

Pulsed-Field Gel Electrophoresis를 이용한 *Shigella* 균주 유전자형 분석

정현주, 김선주, 맹국영, 장철훈*

경상대학교 의과대학 임상병리학교실, 경상대학교 압연연구소, 부산대학교 의과대학임상병리학실*

Analysis of Chromosomal DNA of *Shigella* Isolates Using Pulsed-Field Gel Electrophoresis

Hyun Ju Jung, M.D., Seon Ju Kim, M.D., Kook Young Maeng, M.D.,
and Chulhun Ludgerus Chang, M.D.*

Department of Clinical Pathology, Gyeongsang Institute of Cancer Research,
National University School of Medicine, Chinju and Department of Clinical Pathology,
Pusan National University School of Medicine, Pusan*, Korea

Background : It is difficult to control an outbreak of *Shigella* infection, because of the ease of transmission and the resistance to multiple antibiotics. Recently, there were outbreaks of *Shigella* infection in Chinju area. The objective of this study was to investigate the molecular epidemiology of the outbreaks using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE).

Method : Thirteen *S. flexneri* strains, 25 *S. sonnei* strains from Chinju and 15 *S. sonnei* strains from Pusan were studied. All strains were isolated from stool cultures of diarrheal patients. Identification and antimicrobial susceptibility test of those were tested by Vitek GNI and GNS-LH. Chromosomal DNA restricted with XbaI was resolved by PFGE.

Result : All the *S. flexneri* strains and 23 (92%) *S. sonnei* strains from Chinju were resistant to one or more antimicrobial agents. All the clinical isolates of *S. flexneri* showed the same PFGE pattern which was different from type strain (KTCC 2517). PFGE patterns of 25 (100%) *S. sonnei* strains from Chinju and 12 (80%) *S. sonnei* strains from Pusan were identical to those of type strain (KTCC 2009). Three *S. sonnei* strains from Pusan showed distinct PFGE patterns, respectively.

Conclusion : PFGE demonstrated identical restriction pattern among most of *Shigella* isolates from Chinju and Pusan, indicating that an outbreak with genetically related strains had occurred. PFGE was useful in molecular epidemiology of *Shigella* outbreaks.

Key words : *Shigella* spp., PFGE, Molecular epidemiology

서 론

*Shigella*는 소아에서부터 노인에 이르기까지 설사 질환의 중요한 원인균이다. *Shigella*에 의한 감염은 오염된 식품과 물을 통해서 체내로 들어가므로 일반적으로

위생상태가 나쁘고 인구 밀도가 조밀한 곳에서 많이 발생된다. 특히 유치원과 같은 집단시설의 소아의 경우 감염 위험도가 높다[1-5]. *Shigella* spp.에 의한 감염은 *Salmonella* spp.와는 달리 균수가 10^1 - 10^2 정도의 적은 양으로도 감염을 일으킬 수 있어서 개체내의 증식 없이도 환자나 보균자의 손을 통해서 직접 감염이 가능하다. *Shigella*균은 전파력이 강하고 항균제 내성률이 높으며 최근 다제 내성 이질균 출현 등의 이유로 유행성 감염 관리가 어렵다[6-9]. 따라서 유행이 있을 때 역학 조사를 시행하여 분리된 균의 형별 검사를 통한 정확한 감염원 파악이 필요하다.

원본접수 : 2000년 1월 8일 접수번호 : CM 3-1-3
수정본접수 : 2000년 3월 4일
교신저자 : 맹 국 영
(660-702) 경남 진주시 칠암동 90번지
경상대학교병원 임상병리과
Tel : 0591) 750-8237 Fax : 0591) 762-2236

