

비둘기 및 水生鳥類 由來 *Salmonella typhimurium*의 生物化學的 特性和 plasmid profile에 關한 研究

朴 魯 燦·崔 源 弼*

慶北家畜衛生試驗所

慶北大學校 獸醫科大學*

(1990. 1. 13 接受)

Studies on the biochemical characteristics and plasmid profiles of *Salmonella typhimurium* isolated from pigeons and aquatic birds

No-chan Park, Won-pil Choi*

Kyungpook Animal Health Laboratory

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University*

(Received Jan 13, 1990)

Abstract: A total of 166 strains of *Salmonella* (*S*) *typhimurium* var *copenhagen* isolated from pigeons (164 strains) and aquatic birds (2 strains) were examined for the biochemical characteristics and plasmid profiles. All the strains were sensitive to ampicillin, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin and sulfadimethoxine. But 13 strains (7.8%) were resistant to streptomycin (Sm), 2 (1.2%) to tetracycline, 2 (1.2%) to rifampicin, and 1 (0.6%) to nalidixic acid.

Among drug resistant strains, only one strain resistant to Sm contained conjugative R plasmid which was fertility inhibition and incompatibility group Ia.

All the strains were sensitive to cobalt chloride, cupric sulfate, lead nitrate, mercuric chloride and silver nitrate. Of 166 isolates, 6 (3.6%) were resistant to sodium arsenate and 1 (0.6%) to potassium tellurite.

Among 166 isolates, 1 (0.6%) was colicinogenic, 12 (7.2%) sucrose fermenters, and 166 (100%) maltose fermenters.

Plasmid profiles were confirmed as being 4 or 5 plasmids, and their molecular weight ranged 3.2 to 60 megadalton (MD). All the strains harbored 60 Md plasmid. There are three patterns by the plasmid profile, 150 isolates (90.4%) were pattern I (3.2, 3.5, 33, 60Md), 14 (8.4%) pattern II (3.2, 3.5, 29, 60Md), and 2 (1.2%) pattern III (4.2, 7.8, 8.5, 15, 60Md).

S typhimurium var *copenhagen* strains containing 60Md plasmid were resistant to killing by 90% normal guinea pig serum.

Key words: *Salmonella typhimurium* var *copenhagen*, plasmid profile, serum resistance, heavy metal susceptibility, pigeon.

緒 論

*Salmonella*屬菌은 哺乳動物 및 家禽뿐만 아니라 野生
鳥類와 公園鳥類에서도 感染症을 誘發하고 있어서 人
獸共通傳染病의 原因菌으로 重要視되고 있으며, 특히

이 屬菌의 多樣한 血清型 中 *Salmonella* (*S*) *typhi-*
*murium*은 宿主領域이 넓고 virulence가 강한 血清型
인 것으로 알려져 있다.¹⁻³

抗菌劑는 細菌性 感染症의 治療에 有用하게 使用되
어져 왔으나 이의 濫用과 發育促進을 위하여 飼料에

혼합투약으로 藥劑耐性菌을 選擇的으로 增加시키
 細菌性感染症의 治療 및 豫防에 많은 問題點을 惹起시
 키고 있는 實情이다.⁴⁻⁸ 또한 農藥, 自動車燃料 및 工
 場에 수로 排出된 各種 重金屬도 自然環境에 露出
 됨으로서 重金屬 耐性菌을 增加시키고 있어 公衆保健
 學的으로도 問題視되고 있다.^{8,9}

抗菌劑와 重金屬에 대한 耐性을 支配하는 factor는
 주로 細菌內에 存在하는 染色體外性 遺傳物質인 resis-
 tance (R) plasmid로 알려져 있다.^{8,10-11} 또한 R
 plasmid外에도 表現形質에 따라 抗細菌性 단백질인
 colicin을 產生하는 col plasmid, 分解酵素를 支配하는
 metabolic plasmid, 毒性物質을 產生하는 virulence
 plasmid 등의 plasmid가 있다.^{8,10-15} 이들 plasmid는
 菌體間 接合時의 傳達性 有無에 따라 conjugative
 plasmid와 nonconjugative plasmid로 兩分되고, con-
 jugative plasmid는 F 및 I pili合成能에 따라 male-
 specific phage에 의해 溶菌되는 fertility inhibition⁻
 (Fi⁻)와 溶菌되지 않는 Fi⁺로 區別된다.^{8,10-14}

그리고 plasmid는 서로간의 關係性에 따라 非適合性
 群으로 分類되고 있으며, 서로 다른 plasmid는 한 菌
 體內에서 安定된 共存을 할 수 있으나 同一種類的
 plasmid는 한 菌體內에서 安定된 共存을 할 수 없
 다.^{8,10-15} 따라서 菌體內에 있는 既存 plasmid가 同一
 種類的 plasmid를 菌體外에서 表面排除하거나, 또는
 導入되더라도 몇 世代의 分裂後에는 이들 中 어느 하
 나가 除去되어 진다.^{8,10-14,16}

Salmonella 感染症 發生時 感染源을 究明함에 있어
 서 分離菌의 血清型, 生物型, 藥劑耐性型, phage型등의
 血清學的 및 生物學的 性狀을 調査하여 왔으나,^{4,17-23}
 近年에는 遺傳學的方法으로 *Salmonella*屬菌이 保有하
 고 있는 plasmid를 分離하여 이들의 電氣泳動樣相과
 制限酵素處理에 의한 DNA의 絶斷樣相등을 分析하여
 各種 分子生物學의 特性을 糾明함으로써 더욱 正確한
 疫學的 意義를 追求하는 傾向이다.²⁶⁻³⁵

한편 *Salmonella*屬菌의 病原性에 關係되는 因子로
 는 lipopolysaccharide, adhesive pili, flagella, entero-
 toxin 등이 알려져 있으나,³⁷ 最近에는 plasmid에 의
 해서도 病原性이 誘發됨이 알려지고 있다.³⁸⁻⁴⁷ 특히
Salmonella 屬菌中에서 *S typhimurium*, *S enteritidis*,
S dublin, *S gallinarum*은 各 各 共通的으로 60
 megadalton (Md), 37Md, 56Md 및 85 kilobase (Kb)
 의 比較的 큰 plasmid를 保有하며, 이들 保有菌種이
 plasmid가 있는 同一菌種보다 mouse에 대한 virulence
 가 강하고 正常血清에 대한 抵抗性도 認定되고 있
 다.³⁸⁻⁴⁷

따라서 이 研究에서는 비둘기와 水生鳥類에서 分離
 한 *S typhimurium* var *copenhagen* 166株를 대상으
 로 各種 抗菌劑와 重金屬에 대한 感受性, R plasmid
 의 Fi 및 非適合性, 血清抵抗性과 保有 plasmid의
 profile分析 등 遺傳學的 研究을 實施하였다.

材料 및 方法

供試菌株: 公園에서 飼育되고 있는 비둘기호흡 151
 例에서 分離된 *S typhimurium* var *copenhagen* 164株
 와 水生鳥類糞便 2例에서 分離된 *S typhimurium* var
copenhagen 2株 등 總 166株의 分離菌을 材料로供試하
 였다.⁴⁸

抗菌劑 및 重金屬感受性: Sigma 제품으로서 抗菌劑
 는 ampicillin(Am), chloramphenicol(Cm), gentamicin
 (Gm), kanamycin(Km), nalidixic acid(Na), rifampin-
 cin(Rf), streptomycin(Sm), sulfadimethoxine(Su),
 tetracycline(Tc) 등 9種이며, 重金屬은 cobalt chloride
 (CoCl₂·6H₂O, Co), cupric sulfate (CuSO₄, Cu), lead
 nitrate(Pb(NO₃)₂, Pb), mercuric chloride (HgCl₂,
 Hg), potassium tellurite (K₂TeO₃, Te), silver nitrate
 (AgNO₃, Ag), sodium arsenate (Na₂HAsO₄, As) 등
 7種을 使用하였다.

