

요분리 그람음성균의 병원성과 항균제내성

계명대학교 의과대학 비뇨기과학교실, 미생물학교실*

이경섭 · 서성일* · 박종욱* · 서민호* · 이성준

=Abstract=

Pathogenecity and Drug Resistance of Gram Negative Organisms Isolated from Urine

Kyung Seop Lee, Seong Il Suh*, Jong Wook Park*, Min Ho Suh* and Sung Choon Lee

From the Departments of Urology and Microbiology*, Keimyung University, School of Medicine, Taegu, Korea

This study was performed for the assessing the distribution, drug resistance and its transferability, and cell agglutinating ability of *Enterobacteriaceae* isolated from urine of patients with urinary tract infection.

Total 164 strains of *Enterobacteriaceae* includings 91 strains of *E. coli*, 35 strains of *Klebsiella*, 23 strains of *Proteus*, 6 strains of *Serratia*, 6 strains of *Citrobacter*, 3 strains of *Enterobacter* were isolated from urine.

In the cell agglutinating test, most organisms, except *Proteus*, showed mannose resistant agglutination. Among organisms tested more than 20 strains, *E. coli* showed highest frequency of cell agglutination. In the comparison of cell agglutinating characteristics of *E. coli* and *Klebsiella* isolated from urine and other sources urinary isolates of *E. coli* showed higher frequency of agglutination and greater agglutinating potency than isolates from other sources, but *Klebsiella* showed little difference between isolates of urine and other sources.

Urinary isolates usually showed high frequency of resistance to penicillin(90%), ampicillin(89%), sulfamethoxazole(69%), tetracycline(66%), chloramphenicol(53%), but showed low frequency of resistance to moxalactam(1%), amikacin(2%), and nalidixic acid(9%), and these resistances were highly transferable resistance mediated by R plasmid.

Key Words: Mannose-resistant agglutination, R-plasmid.

서 론

장내세균중 *E. coli*를 비롯한 기회감염균들은 요로감염을 자주 일으킨다¹⁾. 장내세균이 상행성 요로감염을 일으키려면 우선 균이 요로에 침입한 후 숙주의 해부 생리적 방어기전 즉 요의 흐름이나 점액분비에 의한 세척작용에 견디고 요로상피세포에 부착해야 하는데 이것을 담당하는 것이 균표면에 있는 pili이다. Pili는 요로상피세포는 물론 적혈구나 yeast cell에도 부착하여 응집시킬 수 있으며 이러한 응집능은

mannose에 의해 억제되는 mannose감수 응집(mannose-sensitive agglutination)상과 억제되지 않는 mannose내성 응집(mannose-resistant agglutination)상으로 분류되고 있다^{2,3)}. 여러 pili중에서 요로상피세포 부착에 중요한 역할을 하는 mannose내성 응집상을 보이는 P pili로 알려져 있으나^{4,5)}, Iwahashi 등⁶⁾은 mannose감수성 응집상을 나타내는 십모, 즉 type I pili가 상행성 요로감염중에 중요한 역할을 하는 것으로 보고하고 있으며, 또 Hultgren 등⁷⁾은 이 pili의 phase variation이 이 균의 감염지속여부에 관여하고 있다고 보고하는 등 pili의 역할에 대한 관심이 높아져 왔다. 또 이들 장내세균들은 염

색체의 돌연변이나 R plasmid에 의해 여러약제에 내성을 보이는데, R plasmid에 의한 경우가 더 많으며⁹, 또 이것은 균집합 등에 의해 다른 세균에 전달됨으로써 감수성균을 내성균으로 전환시키기도 한다^{9,10}. 그리므로 적절한 치료와 내성균의 출현을 방지하기 위해서는 정확한 항균제감수성 검사가 필요하나 실제 임상에서는 이러한 여전이 구비되지 않는 경우가 많다. 따라서 요로감염 원인균의 분리 및 동정으로 그 분포를 파악하고 감염시작에 관여하는 pili의 속성을 이해하며, 또 원인균의 약제내성양상과 약제내성전달성에 대한 자료를 분석해두는 것이 장내세균에 의한 요로감염의 병인론을 이해하고 이들에 대한 치료대책을 세우는데 중요할 것으로 생각된다.

이에 저자는 요로감염환자의 요에서 분리된 각종 장내세균의 분포와 이들이 가진 섬모종류와 보유율 및 섬모의 세포용집능을 조사하고, 이들의 약제내성양상과 약제내성전달성을 검사하여 그 성적을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

균 주

1988년 동산의료원 임상검사실에 의뢰된 환자의 요에서 10^5 /CFU/ml 이상의 집락을 형성한 균을 대상으로 실험하였다. 각 균은 MacConkey agar에서 순수 분리배양한 후 Oxidation Fermentation medium에 접종하여 포도당을 발효시킨을 확인하고 KIA agar에서 유당발효와 gas 및 H_2S 생산유무를 관찰하고 각종 생화학검사와 운동성검사를 하여 그 결과를 Edwards 및 Ewing¹¹과 Lennett 등¹²의 기준에 근거하여 균종을 결정하였다. 일부 *E. coli*와 *Klebsiella*는 요이외의 곶, 즉 농, 복수, 흉막수, 객담, 창상, 귀, 자궁경부, 기관지, 인후 등에서 분리동정한 것으로 요분리균들과 세포용집양상, 용집빈도 및 용집능을 비교하는데 이용하였다.

