

牛, 豚에서 分離한 *Salmonella* 由來 R plasmid의 遺傳學的 및 分子生物學的 性狀에 관한 研究

II. R plasmid의 非適合性 및 plasmid profile

崔源弼·李熙碩·呂相建*·李憲俊**·鄭錫贊***

慶北大學校 獸醫科大學, 慶尙大學校 獸醫科大學*

忠南大學校 農科大學 獸醫學科**, 農村振興廳 家畜衛生研究所***

(1989. 1. 20 접수)

Genetic properties of R plasmids in *Salmonella* isolates of swine and bovine origin in Korea

II. Incompatibility and profile of R plasmid

Won-pil Choi, Hi-suk Lee, San-geon Yeo,* Hun-jun Lee,** Suk-chan Jung***

College of Veterinary medicine, Kyungpook National University

College of Veterinary medicine, Gyeongsang National University*

Department of Veterinary medicine, College of Agriculture, Chungnam National University**

Veterinary Research Institute, Rural Development Administration***

(Received Jan 20, 1989)

Abstract: This paper deals with the genetic properties of R plasmids in *Salmonella* originated from pigs and cattle. The plasmid DNA was examined for incompatibility, stability and fertility inhibition(Fi), and gel electrophoresis was performed for isolation of plasmid DNA.

The results obtained were summerized as follows:

1. Among the 66 conjugative R plasmids from 44 pigs and 22 cattle, 61 R plasmids (92.4%) were Fi⁻, whereas the remainder were Fi⁺.

2. The Inc groups of 66 R plasmids were determined with 7 standard plasmids. Twenty-six R plasmids were classified into Inc group I α , H1, H2 or F1, 40 R plasmids being not classified with standard plasmids used, and the Inc group I α (57.7%) was most frequent.

3. Inc groups I α , H1, and F1 were identified in strains from swine, Inc groups H2 and F1 from cattle.

4. The plasmid DNA profiles in 16 *Salmonella* isolated from pigs and cattle were confirmed as being 1 to 10 fragments by the gel electrophoresis. Their molecular weight ranged 1.0 to 90 megadalton.

5. The molecular weight of conjugative plasmids ranged 1.0 to 80 megadalton in 4 *Salmonella* (P-4, P-5, P-7 and P-8) isolated from pigs.

Key words: *Salmonella*, R plasmid, incompatibility, fertility inhibition, plasmid profile.

이 研究는 한국과학재단 연구비(861-1505-004-2)에 의하여 수행되었음.

緒 論

動物에서 抗菌劑의 濫用은 藥劑耐性菌의 出現을 야기시킴으로서 感染症의 治療에 심각한 問題로 대두되고 있으며 이들 대부분의 耐性菌은 染色體外 遺傳物質인 R plasmid가 支配하고 있는 것으로 알려져 있다.¹⁻⁶

R plasmid는 自然界에서 細菌들 사이에 傳達되고 있으며, 사람 또는 動物間에 이들 耐性菌이 傳播되고 農場, 屠畜場, 食肉店등 유통과정에서도 傳播되고 있어서 公衆保健學의 重要視되고 있다.^{7,8}

지금까지 腸內細菌 由來의 R plasmid는 25餘種의 非適合性群으로 分類되고 있으며^{2,9,10}, 이러한 R plasmid의 分類, 檢出 및 性狀檢査는 感染症에 대한 疫學의 研究에 重要한 수단으로 이용되고 있다.^{3,8,11}

우리나라에 있어서 *Salmonella*屬菌 由來 R plasmid의 檢出에 관하여는 中岡等¹²에 의하여 닭에서 *S. infantis*, 돼지에서 *S. derby*와 *S. weslaco* 및 사료에서 *S. typhimurium* var *copenhagen* 由來 plasmid를 檢出した 報告에 지나지 않아 動物에서 分離한 이들 菌 由來 plasmid profile의 實態 把握이 要求되고 있다.

따라서 이 實驗에서는 소 및 돼지에서 分離한 *Salmonella*屬菌 由來 R plasmid의 非適合性, fertility inhibition 및 電氣泳動法에 의한 plasmid DNA의 profile과 性狀을 밝힘으로서 이들 感染症의 豫防 및 治療를 위한 疫學의 研究와 遺傳工學의 기초자료에 기여코자 한다.

材料 및 方法

供試菌株 : 本 實驗에 사용한 菌株는 1984년부터 1986년까지 大邱, 慶北 및 慶南지역의 소 및 돼지로 부터 分離된 *Salmonella*菌株 中 66株를 사용하였으며, 이들의 血清型, 藥劑耐性 및 耐性傳達樣相은 崔等¹³⁻¹⁵에 의해 이미 報告된 바 있다.

標準 R plasmid : 本 實驗에 供試한 標準 R plasmid는 日本 Obihiro 農科獸醫科大學의 Sato 교수로부터 분양 받은 것으로 Table 1과 같다.