감염원에 대한 역학 조사를 위해 이용되는 형별 검사는 감염의 유행 양상을 알아내고, 병원 감염일 경우에는 병원균 전파를 파악해야 한다. 그리고 정확한 감염원을 밝히고 병독성이 강한 균주를 찾아내며 감시할 수 있기 때문에 역학적으로 여러 가지 중요한 의미를 가진다[10]. 형별 검사는 같은 균을 동일한 방법으로 검사했을 경우 형이 결정되어야 하고 검사 방법과 결과 해석이 용이해야 하며, 사용한 검사 방법은 분별력이 높으면서 특히 재현성이 좋아야 한다[11]. 표현형 형별 검사로는 O-항원 특이성에 기초한 *Shigella* 혈청형 검사가 비교적 유용하게 사용되고 있다. 그러나 사용하는 항혈청은 교차반응 등으로 인해 위양성 결과를 얻을 수 있을 뿐만 아니라 동일한 항원형이라고 하더라도 집단발생의 원인균인지 감별하기 위해 다른 표현형 혹은 유전자형 검사가 추가로 필요하다[12]. 또 다른 유용한 표현형 분석인 항균제 감수성 패턴 분석은 패턴 수 자체가 제한적일 뿐만 아니라 같은 염색체 유전자형인데도 불구하고 새로운 내성 표현형을 획득할 수 있다[13]. 이에 비해 유전형에 근거한 분자 생물학적인 기법을 이용한 검사는 비록 유전자 삽입과 소실 혹은 무작위 돌연변이 등에 의해 영향을 받기는 하지만 표현형 검사에 비해서는 외부 조건에 의한 영향이 적다. 최근에 *Shigella* 감염 유행의 역학조사시 PFGE를 이용한 연구가 외국에서 많이 발표되고 있으나 국내에서는 아직 보고가 없다. PFGE는 시간과 노력이 많이 들어가기는 하지만 다양한 종류의 세균에 이용될 수 있으며, 유전자 전체를 대상으로 차이점을 분석하기 때문에 분별력이 높고 재현성이 좋아서 현재 이를 이용한 많은 연구가 보고되고 있다. 또한 컴퓨터를 이용한 gel scanning과 이를 분석할 수 있는 프로그램의 개발로 인해 모든 균의 PFGE 패턴의 data bank화가 가능하므로 새로운 형별이 출현한 경우 과거의 자료와 비교하여 연관성을 파악할 수 있는 장점이 있다[10,12,14].

최근 진주 지역에서 세균성 이질 환자가 갑자기 증가하였다. 설사를 주소로 내원한 환자로부터 채취한 검체에서 *S. sonnei*와 *S. flexneri*를 동정하고 항균제 감수성 검사를 시행하였다. 그리고 PFGE 방법을 이용하여 염색체 DNA의 분자유전학적 특성을 관찰하고 이를 통해 *Shigella* 감염의 역학 조사를 하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 대상 균주

1998년 11월에서 1999년 2월까지 설사를 주소로 경상대학교병원에 내원한 환자로부터 분리한 *S. sonnei* 25균주와 *S. flexneri* 13균주를 대상으로 하였다. 그리고 부산대학교병원에서 분양 받은 *S. sonnei* 15균주와

표준균주로는 *S. flexneri* KTCC 2517, *S. sonnei* KTCC 2009 각각 1균주가 본 연구에 이용되었다. 균주는 MacConkey 한천배지와 *Salmonella-Shigella* 한천배지에서 무색 집락을 형성하는 그람 음성 간균이었다. 대상균은 모두 분변에서 분리되었으며 Vitek (bioMerieux, Mo, USA) GNI (gram negative identification) 카드에 접종하여 동정하였다. 혈청군 동정은 국립보건원에서 제조한 군특이 항혈청 A, B, C, D를 사용하였다.

2. 항균제 감수성 검사

경상대학교병원에서 분리된 균의 항균제 감수성 검사는 Vitek Gram negative susceptibility(GNS)-LH card (BioMerieux, France)를 이용하여 미세액체배지 회석법으로 실시하였다. 사용된 항균제는 ampicillin, trimethoprim/sulfamethoxazole, amikacin, tobramycin, gentamicin, cefotetan, ceftriaxone, cephalothin, ciprofloxacin, piperacillin, imipenem이었다. MacConkey 한천배지에 계대배양한 집락을 0.45% 생리식염수에 풀어 McFarland 0.5의 탁도에 맞추어 항균제가 든 카드에 접종하였다. 35℃에서 하룻밤 배양하여 균의 증식 여부를 관찰하여, 감수성과 MIC를 결정하였다.

3. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

1) DNA 제조

냉동 보관되었던 균주들은 혈액한천배지에 계대배양한 후 Brain heart infusion (BHI) 5 mL에 집락 1-2개를 접종하고 37℃에서 하룻밤 배양하였다. 다음날 배양액을 1,100 × g에서 10분간 원심분리하였다. 얼음에 냉각시킨 완충용액(10 mM Tris, 1 M NaCl, pH 7.6)을 가해 원심세척하였다. 최종 균수가 1 × 10⁶/μL이 되도록 완충액으로 균농도를 조절하여 세균부유액을 만들었다. 완충액에 녹인 1.3% Incert 한천(Cat. No. 50111, FMC Bioproducts, USA) 1 mL과 동량의 균액을 섞어 만든 혼합용액을 주형에 부어 직육면체의 agarose plug를 만들었다. 만들어진 plug를 lysozyme 1 mg/mL이 든 용해용액(6 mM Tris, 1 M NaCl, 100 mM EDTA, 0.5% Brij, 0.2% sodium deoxycholate, 0.5% sodium lauryl sarcosine, pH 7.6)에 넣어 37℃에서 5시간동안 반응시켰다. 용해용액을 제거한 후 단백질 제거용액(0.5 M EDTA, 10% sodium lauryl sarcosine, proteinase K 0.1 mg/mL, pH 8.0)으로 2일 동안 정치시켜 세균을 완전히 용해시켰다. TE buffer (10 mM Tris-HCl, 10 mM EDTA, pH 7.5)로 실온에서 1시간, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride-TE buffer로 37℃에서 1시간동안 세척한 후, TE buffer로 4℃에서 30분 간격으로 2회 세척하고, 튜브를 상하로 기울여 용액에 거품이 나지 않는 것을 확인하였다.

2) 제한효소 처리

충분히 세척된 plug를 제한효소 XbaI (New England Biolabs, Beverly, MA)와 NE buffer 2(New England Biolabs)에 제조회사의 지시대로 처리한 뒤 교반하면서 37℃에서 하룻밤 반응시켰다.

3) 전기영동

CHEF DR-III apparatus (Bio-Rad Laboratories, Richmond, Calif.) chamber에 0.5 × TBE buffer를 채운 다음 온도를 14℃로 미리 냉각시켰다. 효소 처리가 끝난 균주의 DNA plug와 크기 표지자 Lambda ladder PFG Marker (New England Biolabs)를 1 mm 두께로 자른 뒤 1.2% SeaKem GTG 한천겔(FMC Bioproducts, Rockland, ME)상의 각 well에 넣었다. 전기영동 조건은 initial pulse 5초, final pulse 35초, 전압 6 V/cm, electric angle 1200에서 30시간동안 전기영동하였다. 전기영동이 끝난 겔은 ethidium bromide로 염색한 후 자외선 조사기 (UV transilluminator)로 DNA 분획을 확인한 뒤 Polaroid 667 필름으로 사진촬영을 하였다.

결 과

1. 역학적 특성

1998년 11월에서 1999년 2월까지 경상대학교병원에

서 분리된 이질균 수는 총수는 38주였고, 각각 *S. sonnei* 25균주, *S. flexneri* 13균주였다. 성별로 보면 남자 15명, 여자 23명이었다. 월별 분리시기를 살펴보면 11월과 12월에는 각각 1균주와 3균주였으나, 1월에 18균주 그리고 2월에 16균주로 급증하였다(Fig. 1). 연령별 분포를 살펴보면 10세 미만이 16명, 11세에서 20세 미만이 4명, 21세에서 30세 미만이 3명, 31세에서 50세 미만이 3명, 60세 이상이 12명이었다. *S. sonnei*의 경우는 11균주(44%), *S. flexneri*의 경우는 5균주(38.5%)가 10세 이하의 소아에서 분리되었다. 환자의 거주지는 모두 진주 혹은 인접 지역이었다.

2. 항균제 감수성 결과

진주 지역 입원 환자로부터 분리된 균 중 *S. flexneri*의 경우는 분리균 모두(100%) 한가지 이상의 항균제에 내성이었고, *S. sonnei*의 경우는 23 (92%)균주에서 한가지 이상의 항균제에 내성이었고, 나머지 2균주는 검사한 모든 항균제에 감수성으로 나타났다. *S. sonnei*의 경우 ampicillin에 대한 내성률은 16%, trimethoprim/sulfamethoxazole에 대한 내성률은 84%이었다. *S. flexneri*의 경우는 내성률이 각각 100%와 15.4%이었다. 두 가지 이상의 항생제에 내성을 보이는 균의 분리율은 *S. sonnei*와 *S. flexneri*에서 각각 12%와 15.4%이었다. Ampicillin, cephalothin, piperacillin, trimethoprim/