세포용집검사

Guinea pig, chicken, sheep, human, ICR mouse에서 채혈한 혈액을 동량의 alserver solution과 혼합하여, 4°C에서 냉동보관하면서 30일이내에 사용하였다. 각 혈액을 phosphate buffered saline(PBS)로 3회 세척한 후 최종적으로 PBS에 2%(V/V)농도로 적혈구를 부유시켰으며 *Candida albicans*는 PBS에 2×10^7 CFU/

ml농도로 부유시킨 후 용집검사에 사용하였다. 각균은 10ml brain heart infusion broth에 접종하여 48시간동안 배양하였다. 균배양액을 원심분리하여 균체만 모아 PBS에 약 2.4×10^9 CFU/ml(McFarland tube no. 8)되도록 부유시킨 후 PBS에 2배순차배열로 회석하였다. Mannose내성 용집성을 관찰하기 위해서 균을 1.5% D-mannose가 함유된 PBS에 놓일한 농도로 부유 회석시켰다. 각 적혈구와 균회석액을 동량씩 취하여 slide glass에 적하고 실온에서 microshaker(Dynatech Co.)로 5분간 혼합한 후 용집유무를 관찰하였다. 용집가는 용집을 야기시킨 최대 회석배수의 역수로 나타내었으며, 용집자가 8이상으로 나타나는 균을 강한 용집력을 가진것으로 관찰하였다⁶.

항균제

Chloramphenicol(Cm), tetracyclin(Tc), streptomycin(Sm), sulfamethoxazole(Sz), nalidixic acid(Na), ampicillin(Ap), kanamycin(Km), gentamicin(Gm), amikacin(Ak), cephelothin(Ct), cefamandole(Cf), moxalactam(Mx), trimethoprim(Tp), rifampin(Rf), penicillin(Pc)으로 도합 15종의 항균제를 사용하였다. 각 항균제를 적당한 용매로 녹인후 소분하여 -70°C에 내동보관하면서 필요시 1개씩 녹여 사용하였다.

항균제감수성검사

항균제감수성검사는 회석법¹³으로 하였다. 항균제를 적당한 농도로 멸균된 중류수에 용해시킨 후 2배순차배열로 회석하고 멸균된 Mueller-Hinton agar(WHA, 50°C)와 혼합하여 약제배지를 만들었다. 이 배지는 4°C에 보관하였으며 제조후 1주일이내에 사용하였다. Trypticase soy broth(TSB)에 1주동안 배양한 균액을 멸균된 식염수로 100배 회석하여 Steers multiple inoculator를¹⁴ 이용하여 항균제농도가 낮은 약제배지부터 접종하였으며, 접종후 37°C에서 18-24시간 배양하여 접종부위의 균발육 유무를 보아 항균제의 최소 발육억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 결정하였다. 내성균의 판정은 NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standards)의 기준을 따랐으며, 결과의 정도관리를 위해 *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27893을 함께 사용하였다.

내성전달시험

내성의 피전달균으로 *E. coli*종 각 항균제에는 감수성이나 염색체 기원의 Na에 내성인 ML 1410이나 Rf에 내성인 RG 488을 사용하였다. 공시균과 피전달균 각각을 4ml TSB에 접종하고 37°C 수조에서 3~4시간 전탕배양한 후 공시균과 피전달균을 1:4로 혼합하여 18시간 배양하였다. 이 혼합배양액을 선택배지에 도말 배양한 다음에 나타난 접락을 MacConkey agar에 순배양후 피전달균의 전달된 내성을 확인하였다. 선택배지는 MHA에 각 공시균의 내성약제와 피전달균이 내성인 Na 또는 Rf를 50µg/ml 되게 첨가하여 내성을 전달받은 피전달균만이 발육할 수 있게 하였으며, 매번 실험에서 공시균과 피전달균은 선택배지에서 자랄수 없음을 확인하였다.

결 과

요에서 분리된 장내세균의 분포를 표1에 정리하였다. 총 164주가 분리되었으며, 이 중 *E. coli*(91주, 55.5%)가 가장 많았고 그 다음에 *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*

Table 1. Isolation Frequency of *Enterobacteriaceae* from Urine

Organism	No. (%) of Strains
<i>E. coli</i>	91(55.5)
<i>Klebsiella</i>	35(20.7)
<i>Proteus</i>	23(14.0)
<i>Serratia</i>	6(3.7)
<i>Citrobacter</i>	6(3.7)
<i>Enterobacter</i>	3(1.8)
Total	164(100)

Table 2. Comparison of Cell Agglutinating Frequency of *Enterobacteriaceae* from Urine

Organism	No. of Strains Tested	Percent of Cell Agglutinating Strains(% of MRA strain)					
		GRBC	CRBC	SRBC	HRBC	MRBC	Candida
<i>E. coli</i>	91	73.6(14.3)*	76.9(15.4)	5.5(2.2)	67.0(18.7)	57.1(12.1)	74.7(5.5)
<i>Klebsiella</i>	35	57.1(22.9)	62.9(22.0)	0(0)	17.1(5.7)	22.9(0)	54.3(0)
<i>Proteus</i>	23	4.3(4.3)	65.2(65.2)	0(0)	4.3(4.3)	4.3(4.3)	17.4(17.4)
<i>Serratia</i>	6	100(0)	83.3(33.3)	0(0)	33.3(0)	50.0(0)	33.3(0)
<i>Citrobacter</i>	6	33.3(0)	33.3(0)	0(0)	0(0)	0(0)	66.7(0)
<i>Enterobacter</i>	3	100(0)	100(0)	0(0)	33.3(0)	33.3(0)	100(0)

*% of agglutinating (% of mannose-resistant agglutinating) strains.

