

## 젖소 乳房炎由來 Gram 陰性桿菌의 Ampicillin 耐性 및 傳達性 $\beta$ -Lactamase Plasmids

朴 清 圭  
慶北大學校 農科大學 獸醫學科  
(1985. 3. 12 接受)

### Ampicillin Resistance and Transferable $\beta$ -Lactamase Plasmids of Gram Negative Rods Isolated from Bovine Mastitis

Cheong-kyu Park

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Gyeongbuk National University  
(Received March 12, 1985)

**Abstract:** One hundred and twenty seven strains of Gram-negative rods (72 *E. coli*, 45 *Klebsiella pneumoniae*, 8 *Enterobacter* spp. and 2 *Pseudomonas aeruginosa*) isolated from bovine mastitis were examined for resistance to ampicillin, carbenicillin and cefazolin,  $\beta$ -lactamase activity and transferable  $\beta$ -lactamase plasmids.

Strains resistant to ampicillin were 13.9% in *E. coli*, 93.3% in *Klebsiella pneumoniae*, 87.5% in *Enterobacter* spp. and all in *Pseudomonas aeruginosa*. Resistance of *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter* spp. to ampicillin was due to the  $\beta$ -lactamases, but all *Pseudomonas aeruginosa* exhibited a high level of the non-enzymic resistance.

Transferable plasmid-mediated  $\beta$ -lactamase synthesis was demonstrated in 61.9% of *Klebsiella pneumoniae*, 50% of *E. coli* and 42.9% of *Enterobacter* spp. The same  $\beta$ -lactamase plasmids specified different resistance levels to various  $\beta$ -lactam antibiotics in different recipients.

### 緒 論

大腸菌을 비롯한 많은 Gram 陰性桿菌은 penicillin 分子中의  $\beta$ -lactam 環을 加水分解함으로써  $\beta$ -lactam 抗生物質(penicillins 및 cephalosporins)의 抗菌力을 잃게 하는  $\beta$ -lactamase를 產生하며, Gram 陰性桿菌에 있어 이 酵素의 產生이 penicillins 및 cephalosporins에 대한 耐性의 主要한 機轉이 되고 있다. 7, 8, 18, 22, 27, 28) 또한 細胞膜透透性的의 低木와 기타 要因들도 penicillins 및 cephalosporins에 대한 이들 菌의 耐性에 關係하고 있음이 알려져 있다. 3, 4, 10, 20, 24, 25)

Anderson 및 Datta<sup>1)</sup>가 *Escherichia coli* 및 *Salmonella typhimurium*에서 R plasmid에 의한 ampicillin의 傳達性

耐性을 처음으로 報告하였고, 이 耐性은 ampicillin을 加水分解하는 penicillinase의 合成에 기인된 것이임이 Datta 및 Kontomichalou<sup>2)</sup>에 의해 밝혀진 이래, Gram 陰性桿菌의 plasmid性  $\beta$ -lactamases는 그 特性에 따라 11種으로 分類되고 있으며<sup>14)</sup> 이들중 TEM-1型은 各屬의 菌에 널리 分希되어 있는데 比하여 PSE  $\beta$ -lactamases는 유일하게 *Pseudomonas aeruginosa*에서만 인정되고 있다. 또한 이들 菌에 있어  $\beta$ -lactamase의 合成은 chromosome性 遺傳子의 支配下에서도 이루어 지고 있다. 11, 14, 24, 25)

泌乳中인 젖소의 急性 또는 慢性乳房炎의 原因菌으로서 Gram 陰性桿菌은 重要視되고 있을 뿐만아니라 近年에 와서 藥劑耐性菌, 특히 多藥劑耐性菌이 많이 檢

出되고 있으며, 이들 내성이 R plasmids에 의하여傳達됨이 報告되고 있다.<sup>16,30,31,32)</sup> 본 研究는 젖소 乳房炎으로부터 分離한 ampicillin耐性 Gram陰性桿菌의  $\beta$ -lactamase 產生能과 接合에 의한  $\beta$ -lactamase plasmids의 傳達性을 調査하여 ampicillin耐性의 機轉을 알아보기 위하여 試圖되었다.