Fertility-inhibition試驗 : Fertility-inhibition(Fi)試驗은 Ishiguro等¹⁶의 方法에 따라 f₂ phage를 사용하여 surface spot 方法으로 檢査하였다. 소 및 돼지 由來 *Salmonella*菌 中 66株의 plasmid를 *E. coli* K-12 由來株인 SG1에 전달시킨 transconjugant를 L agar上에 塗抹후 f₂ phage액을 spot하여 37°C, 5~6시간 培養한 다음 lytic zone이 形成 되는 것을 Fi⁻, 形成되지 않는 것을 Fi⁺로 判定하였다.

非適合性 實驗 : Datta等¹⁰의 方法에 準하여 *Salmon-*

Table 1. Bacteria and plasmids used

Bacteria strain or Plasmid	Relevant genetic markers*
<i>E. coli</i> K-12	
ML1410	F ⁻ , met req, nal ^r
SG1	Rifampin-resistant mutant of Hfr W1895
Plasmid	
R40a (C)**	Km Su
R386 (FI)	Tc
R124 (FIV)	Tc
R27 (H1)	Tc
R478 (H2)	Cm Km Tc
R144 (Iα)	Km
R621a (Ir)	Tc

* Abbreviations: met, methionine; nal, nalidixic acid; Am, ampicillin; Km, kanamycin; Su, sulfadimethoxine; Tc, tetracycline; Cm, chloramphenicol; req, required; r, resistant.

** Incompatibility group

*ella*菌의 각 R plasmid를 nalidixic acid(Na) 또는 rifampin(Rf)에 耐性인 *E. coli*에 傳達시켜 實驗하였다. 供試 R plasmid를 標準 R plasmid 保有 被傳達菌과 混合培養한 다음 供試 R plasmid를 가진 *E. coli*만이 耐性을 가지고 있는 藥劑와 被傳達菌 *E. coli*가 耐性을 가지고 있는 Na 또는 Rf를 添加한 選擇培地에 塗抹培養하여, 나타나는 transconjugant 20個씩을 취하여 純培養후 새로 획득된 plasmid와 원래 存在하던 plasmid의 存在有無를 兩 plasmid의 相異한 耐性 marker를 確認하여 다음과 같이 判定하였다. 원래 存在하던 plasmid가 檢査한 모든 transconjugant에서 除去되었을 경우에는 이를 역으로 反復實驗하여 같은 結果일때 非適合性으로 判定하였다. 원래 存在하던 plasmid가 一部에서는 除去되나 一部에서는 殘存할 경우, 兩 plasmid를 保有하는 transconjugant는 安定性 試驗 即 trypticase soy broth에 繼代培養 後 MacConkey 平板培地에 塗抹培養하여 나타나는 20個의 集落을 취하여 各 plasmid의 耐性이 殘存하는가를 보았다. 계속 殘存時 이를 供與菌으로 하여 다른 被傳達菌에 傳達시켜 이들 兩 plasmid가 각각 傳達될 때는 適合性으로 判定하였고, 兩 plasmid가 安定된 共存을 하지 않거나 各 傳達되지 않을때 이를 非適合性으로 判定하였다.

Plasmid DNA 分離 : plasmid DNA 保有狀態를 調査하기 위하여 Maniatis等¹⁷의 alkaline lysis 方法으로 plasmid를 分離하였다. 各 菌株를 Luria-Bertani broth

5ml로 37°C, 1夜 振盪培養하여 15,000 rpm으로 5分間 遠心 分離한 後 沈澱된 菌體를 GET solution (50 mM glucose, 10 mM EDTA, 25 mM Tris-Cl, pH8.0) 100 μ l 에 浮遊하고 lysing solution (0.2 N NaOH 1% SDS) 200 μ l와 potassium acetate solution (5M potassium acetate 60 ml, glacial acetic acid 11.5 ml, H₂O 28.5 ml, pH4.8) 150 μ l를 加하여 얼음에 5分間 방치하였다. 이것을 遠心分離하여 同量의 phenol/chloroform을 加한 後 遠心分離하고 2倍 用量的 ethanol을 加하여 plasmid DNA를 遠心沈澱 後 電氣泳動 材料로 사용하였다.

Agarose gel 電氣泳動: 分離된 plasmid DNA의 電氣泳動은 0.7% agarose gel에서 100 V, 3時間 전개하였다. 전개가 끝난 gel은 ethidium bromide (0.5 μ g/ml) 로 染色하여 UV조사 하에 plasmid DNA를 확인하였고, 사진촬영은 polaroid type 667 film을 사용하였다. 分子 量은 *E coli* V 517을 marker로 이용하여 測定하였다.

結 果

R plasmid를 保有하고 있는 돼지 由來 44株와 소 由來 22株의 *Salmonella* 菌에 대한 fertility inhibition (FI)

및 非適合性 試驗을 實施한 結果는 Table 2와 같다.

供試 66個의 R plasmid中 61個 (92.4%)가 Fi⁻였으며, 5個 (7.6%)가 Fi⁺였다. 動物別로는 돼지 由來 44個의 R plasmid中 41個 (93.2%)가 Fi⁻였고 3個 (6.8%)가 Fi⁺였으며, 소 由來 22個의 R plasmid中 20個 (90.9%)가 Fi⁻였으며 2個 (9.1%)가 Fi⁺였다.