抗菌劑 感受性檢査는 MacLowry et al⁴⁹의 方法으로
 各 抗菌劑를 適當한 溶媒에 녹여 Gm은 12.5μg/ml,
 Am, Cm, Km, Na, Rf, Sm 및 Tc는 25μg/ml, Su
 는 800μg/ml 되게 brain heart infusion agar (BHIA,
 Difco) 및 Mueller-Hinton(MH) agar(Difco)에 加하
 여 實施하였다. brain heart infusion broth(BHIB,
 Difco)에 37°C 1夜 培養한 菌液을 滅菌生理食鹽水로
 100倍 稀釋한 後 Steers et al⁵⁰의 multiple inoculator
 로 上記 平板培地에 接種하고 37°C 24時間 培養하
 였다. 培養後 接種部位의 集落形成 有無로 供試菌의 感
 受性을 判定하였다.

重金屬 感受性檢査는 Harnett와 Gyles⁵¹의 方法에 따
 라 MH broth에 37°C 1夜 培養한 菌液을 滅菌生理食
 鹽水로 100倍 稀釋한 다음, 各 重金屬을 40mM에서
 0.005mM까지 倍數稀釋하여 各 濃度別로 含有되는
 MH agar에 上記와 같이 接種 및 培養하여 菌發育
 有無를 보아 供試菌의 最小發育阻止濃度(minimum
 inhibitory concentration, MIC)를 決定하였다.

Colicin 및 hemolysin產生檢査: Colicin 產生檢査는
 Harnett와 Gyles⁵¹의 方法에 準하여 供試菌을 LB
 (Luria-Bertani) agar에 37°C, 1夜 培養하여 chloroform
 蒸氣로 30分동안 死菌처리한 다음, 이 培地에 *E coli*
 ML1410이 含有된 soft agar(0.6% agar)로 重層培養

Table 1. Bacteria and plasmids used in this study

Bacterial strains or plasmids	Relevant genetic markers*
<i>E. coli</i> K-12	
ML1410	F ⁻ , <i>met</i> , <i>nal</i> ⁻
SG1	Rifampin-resistant mutant of Hfr W1895
SG3	Rifampin-resistant mutant of <i>E. coli</i> 921 <i>met</i> , <i>thr</i> , <i>thi</i> , <i>leu</i> , <i>lac</i> , r _k ⁻ m _k ⁻
Plasmid	
R 27 (H1)** Tc	
R478 (H2) Tc·Cm·Km	
R144 (I _a) Km	
R386 (F1) Tc	
R124 (FIV) Tc	

* *met*, methionine; *thr*, threonine; *thi*, thiamine; *leu*, leucine; *nal*, nalidixic acid; Tc, tetracycline; Cm, chloramphenicol; Km, kanamycin; r_k⁻ m_k⁻, restriction and modification deficient.

** incompatibility group.

하였다. Colicin產生能은 供試菌 集落주위에 抑制帶의 形成有無로 判定하였다.

hemolysin產生檢査는 5%綿羊血液이 含有된 培地에서 實施하였으며, 產生能은 集落주위에 lytic zone의 形成有無로 判定하였다.

傳達性試驗 : 抗菌劑 및 重金屬耐性과 citrate 利用能 등의 傳達性檢査는 Ishiguro et al⁵²의 方法에 準하였으며, 被傳達菌으로는 各 藥劑에 感受性이나 Na에 耐性인 *E. coli* ML1410과 Rf에 耐性인 *E. coli* SG₃ (Table 1)를 使用하였다. 供試菌과 被傳達菌을 BHIB 및 MH broth에 37°C 18~24時間 培養한 菌液 0.2ml 적을 取하여 4ml의 BHIB 및 MH broth에 1:1로 混合하여 37°C 1夜 培養하였다. 이 混合培養液을 供試菌의 marker藥劑와 Na 또는 Rf가 含有된 選擇培地에 塗抹培養한 다음, 菌의 發育有無로써 傳達性을 判定하였다.

Fertility inhibition檢査 : 傳達性 R plasmid의 fertility inhibition 檢査는 Ishiguro et al⁵²의 方法에 따라 male specific phage f2를 使用하여 surface spot 法으로 實施하였다. 供試菌의 R plasmid를 *E. coli* ML1410에 傳達시켜 이의 傳達性을 確認한 後, *E. coli* SG1 (Table 1)에 傳達하여 LB broth에 18時間 培養한 다음, LB agar面에 塗抹하고 phage f2溶液을 加하여 6時間 培養後에 lytic zone의 形成有無로 Fi型을 區別하였다.

非適合性試驗 : Table 1의 標準 R plasmid를 使用하여 Datta et al⁵³의 方法에 따라 供試菌의 R plasmid를 *E. coli* ML1410에 傳達시킨 것은 供與菌으로, 標準 R plasmid를 *E. coli* SG3에 傳達시킨 것은 被傳達菌으로 하여 非適合性試驗을 實施하였다. 供與菌과 被傳達菌을 BHIB에 37°C 18時間 培養한 菌液을 0.2ml씩 取하여 4ml BHIB에 37°C 1夜 培養한 다음, 이 混合培養液을 供與菌의 R plasmid 耐性藥劑와 Rf가 混合된 BHIA에 塗抹培養하였다. 여기에 형성된 集落 20個를 取하여 供與菌 R plasmid 耐性藥劑, 標準 R plasmid 耐性藥劑, 供與 및 標準 R plasmid 耐性藥劑가 含有된 3個의 BHIA에 다시 培養하였다. 供與菌의 R plasmid 耐性藥劑가 含有된 培地에서만 發育하고 그 以外의 培地에서는 發育하지 않는 것을 確認한 다음, 이를 逆으로 反復實驗하여 같은 結果일 경우에 供試標準 R plasmid와 같은 非適合性群으로 判定하였다.

Plasmid DNA 分離 : plasmid DNA의 分離는 Maniatis et al⁷⁶의 alkaline lysis 方法으로 實施하였다. 供試菌을 5ml LB broth에 37°C 8時間 振盪培養한 다음, chloramphenicol 170μg/ml적을 加하여 다시 5時間 振盪培養하고, 이를 15,000rpm으로 遠心分離하여 菌體를 沈澱시켰다. 그 後 菌體에 100μl GET 溶液(50mM glucose, 10mM EDTA, 25mM Tris-Cl, pH8.0), 4mg Lysozyme, 200μl Lysing solution(1N NaOH, 10% sodium dodecyl sulfate), 150μl potassium acetate液(5M potassium acetate, glacial acetic acid, pH4.8)을 차례로 加하고 遠心分離하여 上清液과 同量의 phenol/chloroform으로 3回 懸濁, 遠心分離하였다. 遠心上清液에 2倍量의 ethanol을 加하고 -70°C에서 定置한 後 電氣泳動의 材料로 使用하였다.

Agarose gel electrophoresis : agarose를 TBE溶液(0.089M Tris-borate, 0.089M boric acid, 0.008M EDTA)으로 0.7% 되게 만든 gel에 plasmid DNA와 Loading buffer(0.05% bromophenol blue, 8% sucrose) 混合液을 各 well에 넣은 다음, horizontal apparatus에서 100 volt, 3時間 30分間 展開시켰다. 展開後 0.5 μg/ml ethidium bromide에 30分 染色하여 紫外線 照射下에서 plasmid DNA를 確認하고 polaroid type 667 film으로 사진촬영하였다. 分子量測定을 위하여는 *E. coli* V517과 R16 plasmid(69Md)를 marker로 使用하였다.

