

노분리 대장균의 병원성과 관계된 특성

경북대학교 의과대학 미생물학교실

이용수 · 이상화 · 김정완 · 설성용 · 조동택

=Abstract =

Characterization of Uropathogenic *E. coli*

Yong Soo Lee, Sang Hwa Lee, Jung Wan Kim, Sung Yong Seol and Dong Taek Cho

Department of Microbiology, School of Medicine, Kyungpook National University, Taegu, Korea

A total 64 strains of *Escherichia coli* including 38 strains of urinary tract infection and 26 strains from other clinical sources were studied for several properties related to the virulence markers of organisms.

Urinary isolates (76.3%) showed higher frequency of mannose resistant hemagglutination (MRHA) with human erythrocytes (A type, Rh⁺) than the strains of control group isolated from other sources (34.6%).

Seventeen strains (44.4%) of urinary isolates and 2 strains (7.7%) of control group showed hemolysis on blood agar plate. There was no significant difference in MIC's of 23 drugs between both groups of urinary isolates and control group.

But they showed high frequency of resistance to ampicillin, carbenicillin, piperacillin, kanamycin, and trimethoprim, but were very susceptible to cefotaxime, moxalactam, ceftizidime, imipenem, and norfloxacin.

Fourteen strains (36.8%) of urinary isolates and 10 strains (38.5%) of control group showed conjugally transferable resistance conferred to R plasmids.

The urinary isolates carried one or more to 6 (mean 3.4) plasmids of approximate molecular weight ranged 3.1 to 94 megadalton (Mdal) and strains of control group carried 2 to 5 (mean 3.8) plasmids of size ranged 3.6 to 130 Mdal.

The size of conjugally transferable R plasmid identified with transconjugants ranged 32 to 130 Mdal.

Key Words: Uropathogenic *E. coli*, MRHA, R plasmid.

서 론

노로감염 치료의 궁극적인 목적은 부적절한 치료나 치료시기의 지연에 의해 일어날 수 있는 신우신염이나 기타 신장애의 초래를 방지하는 데는 여러 가지 요소를 고려할 수 있으나, 그 중에서 세균인자를 확인하는 것도 중요한 일이며, 가장 흔한 병원성균으로 대장균을 들 수 있다¹⁾. 이러한 대장균은 흔히 발견되는 장관내의 정상균총으로 존재하는 대장균과는 몇 가지 다른 특성을 갖고 있는데, 이들 중 상당수가 적혈구 혹은 진핵세포의 막을 파괴하는 독소의 산생능이 있어 용혈현상이나 세포의 병

변을 초래한다²⁾.

대장균이 사람의 노로상피세포에 특이적으로 부착할 수 있는 능력을 부여해 주는 것이 P-fimbriae 임이 알려진 후 이에 대한 관심이 높아졌다^{3, 4)}.

세균이 점막상피에 부착하려면 숙주의 고유한 해부 생리학적 방어기전을 극복하여야 하는데, 노로감염을 일으키려면 노의 흐름이나 점액분비에 의한 세척작용을 전디고 노로상피세포에 부착하여야 한다. 따라서 이 부착능력은 노로감염증의 발병에 있어 중요한 전제가 된다.

현증의 노로감염 환자에서 분리된 대장균이 이러한 흡착성이 높음은 많은 연구자들이 보고하였다^{1, 17, 21, 25)}.

균의 흡착을 방해하는 인자들로는 자연적인 흡착 억제물, 흡착인자에 대한 항체, 탄수화물 수용기와 유사한 물질과 각종 항균제등이 있다. 특히 균의 최소발육 저지농도보다 낮은 농도(Sub-Miminal Inhibitory Concentration: Sub-MIC)의 항균제가 흡착을 억제하므로, 재발성 노로감염의 치료나 예방에 효과가 있다. 따라서 노로감염균의 MIC는 세균학적 연구와 임상실제에 있어서 중요한 자료가 된다.

저자는 노로감염 환자의 뇨에서 분리한 대장균의 특성을 규명하기 위해 기타 가검물에서 분리한 대장균을 대조균으로 사용하여 23종의 항균제에 대한 내성양상을 조사하고, 이들 균의 혈구응집능, 용혈성 여부를 검사하였으며, 약제내성 전달실험과 약제내성전달실험 이후의 Plasmid의 변화를 알기 위해 agarose 전기영동을 실시하여 그 성적을 보고한다.

재료 및 방법

균 주

1984년에서 1985년 사이에 본 경북의대 미생물학교실에 검사 의뢰된 환자의 혈액, 농, 뇨, 객담, 복수등의 가검물에서 분리한 대장균 64주를 공시하였다. 이중 노분리 대장균은 38주였으며, 나머지 대장균은 대조균으로 사용하였으며, 공시균의 분리 및 동정은 Edward 및 Ewing⁸⁾, Lennette 등¹⁴⁾의 방법과 기준을 근거로 생물학적 성상을 조사하여 균종을 결정하였다.

