

국내 분리 다제내성 장티프스균의 Plasmid 및 β -lactamase의 특성에 관한 연구

국립보건원 감염질환부 역학조사과

유정식 · 신영학 · 오경수 · 이점규 · 김기상

=Abstract=

Plasmid Profile and β -Lactamase Type of Multidrug-Resistant *Salmonella typhi* Isolated from Korea, 1997

Jung-sik Yoo, Young-hack Shin, Kyung-soo Oh, Jeom-kyu Lee
and Ki-sang Kim

Department of Infectious Disease, Div. of Epidemiology,
National Institute of Health, Seoul, Korea

Eight strains of multidrug-resistant (MDR) *Salmonella typhi* were isolated from Kyonggi area during January-February, 1997. They were resistant to ampicillin, amoxicillin, carbenicillin, tetracycline, chloramphenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole, trimethoprim.

Eight strains had one plasmid respectively which size was approximately M.W 220 kb and showed same restriction pattern by endonuclease *Hind*III. The plasmid was similar to the plasmid in size that was related to multidrug resistant *S. typhi* isolated from southeast Asia.

It were transferred by conjugation to recipient *E. coli* K-12 in frequency of 2.43×10^{-4} - 1.73×10^{-2} and transconjugant showed same drug-resistant pattern with donor cells.

All of 8 strains produced β -lactamase that was assumed to TEM-1 type by isoelectric focusing and PCR.

Key Words: *Salmonella typhi*, Multidrug-resistant, Plasmid, β -lactamase

서 론

장티프스는 오염된 음용수 및 식품 등을 섭취 하였을 때 발생하는 급성 열성 전염병으로 환경 위생 및 개인위생이 불량한 개발도상국에서 다 발하는 후진국형 질병이나 우리나라의 경우 과거보다 환경위생 및 개인위생이 크게 개선되고 치료방법이 발전된 현재까지도 크고, 작은 유행이 계속적으로 발생하고 있다¹⁾.

장티프스는 적절한 항균제 치료가 필수적으로, 1970년대까지 chloramphenicol이 특효약으로 사용되어 사망률을 10%에서 2%로 낮추는 효과를 보였다. 그러나 1972년 멕시코에서 chloramphenicol 내성균에 의한 장티프스가 집단발생한 이후 여러 나라에서 항균제 내성균에 의한 장티프스 발생이 지속적으로 보고되었다²⁾. 이후 1989년부터 chloramphenicol, ampicillin, trimetho-prim에 동시에 내성을 나타내는 다제내성 장티프스균에 의한 집단발병 사례가 동남아시아, 인도, 아프리

접수: 1999년 8월 16일, 게재결정: 1999년 11월 18일

Corresponding Author: 신영학, 서울 은평구 녹번동 5번지, 국립보건원, 역학조사과 TEL: 380-1483, FAX: 380-1541

카를 중심으로 다수 보고되고 있으며 이외의 국가에서도 이지역 출신의 이민자나 이지역 여행에서의 다제 내성 장티프스균의 검출보고가 잇따르고 있어 장티프스 치료 및 관리에 어려움을 주고 있다^{2,3,4}).

다제내성 장티프스균의 특징은 분자량 40 kb-220 kb의 내성전달 plasmid (주로 H1 incompatibility group)를 보유하고 ampicillin, tetracycline, chloramphenicol, sulfonamide, streptomycin 등 4~5제 이상의 항균제에 내성을 보이며 다른 균으로의 내성유전자 전달이 가능하다고 보고되어 있다^{2, 5~11}. 최근에는 전세계적으로 다제내성균의 증가 뿐 아니라 퀴놀론계 항균제인 ciprofloxacin에 내성을 보이는 장티프스균의 출현이 보고되고 있어 공중보건상의 큰 문제점으로 대두되고 있다^{2,12,13,14}).

