Biomedical Science Letters 2022, 28(2): 127~136
https://doi.org/10.15616/BSL.2022.28.2.127
eISSN : 2288-7415

Original Article

Comparison of O-serogroups, Virulence Factors and Phylogenetic Groups of Uropathogenic *Escherichia coli* Isolated from Patients with Urinary Tract Infections between 2 Time Periods of 1989 and 2010-2014 at Gangwon Province in Korea

Min Park* and Seong-Mi Kim†,*

Department of Biomedical Laboratory Science, Masan University, Changwon 51217, Korea

Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) is main causative agent of urinary tract infections. They are classified based on various types of O antigen. UPEC strains commonly possess many genes encoding virulece-associated factors. *E. coli* strains are generally divided into four main phylogenetic groups. The virulence factor (VF) profiles of UPEC are related with their O-serogroups in each strains. A total of 681 strains of UPEC clinical isolates were collected from Korean healthcare facility (1989: 123 strains and 2010-2014: 558 strains). The UPEC clinical isolates were analyzed by polymerase chain reaction (PCR) methods. A total of 14 O-serotypes (O1, O2, O4, O6, O7, O8, O15, O16, O18, O21, O22, O25, O75 and O83), 6 virulence factors (*pap*C, *fim*G/H, *sfa*D/E, *hly*1, *cnf*1 and *usp*) and phylogenetic groups were identified. The most prevalent O-serogroups were O6 (11.1%) in 1989 UPEC strains and O25 (21.0%) in 2010-2014 UPEC strains. The identified VFs, phylogenetic groups in 1989 UPEC strains and 2010-2014 UPEC strains were *fim*G/H and B2 group. In this study, O6 serotype was revealed the close relationships with VFs. Also, the distribution of prevalence O-serogroups of UPEC has been changed from O6 to O25 and virulence of UPEC strains was increased during past twenty-one years.

Key Words: Uropathogenic *Escherichia coli*, O-serogroup, Virulence factor, Phylogenetic group

서 론

*Escherichia coli*는 세균성 감염질환을 가장 많이 유발하는 세균 중 하나이다(DebRoy et al., 2011). *E. coli*는 그람음성 막대균으로 장내세균과에 속하며, 정상세균무리로 장내에 존재할 때는 감염증을 유발하지 않지만 장내가 아닌 인체의 다른 부위에 오염되었을 경우 기회감염을 유발하는 것으로 알려져 있다(Smith et al., 2007). 장관 이외의 감염증과 관련된 대장균 중 요로병원성 대장균(uropathogenic *Escherichia coli*, UPEC)은 무증상세균뇨, 급성방광염 및 급성신우신염 등의 요로감염을 유발하는 것으로 알려진 장외병원성 대장균(extra-intestinal pathogeic *E. coli*) 중 하나이다(Fhin, 2003). 요로감염(urinary tract infection, UTI)을 유발하는 것으로 알려진 세균에는 *E. coli*, *Proteus* spp., *Enterobacter aerogenes*와 같은 장내세균과에 속하는 세균, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* 등이 있다(Lee and Kim, 1996; Fhin, 2003). 이 중 요로감염을 가장 흔하게 유발하는 것은 *E. coli*인 것으로 알려져 있다(Struelens et al., 2004). 또한 대장균은 O (lipopolysaccharide), H (flagella) 그리고 K (capsular antigens) antigen에 따라 혈

Received: June 17, 2022 / Revised: June 29, 2022 / Accepted: June 30, 2022
*Professor.
†Corresponding author: Seong-Mi Kim. Department of Biomedical Laboratory Science, Masan University, 2640, Hamma-daero, Naeseo-eup, Masanhoewon-gu, Changwon-si, Gyeongsangnam-do 51217, Korea.
Tel: +82-55-230-1272, Fax: +82-55-230-1442, e-mail: smkim@masan.ac.kr
©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

청형으로 분류할 수 있는데, 현재까지 보고된 O 혈청형은 170여종 이상으로 알려져 있다(Liu et al., 2008). 대장균은 O 혈청형에 따라 병원성인자를 각기 다르게 보유하고 있으며(Kaper et al., 2004), 특정 감염증과 관련된 것으로 보고되고 있다(Adamus-Bialek et al., 2009). 요로감염을 유발하는 요로병원성 대장균에서 흔하게 확인되는 O 혈청형은 O1, O2, O4, O6, O7, O8, O15, O16, O18, O21, O22, O25, O75 그리고 O83 등으로 알려졌으며(Ørskov et al., 1982; Johnson et al., 1994; Blanco et al., 1996; Bidet et al., 2007; Abe et al., 2008; Ananias and Yano, 2008), 요로병원성 대장균이 보유하고 있는 병원성인자에는 P-fimbriae, S fimbriae, type 1 fimbriae와 같은 세포부착인자, α-hemolysin, cytotoxic necrotizing factor type 1 등의 독소와 bacteriocin 및 siderophores 등이 알려져 있다(Adamus-Bialek et al., 2009). 요로병원성 대장균에 의한 요로감염의 성립에는 P fimbriae와 같은 세포부착인자를 이용하여 요로상피세포에 부착하면, 소변에 의한 요로의 세척작용에 저항하여 감염에 결정적인 역할을 한다(He et al., 2015). 대장균은 A, B1, B2, D 등 4가지 주요 계통분류군(phylogenetic group)으로 분류가 가능하며 장관 이외의 감염증을 유발하는 병원성 대장균은 주로 B2와 D군에 속한다(Clermont et al., 2000).

해외의 경우 요로병원성 대장균의 O 혈청형과 병원성인자 및 계통분류군의 연관성에 대한 연구가 활발히 수행되고 있으나(Blanco et al., 1996; Clermont et al., 2000; Ananias and Yano, 2008; Baldy-Chudzik et al., 2008; Bukh et al., 2009), 국내에서는 요로병원성 대장균의 O 혈청형에 따른 병원성인자 및 계통분류군에 대한 연구를 찾아보기 힘들다.

