

## 이질균의 약제 내성과 R-Plasmid

정규선 · 변혜경

숙명여자대학교 약학대학

(Received December 14, 1989)

### Drug Resistance and R-Plasmid Profile of *Shigella* Isolated in 1986-1988

Kyu-Sun Chung and Hye Kyung Byun

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University

**Abstract**—These studies were made to assess the present stage of resistance of *Shigella* species to antibiotics and to find characteristics of R-plasmid of these bacteria. From 1986 to 1988, 125 strains of *Shigella* species were isolated from patients specimens collected in Chung Cheong-do Hospital, Kyunghee Medical Center, city an provincial health & environmental institutes. These specimens were tested for resistance to 12 kinds of antimicrobial agents by agar dilution method. Using Muller-Hinton agar for the assay of drug resistance and Trypticane Soy Broth as propagating medium for conjugation. All the strains (100%) were resistant to one or more antibiotics. Drug resistance patterns of isolated strains were found as the highest resistance to ampicillin (98%) in 1986, to tetracycline (98%) in 1987, to tetracycline (100%) in 1988, all strains were sensitive to gentamicin, amikacin, tobramycin. Chronologically, resistance decreased gradually as it was shown in relation to kanamycin, rifampicin in 1986, 1987 and 1988, (4%, 2%) (4%, 2%) (0%, 0%) respectively. But, resistance was increased year by year as it was shown in relation to tetracycline, nalidixic acid, streptomycin in 1986, 1987, 1988 (89%, 19%, 45%) (98%, 46%, 71%) and (100%, 58%, 88%). The resistance in correlation to more than 5 drugs, which was 13 strains among 47 strains in 1986, 38 strains among 87 strains in 1987, 23 strains among 26 strains in 1988, was increased gradually. In the transfer test of drug resistance by conjugation methods, the rate which was 3 strains (50%) in 1986, 8 strains (62%) in 1987, 3 strains (100%) in 1988, was increased gradually. When the donor strains were conjugated with the recipient strains, the conjugation rate was high in the multiple resistant strains. The relationships of transferring patterns of drug resistance and molecular weight of R-plasmid were variable. However, only a plasmid which has more than 35 Mgd was transferred.

**Keywords** □ *Shigella* species, R-plasmid

우리나라에서 미생물에 의한 설사 질환은 그 전염성 때문에 공중보건의 측면에서 중요한 관리대상이 되고 있다. 그럼에도 불구하고 이러한 질환이 아직도 산발적으로 다양하게 발생하고 있는 실정이다.<sup>1)</sup> 이는 위생시설의 미비와 식품의 비위생적인 관리, 상하수 문제 등에도 원인이 있겠지만<sup>2)</sup> 세균성 이질 이 전형적인 이질증상 외에 경미한 설사, 복통 정도에 이르기까지 여러 증상으로 나타나기 때문에, 원인균의 규명이 없이 항생물질을 남용함으로써 내성균의 출현이 점차 증가할 뿐만 아니라 불완전한 치

료로 인한 보균자가 늘어나서<sup>3,4)</sup> 주변 환경이 계속 오염되고 있는 것에 더 큰 원인이 있다고 하겠다.

아직도 우리나라에서 *Shigella* 균은 계절에 관계 없이 계속 발생하는 경향도 있어<sup>1)</sup> 근절대책이 요구되는 형편이다. 이런 점을 고려하여 볼 때 이질균의 내성문제에 관하여는 연차적인 내성 추이를 규명하므로서 치료에 큰 도움이 될 것으로 생각된다. 내성 전달 기전은 내성을 가진 이질균의 세포질 내에 존재하는 R-plasmid에 의해서 감수성균이 내성을 전달받아<sup>5-8)</sup> 내성을 획득하게 되는 것이다. 그러므로

그 전달 기전을 차단하는 것이 또 하나의 과제라 하겠다.

따라서 본 연구는 1986년 1월부터 1988년 6월까지 환자에서 분리한 *Shigella* 균을 대상으로 하여 약제에 대한 내성과<sup>9-14)</sup> 그 추이를 밝히며, 이들의 전달성 R-plasmid의 특성을 규명하였기에 보고하는 바이다.

### 재료 및 방법

**검사항 수집**—*Shigella* 균은 1986년 1월부터 1988년 6월까지 단국대학교 의예과 이연태 교수와 청주 보건환경연구소 조상기 연구관으로부터 분양받아 본 실험실에서 재분리한 125주를 실험에 사용하였다.

이들 분리균의 년도별 현황은 1986년에 47주, 1987년에 52주, 그리고 1988년에 26주였다.

**이질균의 분리 동정**—수집된 균주를 Kligler's Iron Agar (KIA) 사면배지에 식균하여 37°C에서 18시간 배양한 후 적색 slant, acid butt, H<sub>2</sub>S gas를 생성하지 않아 이질균 성상을 나타내는 세균을 선별하여 IMViC test 및 각종 당 분해 시험을 실시하여 분리 동정하였다.<sup>7,8,15)</sup>

**항균제와 조제법**—본 실험에 사용한 항균제는 12종으로서 amikacin(Ak), ampicillin(Ap), carbenicillin(Cb), cefazolin(Cf), chloramphenicol(Cm), gentamicin(Gm), kanamycin(Km), nalidixic acid(Na), streptomycin(Sm), tetracycline(Tc), tobramycin(Tb), rifampicin(Rf) 등이다.

실험용 항균제는 국립보건원에서 분양받았고, 항균제의 조제는 일정한 완충액을 조제하여 용해시킨 후 일정량인 2~3ml씩을 분주한 후 -20°C 냉장고에 보관하면서 배지를 제조할 때 첨가하였다. 이 방법은 Lennette<sup>15)</sup>의 보고를 따른 것이다.

