

부산 근교의 수계환경과 설사환자로 부터 분리된 *Plesiomonas shigelloides*의 세균학적 특성

성희경* · 장동석¹ · 이원재² · 김용호 · 이정화

인제대학교 부산백병원 임상병리과, ¹부산수산대학교 식품공학과, ²미생물학과

수계에 분포하고 있는 *Plesiomonas shigelloides* 균을 분리, 동정하고 임상유래균과의 세균학적 특성을 비교 검토하였다. 부산근교인 구포에서 채수된 시료중 1개의 시료, 물금에서는 2개의 시료에서 *P. shigelloides*가 분리, 동정되었으나 해운대, 수영, 다대포, 낙동강하구언, 강동 등에서 채수된 시료에서는 분리되지 않았다. 분리균의 최적 증식조건은 peptone water에 25~35°C, pH 7.5~8.0, NaCl농도는 1% 이하였고, 선택성 증균배지로서는 alkaline peptone water에 inositol을 첨가한 것이 증식이 가장 우수하였다. 생화학적 특성에 있어서는 DNase가 다른 연구 결과와는 달리 느리게 생성되었고, 지방산 조성은 C₁₂~C₁₈로 3-hydroxylate 지방산이 3%, cyclopropane (C_{17:0})이 0~10%, hexadecanoic acid(C_{16:0})가 25~30%, hexadecenoic acid(C_{16:1})가 32~43%, octadecanoic acid(C_{18:0})가 1~2%, octadecenoic acid(C_{18:1})가 9~14% 등으로 나타났다. 임상유래 균주와 수계에서 분리한 균주의 생화학적 특성 및 항생제 감수성, 지방산 조성은 비슷하였다. 환자에서 분리된 균주가 수계에서 분리한 균주보다 lactose 분해속도가 빨랐고, chloramphenicol에 대한 내성을 나타내는 균주가 있었지만 수계에서 분리된 균주는 내성을 나타내지 않았다. 지방산 조성에서 임상유래 균주는 C_{17:0 cyclo} 0~2%, C_{18:0} 2~3%였으나, 수계의 균주에서는 각각 2~10%, 1~2%로 양적인 차이를 보였다.

KEY WORDS □ *Plesiomonas shigelloides*, biochemical and physiological characteristics

최근 첨단장비 및 분석기술의 발달에 힘입어 세균학에 있어서도 과거에는 문제시되지 않았던 세균들이 새로운 연구대상으로 되고 있다. 장관감염(腸管感染)의 분야에 있어서도 하리증(下痢症) 식중독 원인세균은 물론이고 이와 유사한 증세를 나타내는 세균들에 대한 역학이나 임상, 병원성 등에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나 아직도 식중독의 발생원인이 규명되지 않는 것이 상당수 차지하고 있는데, 이들 식중독들이 대부분 여름철에 발생되고 있어서 그 원인이 세균이라고 추정되고 있다. 세균성 식중독 원인균중 *Plesiomonas shigelloides*는 1982년 일본 후생성에서 식품위생상 문제균주로 등록하게 되었으며, 최근에는 장외감염으로 뇌막염, 폐혈증 등의 보고와 체내 면역기전이 저하된 사람들로 부터 계속 보고되고 있는 실정이다(2, 13, 21). *P. shigelloides*는 분류상 *Vibrionaceae*과에 속하는 통성혐기성이며 편모를 가지는 무아포 그람음성 간균으로서 운동성이 있고 oxidase 양성이며 포도당은 발효하나 gas는 생성하지 않는다(5, 9, 10, 12, 25, 35). 이 균은 1947년 Ferguson 과 Henderson에 의해 발견된 이래 처음에는 *Shigella sonnei*와 같은 O 항원을 가지고 있음을 발견하고(10) Paracoln C₂₇이라고 보고된(10, 25) 바 있으며, 그 뒤 *Pseudomonas shigelloides* (6), *Pseudomonas nichigami* (25), *Aeromonas shigelloides* (9) 등으로 보고

되었으나, Habs와 Schubert가 지금의 이름인 *Plesiomonas shigelloides*로 명명할 것을 제안하였다(28). 한편 Tsukamoto *et al.*, Van Damme와 Vandepitte, Zakhariyev, Arai *et al.* 등은 이 균의 분포에 관한 연구를 하였고(5, 30, 31, 35), Sakazaki *et al.*, Sanyal *et al.*, Gurwith와 Williams, 塚本과 本下, Binns *et al.*, Pitarangsi *et al.*, Ingram *et al.*, Zakhariyev 등 병원성에 관한 연구는 많지만(1, 2, 7, 11, 13, 21, 22, 24, 26, 31, 35) 뚜렷한 결론을 얻지 못하고 있고, 이 균의 독소 생성에 관한 연구는 Simidu *et al.* (29)이 chromatography법으로 본 균의 독소 생성을 입증하였으나, 구체적인 병원성 여부는 언급된 것이 없다. 그러나 일부 의료원에서 하절기에 설사환자의 분변에서 단독균으로 분리되고 있는 것으로 보아 병원성인 것으로 생각된다(1).

본 연구는 부산지역의 해운대, 수영만, 물금, 구포, 강동 등의 해수, 기수 및 담수 등의 수계에서 *P. shigelloides*를 분리, 동정하고 임상유래 균의 세균학적 특성과 비교 검토한 것이다.

