dysenteriae* 7株, *S flexneri* 1株 및 *S sonnei* 1株에 대하여 電氣泳動 結果 나타난

**Table 5.** Plasmid and drug resistance patterns of *Shigella* spp. isolated from pig

Strains	Drug resistance	Fi*	Group	No. of plasmids	Size of plasmids (Kb)
S-1	Tc Sm Su	—	D	9	87.62, 55.44, 23.10, 15.40, 6.62, 6.16, 3.39, 2.46, 2.17
S-2	Tc Sm Su	—	B	8	63.75, 15.40, 10.78, 6.16, 5.69, 5.24, 3.85, 3.69
S-3	Tc Su	+	A	2	15.40, 5.54
S-4	Sm Su	+	A	2	15.40, 5.54
S-5	Tc Sm Su	+	A	2	15.40, 5.54
S-6	Tc Sm	—	A	2	15.40, 5.54
S-7	Sm Su	+	A	4	38.50, 23.10, 15.40, 5.54
S-8	Tc Sm Su	+	A	4	38.50, 23.10, 15.40, 5.54
S-9	Tc Sm Su	—	A	4	38.50, 23.10, 15.40, 5.54

Abbreviations: See Table 3.  
Kb: Kilobase.  
Fi: Fertility inhibition.

plasmid 수와 크기는 Table 5와 같다. 供試 9菌株에서 나타난 plasmid의 크기는 2.17~87.62 Kb이었으며, plasmid 수는 2~9개로 다양하게 나타났다(Figure 1). 菌株別로는 *S sonnei*인 S-1 菌株에서는 9개의 plasmid (약 87.62, 55.44, 23.10, 15.40, 6.62, 6.16, 3.39, 2.46, 2.17 Kb), *S flexneri*인 S-2 菌株에서는 8개의 plasmid(약 63.75, 15.40, 10.78, 6.16, 5.69, 5.24, 3.85, 3.69 Kb), *S dysenteriae*인 S-3, S-4, S-5 및 S-6 菌株에서는 2개의 plasmid(약 15.40, 5.54 Kb), S-7, S-8 및 S-9 菌株에서는 4개의 plasmid(38.50, 23.10, 15.40, 5.54 Kb)를 보유하고 있었다. 한편 *S flexneri*와 *S sonnei*는 *S dysenteriae*에 비해 많은 plasmid를 보유하고 있었으며, 15.40 Kb인 plasmid가 全株에서 공통적으로 존재하고 있었다. 또한 S-7, S-8 및 S-9 菌株에서는 동일한 *S dysenteriae*인 S-3, S-4, S-5 및 S-6 菌株에서 가지고 있지 않은 2개의 plasmid(약 38.50, 23.10 Kb)를 더 보유하고 있었다. 동일 養豚場 由來株(S-1과 S-3, S-2와 S-7)이나 serogroup의 차이에 따라 보유 plasmid의 차이가 인정되고 있다.

## 考 察

*Shigella* 屬菌의 serogroup 分布는 分離되는 지역과 年度에 따라 현저한 차이를 볼 수 있으며, 歐美지역 및 日本에서 分離되는 *Shigella* 屬菌은 대부분 *S sonnei*인 것으로 報告되고 있다.<sup>13,14</sup> 우리나라 動物에서는 *Shigella* 菌에 대한 報告가 거의 없는 실정이며, 人에서 初과 全<sup>2</sup>은 91株의 *Shigella* 菌中 *S flexneri*가 45株, *S sonnei*가 37株로 대부분을 차지하고 있으며, 鄭 등<sup>15</sup>은 468株中 338株가 *S flexneri*, 柳와 金<sup>16</sup>은 88株中 77株가 *S flexneri*, 11株가 *S sonnei*인 것으로 報告되고 있어 우리나라 人에서 分離되는 *Shigella* 屬菌은 대부분 *S flexneri*인 것으로 나타나고 있다. 또한 諸 外國에서 많이 分離되는 *S sonnei*가 우리나라에서도 매년 增加하는 경향이다.<sup>15,16</sup> 이 試驗에서는 *S dysenteriae*가 60株(75.0%)로 가장 많으며 *S flexneri*가 20株(24.4%)로 나타나고 있어 人에서의 serogroup 分布와는 차이가 인정되고 있다. 이러한 차이는 分離株의 由來에 따른 차이로 생각되나 우리나라 人에서 많이 分離되는 *S flexneri*가 24.4% 분리되고 있어 이들 菌이 人에서의 感染源으로서 주목되어 진다. 앞으로 動物에서 serogroup 추이를 調査함으로써 人 및 動物間의 疫學調査에 많은 도움이 되리라 생각된다.