보건환경연구원 등 공공 보건검사망을 통한 최근 우리나라의 장티프스균 분리건수 및 항균제 내성 양상을 보면 1995년에 271주, 1996년에 360주, 1997년에 106주 그리고 1998년 300주가 분리되는 등 매년 많은 예의 장티프스가 발생하고 있음을 알 수 있으며 분리균주 중 항균제 내성을 보이는 장티프스균의 비율은 그리 높지 않은 것으로 보고되어 있다. 더우기 5제 이상의 항균제에 내성을 가진 다제내성 균주는 1997년 이전까지 검출보고 예가 거의 없었다.

저자들은 장티프스의 효율적 치료 및 관리를 위하여 1997년부터 전국 보건환경연구원으로부터 분리·보고된 장티프스균에 대하여 미국 ASM (American Society for Microbiology)에서 권장하는 시험방법과 항균제를 대상으로 장티프스균의 최소발육억제 농도를 측정하여 내성양상을 분석하는 연구를 수행하고 있던 중 1997년 1월에서 2월 사이에 경기도 일원에서 분리된 장티프스균 8주가 ampicillin 외 5제 이상의 항균제에 내성을 보였고 그 내성 양상이 세계적으로 보고되고 있는 장티프스 내성균의 내성양상과 유사하여 저자들의 주목을 끌게 되었다.

이에 본 연구는 1997년 분리된 8주의 다제내성 장티프스균의 유래와 약제내성 기전을 규명하고자 1차적으로 plasmid 양상, plasmid의 제한효소 처리 양상과 이들 다제내성 장티프스균이 생산하는 β -lactamase 형을 isoelectric focusing 및 관련 유전자의 PCR 시험을 통하여 분석하였다.

재료 및 방법

1. 균 주

1997년도 전국 시·도 보건환경연구원 분리되어 국립보건원에 확인 보고된 장티프스균 중 5제 이상의 항균제에 내성을 보이는 8 균주를 대상으로 하였다.

2. 항균제 감수성 시험법 및 phage형 시험법

항균제 감수성 시험은 미국 CDC (Center for Disease Control)와 ASM (American Society for Microbiology)에서 장내세균속균 시험에 권장하는 항균제를 선택하여 미량 액체 희석법으로 하였으며 결과는 NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard) 기준에 따라 판정하였다. 표준 균주로는 *E. coli* ATCC 25922를 사용하였고 기타 모든 조건은 NCCLS법¹⁵에 준하였다.

phage형 시험은 Vi항원 양성 균주를 택해 영국 Central Public Health Laboratory (CPHLS)에서 분양받은 phage를 이용하여 Anderson 등의 방법¹⁶으로 실험하였다.

3. Plasmid 분리 및 제한효소절단시험

Alkaline lysis 법¹⁷을 변형하여 plasmid를 분리하였고, 0.8% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다. Plasmid의 size marker로는 *E. coli* V517, *E. coli* RTS-1과 supercoiled DNA marker (Gibco)을 사용하였다. Plasmid의 제한효소 절단양상을 비교하기 위해 증류수에 녹인 plasmid에 *Hind*III를 첨가해 37°C에서 2시간 반응시킨 뒤 전기 영동하여 확인하였으며 marker로는 *Hind*III-digested λ -DNA를 사용하였다.

4. 접합에 의한 내성유전자 전달시험

TSB 3 ml에 공시균과 피전달균 (*E. coli* K12 Na^R)을 1: 4의 비율로 맞춰 37°C에서 18시간 진탕 배양한 뒤 혼합배양액을 0.1 ml씩 선택배지에 도말하여 37°C에서 24시간 배양하였다⁷. 선택배지는 nalidixic acid와 ampicillin이 각각 50 μ g/ml 및 32 μ g/ml 함유된 MacConkey 한천평판배지를 사용하였으며 평판상에서 분홍색 집락을 취해 최소발육억제농도시험과 plasmid 분리시험을 통해 내성이 전달되었는지를 확인하였다.