**약제 내성 실험**—약제 내성 실험은 평판 한천배지 희석법으로 하여 최저발육억제농도(MIC)를 구한 후, 내성 여부를 Table I의 기준에 따라 판정하였다.<sup>15)</sup>

실험의 정확도를 확인하기 위해서 표준 균주인 *Escherchia coli* ATCC 25922를 병용하였으며, 배지는 Müller Hinton(Difco) agar를 사용하였다.

**Table I**—Criteria of resistant strains expressed by MIC (mcg/ml)<sup>7,8,15)</sup>

Antimicrobial agent	Resistance
Amikacin	> 32
Ampicillin	> 16
Carbenicillin	> 128
Cefazolin	> 16
Chloramphenicol	> 16
Gentamicin	> 8
Kanamycin	> 32
Nalidixic acid	> 16
Rifampicin	> 32
Streptomycin	> 64
Tetracycline	> 8
Tobramycin	> 8

\*From the National Committee for Clinical Laboratory Standards tentative recommendation (NCCL VOL.3. No.2.p67)

**약제 내성 전달실험**—약제 내성 전달실험은 내성을 가진 균을 공여균으로 하고 *E. coli* K-12 ML1410(Na<sup>r</sup>)과 *E. coli* RG488(Rf<sup>r</sup>)을 수용균으로 사용하였다.

전달방법은 이와 박<sup>7)</sup>이 보고한 액체배지 교배법으로 하였다. 공여균과 수용균을 각각 Trypticane Soy Broth(TSB, Difco)에서 18시간 배양한 균액을 25 μl 취해, 각각 TSB 4ml에 접종, 37°C에서 3시간 30분 동안 진탕 배양하였다. 공여균, 수용균을 1:4의 비율로 취하여 혼합시킨 후 37°C에서 18시간 배양하여 이 혼합 배양액을 다시 선택 배지에 도말하여 18시간 배양한 후 나타난 집락을 취하여, 해당 종류의 항균제에 대한 내성을 검사하여 내성 전달양상을 관찰하였다.<sup>16)</sup>

**Plasmid DNA 분리**—1제 이상 내성이 확인된 이질균과 접합에 의해 내성이 전달된 균주에 대하여 Kado & Liu(1981년) 방법<sup>17)</sup>에 따라 Plasmid DNA를 분리하였다.

이를 요약하면 TSB 5ml에 균을 접종하여 18시간 배양한 후 균액 1ml를 취해 12000 rpm에서 2분간 원심분리시켰다. 상청액은 버리고 TE buffer (0.1 M tris, 1 mM EDTA pH 8.0) 200 μl를 넣고

Vortex에서 혼합하여 세균 침사를 부유시키고, lysis solution (3% SDS in 50 mM tris, pH 12.6) 400  $\mu$ l를 가하여 조심스럽게 혼합시킨 다음 55°C 항온 수욕상에서 45분간 반응시켰다. lysis가 끝나면 4°C에서 5분간 냉각시킨 후 phenol-chloroform (1:1/v:v) 800  $\mu$ l를 가하여 조심스럽게 혼합시켜서 단백질의 제거가 충분히 이루어지게 한 다음 12000 rpm에서 15분간 원심분리했다. 상청액 160  $\mu$ l를 취해 전기영동용 gel-loading buffer (0.25% bromophenol, 0.25% xylene cyanol, 15% ficoll type 400)를 H<sub>2</sub>O에 녹여 만든 액을 TBE buffer로 6배 희석한 액 20  $\mu$ l와 혼합하여 DNA 확인을 위하여 전기영동하였다.<sup>6,17)</sup>

**Plasmid DNA 전기영동**—분리된 plasmid DNA의 전기영동은 0.7%되게 agarose를 TBE buffer (89 mM tris base, 89 mM boric acid, 2 mM EDTA pH 8.0)에 녹여 제조하였고 agarose gel에 sample 25  $\mu$ l를 가하여 수평장치를 이용하여 70 mA에서 4시간 동안 전기영동을 실시하였다.<sup>17)</sup>

영동이 끝난 gel을 0.5  $\mu$ g/ml ethidium bromide 용액에 45분간 담그어 plasmid band를 염색시킨 후, gel을 UV transilluminator 위에 두고 polaroid camera로 DNA 밴드를 촬영하였다. plasmid의 분자량은 plasmid의 이동거리를 측정 한 후 분자량이 알려진 *E. coli* V517의 plasmid 이동거리와 비교하여 산출하였다.<sup>18)</sup>

### 결과 및 고찰

**균 분리 및 동정**—1986년부터 1988년까지 수집된 이질균 125주는 전부 *Shigella flexneri* 이었다.

우리나라의 경우, 이질균증이 년중 계속 발병하는 경향이 있는데 이는 위생 상태가 좋지 않은 곳에 연유함이다. 그리고, 환경이나 개인위생 수준이 높은 나라에서는 발생빈도가 많지 않으나 *Shigella flexneri*에 의한 이질은 증가되는 추세이다. 이런 나라에서 발생하는 균형은 *Shigella sonnei* 감염이 가장 많고, 다음이 *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* 순이고 *Shigella dysenteriae* 감염은 드문 반면, 개발도상국의 경우는 *Shigella boydii*와 *Shigella dysenteriae* 감염이 가장 많고, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*의 순이다. 우리나라의 경

우, 아직도 *Shigella flexneri* 감염이 가장 많고 다음으로 *Shigella sonnei* 감염이 많은 것으로 보고되고 있다.<sup>19)</sup> 그러므로 우리나라는 병후 보균자가 많은 것으로 하여 *Shigella flexneri*가<sup>20)</sup> 높은 비율을 차지하는 것으로 보아 환자나 보균자와의 직접 또는 간접적인 접촉, 즉 환자의 불완전한 치료와 보균자 색출의 어려움, 보균자의 식품 취급으로 인한 전파의 경우와 잘 씻지않은 손으로 만진 변소의 손잡이, 수세식 변소의 앉은 자리 등에 세균이 붙었다고 전파되는 경우도 생각할 수 있다.<sup>2)</sup>