항균제 감수성검사

Ampicillin(Ap), carbenicillin(Cb), piperacillin(Pi), cephalothin(Cl), cefoxitin(Cx), cefotaxime(Ct), moxalactam(Mx), cefoperazone(CP), ceftazidime(Cz),

aztreonam(Az), imipenem(Im), streptomycin(Sm), kanamycin(Km), gentamicin(Gm), amikacin(Ak), tobramycin(Tb), sulfisomidine(Su), trimethoprim(Tp), nalidixic acid(Na), norfloxacin(Nf), chloramphenicol(Cm), tetracycline(Tc), rifampicin(Rf) 등 도합 23종의 항균제를 사용하였다.

항균제 감수성검사는 평판회석법에 의하였다²¹⁾. Müller-Hinton agar(MHA)를 사용하였으며, 규정된 용매²²⁾에 녹인 항균제를 2배 연속순차적으로 희석하였고, 최종 항균제 농도의 범위는 Su는 2,048 μ g/ml에서 32 μ g/ml, 기타 항균제는 521 μ g/ml에서 0.25 μ g/ml 사이였다. 항균제를 함유한 배지는 4°C에서 보존하였으며, 제조후 4일 이내에 사용하였다. Trypticase soy broth(TSB)에 일주야 배양한 대장균을 식염수로 100배 희석하여 Steers multiple inoculator를 써서 항균제 농도가 낮은 배지부터 접종하였으며, 접종후 37°C에서 18~24시간 배양하여 접종부위의 균발육유무를 보아 항균제의 최소발육 억제농도(MIC)을 결정하였다. 내성균의 판정은 N-CCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standard)²³⁾의 기준에 따랐으며, 결과의 정도관리를 위해 *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27893을 함께 사용하였다.

용혈반응

적혈구를 5% 함유시킨 blood agar base medium에 균을 도말한 후 37°C에서 1주야 배양하여 투명한 용혈대가 집락주위에 생길 때 양성으로 판정하였다.

혈구응집반응

Evans 등⁸⁾의 방법에 의하였으며, 사람의 RH 양성 A형 적혈구를 사용하였다. 3.8% citric acid를 포

Table 1. Comparison between urinary isolates and strains isolated from other sources

Source	No. of strains	MRHA ^{a)}	No. of strains (%)	No. of strains (%)	
				Hemolysis ^{b)}	R-plasmid ^{c)}
Urine	38	Positive	29(76.3)	14(48.3)	9(31.0)
		Negative	9(23.7)	3(33.3)	5(55.6)
Other source	26	Positive	9(34.6)	1(11.1)	5(55.6)
		Negative	17(65.4)	1(5.9)	5(29.4)
Total	64	Positive	38(59.4)	15(39.5)	14(36.8)
		Negative	26(40.6)	4(15.4)	10(38.5)

^{a)} Mannose resistant hemagglutination.

^{b)} Hemolysis in blood agar plate.

^{c)} R-plasmid strains, conjugally transferred their resistance to *E. coli* ML1410 and/or RG488.

Table 2. Antimicrobial resistance patterns of urinary isolated *E. coli* against 19 drugs

Multiplicity of resistance	Resistance pattern	No. of strains
13	CmTcSmSuApCbKmGmTpCpClTbPi	2
	CmTcSmSuApCbKmGmAkTpRfTbPi	1
10	CmTcSmSuApCbKmCpClPi	2
	CmTcSmSuApCbKmGmTbPi	1
9	CmTcSmSuApCbKmTpPi	2
	CmSmSuApCbGmTpTbPi	1
	CmTcSmSuApCbKmGmPi	1
8	CmSmSuApCbTpCpClPi	1
	CmTcSuApCbCpClPi	1
	SuApCbKmTpClTbPi	1
	CmTcSmSuApCbTpPi	2
	CmSmSuApCbCpClPi	1
	CmTcSmSuApCbKmTp	1
	CmTcSuApCbKmTpPi	1
7	CmTcSuApCbKmTp	2
	CmTcSuApCbTpPi	1
	CmTcSmSuApCbTp	1
6	SmSuApCbClPi	1
	CmSmSuApCbTp	1
	CmTcApCbKmTp	1
5	CmTcSuApCb	1
	ApCbKmClPi	1
	SuNaApCbKm	1
	ApCbKmTpPi	1
	SuApCbPi	1
4	TcSuApCb	1
	TcSu	1
2	SmSu	2
	ApCb	1
	Km	1
1	Tc	1
0		1
Total		38 strains

함한 증류수와 혈액을 1 : 9의 비율로 혼합한 다음 혈액을 1% mannose를 포함한 pH 7.2의 phosphate-buffered-saline(PBS)으로 1 : 4의 비율로 희석하여 mannose-resistant-hemagglutination (MRHA)을 조사하였다.