따라서 본 연구에서는 1989년도와 2010년도부터 2014년도에 분리된 요로병원성 대장균을 대상으로 O-serogroup과 병원성인자 및 계통분류군을 분자생물학적 방법을 이용하여 비교 분석함으로써 국내에서 분리되는 요로병원성 대장균의 O-serogroup에 따른 병원성인자 보유율 및 계통분류군에 대한 역학적 기초자료를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

대상

본 연구에서는 강원도 소재의 한 대학병원에서 1989년 3월부터 12월까지 수집한 요로병원성 대장균 123주와 2010년 7월부터 2014년 7월까지 수집한 요로병원성 대장균 558주를 본 연구에 사용하였다.

요로병원성 대장균의 DNA 추출

요로병원성 대장균을 brain heart infusion broth에 접종하여 37℃에서 18시간 배양 후, 세균 배양액 1 mL을 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 수세하는 과정을 2회 반복하였다. 세균침사에 200 μL의 멸균증류수를 넣어 세균부유액을 제조하였고, 100℃에서 10분간 끓인 다음, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 주형 DNA로 사용하였다.

Multiplex polymerase chain reaction (PCR)을 이용한 O-serogroup의 검출

요로병원성 대장균의 O-serogroup를 확인하기 위한 multiplex PCR에 사용한 primer는 CosmoGenetech Co. (Seoul, Korea)에 의뢰하여 합성하였으며 primer의 염기서열과 증폭된 산물의 크기는 Table 1과 같다(Li et al., 2010). 30 μL의 reaction mixture에는 추출한 대장균의 DNA 2 μL, 각 농도별 primer (Table 1), 10 X PCR buffer, 0.3 mM deoxynucleoside triphosphate (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 2 U의 G-*Taq* DNA polymerase (CosmoGenetech Co., Seoul, Korea)를 혼합하였다. 중합효소 연쇄반응은 95℃에서 5분간 denaturation을 실시하고, 95℃에서 30초, 55℃에서 1분, 72℃에서 1분간 30 cycle을 한 후, 72℃에서 5분간 final extension을 수행하였다. 증폭산물은 2.0% agarose gel에서 100 bp DNA ladder (Fermentas, Burlington, Canada)와 함께 1 X TAE buffer에서 전기영동 한 후, ethidium bromide (0.5 μg/mL)로 10분간 염색하여 GelDoc Image Analyzer (Biorad, Hercules, USA)를 이용하여 증폭 유무 및 크기를 관찰하였다.

Multiplex PCR을 이용한 병원성인자의 검출

실험에 사용한 primer는 CosmoGenetech Co. (Seoul, Korea)에 의뢰하여 합성하였으며 primer의 염기서열 및 증폭된 산물의 크기는 Table 2와 같다(Adamus-Bialek et al, 2009). Multiplex PCR을 이용하여 병원성인자를 검출하기 위해 30 μL의 reaction mixture에는 추출한 대장균의 DNA 2 μL, 5 pmole의 각 primer, 10 X PCR buffer, 0.2 mM deoxynucleoside triphosphate, 1 U G-*Taq* DNA polymerase (CosmoGenetech Co., Seoul, Korea)를 혼합하였다. 중합효소 연쇄반응은 thermal cycler (GeneAmp PCR system 2700, Perkin-Elmer Cetus, Boston, USA)를 이용하여 95℃에서 5분간 denaturation을 실시하고, 95℃에서 1분, 60℃에서 1분 30초, 72℃에서 3분간 35 cycle을 한 후, 72℃에서 8분간

Table 1. Oligonucleotide sequences for O-serotyping of UPEC

Serogroup	Primer	Primer sequence (5'-3')	Amplicon size (bp)	Target gene	Conc. in multiplex PCR (μM)	Reference
Group 1						
O1	wl-14632-(F)	GTGAGCAAAAGTGAAATAAGGAACG	1,098	*wzx*	0.05	Li et al., 2010
	wl-14633-(R)	CGCTGATACGAATACCATCCTAC				
O6	wl-14646-(F)	GGATGACGATGTGATTTTGGCTAAC	783	*wzy*	0.07	
	wl-14647-(R)	TCTGGGTTTGCTGTGTATGAGGC				
O7	wl-14648-(F)	CTATCAAAATACCTCTGCTGGAATC	610	*wzy*	0.12	
	wl-14649-(R)	TGGCTTCGAGATTAAACCTATTCCT				
O8	wl-14652-(F)	CCAGAGGCATAATCAGAAATAACAG	448	*orf469*	0.12	
	wl-14653-(R)	GCAGAGTTAGTCAACAAAAGGTCAG				
O16	wl-14654-(F)	GGTTTCAATCTCACAGCAACTCAG	302	*wzx*	0.13	
	wl-14655-(R)	GTTAGAGGGATAATAGCCAAGCGG				
O21	wl-14676-(F)	CTGCTGATGTCGCTATTATTGCTG	209	*wzx*	0.12	
	wl-14677-(R)	TGAAAAAAAGGGAAACAGAAGAGCC				
O75	wl-17413-(F)	GAGATATACATGGGGAGGTAGGCT	511	*wzx*	0.07	
	wl-17414-(R)	ACCCGATAATCATATTCTTCCCAAC				
Group 2						
O2	wl-14636-(F)	AGTGAGTTACTTTTTAGCGATGGAC	770	*wzy*	0.07	
	wl-14637-(R)	AGTTTAGTATGCCCCTGACTTTGAA				
O4	wl-14642-(F)	TTGTTGCGATAATGTGCATGTTCC	664	*wzy*	0.07	
	wl-14643-(R)	AATAATTTGCTATACCCACACCCTC				
O15	wl-14672-(F)	TCTTGTTAGAGTCATTGGTGTATCG	183	*wzy*	0.08	
	wl-14673-(R)	ATAAAACGAGCAAGCACCACACC				
O18	wl-14656-(F)	GTTCGGTGGTTGGATTACAGTTAG	551	*wzx*	0.08	
	wl-14657-(R)	CTACTATCATCCTCACTGACCACG				
O22	wl-14660-(F)	TTCATTGTCGCCACTACTTTCCG	468	*wzx*	0.08	
	wl-14661-(R)	GAAACAGCCCATGACATTACTACG				
O25	wl-14666-(F)	AGAGATCCGTCTTTTATTTGTTCGC	230	*wzy*	0.08	
	wl-14667-(R)	GTTCTGGATACCTAACGCAATACCC				
O83	wl-14668-(F)	GTACACCAGGCAAACCTCGAAAG	362	*wzx*	0.08	
	wl-14669-(R)	TTCTGTAAGCTAATGAATAGGCACC				