血清抵抗性檢査 : 血清抵抗性은 Helmuth et al⁴²의 方法에 準하여 實施하였으며, 血清은 guinea pig의 心血을 採은에 1時間, 4°C 3時間 放置한 後 遠心分離하여 供試菌과 凝集되지 않음을 確認한 다음, 0.22μm filter

로 여과멸균하여 使用하였다.

供試菌株를 LB broth에 37°C 1夜 培養하여 PBS (phosphate buffered saline)溶液으로 100倍 稀釋한 다음, 이 稀釋菌液 0.1ml와 血清 0.9ml를 混合한 後 37°C에 培養하면서 0, 1 및 3時間일때의 混合培養液을 적당량 取하여 十進稀釋하여 LB agar에 塗抹培養하였다. 判定은 1夜 培養後 0時間의 混合菌液에서 形成된 集落數를 基準으로 1 및 3時間 混合菌液에서의 集落數를 對比해 百分率로 換산하였으며, 그 數值가 100 이상일때를 血清抵抗性으로 하였다.

結 果

비둘기 및 水生鳥類由來 *S typhimurium* var *copenhagen* 166株에 대한 抗菌劑 感受性試驗을 實施한 結果는 Table 2와 같이 Am, Cm, Gm, Km 및 Su에서는 100%의 感受性을 나타내었으며, Na에 99.4%, Te 및 Rf에 98.8%, Sm에 92.2%의 感受性을 나타내었다.

S typhimurium var *copenhagen*의 抗菌劑耐性型, 耐性傳達樣相과 傳達性 R plasmid의 fertility inhibition 및 非適合性을 調査한 結果는 供試菌 166株 中 14株 (8.4%)가 耐性을 나타내었으며, 이들의 耐性樣相은 SmTc 耐性菌이 2株(1.2%), SmRf 및 NaRf 耐性菌이 1株(0.6%), Sm耐性菌이 10株(6.0%)로 나타났다. NaRf耐性菌 1株를 除外한 耐性菌 13株의 耐性傳達樣相은 Sm單劑耐性菌 1株(7.7%)에서만 傳達性 R plasmid가 認定되었다.

또한 Sm單劑耐性的 傳達性 R plasmid에 대한 fertility inhibition 結果는 Fi⁻이었으며, 標準 R plasmid와의 非適合性 結果는 Ia 非適合性群으로 分類되었다. 7種의 重金屬에 대한 *S typhimurium* var *copenhagen*

Table 2. Antimicrobial susceptibility of 166 *S typhimurium* var *copenhagen* isolated from pigeons and aquatic birds

Antimicrobial drugs	No. of susceptible strains	%
Ampicillin (Am)	166	100
Chloramphenicol (Cm)	166	100
Gentamicin (Gm)	166	100
Kanamycin (Km)	166	100
Sulfadimethoxine (Su)	166	100
Nalidixic acid (Na)	165	99.4
Tetracycline (Te)	164	98.8
Rifampicin (Rf)	164	98.8
Streptomycin (Sm)	153	92.2

Table 3. Minimum inhibitory concentration (MIC) of 166 *S typhimurium* var *copenhagen* strains to heavy metals

Heavy metals	No. of strains inhibited at MIC (mM)								
	0.01	0.05	0.1	0.5	1.0	2.5	5	10	20
Na ₂ HASO ₄ ·7H ₂ O						160			6
CoCl ₂ ·6H ₂ O						109	57		
K ₂ TeO ₃	1	164		1					
CuSO ₄								79	87
AgNO ₃	1	3	162						
HgCl ₂		166							
Pb(NO ₃) ₂									166

166株의 MIC檢査 結果는 Table 3과 같다. As에서는 6株(3.6%)가 MIC 20mM이었으며, 160株(96.4%)가 MIC 2.5mM이었고, Co에서는 全株가 MIC 5mM이하이었다. Te에서는 1株(0.6%)가 MIC 0.5mM, 165株 (99.4%)가 MIC 0.05mM이하이었다. Ag에서는 全株가 MIC 0.1mM이하, Hg에서는 全株가 MIC 0.05mM이었고, Cu 및 Pb에서는 全株가 MIC 20mM이하이었다.

重金屬에 대한 供試菌 166株의 MIC 分布는 As 및 Te에서는 感受性菌과 耐性菌사이에 뚜렷한 MIC의 차이가 있어서 2峰性 pattern을 나타내었다. Co, Cu, Ag, Hg 및 Pb에서는 感受性菌과 耐性菌이 區別되지 않는 1峰性 pattern을 나타내며, 뚜렷한 MIC의 차이가 認定되지 않았다. As에서 MIC 20mM 6株와 Te에서 MIC 0.5mM 1株는 他菌株보다 MIC차이가 10倍정도 높게 나타나고 있어서 이들 重金屬에 대한 耐性菌이 推定되었다.

이에 따라 各 重金屬別 感受性은 Ag, Hg, Pb, Cu 및 Co에서는 全菌株가 感受性이었으며, Te에 99.4%, As에 96.4%의 感受性을 나타내었다. 이들의 耐性型은 AsTe耐性이 1株(0.6%), As耐性이 5株(3.0%)이었다. 重金屬耐性菌 6株에 대하여 *E coli* ML1410 및 *E coli* SG3를 被傳達菌으로 하여 實施한 傳達性 調査에서 全菌株가 耐性이 傳達되지 않아 重金屬에 대한 傳達性 R plasmid가 認定되지 않았다.

S typhimurium var *copenhagen* 166株의 各種 特性을 알아보기 위하여 colicin 및 hemolysin 產生能, sucrose 및 maltose分解能, citrate利用能과 이들의 傳達性을 調査한 結果 Table 4와 같이 colicin產生 1株 (0.6%), sucrose 分解 12株(7.2%), maltose分解 166株(100%), citrate利用 166株(100%)이었으나, hemolysin產生菌株는 없었다.

Table 4. Biochemical characteristics and transferability of 166 *S typhimurium* var *copenhagen* strains isolated from pigeons and aquatic birds

Characteristics	No. of positive strains (%)	No. of transferable strains
Colicin	1(0.6)	0
Hemolysin	0(0.0)	NT
Sucrose	12(7.2)	NT
Maltose	166(100)	NT
Citrate	166(100)	0

NT: not tested.

Table 5. Classification of 166 *S typhimurium* var *copenhagen* strains by plasmid profile

Plasmid pattern	Plasmid contents [Md]					No. of strains (%)
I	60	33	3.5	3.2		150(90.4)
II	60	29	3.5	3.2		14(8.4)
III	60	15	8.5	7.8	4.2	2(1.2)

Citrate利用 166株 및 colicin產生 1株에 대하여 *E coli* ML1410과 *E coli* SG3를 被傳達菌으로 한 傳達性 檢査에서 全菌株가 被傳達菌에 傳達되지 않았으며, 이

들 形質에 대한 傳達性 plasmid가 認定되지 않았다.

비둘기 및 水生鳥類由來 *S typhimurium* var *copenhagen* 166株에 대하여 plasmid의 保有狀況을 分析하기 위하여 plasmid를 分離, 電氣泳動을 實施한 結果 plasmid數는 4個 혹은 5個이었고, 分子量은 3.2~60 Md이었다. 비둘기由來 148株 및 水生鳥類由來 2株는 3.2, 3.5, 33, 60Md의 4個 plasmid를 保有하고 있었으며, 비둘기由來 14株는 3.2, 3.5, 29, 60Md의 4個 plasmid를, 비둘기由來 2株는 4.2, 7.8, 8.5, 15, 60 Md의 5個 plasmid를 保有하고 있었다. 또한 全菌株가 60Md plasmid를 共通의으로 保有하고 있었다(Fig 1).