Table 1. Antibiogram pattern, phage type and plasmid profile of MDR *S. typhi* isolated in Kyonggi area

Strain No.	Isolated Area	Phage type	Resistance pattern	β -lactamase pI	Plasmid M.W: kb (approximately)
101	Pyongtaek	Unt	Tc Tp Cb Cx Amx Ap SXT Cm	5.4	220
102	Osan	A	Tc Tp Cb Amx Ap SXT Cm	5.4	220
103	Hwasung	A	Tc Tp Cb Cx Amx Ap SXT Cm	5.4	220
104	Hwasung	A	Tc Tp Cb Cx Amx Ap SXT Cm	5.4	220
105	Hwasung	A	Tc Tp Cb Amx Ap SXT Cm	5.4	220
106	Yongin	E1	Tc Tp Cb Amx Ap SXT Cm	5.4	220
109	Suwon	E1	Tc Tp Cb Amx Ap SXT Cm	5.4	220
110	Pyongtaek	E1	Tc Tp Cb Amx Ap SXT Cm	5.4	220

*Abbreviation

Ampicillin (Ap), amoxicillin (Amx), carbenicillin (Cb), cefoxitin (Cx), tetracycline (Tc), chloramphenicol (Cm), trimethoprim (Tp), trimethoprim/ sulfamethoxazole (SXT)

5. β -lactamase의 확인시험 및 isoelectric focusing

공시균을 10 ml TSB에 배양하여 37°C에서 18시간 배양 후 원심분리하여 침사를 얻었고 이를 소량의 buffer에 부유하여 French press (Simamicon co.)로 세포를 파쇄하였다. 파쇄된 균액은 원심분리하여 상층액을 취해 -20°C에 보관하여 실험에 사용하였다. β -lactamase의 생성유무는 위에서 얻은 상층액과 nitrocefing용액 (500 μ g/ml)을 동량으로 혼합하여 색깔의 변화로 판정하였고, β -lactamase의 등전점 (isoelectric point: pI)은 Phast Sys. (Pharmacia)를 이용하여 isoelectric focusing gel (pH 3~9, Pharmacia)상에서 전기영동하여 결정하였고 pI standard로는 pI marker (3.6~9.3, Sigma)를 사용하였다. β -lactamase의 위치는 nitrocefing (50 mg/ml)용액이 적혀진 filter paper를 전기영동 후 gel위에 올려 2분간 반응시킨 후 판독하였다.¹⁸⁾

6. β -lactamase 유전자의 PCR¹⁹⁾

β -lactamase 유전자를 확인하기 위해 primer를 아래와 같은 염기서열로 녹십자양행에 의뢰하여 합성·정제하여 20 μ M로 희석하여 사용하였다.

TEM F: 5'GTATGGATCCTCAACATTTCCG TGTCG-3';

TEM R: 5'ACCAAAGCTTAATCAGTGAG GCA-3'

SHV F: 5'TCGGGCCGCGTAGGCATGAT-3';

SHV R: 5'AGCAGGGCGACAATCCCGCG-3'
TEM 증폭산물은 862 bp, SHV 증폭산물은 625 bp로서 이 크기의 band가 나타나는 것으로 유전자의 존재를 확인하였다. PCR 반응액은 10 mM Tris-HCl (pH8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP (each), 2.5U Taq polymerase, 0.4 μ M primer pair, 1 μ l template를 넣어 D.D.W로 최종 50 μ l를 맞춰 사용하였으며 PCR 조건은 TEM의 경우 94°C에서 5분 반응 후 94°C-1분, 65°C-40초, 72°C-2분을 35회 반복하고 72°C에서 5분간 반응시켰으며 SHV의 경우는 94°C-2분, 60°C-1분, 72°C-2분을 35회 반복하고 72°C에서 5분간 반응시켰다.

결 과

1. 다제내성 장티프스균의 항균제 내성양상 및 파지형

시험에 사용한 다제내성 장티프스균은 ampicillin, amoxicillin, carbenicillin, tetracycline, chloramphenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole, trimethoprim, streptomycin 등에 내성을 나타냈다. 최소 발육억제 농도는 ampicillin 및 amoxicillin이 1,024 μ g/ml 와 >1,024 μ g/ml를 나타냈고 tetracycline이 256 μ g/ml, trimethoprim이 >64 μ g/ml 으로 매우 높은 수준이었다. 그러나 ceftriaxone, ciprofloxacin 등의 항균제에 대한 내성은 보이지 않았다. 8주의 분리지역은 모두가 경기도 일대로서 화성, 평택, 오