**항균제의 약제별 내성**—이질균 전부 1제 이상 항균제에 대하여 내성이었으며, Table II와 같이 이들 균 대부분이 다약제 내성균임을 알 수 있었다.

약제별 내성 경향은 1986년에 Ap에 대한 내성은 46주(98%)로 가장 높았고, 그 다음이 Cm, Tc로서 각각 43주(92%), 42주(89%)였으며, Sm 21주(45%), Cb 16주(34%), Cf 15주(32%), Na 9주(19%), Km 2주(4%), Rf 1주(2%)로 가장 낮았으나, Gm, Ak, Tb에 내성인 균주는 없었다.

1987년에는 Tc에 51주(98%)로 가장 높은 내성이었고 그 다음이 Ap, Cm으로서 모두 48주(92%)였으며 Cf 39주(75%), Sm 37주(71%), Cb 32주(62%), Na 24주(46%), Km 2주(4%), Rf 1주(2%)순이었고 Gm, Ak, Tb에는 내성을 나타내지

**Table II**—Frequency of drug resistant strains isolated in 1986-1988

Drug	No. of resistant strains (%)			
	1986	1987	1988	Total
Tc	42 (89)	51 (98)	26 (100)	119 (95)
Ap	46 (98)	48 (92)	25 (96)	119 (95)
Cm	43 (91)	48 (92)	23 (88)	114 (91)
Sm	21 (45)	37 (71)	23 (88)	81 (65)
Cf	15 (32)	39 (75)	16 (62)	70 (65)
Cb	16 (34)	32 (62)	8 (31)	56 (45)
Na	9 (19)	24 (46)	15 (58)	48 (38)
Km	2 (4)	2 (4)	0	4 (3)
Rf	1 (2)	1 (2)	0	2 (2)
Gm	0	0	0	0
Ak	0	0	0	0
Tb	0	0	0	0
Total	47 (100)	52 (100)	26 (100)	125 (100)

않았다.

1988년에도 1987년과 마찬가지로 Tc에 대해 내성인 균주가 26주(100%)로 가장 높았으며 Ap 25주(96%), Cm, Sm에 각각 23주(89%)인데 비해 Cf 16주(62%), Na 15주(58%), Cb 8주(31%)순이었으며 Km, Rf, Gm, Ak, Tb에 내성인 균은 없었다. 그러므로, Km, Rf에 대해서는 해마다 내성이 감소하였고, Tc, Na와 특히 Sm에 대한 내성은 점차 증가되었으며, Gm, Ak, Tb에는 모두 감수성이었다. 또한, 원인은 알 수 없으나 Ap의 경우, 1987년까지 내성은 감소하였으나, 1988년에는 증가하였고 Cm, Cf, Cb는 1987년까지의 내성이 증가하였으나 1988년에는 감소하였다. 이질균의 약제별 내성 경향에 관하여 1974년부터 1986년까지 연구, 보고된 것에 의하면,<sup>7,8,21-25)</sup> 1974년 Cm에 71%, Ap에 15%, 1975년 Cm에 93%, 1978년 Cm에 91%, Ap에 73%의 내성을 나타내었으며 1980~1981년에 Cm에 98%, Ap에 97%, Sm에 81%의 내성과 Km에 83%, Ak에 98%, Tb에 97%의 감수성을 나타내었다. 1982년에는 Cm에 96%, Ap에 87%, Sm에 96%, Tc에 96%가 내성이었고, 1983년 Cm에 94%, Ap에 83%, Sm에 93%, Tc에 92%의 내성과 Ak, Gm에 100%, Km에 94%, Cf에 83%, Rf에 78%, Na에 86%의 감수성을 나타내었으며, 1984년 Cm에 87%, Sm에 88%, Tc에 92%가 내성이었고, Gm에 81%, Km에 76%가 감수성 균이었다. 1986년에는 Cm에 38%, Sm에 79%, Tc에 77%의 내성과 Gm에 100%, Cf에 69%의 감수성을 보였다. 정도는 일정하지 않으나 Cm, Tc, Sm에 대하여 1974년부터 1982년까지 내성이 증가하였으나 그 후 1986년까지 감소하는 경향을 보였으며, Gm, Ak, Tb에 대해서는 높은 감수성을 유지하고 있었다.

본 실험결과와 1986년 이전의 연구결과를 종합 비교하여 보면 Gm, Ak, Tb에는 계속적으로 높은 감수성을 유지하고 있으나 Tc, Cm, Sm은 내성의 증감에 다소 차이가 있었다. 이는 우리나라 전역에서 수집된 균주가 아니라는 점과 본 실험에 사용한 1988년의 균주도 6월까지만 분리된 것이므로 정확한 통계 처리에는 미흡한 점이 있다고 하겠다.

내성의 빈도와 MIC-내성균의 빈도는 Table III

에 표시하였다. 1986년에는 3제에 내성인 균주가 23주(49%)로 가장 많고 그 다음이 4제 내성으로 11주(23%)였으며 모두가 다제 내성이었다. 1987년에는 6제 내성 균주가 18주(35%)로 가장 많고 그 다음이 7제 내성 균주 16주(31%)이며, 단제 내성은 3주(6%)인데 비하여 다제 내성은 39주(94%)이었다.

1988년은 6제 내성 균주가 13주(50%)로 가장 많고 그 다음이 5제 내성 9주(35%)이었으며 단제 내성 1주(4%)보다 다제 내성 25주(96%)가 훨씬 많았다.