순으로 분리되었다. *Klebsiella*는 35주중 26주가 *K. pneumoniae*였으며 나머지 9주는 *K. oxytoca*였다. *Proteus*는 *P. mirabilis*가 15주, *P. vulgaris*가 8주 분리되었으며, *Serratia*와 *Citrobacter*는 모두 *S. marcescens*와 *C. freundii*였다. *Enterobacter*는 3주중 2주가 *E. cloacae*였고 나머지 1주는 *E. aerogenes*였다.

상행성 요로감염증의 병인론을 이해하는 한방법으로, 요에서 분리된 장내세균의 세포용접 양상과 세포용접빈도를 관찰하여 이들의 섬모보유율을 파악하고자 각종적혈구와 *Candida albicans*에 대한 용접실험을 하였다(표2). 공시세포증 면양적혈구는 섬모에 의해 용접되는 경우가 매우 적어 이 혈구는 세균의 섬모를 확인하는 도구로는 부적합한 것으로 나타났다. 용접양상을 볼때 *Proteus*를 제외한 나머지 균주들은 모두 mannose감수성 용접상을 많이 보여 대다수 장내세균은 type I pili, 즉 mannose감수성 용접상을 보이는 섬모를 많이 가지는 것으로 나타났다. 공시균종중 *Serratia*와 *Enterobacter*의 용접빈도가 매우 높게 나타났으며 *Citrobacter*와 *Enterobacter*의 경우 모두 mannose감수성 용접상을 보였으나 이들의 공시균수가 너무 적어 큰 의미를 두기는 어려우며, 20주이상 실험한 경우를 보면 *E. Coli*의 용접빈도가 가장 높았고 그 다음이 *Klebsiella*, *Proteus* 순이었다.

*Proteus*의 경우 CRBC와 *Candida*를 제외한 나머지 세포들은 거의 용접시키지 못했으며, CRBC에 대한 용접빈도는 65.3%, *C. albicans*에 대한 용접빈도는 17.4%로 나타났고 용접양상에서도 특이하게 모두 mannose내성 용접상을 보였다.

제 3표에서는 상행성 요로감염증에서 섬모의 중요성을 평가하는 한 방법으로 요에서 분리된 것과 기타검체에서 분리된 대상균을 대상으로

세포용접실험을 하여 이 두군의 세포용접력과 세포용접빈도를 비교하였다. 우선 두군은 모두 mannose내성 용접성보다 mannose감수성 용접상을 많이 보여 type I pili를 더 많이 가지고 있었으며 면양적혈구 역시 거의 용접시키지 못하는 것으로 나타났다. 요분리균과 기타검체분리균의 세포용접빈도를 비교해 볼 때, 요분리균의 GRBC용접률이 73.6%, CRBC용접률이 76.9%, Candida용접률이 74.7%였으나, 기타검체분리균의 용접률은 각기 55.4%, 55.4% 66.1%였으며 MRBC는 33.9%만 용접시켰고 SRBC는 전혀 못해 요분리균의 세포용접빈도가 높은것으로 나타났다($p<0.01$). 용접가가 8이상인 용접력이 강한 군과 8미만인 용접력이 약한 군의 빈도를 비교한 결과, 요분리 *E. coli*가 기타검체

분리 *E. coli*보다 용접가가 8이상으로 나타난 경우가 상대적으로 많아 요분리균의 세포용접력이 높음을 알 수 있었다.

*Klebsiella*의 세포용접양상과 용접빈도 및 용접력을 표 4에 나타내었다. *Klebsiella*도 여러 공시세포를 다양하게 용접시키나 SRBC는 용접시키지 않는 것으로 나타났다. 용접양상을 볼 때 HRBC, MRBC, *Candida*에 mannose감수성 용접상을 보이는 경우가 대다수이나 GRBC나 CRBC에는 mannose감수성 및 내성 용접상이 다양하게 나타났다. 요분리 *Klebsiella*와 기타검체분리 *Klebsiella*의 혈구 용접빈도를 비교해 본 결과, 요분리균의 GRBC, CRBC *Candida*용접률이 각기 57.1%, 62.9%, 54.3%인데 비해 기타검체분리균은 각기 52.2%, 60.9%, 52.2%로 다

Table 3. Cell Agglutinating Frequency of *E. coli* Isolated from Urine(91 Strains) and Other Source (56 Strains)