한편 養豚場別 serogroup의 分布에 있어서 *S dysenteriae*는 5개 養豚場 모두에서 分布하고 있었으며, *S*

*flexneri* 4는 개 養豚場에서 분포하고 있어서 우리나라 養豚場에 *S dysenteriae*와 *S flexneri*가 가장 많이 汚染되어 있는 것으로 나타났다. 또한 D 養豚場에서 *S sonnei*, E 養豚場에서 *S dysenteriae*만이 나타나고 있어 養豚場에 따른 serogroup의 차이가 인정되고 있다.

*Shigella* 屬菌의 藥劑耐성에 관하여 Tanaka 등<sup>14</sup>은 2,688株中 93.4%가 TcSmSuCm에 높은 耐성을, Meyer와 Lerman<sup>18</sup>은 分離株의 88%가 耐性菌이었음을 報告하였으며 우리나라에서 鄭 등<sup>15</sup>은 CmSmSuTp에 높은 耐성을 나타낸다고 報告하고 있다. 이상의 여러 報告에서와 같이 *Shigella* 屬菌은 多劑耐性이고 특히 CmTcSmSu 등에 耐性인 것이 많으며 근년에는 Am 등에 耐性인 菌이 增加하고 있음을 報告<sup>20</sup>하고 있다. 이 實驗에서도 SmSuTc에 높은 耐성을 나타내고 있어 상기 先人들의 報告와 유사하며 先人들이 Cm에 대하여 높은 耐성을 나타낸다고 報告하고 있으나 이 實驗에서 7.3%로 낮게 나타나고 있다. 이는 前者가 動物에서 보다 Cm을 비교적 많이 사용하는 人 由來株에 따른 차이로 사료된다. 한편 近年에 耐성이 增加하고 있는 Am에 대하여 약 20%의 菌이 耐성을 나타내고 있어 앞으로 Am에 대한 耐性菌이 增加할 가능성이 인정되고 있다. 또한 Na와 Rf에 耐性인 菌이 나타나고 있어 다른 腸內細菌에 비해 *Shigella* 菌이 Na와 Rf에 耐성이 많이 나타나고 있다는 先人들의 報告<sup>5,20</sup>와 이 實驗의 成績과는 유사하였다.

藥劑 耐性類型에 대하여 全 등<sup>6</sup>은 CmTcSmSuAmTp 耐性類型이 445株中 271株로 가장 많으며 다음이 CmTcSmSuTp 순이고, 薛<sup>18</sup>은 282株中 CmTcSmSuAmTs 耐性類型이 162株로 가장 많으며 다음이 CmTcSmSu 耐性類型이 58株였다고 報告하고 있다.

이상에서와 같이 人 由來 *Shigella* 菌에서는 CmTcSmSu가 함유된 5劑 이상의 耐性類型이 가장 많은 것으로 나타나고 있다. 이 實驗에서는 SmSuTc 耐性類型이 28株로 가장 많아 상기 先人들의 報告와 다소 차이가 있으며 耐性類型에서도 비교적 단순한 경향을 나타내고 있다.

R plasmid 保有率에 대하여 薛 등<sup>21</sup>은 75.3%, 全 등<sup>6</sup>은 73%, 홍과 이<sup>22</sup>는 68%, Tanaka 등<sup>17</sup>은 58%로 報告하고 있다. 이 實驗에서는 耐性菌 78株中 26株(33.3%)가 R plasmid를 保有하고 있어 上記 先人들의 成績보다 낮게 나타났다. 이는 分離株의 由來에 따른 차이인지 아니면 *Shigella* 菌의 耐性 傳達時 供與菌의 colicin 산생과 被傳達菌의 colicin에 대한 感受性 차이에 의한 것인지 앞으로 이에 관한 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

Fertility inhibition (Fi)에 대하여 Yoshikawa 등<sup>23</sup>은 124개의 *Shigella* R plasmid 中 98.4%가 Fi<sup>+</sup>라고 報告하고 있으며 기타 다른 腸內細菌인 *Salmonella* 屬菌에서는 대부분 Fi<sup>-</sup>(96.1~100%)이며 *E. coli*에서는 Fi<sup>+</sup>가 다소 많은 것으로 報告<sup>24,25,26</sup>되고 있다. 이 實驗에서는 53.8%가 Fi<sup>+</sup>로 Yoshikawa 등<sup>23</sup>의 成績보다는 낮았으나 *E. coli*의 成績과 유사하였다.