내성전달실험

내성의 피전달균으로 각 항균제에 감수성이나 Na에 내성인 *E. coli* ML1410과 Rf에 내성인 *E. coli* RG488을 사용하였다. 공시균과 피전달균 각각을 4ml TSB에 접종하고 37°C 항온에서 3~4시간 진

탕배양한 후 공시균과 피전달균을 1 : 4로 혼합하여 18시간 배양하였다. 이 혼합배양액을 선택배지에 도말배양한 다음에 나타난 집락을 선택약제별로 3개씩 임의로 취하여 Mac-Conkey 한천평판배지에 순배양후 내성공여균이 내성을 가지고 있는 항균제에 대한 감수성검사를 실시하여 피전달균의 내성양상을 보았다. 선택배지는 trypticase soy agar(TSA) 또는 MHA에 약제에 따라 15~250µg/ml씩을 함유하는 각 선택약제와 피전달균이 내성인 Na 또는 Rf를 50µg/ml가 되게 첨가하여 내성을 전달받은 피전달균만이 발육할 수 있게 하였으며, 매번 실험

Table 3. Antimicrobial resistance patterns of non-urinary isolated *E. coli* against 19 drugs

Multiplicity of resistance	Resistance pattern	No. of strains
12	CmTcSmSuApCbKmGmTpClTbPi	1
11	CmTcSmSuApCbKmGmTpTbPi	2
10	CmTcSmSuApCbKmCpClPi	1
	CmTcSmSuApCbKmTpClPi	1
	CmTcSmSuApCbKmTpCpCl	1
	CmTcSmSuApCbKmGmTbPi	1
	CmTcSmSuApCbKmTpTbPi	1
	CmTcSmSuApCbKmGmClTb	1
	CmTcSmSuApCbKmTpPi	1
	CmTcSmSuApCbKmGmTb	1
9	CmTcSmSuApCbKmGmPi	1
	CmTcSmSuApCbKmGmTb	1
	CmTcSmSuApCbKmGmPi	1
	CmTcSmSuApCbKmGmTb	1
8	CmTcSuNaApCbClPi	1
	CmTcSmSuApCbPi	1
	SmSuApCbKmTpPi	1
	CmTcApCbKmTp	1
	ApCbKmTpPi	1
4	TcSmSuKm	1
2	TcSu	2
0		6
Total		26 strains

에서 공시균과 피전달균 각각은 선택배지에서 증식할 수 없음을 확인하였다.

Plasmid의 분리 및 전기영동

Plasmid DNA의 분리를 위해 Kado 및 Liu¹¹⁾의 방법을 다소 변경하여 실시하였다. 균을 3ml TSB에 37°C 24시간 진탕배양한 배양액 0.5ml을 취한 다음 12,000rpm(Microfuge, Beckman)으로 2분간 원침시켰다.

세포침사를 200 μ l TE buffer(10mM Tris, 1ml EDTA, pH 8.0)에 부유시키고, 3% Sodium dodecyl sulfate(SDS)와 50mM Tris를 함유하여 NaOH로 pH 12.6으로 조절한 lysis 용액 400 μ l을 가하여 진탕혼합하여 세포를 파쇄시켰다. 56°C 항온조에서 45분간 가온한 다음 5분간 열음으로 냉각시킨 후 phenol-chloroform 혼합액을 가하여 잘 흔들어서 단백제거를 시켰다. 12,000rpm으로 15분간 원침시키고, 상층을 회수하여 0.07% bromophenolblue(BP-B), 7% SDS, 33% glycerol을 함유하는 buffer와 혼합후 전기영동에 이용하였다. 각 영동시 대조균으로 기지의 7개의 plasmid DNA를 가진 pKE 327을 사용하였다.

노분리 대장균 38주와 대조균으로 사용한 기타분리 대장균 26주의 혈구응집반응 유무에 따른 용혈현상 및 내성의 전달성을 Table 1에서 나타내었다.

노분리주로서 혈구응집반응 양성은 29주(76.3%)로써 대조균의 9주(34.6%)에 비해 상당히 높았으며, 혈구응집반응 양성이면서 용혈반응 양성 비율도 노분리주에서 14주(48.3%)로써 대조균의 1주(11.1%)에 비해 높았다. 전체적으로도 혈구응집반응 양성인 38주에서 15주(39.5%)가 용혈현상을 보였으며, 혈구응집반응 음성인 26주에서 4주(15.4%)만이 용혈현상을 일으켜, 혈구응집반응 양성인 균주에서 용혈현상이 높게 관찰되었다.

혈구응집능력과 내성전달과의 관계를 보면 전체적으로 혈구응집반응 양성주에서 14주(36.8%), 혈구응집반응 음성주에서 10주(38.5%)가 내성전달이 가능하였으며, 혈구응집반응과 내성전달성과는 유의한 관계가 없었다.