S typhimurium var *copenhagen*이 保有하는 plasmid의 數와 分子量에 따라 plasmid profile을 型別하여 보면 Table 5와 같이 plasmid pattern I型(3.2, 3.5, 33, 60Md)이 150株(90.4%)로서 대부분을 차지하였고, II型(3.2, 3.5, 29, 60Md)이 14株(8.4%), III型(4.2, 7.8, 8.5, 15, 60Md)이 2株(1.2%)이었다.

또한 *S typhimurium* var *copenhagen*의 plasmid pattern에 따라 生物型과 비둘기 및 水生鳥類가 棲息하는 公園과의 關係性을 調査한 結果는 Table 6과 같다. plasmid pattern I型에는 生物型으로 biotype 25 hi(120株), 27hi(20株), 25fhi(5株), 25bhi(2株), 27bhi(1株), 9hi(1株), 27hiz(1株)가 屬하였으며, 棲息

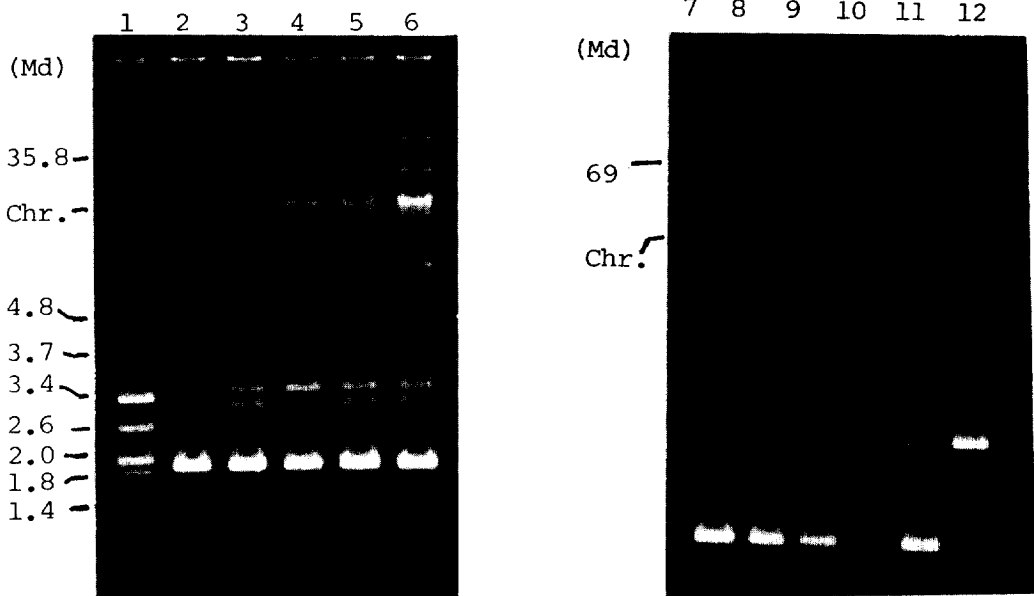


Fig 1. Plasmid profile of *S typhimurium* var *copenhagen* by agarose gel electrophoresis.

Lanes: 1. *E coli* V517, 2. ST 3427, 3. ST 3938, 4. ST 1720, 5. ST 2725, 6. ST 3885, 7. ST 2373, 8. transconjugants of ST 2899, 9. ST 2899, 10. R 16 plasmid, 11. ST 4037, 12. ST 537.

Table 6. Relationship between plasmid patterns and biotypes in 166 *S. typhimurium* var *copenhagen* strains

Plasmid pattern	Biotype	Park*
I	25hi(120), 27hi(20), 25fhi(5), 25bhi(2), 27bhi(1), 9hi(1), 27hiz(1)	A(29), B(63), C(2), D(55), E(1)
II	25hi(9), 27hi(4), 25fhi(1)	A(2), B(7), C(5)
III	25hi(1) 25bhi(1)	B(2)

* A, : the park in Taegu.
 B, C: the parks in Pusan.
 D, E: the parks in Seoul.
 Figures in parentheses are positive strains.

公園으로 大邱 A公園(29株), 釜山 B公園(63株), 釜山 C公園(2株), 서울 D公園(55株) 및 서울 E公園(1株) 由來 菌株이었다(Fig 1, lane 2~4, 6, 7, 9, 11). II型에는 生物型으로 biotype 25hi(9株), 27hi(4株), 25fhi(1株)가 屬하였고, 棲息公園으로 大邱 A公園(2株), 釜山 B公園(7株) 및 釜山 C公園(5株)由來 菌株이었다(Fig 1, lane 5). III型에는 生物型이 biotype 25hi(1株) 및 25bhi(1株)이며, 釜山 B公園由來 菌株뿐이었다(Fig 1, lane 12). 그리고 Sm單劑耐性이며 colicin 產生菌株(Fig 1, lane 9)에 대하여 被傳連菌으로의 傳連後 plasmid 樣相을 調査한 結果 3.2, 3.5, 60Md의 3個 plasmid가 傳連性이 있었다(Fig 1, lane 8).

60Md plasmid DNA保有 供試菌과 guinea pig 血清과의 關係性을 推定하기 위하여 血清抵抗性을 檢査를 實施한 結果는 Table 7과 같다.

plasmid pattern I型 20株, II型 4株 및 III型 1株의 *S. typhimurium* var *copenhagen*은 培養 1時에 114~465%, 培養 3時에 278~2,370%의 증식성을 나타내어 guinea pig의 血清에 대한 抵抗性을 나타내었다. 對照群인 *E. coli* ML1410은 1時에 10%, 3時에 0의 증식성을 보여 血清感受性이었다.

考 察

Salmonella 感染症의 疫學關係를 把握하기 위한 調査方法으로 分離菌의 血清型 및 生物型등을 實施하고 있으나 近年에는 이 屬菌이 保有하고 있는 plasmid를 分析함으로써 보다 正確한 疫學的 意義를 追究하는 傾向이다.²⁶⁻³³

비둘기 및 水生鳥類由來 *S. typhimurium* var *copenhagen* 166株의 抗菌劑耐性에 대한 調査에서 14株

Table 7. Resistance of 25 *S. typhimurium* var *copenhagen* strains to the bactericidal effect of guinea pig serum

Strain no.	Plasmid pattern	% resistance in 90% serum at	
		1 hr	3 hrs
S T 517	I	159**	1,480
S T 645	I	209	1,532
S T 882	I	219	467
S T 1720	I	352	1,150
S T 1874	I	210	787
S T 1887	I	245	2,370
S T 1894	I	253	1,049
S T 2373*	I	148	838
S T 2899	I	179	507
S T 2910	I	250	1,353
S T 3346	I	184	525
S T 3424	I	171	278
S T 3574	I	136	356
S T 3581	I	224	697
S T 3703	I	165	788
S T 3876	I	147	308
S T 3938	I	132	400
S T 4036*	I	202	897
S T 4063	I	186	678
S T 4192	I	114	740
S T 2657	II	249	1,153
S T 2725	II	465	1,507
S T 3358	II	118	326
S T 3904	II	223	1,092
T S 537	III	195	1,532

* isolated from aquatic birds, others isolated from pigeons.

** the percentages of bacterial counts after 1 and 3 hrs to the counts at 0 hr.

(8.4%)만이 Sm, Tc, Rf 및 Na에 耐性을 나타내고 있어서 耐性率과 耐性樣相이 비교적 單調로왔다.