한편 供試 *Salmonella* 菌 66株의 R plasmid에 대한 非適合性群 分類에서는 26個의 R plasmid가 Ia, H1, H2 및 FI의 4種 非適合性群으로 分類되었으며, 이 中 돼지 由來에서 Ia, H1 및 FI, 소 由來에서 H2 및 FI 非適合性群이 확인되었다. 확인된 非適合性群 中 Ia群이 15株 (57.7%)로 가장 많았으며 FI群 6株 (23.0%), H1群 3株 (11.5%) 및 H2群 2株 (7.7%)이었다.

5個 養豚場, 1個 屠畜場 및 3個 乳牛牧場別 分離된 *Salmonella* 菌의 R plasmid 非適合性群 分布狀況은 Table 3과 같다. 養豚場에서의 非適合性群은 A養豚場 Ia, H1 및 FI, B養豚場 Ia 및 H1, C屠畜場 Ia 및 FI, D養豚場 Ia, E養豚場 Ia 및 H1 그리고 F養豚場 FI群이 分布하고 있었고, 牧場에서의 非適合性群은 G牧場 H2 및 I牧場 FI群이 分布하고 있었다.

非適合性群이 확인된 돼지 由來의 *Salmonella* 菌株

Table 2. Typing of plasmids derived from *Salmonella* isolated from pig and cattle

Source	Serovar	Resistance patterns	Character of plasmid		
			Resistance patterns	Fi*	Inc**
Pig	<i>S derby</i>	Tc Sm Su(9)	Tc Sm(3)	—	Ia
			Tc Sm(2)	—	FI
			Sm(4)	—	UT***
		Sm Su(3)	Sm(2)	—	Ia
			Sm(1)	—	FI
	<i>S infantis</i>	Am Cm Tc Sm Su	Am Cm Tc Sm	—	UT
			Tc Sm	+	UT
			Sm(2)	—	FI
	<i>S bredeney</i>	Tc Sm Su(2)	Sm(1)	—	UT
			Sm(1)	—	UT
Sm(1)			—	FI	
Sm Su(2)		Sm(1)	—	UT	
		Sm(1)	—	UT	
<i>S enteritidis</i>	Am Cm Tc Sm Su	Am Cm Tc Sm	—	Ia	
		Sm	—	UT	
<i>S pullorum</i>	Tc Sm Su(2)	Tc Sm Su(1)	—	HI	
		Tc Sm(1)	+	Ia	
<i>S bareilly</i>	Tc Sm Su	Sm	—	UT	
<i>S paratyphi B</i>	Sm Su	Sm	—	UT	
<i>S senftenberg</i>	Tc Sm Su	Sm	—	UT	
<i>S typhimurium</i>	Am Cm Km Tc Sm Su	Am Tc Sm Su	—	Ia	

Cattle	C1 group	Am Tc Sm Su	Am Tc Sm Su	—	UT	
		Cm Tc Sm Su	Tc Sm	+	HI	
		Am Tc Su	Am Tc Su	—	UT	
		Sm Su	Sm	—	UT	
		C2 group	Tc Sm Su	Sm	—	I α
			D group	Tc Sm Su	Tc Sm Su	—
	E group	Am Tc Sm Su		Am Sm	—	I α
	Untypable	Am Tc Sm Su	Am Tc Sm	—	UT***	
		Tc Sm Su(6)	Tc Sm(2)	—	I α	
			Tc Sm(1)	—	HI	
			Tc Sm(2)	—	UT	
			Sm(1)	—	UT	
			Sm	—	I α	
	Cattle	<i>S derby</i>	Sm(5)	Sm(4)	—	UT
				Sm(1)	—	H2
			<i>S bareilly</i>	Sm Tc	Sm	+
		Sm Ce		Sm Ce	—	UT
		<i>S typhimurium</i>	Sm(2)	Sm(2)	—	UT
		<i>S infantis</i>	Sm	Sm	—	UT
		<i>S montevideo</i>	Am Cm Tc Sm	Sm	—	UT
		C1 group	Sm	Sm	+	UT
Ce			Ce	—	UT	
E group		Sm	Sm	—	H2	
		Ce(2)	Ce(2)	—	UT	
Untypable		Sm Tc	Sm	—	UT	
		Sm Ce	Sm Ce	—	UT	
		Sm(2)	Sm(2)	—	UT	
		Ce(2)	Ce(2)	—	UT	

Abbreviations: Tc, tetracycline; Sm, streptomycin Ce, cephalothin; Am, ampicillin Cm, chloramphenicol; Su, sulfadimethoxine Km, kanamycin *Fi: Fertility inhibition. **Inc: Incompatibility group. ***UT: Untypable. Figures in parentheses are number of strains obtained.