항균제 내성양상은 내성기준이 NCCLS에 의해 아직 확립되지 않은 Cz, Az, Im, Nf을 제외한 19종의 항균제에 대해 노유래주와 대조균으로 분리하여 Table 2, 3에 나타냈다. 노유래주는 실험한 전 항균제에 감수성인 균주부터 13가지 항균제에 내성을 나타내는 형태로 나타났으며, 대조균은 실험한

Table 4. Antimicrobial susceptibility of 38 strains of urinary isolated *E. coli*

Drugs	No.(%) of resistant strains	MIC range	MIC 90 ^a	MIC 50
Ap	32(84.2)	2->512	>512	512
Cb	32(84.2)	2->512	>512	>512
Pi	22(57.9)	1->512	>512	256
Cl	10(26.3)	4-512	128	8
Cx	0(0.0)	<0.25-8	4	2
Ct	0(0.0)	<0.25	<0.25	<0.25
Mx	0(0.0)	<0.25	<0.25	<0.25
Cp	5(13.2)	<0.25-512	256	1
Cz	-	<0.25-1	<0.25	<0.25
Az	-	<0.25-512	<0.25	<0.25
Im	-	<0.25-0.5	<0.25	<0.25
Sm	20(52.6)	2->512	512	64
Km	19(50.0)	2->512	>512	16
Gm	6(15.8)	<0.25-128	128	0.5
Ak	1(2.6)	0.5 -64	4	1
Tb	6(15.8)	0.5 -128	32	1
Su	30(18.9)	128->2,048	>2,048	>2,048
Tp	19(50.0)	<0.25->512	>512	1
Na	1(2.6)	<0.25->512	4	2
Nf	-	<0.25	<0.25	<0.25
Cm	23(60.5)	4->512	>512	256
Tc	23(60.5)	1-256	256	128
Rf	1(2.6)	4->512	16	8

^a MIC($\mu\text{g/ml}$) needed to inhibit 90% of strains.

모든 항균제에 감수성을 보인형부터 12가지 항균제에 내성을 보인 형태로 나타났다. 노유래주 중에서는 8가지 약제에 대한 내성형이 7주로 가장 많았으며, 대조군은 감수성주가 6주, 10가지 약제에 대한 내성형이 6주로 가장 많았다. 노유래주나 대조군 모두 Cx, Ct, Mx에 대해서는 내성을 나타내지 않았다.

공시균의 항균제에 대한 내성균주의 빈도와 MIC 범위, 50%와 90%의 균주를 억제하는 MIC를 노유래주와 대조군으로 구별하여 Table 4, 5에 나타내었다. 노유래주에서는 Ap, Cb에 84.2%로 가장 높았으며, Su(78.9%), Cm, Tc(60.5%), Pi(57.9%)의 순으로 낮아졌으며 Ak, Na, Rf에 2.6%, Cx, Ct, Mx에는 모두 감수성을 나타내었다. MIC범위는 Ap, Cb, Pi, Sm, Km, Su, Tp, Na, Cm, Rf에서 실험한 최고농도인 512 $\mu\text{g/ml}$ 혹은 2,048 $\mu\text{g/ml}$ 을 나타내었으며 Ct, Mx, Nf에서는 0.25 $\mu\text{g/ml}$ 이하를 나타냈으며, Az은 낮은 MIC분포를 보였으나 한 주에서 512 $\mu\text{g/ml}$ 을 나타내었다.

90%의 균주의 발육을 억제하는 농도는 Ct, Mx, Cz, Az, Im, Nf이 0.25 $\mu\text{g/ml}$ 이하를 나타내었고, Ap, Cb, Pi, Km, Su, Tp, Cm이 실험한 최고 농도치를 나타내었다.

대조군의 항균제에 대한 성적을 보면 내성주가 Su에 76.9%로 가장 높았으며 Tc(69.2%), Sm(65.4%), Ap, Cb, Km(61.5%), Cm(57.7%)의 순으로 낮아졌으며, Cx, Ct, Mx, Ak, Rf에 내성주가 없었다. MIC범위의 최고치는 Ap, Cb, Pi, Km, Tb, Su, Tp, Cm에서 실험최고치를 나타냈으며 Ct, Mx, Nf에서 0.25 $\mu\text{g/ml}$ 이하의 성적을 보였다. MIC₉₀은 Ap, Cb, Km, Tb, Su, Tp에서 최고치를 보였으며 Ct, Mx, Cz, Im, Az, Nf에서 0.25 $\mu\text{g/ml}$ 이하를 보였다.

이상에서 보면 노유래주나 대조군에 관계없이 Ap, Cb, Pi, Km, Tp등에 대해 높은 내성을 보였으며, 새로운 항균제인 Ct, Mx, Cz, Im, Nf등에 감수성이 높은 것으로 나타났다.

