

## 1996년 부산시에서 집단발생한 장티푸스 환자들로부터 분리한 *Salmonella typhi*의 PFGE양상, Phage형 및 항균제감수성

국립보건원 세균질환부 감염역학과, 장내세균과\*

신영학 · 유정식 · 박미선\* · 강연호\* · 이복권 · 김호훈\*

### = Abstract =

#### Pulsed-Field Gel Electrophoresis Pattern, Phage Type and Drug Susceptibility of *Salmonella typhi* Isolates from an Outbreak in Pusan City in 1996

Young Hack Shin, PhD., Jung Sik Yoo, MSc., Mi Sun Park, MSc., Yeun Ho Kang, BSc.  
Bok Kwon Lee, MSc. and Ho Hoon Kim, DVM., PhD.

Department of microbiology, Laboratory of epidemiology and Laboratory  
of enteric bacteria\*, National Institutes of Health, Seoul, Korea

**Background :** During the period from April to June 1996, an outbreak of typhoid fever occurred in SuYoung-Ku, Pusan city. We performed the molecular epidemiological analysis and drug susceptibility test for 48 isolates of *Salmonella typhi* from the outbreak.

**Methods :** Chromosomal DNA of *S. typhi* was digested with the restriction endonuclease *Spe I* and the resulting restriction polymorphism was observed on pulsed field gel electrophoresis(PFGE). Phage typing was performed using Vi-phages, and antimicrobial susceptibility test was done by Disc diffusion method.

**Results :** On phage typing, 2 isolates were M1 phage type, 2 E1 phage type and 44 untypable. The PFGE analysis on 14 to 16 chromosomal DNA restriction fragments ranged from 50Kb to 1000kb showed 2 different patterns for restriction fragments, divided into group A and B. Forty-seven isolates belonged to group A that were subgrouped into A1(42 strains), A2(1 strain), A3(3 strains), A4(1 strain), and one strain was grouped into group B. In the F-value of genetic similarity of the epidemic *S. typhi* strains, there was low similarity(F value: 0.2-0.258) between group A strains and group B strains. However, the subgroup strains(A1-A4) showed high similarity(F value: 0.8-0.897) each other. The drug susceptibility test showed susceptibility to ampicillin, carbenicillin, cephalothin, chloramphenicol, tobramycin, gentamycin, kanamycin, nalidixic acid, neomycin, polymyxin B, streptomycin, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole, ciprofloxacin and norfloxacin.

**Conclusion :** This study showed that phage typing and PFGE were very useful as a tool to investigate molecular analyses of epidemic *S. typhi* strains in this study.

**Key Words :** *Salmonella typhi*, Phage typing, Pulsed-field gel electrophoresis, antimicrobial, susceptibility

1)

교신저자: 서울 은평구 녹번동 5 국립보건원 세균질환부 감염역학과 신영학  
Tel : 02) 380-1482, Fax : 02) 382-4891

## 서 론

WHO 보고에 의하면 장티푸스 환자는 개발도상국을 중심으로 연간 약 16만여명이 지구촌에서 발생되고 있으며 이들중 약 6만 여명이 사망하고 있어 공중보건상 중요한 감염질환이 되고있다<sup>1)</sup>. 우리 나라의 경우 장티푸스는 환경위생의 개선, 국민의식수준 및 생활수준의 향상에도 불구하고 국내에 도착화된 법정전염병이다. 1996년도 보건 복지부에 신고된 장티푸스환자 발생수는 475명으로서 신고의무 1, 2종 법정 전염병중 수위를 차지 하고 있다<sup>2)</sup>. 장티푸스는 사람이 유일한 숙주이므로 환경위생의 개선과 함께 보균자 및 감염원을 색출, 제거하고 환자 및 보균자에 대한 철저한 치료 관리가 이루어 진다면 근절이 가능한 질환이다. 장티푸스균의 감염에 대한 역학조사는 전통적으로 phage typing 방법이 이용되어 왔으며<sup>3-6)</sup> 최근에는 분자 역학적 방법으로 ribotyping<sup>7)</sup> 및 염색체 DNA 제한효소 절단 양상 분석법 등<sup>8)</sup>이 사용 되고 있다. 이들 방법중 염색체 DNA를 제한효소로 처리하여 절단된 DNA를 pulsed-field gel electrophoresis하는 방법이 세균성 병원체의 분자역학적 조사 목적으로 널리 이용되고 있으며 분별력 및 재현성이 타 방법에 비해 우수한 것으로 알려져 있다<sup>9)</sup>.