Tacket 등<sup>27</sup>과 Jamieson 등<sup>28</sup>은 *Shigella* 菌에서는 2~10개 까지의 plasmid를 보유하고 있으며, Jamieson 등<sup>28</sup>은 *Shigella* 菌에서 분자량이 1~70 Megadalton의 비교적 적은 plasmid가 대부분이라 하였고, Sansonetti 등<sup>29</sup>은 virulent형 *Shigella* 菌에서 120 Md 크기의 큰 plasmid를 보유하고 있다고 報告한 바 있다. 우리나라에서 徐 등<sup>5</sup>은 사람 由來 *Shigella* 菌에서 분자량이 2~134 Md, plasmid 수는 2~5개 였으며 61~64 Md의 conjugal R plasmid를 보유하고 있다고 報告한 바 있다. 이 實驗에서는 분자량이 2.17~87.62 Kb인 plasmid가 인정되고 있어 이는 Jamieson 등<sup>28</sup>의 成績과 유사하였고 Sansonetti 등<sup>29</sup>과 徐 등<sup>5</sup>이 報告한 120 Md 크기의 plasmid는 인정되지 않았으나 *S sonnei* 菌株의 87.62 및 55.44 Kb, *S flexneri* 菌株의 63.75 Kb, *S dysenteriae* 菌株의 38.50 Kb의 plasmid들은 병원성과 관련성이 있을 것으로 추측되며, plasmid 수는 2~9개로 Tacket 등<sup>27</sup>과 Jamieson 등<sup>28</sup>의 成績과 유사하였으나 徐 등<sup>5</sup>의 成績보다는 많았다. 특히 사람의 感染症에서 많이 分離되고 있는 *S flexneri* 및 *S sonnei*가 *S dysenteriae*에 의하여 plasmid 수가 많이 인정되고 있음은 주목되어진다. 한편 이 實驗에서 나타난 각각의 plasmid가 어떤 특성과 관련된 plasmid인지는 알 수 없으나 15.40 Kb plasmid는 *S dysenteriae*, *S flexneri* *S sonnei* 모두에서 인정되어지고 있고 *S dysenteriae*에서는 5.54 Kb plasmid가 공통으로 인정되고 있어 이들이 genus-specific 또는 type-specific한 plasmid로 추측되지만 앞으로 제한효소로 分析하는 등 이에 관한 더 많은 研究가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

## 結 論

1987年 8월부터 大邱 및 慶北지역의 5個 養豚場을 대상으로, *Shigella* 屬菌의 分布狀況, 分離菌의 serogrouping, 藥劑耐性 및 耐性菌 R plasmid의 fertility inhibition (Fi) 그리고 agarose gel electrophoresis에 의한 plasmid DNA 分析 등을 실시하였던 바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 총 2,978頭 中 82頭(2.8%)에서 82株의 *Shigella* 屬菌이 分離되었으며, 이들의 菌種은 *S dysenteriae*가

60株(73.2%), *S flexneri* 20株(24.4%), *S sonnei*가 2株(2.4%)였다.

2. ampicillin (Am), chloramphenicol (Cm), kanamycin (Km), nalidixic acid (Na), rifampicin (Rf), streptomycin (Sm), sulfadimethoxine (Su) 및 tetracycline (Tc)에 대한 耐性菌은 供試菌 82株 中 78株(95.1%)가 耐性을 나타내었으며, 藥劑別로는 Su(90.2%), Sm(63.4%), Tc(63.4%)에 비교적 높은 耐性을 나타내었다.

3. 耐性菌 78株 中 26株(33.3%)가 傳達性 R plasmid를 보유하고 있었으며, 藥劑別로는 Sm(50.0%), Cm(33.3%)에서 비교적 保有率이 높았다.

4. 藥劑耐性類型은 SmSuTc 耐性型이 28株로 가장 많았고 Su耐性型이 18株, AmSmSuTc 耐性型이 8株 등 모두 14種의 類型을 나타내었다.

5. 26개의 R plasmid 中 14개(53.8%)의 R plasmid가 Fi<sup>+</sup>였다.

6. 9株 (*S dysenteriae*: 7株, *S flexneri*: 1株, *S sonnei*: 1株)의 plasmid 크기는 2.17~87.62 Kb이었으며 plasmid 수는 2~9개였고 약 15.40 Kb의 plasmid가 全 菌株에서 공통적으로 존재하고 있었다.