내성전달 실험은 *E. coli* ML1410 및 RG488을

Table 5. Antimicrobial susceptibility of 26 strains of non-urinary isolated *E. coli*

Drugs	No.(%) of resistant strains	MIC range	MIC 90 ^{a)}	MIC 50
Ap	16(61.5)	2->512	>512	256
Cb	16(61.5)	2->512	>512	>512
Pi	11(42.3)	1->512	512	128
Cl	7(26.9)	4-64	32	16
Cx	0(0.0)	0.5-8	4	2
Ct	0(0.0)	<0.25	<0.25	<0.25
Mx	0(0.0)	<0.25	<0.25	<0.25
Cp	2(7.7)	<0.25-256	32	0.5
Cz	-	<0.25-1	<0.25	<0.25
Az	-	<0.25-512	<0.25	<0.25
Im	-	<0.25-0.5	<0.25	<0.25
Sm	17(65.4)	2-512	512	64
Km	16(61.5)	2->512	>512	>512
Gm	7(26.9)	<0.25-128	128	0.5
Ak	0(0.0)	1-16	16	2
Tb	8(30.8)	0.5->512	>512	1
Su	20(76.9)	128->2,048	>2,048	>2,048
Tp	9(34.6)	<0.25->512	>512	0.5
Na	1(3.8)	1-4	4	2
Nf	-	<0.25	<0.25	<0.25
Cm	15(57.7)	4->512	512	256
Tc	18(69.2)	2-256	256	128
Rf	0(0.0)	8-16	16	16

^{a)} MIC(μ g/ml) needed to inhibit 90% of strains.

피전달균으로 하여 혼합배양을 하여 실시하였으며, 내성전달여부는 공시균이 내성을 나타내는 각 약제에 대해 내성이 피전달균에 새로이 나타나는가를 보아 판정하였다. Ap, Cb, Pi, Cl, Cx, Ct, Mx, Cp, Sm, Km, Gm, Ak, Tb, Su, Tp, Na, Cm, Tc 및 Rf 등 19종의 항균제에 대한 내성유형과 전달된 내성의 유형은 Table 2, 3, 6에 나타났다.

노유래주 38주중 37주의 내성주는 1가지에서 13가지의 항균제에 내성을 나타냈으며, 내성전달은 14주(36.8%)에서 관찰되었는데, 1균주를 제외한 13주가 5가지 이상 13가지 항균제에 내성을 나타내고 있었으며, 내성의 전부가 전달되는 균주는 관찰되지 않았다. 대조군에서는 26주중 20주의 내성균은 2가지에서 12가지의 항균제에 대해 내성을 가지며, 내성전달은 10주(38.5%)에서 관찰되었으며, 6가지 항균제에서 12가지 항균제에 내성을 보였으며, 내성의 전부가 전달되는 균주는 역시 관찰되지 않았다. 노유래주나 대조군 모두 다양한 내성전달 양상을 보였다.

접합에 의해 내성전달이 가능한 24주의 plasmid 수를 보면 노유래주에서 1개에서 6개의 plasmid를 가지고 있었으며, 평균 3.4개의 plasmid를 보유하고 있었고, 대조군에서는 2개에서 5개의 plasmid를 가지고 있었으며, 평균 3.8개의 plasmid를 가지고 있어 유의한 차이는 없었다.

Plasmid의 크기를 보면 3.1 megadalton(Mdal)에서 130Mdal의 거대 plasmid까지 다양하였으며, 전달가능한 plasmid의 크기는 32Mdal에서 130Mdal 사이였으며, 노유래주에서는 100Mdal 이상의 plasmid가 없는 반면 대조군에서는 106~130Mdal의 plasmid가 접합에 의해 전달가능하였다.

동일크기의 plasmid가 전달되었어도 내성의 양상이 다르게 나타날 수 있었으며, 내성양상은 같아도 plasmid의 크기는 다르게 나타나기도 했다. 노유래주나 대조군 모두 32Mdal 이상의 거대 plasmid가 접합에 의해 전달되었다.

고 찰

Table 6. Original and transferred resistance patterns and plasmid profiles of *E. coli*