1996년도 부산 수영구에서 약 90여명의 장티푸스 환자가 집단 발생하였다. 당시 보건 당국과 학계 공동 조사팀에 의한 역학조사 결과 이 지역의 장티푸스 집단 발생은 상수도의 오염으로 인한 집단 발생으로 결론 지어졌다. 저자들은 1996년 부산 지역에서 집단발생 장티푸스 환자로부터 분리, 동정된 장티푸스균을 대상으로 항생제 감수성 양상, phage typing 및 PFGE양상을 분석하여 환자발생일을 토대로 초발환자를 추적하고 phage형 및 PFGE 양상의 역학적 지표로서의 유용성을 검토함과 동시에 약제선택의 기초 자료를 제공 하고자 시험, 분석하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상 균주

1996년 4월부터 6월사이 부산 수영구에서 집단 발생한 장티푸스 환자로부터 분리된 장티푸스균 48주를 대상으로 시험하였다. 이들 병원체는 생화학 및 혈청

학적시험을 통하여 동정되었다.

### 2. 파지형 시험

장티푸스균의 파지형 시험은 영국 런던소재 Central Public Health Laboratory(CPHL)로부터 분양 받은 phage로 시험하였다. 시험대상 균주를 nutrient 액체배지에 접종하여 38℃에서 3시간 정도 배양하여 육안으로 알아볼 수 있을 정도의 성장탁도를 보일 때 nutrient 평판배지 위에 균질하게 도말한 다음, nutrient 액체배지로 상용시험 희석농도(RTD: Routine Test Dilution)로 조절된 각 형의 Vi phage액을 phage 접종기로 식균후 24시간 배양하였다. 판독은 숙주세포에 대하여 특이적으로 나타난 phage에 의한 용균 양상을 관찰하여 표준 판독표에 따라 판독하였다<sup>3)</sup>.

### 3. 항균제 감수성 실험

디스크 확산법에 따라 ampicillin, carbenicillin, cephalothin, chloramphenicol, tobramycin, gentamycin, kanamycin, nalidixic acid, neomycin, polymyxin B, streptomycin, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole, ciprofloxacin, norfloxacin 등 15종 항균제에 대한 감수성 시험을 하였다. 항균제 디스크는 BBL사 제품을 사용하였다. 항균제의 역가는 *Escherichia coli* ATCC 25922주를 감수성 표준균주로 사용하여 시험때마다 참조, 확인하였으며 기타 모든 조건은 NCCLS법에 준하였다<sup>10)</sup>.

### 4. PFGE를 위한 염색체 DNA 준비

장티푸스 균주를 nutrient 액체 배지에 접종하여 37℃에서 진탕배양하고(650nm에서 O.D 0.4) 4℃에서 원심분리하여 균체를 회수한 뒤 10mM Tris-HCl(pH7.5)-1M NaCl로 세척한 뒤 같은 양의 low-melting point agarose(Sigma)와 섞어 insert mould(Pharmacia)에 넣고 4℃에서 10분간 굳혔다. Agarose block을 37℃에서 lysozyme solution (2mg lysozyme per ml, in 6mM Tris-HCl, 1mM NaCl, 100mM EDTA, 0.5% Brij. 0.22% deoxycholate, 0.5% Sarkosyl, Sigma)에 넣어 18시간 반응시키고 이어서 단백질성분 제거를 위해 proteinase K 1mg/ml, 0.5% EDTA, 0.5% sarkosyl (Sigma)이 들어있는 용액에 50℃, 48시간 동안 반응시켰다. 세포 찌꺼기와 proteinase 제거를 위해 1mM

phenylmethyl sulfonyl fluoride(Sigma)가 첨가된 TE buffer로 실온에서 2시간 동안 3회 세척하고 실온에서 TE buffer에 2시간 동안 평형화시킨 뒤 새로운 TE buffer에 넣어 4℃에서 보관하면서 실험에 사용하였다<sup>11)</sup>.