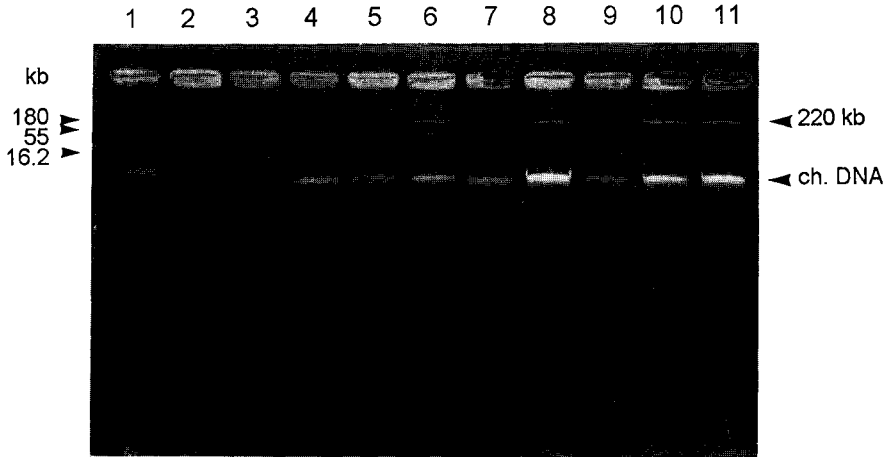


Figure 1. Plasmid profile of MDR *S. typhi*. lane 1: supercoiled DNA ladder, lane 2: *E. coli* V517, lane 3: *E. coli* RTS1, lane 4: *S. typhi* 101, lane 5: *S. typhi* 102, lane 6: *S. typhi* 103, lane 7: *S. typhi* 104, lane 8: *S. typhi* 105, lane 9: *S. typhi* 106, lane 10: *S. typhi* 109, lane 11: *S. typhi* 110.

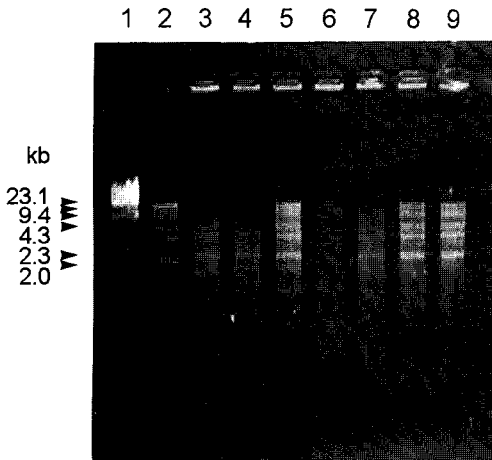


Figure 2. Restriction endonuclease digestion of plasmid originated from MDR *S. typhi* lane 1: λ -HindIII digest, lane 2: *S. typhi* 101, lane 3: *S. typhi* 102, lane 4: *S. typhi* 103, lane 5: *S. typhi* 104, lane 6: *S. typhi* 105, lane 7: *S. typhi* 106, lane 8: *S. typhi* 109, lane 9: *S. typhi* 110.

산 등지였으며 파지형은 A형이 4주로 가장 많고 E1형이 3주, untypable형이 1주였다 (Table 1).

2. Plasmid 분자량 및 제한효소절단 양상

다제내성 장티프스균 8주 모두에서 분자량이 약 220 kb인 plasmid 하나만이 분리되었고 각각의 균주에서 분리된 plasmid를 HindIII로 처리 전기영동한 결과 모두 동일한 양상을 나타내었다

(Table 1, Fig.1, 2).

3. 접합에 의한 내성유전자 전달시험

다제내성 장티프스균 8주와 *E. coli* K12 (Na')를 접합 시험하여 전달빈도를 측정 한 결과, 2.43×10^{-4} - 1.73×10^{-2} 의 빈도로 plasmid가 전달되었고 8주 중 2주는 plasmid가 전달되지 않았다.