재료 및 방법

채취지역 및 시료

1988년 6월말부터 8월말까지 부산지역 수계의 *P.*

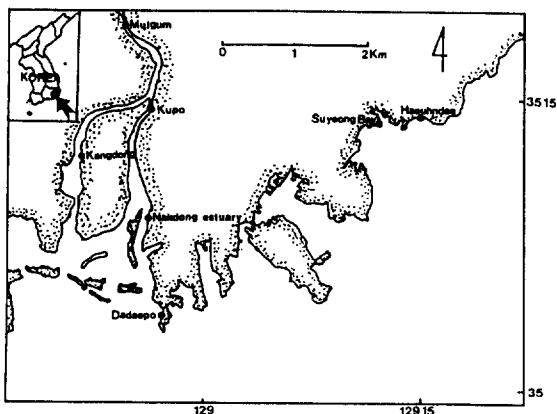


Fig. 1. Location of sampling stations in Pusan area.

*shigelloides*의 분포유무를 확인하기 위해 해운대, 다대포, 수영만, 낙동강 하구언, 물금, 구포, 강동 등에서 해수 20, 기수 10, 담수 60개의 시료를 채수하였고 (Fig. 1), 연세대학교 의과대학에서 분양받은 2균주와 인제대학교 부산백병원에서 1992년 1월부터 7월말까지 심한 설사증세를 호소하는 환자분변에서 검출된 4균주를 사용하였다.

수온, pH, 염분측정

수온은 봉상온도계로 측정하였고, pH는 유리전극 pH meter를 사용하였으며, 염분은 non-flame electrolyte analyzer(Jookoo ION-150 AC)를 사용하여 측정하였다.

분리 및 동정

수계: 분리방법은 Arai *et al.* (3, 5, 18, 23, 24, 32)의 방법에 따랐는데 분리는 Fig. 1의 정점에서 채수하여 해수 및 담수를 각각 100 ml씩 membrane filter (millipore size 0.45 μ m: Whatmann Co.)에 여과하여 여과지를 IBB(inositol brilliant green bile salt, Difco), DHL(deoxycholate lactose agar, Difco), SS (Salmonella Shigella agar, BBL)와 TCBS(thio-sulfate citrate bile salts, Nissui)배지에 각각 두장씩 적고 멸균된 백금으로 희석배양하였다. 접종된 배지는 35°C에서 18~24시간 배양한 다음 IBB에서 회고 분홍색, DHL 및 SS에서는 무색 그리고 TCBS에서는 녹색의 집락을 각각 따서 그람염색과 동시에 혈액한천배지에 배양하여 oxidase와 catalase가 양성인 집락을 TSI(triple sugar iron agar, BBL)와 SIM(sulfide indole motility, BBL)에 접종하였다. 24시간 배양후 H₂S 음성, gas 음성, 사면이 알카리성, 고층이 산성인 것과 SIM상에서 sulfide 음성, indole 및 운동성이 양성인 균주를 선택하였다. 그의 생화학적 실험은 API system(API bioMérieux SA)과 Keman *et al.* (17)의 방법에 준하여 실시하였다. 균의 동정은 Bergey's manual of systematic Bacteriology Vol. I(28)과 Manual of clinical microbiology(33)를

참조하였다.

임상: 설사환자의 분변을 채변 즉시 임상검사에서 MacConkey, SS, HE(hectone enteric agar, BBL), TCBS의 선택 및 감별배지와 selenite F broth (Difco), alkaline peptone water의 선택성 증균배지에 각각 접종하고 35°C에서 18~24시간 후 전술한 수계의 방법으로 균주를 선택하였다.

지방산 분석: Miller의 방법(19)에 따라 지방산을 추출하였다. Trypticase soy broth agar(BBL)에서 28°C, 24시간 배양한 다음 습균체 약 40 mg을 screw cap tube(13×100 mm)에 넣고 50% methanol-15% NaOH 1 ml를 첨가하여 100°C에서 30분간 끓였다. 가수분해물을 실온으로 식혀 methanolic HCl 2 ml를 첨가하고 80°C에서 10분간 가열하여 메틸화시킨 다음 hexane-methyl-tert-butyl ether(1:1 vol/vol) 1.25 ml를 첨가하였다. Fatty acid methyl ester물질을 취한 다음 base washing으로(19) 희석 NaOH 3 ml를 첨가하여 상층액을 분석용 vial에 넣어 분석용 시료로 사용하였다.

Microbial Identification System(MIS, Hewlett-Packard 5890A)으로 fused-silica capillary column (25×0.2 mm)이 부착된 gas liquid chromatography (GLC)를 이용하여 air 40 psi, H₂ 30 psi, N₂ 20 psi의 압력에서 각각 평균속도 400 ml/min, 30 ml/min, 30 ml/min으로 injection temperature 250°C, detection temperature 300°C, oven temperature를 매분 5°C 상승시켜 170°C에서 300°C까지로 하여 FID 검출기로 검출하였다.

*Plesiomonas shigelloides*의 생리 및 생화학적 특성실험

용혈능: 혈액한천배지(사람적혈구와 면양적혈구)에 접종하여 35°C에서 18~24시간 배양후 용혈대 형성 유무를 관찰하였다.

