

## 비뇨기 병원성 대장균의 O 항원형 동정

김종배 · 정재춘\*

연세대학교 보건과학대학 임상병리학과, 환경과학과\*

# O Serotypes of Uropathogenic *Escherichia coli* Isolated in Korea

Kim, Jong-Bae and Jae-Chun, Chung\*

Department of Medical Technology and Department of Environmental Science\*,

College of Health Science, Yon-Sei University, Wonju, Korea

**ABSTRACT:** The O serotypes of uropathogenic *Escherichia coli* isolated in Korea were studied using a complete set of rabbit O antisera raised with reference O antigen type strains of *E. coli*. The distribution of "O" serotypes found in this survey was grossly similar with the prevalence of "O" types observed in other parts of the world, and some differences were also noted. A total of 31 "O" serotypes were identified and the most frequent serotype associated with urinary tract infections was O75(11.5%), which was followed by O6(7.4%), O10 and O40(5.7%, respectively).

**KEY WORDS** □ O serotype, urinary tract, *Escherichia coli*

대장균의 혈청학적인 동정은 내열성 lipopolysaccharide에 관련된 O-항원, 편모의 특성에 따른 H-항원 및 capsule의 성분에 관련된 K-항원의 분석으로 실시되고 있다(Kauffman, 1947). 현재까지 밝혀진 대장균의 혈청형은 종류가 매우 다양하여, 170여종의 O-항원, 56종의 H-항원 및 103종의 K-항원이 알려져 있으며(Gross and Rowe, 1985) 이에 따른 많은 종류의 O:K:H 조합의 혈청형으로 대장균이 분류될 수 있다.

대장균의 특정혈청형과 대장균에 의한 질병과의 관련성을 Koch의 가설에 입각하여 직접 증명하기는 쉽지 않으나 분리균주의 혈청형 빈도, 분포 등을 고려하면 특수한 혈청형의 대장균이 일정한 질병을 유발하는 경향을 인정할 수 있다.

비뇨기계 감염증은 일반적으로 성인 여성의 약 50% 이상에서 이환 병력이 확인되며(강경희 등, 1989), 사춘기 이전 소녀의 1% 정도에서도 무증상세균뇨(asymptomatic bacteriuria)를 나타내는 것으로 보고된 바 있다(Kunin et al., 1964; Kelly et al., 1969). 이러한 비뇨기의 세균 감염은 대개 자신의 분변에서 유래된 세균이 상부요로에 감염하는 상행성 감염이 대부분이며, 항생물질의 투여 또는 요로쇄쇄의 병력을 갖지 않은 일차적인 요로감염 환자의 85% 이상에서 대장균이 원인체로 밝혀지고 있다(Käl-

lenius et al., 1981). 이 경우 감염세균은 소변에 의한 세척작용(flushing action)에 저항하고 요로점막에 의한 숙주의 방어기전을 극복하여야만 비뇨기 상피세포에 흡착하여 증식할 수 있으므로, 비뇨기 상피세포 흡착능이 비뇨기계 병원성 대장균의 중요한 병원성결정인자 중의 하나라고 할 수 있겠다(Ørskov et al., 1982). 그런데 비뇨기 상피세포 흡착능을 매개하는 것으로 밝혀진 P-pili가 비뇨기계에서 분리되는 대장균의 특정한 혈청형의 세균에서 높은 빈도로 분포하고 있음이 보고되어(Väisänen et al., 1984; Domingue et al., 1985), P-pili 보유와 특정한 O혈청형과의 병인학적인 관계를 추구할 필요가 있을 것으로 판단된다.

본 연구에서는 질병과 원인균의 O 혈청형과의 관계를 규명하고 진단 및 예방에 관련된 기본대책을 수립하기 위한 수단으로서, 대장균의 O 혈청형 표준균주를 사용하여 각각의 O 혈청형에 대한 항혈청을 제작하였으며 이를 이용하여 비뇨기계에서 분리한 122주의 대장균에 대하여 O 혈청형 분석을 실시하였다.