## 材料 및 方法

**供試菌株**: 1981년부터 1983年 사이에 慶北地方에서 사육되고 있는 泌乳中인 젖소의 急性性全身性 또는 慢性型 乳房炎發症分房의 乳汁으로부터 *E. coli* 72株, *Klebsiella pneumoniae* 45株, *Enterobacter* spp. 8株 및 *Pseudomonas aeruginosa* 2株를 分離하였다. 이들 菌株의 同定은 Graber<sup>9)</sup>의 方法에 따라 실시한 生化學的性狀에 依하였다.

**供試藥劑**:  $\beta$ -lactam 抗生物質로서는 ampicillin(Ap, 중근당), carbenicillin(Cb, Pfizer Co.) 및 cefazolin(Cf, 동아製藥)을 供試하였고, 그 외에 streptomycin(Sm, 한독), kanamycin(Km, 한독), tetracycline(Tc, Pfizer Co.), chloramphenicol(Cp, 三省), nalidixic acid(Na, Stering Winthrop Labs.) 및 rifampicin(Rf, 중근당)도 必要에 따라 供試하였다. 各 藥劑는 適當한 溶媒에 溶解시켜 phosphate buffer 또는 증류수로 稀釋하여 使用하였다.

**藥劑耐性的 檢査**: 寒天平板稀釋法에 依하여 檢査하였다. 즉 高濃度의 藥劑溶液을 順次 2倍稀釋한 다음 各種 濃度의 藥劑溶液을 添加한 Mueller-Hinton agar(Difco)를 調製하였다. 供試菌을 nutrient broth(Difco)에 18時間 培養한 菌液을 생리식염수로 100倍 稀釋한 것을 Steers 등<sup>26)</sup>의 接種器로 藥劑含有培地에 接種하여 37°C에서 24時間 培養한 다음, 菌의 發育有無를 보아 最少發育阻止濃度(MIC)를 決定하였으며, 供試菌이 12.5 $\mu$ g/ml의 Ap, Cf, Sm, Km, Tc, Cp, Na, Rf과 100 $\mu$ g/ml의 Cb에서 발육할때는 그 藥劑에 대한 耐성이 있는 것으로 判定하였다.

**$\beta$ -lactamase 產生能檢査**: soluble starch(Merck)가 0.2%되게 含有된 trypticase soy agar(BBL)를 使用하여 Perret<sup>21)</sup>의 iodometric assay法과 供試菌을 생리식염수 0.5ml에 濃厚부유시켜 ethanol-dry ice에 10회 凍結融解한 후 Escamilla<sup>6)</sup>에 의하여 提示된 acidimetric法을 並用하여 實施하였다.

**$\beta$ -lactamase plasmids의 傳達試驗**: Anderson 및 Lewis<sup>22)</sup>의 方法에 따라 實施하였다.  $\beta$ -lactamase plasmids를 傳達하는 受容菌으로는 Na耐性인 *E. coli* ML 1410과 Rf耐性인 *Sal. typhimurium* LT2를 供試하였다.

耐性傳達試驗의 選擇培地로서는 25 $\mu$ g/ml의 Na 또는 Rf과 Ap를 25 $\mu$ g/ml 含有시킨 MacConkey agar(Difco)를 使用하였다.

**非傳達性  $\beta$ -lactamase plasmids의 可動化試驗**: brain heart infusion broth(BHIB, BBL)에 非傳達性  $\beta$ -lactamase 產生 供試菌과 Col B-K98 plasmid를 保有하는 *E. coli* RC 712를 各各 6時間 培養한 것을 2ml의 BHIB에 0.2ml씩 同量 接種하여 37°C 恒溫槽에서 2時間 培養한 후 이 混合培養菌液 0.2ml와 最終受容菌인 *E. coli* ML 1410培養液 0.4ml를 5ml의 BHIB에 各各 接種하여 18時間 混合培養한 다음 選擇培地에서 傳達를 확인하였다.

**ampicillin과 cloxacillin間的 協同作用**: Mueller-Hinton agar(Difco)를 使用하여 Roupas 및 Pitton<sup>24)</sup>의 cross-strip法에 따라 實施하였다.