증균배지에 따른 생육정도: BBL 및 Difco 방법에 따라 조성한 각 배지에서의 증식상태를 알아보기 위하여 BHI, thioglycollate medium, alkaline peptone water medium, 그리고 selenite medium에 접종한 다음, 35°C에서 24시간 동안 180 rpm의 속도로 교반배양하여 spectrophotometer (Beckman Junior III, Coleman)로 660 nm에서 측정하였다.

pH 및 온도, NaCl 농도에 대한 영향: 순수배양한 *P. shigelloides*의 pH, 온도, NaCl 농도별 성장차이를 알아보기 위하여 peptone water(Difco)를 pH 3~11, NaCl 농도를 0~10%로 조정하여 35°C에서 24시간 그리고 온도는 5~50°C까지 5°C 간격으로 전술한 증균배지에 따른 생육정도와 같은 요령으로 각각 24시간 동안 배양하여 측정하였다.

DNase 생성능: Deoxyribonuclease의 활성은 Schreier에 의한 방법(27)으로 standard DNase test agar (BBL)에 0.01% toluidine blue O(Sigma)와 0.2% DNA를 첨가시킨 배지를 사용하여 35°C에서 4일간 관찰하였다(34).

Table 1. The distribution of *Plesiomonas shigelloides* isolated from each station and the range of environmental factors in Pusan area (Jun. ~ Oct., 1988).

Sampling stations	Samples	Environmental Factors		
		Temp.(°C)	pH	Salinity(‰)
Dadaepo	0 ^{a)} /10 ^{b)}	23~24	7.7~7.9	24.63~25.41
Haeuhndae	0/10	22~23	8.0~8.2	24.63~25.30
Nakdong estuary	0/15	24~25	7.2~7.5	0.26~0.30
Suyeong Bay	0/10	22~23	7.8~7.9	4.70~4.98
Kupo	1/15	25~27	7.0~7.2	0.28~0.33
Mulgum	2/15	27~28	6.9~7.1	0.25~0.26
Kangdong	0/15	26~28	6.8~7.0	0.28~0.30

^{a)} Number of positive samples.

^{b)} Number of samples examined.

항생제 감수성검사: Disc는 BBL 제품을 사용하였으며 N.C.C.L.S (National Committee for Chemical Laboratory Standards, 1984)에 준하여 디스크 한천 확산법(20)을 적용하였고, 결과는 BBL 판독표에 따랐다.

결과 및 고찰

수계의 *Plesiomonas shigelloides*의 분포

해운대, 수영만, 다대포, 낙동강 하구, 구포, 물금, 강동 등 부산근교에서 채수된 90개의 시료를 대상으로 *P. shigelloides*균의 분포를 조사한 결과 Table 1과 같았다. Table 1에 의하면 구포에서 채수한 15개의 시료중 1개의 시료에서 *P. shigelloides*가 검출되었고, 물금에서는 15개의 시료중 2개의 시료에서 검출되었으나, 다대포, 낙동강 하구, 수영만, 해운대에서 채수된 시료에서는 검출되지 않았다. *P. shigelloides*가 검출된 구포와 물금의 수온, pH와 염분을 보면 검출되지 않은 해운대, 수영만, 다대포와 낙동강 하구보다는 약간 높은 수온으로 27°C 이고, pH는 약간 낮은 6.9~7.1, 염분은 약 10~100배 이상 낮은 0.25~0.33‰로 담수의 염분 농도에 속하였다. Tsukamoto *et al.*은 Toyono 등의 강과 웅덩이에서 38.6%의 양성율을 보고하였고(30), Arai *et al.*은 Tama 강을 중심으로 검출율을 조사한 바에 의하면 담수는 8.9%, 담수어는 10.2%의 양성율을 나타내었다고 보고하였다(5). 이와 같이 *P. shigelloides*는 담수나 담수어에서 검출됨을 알 수 있다. 본 종은 하절기에 설사 환자의 분변에서 검출되고 있어 설사의 원인세균으로 볼 수 있으리라 사료되며(1, 4, 8), 앞으로 이에 관해 폭넓은 연구가 이루어져야겠다.

수계의 *Plesiomonas shigelloides*의 분리 및 동정

본 연구에서는 IBB, DHL, SS와 TCBS 배지상에서 각각 inositol를 이용하고, lactose와 sucrose를 이용하지 않는 세균집락을 따서 이들을 생화학적인 동정

Table 2. Comparison of biochemical characteristics of *Plesiomonas shigelloides* isolated by conventional method.

Test	Clinical sources	Aquatic systems
Gram stain	-	-
Catalase	+	+
Oxidase	+	+
ONPG	+	+
Urease	-	-
DNase	+	+
Methyl red	-	-
Acetoin	-	-
Citrate utilization	-	-
Gelatin liquefaction	-	-
Growth on TSI medium	K/A, H ₂ S(-)	K/A, H ₂ S(-)
Growth on SIM medium	-, +, +	-, +, +
Glucose Gas production	-	-
O-F test	F	F
Acid from lactose	+	+
sucrose	-	-
mannitol	-	-
maltose	+	+
xylose	-	-
inositol	+	+
arabinose	-	-
rhamnose	-	-

Numbers of tested strains were six from clinical sources and three from aquatic systems.