Table 3. Incompatibility group distribution of R plasmids detected in pig and cattle farms

Source	Farms	Fi*	Incompatibility group					Total
			I α	H1	H2	FI	UT	
Pig	A	13***	3	1		2	8	14
	B	4	2	1			2	5
	C	11	4			2	5	11
	D	5	2				3	5
	E	6	4		1		2	7
	F	2				1	1	2
Cattle	G	13			2		12	14
	H	5					5	5
	I	2				1	2	3
Total		61	15	3	2	6	40	66
(%)		(92.4)	(22.7)	(4.5)	(3.0)	(9.0)	(60.6)	(100)

A, B, E, F, G, H, I: the farm in Kyeongbuk. C: slaughter house in Taegu. D: the farm in Kyeongnam.
*: Fi: no fertility inhibition. **: UT: untypable. ***: number of strains.

Table 4. Plasmids and drug resistance patterns in *Salmonella* isolated from pigs

Strains No	Serovar	Resistance patterns	Transferred drug resistance	Inc	No of plasmids	Molecular weight of plasmids (megadalton)
P-1	<i>S derby</i>	Sm Su	Sm	FI	6	15, 4.0, 3.7, 3.4, 2.3, 2.0
P-2	<i>S derby</i>	Sm Su	Sm	FI	7	50, 15, 4.0, 3.7, 3.4, 2.3, 2.0
P-3	Untypable	Tc Sm Su	Tc Sm	I α	10	75, 70, 32, 30, 25, 15, 12, 4.0, 2.4, 1.4
P-4	C1 group	Tc Sm Su	Sm Su	H1	8	80*, 15, 5.0, 4.0, 3.8, 3.2, 3.0, 1.9
P-5	<i>S pullorum</i>	Tc Sm Su	Sm Su	H1	7	80, 37, 36, 25*, 10*, 2.5*, 1.6*
P-6	<i>S derby</i>	Tc Sm	Tc Sm	FI	7	50, 15, 4.0, 3.7, 3.4, 2.3, 2.0
P-7	D group	Tc Sm Su	Sm Su	I α	10	36*, 15*, 5.0, 4.5, 4.0*, 3.2, 3.0, 2.0*, 1.5*, 1.0*
P-8	Untypable	Tc Sm Su	Tc Sm	I α	10	75*, 70, 32, 30, 25, 15, 12, 4.0*, 2.4*, 1.4

Abbreviations: see Table 2. Inc: incompatibility group *: size of conjugative transferred R plasmid

중 I α 3株, FI 3株 및 H1 2株의 plasmid DNA 保有 樣相은 Table 4와 같이 plasmid數는 6~10個였고 分子 量은 약 1.0~80 megadalton(Md)으로 다양하게 나타 났다.

非適合性群別로 보면 FI群의 *S derby*인 P-1, P-2 및 P-6 菌株는 약 15, 4.0, 3.7, 3.4, 2.3 및 2.0Md의 6個 plasmid를 공통적으로 保有하고 있었다. I α 群의 未同定 *Salmonella*菌인 P-3 및 P-8菌株는 plasmid 樣

相이 일치하였으며, 同一 非適合性群에 속하는 *Salmonella* D group인 P-7菌株와는 15 및 4.0Md의 公同 plasmid를 保有하고 있었다. H1群의 *Salmonella* C group인 P-4 및 *S pullorum*인 P-5菌株는 80Md의 plasmid를 공통적으로 保有하고 있음이 확인되었다 (Fig 1).

한편 plasmid 樣相이 확인된 I α 群 2株 및 H1群 2株

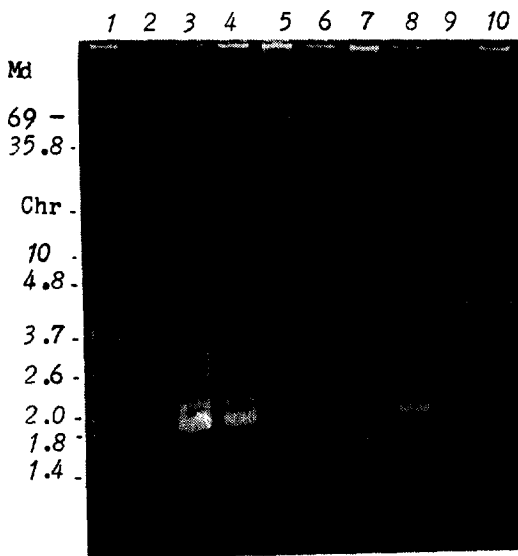


Fig 1. Agarose gel electrophoretic profiles of plasmid DNAs found in *Salmonella* spp isolated from pigs.