## 成 績

分離한 Gram陽性桿菌의 供試藥劑에 대한 耐性菌의 分希를 보면 Table 1에서와 같다. *E. coli* 72株中 Ap에 耐性인 菌이 10株(13.9%)였고, Sm과 Tc에 耐性인 菌은 비교적 많았다. *Klebsiella pneumoniae* 45株와 *Enterobacter* 8株中에서 42株(93.3%) 및 7株(87.5%)가 Ap에 各各 耐性으로서 他供試藥劑에서 보다 이 藥劑에 대한 耐性菌의 分離率이 월등히 높았다. 分離한 *Ps. aeruginosa* 2株는 供試한 全藥劑에 대해 耐性菌으로서 多藥劑耐性菌이었다.

分離한 Gram陰性桿菌中 penicillinase 產生陽性株는 Ap耐性으로 나타났고, Table 2에서 提示된 바와 같이 Ap耐性과 더불어 Cf 또는 Cb에 耐性인 菌과 3藥劑(Sm, Km, Tc) 또는 그 以上の 藥劑에 耐性을 同伴하고 이들  $\beta$ -lactam 抗生物質에도 耐性인 菌이 보다 많았으며 分離菌中 Ap單獨耐性株는 인정되지 않았다.

penicillinase 產生에 依한 Ap耐性 Gram陰性桿菌의 Ap耐性傳達를 보면(Table 2) *Klebsiella pneumoniae*는 42株中 26株(61.9%)가 受容菌인 *E. coli* ML 1410에 傳達됨이 인정되었다. *E. coli*는 10株中 5株(50.0%) 그리고 *Enterobacter*는 7株中 3株(42.9%)가 그들의 Ap耐性을 傳達하였으며 이들 傳達性 Ap耐性株의 大部分은 Sm 및 Tc에도 耐性임을 볼 수 있었다.

Ap耐性 *Ps. aeruginosa* 2株에서는 penicillinase 產生能이 인정되지 않았으며 그들의 Ap耐性は 受容菌인 *Sal. typhimurium* LT2에 傳達되지 않았다.

penicillinase 產生陽性인 Gram陰性桿菌의  $\beta$ -lactam 抗生物質에 대한 耐性樣相과 耐性傳達의 關係를 보면 (Table 3), 各 菌種에서 Ap, Cb 및 Cf에 耐性인 全菌

**Table 1.** Drug Resistance of Gram-Negative Rods Isolated from Bovine Mastitis

Microorganisms	No. of Strains Isolated	No. of Resistant Strains to							
		Ap <sup>a</sup>	Cb	Cf	Sm	Km	Tc	Cp	Na
<i>Escherichia coli</i>	72	10	7	6	30	17	20	3	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	45	42	41	18	26	24	30	18	0
<i>Enterobacter</i> spp.	8	7	3	5	5	4	4	2	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Total	127	61	53	30	63	47	56	25	2
(%)		(48.1)	(41.7)	(23.6)	(49.6)	(37.0)	(44.1)	(19.7)	(1.6)

a : Abbreviations: Ap, ampicillin; Cb, carbenicillin; Cf, cefazolin; Sm, streptomycin; Km, kanamycin; Tc, tetracycline; Cp, chloramphenicol; Na, nalidixic acid.

**Table 2.** Drug Resistance Patterns, Penicillinase Production and Transferability of Ampicillin Resistance in Gram-Negative Rods

Resistance Patterns <sup>a</sup>	<i>E. coli</i>			<i>Klebsiella pneumoniae</i>			<i>Enterobacter</i> spp.			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
	Ap <sup>Rb</sup>	PCase <sup>+c</sup>	t <sup>+d</sup>	Ap <sup>R</sup>	PCase <sup>+</sup>	t <sup>+</sup>	Ap <sup>R</sup>	PCase <sup>+</sup>	t <sup>+</sup>	Ap <sup>R</sup>	PCase <sup>+</sup>	t <sup>+</sup>
Sm, Km, Tc, Cp, Cb, Cf	1	1	1	10	10	10				2	0	0
Sm, Km, Tc, Cp, Cb				5	5	5	2	2	2			
Sm, Km, Tc, Cb, Cf	2	2	2	4	4	4	1	1	1			
Sm, Km, Tc, Cb	1	1	0	5	5	4						
Sm, Km, Tc, Cf							1	1	0			
Sm, Tc, Cp, Cb	2	2	2									
Tc, Cp, Cb, Cf				3	3	3						
Sm, Tc, Cb				1	1	0						
Sm, Tc, Cf				1	1	0						
Tc, Cb				1	1	0						
Cf	3	3	0				3	3	0			
Cb	1	1	0	12	12	0						
Total	10	10	5	42	42	26	7	7	3	2	0	0
(%)		(100)	(50)		(100)	(61.9)		(100)	(42.9)		(0)	(0)

a : see footnote Table 1.

b : Number of ampicillin resistant strains isolated.

c : Number of penicillinase producing strains.

d : Number of strains capable of transferring ampicillin resistance.