K/A, slant/bottom; K, alkali; A, acid; +, Assimilation; -, No assimilation.

방법으로 분리, 동정하였다(3, 5, 32). 해수인 경우 30개의 시료 중에서 *P. shigelloides*로 추정되는 168균주, 담수는 60개의 시료중 631균주의 집락을 동정하였으나 대부분 *Aeromonas spp.*와 *Vibrio spp.*로 나타났다. 반면 담수지역인 구포에서는 2균주, 물금에서는 7균주의 *P. shigelloides*가 검출되었다. 한편 임상유래균주인 경우 한 균주를 제외하고는 하절기인 6월에서 10월사이에 환자로부터 검출되고 있는 것으로 보아 수온 등 환경인자에 영향을 받고 있음을 알 수 있었으며, 생화학적 특성에 있어서 수계 및 임상유래균주 모두가 탄소원으로 inositol은 빠르게 이용하는 반면 sucrose는 분해시키지 않으며, lactose는 임상유래균주가 수계유래 균주보다 빠르게 이용하고 있음을 알 수 있었다. 대체로 IBB, DHL은 균에 대한 억제력이 약하여 검출 가능성이 높고 일반적으로 *Vibrio spp.*의 분리에 이용되는 TCBS에서도 분리 가능성이 높으리라고 생각했으나, 오히려 이들 모두 선택력이 강한 *Salmonella spp.*의 선택 및 감별배지로 이용되고 있는 SS 배지에서 분리되었는데, 이것은 von Graevenitz와 Bucher(32)의 결과와 같았다. TSI에서 사면이 알칼리성이고 고층이 산성을 나타내었고, 가스 및 황화수소 생성은 없었다. 그러나 48시간 이후는

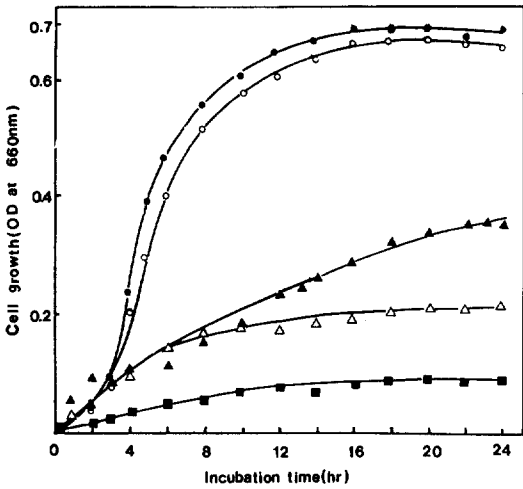


Fig. 2. Effects of various broth media on the growth of *Plesiomonas shigelloides* at 35°C.
 ●-●: Brain heart infusion broth, ○-○ : Thioglycollate broth, ▲-▲: Alkaline peptone water+inositol, △-△: Alkaline peptone water, ■-■: Selenite broth

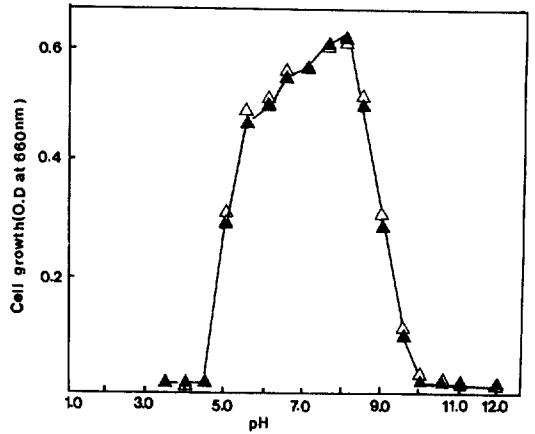


Fig. 4. Effects of pH on the growth of *Plesiomonas shigelloides* in peptone water at 35°C, 24 hrs.
 ▲-▲: Clinical source, △-△: Aquatic system

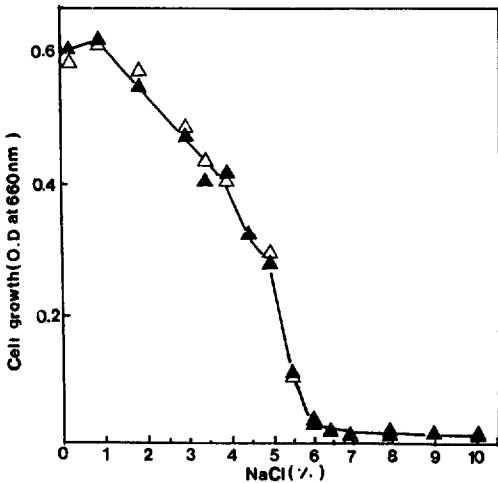


Fig. 3. Effects of NaCl concentration on the growth of *Plesiomonas shigelloides* in peptone water at 37°C, 24 hrs.
 ▲-▲: Clinical source, △-△: Aquatic system