전달된 플라스미드가 내성 유전자를 갖고 있는지 확인하기 위해 transconjugant *E. coli*를 대상으로 최소발육억제농도를 측정 한 결과, 모두 donor cell과 거의 동일하여 전달된 plasmid가 ampicillin, chloramphenicol, tetracycline, trimethoprim, trimethoprim/sulfamethoxazole 등의 항균제에 대한 내성유전자를 갖는 것으로 확인되었다 (Table 2).

4. β -lactamase의 isoelectrofocusing

8주의 균과쇄 상층액과 nitrocefin용액 (500 μ g/ml)을 각각 혼합하였을 때 붉은색으로 변화하여 β -lactamase 생성을 확인하였다. 이 효소들의 분류를 위해 IEF한 결과 8주 모두 pI값이 5.4로, plasmid 유래의 TEM-1형 β -lactamase의 pI값과 유사하였다.

5. β -lactamase 유전자 PCR

β -lactamase 유전자를 확인하기 위해 TEM 및 SHV primer로 시험균주에 대해 PCR을 실시한 결과 TEM에 대해서는 862 bp의 증폭산물을 볼 수 있었으나 SHV에는 해당 증폭산물이 나타나

Table 2. Characteristics of the plasmid conferring resistance to antibiotics originated from MDR *S. typhi* isolates and conjugation with *E. coli*K12 (Nar)

Character-istics	Strains studied												
	<i>E.coli</i> K12	<i>S.typhi</i> 101	<i>E.coli</i> K12-p101	<i>S.typhi</i> 102	<i>E.coli</i> K12-p102	<i>S.typhi</i> 103	<i>E.coli</i> K12-p103	<i>S.typhi</i> 104	<i>E.coli</i> K12-p104	<i>S.typhi</i> 105	<i>E.coli</i> K12-p105	<i>S.typhi</i> 109	<i>E.coli</i> K12-p109
MIC (μ g/ml)	8	1024	512	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	>1024
Ap													
Cm	4	512	512	256	256	512	512	256	256	512	256	256	256
Tc	2	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128
Tp	0.5	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
Tp/SXT	0.06/ 1.18	> 16/304	> 16/304	> 16/304	> 16/304	> 16/304	> 16/304	> 16/304	> 16/304	> 16/304	> 16/304	> 16/304	> 16/304
Transfer frequency	-	1.73×10^{-2}	-	2.55×10^{-3}		2.43×10^{-4}	-	1.6×10^{-4}	-	5.7×10^{-3}	-	5.5×10^{-3}	-

*Abbreviation

Ampicillin (Ap), amoxicillin (Amx), carbenicillin (Cb), cefoxitin (Cx), tetracycline (Tc), chloramphenicol (Cm), trimethoprim (Tp), trimethoprim/ sulfamethoxazole (SXT)

지않아 시험균주가 TEM형의 β -lactamase를 갖고 있는 것이 확인되었다.

고 찰

1970년대 초반 장티프스 치료에 시금석처럼 사용되던 chloramphenicol에 대한 내성균이 출현함에 따라 치료제로서 ampicillin과 trimethoprim을 사용하게 되었다. 1989년부터는 이들 약제에도 내성인 균들이 인도대륙, 라틴아메리카, 이집트, 나이지리아, 중국, 베트남 및 필리핀 등지의 국가에서 출현함에 따라 장티프스균의 항균제내성은 전 세계적 문제로 대두되었다. 그 결과 광범위 cephalosporin계와 fluoroquinolone계 항균제를 포함하는 기타 항균제에 대한 내성균 출현 여부를 조사하여 내성실태를 파악할 필요성이 제기되었다.

우리나라의 경우 장티프스균의 항균제 내성균 출현 빈도는 그리 높지 않은 것으로 보고되어 있다. 그러나 1996년 ampicillin 등 5종의 항균제에 내성을 지닌 균주가 2주 분리되었다는 보고에 연이어 저자들에 의한 다제 내성 장티프스균 분리보고를 함으로서¹⁾ 지속적인 장티프스균의 항균제 내성균주 출현 감시가 필요할 것이라고 주장한 바 있다.