株와 Ap 및 Cb에는 高度耐性 (MIC $\geq$ 3200 $\mu$ g/ml)이나 Cf에는 感受性 (MIC $\leq$ 3.2 $\mu$ g/ml)을 보인 大部分의 菌株는 그들의 Ap耐性を *E. coli* ML 1410에 傳達할 수 있었다. 그러나 Ap 및 Cb와 Ap 및 Cf에 中等度耐性 (MIC 50~400 $\mu$ g/ml)을 보인 全分離株에서는 接合에 의한 Ap耐性の 傳達를 볼 수 없었다.

受容菌에 따른 Ap耐性菌株의 耐性傳達率을 比較해 보면 (Table 4), 傳達性 Ap耐性菌 34株中 全菌株가 *E. coli* ML 1410에는 耐성이 傳達되나 *Sal. typhimurium* LT2에는 25株 (73.5%)만이 耐성이 傳達되어 受容菌에

따르는 傳達率의 差異가 인정되었다. 分離菌中 *Sal. typhimurium* LT2에는 耐성이 傳達되고 *E. coli* ML 1410에는 耐性傳達이 이루어지지 않은 菌株는 볼 수 없었다.

Ap耐性の 傳達이 이루어지지 않은 Gram陰性桿菌 25株에 대하여 非傳達性 penicillinase plasmid의 可動化實驗과 ampicillin-cloxacillin 協同作用의 영향을 보았던바 Table 5에서와 같다. 이들 全菌株에서 ColB-K98 plasmid를 保有하는 *E. coli* RC 712를 transfer plasmid供與菌으로 하여 可動化現象에 의한 耐性傳達은

**Table 3.** Transferability of Ampicillin Resistance and Minimal Inhibitory Concentrations for  $\beta$ -Lactam Antibiotics in Gram-Negative Rods

Microorganisms	Resistance Pattern <sup>a</sup>	Subgroup	No. of Strains	No. of $\beta$ -Lactamase Producing Strains	Transferability of Ap-Resistance	MIC <sup>b</sup> ( $\mu$ g/ml)		
						Ampicillin	Carbenicillin	Cefazolin
<i>E. coli</i>	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>R</sup>		3	3	3	$\cong$ 3200	$\cong$ 3200	100-200
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>S</sup>	a	2	2	2	$\cong$ 3200	$\cong$ 3200	1.6-6.3
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>S</sup> Cf <sup>R</sup>	b	2	2	0	50	200-400	$\cong$ 0.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>R</sup>		3	3	0	100-200	50	100
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>R</sup>		17	17	17	$\cong$ 3200	$\cong$ 3200	100-200
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>S</sup>	a	11	11	9	1600- $\cong$ 3200	$\cong$ 3200	1.6-3.2
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>S</sup> Cf <sup>R</sup>	b	13	13	0	50	200-400	$\cong$ 0.8
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>S</sup> Cf <sup>R</sup>		1	1	0	50	6.3	200
<i>Enterobacter</i> spp.	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>R</sup>		1	1	1	$\cong$ 3200	$\cong$ 3200	200
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>S</sup>		2	2	2	$\cong$ 3200	$\cong$ 3200	1.6-3.2
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>S</sup> Cf <sup>R</sup>		4	4	0	50-100	6.3-12.5	100-200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>R</sup>		2	0	0	$\cong$ 3200	200-400	$\cong$ 3200

a : See footnote Table 1.      b : Minimal inhibitory concentrations.      r, resistant ; s, Sensitive.