5제 이상의 다제 내성을 보인 균주는 1986년에 13주(28%)이었고, 1987년에 38주(73%)이었으며, 1988년에는 23주(88%)로서 해마다 증가추세에 있음을 알 수 있었다.

*Shigella* 균은 다약제 내성이 많음은 이미 알려진 바 있으며<sup>26-29)</sup> 내성균의 처음 발견도 1953년 이질균이 Sm, Tc에 내성을 가진다는 것을 알게 되면서부터이다. 1959년 Sm, Tc, Cm에 동시 내성을 갖는 균주를 발견하였고,<sup>30)</sup> 같은 해, 이질균과 대장균을 혼합 배양하면 약제 내성이 전달되는 현상을 발견하고부터 이에 대한 연구에 활기를 띠기 시작하였다.<sup>31-33)</sup> 약제 내성의 전달이 transduction이나 transformation에 의해서가 아니고 conjugation에 의하여 일어난다는 사실이 확인되었으며<sup>29)</sup> Watanabe와 Fukasawa가<sup>32,33)</sup> 장내 세균군에서 약제 내성에 관여하는 episome에 관한 연구를 밝힌 이래 여기에 관한 많은 자료가 제시되었다.<sup>26,34-39)</sup> 그러나, R-plasmid의 균체 상호간 전달에는 여러 가지 요인이 관여하는데 R-plasmid의 종류, 균종, 또는 균주에 따라서 전달빈도와 전달내용에 차이가 있으며 전달여부에도 관여한다고 하였다.<sup>6,7,17)</sup>

이질균의 약제에 대한 내성은 계속해서 다제 내성화 경향을 보이고 있었다. 1987년 Chun 및 Seol<sup>39)</sup>의 보고에 따르면 4제 내성 균주가 62%로 가장 많았고, 1983년 이연태, 김지연은<sup>21)</sup> 5제 내성이 50%로서 가장 많고 그 다음이 4제 내성 22%이었으며 단제 내성(3%)보다 다제 내성(92%)이 많은 것으로 보고하였다. 1984년 정태화 등<sup>8)</sup>은 6제 내성이 35%로 가장 많고 그 다음이 7제 내성으로 29%이며 단제 내성(4%)보다 다제 내성(96%)이 많은 것으로

Table III—Drug resistance patterns of *Shigella* cultured in 1986-1988

Multiplicity of resistance	Resistance pattern								No. of strains (%)							
									1986		1987		1988		Total	
8	Ap	Tc	Cm	Cf	Sm	Na	Cb	Rf	1 (2)	1 (2)	0	0	1 (1)	1 (1)		
7	Ap	Tc	Cm	Cf	Sm	Na	Cb		5 (11)		13 (25)	1 (4)	19 (15)			
	Ap	Tc	Cm	Cf	Sm	Km	Cb		1 (2)	6 (13)	2 (4)	16 (31)	0	1 (4)	3 (2)	23 (18)
	Ap	Tc	Cm	Sm	Na	Cb	Rf		0		1 (2)	0	1 (1)			
6	Ap	TC	Cm	Cf	Sm	Na			1 (2)		4 (8)	6 (23)	11 (9)			
	Ap	Tc	Cm	Cf	Sm	Cb			1 (2)	2 (4)	9 (17)	18 (35)	6 (23)	13 (50)	16 (13)	33 (26)
	Ap	Tc	Cm	Sm	Na	Cb			2		5 (10)	1 (4)	6 (5)			
5	Ap	Tc	Cm	Sm	Na				2 (4)		1 (2)	7 (27)	10 (8)			
	Ap	Tc	Cm	Sm	Cb				1 (2)		0	0	1 (1)			
	Ap	Cm	Cf	Sm	Cb				1 (2)	4 (9)	0	4 (8)	0	9 (35)	1 (1)	17 (14)
	Ap	Tc	Cm	Cf	Cb				0		2 (4)	0	2 (2)			
	Ap	Tc	Cm	Cf	Sm				0		1 (2)	2 (8)	3 (2)			
4	Ap	Tc	Cm	Km					1 (2)		0	0	1 (1)			
	Ap	Tc	Cm	Sm					3 (6)		0	0	3 (2)			
	Ap	Cf	Sm	Cb					4 (9)	11 (23)	0	6 (12)	0	4 (3)	17 (14)	
	Ap	Tc	Cm	Cb					2 (4)		0	0	2 (2)			
	Ap	Tc	Cm	Cf					1 (2)		6 (12)	0	7 (6)			
3	Ap	Tc	Cm						22 (47)		3 (6)	0	25 (20)			
	Ap	Tc	Cf						0	23 (49)	1 (2)	5 (10)	1 (4)	1 (4)	2 (2)	29 (23)
	Tc	Cm	Sm						1 (2)		1 (2)	0	2 (2)			
2	Ap	Tc							0		0	1 (4)	1 (4)	1 (1)	1 (1)	
1	Cf								0		1 (2)	0	1 (1)			
	Tc								0		2 (4)	3 (6)	1 (4)	1 (4)	3 (2)	4 (3)
Total									47 (100)		52 (100)	26 (100)	125 (100)			

로 보고하여 본 연구와 비슷한 양상이었다.

*Shigella flexneri*의 내성 전달—각 균에 대한 항균제의 MIC 결과를 Table IV, Fig. 1, 2에 표시하였으며 내성 전달 실험결과는 Table V와 같다.

표현시 유전적 특성의 차이로 인하여, 같은 내성을 가지는 경우, 같은 내성 전달양상을 나타내는 것도 있었으나, 내성 전달양상이 다른 균도 관찰되었다. 전달률은 1986년에는 6주 중 3주(50%)가 내성을 전달하였고, 1987년에는 13주 중 8주(62%)가 전달하였고, 1988년에는 3주 모두(100%)가 내성을 전달하였으므로 전체 22주에 대해서는 14주가 내성

을 전달시켜 63.64%의 R-plasmid 보유율을 나타내는 특징을 보였다.