비둘기由來 *S. typhimurium* var *copenhagen*의 藥劑耐性에 관하여 Sawa 및 Hirai⁵⁵은 分離菌의 대부분이 感受性이었으며, Sato et al⁵⁶은 57株 中 3株(5.3%)가 Sm, Tc耐性이었음을 報告하였고, 벨기에의 Pohl et al^{57,58}은 63株 中 1株(1.6%)가 Am耐性이며, 42株 中 7株(16.7%)가 Su, Sm, Tc, Cm, Km에 耐性이었음을 報告하였다. 우리나라의 *Salmonella* 屬菌에 관하여 李等⁵⁹은 사람由來에서 Tc, Sm, Am 및 Cm에, 崔等⁶⁰은 乳牛에서 Sm, cephalothine, Am 및 Tc에, 鄭과 崔⁶⁰은 牛에서 Su와 Sm에, 卓等⁶¹은 豚에서 Tc, Sm, Am

및 Cm에, 金等⁶²은 Sm에, 崔等⁶³은 Su, Sm 및 Tc에 비교적 높은 耐性임을 報告하였고, 耐性率도 30~90%로 높았음을 報告하였다.

이와같이 耐性藥劑와 耐性率은 비둘기由來에서의 成績⁵⁵⁻⁵⁸과는 類似하였으나, 國內의 家畜에 관한 成績^{55, 60-63}과는 많은 차이를 보이고 있었으며, 또한 비둘기由來에서의 耐性出現率이 낮은 것은 抗菌劑를 첨가한 飼料를 급여하지 않기 때문으로 생각되고, 細菌內染色體의 支配를 받고 있는 Na 및 Rf耐性菌이 出現하고 있음은 突然變異에 의한 것으로 推定된다.

藥劑耐性菌의 傳達率은 13株中 1株가 被傳達菌에 耐性이 傳達되어 7.7%의 傳達率을 나타내었다. 이는 牛로 부터 Makino et al⁶⁴이 74.5%, 崔等⁶⁵이 97.8%, 鄭과 崔⁶⁶가 100%, 豚으로 부터 卓等⁶¹이 72.2%, 崔等⁶³이 51.2%, 비둘기로부터 Sawa와 Hirai⁵⁵가 100%의 傳達率을 報告한 것에 비하면 현저히 낮았다. 그러나 豚由來 *Salmonella*屬菌에서 多劑耐性菌보다 單劑耐性菌의 傳達率이 낮다고 한 卓等⁶¹의 成績과는 類似하였다.

*Salmonella*屬菌의 傳達性 R plasmid에 대한 fertility inhibition 調査에서 牛由來로부터 Makino et al⁶⁴은 93.8%가, 崔等⁶⁵은 90.9%가 Fi⁻임을 報告한 바 있으며, 이 研究에서도 Sm耐性 Fi⁻ R plasmid 1株가 認定되었다.

*Salmonella*屬菌이 保有하는 R plasmid의 非適合性에 관한 調査에서 Sato와 Terakado⁶⁶는 송아지由來에서 46.9%가 Ia이며, 崔等⁶⁶은 牛 및 豚由來에서 57.7%가 Ia群이었고, 캐나다의 Benzanson et al⁶⁷은 사람, 家畜 및 食品由來에서 Ia群이 가장 많음을 報告한 바 있다. 이 研究에서도 傳達性 R plasmid 1例가 Ia群으로서 上記 研究者들의 成績⁶⁵⁻⁶⁷과 일치하고 있었으나, 本 試驗에서 傳達性 R plasmid 保有菌이 1株뿐이어서 非適合性群에 의한 疫學의 分析은 어려운 實情이었다.

各種 重金屬은 細菌의 단백질合成과 호흡을 방해하고 細菌內 酵素와 結合하여 기능을 잃게 함으로써 細菌에 대한 毒作用을 發現하기 때문에 이들 細菌도 重金屬에 대한 耐性을 가지는 것으로 알려지고 있다.^{8,9}

S typhimurium var *copenhagen* 166株의 重金屬에 대한 MIC分布는 As, Cu 및 Pb에서 20mM이하, Co에서 5mM, Te에서 0.5mM, Ag에서 0.1mM, Hg에서 0.05mM 이하의 MIC를 나타내고 있었으며, 이들 MIC의 차이에 따른 結果로 비둘기 볼 때 166株中 6株(3.6%)가 耐性菌이었고, 重金屬別로는 As 耐性이 6株(3.6%), Te耐性이 1株(0.6%)이었다.

*Salmonella*屬菌의 重金屬에 대한 MIC 調査는 거의 없는 實情이며, *E coli*에서 Harnett와 Gyles⁵¹이 As에 12.5mM, Hg에 0.1mM, Ag에 2.5mM, Co에 2mM, Cu에 4mM, Te에 0.02mM, Pb에 1mM 또는 그 이상을 耐性菌으로 報告한 바 있다. 따라서 本 試驗에서 As(20mM), Co(5mM), Te(0.05mM), Ag(0.1mM) 및 Hg(0.05mM)의 MIC와는 類似하였으나, Cu(20mM) 및 Pb(20mM)의 MIC와는 많은 차이가 認定되고 있어서 그 正確한 原因은 不明하나 菌種차이에 起因되는 것으로 推定되어 진다.

重金屬 耐性率에 관하여 Makino et al⁶⁴은 牛由來 抗菌劑耐性 *S typhimurium* 124株中 Hg耐性이 25.8%, Te耐性이 8.1%이었음을 報告하였고, 우리나라의 鄭 및 卓⁶⁸은 鷄由來 *E coli*에서 As耐性이 89.0%, Pb耐性이 71.4%, Hg耐性이 16.5%임을 報告한 바 있어서 研究에서의 耐性率(0.6%)보다는 높았다.

이와같은 傾向은 비둘기 및 水生鳥類由來 菌株가 抗菌劑와 重金屬에 대한 露出이 적었기 때문인지 그 正確한 이유는 不明하다. 그리고 供試菌 166株는 대부분이 sucrose非分解能이었으나 12株(7.2%)만이 sucrose分解能이었으며, 重金屬耐性菌 6株는 sucrose分解能이 認定되고 있었다.

비둘기由來 *S typhimurium* var *copenhagen*은 다른 宿主由來 菌株와는 달리 maltose非分解性이며 家畜의 感染源이 되지 않을 것으로 推定되어 왔으나,^{69,70} 日本의 Sato et al⁶⁶은 비둘기由來 *S typhimurium* var *copenhagen* 全菌株가 maltose를 分解하며 사람, 닭 및 野生鳥類由來의 *S typhimurium* var *copenhagen*과는 生物學的 性狀이 同一하고 다른 動物에의 感染源이 될 수 있음을 강조하였다.

이 研究에서도 비둘기 및 水生鳥類由來 *S typhimurium* var *copenhagen* 全菌株(166株)가 maltose 分解能이었으며 Sato et al⁶⁶의 成績과 일치하고 있어서 다른 動物에의 感染源이 될 수 있음을 示唆하고 있다.