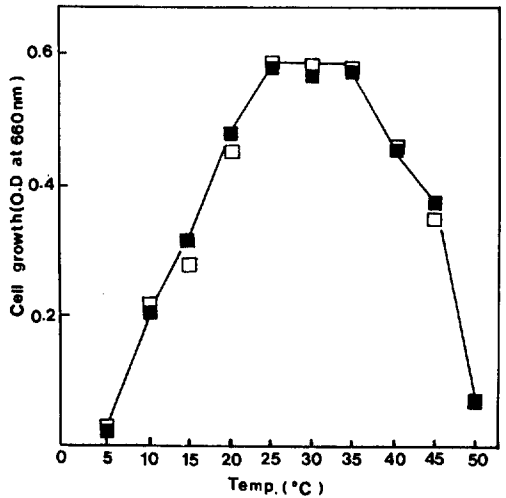
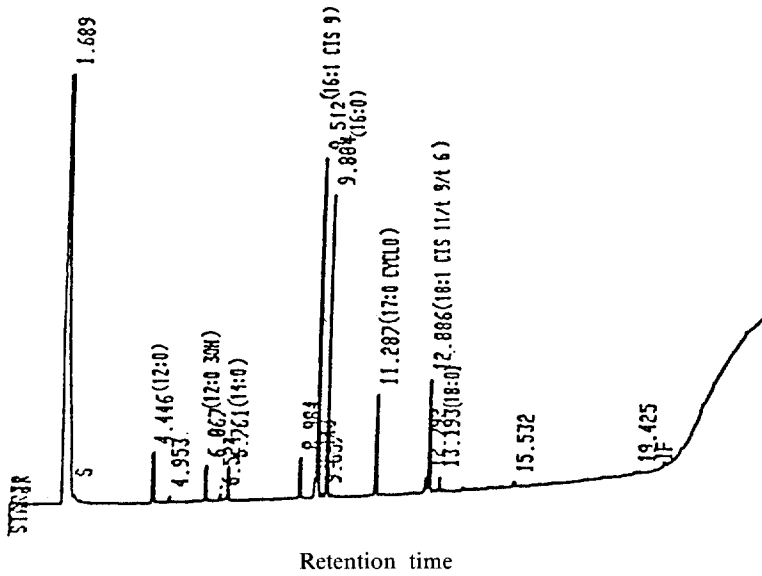


Fig. 5. Effects of temperature on the growth of *Plesiomonas shigelloides* in peptone water at 37°C, 24 hrs.
 ■-■: Clinical source, □-□: Aquatic system

김 등(1)과 Schubert(28)의 연구결과와 같이 사면과 고층이 산성으로 나타나는 것도 있다고 보고한 것과 일치하였다. 연구한 바에 의하면 선택배지에서 동정후 inositol 이용균주를 찾은 다음 TSI 등 생화학적인 동정법을 이용하면 시간을 단축할 수 있음을 알았다. Table 2와 같이 *Vibrio* spp.나 *Aeromonas* spp. 등과

생화학적 성질이 비슷하나 mannitol의 이용능이 없고 inositol을 분해할 수 있으며, 아미노산의 decarboxylase를 생성하는 것으로 enteric agar에서 lactose를 비발효시키고 혈액천천(human cell)에서 용혈을 일으키지 않는 것 등이 이들과 구별할 수 있는 주 실험이다. MIS에 의한 지방산 분석의 분류에서 Fig. 6에서와 같이 chain의 길이는 C₁₂~C₁₈로 C₁₁, C₁₃와 C₁₅인 홀수 지방산과 그람양성균에서 볼 수 있는 branched 형은 검출되지 않았고, 그람음성균에서 전



	Unsaturated chain (%)			Saturated chain(%)				
	C _{16:1B/cis}	C _{18:1cis/trans}	C _{12:0}	C _{12:03OH}	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{17:0cyclo}	C _{18:0}
Clinical sources	32~42	9~13	4	3	2~3	25~30	2~10	12
Aquatic systems	41~43	11~14	4	3	2	25~28	0~2	23

Fig. 6. A chromatogram compositions of cellular fatty acids of *P. shigelloides*, analyzed by automated gas liquid chromatography.

형적으로 볼 수 있는 3-hydroxylate 지방산이 3%, cyclopropane 지방산은 대부분의 *Vibrio* spp.에서와 같이 자연계에서 검출한 균주에서는 검출되지 않거나 2% 이내인 반면, 환자 유래균주는 2~10%로 환자 유래균에서 높게 나타났으며, octadecanoic acid(C_{18:0})는 자연계 유래균이 2~3%, 환자 유래균이 1~2%로 자연계 유래균이 높았다. 그외의 지방산으로는 hexadecanoic acid(C_{16:0}) 25~30%, hexadecenoic acid(C_{16:1}) 32~42%, octacenoic acid(C_{18:1}) 9~14% 등으로 나타남을 알 수 있었고, C_{16:0}/C_{16:1}와 C_{18:0}/C_{18:1}의 각각의 비는 1~1.5와 7~9로 나타났으며, C₁₆는 전체 지방산중 약 60% 이상을 차지하여 검출원에 따른 큰 차이는 없었다. 따라서 computer data base TSBA에서 *P. shigelloides*로 동정되었다. API system인 ATB data base version 2.0으로 판독한 결과 API 20E code 7144204(excellent)로 두 균주 모두 code가 같아 김 등(1)과 일치하였고, Rapid ID 32E code 62001046403(excellent)과 ID 32GN code 650 02200000 (excellent)에서도 아주 정확하게 동정되었다. 따라서 분리된 균에 대한 세균학적, 생화학적인 결과로 미루어 표준균주를 사용하지 않아도 computer data base library를 이용하여 충분히 *P. shigelloides*로 동정할 수 있었다.