**Table 4.** Transfer of Ampicillin Resistance of Gram-Negative Rods to *E. coli* ML1410 and *Sal. typhimurium* LT2

Microorganisms	Resistance Pattern <sup>a</sup>	No. of Strains	Transferability of Ampicillin Resistance to	
			<i>E. coli</i> ML1410	<i>Sal. typhimurium</i> LT2
<i>E. coli</i>	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>R</sup>	3	3	3
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>S</sup>	2	2	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>R</sup>	17	17	14
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>S</sup>	9	9	4
<i>Enterobacter</i> spp.	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>R</sup>	1	1	1
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>S</sup>	2	2	2
Total (%)		34	34 (100)	25 (73.5)

a : See footnote Table 1, and Table 3.

**Table 5.** Characteristics of Nontransferable Ampicillin Resistant Gram-Negative Rods

Microorganisms	Resistance Pattern <sup>a</sup>	Subgroup <sup>b</sup>	No. of Strains	Transferability of Ampicillin Resistance	Mobilization of Nonconjugative Plasmids <sup>c</sup>	Synergy between Ampicillin and Cloxacillin
<i>E. coli</i>	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>R</sup>	b	2	-	-	+
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>S</sup> Cf <sup>R</sup>		3	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>R</sup> Cf <sup>S</sup>	a	2	-	-	-
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>S</sup> Cf <sup>R</sup>	b	13	-	-	+
<i>Enterobacter</i> spp.	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>S</sup> Cf <sup>R</sup>		1	-	-	+
	Ap <sup>R</sup> Cb <sup>S</sup> Cf <sup>R</sup>		4	-	-	+

a : See footnote Table 1, and Table 3.

b : Subgroup of Table 3.

c : Donor strain used in these crosses was *E. coli* RC712 carrying ColB-K98 plasmid.

Table 6. Resistance Levels to  $\beta$ -Lactam Antibiotics of Transconjugants

Microorganisms	Transconjugant <sup>a</sup>	MIC <sup>b</sup> ( $\mu$ g/ml)		
		Ampicillin	Carbenicillin	Cefazolin
<i>E. coli</i> SW1		$\geq 3200$	$\geq 3200$	100
	ML 1410	$\geq 3200$	$\geq 3200$	50
	LT 2	1600	$\geq 3200$	25
<i>E. coli</i> SW3		$\geq 3200$	$\geq 3200$	200
	ML 1410	$\geq 3200$	$\geq 3200$	200
	LT 2	$\geq 3200$	$\geq 3200$	200
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 20		$\geq 3200$	$\geq 3200$	100
	ML 1410	400	$\geq 3200$	6.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 65		3200	3200	3.1
	ML 1410	1600	3200	3.1
	LT 2	3200	3200	3.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 71		$\geq 3200$	3200	100
	ML 1410	$\geq 3200$	3200	$\geq 400$
	LT 2	$\geq 3200$	3200	100
<i>Enterobacter cloacae</i> 3		$\geq 3200$	3200	200
	ML 1410	$\geq 3200$	3200	200
	LT 2	$\geq 3200$	3200	200
<i>E. coli</i> ML 1410		$\leq 0.8$	1.6	$\leq 0.8$
<i>Sal. typhimurium</i> LT 2		$\leq 0.8$	1.6	$\leq 0.8$

a : *E. coli* ML 1410 and *Sal. typhimurium* LT2 carrying  $\beta$ -lactamase plasmid of donor strain.

b : See footnote b, Table 3.

인정되지 않았다. *Klebsiella pneumoniae*에서 subgroup a에 속하는 2株는 ampicillin과 cloxacillin間的 協同作用은 볼 수 없었다. 그러나 Ap에 대해 中等度耐性(MIC 50~400 $\mu$ g/ml)을 보인 23株에서는 두藥劑의 混合에 依한 抗菌作用의 상승효과를 나타내었다.

各菌種의  $\beta$ -lactamase plasmids를 전달받은 2種의 transconjugant의  $\beta$ -lactam 抗生物質에 대한 耐性의 程度를 보았던 바(Table 6), 이들 transconjugant에 있어서 Cb에 대한 耐性에는 變動이 없었으나 Ap 및 Cf에 대해서는 同一한  $\beta$ -lactamase plasmid가 受容菌에 따라 부여되는 耐性의 程度는 다르게 나타남을 볼 수 있었다.