final extension을 수행하였다. 증폭산물은 1.5% agarose gel에서 100 bp DNA ladder (Fermentas, Burlington, Canada)와 함께 1 X TAE buffer에서 전기영동 한 후, ethidium bromide (0.5 μg/mL)로 10분간 염색하여 GelDoc Image Analyzer (Biorad, Hercules, USA)를 이용하여 증폭 유무 및 증폭산물의 크기를 관찰하였다.

Multiplex PCR을 이용한 계통분류군 확인

계통분류군을 확인하기 위해 실험에 사용한 primer의 염기서열은 Table 2와 같다(Clermont et al., 2000). 20 μL의 reaction mixture에는 추출한 요로병원성 대장균의 DNA 2 μL, 10 pmole의 각 primer, 0.2 mM deoxynucleoside triphosphate, 2.5 U G-*Taq* DNA polymerase (CosmoGenetech Co., Seoul, Korea)를 혼합하였다. 중합효소 연쇄반응은 thermal cycler (GeneAmp PCR system 2700, Perkin-Elmer Cetus, Boston, USA)를 이용하여 94℃에서 4분간 denaturation한 후, 94℃에서 5초, 59℃에서 10초, 72℃에서 5분간 30 cycle을 수행하였다. 증폭산물은 1.5% agarose gel에서 100 bp DNA

Table 2. Oligonucleotide sequences for amplification of the virulence factors genes and phylogenetic groups

	Primer	Primer sequence (5'-3')	Amplicon size (bp)	Target gene	Reference
VFs	pap1	GACGGCTGTACTGCAGGGTGTGGCG	328	*pap*C	Adamus-Bialek et al., 2009
	pap2	ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA			
	sfa1	CTCCGGAGAACTGGGTGCATCTTAC	410	*sfa*D/*sfa*E	
	sfa2	CGGAGGAGTAATTACAAACCTGGCA			
	cnf1a	AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG	498	*cnf*1	
	cnf12a	CATTCAGAGTCCTGCCCTCATTATT			
	usp1mod	TTCTGGGGAACTGACATTCACGG	657	*usp*	
	usp2mod	CCTCAGGGACATAGGGGGAA			
	fimGH1	GCAATGTTGGCGTTCGCAAGTGC	1,001	*fim*G/*fim*H	
	fimGH2	CGTAAATATTCCACACAAACTGG			
	hly1mod	AACAACGATAAGCACTGTTCTGGCT	1,177	*hly*A	
	hly2mod	ACCATATAAGCGGTCATTCCCATCA			
PGs	TspE4C1	GAGTAATGTCGGGGCATTCA	152	TSPE4.C2	Clermont et al., 2000
	TspE4C2	CGCGCCAACAAAGTATTACG			
	YjA1	TGAAGTGTCAGGAGACGCTG	211	*yja*A	
	YjA2	ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC			
	ChuA1	GACGAACCAACGGTCAGGAT	279	*chu*A	
	ChuA2	TGCCGCCAGTACCAAAGACA			

Abbreviation: VFs, virulence factor; PG, phylogenetic group

ladder (Fermentas, Burlington, Canada)와 함께 1 X TAE buffer를 사용하여 전기영동 한 후 ethidium bromide (0.5 μg/mL)로 10분간 염색하여 GelDoc Image Analyzer (Biorad, Hercules, USA)를 이용하여 증폭 유무 및 증폭산물의 크기를 관찰하였다.

결 과

요로병원성 대장균의 O-serogroup 검출

1989년도와 2010-2014년도에 분리한 요로병원성 대장균의 O-serogroup의 분포는 Table 5와 같다. 요로병원성 대장균의 O-serogroup을 확인하기 위한 multiplex PCR 방법으로 O-serogroup가 검출되지 않은 경우가 1989년도 분리주에서 123주 중 55주(44.7%), 2010-2014년도 분리주에서 558주 중 136주 (24.4%)였고, 이를 제외하면 1989년도 분리주에서 68주 (55.3%), 2010-2014년도 분리주에서 422주 (75.6%)에서 O1, O2, O4, O6, O7, O8, O15, O16, O18, O21, O22, O75 및 O83에 해당하는 O-serogroup을 확인할 수 있었다. 1989년도 분리주에서는 O15, O16, O18 및 O22는 확인되지 않았으며, O6 (11.1%), O25와 O75 (9.8%), O8 (7.1%), O1 (4.8%), O21 (3.2%), O2와 O4 (2.4%), 07 (0.8%)의 빈도로 나타난 반면, 2010-2014년도 분리주에서는 O25 (21.0%), O2 (12.4%), O75 (10.8%), O6 (7.7%), O1 (7.2%), O8

Table 3. Frequency of virulence factor genes and phylogenetic groups of *E. coli* strains from patients with urinary tract infection isolated in 1989 and 2010-2014