용혈능

Blood agar plate에 획선하여 35°C에서 18~24 시간 후 colony주위의 용혈대 유무를 관찰한 결과 사람 적혈구에서는 용혈이 없었으나 면양 적혈구에서는 용혈이 인정되었다. 그리고 혈구의 종류에 따른 용혈능이 달랐다.

DNase 활성

일반적으로 *P. shigelloides*는 DNase 활성이 없는 것으로 알려져 있으나(3, 18) 본 실험에서는 72시간 정도 느리게 활성이 나타났으며, 다른 연구결과와 차이를 나타내었다. 이는 방법상의 문제로 Ca²⁺이온의 농도, pH, 온도, 통기정도, 배지의 구성상태 및 시간 등을 들 수 있는데(34), 통상 Schreier의 방법(27)을 사용하지 않고 1N HCl로 가수분해시켜 DNase 생성유무를 관찰하는 Jeffries *et al.*(14)의 방법을 사용하여 24시간내에 판독한 결과가 아닌가 사료된다. 또한 Schriers의 방법에서도 18~24시간 배양후 반응을 관찰하는데, 그 이유는 Zierdt와 Golde(36)는 24시간 이상 배양후 관찰하면 *Staphylococcus aureus*인 경우는 DNase에 의해서 뿐만 아니라 thermonuclease(TNase)와 phosphodiesterase 등과 같은 다른 효소 또는 유기산 등의 대사산물로 인하여 위양성을 나타낼 수 있기 때문이라고 지적한 점을 감

Table 3. Susceptibility results of 10 antibiotics against *P. shigelloides*.

Antibiotics	Clinical sources	Aquatic systems
TIC (75 _{mcg} Ticarcillin)	R	R
Mox (30 _{mcg} Moxalactom)	S	S
C (30 _{mcg} Chloramphenicol)	S*	S
AN (30 _{mcg} Amikacin)	S	S
NN (10 _{mcg} Tobramycin)	S	S
AM (10 _{mcg} Ampicillin)	R	R
GM (10 _{mcg} Gentamicin)	S	S
CF (30 _{mcg} Cephalothin)	S	S
MA (30 _{mcg} Cefamandole)	S	S
FOX (30 _{mcg} Cefoxitin)	S	S

Numbers of tested strains were six from clinical sources and three from aquatic systems.

S, susceptible; R, resistant; *, susceptible strains/ tested strains=5/6.

안해 볼때 *P. shigelloides*인 경우도 이러한 사실을 전혀 배제할 수는 없으나 아직까지도 DNA를 분해할 수 있는 다른 효소나 유기산물에 대한 연구는 없어 단순한 DNase 생성인지에 관한 검토가 필요하다.

각 증균배지에 따른 생육곡선

Fig. 3~5에 나타난 것과 같이 임상 유래균주와 수계 유래균주간에 생육곡선이 비슷하게 나타났기 때문에 수계 유래균으로 증균용 액체배지상에서 증식상태를 관찰한 결과 Fig. 2에서와 같이 배지에 따라 현격한 차이가 있음을 알 수 있었다. 일반적으로 병원에서는 설사환자의 분변으로부터 세균분리시 selenite F broth나 alkaline peptone water 등을 사용하고 있다. Selenite F broth는 *Salmonella*의 선택성 증균배지이고, alkaline peptone water는 *Vibrio* spp.의 선택성 증균배지로, *P. shigelloides*의 증식이 현저하게 억제된 반면, 일반 증균용 배지는 모두 증균상태가 좋음을 알 수 있었다. 그러나 alkaline peptone water에 inositol을 첨가한 것은 상당한 선택성 증균 효과를 나타내었다. 따라서 일반 *Vibrio* spp.는 inositol 이용능이 없으므로 alkaline peptone water inositol 배지는 *P. shigelloides*의 분리에 있어서 선택성 증균 액체배지로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

pH, 온도 및 염도에 대한 영향

수계 및 환자 유래 균주들을 조사한 결과, Fig. 3~5에 나타난 바와 같이 pH의 경우는 5.0~9.5 범위에서 생육하며 적정 pH는 7.5~8.0을 나타내었다. 온도는 25~35°C에서 잘 생육되는 것으로 나타내었다. NaCl 농도별 생육정도에서 0~6.0%까지 생육하며, 최적 NaCl 농도는 1% 이하로 나타났다. Schubert(28)의 결과와 비교해 볼 때 pH는 5.0~7.7, 적정온도는 37~38°C로 보고하였는데, 본 결과와는 많은 차이를 나타내었고, Tsukamoto *et al.*(30)이 30~35°C라고 보

고한 것과 오히려 비슷하였다. NaCl 농도도 Schubert (28)는 7.5% NaCl 농도에서 성장할 수 없다고 제시하고(28) 있으나, 7.0%에서부터 성장하지 않는 것으로 나타났다.