Colicin은 宿主細胞에는 영향을 미치지 않으나 오직 同種 또는 異種 細菌에 대한 殺菌作用을 가지기 때문에 이들 產生菌이 腸管內에 存在할 때에는 이들 菌단이 선택적으로 增殖하여 疾病을 더욱 악화시킨다.^{15,16}

*Salmonella*屬菌의 colicin產生에 관하여 미국의 Simmons et al⁷¹은 *Salmonella*屬菌 39株中 1株(2.6%)가, Sharma et al⁷²은 分離菌의 2%가 colicin產生菌이었음을 報告하였으며, 우리나라의 河와 朴⁷³은 환자由來 58株에서 colicin產生菌이 없었음을 報告하였다. 이와같이 우리나라에서는 *Salmonella*屬菌의 colicin 產生에 관한 報告는 찾아 볼 수 없는 實情이다. 이 研

究에서 *S typhimurium* var *copenhagen* 166株 中 비둘기由來 1株(0.6%)만이 colicin產生株이어서 *Salmonella* 屬菌에서는 매우 드물게 出現함을 알 수 있다.^{71,72}

비둘기 및 水生鳥類由來 *S typhimurium* var *copenhagen*에 있어서 citrate利用能의 傳達性에 관한 調査에서 全菌株가 傳達性 plasmid가 認定되지 않았다. 이는 Ishiguro et al⁷⁴이 牛由來 *S typhimurium* 318株 中 33.6%가 傳達性이 있었으나, 비둘기 및 豚由來 *Salmonella*屬菌에서는 傳達性이 없었음을 報告한 것에 비취볼 때 動物種에 따른 차이로 생각되며, 또한 비둘기由來 *S typhimurium* var *copenhagen*의 citrate利用能은 染色體에 起因되는 것으로 推定된다.

近年에는 *Salmonella*屬菌이 保有하고 있는 plasmid를 分離하여 이들의 數, 分子量 및 pattern을 分析함으로써 보다 正確한 疫學狀況을 追究하고 있는 實情이다.²⁶⁻³³

諸 外國에서 O'bien et al³¹은 사람 및 牛由來 *S typhimurium*으로 부터 100, 9.2, 2.4Kb의 同一한 plasmid를 分離함으로써 사람과 牛間의 傳播可能性을 示唆하였고, Niida et al²⁶은 비둘기 및 사람由來 *S typhimurium*에서 同一한 76.9Md의 傳達性 R plasmid를 확인하여 비둘기가 사람에게의 感染源임을 追究하였다. 또한 Poppe와 Gyles⁴¹은 鳥類由來 *S typhimurium*으로 부터 60Md 혹은 2.3Md의 plasmid를 報告하였고, Tanabe et al²⁷은 송아지由來 *S typhimurium*으로 부터 60Md의 共通의인 plasmid를 報告한 바 있다. 우리나라에서 中岡等⁷⁵은 飼料由來 *S typhimurium* var *copenhagen* 1株로 부터 4.8, 3.6Md plasmid를 分離하였으며, 崔等⁶⁶은 豚 및 牛由來 *Salmonella*屬菌에서 分子量이 1.0~90Md, plasmid數가 1~10個로 多樣함을 報告하였고, 李等⁵⁹은 사람由來 *Salmonella*屬菌에서 分子量이 1.8~70Md, plasmid數가 1~4個임을 報告한 바 있다.

이 研究에서 비둘기 및 水生鳥類由來 *S typhimurium* var *copenhagen* 166株에 대하여 plasmid數를 分析한 結果 plasmid數는 4~5個로서 대체로 많은 傾向이었으며, 分子量은 3.2~60Md으로 先人들의 成績^{31,41,59,75}과 類似하였고, 60Md plasmid가 全菌株에서 共通의으로 나타났다.^{27,41}

한편 plasmid profile에 관하여 Nakamura et al²⁸은 사육지역이 서로 다른 송아지由來 *Salmonella*屬菌으로 부터 120, 60, 50, 3.9Md의 同一한 plasmid pattern을 報告하였고, Tanabe et al²⁷은 송아지由來 *S typhimurium*의 保有 plasmid에 따라 4個의 plasmid pattern으로 分類한 바 있다.

이 研究에서 3個의 plasmid pattern으로 型別되었고, 166株 中 90.4%가 plasmid pattern I型(3.2, 3.5, 33, 60Md)에 屬하여 主流를 이루고 있었으며, 또한 서울, 부산 및 대구에 광범하게 分布되어 있었다.

따라서 plasmid profile은 上記 報告²⁶⁻³³와 같이 分離지역과 動物種에 따라 多樣하게 나타나고 있으며, 이 실험에서 비둘기由來 *S typhimurium* var *copenhagen*의 保有 plasmid를 把握하여 듬으로서 앞으로 사람의 이 菌 感染症 發生時 이를 比較, 分析하여 그 感染源을 說明하는데 도움이 될 것으로 생각된다.

疫學狀況을 分析하기 위하여 실시하는 生物型, 藥劑耐性型, phage型 및 plasmid profile 등의 比較에 관한 調査에서 Wray et al²⁹은 同一한 phage型인 *S typhimurium* DT 204c로 부터 生物型이 2個型으로, plasmid pattern이 7個型으로 分類되고 있어서 plasmid profile을 分析하는 것이 보다 有用함을 報告하였고, Brunner et al³⁶도 plasmid profile이 生物型 및 耐性型보다 효과적임을 報告한 바 있다.³⁴

이 研究에서 藥劑耐性型은 매우 單調로워 疫學的 意義가 없었으며, plasmid pattern은 3個型으로, 生物型은 7個型으로 分類되고 있어 生物型이 보다 細分됨을 알 수 있었으며, plasmid pattern과 生物型과는 明確한 疫學的 차이가 認定되지 않았다.

따라서 廣範圍한 지역과 相異한 動物을 대상으로 한 疫學的 調査에는 上記 先人들의 成績^{29,34,36}과 같이 plasmid profile이 효과적일 것으로 推測되나, 한정된 지역내에 飼育되는 動物에 대해서는 plasmid profile뿐만 아니라 生物型的 調査도 並行되어야 할 것으로 생각된다.

*Salmonella*屬菌의 plasmid에 起因하는 病原性에 관하여 Jones et al³⁹은 60Md plasmid 保有 *S typhimurium*이 mouse에 대한 病原性이 있음을 報告한 以來, Terakado et al⁴⁰은 *S dublin*에서 50Md plasmid가, Nakamura et al⁴⁷은 *S enteritidis*에서 36Md plasmid가, Barrow et al⁴⁵은 *S gallinarum*에서 85Kb plasmid가 病原性이 있음을 報告하였다.

또한 Helmuth et al⁴²은 *S typhimurium*의 60Md plasmid가 guinea pig 血清에 대한 抵抗性이 있음을 報告하였고, Hackett et al⁴⁴은 사람血清에 대한 抵抗性을 報告한 바 있다.

이 研究에서 60Md plasmid를 保有하는 *S typhimurium* var *copenhagen*도 上記 研究者들의 成績^{39,42,44}과 같이 guinea pig血清에 대한 抵抗性이 認定되고 있었다.

따라서 우리나라의 公園에 棲息하는 비둘기 및 水生

鳥類로 부터 分離된 *S typhimurium* var *copenhagen* 에도 病原性 因子로 알려져 있는 60Md plasmid를 保有하고 있어서 사람의 感染時 더욱 問題視될 것으로 推定되고 있다.

結 論

公園에서 飼育되고 있는 비둘기에서 分離한 164株와 水生鳥類에서 分離한 2株등 總 166株의 *Salmonella*(*S*) *typhimurium* var *copenhagen*에 대한 遺傳學的 研究를 實施한 結果는 다음과 같다.

供試菌 166株의 各種 抗菌劑에 대한 耐性은 streptomycin에 13株(7.8%), tetracycline에 2株(1.2%), rifampicin에 2株(1.2%), nalidixic acid에 1株(0.6%) 등 14株(8.4%)가 耐性菌이었으며, ampicillin, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin 또는 sulfadimethoxine에는 全菌株가 感受性이었다.

傳達性 R plasmid가 認定된 1株(7.7%)는 fertility inhibition⁻이며, Ia非適合性群이었다.