## 5. 염색체 DNA 제한효소처리 및 PFGE

Restriction buffer(6mM Tris-HCl, 6mM MgCl, 50mM NaCl, 1mM DTT) 200 $\mu$ l에 2시간 동안 평형화시킨후 18U(1/2 size의 agarose block)의 *Spe* I (5-ACTAGT-3, Promega)이 포함된 restriction buffer에 넣고 18시간동안 반응시켰다. 제한효소로 처리한 agarose block을 1% agarose gel의 well에 넣고 0.5 $\times$ TBE를 영동 buffer로 하여 6V/cm, pulse time 3-50초, run time 26시간의 조건으로 Gene Navigator(Pharmacia)를 이용해 전기영동하였다. 전기영동이 끝난후 1 $\mu$ g/ml ETBr(Sigma)로 30분간 염색하고 20분 동안 탈색한 후 자외선 조영하에서 촬영하였다. DNA standard marker로는 Promega사의 PFGE용 Lamda ladder를 사용하였다<sup>11)</sup>.

## 6. PFGE 양상 분석

PFGE 결과는 Tenover 등의 방법에 따라 각 군주의 DNA 위치가 다른 분획의 수가 6개 이하인 경우에는 같은 group에 속한 것으로, 7개 이상인 경우에는 다른 group에 속하는 것으로 해석하였다<sup>12)</sup>. 동일 group에 속하는 군주들에 대하여는 분획의 위치 및 수에 따라 다시 subgrouping하였다. 각기 다른 subgroup사이의 유전적 유사도는 다음 계산식에 따라 수치화 하고 그 값을 이용하여 dendrogram으로 도식화하여 분석하였다. F값이 1에 가까울수록 유사도가 높은 것으로 하였다<sup>1, 11, 13)</sup>.

$$F(\text{coefficient of similarity}) = 2n_{xy} / (n_x + n_y)$$

$n_x$  : 군주 x의 전체 DNA분획수

$n_y$  : 군주 y의 전체 DNA분획수

$n_{xy}$  : x와 y군주가 공유하고 있는 DNA분획수

## 결 과

### 1. 대상 군주의 분리

집단발생한 장티푸스 환자중 *S. typhi* 균이 분리되

**Table 1.** Age and Sex Distribution of Typhoid Fever Patient with *S. typhi* Isolates Among the Outbreak Cases at SuYoung Ku, Pusan City in 1996 Apr.to June

Age	Sex		Total
	Male	Female	
0- 4	2	—	2
5- 9	4	—	4
10-14	2	6	8
15-19	6	2	8
20-24	2	6	8
25-29	1	3	4
30-34	—	2	2
35-39	—	1	1
40-44	—	4	4
45-49	—	3	3
50-54	1	3	4
Total	18	30	48

어 국립보건원에서 확인이 된 군주 48주를 본 시험에 대상군주로 하였다 이중 여성 환자로부터 분리된 군주가 30주, 남성 환자로부터 분리된 군주가 18주였다. 이들 군주들이 분리된 환자들의 연령분포는 남성의 경우 주로 20대 이하의 연령층이었던 반면, 여성의 경우는 10세에서 54세까지의 연령층에 분포하였다(Table 1). 이들 군주들이 분리된 환자들의 발병일은 1996년 4월 23일부터 6월 22일까지였다(Table 2).

### 2. 항생제 감수성 양상 및 파지형

*S. typhi* 48개의 분리주에 대하여 디스크 확산법에 따라 ampicillin 외 14종에 대한 감수성 시험 결과 내성을 보인 군주는 1주도 없었다. phage형은 M1형 군주가 2주, E1형 군주가 2주 였으며 그 외 44군주는 Vi 양성인 phage형 비분류(untypable) 군주였다(Table 2).