당시 저자들이 보고한 다제내성 균주는 모두 8주로 1997년 1월에서 2월사이 평택, 화성 및 오산 등 경기도 일원에서 분리되었다. 이 균들은 ampicillin, amoxicillin, carbenicillin, tetracycline, chloramphenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole, trimethoprim 등의 항균제에 내성을 나타내었으나 제3세대 cephalosporin계인 ceftriaxone과 fluoroquinolone계인 ciprofloxacin 등에는 감수성을 나타내었다. 1997년 타지크스탄 및 파키스탄에서는 ciprofloxacin에도 내성을 보이는 균주의 검출보고도 있었다^{12,13,14)}.

장티프스균이 chloramphenicol, ampicillin, sulfamethoxazole, trimethoprim 및 tetracycline에 내성을 나타내는 경우 흔히 내성 유전자는 plasmid에 암호화 되어 있으며 plasmid의 크기는 290 kb까지로 분자량이 크며 접합에 의해 내성이 전달되는 것으로 알려져 있다⁹⁾.

저자들의 연구에서 다제 내성 장티프스균 8주 모두 약 220 kb의 plasmid 1개를 공통적으로 보유하고 있었다. 또한 접합에 의한 내성유전자 전달시험 결과 8주 중 6주가 대장균으로 2.43×10^{-4} - 1.73×10^{-2} 의 빈도로 plasmid가 전달되었고 plasmid를 전달 받은 대장균에서도 다제내성 장티프스균과 동일한 항균제에 대하여 유사한 최소발육농도를 나타내 항균제 내성이 이 plasmid에 의

한 것이며 다른 속 균으로 전달이 가능하다는 사실을 확인할 수 있었다. 1996년 Peter 등⁹⁾이 보고한 다제내성 장티프스균의 plasmid의 분자량 측정 결과를 보면 파키스탄 분리주는 약 210 kb 인 반면 가나 분리주는 90 kb 이하인 것으로 보고되어 국내 분리주가 아시아 분리주와 plasmid 분자량이 유사하다는 것을 확인하였다.

Plasmid 양상분석은 *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* 등 균속의 subtyping에 매우 유용한 방법으로 알려져 있으며 주로 집단 발생시 역학적 지표로서도 활용되고 있다. 그러나 동일한 양상의 plasmid가 분리된다 하여도 염기서열상의 차이점이 있을 수 있으므로 제한효소에 의한 절단양상을 고려하여야만 감염원의 추적 등 역학적 지표로서 유용성이 높다²⁰⁾. 본 연구에서 실험한 장티프스균의 plasmid는 제한효소에 의한 절단양상이 동일하여 동일 clone에 의한 발생 가능성을 추시하고자, 현지 역학조사를 실시한 결과 환자간의 직접적인 접촉이 없던 것으로 나타나 1997년 1월에서 2월 사이 경기도 일원에서 발생한 다제내성균에 의한 장티프스 환자들의 감염원 및 전파에 관한 정확한 연관관계를 밝힐 수 없었다.

본 연구에서는 국내 분리 다제내성 장티프스균이 생산하는 β -lactamase의 특성을 밝히고자 TEM 및 SHV 시발체로 유전자에 대한 중합효소 연쇄 반응시험 및 효소에 대한 isoelectric focusing을 실시하였다. 그 결과 다제내성균 8주는 플라스미드형인 TEM형 β -lactamase 유전자를 갖고 있었고, 생성되는 효소는 pI값과 항균제 감수성 양상을 고려할 때 TEM-1 형인 것으로 추정되었다. TEM형은 가장 흔하게 발견되는 β -lactamase로서 1965년 *E. coli*에서 TEM-1형이 처음 보고된 이후 현재는 *E. coli*에서 40~60%, 기타 장내세균에서는 20~50%의 빈도로 발견되고 있다. TEM형은 TEM-1형의 아미노산서열 변이에 따라 세분되어 기질 특이성이 바뀌는데 점차 광범위한 β -lactamase 항균제에 대해 내성을 보이고 있는 실정므로 이러한 사실 즉, TEM-1 β -lactamase gene이 많은 ESBL (extended spectrum β -lactamase)과 inhibitor-resistant β -lactamase의 시발체가 된다는 점으로 볼 때 장티프스균에서 TEM-1형 β -lactamase가 발견된 것은 임상적으로 매우 중요하게 다뤄져야할 문제로 생각된다^{11,19,21)}.