Source	Degree of Agglutination	No. (%) of Agglutinating Strain					
		GRBC	CRBC	SRBC	HRBC	MRBC	Candida
Urine	MS*	29(31.8)	32(35.2)	0(0)	16(17.6)	13(14.3)	41(45.1)
	ms	25(27.5)	24(26.4)	3(3.3)	28(30.8)	28(30.8)	22(24.2)
	MR	6(6.6)	6(6.6)	1(1.1)	7(6.6)	4(4.4)	1(1.1)
	mr	7(7.7)	8(8.8)	1(1.1)	10(11.0)	7(7.7)	4(4.4)
Others**	Total	67(73.6)	70(76.9)	5(5.5)	61(67.0)	52(57.1)	68(74.7)
	MS	4(7.1)	13(23.2)	0(0)	2(3.6)	3(5.4)	24(42.9)
	ms	24(42.9)	14(25.0)	0(0)	18(32.1)	16(28.6)	13(23.2)
	MR	0(0)	0(0)	0(0)	1(1.8)	0(0)	0(0)
	mr	3(5.4)	4(7.1)	0(0)	2(3.6)	0(0)	0(0)
	Total	31(55.4)	31(55.4)	0(0)	33(58.9)	19(33.9)	37(66.1)

*Ms and ms, mannose-sensitive agglutination with high(>8) and low(<8) titer, respectively; MR and mr, mannose-resistant agglutination with High(>8) and low(<8) titer, respectively.

**Others:pus, wound, ascitic fluid, pleural fluid, throat, ear, cervix, bronchus, sputum, umbilicus, etc.

Table 4. Cell Agglutinating Frequency of *Klebsiella* Isolated from Urine(35 Strains) and Other Source (23 Strains)

Source	Degree of Agglutination	No. (%) of Agglutinating Strain					
		GRBC	CRBC	SRBC	HRBC	MRBC	Candida
Urine	MS*	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(2.9)
	ms	12(34.3)	10(28.6)	0(0)	8(11.4)	8(22.9)	18(51.4)
	MR	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	mr	8(22.9)	0(0)	0(0)	2(5.7)	0(0)	0(0)
Others	Total	20(56.1)	22(62.9)	0(0)	6(17.1)	8(22.9)	19(54.3)
	MS	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	ms	4(17.4)	5(21.7)	0(0)	4(17.4)	4(17.4)	12(52.2)
	MR	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	mr	8(34.8)	9(39.1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	Total	12(52.2)	14(60.9)	0(0)	4(17.4)	4(17.4)	12(52.2)

*Abbreviation, see table 3.

Table 5. Drug Resistance of *Enterobacteriaceae* Isolated from Urine

Organism	No. of Strains Tested	No. of Strains Resistant to														
		Cm	Tc	Sm	Sz	Na	Ap	Km	Gm	Ak	Ct	Cf	Mx	Tp	Rf	Pc
<i>E. coli</i>	91	52	65	60	69	5	77	51	32	0	28	12	0	45	4	83
<i>Klebsiella</i>	35	10	8	13	16	1	28	9	12	0	12	9	0	6	11	34
<i>Proteus</i>	23	15	23	16	15	3	17	11	4	0	10	9	0	15	0	16
<i>Serratia</i>	6	6	6	5	5	4	6	4	5	2	6	5	0	3	6	6
<i>Citrobacter</i>	6	2	4	3	5	1	5	4	5	1	6	3	0	2	5	6
<i>Enterobacter</i>	3	2	2	3	3	0	3	2	1	1	2	2	1	2	0	3
Total (%)	164 (53)	87 (66)	108 (61)	100 (69)	113 (9)	14 (89)	146 (49)	81 (36)	59 (2)	4 (39)	64 (24)	40 (1)	1 (45)	73 (16)	26 (1)	148 (90)

Table 6. Frequency of Conjugated Transfer of Drug Resistance of *Enterobacteriaceae*

Organism	Host Strain	No. of Strains Tested	No.(%) of Transferable Strain
<i>E. Coli</i>	ML 1410	41	29(70.7)
	RG 488	73	50(68.5)
<i>Klebsiella</i>	ML 1410	14	11(78.6)
	RG 488	19	7(36.8)
<i>Proteus</i>	ML 1410	18	10(55.6)
	RG 488	3	0(0)
<i>Citrobacter</i>	ML 1410	3	3(100)
	RG 488	1	1(100)
<i>Serratia</i>	ML 1410	2	2(100)
<i>Enterobacter</i>	RG 488	2	2(100)

소 낮으나 큰 차이가 없었다($p>0.05$). 혈구응집능 비교에서도 두군의 균주가 대개 8미만의 낮은 응집률을 나타냈다.