### 3. PFGE 양상

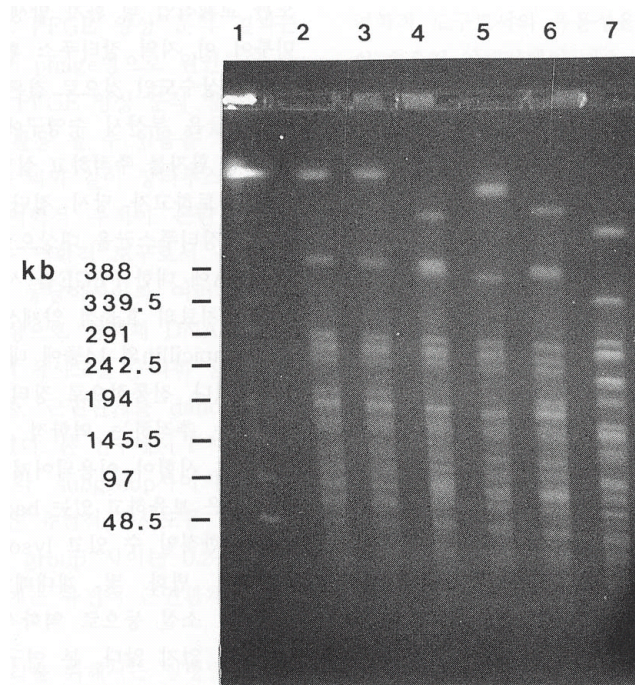
제한효소 *Spe* I 으로 *S. typhi* 48군주를 처리하여 PFGE를 한 결과, 분획의 크기가 50Kb에서 1000Kb의 범위로 분획수는 14-16개로 나타났다. Tenover 등에 의한 방법으로 PFGE 양상을 분석한 결과 48군주중 47군주가 동일한 군(A group)에 속하는 것으로 나타났으며 이를 다시 분획의 위치 및 수에 따라 subgrouping 한 결과 모두 4개의 subgroup으로 세분되었다(Fig. 1, 2, Table 2). A group 대부분의 군주

**Table 2.** Phage Type, Drug Resistance Pattern and PFGE Pattern of *S. typhi* Isolates from on Outbreak in SuYoung Ku, Pusan, in 1996

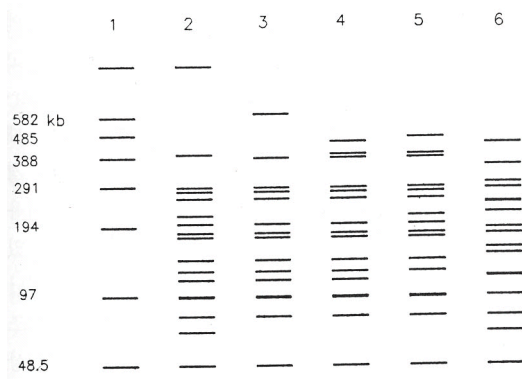
Serial No.	Strain No.	Date of onset	Phage type	Drug resistance pattern	Designation of PFGE	
					Group	Subgroup
1	561	4.23	UT*, Vi+	— <sup>†</sup>	A	A1
2	407	4.26	E1	—	A	A2
3	652	5.4	UT, Vi+	—	A	A1
4	396	5.8	UT, Vi+	—	A	A1
5	398	5.8	UT, Vi+	—	A	A1
6	393	5.9	UT, Vi+	—	A	A1
7	394	5.10	UT, Vi+	—	A	A1
8	397	5.10	UT, Vi+	—	A	A1
9	439	5.11	UT, Vi+	—	A	A1
10	458	5.11	UT, Vi+	—	A	A1
11	395	5.13	UT, Vi+	—	A	A1
12	442	5.13	UT, Vi+	—	A	A1
13	401	5.14	UT, Vi+	—	A	A1
14	411	5.14	UT, Vi+	—	A	A1
15	405	5.15	UT, Vi+	—	A	A1
16	410	5.15	UT, Vi+	—	A	A1
17	408	5.16	UT, Vi+	—	A	A1
18	560	5.16	UT, Vi+	—	A	A1
19	400	5.17	UT, Vi+	—	A	A1
20	402	5.18	UT, Vi+	—	A	A1
21	403	5.18	UT, Vi+	—	A	A1
22	406	5.18	UT, Vi+	—	A	A1
23	409	5.18	UT, Vi+	—	A	A1
24	440	5.18	UT, Vi+	—	A	A1
25	441	5.18	UT, Vi+	—	A	A1
26	399	5.20	UT, Vi+	—	A	A1
27	404	5.21	UT, Vi+	—	A	A1
28	443	5.23	UT, Vi+	—	A	A1
29	454	5.23	UT, Vi+	—	A	A1
30	455	5.23	UT, Vi+	—	A	A1
31	457	5.25	UT, Vi+	—	A	A1
32	647	6.1	UT, Vi+	—	A	A1
33	558	6.2	M1	—	A	A1
34	559	6.2	M1	—	A	A1
35	646	6.7	UT, Vi+	—	A	A1
36	648	6.8	UT, Vi+	—	A	A1
37	649	6.9	UT, Vi+	—	A	A1
38	764	6.13	UT, Vi+	—	A	A1
39	678	6.13	UT, Vi+	—	A	A3
40	710	6.13	UT, Vi+	—	A	A1
41	715	6.13	E1	—	A	A3
42	675	6.15	UT, Vi+	—	A	A1
43	677	6.15	UT, Vi+	—	A	A1
44	711	6.15	UT, Vi+	—	A	A4
45	713	6.15	UT, Vi+	—	B	B1
46	714	6.19	UT, Vi+	—	A	A1
47	676	6.20	UT, Vi+	—	A	A1
48	712	6.22	UT, Vi+	—	A	A3