Chun 및 Seol<sup>39)</sup>의 75%, 이연태, 박경란<sup>7)</sup>의 73%, 서민호 등<sup>40)</sup>의 71%, 정태화 등<sup>8)</sup>의 67% 내성 전달률과 비슷한 결과였다. 접합률은 다제 내성일수록 높은 빈도로 일어남을 알 수 있었다.

또한, 전달된 내성을 약제별로 정리한 것은 Table VI와 같다. 1986년에는 Cf에 대한 내성이 67%로서 가장 많이 전달되었고 1987년에는 Km에 대한 내성이 100%, 1988년에는 Tc, Cm, Cb에 대한 내성이 100% 전달되었다.

**Table IV**—Drug susceptibility patterns of *Shigella* cultures isolated in 1986-1988

Drug	MIC range (mcg/ml)															
	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	>256	512	1024	>1204	
Ak	No. of strains			12	46	30	19	18								
	%			10	37	24	15	14								
	Cumulative %			10	47	71	86	100								
Ap	No. of strains					3	2	1	1	5	4	30		30	34	15
	%					2	2	1	1	4	3	24	24		27	12
	Cumulative %					2	4	5	6	10	13	37		61	88	100
Cb	No. of strains			1	4	2	3	3	1	12	43	46		10		
	%			1	3	2	2	2	1	10	34	37		8		
	Cumulative %			1	4	6	8	10	11	21	55	92		100		
Cf	No. of strains					1	17	37	62	6	2					
	%					1	13	29	50	5	2					
	Cumulative %					1	14	43	93	98	100					
Cm	No. of strains							11		29	49	20		15	1	
	%							9		23	39	16		12	1	
	Cumulative %							9		32	71	87		99	100	
Tc	No. of strains				5		1		5	7	68	19	20			
	%				4		1		4	6	54	15	16			
	Cumulative %				4		5		9	15	69	84	100			
Gm	No. of strains		14	80	23	8										
	%		11	64	19	6										
	Cumulative %		11	75	94	100										
Km	No. of strains			4	8	75	26	6	2	4						
	%			3	6	60	21	5	2	3						
	Cumulative %			3	9	69	90	95	97	100						
Na	No. of strains			2	20	45	8	2			1	13	34			
	%			2	16	36	6	2			1	10	27			
	Cumulative %			2	18	54	60	62			63	73	100			
Rf	No. of strains						1	1	121	2						
	%						1	1	96	2						
	Cumulative %						1	2	98	100						
Sm	No. of strains			1	1	2	5	2	2	31	10	7		33	23	8
	%			1	1	2	4	2	2	24	8	6		26	18	6
	Cumulative %			1	2	4	8	10	12	36	44	50		76	94	100
Tb	No. of strains	11	16	53	30	5	1									
	%	9	12	43	31	4	1									
	Cumulative %	9	21	64	95	99	100									

Table V—Original and transferred resistance patterns and plasmid profiles of shigella

Multipli- city of res- istance	Drug resistance markers	Mass of plasmid DNA (megadalton)	Drug Resistance transferred	Mass of plasmid transferred (megadalton)	**Frequency of transferred resistance
7	Ap Tc Cm Cf Sm Na Cb	38 36 3 2	Ap Tc Cm Sm Cb	36	$2 \times 10^2$
	Ap Tc Cm Cf Sm Na Cb	40 37 3 2	Ap Tc Cm Sm Cb	38	$2 \times 10^2$
	Ap Tc Cm Cf Sm Na Cb	45 38 3 2	Ap Tc Cm Sm Cb	38	$3 \times 10^2$ $2 \times 10^2$
	Ap Tc Cm Cf Sm Na Cb	44 37 3 3 2	Ap Tc Cm Sm Cb	37	$9 \times 10^1$
	Ap Tc Cm Cf Sm Na Cb	42 41 36 3 2	Ap Tc Cm Sm Cb	36	$4 \times 10^1$
	Ap Tc Cm Cf Sm Km Cb	37 4 3 2 1 1	Ap Tc Sm Km Cb	37	$7 \times 10^{-2}$
6	Ap Tc Cm Cf Sm Cb	NE	NT	-	
	Ap Tc Cm Cf Sm Cb	42 38 4 3 2 2	Ap Tc Cm Cf Sm	38	$8 \times 10^{-6}$
	Ap Tc Cm Cf Sm Cb	45 40 37 3 2	Tc Cm Cb	37	$4 \times 10^{-4}$ $1 \times 10^{-4}$
	Ap Tc Cm Cf Sm Cb	NE	Ap Tc Cm Sm Cb	NE	$6 \times 10^{-7}$
5	Ap Tc Cm Sm Cb	43 36 6 4 3 3 2	NT	-	
	Ap Tc Cm Km	NE	NT	-	
	Ap Cf Sm Cb	45 37 3 3	Ap Cf Cb	37	$2 \times 10^{-6}$
	Ap Cf Sm Cb	46 38 8 5 4 3 3 2	Ap Cf Cb	38	$3 \times 10^{-6}$ $2 \times 10^{-6}$
	Ap Tc Cm Cb	NE	NT	-	
4	Ap Tc Cm Cf	NE	NT	-	
	Ap Tc Cm	NE	NT	-	
	Ap Tc Cm	NE	NT	-	
	Ap Tc Cm	NE	NT	-	
3	Ap Tc Cm	NE	NT	-	
	Ap Tc Cf	NE	NT	-	
	Tc Cm Sm	35 3 3 2 2 2	Tc Cm	NE	$2 \times 10^{-5}$ $2 \times 10^{-5}$
2	Ap Tc	35 3 2	Ap Tc	NE	$2 \times 10^{-7}$ $2 \times 10^{-7}$
	Cf	NE	NT	-	
1	Tc	31 3 2	Tc	NE	$2 \times 10^{-6}$ $2 \times 10^{-6}$

\*NE: Not experiment

\*NT: Not transferred

\*Frequency of transferred resistance:  $\frac{\text{Colony number of transconjugant}}{\text{Colony number of donor}}$ 

1983년 이연태, 박경란<sup>7)</sup>의 결과에 따르면 각 항균제별 내성 전달률은 Ap 73%, Cm 52%, Tc 51%, Sm 26%, Cf 19%이었고, 1984년 서민호 등<sup>8)</sup>의 결과는 trimethoprim 91%, sulfisomidine 83%, Tc, Cm에 66%, Ap 63%, Sm 62%의 전달률을 나타내었으므로 본 실험결과와는 비교된다고 하겠다.