항생제 감수성 시험

Disc agar diffusion method(Kirby-Bauer)에 의한 감수성 시험은 Table 3에 나타나 있듯이 대부분의 항생제에 감수성이나 ticarcillin과 ampicillin에서 내성을 나타내고 있으나(15), 임상 가검물로부터 검출된 균중에서 일부는 chloramphenicol에 내성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 이는 plasmid에 의한 내성이 획득되고 있는 것으로 사료된다(16).

참 고 문 헌

1. 김희모, 정운섭, 이삼열, 전재운, 최형재, 1987. *Plesiomonas shigelloides* 분리 2 예의 임상적 의의 및 세균학적 검토, 대한임상병리학회지 7, 283-287.
- 2.塚本定三, 本下喜雄, 1978. *Plesiomonas shigelloides*의分離とその病原性の検討, 大阪府立公衛研所報 9, 139-145.
3. Alabi, S.A. and T. Odugbemi, 1990. Biochemical characteristics and a simple scheme for the identification of *Aeromonas* species and *Plesiomonas shigelloides*. *J. Trop. Med. Hyg.* 93, 166-169.
4. Alabi, S.A. and T. Odugbemi, 1990. Occurrence of *Aeromonas* species and *Plesiomonas shigelloides* in patients with and without diarrheas in Logos, Nigeria. *J. Med. Microbiol.* 32, 45-48.
5. Arai, T., N. Ikejima, T. Itoh, S. Sakai, T. Shimada, and R. Sakazaki, 1980. A survey of *Plesiomonas shigelloides* from aquatic environment, domestic animals, pets and humans. *J. Hyg.* 84, 203-211.
6. Bader, R.E., 1954. Über die Herstellung eines agglutinierenden serums gegen die Rundform von *Shigella sonnei* mit einem stamm der Gattung *Pseudomonas*. *Z. Hyg. Infektionskr.* 140, 450-456.
7. Binns, M.M., S. Vanghn, S.S. Sanyal, and K.M. Timmis, 1984. Invasive ability of *Plesiomonas shigelloides*. *Zentralbl. Bakteriolog. Hyg.* A257, 343-347.
8. Black, R.E., 1990. Epidemiology of travelers diarrhea and relative importance of various pathogens. *Rev. Infect. Dis.*, 12 suppl. 1, 73-79.
9. Ewing, W.H., R. Hugh, and J.G. Jojason, 1961. Studies on the *Aeromonas* Groups. Atlanta, US Dept of Health, Education and Welfare, Center for Disease Control.
10. Ferguson, W.W. and N.D. Henderson, 1947. Description of strain C₂₇: A motile organism with the major antigen of *Shigella sonnei* phase I. *J. Bacteriol.* 54, 179-181.
11. Gurwith, M.J. and T.W. Williams, 1977. Gastroenteritis in children: a two year review in Manitoba. I. Etiology. *J. Infect. Dis.* 136, 239-247.
12. Habs, H. and R.H.W. Schubert, 1962. Über die