Target		Strains isolated in	
		1989 (n=123)	2010-2014 (n=558)
VFs	*hly*A	17 (13.8%)	68 (12.2%)
	*fim*G/H	103 (83.7%)	517 (92.7%)
	usp	40 (32.5%)	152 (27.2%)
	*cnf*1	14 (11.4%)	146 (26.2%)
	*pap*C	26 (21.1%)	208 (37.3%)
	*sfa*D/E	16 (13.0%)	99 (17.7%)
PGs	A	30 (24.4%)	56 (10%)
	B1	11 (8.9%)	31 (5.6%)
	B2	49 (39.8%)	344 (61.6%)
	D	33 (26.8%)	127 (22.8%)

Abbreviation: VFs, vrulence factor; PG, phylogenetic group

Table 4. Virulence factor gene profiles and phylogenetic groups of *E. coli* strains from patients with urinary tract infection isolated in 1989 and 2010-2014

1989											2010-2014										
VF genotype						Phylogenetic group					VF genotype						Phylogenetic group				
F	S	P	U	C	H	A	B1	B2	D	n=123	F	S	P	U	C	H	A	B1	B2	D	n=558
+	−	−	−	−	−	10	11	13	20	54 (43.9%)	+	−	−	−	−	−	28	29	72	62	191 (34.2%)
+	−	+	−	−	−	1				1 (0.8%)	+	−	+	−	−	−			64	18	82 (14.7%)
+	−	−	+	−	−	6		6	5	17 (13.8%)	+	−	−	+	−	−	6		54	8	68 (12.2%)
+	+	+	+	+	+			7		7 (5.7%)	+	+	+	+	+	+	1		30		31 (5.6%)
−	−	−	−	−	−	13		1	4	18 (14.6%)	−	−	−	−	−	−	15		5	4	24 (4.3%)
											+	−	+	−	+	−			16	6	22 (3.9%)
											+	−	−	−	+	−	1		7	12	20 (3.6%)
+	+	+	−	+	−			1		1 (0.8%)	+	+	+	−	+	−	1		16		17 (3.0%)
											+	−	+	−	+	+			11	2	13 (2.3%)
+	−	−	+	+	−			1		1 (0.8%)	+	−	−	+	+	−	1		9		10 (1.8%)
											+	+	−	−	−	−	1		7	1	9 (1.6%)
+	−	+	+	−	−			7	1	8 (6.5%)	+	−	+	+	−	−	1		3	3	7 (1.3%)
+	+	+	−	+	+			1		1 (0.8%)	+	+	+	−	+	+			5	1	6 (1.1%)
+	+	−	+	+	+			2		2 (1.6%)	+	+	−	+	+	+			6		6 (1.1%)
+	+	−	+	−	−				2	2 (1.6%)	+	+	−	+	−	−			6		6 (1.1%)
											+	+	+	−	−	−			5		5 (0.9%)
											−	−	−	−	+	−			3		3 (0.5%)
+	+	−	+	+	−			1		1 (0.8%)	+	+	−	+	+	−			4		4 (0.7%)
											+	+	+	+	−	−			5		5 (0.9%)
											+	+	+	+	+	−			4		4 (0.7%)
											−	−	−	+	−	−				4	4 (0.7%)
											−	+	+	−	+	−			2	1	3 (0.5%)
											−	−	+	−	−	−			1	1	2 (0.4%)
											+	−	+	+	+	+			2		2 (0.4%)
+	−	−	−	−	+				1	1 (0.8%)	+	−	−	−	−	+		1			1 (0.2%)
											+	−	−	+	−	+			1		1 (0.2%)
+	−	+	−	−	+			3		3 (2.4%)	+	−	+	−	−	+	1	1			2 (0.4%)
											+	−	−	−	+	+				1	1 (0.2%)
											+	−	+	+	+	−			1		1 (0.2%)
											−	+	+	−	−	−			1		1 (0.2%)
+	+	+	+	−	+			1		1 (0.8%)	+	+	+	+	−	+				1	1 (0.2%)
											+	+	+	+	−	−			1		1 (0.2%)
											+	−	+	+	+	+			1		1 (0.2%)
											−	−	−	−	−	+				1	1 (0.2%)
+	−	+	+	−	+			4		4 (3.3%)	+	−	+	+	−	+			1		1 (0.2%)
											−	−	+	−	−	+			1		1 (0.2%)
											−	+	−	−	+	−				1	1 (0.2%)
−	+	+	+	+	−			1		1 (0.8%)											
Total						30	11	49	33	123	Total						56	31	344	127	558

Abbreviation: F, *fim*G/H; S, *sfa*D/E; P, *pap*C; U, *usp*; C, *cnf*1; and H, *hly*A

Table 5. O-serogroup, virulence factors and phylogenetic group of uropathogenic *E. coli* isolated from patient with urinary tract infections in 1989 and 2010-2014