1997년 경기도 지역에서 분리된 다약제 내성 장티프스균 8주는 plasmid분자량, plasmid의 제한효

소절단양상, phage type 및 항균제 내성양상 등의 실험결과를 종합해 볼 때 2가지 clone에서 유래한 것으로 추정된다. 이 균들이 국내 토착적 발생인지 아니면 해외에서 유입, 전파된 것인지는 확실히 알 수 없으나 최근까지도 다제내성균이 분리된 예가 거의 없었고 항균제 내성을 매개하는 plasmid의 크기와 내성양상이 인도, 동남아시아 지역에서 보고된 장티프스균과 거의 일치하고 있으며 분리지역이 공업지역으로 동남아시아 등 해외 근로자들이 다수 거주하는 지역이라는 점을 감안할 때 해외에서 유입되었을 가능성도 있는 것으로 추정된다.

현재까지 우리나라에서 분리된 장티프스균은 제 3세대 cephalosporin계인 ceftriaxone과 fluoroquinolone계인 ciprofloxacin 등에는 감수성을 나타냈지만 타지크스탄의 몇몇 국가에서 이 항균제들에 대한 내성균 발견이 속속 보고되고 있고 국가간의 인적교류가 활발해지고 있는 이 시점에서 ceftriaxone, ciprofloxacin에 대한 내성균이 유입될 가능성이 크기 때문에 결코 안심할 수 없는 실정이다^{24,12~14)}.

따라서 향후 항균제 내성 장티프스균의 출현 감시를 지속적으로 실시해야 할 것으로 생각되며 보건자관리를 통한 환자수 감소에도 큰 힘을 기울여야 할 것이다. 또한 국내에 거주하는 해외 노동자들의 보건자관리에도 관심을 가져 장티프스균 특히 항균제 내성 장티프스균의 국내 유입을 막도록 해야 할 것이다.

결 론

1997년 경기도 지역에서 분리된 8주의 다제내성 장티프스균은 ampicillin, chloramphenicol, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole 등의 항균제에 높은 MIC값을 보였고 plasmid profile결과 8주 모두 동일하게 한개의 plasmid만을 갖고 있었으며 크기는 분자량이 약 220 kb로서 제한효소 절단양상도 동일하였다. 분리된 plasmid는 장티프스균의 다약제 내성과 관련이 있다고 보고된 plasmid의 분자량과 유사하였으며 접합에 의해 2.43×10^{-4} - 1.73×10^{-2} 의 빈도로 *E. coli*로 전달되었고 transconjugant는 donor와 동일한 항균제 내성 양상을 나타냈다. 8주 모두 β -lactamase를 생산하였으며, isoelectric focusing과 PCR을 통해 TEM-1형으로 추정되는 β -lactamase gene을 갖고 있었다.

이상과 같은 연구 결과 1997년 경기도 일원에서 분리된 8주의 다제내성 장티프스균은 두가지 클론에서 유래된 것으로 추정되며 내성 전달빈도도 비교적 높아 앞으로 다제내성 장티프스균에 의한 환자 발생도 확산될 것으로 예상되므로 항균제 내성 장티프스균의 출현감시를 강화하여야 할 것이다.

감사의글

본 연구는 1999년 기초의학학술대회에 일부 발표되었으며 실험에 사용한 장티프스균은 국립보건원 장내세균과에서 분양받았음.