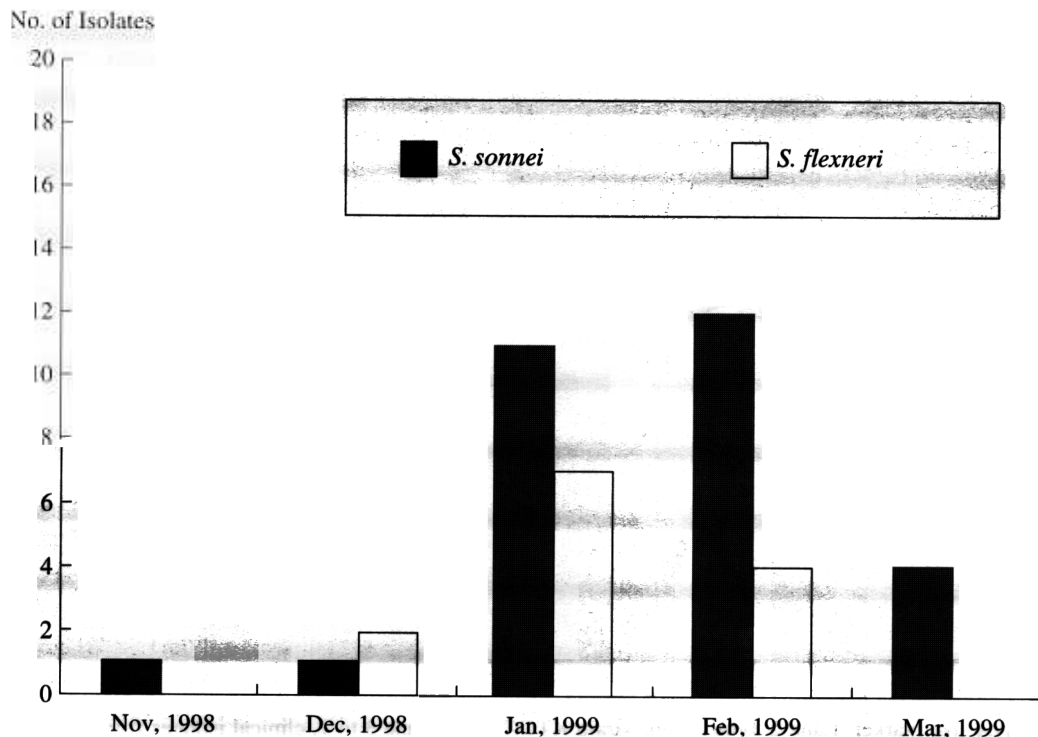


Fig. 1. monthly distribution of *Shigella* spp. from GNUH.

Table 1. Antimicrobial resistance rate of *Shigella* spp. from GNUH

Antibiotics	No.(%) of resistant strains	
	<i>S. sonnei</i>	<i>S. flexneri</i>
A		11(84.6)
T		0(0.0)
A,T		2(15.4)
A,C,P		0(0.0)
A,C,P,T		0(0.0)

Abbreviations: A, ampicillin; T, trimethoprim/sulfamethoxazole; C, cephalothin; P, piperacillin.

sulfamethoxazole을 제외한 나머지 항균제에 대해서는 모두 감수성을 보였다(Table 1).

3. PFGE에 의한 유전자 양상

*Xba*I로 처리한 염색체 DNA는 PFGE 분석결과 약 20 개의 분획을 보였다. 염색체 DNA 분획 양상 해석은 3 개 이상의 분획 차이를 보이는 균주는 서로 다른 유전자형으로, 분획의 크기나 수가 같거나 3 개 미만의 차이를 보이는 균주는 동일한 유전자형이거나 혹은 그 아형으로 간주하였다[15]. *S. flexneri*의 경우 13 균주 모두 분획수가 같거나 3 개 미만의 차이를 보여 동일한