O-serogroup	Year	Virulence factors						Phylogenetic group				
		*fim*G/H	*sfa*D/E	*pap*C	*usp*	*cnf*1	*hly*A	A	B1	B2	D	Total
O1	1989	6 (100%)	2 (33.3%)	2 (33.3%)	5 (83.3%)	−	−	−	−	−	6	6 (4.9%)
	2010-2014	36 (90%)	4 (10%)	12 (57.5%)	3 (7.5%)	8 (20%)	4 (10%)	−	−	20	20	40 (7.2%)
O2	1989	3 (100%)	3 (100%)	1 (33.3%)	2 (66.7%)	3 (100%)	2 (66.7%)	−	−	3	−	3 (2.4%)
	2010-2014	68 (98.6%)	19 (27.5%)	63 (91.3%)	8 (11.6%)	24 (34.8%)	3 (4.3%)	−	−	65	4	69 (12.4%)
O4	1989	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	1 (57.1%)	1	−	2	−	3 (2.4%)
	2010-2014	9 (100%)	5 (55.6%)	4 (44.4%)	4 (44.4%)	5 (55.6%)	3 (33.3%)	1	2	6	−	9 (1.6%)
O6	1989	11 (78.6%)	8 (57.1%)	8 (57.1%)	9 (64.3%)	8 (57.1%)	8 (57.1%)	5	−	9	−	14 (11.4%)
	2010-2014	43 (100%)	30 (69.8%)	27 (62.8%)	26 (60.5%)	30 (69.8%)	25 (58.1%)	2	2	30	9	43 (7.7%)
O7	1989	1 (100%)	−	−	−	−	−	−	−	−	1	1 (0.8%)
	2010-2014	3 (60%)	1 (20%)	1 (20%)	1 (20%)	−	−	2	−	1	2	5 (0.9%)
O8	1989	6 (66.7%)	−	1 (11.1%)	−	−	−	2	2	1	4	9 (7.3%)
	2010-2014	17 (85%)	3 (15%)	1 (5%)	2 (10%)	2 (10%)	−	5	6	7	2	20 (3.6%)
O15	1989	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	2010-2014	17 (89.5%)	1 (5.3%)	9 (47.4%)	3 (15.8%)	8 (42.1%)	1 (5.3%)	4	−	2	13	19 (3.4%)
O16	1989	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	2010-2014	14 (100%)	−	4 (28.6%)	−	−	1 (7.1%)	2	−	9	3	14 (2.5%)
O18	1989	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	2010-2014	15 (100%)	2 (13.3%)	3 (20%)	6 (40%)	4 (26.7%)	3 (20%)	3	1	6	5	15 (2.7%)
O21	1989	4 (100%)	−	4 (100%)	3 (75.0%)	−	4 (100%)	−	−	4	−	4 (3.3%)
	2010-2014	3 (100%)	1 (33.3%)	1 (33.3%)	−	1 (33.3%)	1 (33.3%)	1	1	−	1	3 (0.5%)
O22	1989	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	2010-2014	5 (100%)	−	1 (20%)	2 (40%)	−	−	−	−	2	3	5 (0.9%)
O25	1989	12 (100%)	−	−	2 (16.7%)	−	−	−	−	9	3	12 (9.8%)
	2010-2014	110 (94%)	12 (10.3%)	37 (31.6%)	10 (8.5%)	24 (20.5%)	17 (14.5%)	7	5	96	9	117 (21.0%)
O75	1989	12 (100%)	1 (8.3%)	6 (50.0%)	8 (66.7%)	1 (8.3%)	2 (16.7%)	1	1	8	2	12 (9.8%)
	2010-2014	57 (95%)	1 (1.7%)	2 (3.3%)	56 (93.3%)	10 (16.7%)	−	1	−	57	2	60 (10.8%)
O83	1989	4 (100%)	−	−	2 (50.0%)	−	−	−	−	4	−	4 (3.3%)
	2010-2014	2 (66.7%)	1 (33.3%)	1 (33.3%)	1 (33.3%)	−	−	1	−	2	−	3 (0.5%)
Other serogroup	1989	42 (76.4%)	−	2 (3.6%)	10 (18.2%)	−	2 (3.6%)	21	8	7	19	55 (44.7%)
	2010-2014	118 (86.8%)	19 (14%)	31 (22.8%)	30 (22.1%)	30 (22.1%)	10 (7.4%)	27	13	42	54	136 (24.4%)

(3.6%), O15 (3.4%), O18 (2.7%), O16 (2.5%), O4 (1.6%), O22와 O7 (0.9%), O21와 O83 (0.5%)로 확인되었다.

병원성인자와 계통분류군 검출

1989년도와 2010-2014년도에 분리된 요로병원성 대장균의 병원성 인자와 계통분류군의 빈도는 Table 3과 같다. 1989년도 분리주에서 병원성 인자의 보유 빈도는 *fim*G/H (83.7%), *usp* (32.5%), *hly*A (13.8%), *pap*C (21.1%), *sfa*D/E (13.0%), *cnf*1 (11.4%) 순으로 나타난 반면, 2010-2014년도 분리주에서는 *fim*G/H (92.7%), *pap*C (37.3%), *usp* (27.2%), *cnf*1 (26.2%), *sfa*D/E (17.7%), *hly*A (12.2%)의 순으로 나타났다. *fim*G/H는 1989년도와 2010-2014년도 분리주에서 모두 가장 높게 나타났다. 특히, *cnf*1의 경우 1989년도 분리주에서 11.4%였던 반면, 2010-2014년도 분리주에서 26.2%로 나타났으며, *pap*C의 경우 1989년도 분리주에서 21.1%, 2010-2014년도 분리주에서 37.4%로 확인되어 1989년도 분리주에 비해 2010-2014분리주에서 *cnf*1과 *pap*C가 각각 14.8%, 16.2% 증가한 것으로 확인되었다. 계통분류군의 경우 1989년도 분리주의 39.8%와 2010-2014년도 분리주의 61.6%가 B2군에 속하는 것으로 확인되었으며, 1989년도 분리주의 26.8%, 2010-2014년도 분리주의 22.8%가 D군에 속하는 것으로 확인되어 B2와 D군에 속하는 요로병원성 대장균이 1989년도 분리주에서 66.7%, 2010-2014년도 분리주에서 84.4%로 확인되었다. 반면, 병원성이 다소 낮은 것으로 알려진 A군과 B1군에 속하는 요로병원성 대장균은 1989년도 분리주에서 24.4%와 8.9%, 2010-2014년도 분리주에서 10%와 5.6%로 확인되어 A군과 B1군에 속하는 요로병원성 대장균의 빈도가 각각 14.4%, 3.3% 감소한 것으로 확인되었다.