**Plasmid DNA의 분리 및 분자량 측정**—내성 전달에 관여하는 plasmid DNA의 밴드를 관찰하고 plasmid 분자량을 측정된 결과는 Table VI, Fig.1,

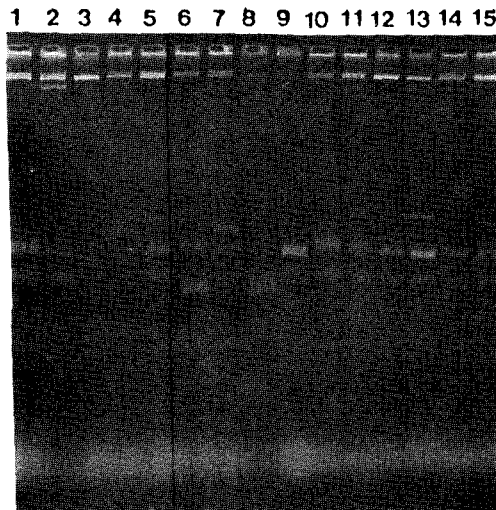
2와 같다.

이를 관찰해 보면, 첫째, 동일한 내성 패턴과 동일한 plasmid 분자량을 가진 것. 둘째, 내성 패턴은 동일하여도 plasmid 분자량이 서로 다른 것과 셋째, 접합에 관여한 plasmid는 한 개의 밴드만이 관찰되었고, 그 분자량은 35 Mgd 이상이였다.

한편, 접합에 의해 R-plasmid를 전달하지 못한 균주에 대하여서는 Wide range recipient host를 이용하거나 colicin 산생 여부의 확인, 또는 mobilization plasmid를 이용하여 transformation

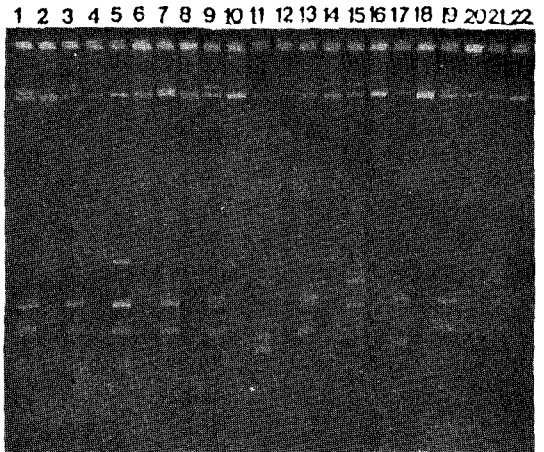
**Table VI**—Distribution of transferred resistance of strains to drugs associated with R-plasmid.

Drug	No. of resistant strains			No. of strains with transferable resistance (%)		
	1986	1987	1988	1986	1987	1988
Ap	6	11	2	3 (50)	7 (64)	1 (50)
Tc	4	12	3	1 (25)	8 (67)	3 (100)
Cm	4	11	1	1 (25)	7 (64)	1 (100)
Cf	3	11	1	2 (67)	1 (9)	0
Cb	5	8	1	3 (60)	6 (75)	1 (100)
Sm	4	9	1	1 (25)	7 (78)	0
Na	1	4	0	0	0	0
Km	1	1	0	0	1 (100)	0



**Fig. 1**—Plasmid profiles of *Shigella flexneri* (0.7% Agarose gele electrophoresis 70 mA. 3-4 hrs) Lysate was prepared by the method of Kado & Liu.

1. *Shigella flexneri* 77 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Na.Cb)
2. *Shigella flexneri* 86 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Na.Cb)
3. *Shigella flexneri* 70 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Na.Cb)
4. *Shigella flexneri* 4 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Na.Cb)
5. *Shigella flexneri* 76 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Na.Cb)
6. *Shigella flexneri* 74 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Na.Cb)
7. *Shigella flexneri* 29 (Ap.Tc.Cm.Sm.Cb)
8. *E. coli* V 517
9. *Shigella flexneri* 33 (Ap.Cf.Sm.Cb)
10. *Shigella flexneri* 82 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Cb)
11. *Shigella flexneri* 114 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Cb)
12. *Shigella flexneri* 30 (Ap.Cf.Sm.Cb)
13. *Shigella flexneri* 95 (Tc.Cm.Sm.)
14. *Shigella flexneri* 106 (Am.Tc)
15. *Shigella flexneri* 108 (Tc)



**Fig. 2**—Plasmid profiles of *Shigella flexneri* and their transconjugant *E. coli* (0.7% Agarose gel electrophoresis 70 mA, 3-4 hrs) Lysate was prepared by the method of Kado & Liu.