### 考 察

半合成 penicillin 製劑인 Ap은 Gram陰性桿菌에 有效한 抗菌劑로 알려져 있다. 그러나 近年 各種 臨床材料에서 Ap에 대한 耐性Gram陰性桿菌의 높은 分離率이 報告되고 있다.<sup>16,30,31)</sup> 이 研究에서 泌乳中인 젖소의 急性 또는 慢性乳房炎으로부터 分離한 Gram陰性桿菌의 Ap에 대한 耐性菌의 分希와 耐性의 機轉을 調査하였던바 *Klebsiella pneumoniae* 및 *Enterobacter* spp.는

大部分의 菌株가 그리고 *E. coli*는 13.9%의 菌株가 Ap에 대한 耐性이었고, 이들 全耐性菌株는  $\beta$ -lactamase 產生陽性으로 나타났다. 이와같은 結果는 *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* 및 *Enterobacter*의 野外分離株에 있어  $\beta$ -lactamase 產生이 Ap에 대한 耐性의 主機轉임을 示唆하고 있다.

한편 *Pseudomonas aeruginosa* 2株는 Ap를 비롯한 全供試藥劑에 대해 高度耐性을 나타내었으나  $\beta$ -lactamase 產生은 인정되지 않았고 또한 接合에 依해 이들 耐性藥劑의 傳達도 볼 수 없었다. 따라서 이들 菌株는 非酵素耐性으로서 膜透過性의 低下에 기인된 耐性으로 추측된다. Curtis 및 Richmond<sup>32)</sup>와 Matthew<sup>14)</sup>는 *Pseudomonas*에서 膜透過性의 低下가  $\beta$ -lactam 抗生物質에 대한 耐性의 主要因인을 報告한 바 있다.

分離한 Gram陰性桿菌에 있어 Ap 및 Cb에 高度耐性(MIC  $\geq 3200\mu$ g/ml)을 나타낸 36株中 34株는 그들의 Ap 耐性이 受容菌으로 使用한 *E. coli* ML 1410 또는 *Sal. typhimurium* LT2에 傳達됨을 볼때 이들 菌의  $\beta$ -lactamase 合成은 plasmid性임을 알 수 있다. 非傳達性 plasmids의 경우에는 그들의 遺傳子群中 transfer factor

가 결여되며 이들도 transfer factor 供與菌에 依해 可動化될 수 있으며<sup>17,25)</sup> Neu<sup>18)</sup>는  $\beta$ -lactamase 合成遺傳子の 位置에 따라 ampicillin/cloxacillin 協同作用의 效果가 多를 報告한 바 있다. 이 研究에서 Ap 및 Cb에 多같이 高度耐性이나 耐性傳達이 이루어지지 않은 *Klebsiella pneumoniae* subgroup a의 2株는 比較的 傳達頻度가 높은 F III群에 속하는 *E. coli* RC712를 transfer factor 供與群으로 하여 非傳達性 plasmid의 可動化試驗에서 耐性傳達은 볼 수 없었지만 ampicillin/cloxacillin間의 協同作用이 인정되지 않은 點으로 미루어 보아 이들은 plasmid性  $\beta$ -lactamase 產生株로 간주된다.

이 研究에 供試된 *E. coli* 5株, *Klebsiella pneumoniae* 14株 그리고 *Enterobacter* spp. 4株는 Ap의 MIC值가 50~200 $\mu$ g/ml 그리고 Cb의 MIC值가  $\geq 400\mu$ g/ml인 大體로 耐性程度가 弱한 菌株들로서 이들은 Ap耐性을 傳達할 수 없었고, ampicillin과 cloxacillin間의 명확한 協同作用의 效果를 관찰할 수 있었다. 따라서 이들 23株의  $\beta$ -lactamase 合成은 chromosome性일 것으로 推測된다. 供試菌中 Ap에 中等度耐性을 나타낸 菌株가 Cb에 對해 感受性 내지는 弱耐性을 보이고 있음은 Roupas 및 Pitton<sup>24)</sup>과 Neu<sup>19)</sup>의 成績과도 一致된 所見이라 하겠다.