요로병원성 대장균의 O-serogroup, 병원성인자 및 계통분류군의 연관성

병원성인자 profile에 따른 계통분류군 분포는 Table 4와 같다. 총 6개의 virulence factors 중(*fim*G/H, *sfa*D/E, *pap*C, *usp*, *cnf*1 and *hly*A) type 1 fimbriae만 (*fim*G/H)을 보유한 요로병원성 대장균이 가장 많이 확인되었으며(1989년도 분리주: 43.9%, 2010-2014년도 분리주: 34.2%), type 1 fimbriae만(*fim*G/H)을 보유한 *E. coli*를 제외하고, 요로감염환자에서 분리한 요로병원성 대장균에서 높은 빈도를 보이는 병원성인자 profile은 1989년도 분리주의 경우, *fim*G/H -, *sfa*D/E -, *pap*C -, *usp* -, *cnf*1 -, *hly*A - (14.6%), *fim*G/H+, *usp* + (13.8%), *fim*G/H +, *pap*C +, *usp* + (6.5%), *fim*G/H +, *sfa*D/E +, *pap*C +, *usp* +, *cnf*1 +, *hly*A + (5.7%), *fim*G/H +, *pap*C +, *usp* +, *hly*A + (3.3%), *fim*G/H +, *pap*C +, *hly*A + (2.4%) 순이었던 반면, 2010-2014 분리주의 경우 *fim*G/H +, *pap*C + (14.7%), *fim*G/H +, *usp* + (12.2%), *fim*G/H +, *sfa*D/E +, *pap*C +, *usp* +, *cnf*1 +, *hly*A + (5.6%), *fim*G/H -, *sfa*D/E -, *pap*C -, *usp* -, *cnf*1 -, *hly*A - (4.3%), *fim*G/H +, *pap*C +, *cnf*1 + (3.9%), *fim*G/H +, *cnf*1 + (3.6%), *fim*G/H +, *sfa*D/E +, *pap*C +, *cnf*1 + (3.0%) 순이었다. 또한 병원성인자를 하나 이상 가지는 요로병원성 대장균은 계통분류군 A와 B1의 경우 1989년도 분리주에서 22.8%였고, 2010-2014년도 분리주에서 12.9%였던 반면, 계통분류군 B2와 D의 경우는 1989년도 분리주에서 62.6%, 2010-2014년도 분리주에서 82.8%였다. 1989년도 분리주에서 병원성 인자를 가장 많이 보유하고 있는 O-serogroup은 O4였고, 병원성인자 보유율은 *fim*G/H (100%), *sfa*D/E (100%), *pap*C (100%), *usp* (100%), *cnf*1 (100%), *hly*A (57.1%)로 나타났으며, 3주 중 2주(66.7%)가 계통분류군 B2에 속하였다(Table 5). 또한 2010-2014년도 분리주에서는 O6의 병원성 인자 보유율이 *fim*G/H (100%), *sfa*D/E (69.8%), *pap*C (62.8%), *usp* (60.5%), *cnf*1 (69.8%), *hly*A (58.1%)로 가장 높았고, 43주 중 39주(90.7%)가 계통분류군 B2와 D군에 속하였다(Table 5).

고 찰

요로감염은 성별에 관계없이 유발되는 질병의 대표적인 것으로 특히 여성이 남성보다 더 많이 감염되는 것으로 알려졌다(Magliano et al., 2012). *E. coli*에 의한 요로감염이 가장 흔한 것으로 알려져 있으며 요로감염을 유발하는 *E. coli*를 요로병원성 대장균(uropathogenic *Escherichia coli*, UPEC)이라 한다(Totsika et al., 2012). 요로병원성 대장균은 다양한 병원성인자를 가짐으로써 요로감염을 유발할 수 있으며 O-serogroup과 계통분류군에 따라 보유하고 있는 병원성 인자가 다양하게 밝혀졌다(Momtaz et al., 2013). 본 연구에서는 1989년도와 2010년도부터 2014년도까지 수집된 요로병원성 대장균의 O-serogroup, 병원성인자 및 계통분류군의 빈도를 비교 분석 해보고자 하였다. 1989년도에 분리한 요로병원성 대장균 123주와 2010년도부터 2014년도까지 분리한 요로병원성 대장균 558주에 대하여 요로병원성 대장균에서 주로 분리되는 O-serogroup인 O1, O2, O4, O6, O7, O8, O15, O16, O18, O21, O22, O25, O75 그리고 O83의 빈도를 확인하기 위해 flippase gene인 wzx gene과 polymerase gene인 wzy gene에 대한 multiplex-

PCR을 수행하였다. 본 연구에서 O-serogroup를 확인하기 위해 사용한 multiplex PCR로 결정할 수 없던 경우를 제외하면 O1, O2, O4, O6, O7, O8, O15, O16, O18, O21, O22, O25, O75 및 O83에 해당하는 O-serogroup은 전체 요로병원성 대장균의 과반수 이상이었다(1989년도 분리주: 55.3%, 2010-2014년도 분리주: 75.6%). 특히, 요로병원성 대장균에서 흔히 나타나는 O1부터 O83까지 14종의 O-serogroup에 해당하는 균주의 비율이 1989년도에 비해 2010-2014년도에 분리된 요로병원성 대장균의 비율이 20.3% 증가한 것으로 확인되었다. 1989년도에 분리된 요로병원성 대장균의 경우 O15, O16, O18 그리고 O22는 확인되지 않았으며, 가장 많은 빈도를 나타낸 O-serogroup은 O6로 123주 중 14주(11.4%)를 차지하였고, O25와 O75가 각각 12주(9.8%)로 높은 빈도를 보여 1989년도에 유행한 O-serogroup는 O6임을 확인하였다. 반면 2010년도부터 2014년도까지 분리된 요로병원성 대장균의 경우 O25가 558주 중 117주(21.0%)로 가장 높은 빈도를 보였고 O2가 69주(12.4%), O75가 60주(10.8%)의 빈도로 나타나, 1989년도에 분리된 요로병원성 대장균의 O-serogroup과는 다소 차이가 있었다. 특히 가장 많은 빈도를 나타낸 O-serogroup이 O6에서 O25로 변하였음을 확인하였다. Momtaz 등 (2013)은 요로감염 환자로부터 123주의 요로병원성 대장균을 분리하여 O-serogroup의 분포를 확인하였는데, 총 123주의 요로병원성 대장균 중 O25가 32주(26.0%)로 가장 흔한 O-serogroup임을 보고하여, 본 연구의 결과와 비슷 하였다(Momtaz et al., 2013). Blanco 등 (1996)의 연구에서는 두 번째로 흔히 분리된 O-serogroup이 O6라고 보고하였는데, 본 연구의 1989년도 분리주에서 가장 높은 빈도로 나타난 O-serogroup의 결과와 비슷하였다(Blanco et al., 1996).