Lane: 1. *E coli* V517, 2. R16 plasmid, 3. *S derby* (P-1), 4. *S derby* (P-2), 5. untypable (P-3); 6. C1 group (P-4), 7. *S pullorum* (P-5), 8. *S derby* (P-6), 9. D group (P-7), 10. untypable (P-8)

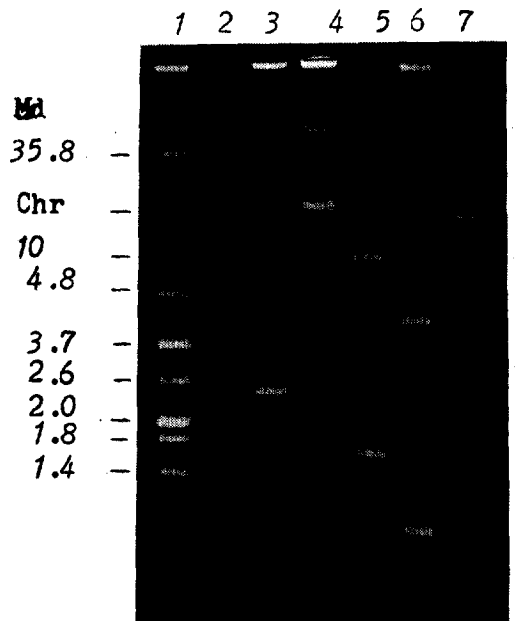


Fig 2. Agarose gel electrophoretic patterns of conjugative plasmid DNAs found in *Salmonella* spp isolated from pigs.

Lane: 1. *E coli* V517, 2. *E coli* ML1410, 3. transconjugant P-8, 4. transconjugant P-4, 5. transconjugant P-5, 6. transconjugant P-7, 7. λ DNA/Hind III

Table 5. Plasmids and drug resistance patterns in *Salmonella* isolated from cattle

Strains No	Serovar	Resistance patterns	Transferred drug resistance	Inc	No of plasmids	Molecular weight of plasmids (megadalton)
C-1	E group	Sm	Sm	H2	1	60
C-2	<i>S derby</i>	Sm	Sm	H2	5	4.0, 3.7, 3.4, 2.3, 2.0
C-3	<i>S derby</i>	Sm	Sm	UT*	2	10, 3.7
C-4	<i>S derby</i>	Ce Sm	Ce Sm	UT	2	10, 3.7
C-5	<i>S dublin</i>	Tc	Tc	UT	7	90, 4.8, 4.5, 4.0, 2.6, 2.5, 2.3
C-6	<i>S dublin</i>	Tc	Tc	UT	7	90, 4.8, 4.5, 4.0, 2.6, 2.5, 2.3
C-7	<i>S infantis</i>	Am Sm	Sm	UT	2	60, 40
C-8	Untypable	Am Cm Tc Sm	Tc Sm	UT	1	60

Abbreviations: see Table 2.

Inc: incompatibility group

*UT: untypable

를 各 各 被 傳 達 菌 *E coli* ML1410 菌 株 에 耐 性 傳 達 後 transconjugant 에 對 한 plasmid 保 有 狀 態 를 調 查 하 였 던 結 果 는 Fig 2 와 같 다. Ia 群 의 P-7 菌 株 는 10 個 plasmid 中 分 子 量 이 약 36, 15, 4.0, 2.0, 1.5 및 1.0Md 인 6 個 plasmid, P-8 菌 株 는 75, 4.0 및 2.4Md 인 3 個 plasmid, H1 群 의 P-4 菌 株 는 8 個 plasmid 中 80Md 인 1 個 plasmid, P-5 菌 株 는 7 個 plasmid 中 25, 10, 2.5 및 1.6Md 인 4 個 plasmid 등 傳 達 性 plasmid 가 인 證 되 었 다.

소 由 來 의 *Salmonella* 菌 株 中 *S derby* 3 株, *S dublin* 2 株, *S infantis* 1 株, E group 1 株 및 untypable 1 株 의 plasmid DNA 保 有 樣 相 은 Table 5 와 같 이 plasmid 數 는 1~7 個, 分 子 量 은 2.0~90Md 로 다 樣 하 였 다.

菌 株 別 로 보 면 E group 인 C-1 菌 株, *S infantis* 인 C-7 菌 株 및 untypable 인 C-8 菌 株 는 60Md 의 plasmid 를 公 同 性 으 로 保 有 하 고 있 었 다. *S derby* 인 C-2, C-3 및 C-4 菌 株 는 3.7Md 의 公 同 plasmid 를 가 지 고 있 었 고 *S dublin* 인 C-5 및 C-6 菌 株 는 plasmid 樣 相 이 同 一 하 였 다 (Fig 3).

考 察

서 로 關 係 가 있 는 두 種 類 의 plasmid 는 한 菌 體 內 에 서 安 定 된 共 存 을 할 수 없 으 며 대 개 몇 世 代 後 에 는 그 中 어 느 하 나 만 을 保 有 하 게 되 는 데 이 를 非 適 合 性 이 라 한 다.^{2,9,10} 아 지 까 지 非 適 合 性 의 精 確 한 기 礎 는 밝 혀 지 어 지 않 으 나 非 適 合 性 은 R plasmid 를 分 類 하 는 데 利 用 되 어 왔 고, 이 러 한 R plasmid 의 非 適 合 性 群 分 類 와 fertility inhibition (Fi) 試 驗 은 疫 學 的 見 地 에 서 重 要 한 意 義 을 가 지 고 있 다.^{9,16,19-21}