分離菌株의  $\beta$ -lactamase plasmids를 傳達받은 transconjugant의 藥劑에 對한 耐性程度는 Ap 및 Cb보다 Cb에 對해서 더 높았고 또한 같은 藥劑에 對해서도 受容菌에 따라 傳達되는 藥劑의 MIC에는 差異가 있었다. 이와같은 結果는 分離菌株에서 同一한  $\beta$ -lactamase plasmid라 할지라도 受容菌과 藥劑의 種類에 따라 耐性의 程度가 多를 보여 주고 있다. 分離한 Gram陰性桿菌中에서 *Klebsiella pneumoniae*의  $\beta$ -lactamase 產生陽性株의 分離頻度는 높았고, 이들 菌株의 大部分이 傳達性  $\beta$ -lactamase plasmid保有菌임을 고려할 때 Farrar 및 O'Dell<sup>7)</sup>과 Jack 등<sup>12)</sup>이 示唆한 바와같이 이 菌이 大體 病原性 Gram陰性桿菌에  $\beta$ -lactamase 產生能을 부여하는 傳達源으로서의 可能性은 充分히 있다고 하겠다.

## 結 論

泌乳中인 젖소의 急性 또는 慢性乳房炎發症分房의 乳汁으로부터 分離한 Gram陰性桿菌 127株(*E. coli* 72株, *Klebsiella pneumoniae* 45株, *Enterobacter* spp. 8株 및 *Pseudomonas aeruginosa* 2株)의 ampicillin(AP)에 對한 耐性을 檢査하고, 이들 耐性菌의  $\beta$ -lactamase 產生能 및 接合에 依한  $\beta$ -lactamase plasmids의 傳達性에 關하여 實驗하였다.

*E. coli*는 13.9%의 菌株가 Ap에 耐性이었고, *Klebsiella pneumoniae*는 93.3%, *Enterobacter* spp.는 87.5% 그리고 *Pseudomonas aeruginosa*는 2株 모두가 Ap에 對해 耐性이었다.

分離한 *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* 및 *Enterobacter* spp.의 Ap에 對한 耐性은  $\beta$ -lactamase의 合成에 기인됨을 알 수 있고 Ap에 耐性을 보인 *Ps. aeruginosa* 2株는 이 酵素의 產生能이 인정되지 않았다.

$\beta$ -lactamase 產生 *Klebsiella pneumoniae* 42株中 26株(61.9%)는 그들의  $\beta$ -lactamase plasmids를 受容菌인 *E. coli* ML 1410에 傳達하였고, *E. coli* 및 *Enterobacter* spp.의 傳達性  $\beta$ -lactamase plasmids 保有率은 各各 50% 및 42.9%였다. 分離菌株의 同一한  $\beta$ -lactamase plasmids가 使用한 受容菌과 藥劑의 種類에 따라서 부여되는 耐性의 程度에는 差異가 인정되었다.

## 參 考 文 獻

1. Anderson, E.S. and Datta, N.: Resistance to penicillins and its transfer in Enterobacteriaceae. *Lancet*(1965) 20:407.
2. Anderson, E.S. and Lewis, M.J.: Characterization of transfer factor associated with drug resistance in *Salmonella typhimurium*. *Nature*(1965) 208:843.
3. Curtis, N.A.C. and Richmond, M.H.: Effect of R factor mediated genes on some surface properties of *Escherichia coli*. *Antimicrob. Ag. Chemother.* (1974) 6:666.
4. Curtis, N.A.C., Richmond, M.H. and Stanisch, V.: R factor mediated resistance to penicillins which does not involve a  $\beta$ -lactamase. *J. Gen. Microbiol.* (1973) 79:163.
5. Datta, N. and Kontamichalou, P.: Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature*(1965) 208:239.
6. Escamilla, J.: Susceptibility of *Haemophilus influenzae* to ampicillin as determined by use of a modified, one-minute betalactamase test. *Antimicrob. Ag. Chemother.* (1976) 9:196.
7. Farrar, W.E. and O'Dell, N.M.: Beta-lactamase activity in ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Ag. Chemother.* (1974) 6:625.
8. Farrar, W.E. and Newsome, J.K.: Diversity of  $\beta$ -lactamase activity among clinical isolates of