### 재료 및 방법

### 대장균의 분리 및 동정

비노기계 감염환자에서 분리된 대장균의 O 혈청형의 분포를 조사하기 위하여 연세대학교 원주의과대학 부속 기독교병원에 비노기계 증상으로 1989년 3월부터 12월 사이에 내원한 환자의 중간노 시료에서 대장균을 분리하여 동정한 후  $-80^{\circ}\text{C}$ 에 냉동보관하거나 동결건조하여 보관하면서 본 실험에 사용하였다.

#### 분리대장균의 P-pili 및 hemolysin 보유 조사

대장균의 P-pili의 생합성이 왕성한 것으로 알려진 (Evans *et al.*, 1977) colonization factor antigen agar (CFA)에 분리대장균을 접종하고  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 18시간 배양하였다. 이들 세균에 대하여 mannose resistant hemagglutination (Svenson, *et al.*, 1982)을 실시한 후, P-pili에 대한 특이항혈청을 이용한 평판응집 반응으로 확인하였다. 한편 hemolysin 생성능은 면양혈액배지에 분리세균을 접종하여  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 하룻밤 배양한 후 혈액배지 상에 뚜렷한 용혈대가 보이는 것을 양성으로 판독하였다.

#### 대장균 O 항원에 대한 항혈청의 제조

Ørskov (International *E. coli* Center, Serum institut, Denmark) 박사로부터 분양받은 165종의 O 혈청형 표준대장균을 vaccine용 세균으로 이용하여 대장균의 각 O 항원에 대한 가토항혈청을 제조 하였다. 즉, O 혈청형 표준대장균으로 제조한 각각의 O 항원을  $1 \times 10^{10}$  cells/ml이 되도록 0.3% formalized saline으로 희석하여 체중 2 kg 내외의 건강한 토끼에 5일 간격으로 5회 정맥주사한 다음 채혈하여 혈청을 분리하였다 (Gross and Row, 1985).

#### 항혈청의 항체가 측정

제조한 각각의 O 항원형에 대한 항혈청은 면역에 사용한 모든 종류의 O 항원에 대하여 tube agglutination 방법으로 특이항체가 및 교차반응의 정도를 확인하였다. 한편 교차반응이 높게 나타나는 항혈청은 필요한 경우 교차반응을 보이는 O 항원을 이용하여 반복 흡수시킴으로써 monospecific한 특이항혈청으로 제작하였다.

#### 분리대장균의 O 혈청형 조사

분리대장균의 O 혈청형은 시험관 응집법으로 검사하였다 (Ewing and Davis, 1961). O 항원형의 종류에 따라 20종의 혼합 O 항혈청 (mixed pools of O antisera)을 제조하였다. 이와같은 20종의 혼합 O 항혈청을 최종농도가 1:100이 되게 희석한 다음, 혼합 O 항혈청 희석액 0.5 ml와 분리대장균으로 제조한 O 항원 ( $1 \times 10^{10}$  cells/ml) 0.5 ml을 혼합하여  $50^{\circ}\text{C}$ 의 수조에서 하룻밤 동안 반응시켜 응집결과를 판독하였다. 그 후 응집을 나타낸 혼합 O 항혈청의 각 O 항혈청을 이용하여 titration을 실시하고 가장 높은 희석배수에서 응집반응을 보이는 항혈청의 항원형을 분리균주의 항원형으로 결정하였다.