Salmonella 菌 의 Fi 型 別 에 있 어 서 Terakado 등²⁰ 은 돼 지 및 소 由 來 의 R plasmid 48 個 가 모 두 Fi⁻ 라 고 報 告 하 였 으 며, Ishiguro 등¹⁶ 은 돼 지 由 來 38 個 R plasmid 中 36 個 (94.7%) 가 Fi⁻ 라 고 報 告 한 바 있 다. 이 實 驗 에 서 도 돼 지 와 소 由 來 66 個 의 R plasmid 中 61 個 (92.4%) 가 Fi⁻ 였 고 5 個 (7.6%) 가 Fi⁺ 로 서 上 記 先 人 들 의 報 告 와 일 치 하 고 있 다.

諸 外 國 에 서 *Salmonella* 菌 의 非 適 合 性 群 에 關 한 試 驗 에 있 어 서 Benzanson 등²¹ 은 動 物 由 來 *Salmonella* 菌 의 대 부 분 이 Ia 群 이 라 고 報 告 하 였 고, Ishiguro 등¹⁶ 은 돼 지 由 來 의 38 個 R plasmid 中 36 個 (95%) 가 H1 群 이 라 고 報 告 하 였 으 며, Terakado 등²⁰ 은 소 由 來 34 個 R

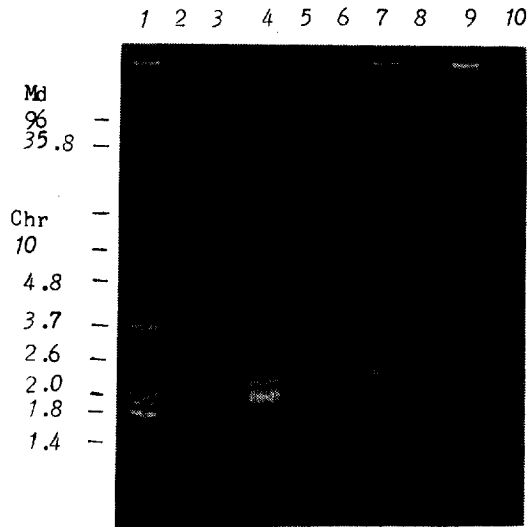


Fig 3. Agarose gel electrophoretic profiles of plasmid DNAs found in *Salmonella* spp isolated from cattle.

Lane: 1. *E coli* V517, 2. R 40a plasmid, 3. E group (C-1), 4. *S derby* (C-2), 5. *S derby* (C-3), 6. *S derby* (C-4), 7. *S dublin* (C-5), 8. *S dublin* (C-6), 9. *S infantis* (C-7), 10. untypable (C-8)

plasmid中 22個(64.7%)가 H1群이며 10個(26.4%)가 Ia群이라고 報告한 바 있다. 우리나라에서는 動物 由來 *Salmonella*菌의 非適合性群에 관한 報告는 없는 실정이며서 精確한 比較는 어려우며, 薛 등²²은 家畜 由來 大腸菌에서 FI, FII, FIV 및 N非適合性群을 報告한 바 있다.

이 實驗에서 확인된 非適合性群 中 Ia群이 15株(57.7%)로 가장 많아 上記 先人들의 報告와 일치하고 있으나 日本에서 인정되지 않은 소 由來의 FI群 6株(23.0%)가 分離되었으며, 諸 外國에서 많이 확인되는 H1群은 이 實驗에서 3株(11.5%)로 적게 나타난 것은 地域에 따른 R plasmid 由來의 차이에 기인된 것으로 생각된다.

한편 Ia, H1 및 H2群은 우리나라 動物에서 처음 확인된 非適合性群으로 思料되며, 앞으로 다양한 耐性 marker를 가진 標準 非適合性群과 Tc marker를 소실한 segregant를 확보함으로써 더 많은 非適合性群이 확인될 것으로 思料된다.

養豚場 및 牧場別 非適合性群 分布狀況은 4個 養豚場과 1個 屠畜場에서 Ia群이 확인되어, 우리나라 돼지 由來 *Salmonella*菌 R plasmid의 非適合性群은 Ia群이 가장 널리 分布하는 것으로 나타났으며 FI群은 소 및 돼지에서 모두 확인되었다. Ia 및 H1群은 養豚場에서 많이 확인된 반면 乳牛牧場에서는 확인되지 않았고, H2群은 乳牛牧場에서만 확인되어 農場에 따라 非適合性群의 차이가 認定되고 있다. 앞으로 더 많은 非適合性群이 확인됨으로써 國內 *Salmonella*菌 R plasmid에 대한 疫學的 意義가 확실해질 것으로 생각된다.