Strain No. Urine	Resistance pattern	No. of plasmid(Mdal)	Resistance pattern transferred (Mdal)	
84E15	CmTcSuApCbCpClPi	4(71, 53, 3.5, 3.3)	CmSuApCb ApCb	53 53
84E19	CmTcSmSuApCbKmGmTpCpClTbPi	6(94, 84, 59, 45, 3.7, 3.1)	SuApCbKmGmTbTp	84
84E20	CmTcSmSuApCbKmGmAkTpRfTbPi	5(85, 76, 70, 43, 23)	CmKmGmTb CmSmSuApCbKmGmTbTp	76 76
84E23	CmTcSmSuApCbKmGmTbPi	2(91, 69)	CmSmSuApCbKmGmTb	91
84E25	CmTcSmSuApCbKmGmTpCpClTbPi	6(94, 84, 59, 48, 3.8, 3.1)	SuApCbKmGmTbTp ApCbKmGmTbPi	84 48
84E28	TcSu	2(72, 51)	Su	51
84E32	ApCbKmClPi	1(74)	ApCbKm	74
84E35	SuApCbKmTpClTbPi	3(80, 16, 4.1)	SuApCbKmTpPi	80
85E13	CmTcSmSuApCbKmGmPi	6(88, 44, 32, 5.6, 4.4, 3.3)	CmSmSuApCbKmGm	32
85E18	CmSmSuApCbTp	5(52, 42, 39, 4.2, 3.8)	ApCb	39
85E21	CmSmSuApCbCpClPi	1(80)	CmSmSuApCbPi	80
85E24	CmTcSmSuApCbKmTpPi	3(92, 57, 3.8)	Km	80
85E25	CmTcSuApCbKmTp	3(72, 49, 42)	SuApCbKmTp	49
85E34	ApCbKmTpPi	1(64)	ApCbKm	64
Other source				
84E8	SmSuApCbKmTp	3(44, 40, 3.8)	SmSuKmTp	40
84E9	CmTcSmSuApCbKmGmTpClTbPi	5(82, 64, 52, 35, 31)	SmSuApCbKmGmTb SmSuApCbKmGmTb	82 64
84E10	CmTcSmSuApCbKmGmTpTbPi	5(89, 64, 56, 37, 3.8)	ApCbKm Km	64 56
84E11	CmTcSmSuApCbKmGmTpTbPi	4(81, 55, 35, 3.5)	ApCbKm SmSuApCbKmGmTb	55 35
85E43	SmSuApCbKmTpPi	5(245, 50, 37, 12, 3.9)	SmSuKmTp	37
85E1	CmTcSmSuApCbKmGmTbPi	3(130, 85, 65)	CmTcSuApCbKmGmTb	130
85E2	CmTcSmSuApCbKmGmTb	3(130, 85, 65)	SmSuApCbKmGmTb	130
85E3	CmTcSmSuApCbKmGmTb	3(124, 89, 73)	CmSuApCbKmGmTb	124
85E4	CmTcSmSuApCbKmTpTbPi	5(111, 53, 36, 5.0, 4.1)	CmTcSmSuApCbKmTbTp SmSuApCbKmTb	138 53
85E5	CmTcSmSuApCbKmGmClTb	2(106, 71)	CmTcSmSuApCbKmGmTb	106

장관내 상재균으로 존재하는 대장균이 질병을 일으키는 기전에는 숙주의 방어기전의 변화나 균의 특별한 형질획득등 많은 요인들이 관계되는데 장관에서 설사를 일으키는 대장균의 경우는 장속도의 산생이 중요한 것으로 알려져 있다.

반면 장관외부에서 감염을 일으키는 대장균은 분변의 그것과는 다른 몇가지 특성을 가진다고 한다. 즉 혈구응집, 용혈소의 산생, colicin의 산생, chick-embryo에 대한 유독성, 상피세포에의 흡착성 등이다^{4, 5, 17, 20).}

대장균의 혈구응집능은 장관외의 감염의 발병 기전에 관계되는 특이한 흡착인자에 기인한다고 하는데, 이 흡착인자는 신우신염이나, 방광염을 일으키는 유독주들이 정상요로 상피세포에 흡착하는때 관련되며²¹⁾, 대장균에 의한 설사에도 관련된다²⁰⁾. 많은 종류의 단당류나 과당류가 세균의 혈구응집을 억제하며, 특히 mannose에 의한 혈구응집억제 여부는 대장균에서는 중요한 의미가 있다. 대장균의 Common pili에 의한 적혈구응집은 mannose에 의해 억제되는 반면, K88, K99 fimbriae 같은 독력과

Table 7. Phenotype and approximate size of conjugally transferable plasmid of *E. coli*

Source	Plasmid	Phenotype	Molecular weight (megadalton)	Original strain	
Urine	pKE 4232	CmSmSuApCbKmGmTb	91	84E23	
	pKE 4193	SuApCbKmGmTbTp	84	84E19	
	pKE 4252	SuApCbKmGmTbTp	84	84E25	
	pKE 5211	CmSmSuApCbPi	80	85E21	
	pKE 4351	SuApCbKmTpPi	80	84E35	
	pKE 5241	Km	80	85E24	
	pKE 4204	CmKmGmTb	76	84E20	
	pKE 4202	CmSmSuApCbKmGmTbTp	76	84E20	
	pKE 4321	ApCbKm	74	84E32	
	pKE 5341	ApCbKm	64	85E34	
	pKE 4151	CmSuApCb	53	84E15	
	pKE 4153	ApCb	53	84E15	
	pKE 4281	Su	51	84E28	
	pKE 5251	SuApCbKmTp	49	85E25	
	pKE 4253	ApCbKmGmTbPi	48	84E25	
	pKE 5182	ApCb	39	85E18	
	pKE 5132	CmSmSuApCbKmGm	32	85E13	
	Non-urine	pKE 5042	CmTcSmSuApCbKmTbTp	138	85E4
		pKE 5011	CmTcSuApCbKmGmTb	130	85E1
		pKE 5022	SmSuApCbKmGmTb	130	85E2
pKE 5032		CmSuApCbKmGmTb	124	85E3	
pKE 5051		CmTcSmSuApCbKmGmTb	106	85E5	
pKE 4091		SmSuApCbKmGmTb	82	84E9	
pKE 4092		SmSuApCbKmGmTb	64	84E9	
pKE 4103		ApCbKm	64	84E10	
pKE 4104		Km	56	84E10	
pKE 4115		ApCbKm	55	84E11	
pKE 5043		SmSuApCbKmTb	53	84E4	
pKE 4083		SmSuKmTp	40	84E8	
pKE 4431		SmSuKmTp	37	84E43	
pKE 4114		SmSuApCbKmGmTb	35	84E11	

관련있는 세포부속기에 의한 혈구응집은 mannose 에 의해 억제되지 않는다¹⁰⁾. 저자의 실험에서도 뇨 유래주에서 76.3% (29주)가 혈구응집반응양성으로 대조군 (34.6%)에 비해 상당히 높았으며, 혈구응집 반응 양성이면서 용혈반응 양성비율도 뇨분리주에서 48.3%로 대조군의 11.1%에 비해 높았다.