노분리 장내세균을 대상으로 항균제감수성검사를 하여 각균에 대한 약제의 최소 밀육저지농도(MIC)를 구하고 그 값을 NCCLS의 기준에 따라 내성을 여부를 판정하여 그 결과를 표 5에 나타내었다. *E. coli*는 Pc에 공시균중 83주(91.2%)가 내성을 보였으며 그 다음이 Ap(77주) Sz(69주), Tc(65주), Sm(60주)순으로 높은 내성을 보였다. 항균효과가 좋은 약제로는 Ak와 3세대 cephalosporine인 Mx로 공시균 모두 감수성을 보였으며 Rf와 Na도 좋은 항균효과를 보였다. *Klebsiella*역시 대다수균(34주, 97.1%)이 Pc에 내성을 보였고 Ap와 Sz에도 상당수균이 내성을 보였으나, Ak와 Mx에는 공시균 모두 감수성을 보였으며 Na에는 1주만 내성을 보였다. *Proteus*는 Tc에 모두 내성을 보였고 그 외 Ap, PC, Sm, Sz, Cm, Tc에도 내성을 보이는

경우가 많았으며, Ak Mx, Rf에는 공시균 모두 감수성이었고 Na에도 높은 감수성을 보였다. *Serratia*는 대다수 약제에 내성을 보여 Cm, Tc, Ap, Ct, Rf, Pc에는 공시균 모두(6주)가, Sm, Sz, Gm, Cf에는 5주가, Na, Km, Tp에는 3내지 4주가 내성이었다. 항균 효과가 좋은 약제로는 Mx뿐으로 이 약제에는 공시균 모두 감수성이었다. *Citrobacter*는 Pc, Ct, Rf, Gm, Ap, Sz, Tc에 내성을 많이 보였으며, Mx, Na, Ak에는 1주이하만이 내성을 보였다. *Enterobacter*는 공시균 모두 Pc, Ap, Sz에는 내성을 Na, Rf에는 감수성을 보였다.

균종간 다소 차이는 있으나 요분리 장내세균 전체의 전반적인 감수성양상을 보면 PC, Ap에 균의 90%, 89%가 내성을 보였으며 Sz, Tc, Sm, Cm에도 상당수 균들이 내성을 나타냈다. 항균효과가 가장 좋은 약제로는 Mx와 Ak로 각기 공시균중 1주와 4주만이 내성을 보였고 그외 Na, Rf도 항균효과가 좋은 약제로 나타났다.

이들 약제내성균들의 내성원인이 전달성 R plasmid때문인가를 알아 보기 위하여 세균접합법으로 이들을 Na 내성인 ML 1410이나 RG 488에 접합시켜 내성전달성여부를 확인한 결과 이들은 상당수가 전달성 R plasmid를 가지고 있는 것으로 나타났다(표 6).

숙주균균주에 따라 다소 차이는 있으나 *E. coli*는 41주중 29주(70.7%)가 ML 1410에 내성을 전달시켰으며, *Klebsiella*는 11주(78.6%), *Proteus*는 10주(55.6%)가 내성을 전달시켰다. *Citrobacter*, *Serratia*, *Enterobacter*도 비록 실험균수는 적으나 모두 내성을 전달시키는 것으로 나타났다. RG 488보다는 ML 1410이 내성을 잘 전달받는 숙주균주로 보인다.

고 찰

요로감염의 주원인은 장내세균으로 알려져 있다. 이중 *E. coli*가 가장 많은 부분을 차지하나¹⁾ 요에서 분리된 각 장내세균의 빈도는 항상 일정한 것이 아니며 특히 항생제 사용양상에 따라 균분리 빈도가 현저히 변화된 경우도 있다¹⁵⁾. 우리나라의 요분리 장내세균 빈도에 대한 보고를 보면 정동¹⁶⁾, 유동¹⁷⁾, 최동¹⁸⁾은 각기 *E. coli*가 분리균의 42.5%, 49.3%, 40.5%를 차지하는 것으로 나타났으며 본 실험에서는 55.5%로 이들 보고에 비해 다소 높으나 이들 보고에는 요에서 분리된 *Pseudomonas aeruginosa*가 포함되어 있음을 고려할 때 큰차이는 없는 것으로 보이며, 기타 장내세균의 분리빈도도 대체로 일치하는 것으로 사료된다.

장내세균에 의한 요로감염증 연구에서 특별히 섬모에 대한 보고가 많은데 이것은 다른 장기와 달리 요로자체의 해부생리학적 특성때문에 감염시 우선 균이 요로상피에 잘 정착해야 하기 때문이다. 많은 수의 섬모를 가진 요로상피에 잘 부착하는 균이 반드시 질병을 일으키는 것은 아니다. 균이 섬모를 가짐으로써 요로감염을 일으킬 빈도가 높아 진다는 보고는 많이 있다^{19,20)}. 저자의 실험에서도 *E. coli*의 경우 요분리균의 세포옹집능과 옹집빈도가 기타검체분리균에 비해 현저히 높게 나타났으며 ($p < 0.01$), 이것은 *E. coli*의 경우는 요분리균주의 세포옹집빈도가 기타검체분리균주에 비해 다소 높게 나타났으나 유의한 차이는 보이지 않았다 ($p > 0.05$). *Klebsiella*의 가장 중요한 병원성 결정인자가 혼막입을 감안할 때 상대적으로 pili의 역할이 덜 중요한 것으로 생각되나, Hultgren 등의 균의 감염지속여부는 pili의 phase variation에 따라 결정될 수 있다는 보고²¹⁾를 참작할 때 균을 분리동정하여 한천배지에 보관해오는 중에 균종간에 phase variation이 균의 감염능에 미치는 영향 등을 조사함으로써 흥미있는 결과를 얻을 수 있을 것 같다.