近來에는 *Salmonella*菌의 同定 및 疫學調査에 있어서 生物學的 및 血清學的 分類에 그치지 않고, 多劑耐性 *Salmonella*菌이 保有하고 있는 plasmid DNA의 電氣泳動樣相, 分子量, 制限酵素에 의한 DNA의 絶斷樣相 등의 各種 分子生物學的 特性을 精確함으로써 더욱 精確한 疫學的 意義를 추구하는 경향이다.²³⁻²⁵

諸 外國에서 Nakamura 등⁸은 여러 材料로 부터 分離한 *S typhimurium*의 plasmid 電氣泳動樣相을 調査한 結果 plasmid數는 1~7個, 分子量은 1.4~120Md로 다양하게 나타난다고 報告하였다. 또한 Niida 등²⁶은 Ia 非適合性群인 사람 由來 *Salmonella* 5株의 plasmid 分子量이 76.9Md이며, H1群인 비둘기 由來 2株의 plasmid 分子量이 120Md라고 報告한 바 있다. 中岡 등¹²은 우리나라에서 닭 由來 *S infantis* 3株는 약 100 및 2.8Md의 plasmid, 돼지 由來 *S weslaco*는 약 100, 3.6 및 1.8Md의 plasmid, 사료에서 分離된 *S typhimurium* var copenhagen은 약 4.8 및 3.6Md의 plasmid가 나

타났다고 報告한 바 있다. 따라서 이 實驗에서 plasmid의 分子量이 약 1.0~90Md로서 先人들의 報告(1.4~120Md)와 유사하였으며, plasmid數에 있어서는 中岡 등¹² 보다는 많았고, Nakamura 등⁸의 成績과 유사하게 나타났다.

非適合性群別 plasmid 電氣泳動樣相을 보면 돼지 由來의 FI群에서 15, 4.0, 3.7, 3.4, 2.3 및 2.0Md의 plasmid, Ia群에서 15 및 4.0Md의 plasmid, H1群에서 80Md의 plasmid를 공통적으로 가지고 있어서 이들 plasmid가 非適合性群과 관련이 있을 것으로 추측되며 돼지 由來의 *Salmonella*菌에서는 非適合性群에 따라 plasmid 電氣泳動樣相의 차이가 인정되었다(Table 4).

한편 菌株別로 보면 *S derby*에 있어서 돼지 由來 3株(P-1, P-2 및 P-6) 및 소 由來 3株(C-2, C-3 및 C-4)는 모두 3.7Md의 공통 plasmid를 保有하고 있었으며, 소 由來 *S derby* 2株(C-3 및 C-4)는 plasmid樣相이 同一하여 由來가 같은 것으로 추측된다. 또한 *S derby*, *S pullorum*, *S dublin*, *S infantis* 및 untypable間에서는 plasmid樣相의 차이가 인정되었다.

Salmonella 菌들로 부터 藥劑耐性을 傳達받은 transconjugant菌들은 1.0~80Md정도의 1個 내지 6個 plasmid를 갖고 있어서 이들이 傳達性 plasmid임을 알 수 있었다(Fig 2).

Salmonella 菌에 있어서 36~120Md의 큰 plasmid가 病原성과 관련된다고 報告한 바 있다.^{8, 23-25} 이 實驗에서도 돼지 由來의 *S derby* 등 6株와 소 由來 *S dublin* 등 5株는 36~90Md의 plasmid를 保有하고 있었으나, 이들 plasmid가 病原성과의 관련 與否는 마우스에 대한 病原性 試驗등에 의해 精確되어야 할 것으로 생각된다.

이 實驗에서 나타난 各各의 plasmid가 어떤 特性和 관련된 것인지는 精確되지 않았으나 앞으로 各各의 plasmid에 대한 生物學的 特性 및 技能에 관한 많은 研究가 이루어져야 할 것으로 思料된다.

結 論

1984年 5월부터 1986年 10월까지 慶北, 慶南 및 大邱地域의 소 및 돼지 由來 *Salmonella* 菌에 대한 R plasmid의 非適合性, 安定性, fertility inhibition(Fi) 그리고 gel 電氣泳動에 의한 plasmid DNA樣相을 調査한 바 그 結果는 다음과 같다.

1. 소 및 돼지 由來 66個 R plasmid中 61個 R plasmid (92.4%)가 Fi였다.
2. 供試 66個 R plasmid 中 26個의 R plasmid가 Ia, FI, H1 및 H2非適合性群으로 확인되었으며, 이 中

Ia群이 15個(57.7%)로 가장 많았다.

3. 動物別로는 돼지 由來에서 Ia, FI 및 H1非適合性, 소 由來에서 FI 및 H2群이 확인되었다.

4. 돼지 由來 8株 및 소 由來 8株의 plasmid 保有狀態는 分子量이 1.0~90Md, plasmid數는 1~10個로 다양하였고 非適合性群 및 菌株間에 電氣泳動樣相의 차이가 있었다.

5. 돼지 由來 *Salmonella* 4株(P-4, P-5, P-7 및 P-8)의 transconjugant에 대한 電氣泳動 結果 1.0~80Md인 1~6個의 plasmid가 傳達性 plasmid임이 확인되었다.