## 결과 및 고찰

### 분리대장균의 P-pili의 보유와 hemolysin 생성능

비노기계 감염환자로부터 분리한 대장균의 병원성 결정인자로서 추정되는 P-pili 보유와 hemolysin 생성능에 관하여 분리한 122주의 대장균에 대하여 조사하였다. P-pili는 신우신염 환자로부터 분리된 17주의 대장균 중 11주(64.7%)에서 확인되었으나, 방광염 환자로부터 분리된 36주 중에서 13주(36.1%), 무증상세균노 환자로부터 분리된 47주 중에서 9주(19.1%)만이 P-pili를 보유하고 있는 것으로 확인되었다. 이와같은 결과로 미루어 P-pili 보유 대장균은 방광염 또는 무증상세균노 환자로부터 분리된 세균에서 보다 신우신염 환자로부터 분리된 세균에 높게 분포하고 있는 것을 알 수 있었다 ( $P < 0.01$ ). 한편 분리된 대장균의 hemolysin 생성능도 신우신염 환자에서 분리된 대장균이 방광염 또는 무증상세균노에서 분리된 대장균에서 보다 높은 것으로 나타남 ( $P < 0.05$ ). 임상진단에 따른 P-pili 보유율이 무증상세균노, 방광염, 신우신염의 순으로 증가하는 것으로 보고한 결과들 (Källenius *et al.*, 1981; Svenson *et al.*, 1984; Dominigue *et al.*, 1985; 강 등, 1989)과도 일치하고 있다. 그러나 신우신염 환자로부터 분리한 대장균의 76~94%가 P-pili를 보유하고 있다고 밝힌 보고 (Svenson *et al.*, 1984; Värisänen *et al.*, 1984)에 비하여 본 실험에서는 64.7%에서만 P-pili 보유가 확인되어 다소 차이가 있었다.

#### 분리대장균의 O 혈청형 분포

본 실험에서 분리한 총 122주의 대장균의 O 혈청형에 관하여 조사한 결과 O 혈청형을 결정할 수 없던 경우와 rough strain을 제외하면 모두 31종의 O 혈청형이 확인되었으며, 이중 높은 빈도로 분리된 비노기계 병원성 대장균의 O 혈청형은 O75(11.5%), O6(7.4%), O10 및 O40(각각 5.7%), O1, O15, O54, O68, O129(각각 4.1%) 등으로, 이들이 전체 분리균주의 과반수 이상(50.8%)을 차지하고 있었다 (Table 1). 그러나 무증상세균노, 방광염, 신우신염의 순으로 비노기계 감염이 상행성 감염으로 진행될수록 분리대장균의 O 혈청형의 종류가 감소하는 경향이었다. 한편 무증상세균노, 방광염, 신우신염 등 비노기계 감염증 모두에서 분리된 O 혈청형은 O6, O10, O36, O53, O68, O75, O129 등으로 이 중에서도 O 혈청형이 O75인 대장균의 분리빈도가 가장 높은 것으로 나타났다. 그런데 비노기계 감염환자에서 분리한 대장균의 O 혈청형은 대장균의 분리지역별, 보고자 별로 차이가 있으므로 (Table 2), 본 실험에서 O4 및 O18 항원형의 대장균이 분리되지 않은 것을 제외하고는 대체적으로 일치하는 것으로 판단된다. P-pili 및 hemolysin 생성능을 보유한 분리대장균의 O 항원의 분포

분리한 대장균 중 비노기계 감염 대장균의 중요한 병원성 인자로 알려진 P-pili 및 hemolysin 생성능을 보유한 대장균의 O 혈청형 분포를 조사한 결과 P-pili와 hemolysin 생성능을 보유한 비노기계 감염 대장균 20주 중 O75인 것이 5주(25%), O6인 것이 3주(15%), O12인 것이 2주(10%)로 밝혀져, 이들 균주는

**Table 1.** O serotypes of *Escherichia coli* from urinary tract infections in each diagnostic group

Serotypes	Pyelonephritis	Cystitis	A. B. U. <sup>a</sup>	Others <sup>b</sup>	Total(%)
O1			4	1	5( 4.1)
O2			1	2	3( 2.5)
O5		1	1		2( 1.6)
O6	2	1	2	4	9( 7.4)
O7	1		1	1	3( 2.5)
O10	1	2	4		7( 5.7)
O12	1		2		3( 2.5)
O15	1	2	2		5( 4.1)
O25		2	2		4( 3.3)
O36	1	1	1	1	4( 3.3)
O40			5	2	7( 5.7)
O53	1	1	1		3( 2.5)
O54	2		2	1	5( 4.1)
O68	1	2	2		5( 4.1)
O74	1		1	1	3( 2.5)
O75	1	7	3	3	14(11.5)
O129	1	3	1		5( 4.1)
O133			3	1	4( 3.3)
O139		2		2	4( 3.3)
Other serogroups <sup>c</sup>	3	12	9	3	27(22.1)
Total	17	36	47	22	122

a: Asymptomatic bacteriuria

b: Others include urosepticemia, renal stone and urethral catheterization.

c: Other serogroups include O14, O27, O29, O46, O50, O59, O70, O101, O138, O142, O162, rough strains and non-typable strains.