pili는 균집합에 관계하는 sex pili와 세포부착에 관계하는 pili가 있으며 부착에 관계하는 것은 그 부착성이 mannose에 의해 저지되는가 여부에 따라 mannose감수성 또는 mannose내성으로 나누어진다^{2,3)}. 본 실험에서도 크게 mannose감수성 옹집상 또는 mannose내성 옹집상을 나타내는 균주로 대별되었으나, 어떤 균주는 두

옹집상을 동시에 나타낸 경우도 있어 이는 한 균주에 두종 이상의 섬모가 있을 수 있음을 암시한다. 이런 섬모종에서도 어느것이 균의 요로상피세포 부착에 관여하는가에 대한 논란이 많다. Kallen's 등⁴⁾과 Korhnene 등⁵⁾은 mannose내성 옹집상을 보이는 *P. pilis*가 균의 요로상피부착능을 부여하는 것으로 보고하였으나, Iwahi 등⁶⁾은 mannose감수성 옹집상을 보이는 type I pili가 상행성 요로감염에 중요한 역할을 하는 것으로 보고하고 있고, Schaeffer 등²¹⁾은 *P. adhesin*만을 가진 균보다 type I pili를 가진 균이 더 중요한 역할을 하는 것으로 보고하였다. 본 실험의 결과에서 볼 때 *Proteus*를 제외한 대다수 균종에서 mannose내성 옹집상 보다는 감수성 옹집상을 보이는 경우가 많았으며 비록 공시균주수는 적으나 *Citrobacter*와 *Enterobacter*의 경우 mannose내성 옹집상을 보이는 섬모가 전혀 없으며 *Proteus*의 경우에도 두 종의 섬모를 동시에 가지고 있을 수 고려할 때, 균종에 따라 다소 차이는 있으나 type I pili가 요로감염에 더 중요한 역할을 할 것으로 생각되며, 이는 향후 생체내 또는 생체외에서 균의 요로상피세포 부착능을 직접 관찰함으로서 장내세균의 상행성 요로감염증에 있어서 이 섬모의 역할을 더 명확히 알 수 있을 것으로 사료된다.

섬모가 여러 type이 있는 것처럼 속주세포도 여러 가지 섬모수용기가 있는 것으로 보고되고 있다. Davis 등²²⁾은 rat의 요로방광상피세포의 mannose감수성 옹집상을 보이는 섬모수용기는 periodate와 lipase에 감수성인 glycolipid로 구성되어 있으며 Kallenius 등²³⁾은 사람적혈구와 요로상피세포의 mannose내성 옹집상을 나타내는 섬모에 대한 수용기는 감수성 옹집상을 보이는 섬모에 대한 수용기는 다른 특이한 glycolipid, 즉 globoseries라고 보고하였다. 본 실험에서 대다수 적혈구와 *C. albicans*는 섬모에 의해 옹집될 수 있었으나 면양적혈구만은 옹집되는 경우가 매우 낮았는데 이것은 이 혈구 표면에 특별히 이러한 pili 수용기가 결핍되어 있는 것으로 사료되며, Iwahi 등의 성적에서도 이와 유사한 결과를 찾아볼 수 있었다.

장내세균의 항균제 내성상의 변화를 보면 많이 사용된 약제일수록 내성균이 많으며 사용이 적었거나 최근에 개발된 것에 대해서는 내성균이 적은 것으로 알려져 있는데, 본 실험에서도 많이 쓰인 Pe, Ap, Sz, Tc, Sm, Cm 등에 대해서

는 내성을 갖는 균이 많음을 볼 수 있었으며 또 cephalosporin계의 약제는 나중에 개발된 것일 수록 내성빈도가 낮음을 알 수 있었다(표 5). 최등¹⁸⁾은 1984년에 보고된 성적들과 비교했을 때 특별히 내성빈도가 변화된 경우를 보면, 내성빈도가 현저히 저하된 경우는 없었으며 Cf와 Gm의 경우 *Pseudomonas aeruginosa*를 제외한 나머지 장내세균의 내성빈도가 최등 이 각각 2%, 18%인데 비해 본 실험에서는 24%, 36%로 매우 증가되었으며, Tp와 Rf 경우도 상당히 증가된 것으로 나타나 약제사용이 빈번해지고 사용기간이 길어짐에 따라 내성균의 출현빈도도 높아짐을 알 수 있었다. 내성빈도를 균종별로 볼 때 내성을 가장 많이 가지는 것은 *Serratia*였다. 이균은 과거에는 비병원성균으로 알려졌으나, 현재는 항균제선택작용으로 인해 다른 기회감염균들 보다 더 효과적으로 살아남게 되어 중요한 원내감염원인균이 되었으며^{24, 25)}, 또 이균의 다약제내성상²⁶⁾ 때문에 많은 관심의 대상이 되고 있다. 본 실험에서도 6주가 분리되었는데 이를 모두가 인간의 질병과 밀접한 연관이 있는 *S. marcescens*였으며²⁷⁾, 이들의 내성빈도도 공시균종중 가장높아 Cm, Tc, Ap, Ct, Rf, P_c에는 모두가 내성을 보였으며 Mx를 제외한 나머지 약제에 대해서도 공시균의 절반이상이 내성을 가지는 것으로 나타났다.