參 考 文 獻

1. Anderson ES. Drug resistance in *Salmonella typhimurium* and its implications. *Brit Med J* 1968; 3:333~339.
2. Hardy K. *Bacterial plasmids*. 1st ed. Hong Kong: Thomas Nelson and Sons Ltd, 1981; 50~74.
3. Myenell E, Myenell GG, Datta N. Phylogenetic relationships of drug-resistance factors and other transmissible bacterial plasmids. *Bacteriol Rev* 1968; 32:55~83.
4. Mitsuhashi S. Review: The R factors. *J Infect Dis* 1969; 119:89~100.
5. Mitsuhashi S, Hashimoto H, Egawa R, et al. Drug resistance of enteric bacteria. *J Bacteriol* 1967; 93:1242~1245.
6. Watanabe T. Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria. *Bacteriol Rev* 1963; 27: 87~115.
7. Jørgensen ST. Prevalence and molecular epidemiology of antibiotic resistant *Salmonella typhimurium* and *Salmonella dublin* in Danish cattle. *Acta Path Microbiol Immunol Scand Sect B* 1983; 91:163~168.
8. Nakamura M, Sato S, Ohya T, et al. Plasmid profile analysis in epidemiological studies of animal *Salmonella typhimurium* infection in Japan. *J Clin Microbiol* 1986; 23:360~365.
9. Sato G, Terakado N. R factor types found in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* from calves in a confined environment. *Am J Vet Res* 1977; 38:743~747.
10. Datta N, Olarte J. R factors in strains of *Salmonella typhi* and *Shigella dysenteriae* 1 isolated during epidemics in Mexico: Classification by compatibility. *Antimicrob Agents Chemother* 1974; 5:310~317.
11. Makino S, Ishiguro N, Sato G. Change of during resistance patterns and genetic properties of R plasmids in *Salmonella typhimurium* of bovine origin isolated from 1970 to 1979 innorthern Japan. *J Hyg Camb* 1981; 87:257~269.
12. 中岡祐司, 金鍾培, 馬點述 韓國에서 分離한 動物由來 *Salmonella*의 藥劑耐性과 plasmid 檢出. 서울대학교 獸醫大論文集 1985; 10:145~154.
13. 崔源弼, 李熙碩, 呂相建 등. 養豚場에 있어서 *Salmonella* 感染症의 疫學의 研究: I. 發生 및 汚染狀況, 血清型과 *Salmonella typhimurium*의 生物型. 大韓獸醫學會誌 1986; 26:49~59.
14. 崔源弼, 李熙碩, 呂相建 등. 養豚場에 있어서 *Salmonella* 感染症의 疫學의 研究: II. *Salmonella* 속군의 藥劑耐性 및 傳達性 R plasmid. 大韓獸醫學會誌 1986; 26:229~235.
15. 崔源弼, 李熙碩, 呂相建 등. 牛, 豚에서 分離한 *Salmonella* 由來 R plasmid의 遺傳學的 및 分子生物學的의 性狀에 관한 研究: I. 乳牛에서 *Salmonella*屬菌의 分布狀況 및 藥劑耐性, 大韓獸醫學會誌 1988; 28:331~337.
16. Ishiguro N, Makino 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; 41:56~50.
17. Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J. *Molecular cloning*. 1st ed. New York: Cold Spring Harbor, 1982; 365~373.
18. Macrina FL, Kopecko DJ, Jones KR, et al. A multiple plasmid-containing *Escherichia coli* strain: Convenient source of size reference plasmid molecules. *Plasmid* 1978; 1:417~420.
19. Grindley NDF, Humphreys GO, Anderson ES. Molecular studies of R factor compatibility groups. *J Bacteriol* 1973; 115:387~398.
20. Terakado N, Ohya U, Ueda H, et al. A survey on drug resistance and R plasmids in *Salmonella* isolated from domestic animals in Japan. *Jpn J Vet Sci* 1980; 42:543~550.
21. Benzanson GS, Pauze M, Lior H. Antibiotic resistance and R plasmids in food chain *Salm-*

- onella*: evidence of plasmid relatedness. *Appl Environ Microbiol* 1981; 41:585~592.
22. 설성용, 조성만, 전도기, 가축유래대장균의 항균제내성 및 R plasmid. 대한화학요법학회지 1984; 2:144~166.
23. Helmuth R, Stephan R, Bunge C, et al. Epidemiology of virulence associated plasmids and outer membrane protein patterns within seven common *Salmonella* serotypes. *Infect Immun* 1985; 48:175~182.
24. Nakamura M, Sato S, Ohya T, et al. Possible relationship of a 36-megadalton *Salmonella enteritidis* plasmid to virulence in mice. *Infect Immun* 1985; 47:831~833.
25. Terakado N, Sekizaki T, Hashimoto K, et al. Correlation between the presence of a fifty-megadalton plasmid in *Salmonella dublin* and virulence for mice. *Infect immun* 1983; 41:443~444.
26. Niida M, Ishiguro N, Shinagawa M, et al. Genetic and molecular characterization of conjugative R plasmid detected in *Salmonella* strains isolated from humans and feral pigeons in the same district. *Jpn J Vet Sci* 1983; 05:647~658.
-