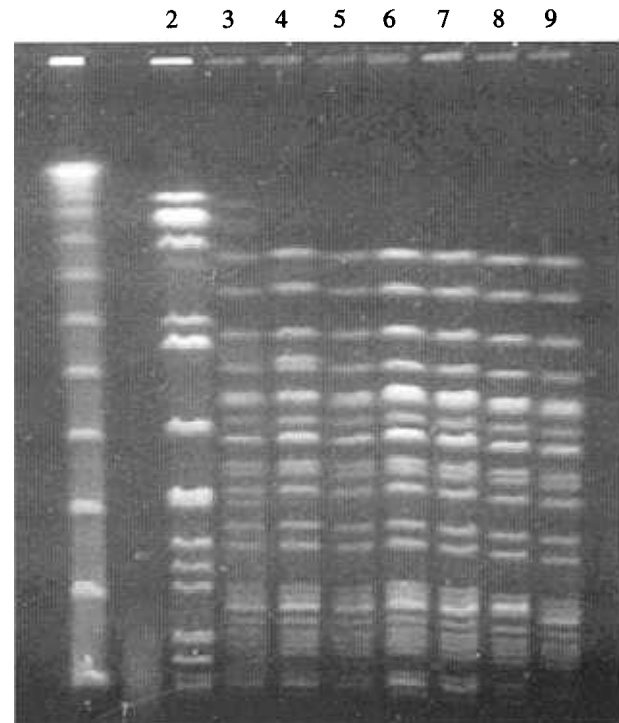


Fig. 2. PFGE of *Xba*I-digested genomic DNAs from *S. flexneri*.

Lane 1, lambda DNA size marker; Lane 2, type Strain KTCC 2517; Lane 3 to 9, clinical isolates.

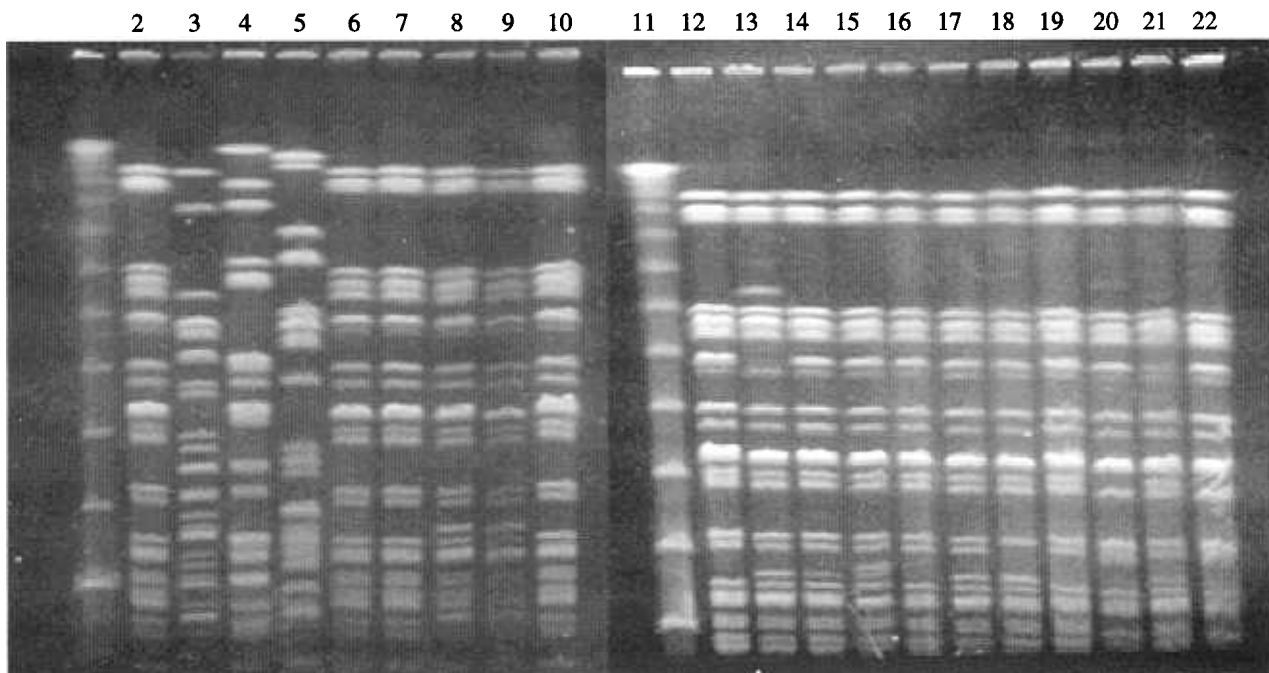


Fig. 3. PFGE of *Xba*I-digested genomic DNAs from *S. sonnei*.