\*UT: untypable

<sup>†</sup>—: susceptible to ampicillin, carbenicillin, cephalothin, chloramphenicol, tobramycin, gentamycin, kanamycin, nalidixic acid, neomycin, polymyxin B, streptomycin, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole, ciprofloxacin, norfloxacin

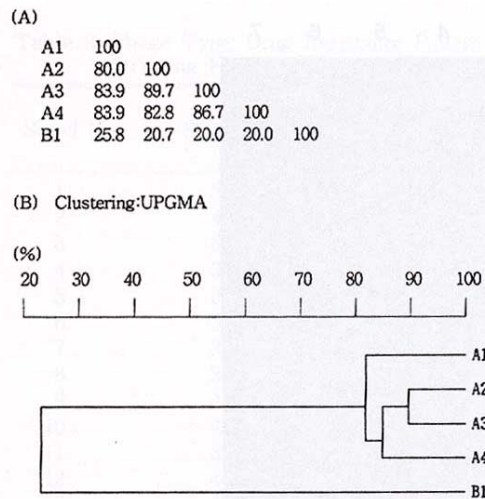


**Fig. 1.** PFGE patterns of chromosomal DNA restriction fragments of Typhoid outbreak isolates from SuYoung Ku, Pusan city in 1996 Apr.to June digested with *Spe* I. Lane 1: Marker(lamda ladder for PFGE) Lane 2: Isolate from the first patient(A1 subgroup) Lane 3: A1 subgroup, Lane 4: A3 subgroup, Lane 5: A2 subgroup, Lane 6: A4 subgroup, Lane 7: B1 subgroup.



**Fig. 2.** Diagram showing PFGE patterns of outbreak isolates digested with *Spe* I. Lane 1: Marker(lamda ladder for PFGE), Lane 2: A1 subgroup, Lane 3: A2 subgroup, Lane 4: A3 subgroup, Lane 5: A4 subgroup, Lane 6: B1 subgroup.

가 A1 subgroup(42균주, 89.4%)에 해당되었으며 집단 발생 초기에 분리된 균주들이었다. 그외 A2 subgroup이 1주, A3 subgroup이 3주 및 A4 subgroup이 1주였다. 48균주중 1균주만이 다른군(B group)에 속하였다(Table 2). PFGE 양상을 통하여 부산 장티푸스 집단발생 초발 환자를 추적한 결과 1996년 4월 23일에 발생한 남성환자 인 것으로 밝혀졌다. 한편 각 subgroup 사이의 유전적 유사도를 분석하기 위해서 유사계수(F값)를 산정한 결과 F값은 A group의 각 subgroup 사이는 0.80-0.897으로 나타나 유전적 유사도가 높았으며 A group의 각 subgroup과 B group사이는 0.20-0.258으로 나타나 A와 B group사이에는 유전적 유사도가 낮음을 알 수 있었다. A group에서 A2와 A3 subgroup은 유전적 유사도가 가장 높았으며(F=0.897) A1와 A2 subgroup은 가장 낮은 유전적 유사도를(F=0.80) 보였다. group 혹은 subgroup간의 유전적 유사도는 Dendrogram으로 도식화 하였다(Fig. 3).



**Fig. 3.** (A) Matrix of F values for *S. typhi* groups. The original F values have been multiplied by 100 to give similarity percentage. (B) Dendrogram showing the cluster analysis on the basis F value and by using the unweighted pair group arithmetic means method.