뇨로감염을 일으키는 대장균에서 용혈소 산생주가 많았으며, 용혈소의 산생능이 대장균의 독성과 관련있다는 1921년의 Dudgeon 등의 보고¹¹⁾ 이래 많은 연구자들이 신체 여러 부위에서 채취한 대장균의 용혈소 산생빈도를 보고하였는데, 정상인의 분변에서의 용혈소 산생주의 빈도는 5~18%였으며⁴⁾

¹⁰⁾, 뇨유래주에서는 26~56%, 기타 장관의 부위에서 35~59%로 장관이외에서 분리된 대장균에서 높은 용혈소 산생빈도를 보였다^{4, 11, 14)}. Cooke 등⁴⁾은 이러한 용혈소 산생능력이 배양된 조직에는 cytotoxicity를, 가토의 피부에는 necrotoxicity와 관계가 있음을 보고하였고, Minshew¹¹⁾는 용혈소 산생주가 chick embryo에 독력을 나타냄을 보고하여 용혈소와 대장균의 독성과의 관계를 증명하였다.

Sub-MIC 농도의 항균제 함유배지에서 배양된 균은 세포에 대한 흡착능력이 억제된다고 알려져 있어¹²⁻¹⁵⁾ 뇨로감염의 치료에도 응용되고 있는데, 뇨 유래주의 각종 항균제에 대한 MIC의 조사는 이러

한 연구에 필수적이다. 본 실험에서는 MIC를 조사하여 세균의 세포흡착능력의 하나인 혈구응집반응의 보유유무에 따른 차이점을 알아보고자 하였으나, 혈구응집능 유무에 따른 MIC의 유의한 차이는 관찰할 수 없었다.

접합에 의해 약제내성의 전달양상을 조사하기 위해 전기영동을 실시한 결과 혈구응집능과 내성전달과는 큰 차이가 없었으며, 전달가능한 plasmid는 약 30Mdal 이상의 거대 plasmid들이었다.

노로감염에서 분리한 대장균이 다른 대장균에 비해 몇가지 다른 특성을 지니고 있음을 본 실험에서도 나타났으며, 이러한 특성들이 노로감염을 일으키는 대장균의 병독성과 관련이 있는 것으로 사료된다. 그러나 fimbriae 의 혈청학적연구와 세포벽의 단백질에 대한 특성을 결정하는 유전인자들에 대한 연구를 병행하여야 더욱 확실한 병독성의 기전을 밝힐 수 있으리라 사료된다.

결 론

각종 임상가진물에서 분리한 64주의 대장균중에서 특히 노로감염을 일으키는 대장균의 병독성과 관련된 특성들을 알기 위해 노로감염이 있는 환자의 뇨에서 분리한 38주와 대조군으로 기타 분리대장균 26주를 대상으로 혈구응집반응, 용혈반응, 항균제내성양상과 그 전달성 및 전달된 plasmid의 전기영동상과 내성전달을 비교하였다.

사람의 Rh 양성 A형 적혈구에 대한 혈구응집반응은 노유래주 29주(76.3%)가 mannose 저항성 양성으로 대조군 9주(34.6%)에 비해 월등히 높았다. 용혈현상은 노유래주에서 17주(44.7%)로서 대조군의 2주(7.7%)에 비해 더 높았다. 23가지 항균제에 대한 내성양상은 큰 차이가 없었으며, 다만 Ap, Cb, Pi, Km, Tp 등에 높은 내성빈도를 나타낸 반면 새로운 항균제인 Ct, Mx, Cz, Im, Nf 등에 감수성이 높은 것으로 나타났다.

내성전달실험에서 노유래주에서 14주(36.8%), 대조군에서 10주(38.5%)가 관찰되었으며, 접합에 의해 내성전달이 가능한 24주중 1주를 제외하고는 5가지에서 13가지의 항균제에 대해 내성을 가지고 있었으며, 전달가능한 plasmid의 크기는 32Mdal에서 130Mdal 사이였으며, 내성의 전부가 전달되는 균주는 관찰되지 않았다. 또한 항균제의 혈구응집능력과 내성전달빈도는 유사한 관계가 없었다.