참 고 문 헌

- 1) 신영학, 유정식, 김기상: *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium* 및 *Salmonella enteritidis*의 항균제 감수성 (1997). 대한화학요법학회지 **16**(3): 205-214, 1998.
- 2) Rowe B, Ward LR, Threlfall EJ: Multidrug-resistant *Salmonella typhi*. A worldwide epidemic. *Clin Infect. Dis* **24**(suppl 1): S106-9, 1997.
- 3) Mirza SH, Hart CA: Plasmid encoded multidrug resistance in *Salmonella typhi* from Pakistan. *Annal Trop Med Parasitol* **87**(4): 373-377, 1993.
- 4) Okeke IN, Lamikanra A, Edelman R: Socioeconomic and behavior factors leading to acquired bacterial resistance to antibiotics in developing countries. *Emerging Infectious Diseases* **5**(1): 1999.
- 5) Murry BE, Myron ML, Ana MC, Karin D, Panida J, Dennis K, Ratanasuda P-U, Ingeborg P: Survey of plasmids in *Salmonella typhi* from Chile and Thailand. *J Infect Dis* **151**(3): 551-555, 1985.
- 6) Pillai PK, Prakash K: Current status of drug resistance & phage types of *Salmonella typhi* in India. *Indian J Med Res (A)* **97**: 154-158, 1993.
- 7) Hasan Z, Rahman KM, Alam MN, Afroza A: Role of a large plasmid in mediation of multiple drug resistance in *Salmonella typhi* and paratyphi A in Bangladesh. *Bangladesh Med Res Counc Bull* **22**(1): 50-54, 1995.
- 8) Karmaker S, Biswas D, Shaikh NM, Chatterjee SK: Role of a large plasmid of *Salmonella typhi* encoding multiple drug resistance. *J Med Microbiol* **34**: 149-151, 1991.
- 9) Hermans PW, Saha SK, Leeuwen WJ: Molecular typing of *Salmonella typhi* strains from Dhaka (Bangladesh) and development of DNA probe identifying plasmid encoded multidrug resistant isolates. *J Clin Microbiol* **34**(6): 1373-1379, 1996.
- 10) Taylor DE, Chumpitaz JC, Goldstein F: Variability of IncHI1 plasmid from *Salmonella typhi* with special reference to peruvian plasmid encoding resistance to trimethoprim and other antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* **28**(3): 452-455, 1985.
- 11) Shanahan PMA, Jesudason MV, Thomson CJ: Molecular analysis and identification of antibiotic resistance genes in clinical isolates of *Salmonella typhi* from India. *J Clin Microbiol* **36**(6): 1595-1600, 1998.
- 12) Hampton MD, Ward LR, Rowe B, Threlfall EJ: Molecular Fingerprinting of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhi. *Emerging Infectious Diseases* **4**(2), 1998.
- 13) Agarwal V, Brahmne RB, Dhanvijay AG, Jalgaonkar PD: Antibigram, phage types & biotypes of *Salmonella typhi* isolated in Naqpur. *Indian J Med Res (A)* **95**: 14-16, 1992.
- 14) Rao PS, Rajashshekar V, Varghese GK: Emergence of multidrug-resistant *Salmonella Typhi* in rural southern India. *Am J Trop Med Hyg* **48**(1): 108-111, 1993.
- 15) National Committee for Clinical Laboratory Standard: Approved standard M7-A4. Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. *Pennsylvania, NCCLS* 1997.
- 16) Anderson ES, Williams REO: Bacteriophage typing of enteric pathogens and staphylococci and its use in epidemiology. *J Clin Path* **9**: 94-127, 1956.
- 17) Sambrook. Fritsch, Maniatis: Extraction and purification of plasmid DNA. *Molecular cloning*

2nd editon 1.21-1.32.

- 18) Liu Y, Mee BJ, Mulgrave L: Identification of clinical isolates of indole-positive *Klebsiella* spp., including *Klebsiella planticola* and a genetic and molecular analysis of their β -lactamases. *J Clin Microbiol* **35**(9): 2365-2369, 1997.
 - 19) Leung M, Shannon K, French G: Rarity of transferable β -lactamase production by *Klebsiella* species. *J Antimicrob Chemother* **39**: 737-745, 1997.
 - 20) David HP, Thomas FS, Fred CT: Diagnostic Molecular Microbiology. Molecular typing methods. *American Society for Microbiology* 26-50, 1993.
 - 21) Livermore DM, Yuan M: Beta-lactamase & extended-spectrum Beta-lactamase. The 2nd International symposium on antimicrobial resistance 「Challenges of drug resistance in the next millenium」Seoul, 95-113, 1999.
-