Lane 1, lambda DNA size marker; Lane 2, type strain KTCC 2009; Lane 3 to 7, clinical isolates from PNUH; Lane 8 to 10, clinical isolates from GNUH; Lane 11, lambda DNA size marker; Lane 12, type strain KTCC 2009; Lane 13 to 22, clinical isolates from PNUH

유전자형이거나 혹은 그 아형으로 해석하였고, 표준균주와는 염색체 DNA 분획 양상이 달라 다른 유전자형으로 분류할 수 있었다(Fig. 2). *S. sonnei*의 경우는 진주에서 분리된 25 균주, 부산대학교에서 분양받은 15 균주 중 12 균주가 표준균주와 모두 분획수가 같거나 3개 미만의 차이를 보여 동일한 유전자형이거나 혹은 그 아형으로 해석하였다. 그러나 부산대학교에서 분양받은 나머지 3 균주는 앞서의 유전자형과 다를 뿐만 아니라 3 균주 모두가 각각 서로 다른 유전자형으로 감별할 수 있었다(Fig. 3). 따라서 염색체 DNA 분획 양상은 *S. flexneri*의 경우는 2 가지로, *S. sonnei*의 경우는 모두 4 가지로 분류할 수 있었다. PFGE의 재현성을 확인하기 위해 동일한 조건에서 2 회 반복검사를 시행한 결과 모두 동일한 결과를 보였다.

고 찰

*Shigella*에 의한 감염은 1980년대 이후 지속적으로 감소하다가 1998년부터 전국적으로 장기간에 걸쳐 집단 유행이 있었으며, 최근에는 다제내성균에 의한 감염이 증가하고 있다. 선진국에서는 *Shigella sonnei*의 분리 빈도가 가장 높고 그 다음이 *S. flexneri*이며, *S. boydii*와 *S. dysenteriae*에 의한 감염은 드물다. 최근 국립보건원 통계에 따른 세균성 이질 발생현황에 의하면 1995년에서 1997년 사이에는 불과 40명만 보고되었으나 1998년에 폭발적으로 증가하여 920명의 환자가 보고되었다. 우리나라에서는 1990년까지는 *S. flexneri*에 의한 감염이 높았으나 1991년 이후부터 오히려 *S. sonnei*에 의한 감염이 증가하고 있다. 분리 현황을 살펴보면 *S. dysenteriae*와 *S. boydii*에 의한 감염은 보고가 없었고, 분리된 균 중에서 *S. sonnei*가 92%, *S. flexneri*가 8%를 차지하고 있다[16]. 진주 지역에서 분리된 균의 경우 *S. sonnei*가 66%, *S. flexneri*가 34%로 분포하여 1998년 전국 분리 현황과는 차이를 보였다.

국립보건원 통계 결과에 따른 1998년 분리된 *S. sonnei*의 항균제 감수성 검사 결과 대상 균주 모두 한 가지 이상의 항균제에 내성을 보였다. 그리고 trimethoprim/sulfamethoxazole, ampicillin, nalidixic acid, tetracycline, streptomycin, kanamycin, ticarcillin의 7가지 약제에 내성을 보인 경우가 43.8%, trimethoprim/sulfamethoxazole, nalidixic acid, tetracycline, streptomycin의 4가지 약제에 내성을 보인 경우는 26.5%로 보고하였다[16]. 진주 지역에서 분리된 균의 항균제 감수성 시험 결과 *S. sonnei*의 경우는 92%에서 한 가지 이상의 항균제에 내성을 보였고, 2가지 이상의 약제 내성률은 각각 12%였다. 3가지 이상의 약제 내성률은 8%로서 1998년 전국 분리균의 다제내성률보다 낮았으나 감수성 검사에 포함된 항균제 종류가 본 연구와는 달랐다. 5가지 이상의 항균제에 내성을 보이는 경우는 없었다. *S.*

*flexneri*의 경우는 100%에서 한 가지 이상의 항균제에 내성을 보였고, 2가지의 약제에 내성을 가지는 비율은 15.4%였다(Table 1). 이와 같이 *Shigella*는 항균제에 내성을 가질 확률이 다른 설사 원인균보다 높으며, 다제내성균의 증가 등의 이유로 치료시 항균제의 올바른 선택이 필요하다.