Cobalt chloride, cupric sulfate, lead nitrate, mercuric chloride, potassium tellurite(Te), silver nitrate, sodium arsenate(As)에 대한 耐性菌은 166株 中 6株(3.6%)이었으며, 重金屬別로는 As耐性 6株(3.6%), Te耐性 1株(0.6%)이었고, 그외의 重金屬에는 感受性이었다.

供試菌 166株 中 colicin產生能인 있는 것은 1株(0.6%), sucrose分解能인 있는 것은 12株(7.2%)이었고, maltose分解能은 全菌株에서 認定되었다.

Colicin產生能과 citrate利用能에 대한 傳達性 plasmid는 認定되지 않았다.

비둘기 및 水生鳥類由來 *S typhimurium* var *copenhagen* 166株의 plasmid 保有狀況은 plasmid數가 4個 혹은 5個이었고, 分子量이 3.2~60 megadalton(Md)이었으며, 60Md plasmid가 共通的으로 나타났다. plasmid pattern은 I型(3.2, 3.5, 33, 60Md)이 150株(90.4%)이며, II型(3.2, 3.5, 29, 60Md)이 14株(8.4%)이었고, III型(4.2, 7.8, 8.5, 15, 60Md)이 2株(1.2%)이었다.

60Md plasmid保有 *S typhimurium* var *copenhagen* 은 guinea pig의 血清에 대한 抵抗性이 認定되었다.

參 考 文 獻

1. Linton AH. *Guidelines on prevention and control of Salmonellosis*. WHO. Geneva: 1983;10~128.
2. WHO scientific workinggroup. *Enteric infections due to Campylobacter, Yersinia, Salmonella, and Shigella*. WHO. Geneva: 1980;13~18.
3. Gillespie JH, Timoney JF. *Hagan and Brunner's infectious diseases of domestic animals*. 8th ed. Cornell University Press: Ithaca and London, 1988; 74~86.
4. Sato G, Furuta Y, Kodama H, et al. Enzootic occurrence of chloramphenicolresistant *Salmonella typhimurium* var *copenhagen* in a calf population. *Am J Vet Res* 1975;36:839~841.
5. 崔源弼, 李熙碩, 呂相健 等. 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: 1. 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.
6. 설성용, 조성만, 전도기. 가축유래 대장균의 항균제 내성 및 R plasmid. *대한화학요법학회지* 1984; 2:144~166.
7. Anderson ES. Drug resistance in *Salmonella typhimurium* and its implications. *Brit Med J* 1968; 3:333~339.
8. Foster TJ. Plasmid-determined resistance to antimicrobial drugs and toxic metal ions in bacteria. *Microb Rev* 1983; 47:361~409.
9. McHugh GL, Moeller RC, Hopkins CC, et al. *Salmonella typhimurium* resistant to silver nitrate, chloramphenicol, and ampicillin. *The Lancet* 1975;7901~7905.
10. Meynell E, Meynell GG, Datta N. Phylogenetic relationships of drug-resistance factors and other transmissible bacterial plasmids. *Bact Rev* 1968; 32:55~83.
11. Clowes RC. Molecular structure of bacterial plasmids. *Bact Rev* 1972;36:361~405.
12. Clewell DB. Plasmids, drug resistance, and gene transfer in the genus *Streptococcus*. *Micro Rev* 1981;45:409~436.
13. Smith GR. Homologous recombination in procar-yotes. *Micro Rev* 1988;52:1~28.
14. Hardy K. *Bacterial plasmids*. 1st ed. Thomas Nelson and Sons, 1981.
15. Stephen J, Pietrowski RA. *Bacterial toxins*. 1st ed. Thomas Nelson and Sons, 1981.
16. Novick R. Plasmid incompatibility. *Micro Rev* 1987; 51:381~395.
17. Ewing WH. *Edward and Ewing's identification*

- of Enterobacteriaceae. 4th ed. Elsevier, 1986.
18. Threlfall EJ, Ward LR, Rowe B. Epidemic spread of a chloramphenicolresistant strain of *Salmonella typhimurium* phage type 204 in bovine animals in Britain. *Vet Rec* 1978;103:438~440.
 19. Timoney JF. The epidemiology and genetics of antibiotic resistance of *Salmonella typhimurium* isolated from diseased animals in New York. *J Infect Dis* 1978; 137:67~73.
 20. Riley LW, Ceballos BSO, Trabulsi LR, et al. The significance of hospitals as reservoirs for endemic multiresistant *Salmonella typhimurium* causing infection in Urban Brazilian children. *J Infect Dis* 1984; 150:236~241.
 21. Brandis G. Die lysotypie von *Salmonella* der enteritidis gruppe mit besonderer berucksichtigung von *S typhimurium*. *Zbl Backl Ref* 1988; 222: 232~244.
 22. Duguid JP, Anderson ES, Alfreson GA, et al. A new biotyping scheme for its phylogenetic significance. *J Med Microbiol* 1974;8:149~166.
 23. Craven PC, Mackel DC, Baine WB, et al. International outbreak of *Salmonella eastbourne* infection traced to contaminated chocolate. *Lancet* 1975;788~792.
 24. Rowe B, Threlfall EJ, Ward LR, et al. International spread of multi-resistant strains of *Salmonella typhimurium* phage type 204 and 193 from Britain to Europe. *Vet Rec* 1979; 105: 468~469.
 25. Ryder RW, Blake PA, Murlim GP, et al. Increase in antibiotic resistance among isolates of *Salmonella* in the United States, 1967~1975. *J Infect Dis* 1980;142:485~491.
 26. Niida M, Ishiguro N, Shinagawa M, et al. Genetic and molecular characterization of conjugative R plasmids detected in *Salmonella* strains isolated from humans and feral pigeons in the same district. *Jpn J Vet Sci* 1983; 45: 647~658.
 27. Tanabe M, Ishiguro N, Shinagawa M, et al. An epidemic of multiresistant *Salmonella typhimurium* with a characteristic plasmid profile among calves in Tokachi distrit, Japan. *Jpn J Vet Sci* 1988; 50:1025~1034.
 28. Nakamura M, Ohmae K, Sato S, et al. Isolation of *Salmonella* from apparently healthy fattening male dairy calves and fattening pigs and stability of plasmids in the isolates. *Jpn J Vet Sci* 1985; 47:379~384.
 29. Wray C, McLaren C, Parkinson NM, et al. Differentiation of *Salmonella typhimurium* DT 204c by plasmid profile and biotyping. *Vet Rec* 1987; 121:514~516.
 30. Riley LW, Diferdinando GT, DeMeelfi TM, et al. Evaluation of isolated cases of Salmonellosis by plasmid profile analysis: Introduction and transmission of a bacterial clone by precooked roast beef. *J Infect Dis* 1983; 148:12~17.
 31. O'bien TF, Hopkins JD, Gilleece ES. Molecular epidemiology of antibiotic resistance in *Salmonella* from animals and human beings in the United States. *New Engl J Med* 1982; 307:1~6.
 32. Taylor DN, Wachsmuth IK, Shangkuan YH. Salmonellosis associated with marijuana: a multistate outbreak traced by plasmid fingerprinting. *New Engl J Med* 1982; 306:1249~1253.
 33. Farrar WE. Molecular analysis of plasmids in epidemiologic investigation *J Infect Dis* 1983; 148:1~6.
 34. Homberg SD, Wachsmuth IK, Brenner FWH, et al. Comparison of plasmid profile analysis, phage typing, and antimicrobial susceptibility testing in characterizing *Salmonella typhimurium* isolates from outbreaks. *J Clin Micro* 1984; 19:100~104.
 35. Nakamura M, Sato S, Ohya T, et al. Plasmid profile analysis in epidemiological studies of animal *Salmonella typhimurium* infection in Japan. *J Infect Dis* 1986; 23:360~365.
 36. Brunner F, Margadant A, Peduzzi R, et al. The plasmid patterns as an epidemiological tool for *Salmonella typhimurium* epidemics: comparison with the lysotype. *J Infect Dis* 1983; 148:7~11.
 37. Murray MJ. *Salmonella*: virulence factors and enteric Salmonellosis. *J A V M A* 1986; 189: 145~147.
 38. Suzuki S, Ohmal K, Nakamura M, et al. Demonstration of the correlation of a 36-megadalton *Salmonella* serovar enteritidis plasmid to virulence