참 고 문 헌

- 1) Avots-Avtins AE, Fader RC and Davis CP: Environmental alteration and two distinct mechanisms of *E. coli* adherence to bladder epithelial cell, *Invest. Urol.*, **18**:364-370, 1981.
- 2) Braude A.J: Medical microbiology and infectious disease, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1981) pp. 340-352.
- 3) Cavaliere SJ, Bohach GA and Snyder IS: *Escherichia coli* α -hemolysin: Characteristics and probable role in pathogenicity, *Microbiol. Rev.*, **48**:326-343, 1984.
- 4) Cooke EM and Ewins SP: Properties of strains of *Escherichia coli* isolated from a variety of sources, *J. Med. Microbiol.*, **8**:107-111, 1975.
- 5) Dudgeon LS, Wordley E and Bawtree F: On *Bacillus coli* infections of the urinary tract, especially in relation to haemolytic organisms, *J. Hyg.*, **20**:137-164, 1921.
- 6) Edwards PR and Ewing WH: Identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed., Elsevier Publ. Co., New York(1986) pp. 47-136.
- 7) Evans DJ Jr, Evans DG, Höhne C, Noble M A, Haldane EV, Lior H and Young LS: Hemolysin and K antigens in relation to serotype and hemagglutination type of *Escherichia coli* isolated from extraintestinal infections, *J. Clin. Microbiol.*, **13**:171-178, 1981.
- 8) Evans DJ Jr, Evans DG and Dupont HL: Hemagglutination patterns of enterotoxigenic and enteropathogenic *Escherichia coli* determined with human, Bovine, Chicken, and Guinea Pig erythrocytes in the presence and absence of mannose, *Infect. Immun.*, **23**:336-346, 1979.
- 9) Gilles RR and Govan JRW: Typing of *Pseudomonas pyocyanea* by pyocin production, *J. Pathol. Bacteriol.*, **91**:339-346, 1966.
- 10) Joklik WK, Willett HP and Amos DB: Zinsser microbiology, 18th ed., Appleton-Century-Crofts, East Norwalk(1984) pp. 603-612.
- 11) Kado CI and Liu ST: Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids, *J. Bacteriol.*, **145**:1365-1373, 1981.
- 12) Källenius G, Möllby R, Svenson SB, Helin I, Hultberg H and Cetlergen B, Winberg J: Occurrence of P-fimbriated *Escherichia coli* in urinary tract infection, *Lancet*, **II**, 1369-1372, 1981.

- 13) Korhonen TK, Vaisanen V, Saxen H, Hultberg H and Svenson SB: P-antigen-recognizing fimbriae from human uropathogenic *Escherichia coli* strains, *Infect. Immun.*, **37**:286-291, 1982.
- 14) Lennette EH, Balows A, Hausler WJ Jr and Shadomy HJ: *Manual of Clinical microbiology*, 4th ed., American Society for Microbiology, Washington(1985) pp. 263-277.
- 15) Minshew BH, Jorgensen J, Counts GW and Falkow S: Association of hemolysin production, hemagglutination of human erythrocytes, and virulence for chicken embryos of extraintestinal *Escherichia coli* isolates, *Infect. Immun.*, **20**:50-54, 1978.
- 16) Minshew BH, Jorgensen J, Swanstrum M, Grootes-Reuvecamp GA and Falkow S: Some characteristics of *Escherichia coli* strains isolated from extraintestinal infections of humans, *J. Infect. Dis.*, **137**:648-654, 1978.
- 17) Schlessinger D: *Microbiology*, ASM, Washington, D.C.(1982) pp. 261-265, 286-291.
- 18) Smith HW: The hemolysins of *Escherichia coli*, *J. Path. Bacteriol.*, **85**:197-211, 1963.
- 19) Smith HW and Linggood MA: Observations on the pathogenic properties of the K88, Hly, and Ent plasmids of *Escherichia coli* with particular reference to porcine diarrhea, *J. Med. Microbiol.*, **4**:467-485, 1971.
- 20) Smith HW and Huggins MB: Further observations on the colicin V plasmid of *Escherichia coli* with pathogenicity and with survival in the alimentary tract, *J. Gen. Microbiol.*, **92**:335-350, 1976.
- 21) Svanborg Eden C, Hanson LA, Jodal U and Lindberg U: Variable adherence to normal human urinary-tract epithelial cells of *Escherichia coli* strains associated with various forms of urinary-tract infection, *Lancet*, **II**:490-492, 1976.
- 22) Thornsberry, C.: *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova(1983) pp. 31-91.
- 23) Vosbeck K: Effects of low concentrations of antibiotics on *Escherichia coli* adhesion, In "The influence of antibiotics on the host-parasitic relationship", Springer Verlag, Berlin (1982) pp. 183-193.
- 24) Vosbeck K, Handschin H, Menge E and Zak O: Effects of subminimal inhibitory concentrations of antibiotics on adhesiveness of *Escherichia coli* in vitro, *Rev. Infect. Dis.*, **1**:845-851, 1979.
- 25) Vosbeck K and Mett H: Bacterial adhesion: Influence of drug, in "Medical microbiology, Vol. 3", Academic Press, London and New York(1983) in Press.