1. *Shigella flexneri* 77 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Na.Cb)
2. Transconjugant of *Shigella flexneri* 77 (Ap.Tc.Cm.Sm.Cb)
3. *Shigella flexneri* 86 (Ap.Tc.Cm.Sm.Cb)
4. Transconjugant of *Shigella flexneri* 86 (Ap.Tc.Cm.Sm.Cb)
5. *Shigella flexneri* 70 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Km.Cb)
6. Transconjugant of *Shigella flexneri* 70 (Ap.Tc.Sm.Km.Cb)
7. *Shigella flexneri* 4 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Na.Cb)
8. Transconjugant of *Shigella flexneri* 4 (Ap.Tc.Cm.Sm.Cb)
9. *Shigella flexneri* 76 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Na.Cb)
10. Transconjugant of *Shigella flexneri* 76 (Ap.Tc.Cm.Sm.Cb)
11. *E. coli* V 517
12. *E. coli* ML 1410
13. *Shigella flexneri* 74 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Na.Cb)
14. Transconjugant of *Shigella flexneri* 74 (Ap.Tc.Cm.Sm.Cb)
15. *Shigella flexneri* 33 (Ap.Cf.Sm.Cb)
16. Transconjugant of *Shigella flexneri* 33 (Ap.Cf.Cb)
17. *Shigella flexneri* 82 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Cb)
18. Transconjugant of *Shigella flexneri* 82 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm)
19. *Shigella flexneri* 114 (Ap.Tc.Cm.Cf.Sm.Cb)
20. Transconjugant of *Shigella flexneri* 114 (Tc.Cm.Cb)
21. *Shigella flexneri* 30 (Ap.Cf.Sm.Cb)
22. Transconjugant of *Shigella flexneri* 30 (Ap.Cf.Cb)

시키는 등의 여러가지 방법을 사용하여 non conjugative plasmid 인지를 규명해야 할 것으로 사료된다.



## 결 론

1986년 1월부터 1988년 6월까지 한국 일부지역의 보건망을 통해서 환자로부터 분리한 이질균 125주를 대상으로 하여 12종의 항균제에 대한 내성 및 내성 전달양상을 규명하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 한 가지 이상의 항균제에 대한 내성을 나타낸 *Shigella flexneri* 는 100%(125주)이었다.

2. 분리균들의 약제별 내성은, 1986년에는 ampicillin 에 대한 내성이 98%로 가장 높았고, 1987년과 1988년에는 tetracycline 이 98%, 100% 로서 높은 내성이었으나, 1986년, 1987년, 1988년의 균은 모두 gentamicin, amikacin, tobramycin 에는 내성을 나타내지 않았다. 각 항균제에 대한 년도별 추이는 다양했다. 즉, kanamycin 이 1986년에 4%, 1987년에는 4%, 1988년은 0%이었다. rifampicin 도 1986년에 2%, 1987년에는 2%, 1988년은 0%로 내성이 해마다 감소하였다. tetracycline 은 1986년에는 89%, 1987년에는 98%, 1988년은 100%이고 nalidixic acid 에 대해서도 1986년에 19%, 1987년에는 46%, 1988년은 58%이었으며 streptomycin 도 1986년에 45%, 1987년에는 71%, 1988년은 88%로 내성이 해마다 증가하는 추세를 알 수 있었다.

3. 분리균의 년도별 내성 패턴은, 5제 이상의 약제에 대한 내성을 나타낸 균이, 1986년에 47주 중 13주(28%)이었고, 1987년에는 52주 중 38주(73%), 1988년은 26주 중 23주(88%)로 해마다 다소 증가하는 경향을 보였다.

4. 내성 전달성은, 1986년에는 6주 중 3주(50%)가, 1987년에는 13주 중 8주(62%), 1988년은 3주 전부(100%)가 내성을 전달시켜 R-plasmid 보유율이 해마다 증가하였다.

5. 수용균에 공여균을 접합시켜 본 결과, 접합률은 다제 내성일수록 높은 빈도로 일어났다.

6. 약제들의 내성 전달양상과 R-plasmid 분자량과의 관계는 다양하였으나, 여러 개의 R-plasmid band 중 35Mgd 이상의 분자량을 가진 plasmid 하나만 전달되었다.

## 문 헌

- 1) 정태화, 염 훈, 정연명, 이용우, 이명원, 이복권, 박미연, 오경수, 주영란, 성원근, 김기상, 신석우, 이주원, 조민기: 전염성 설사 질환에 대한 세균학적 조사 연구(1983). (1) 소아 설사 질환에 대한 세균학적 연구, 국립보건원보 **20**, 15(1983).
- 2) 보건사회부: 전염병 관리, 223-225(1979).
- 3) 이정상: 항생제의 부작용, 대한의학협회지 **24**, 229-234(1981).
- 4) 이종훈: 서울 시내 자연환경 내에 있어서의 병원성 장내 세균 분포에 관한 연구; 대한미생물학회지 **14** (1), 1-9(1979).
- 5) 조동택: 항균제 내성 기전, 대한화학요법학회지 **1**, 190-198(1983).
- 6) 조동택: Plasmid 분석에 의한 원내 감염의 역학적 조사, 대한화학요법학회지 **2**, 76-86(1984).
- 7) 이연태, 박경란: 대장균 및 이질균의 전달성 R-plasmid 에 관한 연구, 감염학회지 **15**, 77-87(1983).
- 8) 정태화, 이명원, 이복권, 김기상, 이훈구, 이연태, 홍성노: 한국에서 분리된 *Salmonella*, *Shigella* 균속의 R-plasmid 전달에 관한 연구, 국립보건원보 **21**, 79-96(1984).
- 9) 정규선: 한국 일부지역에서 분리된 *Salmonella* 균의 약제 감수성에 관한 조사, 월간 최신의학 **19**, 61-65(1976).
- 10) 정규선: 세균의 약제 감수성에 관한 연구II, 약학회지 **30**, 55-60(1986).
- 11) 정규선, 이연태, 김순분: 환자 및 하수로부터 분리한 대장균의 약제 내성에 관하여, 숙명여자대학교 약학연구소 **4**, 53-67(1988).
- 12) 정태화, 이명원, 이복권, 김기상, 김훈구, 이연태, 홍성노: 이질균속의 항균제 내성, 대한미생물학회지 **19**, 25-33, 1984.
- 13) 정태화, 이연태, 이명원, 이복권, 김기상: 한국에서 분리된 장내 세균(*Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* 균속)의 병원적 역할에 관한 연구, 대한미생물학회지 **21**, 73-95(1986).
- 14) 정희영: 내성 문제에 대한 대책과 전망, 대한화학요법학회지 **4**, 110-112(1986).
- 15) Lennette, E.H., et al.: *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed.: 28-959, A.S.M. Washington, D.C., 1985.
- 16) 정태화, 이명원, 이복권, 김기상, 손건영, 이영희, 정윤희, 이연태, 염병운: 장티푸스균 및 장내 세균