내성을 가지는 그람음성균인 경우 그 내성기전이 전달성 R plasmid인 것과 비전달성 R plasmid인 것, 또는 염색체돌연변이 기원이 내성등이 있는데²⁸⁾ 이중 항생제남용과 더불어 약제내성화산의 주원인이 되는 것은 전달성 R plasmid이다. Misuhashi²⁹⁾는 1969년 *E. coli*의 48%, *Klebsiella*의 42.8%, *Proteus*의 11%가 약제내성을 전달하였다고 보고하였으며, 최등¹⁸⁾은 1984년에 *E. coli*의 48%, *Klebsiella*의 57%, *Proteus*의 25%가 약제내성을 전달시켰다고 보고하였으나 본 실험에서는 *E. coli*의 경우 ML 1410에 70.7%, RG 488에 68.5%, *Klebsiella*의 경우 ML 1410에 78.6%, GR 488에 36.8%, *Proteus*의 경우 ML 1410에 55.6%로 이를 보고에 비해 상당히 높은 내성전달성을 나타내고 있다(표 6). 이는 전달성 R plasmid가 항균제내성획득 기전연구 및 확산의 지표가 될 것을 생각할 때 요로감염증환자의 치료에 있어서 원인균의 정확한 분리동정과 더불어 적절한 항균제를 선택하여 치료하는 것이 매우 중요하다고 하겠다.

저자는 본 실험의 결과에서 요분리 장내세균

은 대개 mannose감수성 응집상을 보이는 type I pili를 많이 가지고 있으며, 대장균의 경우 요에서 분리된 균이 기타 겹체분리균에 비해 세포응집력과 세포응집빈도가 높음을 볼 때 최소한 type I pili가 장내세균의 상행성 요로감염증에 더 중요한 역할을 할 것으로 사료되며, 이 균들의 약제내성상이 과거에 비해 증가하고 있고 또 그 내성이 점차 전달성이 되어감을 보아 치료시 항균제 선택에 있어서 이러한 점들을 고려하여 신중을 기해야 할 것으로 사료된다.

결 롬

요로감염증의 주원인이 되는 장내세균의 병인론을 이해하고 이들의 약제내성상과 내성전달성 여부를 파악하여 그 치료대책을 마련하고자, 세균뇨에서 분리한 각종 장내세균을 대상으로 세포응집실험, 항균제감수성검사 및 내성전달성실험을 하였으며, 이들의 세포응집성을 요 이외의 겹체에서 분리한균과 비교하였다.

총 164주가 분리되었으며 이중 *E. coli*가 91주, *Klebsiella*가 35주, *Proteus*가 23주, *Serratia*가 6주, *Citrobacter*가 6주, *Enterobacter*가 3주였다.

장내세균에 의한 상행성 요로감염증의 병인론을 이해하는 한 방법으로 세포응집실험을 통하여 이들의 세포응집력과 세포응집빈도를 관찰하였는 바, 대개 면양적혈구를 제외한 모든 공시세포를 응집시킬 수 있었으며, 20주 이상 실험한 균종중에서 *E. coli*가 가장 높은 세포응집빈도를 보였다.

응집양상을 볼 때 *Proteus*이외에는 mannose내성 응집상 보다 mannose감수성 응집상을 많이 보여 type I pili를 가진균이 더 많음을 알 수 있었다. 요에서 분리된 균과 기타겹체에서 분리된 균의 세포응집성을 비교한 결과, *Klebsiella*의 경우 균 차이는 보이지 않았으나 *E. coli*는 요분리균이 기타겹체분리균에 비해 세포응집력 및 응집빈도가 매우 높게 나타났다.

장내세균의 약제감수성과 내성전달성을 실험한 결과에서, 높은 내성을 보이는 약제는 penicillin, ampicillin, sulfamethoxazole, tetracycline, chloramphenicol 등으로 각기 공시균의 90%, 89%, 69%, 66%, 53%가 내성을 보였으며, 감수성이 좋은 약제로는 moxalactam, amikacin, nalidixic acid 등으로 각기 공시균의 1%, 2%, 9%만 내성을 보였다. 약제내성균 중 *E. coli*는 70.

7%, *Klebsiella*는 78.6%, *Proteus*는 55.6%가 ML 1410에 내성을 전달시키는 등 내성균의 내성전달빈도가 매우 높게 나타났다.

이상의 결과를 종합할 때, 대장균등의 장내세균이 요로감염증을 유발할 때 type I pili가 매우 중요한 역할을 할 것으로 사료되며, 이들의 약제내성상과 내성전달성이 과거에 비해 증가되어 가고 있음을 보아 이에 대한 대책이 시급할 것으로 사료된다.