- in mice by reintroduction of the plasmid. *Jpn J Vet Res* 1988; 51:203~205.
39. Jones GW, Rabert DK, Svinarich DM, et al. Association of adhesive, invasive, and virulent phenotypes of *Salmonella typhimurium* with autonomous 60-megadalton plasmids. *Infect Immun* 1982; 38:476~486.
 40. 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.
 41. Poppe G, Gyles CL. Relation of plasmids to virulence and other properties of *Salmonella* from avian sources. *Avian Disease* 1987; 34: 844~854.
 42. 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.
 43. Gulig PA, Curtiss R. Plasmid-associated virulence of *Salmonella typhimurium*. *Infect Immun* 1987; 55:2891~2901.
 44. Hackett J, Wyk P, Reeves P, et al. Mediation of serum resistance in *Salmonella typhimurium* by an 11-kilodalton polypeptide encoded by the cryptic plasmid. *J Infect Dis* 1987; 155:540~549.
 45. Barrow PA, Simpson JM, Lovell MA, et al. Contribution of *Salmonella gallinarum* large plasmid toward virulence in fowl typhoid. *Infect Immun* 1987; 55:388~392.
 46. Hackett J, Kotlarski I, Mathan V, et al. The colonization of peyer's patches by a strain of *Salmonella typhimurium* cured of the cryptic plasmid. *J Infect Dis* 1986; 153:1119~1125.
 47. 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.
 48. 朴魯燦, 崔源弼, 李熙碩. 비둘기와 수생조류에서分離한 *Salmonella* 屬菌의 血清型 및 生物型. 大韓獸醫學會誌, 1990; 30:193~201.
 49. Maclowry JD, Jaqua MJ, Selepak ST. Detailed methodology and implementation of a semi-automated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. *Appl Micro* 1970; 20:46~53.
 50. Steers E, Foltz EL, Gravies BS. An inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiot Chemother* 1959; 9:307~311.
 51. Harnett NM, Gyles CL. Resistance to drugs and heavy metals, colicin production, and biochemical characteristics of selected bovine and porcine *Escherichia coli* strains. *Appl Environ Micro* 1984; 48:930~935.
 52. Ishiguro NI, Sato G, Ichijio S, 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.
 53. Patta N, Olarta J. R factors in strains of *Salmonella typhi* and *Shigella dysenteriae* 1 isolated during epidemics in Mexico: classification by compatibility. *Antimicro Chemother* 1974; 5: 310~317.
 54. Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J. Molecular cloning. 1st ed. Cold Spring Harbor 1982; 365~373.
 55. Sawa H, Hirai K. An outbreak of *Salmonella typhimurium* subserovar *copenhagen* infection in pigeons imported from Hong Kong. *Jpn J Vet Sci* 1981; 43:277~279.
 56. Sato G, Ishiguro N, Asagi M, et al. Biochemical characteristics and in-vitro drug sensitivity of *Salmonella typhimurium*, *copenhagen* variety isolated from domestic and feral pigeons, crows, a kite, chickens and animals in Japan. *Jpn J Vet Sci* 1977; 39:609~617.
 57. Pohl P, Lintermans P, Schlicker C, et al. *Salmonella* des animaux, des viandes et des farines, isolées en Belgique au cours de 1982. *Ann Med Vet* 1983; 127:603~613.
 58. Pohl P, Lintermans P, Schlicker C, et al. *Salmonella* des animaux, des viandes et des farines, isolées en Belgique au cours de 1983. *Ann Med Vet* 1984; 128:211~219.
 59. 이복권, 김기상, 이영희 등. *Salmonella* 속군의

- 항균제내성 및 R plasmid. 대한미생물학회지 1988; 23:567.
60. 鄭錫贊, 崔源弼. 牛 由來의 *Salmonella* 屬菌에 대하여. 大韓獸醫學會誌 1986; 26:79~85.
61. 卓鍊斌, 金永洪, 朴清圭. 家畜腸內 細菌의 抗生物質에 대한 感受性 및 傳達性 耐性因子에 관한 研究. 韓國獸醫公衆保健學會誌 1979; 3:23~28.
62. 金鳳煥, 李在鎭, 金基錫 等. 動物由來 病原細菌의 各種 抗生物質에 대한 感受性調查. 大韓獸醫學會誌 1980; 20:85~92.
63. 崔源弼, 李熙碩, 呂相建 等. 養豚場에 있어서 *Salmonella* 感染症의 疫學的인 研究: Ⅱ. *Salmonella* 屬菌의 藥劑耐性 및 傳達性 R plasmid. 大韓獸醫學會誌 1986; 26:229~235.
64. Makino S, Ishiguro N, Sato G. Change of drug resistance patterns and genetic properties of R plasmids in *Salmonella typhimurium* of bovine origin isolated from 1970 to 1979 in northern Japan. *J Hyg Camb* 1981; 87:257~269.
65. Sato G, Terakato N. R factors types found in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* isolated from calves in a confined environment. *Am J Vet Sci* 1977; 38:743~747.
66. 崔源弼, 李熙碩, 呂相建 等. 牛, 豚에서 분리한 *Salmonella* 由來 R plasmid의 유전학적 및 분자생물학적 성상에 관한 연구: Ⅱ. R plasmid의 미적합성 및 plasmid profile. 대한수의학회지 1989; 29:59~67.
67. Benzanson GS, Pauze M, Lior H. Antibiotic resistance and R-plasmids in food chain *Salmonella*: evidence of plasmid relatedness. *Appl Environ Micro* 1981; 41:585~592.
68. 鄭有珠, 卓鍊斌. 닭에서 分離한 *Escherichia coli* 의 重金屬 및 抗生物質耐性에 관하여. 韓國獸醫公衆保健學會誌 1981; 5:25~29.
69. Smyser CF, Snoeyenbos GH. A pigeon host-adapted type of *Salmonella typhimurium* var *copenhagen*. *Avian Disease* 1972; 16:279~297.
70. Hofstad MS, Barnes HJ, Calnek BW, et al. Diseases of poultry, 8th ed. Iowa state university press 1984; 65~129.
71. Simmons KW, Wooley RE, Brown J. Comparison of virulence factors and R plasmids of *Salmonella* spp. isolated from healthy and ill swine. *Appl Environ Micro* 1988; 54:760~767.
72. Sharma PL, Sharma KB, Prakash K. Colicin producton and coexistence of col plasmid with R plasmid in *Salmonella*. *Indian J Med Res* 1984; 79:591~593.
73. 河大有, 朴日圭. 腸內細菌의 藥劑耐性, 第2報, 全南에서 分離한 *Salmonella*의 耐性傳達因子 및 Colicin 感受性. 대한의학회지 1971; 14:67~72.
74. Ishiguro N, Hirose K, Sato G. Distribution of citrate utilization plasmids in *Salmonella* strains of bovine origin in Japan. *Appl Environ Micro* 1980; 40:446~451.
75. 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 Plasmid의 檢出. 서울대학교 獸醫大論文集 1985; 10:145~154.