Soldati와 Piffaretti[12]는 9균주의 *S. sonnei*와 8균주의 *S. flexneri*를 대상으로 *NotI*으로 처리한 염색체 DNA의 PFGE를 시행하였다. *S. sonnei*의 경우는 크기는 40에서 600 Kb였고, 염색체 DNA 양상이 서로 다른 7개의 그룹으로 구분하였다. *S. flexneri*의 경우는 같은 유행지역에서 분리된 4균주는 2개 미만의 분획 차이를 보여 동일한 유전자형 혹은 그 아형에 의한 유행이었음을 증명하였고, 나머지 4균주는 서로 다른 형태를 보여 명확히 구분할 수 있었다고 하였다. Litwin등[13]은 90균주의 *S. sonnei*를 대상으로 *XbaI*으로 처리한 염색체 DNA의 PFGE 양상에 따라 4가지 그룹으로 나누었고, 이를 통해 보육원을 중심으로 한 두 번의 유행이 있었음을 밝혔다. Liu등[14]은 6회의 감염 발생시 분리된 *S. sonnei* 20균주와 1개의 표준균주를 대상으로 *XbaI*으로 처리한 염색체 DNA의 PFGE를 시행하였다. 염색체 DNA 양상은 크기가 32.4 kb에서 582 kb의 약 20개 정도의 분획을 보였고, 서로 다른 7개의 그룹으로 구분하였다. 또한 각 유행마다 표준균주와도 명확히 구분되는 서로 다른 패턴을 보여 6번의 유행이 각각 동일한 유전자형 혹은 그 아형에 의한 유행이었음을 증명할 수 있었다. 그리고 plasmid profile 분석과 비교했을 때 PFGE가 훨씬 분별력이 높은 유용한 검사라고 하였다. Lima등[17]은 서로 다른 지역에서 분리된 *S. flexneri* 26균주를 대상으로 *SfiI*으로 처리한 염색체 DNA의 PFGE를 시행한 결과 6개의 그룹으로 나누었고, plasmid profile 분석과 PFGE를 함께 시행한다면 유용한 역학적 자료를 제공할 수 있다고 하였다.

저자들은 진주와 부산 지역에서 분리된 *Shigella*를 대상으로 *XbaI*으로 처리한 후 염색체 DNA의 PFGE를 시행하였다. PFGE 양상을 분석한 결과 *S. sonnei*의 경우 진주 지역에서 분리된 25균주 모두와 부산대학교병원에서 분양 받은 *S. sonnei* 15균주 중 13균주에서 동일한 유전자형 혹은 그 아형으로 밝혀졌다. 그리고 나머지 3균주에서는 앞서의 유전자형과 다를 뿐만 아니라 각각 서로 다른 유전자형으로 감별되어 모두 4가지 그룹으로 명확히 구분할 수 있었다. 정확한 역학 정보는 얻을 수 없었지만 진주와 부산에서 동일한 유전자형의 *S. sonnei*에 의한 유행이 있었음을 관찰할 수 있었다. 진주 지역에서 분리된 *S. flexneri*의 경우 PFGE 결과 13균주 모두 동일한 유전자형 혹은 그 아형으로 밝혀졌고 이를 통해 역시 동일한 유전자형의 *S. flexneri*에 의한 유행이 있었음을 관찰할 수 있었다. 분리된 균의 항균제 감수성 검사를 통해 PFGE형이 동일하데도

내성 표현형은 다르거나, 같은 내성 표현형인데 PFGE 형이 달라 항균제 내성 양상과 염색체 DNA의 PFGE 양상과는 연관성이 없었다. 본 연구와 동일한 방법으로 *S. sonnei* 염색체 DNA를 *XbaI*으로 제한한 후 PFGE 방법을 이용하여 분석한 Litwin등[13]과 Liu등[14]의 보고와 비교해보면 본 연구에서 분류된 4가지 유전자형 모두가 외국에서 보고한 유전자형과는 확실히 다른 유전자형임을 관찰할 수 있었다. 결론적으로 진주와 부산 지역에서 유행하였던 *Shigella* 감염은 PFGE를 이용한 염색체 DNA 양상의 분석을 통해 동일한 균주의 유행이 있었음을 알 수 있었다.

요 약

배 경 : *Shigella* 균은 전파력이 강하고 다제 내성 이질균 출현등의 이유로 유행시 감염 관리가 어렵다. 최근 진주 지역에서 세균성 이질 환자가 증가하였기에 염색체 DNA의 PFGE를 시행하여 분자유전학적 특성을 관찰하고 이를 통해 발생 양상을 파악하여 역학 검사로서의 유용성을 살펴보고자 하였다.

방 법 : 1998년 11월에서 1999년 2월까지 본원에 내원한 환자로부터 분리한 *S. sonnei* 25 균주와 *S. flexneri* 13 균주, 부산대학교병원에서 분양 받은 *S. sonnei* 15 균주, 그리고 표준균주로는 *S. flexneri* KTCC 2517과 *S. sonnei* KTCC 2009가 본 연구에 이용되었다. 미세액체배지 희석법을 이용한 항균제 감수성 검사와 제한 효소 *XbaI*으로 염색체 DNA를 처리한 후 PFGE를 실시하였다.