## 고 안

전염병 신고 자료에 의한 최근 국내 장티푸스 환자 발생수는 1994년에 267명, 1995년에 370명, 1996년에 475명으로 환자 발생이 많지는 않다<sup>2, 14, 15</sup>. 그러나 우리나라 전염병의 신고율이 27%정도에 불과하다는 연구보고<sup>16</sup>를 고려한다면 아직도 장티푸스는 중요 보건 관리 대상 감염질환이다. 1996년 4월부터 6월 사이 70여일에 걸쳐 부산시 수영구에서 장티푸스환자 90여명이 집단 발생하여 환자 발생율이 10,000명당 52.3명에 달하였다. 당시 보건당국 및 학계에서 공동으로 역학 조사를 통하여 집단 발생 감염원을 추적한 결과 첫째, 상수도관의 분포와 환자발생지역이 거의 일치하였다는 점, 둘째, 남성에서는 주로 24세 이하에서 발생하였고 여성의 경우 54세 이하에서 주로 가정주부를 중심으로 환자발생을 보이면서 여성이 남성보다 발생율이 더 높은 점등 역학적 특성이 물에 의한 장티푸스 유행양상과 일치하고 셋째, 상수도 수질검사결과 잔류염소가 검출되지 않고 오염의 지표인 대장균이 검출된 점 넷째, 발생초기 잠정적으로 감염원으로 추정되었던 지역 주민이 공용으로 음용하고 있는 지하수를 폐쇄하였는데도 환자발생이 계속 되었다는 점 다섯째, 상수도관

교체작업 뒤 환자 발생보고가 없었다는 점 등을 미루어 이 지역 장티푸스 환자 집단발생의 감염원은 오염된 상수도인 것으로 결론지었다<sup>17</sup>.

저자들은 부산시 수영구에서 집단발생한 장티푸스의 초발 환자를 추적하고 실험실적 역학지표로서 유용성을 검토하고자 당시 집단발생 장티푸스환자로부터 분리한 장티푸스균을 대상으로 phage형 시험 및 염색체 DNA에 대한 PFGE를 시행하였다. 아울러 장티푸스 환자치료의 효율적 약제선택의 기초자료를 제공하고자 ampicillin의 14종에 대한 항균제 감수성 시험을 실시하였다. 전통적으로 장티푸스의 감염원 추적과 전파경로를 추적하는 역학적 도구로 장티푸스균의 Vi phage형 시험이 이용되어져 왔다<sup>3-6</sup>. 그러나 phage형 시험은 보유하고 있는 bacteriophage에 따라 형감별이 제한적일 수 있고 lysogenic phage로 인한 용균현상의 변화 및 계대배양으로 인한 virulence factor의 소실 등으로 역학적 지표로서 경우에 따라 제한성이 없지 않다. 본 연구에서 부산지역 집단발생 장티푸스 환자 분리주를 대상으로 Vi-phage형 시험을 하였으나 48 주중 44주가 비분류주로 밝혀졌다. 최근 multi-locus enzyme electrophoretic analysis (MEA), ribotyping, IS 200 fingerprinting 및 염색체 DNA를 제한효소로 처리하여 PFGE하는 방법 등 새로운 분자생물학적 기법들이 병원체의 역학적 분석에 시도되고 있다. 그러나 MEA의 경우 phage형이 서로 다른 균의 형 감별이 되지 않으며 유래가 다른 지역에서 분리된 산발적 환자 발생의 장티푸스 균임에도 불구하고 동일한 클론으로 반응하는 등 해석상 고려할 점이 많은 것으로 알려져 있다. IS200 fingerprinting의 경우에는 phage형 시험과 비교해 볼 때 분별력이 떨어진다는 보고가 있으며 ribotyping의 경우 효과적인 형 감별 시험법이기는 하지만 고가의 비용과 기술적 숙련도가 요구된다는 문제점을 지니고 있다. 반면 PFGE는 해상도, 분별력 및 재현성이 뛰어난 방법으로서 감염병의 집단발생 및 원내감염의 역학조사에 많이 활용되고 있다<sup>9</sup>. 본 연구에서 PFGE 양상 분석결과로 볼 때 1996년 부산 수영구에서 집단발생한 장티푸스의 초발환자는 4월 23일 발생한 남성 환자인 것으로 추정되었다. Nair 등<sup>9</sup>은 아시아 지역에서 분리된 장티푸스 균 39주를 대상으로 phage형 시험 및 염색체 DNA를 제한효소 *Xba* I 또는 *Spe* I 으로 처리하여 역학적지표로서 유용성을 검토한 결과 phage형은 9가지 형으