- 의 R-plasmid 내성 전달에 관한 연구, 국립보건원보 23, 263-279(1986).
- 17) Kado, C.I. & Liu, S.T.: Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids, *J. Bacteriol*, **145**, 1365-1373 (1981).
  - 18) Francis, L.M., Dennis, J.K., Keyin, R.D., J. Ayers, and Maccowen, S.: A multiple plasmid-containing *Escherichia coli* strain: Convenient source of size reference plasmids molecules, *Plasmid*, **1**, 417-420 (1978).
  - 19) 이복권, 김기상, 이명원, 정태화: 소아 설사 환자에 서 분리한 *Salmonella*, *Shigella* 에 관하여, 대한미생물학회지 **19**, 55(1984).
  - 20) 전남호: 전염병의 예방과 치료, 농원출판사, 222-228(1980).
  - 21) 이연태, 김지연: *Shigella* 균속의 항균제 내성 및 전달성 R-plasmid 에 관한 연구, 대한미생물학회지 **19**, 11-24(1984).
  - 22) 정운섭, 송경순, 이귀영, 이상열: 최근 5년간 분리된 Enteropathogenic bacteria, 대한미생물학회지 **14**, 17-26(19□).
  - 23) 박승함: 최근 20개월간 분리된 이질균의 고찰과 과거 20년간의 항균제에 대한 감수성의 변천, 대한미생물학회지 **16**, 1-5(1981).
  - 24) 정태화, 최규채, 이명원, 이복권, 김기상: 한국에서 분리된 *Salmonella* 및 *Shigella* 균속에 대한 세균학적 조사: *Shigella* 균속에 관하여(1985), 국립보건원보 **22**, 155-164(1985).
  - 25) 정태화, 최규채, 이명원, 이복권, 김기상: 한국에서 분리된 *Salmonella* 및 *Shigella* 균속에 대한 세균학적 조사: *Shigella* 균속에 관하여(1986), 국립보건원보 **23**, 347-355(1986).
  - 26) Farrar, W.E., Jr., and Eidson, M.: Antibiotic resistance of *Shigella* mediated by R-factors, *J. Infect. Dis*, **123**, 477-484 (1971).
  - 27) Smith, J.I., D.A. Bremner and Datta, N.: Ampicillin resistance of *Shigella sonnei*, *Antimicrob. Ag. Chemother*, **6**, 418-421 (1974).
  - 28) Neu, H.C., C.E. Cherubin, E.D. Longo, and Winter, J.: Antimicrobial resistance of *Shigella* isolated in New York City in 1973, *Antimicrob. Ag Chemother*, **7**, 833-835 (1975).
  - 29) Mitsuhashi, S.: The R-factor, *J. Infect. Dis*, **119**, 89-100 (1969).
  - 30) Watanbe, T.: Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria, *Bacteriol. Review*, **27**, 87-115 (1963).
  - 31) Bisett, M.L., Abortol, S.L. and Wood, R.M.: Antimicrobial resistance and R-factors in *Salmonella* isolated in Californias (1971-1972), *Antimicrob. Ag. Chemother*, **5**, 161 (1974).
  - 32) Watanbe, T. and Fukasawa, T.: Episome mediated transfer of drug resistance in Enterobacteriaceae I. Transfer of resistance factors by conjugations, *J. Bacteriol*, **81**, 669-679 (1961).
  - 33) Watanabe, T. and Fukasawa, T.: Episome mediated transfer of drug resistance in Enterobacteriaceae II. Elimination of resistance factors with Acridine dyes, *J. Bacteriol*, **81**, 679-683 (1961).
  - 34) Schneider, H. and Falkows, S.: Characterization of and Hfr strain of *Shigella flexneri*, *J. Bacteriol*, **88**, 682 (1964).
  - 35) 조동택, 전도기: 대장균의 항균제 내성 및 전달성 내성 plasmid, 대한미생물학회지 **17**, 21-25 (1982).
  - 36) Hardy, K.: Bacterial Plasmid, Thomas Nelson and Son, LTD. Hongkong **50**, 1981.
  - 37) Detta, N. and Olarte, J.: R factors in strains of *Salmonella typhi* and *Shigella dysenteriae* I isolated drug epidemics in Mexico.: Classification by compatibility, *Antimicrob. Ag. Chemother*, **5**, 310-317 (1974).
  - 38) Davey, R.B. & Pittard, J.: Genetics and biophysical study of R-plasmids conferring sulfonamide resistance in *Shigella* strains isolated in 1952 & 1956, *J. Bacteriol*, **120**, 1186 (1974).
  - 39) Chun, D.K. and Seol, S.Y.: Drug resistance and R-plasmids of *Salmonella* and *Shigella* in Korea, *Tropical Medicine*, **20**, 123-129 (1978).
  - 40) 서민호, 설성용, 조동택, 전도기: *Shigella* 의 R-plasmid 의 특성과 항균제 내성의 본태, 대한화학요법학회지 **2**, 97-114(1984).