결 과 : 진주 지역 환자로부터 분리된 균 중 *S. flexneri*의 경우는 분리균 모두 한 가지 이상의 항균제에 내성이었고, *S. sonnei*의 경우는 23 (92%) 균주에서 한 가지 이상의 항균제에 내성을 보였다. 두 가지 이상의 항생제에 내성을 보이는 균의 분리율은 *S. sonnei*와 *S. flexneri*에서 각각 16%와 15.4%이었다. PFGE 분석 결과 *S. flexneri*의 경우 분리균 모두에서 3개 미만의 염색체 DNA 분획 차이를 보였고 이는 표준균주와는 명확히 다른 양상을 보였다. *S. sonnei*의 경우는 진주에서 분리된 모든 균주, 표준균주 그리고 부산 지역에서 분리된 12 균주에서 3개 미만의 염색체 DNA 분획 차이를 보였으나, 부산 지역의 나머지 3 균주는 각각 서로 다른 패턴이었다.

결 론 : PFGE 결과를 통해 진주 지역의 경우 *S. flexneri*와 *S. sonnei* 모두에서 동일한 유전자형 혹은 그 아형에 의한 유행이 있었음을 관찰할 수 있었다. 부산 지역에서 분리된 *S. sonnei*의 경우 대부분 진주 지역에서 분리된 균과 동일한 유전자형 혹은 그 아형에 의한 유행이었음을 알 수 있었다. *Shigella* 감염의 역학 조사 시 PFGE를 이용한 염색체 DNA 분석이 매우 유용하리라 사료된다.

참 고 문 헌

- Centers for Disease Control. Shigellosis in child day care centers. Lexington-Fayette County, Kentucky. MMWR 1991;41:440-2.
- Staat MA, Morrow AL, Reves RR, Bartlett AV, Pickering LK. Diarrhea in children newly enrolled in day-care centers in Houston. *Pediatr Infect Dis J* 1991;10:282-6.
- Ekanem EE, DuPont HL, Pickering LK, Selwyn BJ, Hawkins CM. Transmission dynamics of enteric bacteria in day-care centers. *Am J Epidemiol* 1983;118:562-72.
- Pickering LK, Bartlett AV, Woodward WE. Acute infectious diarrhea among children in day care: epidemiology and control. *Rev Infect Dis* 1986;8:539-47.
- Mohle-Boetani JC, Stapleton M, Finger R, Bean NH, Poundstone J, Blake PA, et al. Community wide shigellosis: control of an outbreak and risk factors in children day-care centers. *Am J Public Health* 1995;85:812-6.
- Centers for Disease Control. Multiply resistant Shigellosis in a day care centers-Texas. MMWR 1986;35:735-55.
- Murray BE. Resistance of *Shigella*, *Salmonella*, and other selected enteropathogens to antimicrobial agents. *Rev Infect Dis* 1986;8:S172-81.
- Tacket CO and Cohen ML. Shigellosis in child day care centers: use of plasmid analysis to assess control measures. *Pediatr Infect Dis J* 1983;2:127-30.
- Tauxe RV, Puhf ND, Wells JG, Hargrett-Bean, Blake PA. Antimicrobial resistance of *Shigella* isolates in the USA: the importance of international travelers. *J Infect Dis* 1990;162:1107-11.
- Olive DM and Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *J Clin Microbiol* 1999;37:1661-9.
- Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997;18:426-39.
- Soldati L and Piffaretti JC. Molecular typing of *Shigella* strains using pulsed field gel electrophoresis and genome hybridization with insertion sequences. *Res Microbiol* 1991;142:489-98.
- Litwin CM, Leonard RB, Carroll KC, Drummond WK, Pavia AT. Characterization of endemic strains of

- Shigella sonnei* by use of plasmid DNA analysis and pulsed-field gel electrophoresis to detect patterns of transmission. *J Infect Dis* 1997;175:864-70.
14. Liu PY, Lau YJ, Hu BS, Shyr JM, Shi ZY, Tsai WS, et al. Analysis of clonal relationships among isolates of *Shigella sonnei* by different molecular typing methods. *J Clin Microbiol* 1995;33:1779-83.
 15. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995;33:2233-9.
 16. 국립보건원. 감염발생정보. 1999. 제 10권 5호.
 17. Lima AM, Sidrim JC, Lima NL, Titlow W, Evans ME, Greenberg RN. Molecular epidemiology of multiply antibiotics-resistant *Shigella flexneri* in Fortaleza, Brazil. *J Clin Microbiol* 1997;35:1061-5.