한편 multiplex-PCR을 이용하여 병원성인자의 보유율을 확인해본 결과, 1989년도 분리주에서 *fim*G/H (83.7%), *sfa*D/E (13.0%), *pap*C (21.1%), *usp* (32.5.0%), *cnf*1 (11.4%), *hly*A (13.8%)로 나타난 반면, 2010-2014년도 분리주에서는 *fim*G/H (92.7%), *sfa*D/E (17.7%), *pap*C (37.3%), *usp* (27.2%), *cnf*1 (26.2%), *hly*A (12.2%)로 각각 확인되었다. 특히, 가장 흔히 보유하고 있는 병원성인자는 *fim*G/H (type 1 fimbriae)인 것으로 확인되었다. Adamus-Bialek 등 (2009)은 127주의 요로병원성 대장균 중 122주(96.1%)에서 type 1 fimbriae를 보유하였다고 하였고(Adamus-Bialek et al., 2009), Yun 등 (2014)은 어린이의 요로감염 및 무증상세균뇨를 유발한 요로병원성 대장균 64주 중 62주(96.9%)에서 type 1 fimbriae (*fim*H)을 보유하였다고 보고(Yun et al., 2014)하였는데, 이는 본 연구에서 나타난 요로병원성 대장균의 type 1 fimbriae 보유율과 비슷하였다. 또한 병원성인자와 가장 밀접한 연관이 있는 것으로 보이는 O-serogroup은 1989년도 분리주의 경우 O4였고, 병원성인자의 보유율은 *hly*A (57.1%)를 제외한 *fim*G/H, *sfa*D/E, *pap*C, *usp*, *cnf*1의 보유율이 100%로 나타났다. 반면, 2010-2014년도 분리주에서는 O6가 병원성인자와 가장 밀접한 연관성이 있는 것으로 확인되었다(*fim*G/H: 100%, *sfa*D/E: 69.8%, *pap*C: 62.8%, *usp*: 60.5%, *cnf*1: 69.8% and *hly*A: 58.1%). *fim*G/H, *pap*C, *cnf*1 및 *sfa*D/E의 보유율은 1989년도 분리주 보다 2010-2014년도 분리주에서 더 높게 나타났는데, 이는 *fim*G/H, *pap*C, *cnf*1 및 *sfa*D/E를 보유하는 O15, O16, O18, O22에 해당하는 O-serogroup이 1989년도에 분리되지 않았던 반면, 2010-2014년도 분리주에서만 분리되었기 때문이라 사료된다.

Clermont 등은 장외 병원성을 나타내는 *E. coli*의 대부분이 계통분류군 B2와 D군에 속한다고 하였다(Clermont et al., 2000). 본 연구의 계통분류군 분석 결과를 살펴보면, 계통분류군 B2에 속하는 경우가 1989년도 분리주 39.8%, 2010-2014년도 분리주 61.6%로 확인되었고, 계통분류군 D에 속하는 경우가 1989년도 분리주 26.8%, 2010-2014년도 분리주 22.8%로 확인되어, B2와 D군의 빈도가 높았으며 특히, 2010-2014년도 분리주에서 B2군에 속하는 비율이 1989년도 분리주 보다 더 높았다. 더욱이, 한 가지 이상의 병원성인자를 보유한 요로병원성 대장균이 B2와 D군에 속하는 비율이 1989년도 분리주에서 62.6%였던 반면, 2010-2014년도 분리주에서 82.8%로 확인되었으며 이는 요로병원성 대장균 58주 중 B2군에 속하는 경우가 46주(79.31%), D군에 속하는 경우가 9주(15.51%)라고 보고한 Lee 등의 연구 결과와 비슷하였다(Lee et al., 2016).

본 연구에서는 1989년도와 2010년도부터 2014년도에 분리된 요로병원성 대장균을 대상으로 O-serogroup과 병원성인자 및 계통분류군의 분포 및 연관성을 종합적으로 분석하였다. 본 연구의 결과를 종합적으로 생각해 보았을 때, 요로병원성 대장균의 O-serogroup과 병원성인자 그리고 계통분류군이 밀접하게 연관이 있는 것으로 나타났으며, 특히 1989년도 분리주의 병원성인자 보유율보다 2010-2014년도 분리주의 *fim*G/H, *pap*C, *sfa*D/E 및 *cnf*1의 보유율이 더 높게 나타났다. 병원성인자와 밀접한 연관이 있는 것으로 확인된 O-serogroup는 O4와 O6였으며, 계통분류군 B2와 D군에 속하는 요로병원성 대장균의 빈도가 높았다. 요로병원성 대장균에 의한 요로감염에 대한 예방의학적 측면에서 적절한 대책을 수립하기 위해 병원성인

자를 높은 빈도로 보유하고 있는 요로병원성 대장균의 O-serogroup에 대한 추적 및 관찰을 위한 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 사료된다. 한편, 본 연구에서는 요로감염 종류에 따른 분석은 시행되지 않았으므로, 요로감염 종류별 요로병원성 대장균의 O-serogroup의 분포, 병원성인자 보유율 및 계통분류군에 관한 연구를 진행한다면 더 나은 결론을 얻을 수 있으리라 생각된다.

ACKNOWLEDGEMENT

"This Work was supported by the Masan University research grant in 2021".