로 PFGE 양상 분석 결과는 22가지 유형으로 분류되어 phage형으로 원인균의 유래를 추적하기 어려울 때 PFGE 양상 분석 방법이 역학적 도구로서 유용하게 활용 될 수 있음을 시사하였다. 본 연구에서도 상기한 바와 같이 장티푸스집단 발생시 phage형에 의한 역학적 추적이 곤란한 경우 PFGE 양상 분석 방법은 역학적 도구로서 유용하였다. 한편 Thong 등<sup>1)</sup>은 동남아시아의 여러지역에서 분리한 장티푸스균을 대상으로 염색체 DNA에 대한 PFGE를 실시하고 유전적 유사도를 수리적 방법에 의해 유사계수(F치)를 산출, 근연관계를 dendrogram으로 도식화하여 분석하였다. 본 연구에서 F치를 산출한 결과 A group의 각 subgroup사이의 F치는 0.80-0.897을 나타내 높은 유전적 유사도를 나타내었지만 A subgroup과 B group 사이는 0.2-0.258로 나타나 A와 B group간에는 유전적 근연관계가 낮음을 알 수 있었다.

장티푸스의 효율적 관리를 위해서는 질병발생 감염원 및 유행전과경로의 추적도 중요하지만 질병의 치료 또한 중요하다. 장티푸스의 치료약제는 전통적으로 chloramphenicol이 많이 사용되어져 왔으나 과립구 감소증 등 치명적 혈액 장애 등 부작용이 있고<sup>18)</sup> 만성 보균자의 보균 제거가 어려워<sup>19)</sup> 치료약제로서의 유용성을 상실해 가고 있는 실정이다. 또한 장티푸스균은 약제내성균의 출현빈도가 낮은 것으로 보고되어 있으나 1972년 전후 멕시코 및 베트남<sup>19)</sup>등지에서 다약제 내성균이 출현, 대유행을 보인 바 있어 다약제 내성균이 해외로부터 유입 위험성이 크며 국내의 경우 항생제의 남용으로 인한 약제 내성균이 출현, 유행적 발생 우려가 상존하고 있다. 본 실험에서는 장내세균 감염증에 흔히 사용, 권장되고 있는 ampicillin외 14종의 항균제에 대하여 감수성 실험결과 내성균이 전혀 검출되지 않아 다행한 결과로 생각되나 약제 내성 장티푸스균의 출현에 대한 지속적 감시가 필요한 것으로 생각된다.

## 요 약

**목 적:** 1996년 4월부터 6월사이 부산시 수영구에서 집단 발생한 장티푸스 환자로부터 분리된 장티푸스균 48주를 대상으로 phage형 시험 및 염색체 DNA를 제한효소로 처리 후 PFGE를 시행, 그 양상을 분석, 역학적 도구로서의 유용성을 검토하고 장티푸스 치료의

효율적 약제선택의 기초 자료로 제공하고자 항생제 감수성시험을 하였다.

**방 법:** 항생제 감수성 시험은 장내세균 감수성 시험에 권장되고 있는 ampicillin외 14종의 항균제에 대하여 NCCLS 표준 디스크 확산법으로 수행하였다. phage형 시험은 영국 중앙 공중 보건 실험실(PHRL)에서 분양 받은 phage액을 사용하여 시험하였다. PFGE 시험은 장티푸스균 염색체 DNA를 제한효소 *Spe I*으로 처리후 PFGE를 수행, 그 영동상을 관찰 분석하였다.

**결 과:** 시험대상 장티푸스균 48주중 ampicillin외 14종의 항균제에 내성을 보인 균주는 없었다

phage형은 비분류주(untypable)가 44주였고 M1형이 2주, 그리고 E1형이 2주였다. PFGE양상 분석결과 A group(47주) 및 B group(1주)의 2가지 group으로 분류되었으며 A group은 A1(42주), A2(1주), A3(3주) 및 A4(1주) 등 4가지 subgroup으로 분류되었다. A group의 각 subgroup사이의 유전적 유사도(F치)는 0.8-0.897으로 유사도가 높았으나 A group의 각 subgroup과 B group간의 F치는 0.20-0.258로 유전적 근연 관계가 낮았다.