- biochemische Merkmale und die taxonomische stellung von *Pseudomonas shigelloides* (Bader). *Zentralbla. Bakteriol. Hyg. 1. Abt. Orig.* **186**, 316-327.
13. Ingram, C.W., A.J. Morrison, Jr., and R.E. Levitz, 1987. Gastroenteritis, sepsis and osteomyelitis caused by *Plesiomonas shigelloides* in an immunocompetent host: case report and view of the literature. *J. Clin. Microbiol.* **125**, 1791-1793.
 14. Joffries, C.D., D.F. Holtman, and D.G.L. Guse, 1957. Rapid method for determining the activity of microorganisms on nucleic acid. *J. Bacteriol.* **73**, 590.
 15. Kain, K.C. and M.T. Kelly, 1989. Antimicrobial susceptibility of *Plesiomonas shigelloides* from patients with diarrhea. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **33**, 1609-1610.
 16. Kelly, M.Y. and K.C. Kain, 1991. Biochemical characteristics and plasmids of clinical and environmental *Plesiomonas shigelloides*. *Experientia* **47**, 439-441.
 17. Keneman, E.W., S.D. Allen, V.R. Dowell, W.M. Janda, H.M. Sommers, and W.C. Winn, 1988. *Diagnostic Microbiology*, 3rd ed., p. 69-237. J.B. Lippincott Co., Philadelphia.
 18. MacFaddin, J.F., 1980. *Biochemical testing for identification of medical bacteria*, 2nd ed., p. 94-111. Williams & Wilkins, Baltimore/London.
 19. Miller, L. and T. Berger, 1985. Bacteria identification by gas chromatography of whole cell fatty acid, p. 228-248. In Hewlett-Packard application note. Hewlett-Packard Co., Avondale.
 20. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1988. Performance standard for antimicrobial disc susceptibility tests, M₂-M₄, 4th ed., p. 9-87. NCCLS Public., Villanova.
 21. Nolte, F.S., R.M. Poole, G.W. Murphy, C. Clark, and B.J. Panner, 1988. Proctitis and fetal septicemia caused by *Plesiomonas shigelloides* in a bisexual man. *J. Clin. Microbiol.* **26**, 388-391.
 22. Pitarangsi, C., P. Echeverria, R. Whitemire, C. Tirapat, S. Formal, G.J. Dammin, and M. Tingtalapong, 1982. Enteropathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides*: Prevalence among individuals with and without diarrhea in Thailand. *Infect. Immunol.* **35**, 666-673.
 23. Rahim, Z. and B.A. Kay, 1988. Enrichment for *Plesiomonas shigelloides* from stools. *J. Clin. Microbiol.* **26**, 789-790.
 24. Sakazaki, R., K. Tamura, L.M. Prescott, Z. Dencic, S.C. Sanyal, and R. Sinha, 1971. Bacteriological examination of diarrheal stools in Calutta Indian. *J. Med. Res.* **59**, 1025-1034.
 25. Sakazaki, R., R. Namioka, R. Nakaya, and H. Fukumi, 1959. Studies on so-called paracolons C₂₇ (Ferguson). *Jap. J. Med. Sci. Biol.* **12**, 355-363.
 26. Sanyal, S.C., S.J. Singh, and P.C. Sen, 1975. Enteropathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides*. *J. Med. Microbiol.* **8**, 193-198.
 27. Schreier, J.B., 1969. Modification of deoxyribonuclease test medium for rapid identification of *Serratia marcescens*. *Ann. J. Clin. Pathol.* **51**, 711.
 28. Schubert, R.H.W., 1984. Genus IV *Plesiomonas*, p. 548-550. In N.R. Krieg, and J.G. Holt (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Vol. 1. Williams and Wilkins, Baltimore.
 29. Simidu, U., T. Noguchi, D.F. Hwang, Y. Shida, and K. Hashimoto, 1987. Marine bacteria which produce tetrodotoxin. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**, 1714-1715.
 30. Tsukamoto, T., Y. Kinoshita, T. Shimada, and R. Sakazaki, 1978. Two epidemics of diarrheal disease possibly caused by *Plesiomonas shigelloides*. *J. Hyg.* **80**, 275-280.
 31. Van Domme, L.R. and J. Vandepitte, 1980. Frequent isolation of *Edwardsiella tarda* and *Plesiomonas shigelloides* from healthy zairese fresh water fish: a possible source of sporadic diarrhea in the tropics. *Appl. Environ. Microbiol.* **39**, 475-479.
 32. von Graevenitz, A. and C. Bucher, 1983. Evaluation of differential and selective media for isolation of *Aeromonas* and *Plesiomonas* spp. from human feces. *J. Clin. Microbiol.* **17**, 16-21.
 33. von Graevenitz, A. and M. Altwegg, 1991. *Manual of clinical microbiology*, 5th ed, p. 396-401. American Society for Microbiol., Washington, D.C.
 34. Weckman, B.G. and B.W. Catlin, 1957. Deoxyribonuclease activity of Micrococci from clinical sources. *J. Bacteriol.* **73**, 747.
 35. Zakhariev, Z.A., 1971. *Plesiomonas shigelloides* isolated from sea water. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* **15**, 402-404.
 36. Zierdt, C.H. and D.W. Golde, 1970. Deoxyribonuclease positive *Staphylococcus epidermidis* strains. *Appl. Microbiol.* **20**, 54.

(Received February 9, 1993)

(Accepted March 24, 1993)

ABSTRACT: Bacteriological Characteristics of *Plesiomonas shigelloides* Isolated from the Aquatic Environments and Diarrheal Patients in Pusan Area

Seong, Hee-Kyung*, Dong-Suck Chang¹, Won-Jae Lee², Yong-Ho Kim, and Jung-Haw Lee (Department of Clinical Pathology, Pusan Paik Hospital, Inje University, Pusan 614-735, ¹Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, and ²Department of Microbiology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-023, Korea)

Plesiomonas shigelloides distributed in the aquatic systems was isolated and identified in this study and compared with the clinical isolates in view of their physiological characteristics. Biochemical characteristics of the isolates of *P. shigelloides* one sample taken from Gupo and two samples taken from Mulgum, were studied. However, none was isolated in Haeundae, Dadaepo, Kangdong and Nakdong estuary. The isolated bacteria had an optimum growth condition in peptone water of 25~35°C, pH 7.5~8.0 and 1% NaCl concentration. The cell grew most properly on the selective enrichment media which were made from adding inositol to peptone water. DNase was slowly produced and the results were different from those of other studies. The components of the fatty acid were 3% of 3-hydroxylated fatty acid containing C₁₂~C₁₈, 0~10% cyclopropane (C_{17:0}), 25~30% hexadecanoic acid (C_{16:0}), 32~43% hexadecenoic acid (C_{16:1}), 1~2% octadecanoic acid (C_{18:0}), and 9~14% octadecenoic acid (C_{18:1}). Bacteriological characteristics, susceptibility of antibiotics, and the components of fatty acid of the clinical isolates were similar to those of the strains isolated from the aquatic systems. The strains isolated from clinical sources degraded lactose more fast than those isolated from the aquatic systems. There existed resistant bacteria to chloramphenicol in the strains from patients, but there were no resistant bacteria in the strains from the aquatic systems. The components of fatty acid of the clinical isolates were 0~2% C_{17:0 cyclo} and 2~3% C_{18:0}, but those of the strains from the aquatic systems were 2~10% and 1~2%, respectively, which showed the quantitative difference between both components.