## 參 考 文 獻

1. 全燕基. 痢疾菌의 種類 및 우리나라에서의 發生頻度, 대한의학협회지 1970; 13:704~710.
2. 朴文在, 全燕基. 大邱地方의 *Salmonella* 및 *Shigella* 菌型의 年次의 推移. 慶北醫大雜誌 1977; 18: 200~204.
3. Chun DK, Cho DT, Seol SY et al. R plasmids conferring multiple drug resistance from *Shigella* isolated in Korea. *J Hyg Camb* 1984; 92:153~160.
4. 薛盛用. 1980년 대구지방에서 분리한 *Shigella*의 菌型 및 抵生劑耐性. 慶北醫大雜誌 1980; 21:11~13.
5. 徐民獲, 薛盛用, 趙東澤 등 *Shigella* R plasmid의 특성과 抵生劑耐性의 本態. 대한화학요법학회지 1984; 2:97~114.
6. 朴景문, 권경만, 정운익 등. 한우의 송아지 설사에 관한 병인학적 조사연구. 농사시험연구보고(가축위생편) 1974; 16:23~28.
7. Edwards PR, Ewing W.H. *Identification of Enterobacteriaceae*. 3rd ed. Minneapolis: Burgess Publishing Co, 1972; 68~70.
8. Steers E, Foltz EL, Gravies BS. An inocula

- replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotic. *Antibiot Chemother* 1959; 9:307~311.
9. MacLowry JD, Jaqua MJ, Selepak ST. Detailed methodology and implementation of a semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing *Appl Microbiol* 1970; 20:46~53.
  10. Sato G, Kodama H, Terakado N. Detection of an R factor showing temperature-sensitive transfer in *Salmonella typhimurium* isolated from calves. *Antimicrob Ag Chemother* 1974; 5:541~543.
  11. Ishiguro N, Goto J, Sato G. Genetical relationship between R plasmids derived from *Salmonella* and *E. coli* obtained from a pig farm and its epidemiological significance. *J Hyg* 1980; 84:365~379.
  12. Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J. Molecular Cloning. 1st ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982; 86~94.
  13. Reller LB, Gangarosa EJ, Brachman PS. Shigellosis in the United States, five-year review of nation-wide Surveillances. *Am Epidemiol* 1970; 91:161~169.
  14. Ikeda A. Types and sensitivity of bacterial enteropathogens isolated in neighboring countries of Japan. *Trop Med* 1969; 11:91~106.
  15. 경윤섭, 송경순, 이귀녕 등. 최근 5년간 분리된 enteropathogenic bacteria. *대한미생물학회지* 1979; 14:17~25.
  16. 柳榮海, 金舜姬. 1972년 韓國에서 分離된 痢疾菌에 관한 報告. *大韓微生物學會誌* 1973; 8:7~11.
  17. Tanaka T, Tsunoda M, Mitsuhashi S. Distribution of R factors among *Shigella* Strains isolated in Japan. *Jpn J Microbiol* 1973; 17:291~295.
  18. Meyer PW, Lerman SJ. Rise and fall of *Shigella* antibiotic resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1980; 17:101~102.
  19. 薛盛用. *Salmonella* 및 *Shigella*의 菌型 및 抗菌劑耐性の 推移. *慶北醫大雜誌* 1980; 21:245~249.
  20. 김지연, 이연태. *Shigella* 군속의 항균제 내성 및 전달성 R plasmid에 관한 연구. *대한미생물학회지* 1984; 8:7~11.
  21. 薛盛用, 徐民獲, 李裕澈. 大邱地方에서 分離한 *Shigella*의 抗菌劑耐性 및 R plasmid. *대한화학요법학회지* 1983; 1:249~254.
  22. 홍성노, 이연태. *Shigella* 군속의 항균제내성, 전달성 R plasmid 및 제거에 관한 연구. *대한미생물학회지* 1986; 21:33~45.
  23. Yoshikawa M, Nagashimas, Matsushima S. Genetical distinction of R factors derived from *Shigellae* and *Salmonellae*. *Jpn J Microbiol* 1971; 15:425~436.
  24. Ishiguro N, Markino S, Sato G et al. Antibiotic resistance and genetic properties of R plasmids in *Salmonella* isolates of swine origin in Japan. *Am J Vet Res* 1980; 41:46~50.
  25. Ishiguro N, Sato G, Ichijos et al. Incompatibility of R plasmids derived from *Salmonella* and *Escherichia coli* strains isolated simultaneously from a bovine fecal sample. *Am J Vet Res* 1980; 41:1982~1986.
  26. Sato G, Terakado N. R factors types found in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia Coli* isolated from calves in a confined environment. *Am J Vet Res* 1977; 38:743~747.
  27. Tacket CD, Cohen ML. Usefulness of plasmid profiles for differentiation of *Shigella* isolates in Bangladesh. *J Clin Microbiol* 1984; 20:300~301.
  28. Jamieson AF, Lane HED. Characterization of plasmids from antibiotic resistant *Shigella* isolates by agarose gel electrophoresis. *J Gen Microbiol* 1979; 113:73~81.
  29. Sansonetti PJ, Formal SB. *Shigella sonnei* plasmids: evidence that a plasmid is necessary for virulence. *Infect Immun* 1981; 34:75~83.