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

REFERENCES

Abe CM, Salvador FA, Falsetti IN, Vieira MA, Blanco J, Blanco JE, Blanco M, Machado AM, Elias WP, Hernandes RT, Gomes TA. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains may carry virulence properties of diarrhoeagenic *E. coli*. FEMS Immunol Med Microbiol. 2008. 52: 397-406.

Adamus-Bialek W, Wojtasik A, Majchrzak M, Sosnowski M, Parniewski P. (CGG)4-Based PCR as a Novel Tool for Discrimination of Uropathogenic *Escherichia coli* strains: Comparison with Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-PCR. J Clin Microbiol. 2009. 47: 3937-3944.

Ananias M, Yano T. Serogroups and virulence genotypes of *Escherichia coli* isolated from patients with sepsis. Braz J Med Biol Res. 2008. 41: 877-883.

Baldy-Chudzik K, Mackiewicz P, Stosik M. Phylogenetic background, virulence gene profiles, and genomic diversity in commensal *Escherichia coli* isolated from ten mammal species living in one zoo. Vet Microbiol. 2008. 18; 131: 173-184.

Bidet P, Mahjoub-Messai F, Blanco J, Blanco J, Dehem M, Aujard Y, Bingen E, Bonacorsi S. Combined multilocus sequence typing and O serogrouping distinguishes *Escherichia coli* subtypes associated with infant urosepsis and/or meningitis. J Infect Dis. 2007. 196: 297-303.

Blanco M, Blanco JE, Alonso MP, Blanco J. Virulence factors and O groups of *Escherichia coli* isolates from patients with acute pyelonephritis, cystitis and asymptomatic bacteriuria. Eur J Epidemiol. 1996. 12: 191-198.

Bukh AS, Schønheyder HC, Emmersen JM, Søgaard M, Bastholm S, Roslev P. *Escherichia coli* phylogenetic groups are associated with site of infection and level of antibiotic resistance in community-acquired bacteraemia: a 10 year population-based study in Denmark. J Antimicrob Chemother. 2009. 64: 163-168.

Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. Appl Environ Microbiol. 2000. 66: 4555-4558.

DebRoy C, Roverts E, Frantamico PM. Detection of O antigens in *Escherichia coli*. Anim Health Res Rev. 2011. 12: 169-185.

Fhin SD. Clinical practice. Acute uncomplicated urinary tract infection in Women. N Engl J Med. 2003. 17; 349: 259-266.

He XL, Wang Q, Peng L, Qu YR, Puthiyakunnon S, Liu XL, Hui CY, Boddu S, Cao H, Huang SH. Role of uropathogenic *Escherichia coli* outer membrane protein T in pathogenesis of urinary tract infection. Pathog Dis. 2015. 73: ftv006.

Johnson JR, Ørskov I, Ørskov F, Goullet P, Picard B, Moseley SL, Roberts PL, Stamm WE. O, K, and H antigens predict virulence factors, carboxylesterase B pattern, antimicrobial resistance, and host compromise among *Escherichia coli* strains causing urosepsis. J Infect Dis. 1994. 169: 119-126.

Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol. 2004. 2: 123-140.

Lee JH, Subhadra b, Son YJ, Kim DH, Park HS, Kim JM, Koo SH, Oh MH, Kim HJ, Choi CH. Phylogenetic group distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from patients with urinary tract infections in South Korea. Lett Appl Microbiol. 2016. 62: 84-90.

Lee WY, Kim JB. Serological studies on the specific antibodies against p-pili of uropathogenic *Escherichia coli*. Korean J Biomed Lab Sci. 1996. 2: 31-40.

Li D, Liu B, Guo D, Guo X, Liu F, Feng L, Wang L. A multiplex PCR method to detect 14 *Escherichia coli* serogroups associated with urinary tract infections. J Microbiol Methods. 2010. 82: 71-77.

Liu B, Knirel YA, Feng L, Perepelov AV, Senchenkova SN, Wang Q, Reeves PR, Wang L. Structure and genetics of Shigella O antigens. 2008. FEMS Microbiol Rev. 2008. 32: 627-653.

Magliano E, Grazioli V, Deflorio L, Leuci AI, Mattina R, Romano P, Cocuzza CE. Gender and age-dependent etiology of community-acquired urinary tract infections. Scientific World Journal. 2012. 2012: 349597.

Momtaz H, Karimian A, Madani M, Safarpoor Dehkordi F, Ranjbar R, Sarshar M, Souod N. Uropathogenic *Escherichia coli* in Iran: serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2013. 29; 12: 8.

Ørskov I, Ørskov F, Brich-Anderson A, Kanamori M, Svanborg-Eden C. O. K. H and fimbrial antigens in *Escherichia coli* serotypes associated with pyelonephritis and cystitis. Scand J Infect Dis. 1982. 33: 18-25.

Smith JL, Fratamico PM, Gunther NW. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. Foodborne Pathog Dis. 2007. 4: 134-163.

Struelens MJ, Denis O, Rodriguez-Villalobos H. Microbiology of nosocomial infections: progress and challenges. Microbes Infect. 2004. 6: 1043-1048.

Totsika M, Moriel DG, Idris A, Rogers BA, Wurpel DJ, Phan MD, Paterson DL, Schembri MA. Uropathogenic *Escherichia coli* mediated urinary tract infection. Curr Drug Targets. 2012. 13: 1386-1399.

Yun KW, Kim HY, Park HK, Kim WY, Lim IS. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* of urinary tract infections and asymptomatic bacteriuria in children. J Mocrobiol Immunol Infect. 2014. 47: 455-461.

https://doi.org/10.15616/BSL.2022.28.2.127

Cite this article as: Park M, Kim SM. Comparison of O-serogroups, Virulence Factors and Phylogenetic Groups of Uropathogenic *Escherichia coli* Isolated from Patients with Urinary Tract Infections between 2 Time Periods of 1989 and 2010-2014 at Gangwon Province in Korea. Biomedical Science Letters. 2022. 28: 127-136.