REFERENCES

- 1) Joklik, W.K., Willett, H.P., Amos, D.B. and Wilfert, C.M.: *Zinsser microbiology*, 19th ed. Connecticut, Appleton and Lange. pp. 464-472, 1988.
- 2) Duguid, J.P. and Old, D.C.: *Bacterial adherence*. London, Chapman and Hall. pp. 185-217, 1980.
- 3) Ofek, I. and Beachey, E.H.: *Bacterial adherence*. *Adv. Intern. Med.*, 25: 503-532, 1980.
- 4) Kallenius, G., Mollby, R., Svensson, S.B., Hellin, I., Hultberg, H., Cetlergen, B. and Winberg, J.: *Occurrence of P-Fimbriated Escherichia coli in urinary tract infection*. *Lancet*, 2: 1369-1372, 1981.
- 5) Korhnen, T.K., Vaisanen, V., Saxen, H., Hultberg, H. and Svensson, S.B.: *P-antigen recognizing coli strains*. *Infect. Immun.*, 37: 286-291, 1982.
- 6) Iwahashi, T., Abe, Y., Nakao, M., Imada, A. and Tsuchiya, K.: *Role of type 1 fimbriae in the pathogenesis of ascending urinary tract infection induced by Escherichia coli in mice*. *Infect. Immun.*, 39: 1307-1315, 1983.
- 7) Hultgren, S.J., Porter, J.N., Schaeffer, A.J. and Duncan, J.L.: *Role of type 1 pili and effects of phase variation on lower urinary tract infections produced by Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 50: 370-377, 1985.
- 8) Levy, S.B., Colwes, R.C. and Koenig, E.L.: *Molecular biology, pathogenicity, and ecology of bacterial plasmids*. New York, Plenum Press. pp. 1-10, 1981.
- 9) Lorian, V.: *Antibiotics in laboratory medicine*. 2nd ed. Baltimore, Williams and Wilkins. pp. 684-688, 1986.
- 10) Hardy, K.: *Bacterial plasmid*. Nairobi, Thomas Nelson and Sons LTD, pp. 50-52, 1981.
- 11) Edward, P.R. and Ewing, W.H.: *Identification of Enterobacteriaceae*. 4th ed. New York, Elsevier Science Publishing Co., pp. 1-530, 1986.
- 12) Lennette, E.H., Balows, A., Hausler, W.J. Jr. and Shadomy, H.J.: *Manual of clinical microbiology*, 4th ed. Washington DC, Amer. Soc. Microbiol., pp. 263-277, 1985.
- 13) Lennette, E.H., Balows, A., Hausler, W.J. Jr. and Shadomy, H.J.: *Manual of clinical microbiology*. 4th ed. Washington DC, Amer. Soc. Microbiol., pp. 967-971, 1985.
- 14) Steers, E., Flotz, E.L. and Graves, B.S.: *Inocular replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics*. *Antibiot. Chemother.*, 9: 307-311, 1959.
- 15) Bush, IM., Orkin, L.A. and Winter, J.: *An eleven year study of urinary bacterial cultures in a total in-patient hospital population*. *J. Urol.*, 94: 168-171, 1965.
- 16) 정문기, 윤종병: 요로감염에 대한 세균학적 관찰. *대한비뇨회지*, 23: 739-744, 1982.
- 17) 유성식, 박노경: 뇌로감염: 뇌의 정량배양 및 감수성검사성적. *대한비뇨회지*, 22: 558-563, 1981.
- 18) 최경진, 이유철, 서민호, 조동백: 뇌에서 분리된 Gram음성균의 분포 및 항균제내성. *대한화학요법회지*, 2: 124-133, 1984.
- 19) Kallenius, G., Mollby, R. and Winberg, J.: *In vitro adhesion of uropathogenic Escherichia coli to human periurethral cells*. *Infect. Immun.*, 28: 972-980, 1980.
- 20) Schaeffer, A.J., Amundsen, S.K. and Schmidt, L.N.: *Adherence of Escherichia coli to human urinary tract epithelial cells*. *Infect. Immun.*, 24: 753-759, 1979.
- 21) Schaeffer, A.J., Schwan, W.R., Hultgren, S.J. and Duncan, J.L.: *Relationship of type 1 pilus expression in Escherichia coli to ascending urinary tract infections in mice*. *Infect. Immun.*, 55: 373-380, 1987.
- 22) Davis, C.P., Avots-Avetis, A.E. and Fader, R.C.: *Evidence for a bladder cell glycolipid receptor for Escherichia coli and the effect of neuraminic acid and colominic acid on ad-*

- herence. *Infect. Immun.*, 34: 944-948, 1981.
- 23) Kallenius, G., Mollby, R., Svenson, S.B., Winberg, J., Lundblad, A., Svensson, S. and Cedergren, B.: *The P antigen as receptor for the hemagglutinin of pyelonephritic Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 7: 297-302, 1980.
- 24) Altemier, W.A., Culbertson, W.R., Fullen, W.D. and McDough, J.J.: *Serratia marcescens septicemia*. *Arch. Sur.*, 99: 232-236, 1969.
- 25) Maki, D.G., Hennekens, C.G., Phillips, C. W., Shaw, W.V. and Bennett, J.V.: *Nosocomial urinary tract infections with Serratia marcescens: An epidemiological study*. *J. Infect. Dis.*, 128: 579-581, 1973.
- 26) Ma, M.Y., Goldstein, E.J.C., Friedman, M. H., Anderson, M.S. and Mulligan, M.E.: *Resistance of gram-negative bacilli as related to hospital use of antimicrobial agents*. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 24: 347-352, 1983.
- 27) Grimant, P.A.D. and Grimaont, F.: *The genus Serratia*. *Ann Rev Microbiol.*, 32: 221, 1978.
- 28) Mitsuhashi, S.: *Review; The R factors*. *J. Infect. Dis.*, 119: 89-100, 1969.