- Gram-negative bacilli. Am. J. Clin. Pathol. (1976) 65:570.
9. Graber, C.D.: Rapid diagnostic methods in medical microbiology. The Williams & Wilkins Co., Baltimore(1970) p.30.
  10. Hamilton-Miller, J.M.T.: Damaging effects of EDTA and penicillins on permeability barriers in Gram-negative bacteria. Biochem. J. (1966) 100:675.
  11. Jack, G.W. and Richmond, M.H.: A comparative study of eight distinct  $\beta$ -lactamase synthesized by Gram-negative bacteria. J. Gen. Microbiol. (1970) 61:43.
  12. Jack, G.W., Sykes, R.B. and Richmond, M.H.: The  $\beta$ -lactamases of Gram-negative bacteria and their transfer by R factors. Path. Microbiol. (1970) 36:289.
  13. Lindström, E.B., Boman, H.G. and Steele, B.B.: Resistance of *Escherichia coli* to penicillins: VI. Purification and characterization of the chromosomally mediated penicillinase present in ampA-containing strains. J. Bacterol. (1970) 101:218.
  14. Matthew, M.: Plasmid-mediated  $\beta$ -lactamases of Gram-negative bacteria: Properties and distribution J. Antimicrob. Chemother. (1979) 5:349.
  15. Matthew, M., Hedges, R.W. and Smith, J.T.: Types of  $\beta$ -lactamase determined by plasmids in Gram-negative bacteria. J. Bact. (1979) 138:657.
  16. McDonald, J.S., McDonald, T.J. and Anderson, A.J.: Antimicrobiol sensitivity of aerobic Gram-negative rods isolated from bovine udder infections. Am. J. Vet. Res. (1977) 38:1503.
  17. Milliken, C.E. and Clowes, R.C.: Molecular structure of an R factor, its component drug-resistance determinants and transfer factor. J. Bact. (1973) 113:1026.
  18. Neu, H.C.: Effect of  $\beta$ -lactamase location in *Escherichia coli* on penicillin synergy. Appl. Microbiol. (1969) 17:783.
  19. Neu, H.C.: Resistance of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* to carbenicillin. J. Gen. Microbiol. (1969) 58:301.
  20. Ohmori, H., Azuma, A., Suzuki, Y. and Hashimoto, Y.: Isolation and properties of  $\beta$ -lactamase-less mutants from clinically important Gram-negative bacteria. J. Antibiot. (1977) 30:267.
  21. Perret, C.J.: Iodometric assay of penicillinase. Nature(1954) 174:1012.
  22. Richmond, M.H. and Curtis, N.A.: The interplay of  $\beta$ -lactamases and intrinsic factors in the resistance of Gram-negative bacteria to penicillins and cephalosporins. Ann. N.Y. Acad. Sci. (1974) 43:672.
  23. Richmond, M.H. and Wotton, S.: Comparative study of seven cephalosporins: Susceptibility to beta-lactamases and ability to penetrate the surface layers of *Escherichia coli*. Antimicrob. Ag. Chemother. (1976) 10:219.
  24. Roupas, A. and Pitton, J.S.: R Factor-mediated and chromosomal resistance to ampicillin in *Escherichia coli*. Antimicrob. Ag. Chemother. (1974) 5:186.
  25. Smith, H.W. and Linggood, M.A.: Transferable factors in *Escherichia coli* with particular regard to their incidence in enteropathogenic strains. J. Gen. Microbiol. (1970) 62:287.
  26. Steers, E., Frotz, E.L. and Graves, B.S.: An inocular replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. Antibiot. Chemother. (1959) 2:307.
  27. Sykes, R.B. and Richmond, M.H.: Intergeneric transfer of a  $\beta$ -lactamase gene between *Ps. aeruginosa* and *E. coli*. Nature(1970) 226:952.
  28. Sykes, R.B. and Matthew, M.: The  $\beta$ -lactamases of Gram-negative bacteria and their role in resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics. J. Antimicrob. Chemother. (1976) 2:115.
  29. Yamamoto, T. and Yokota, T.: Beta-lactamase-directed barrier for penicillins of *Escherichia coli* carrying R plasmids. Antimicrob. Ag. Chemother. (1977) 11:936.
  30. 朴清圭: 젖소乳房炎由來 Gram陰性桿菌의 藥劑感受性. 大韓獸醫學會誌 (1980) 20:53.
  31. 朴清圭: 젖소乳房炎由來 腸內細菌의 藥劑耐性 및 R plasmids. 大韓獸醫學會誌 (1981) 21:25.
  32. 鄭宗植, 趙聲煥, 趙鏞煥, 朴清圭: 젖소 乳房源 病原細菌의 抗生物質에 對한 感受性. 大韓獸醫學會誌(1979) 19:75.