**결 론:** 1996년 4월부터 6월사이 부산시 수영구에서 집단 발생한 장티푸스 초발 환자는 장티푸스균이 분리된 환자를 대상으로 장티푸스균의 PFGE양상 분석결과 발병일(1996년 4월 23일)이 가장 빠른 것으로 신고된 남성 환자로 추정되었다. 염색체 DNA를 *Spe I* 제한효소로 처리 PFGE를 수행, 그 양상을 분석하는 방법이 장티푸스 집단발생시 감염원 및 유행전과 경로 추적등 역학적 분석에 유용성이 큰 것으로 밝혀졌다. 본 실험에 사용된 장티푸스 분리균은 장내세균 약제 감수성 시험에 일반적으로 권장되고 있는 ampicillin외 14종의 항균제에 내성을 나타낸 균주는 검출되지 않았으나 항균제 남용 및 해외로부터 약제 내성 장티푸스균의 유입으로 약제 내성 장티푸스균이 출현할 우려가 있으므로 항균제 내성 장티푸스 출현 감시에 능동적 대처가 요망된다.

## REFERENCES

- 1) Thong KL, Puthucheary S, Yassin RM, Sudarmon P, Padmidewi M, Soewandojo E, Handojo I, Sarasombath S, Pang T: *Analysis of Salmonella typhi isolates from southeast asia by pulse-field gel electrophoresis. J Clin Microbiol* 33:1938-1941, 1996
- 2) 국립보건원 : 감염병 발생 정보 8:22, 1997
- 3) Anderson ES, Williams REO: *Bacteriophage typing of enteric pathogens and staphylococci and its use in epidemiology. J Clin Path.* 9:94-127, 1956
- 4) Edelman R, Levin MM: *Summary of an international workshop on typhoid fever. Rev Infect Dis* 8:329-49, 1986
- 5) 이복권, 김기상, 이명원, 정태화: 한국에서 분리된 장티푸스균의 *Vi-phage types*에 관하여(1983-1984). 국립보건원보 21:157-164, 1984
- 6) 김호훈, 신영학, 박미선, 강연호, 김미순, 이용우, 박기덕: 장티푸스 및 살모넬라 병원체에 대한 역학적 연구. 국립보건원보 32:21-32, 1995
- 7) Altwegg M, Hickman-Brenner FW, Farmer JJ: *Ribosomal RNA gene restriction patterns provide increased sensitivity of typing salmonella typhi strains. J Infect Dis* 160:145-149, 1989
- 8) Tompkins LS, Troup N, Labigne-Rousel: *Clonal random chromosomal sequences as probes to identify Salmonella species. J Infect Dis.* 154: 156-162, 1986
- 9) Nair S, Poh CL, Lim YS, Tay L, Goh KT: *Genomic fingerprinting of Salmonella typhi by pulsed-field gel electrophoresis for subtyping common phage types. Epidemiol Infect* 113:391-402, 1994
- 10) NCCLS: *Performance standards of antimicrobial disk susceptibility test, M2-M3, 3rd ed* 4:369-406, 1984
- 11) Thong KL, Cheong YM, Puthucheary S, Koh CL, Pang K: *Epidemiologic analysis of sporadic Salmonella typhi isolates and those from outbreak by pulsed-field gel electrophoresis. J Clin Microbiol* 32:1135-1141, 1994
- 12) Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelson PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B: *Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol* 33:2233-2239, 1995
- 13) Priest F, Austin B: *Modern bacterial taxonomy 2nd ed, p30-36 Chapman & Hall, 1993*
- 14) 국립보건원 : 감염병발생정보 6:33, 1995
- 15) 국립보건원 : 감염병발생정보 7:32, 1996
- 16) 신의철, 뱀광호, 신호철, 박용규, 박기동, 이종구: 우리 나라의 법정보고율 추정. 한국역학회지 18:18-26, 1996
- 17) 신해림: '96부산지역장티푸스유행역학조사. In: 보건복지부, '96방역사업평가세미나자료집 51-65, 1996
- 18) Welch H, Lewis CN, Weinstein HI, Boekman BB: *Reactions to antibiotics, A nationwide survey, Ant Med and Chemother* 4:800, 1957
- 19) Eisenberg GM, Brodsky L, Weiss W, Flipper HF: *Clinical and Microbiological Aspects of Salmonellosis Am J M Sc* 235:497, 1958
- 20) Datta N: *R factors in strains of Salmonella typhi and Shigella dysenteriae I isolated during epidemics Mexico: Classification by compatibility. Antimicrob Agents Chemothr.* 5:310-317, 1974