**Table 2.** Distribution of more common "O" types in strains of *Escherichia coli* from urinary tract infections from various parts of the world(%)

	Korea <sup>a)</sup>	U. S. A. <sup>b)</sup>	Europe <sup>b)</sup>	Hong Kong <sup>b)</sup>	New Zealand <sup>c)</sup>
O1	4.1	3.9	3.9	4.0	3.0
O2	2.5	1.4	7.9	6.4	6.0
O4	0	9.9	11.0	7.3	2.0
O6	7.4	16.4	8.4	6.0	13.0
O7	2.5	3.1	3.9	2.0	3.0
O18	0	1.0	5.1	0	2.0
O25	3.3	1.7	0.6	2.0	1.0
O75	11.5	7.7	4.7	0	16.0

a: Results obtained in this study.

b: Wong and Bettelheim, 1976.

c: Peddie *et al.*, 1981.

P-pili 및 hemolysin 생성능을 동시에 보유한 대장균 O 혈청형의 50%에 달하였다. 이와같은 결과로부터 P-pili 및 hemolysin 생성능을 보유한 대장균의 O 혈청형은 이들 병원성 인자를 보유하지 않은 비노기계 분리대장균에 비하여 O 혈청형 분포가 일부에 국한되었음을 확인할 수 있었다.

본 실험의 결과를 종합하여 볼 때 비노기계

감염하는 대장균은 병원성 결정인자 보유 여부와 대장균의 O 혈청형과는 밀접한 관련이 있을 것으로 판단된다. 그러므로 비노기계 병원성 감염에 대한 예방의학적 측면에서의 적절한 대책을 수립하기 위하여 비노기계 병원성 대장균의 발병기전에 관하여 체계적인 연구가 시급하며, 이와같은 연구에는 대장균의 혈청형 동정이 필수적인 것으로 사료된다.

## 적 요

비뇨기계 감염 환자의 요에서 분리한 대장균의 O 혈청형을 동정하기 위하여 165종의 대장균 O 혈청형 표준균주를 이용하여 토끼에 면역시킨 다음 얻은 각각의 항혈청을 이용하여 O 항혈청의 분포를 조사하였다. 본 실험에서 분리한 총 122주의 대장균의 O 혈청형에 관하여 조사한 결과 O 혈청형을 결정할 수 없던 경우와 rough strain을 제외하면 O75(11.5%), O6(7.47%), O10 및 O40(각각 5.7%), O1, O15, O54, O68, O129(각각 4.1%) 등의 순으로 분리빈도가 높았으며, 모두 31종의 O 혈청형이 확인되었다. 한편 비뇨기계 감염 대장균의 중요한 병원성 인자로 알려진 P-pili 및 hemolysin 생성능을 동시에 보유한 비뇨기계 병원성 대장균 50% 이상에서 O 혈청형이 O75, O6, O12 등으로 밝혀졌다.

## 사 사

본 연구는 1990년도 연세대학교 학술연구비에 의하여 작성된 것임.

## 참고문헌

1. 강경희, 이광호, 조명제, 이우곤, 유헌희, 유한옥, 김종배, 최 용, 고광욱, 1989. P-pili 보유 대장균의 분포. 대한미생물학회지, **24**, 323-334.
2. Domingue, G.J., J.A. Roberts, R. Laucirica, M.H. Ratner, D.F. Bell, G.M. Suarez, G. Källenius, and S. Svenson, 1985. Pathogenic significance of P-fimbriated *Escherichia coli* in urinary tract infections. *J. Urol.* **133**, 983-989.
3. Evans, D., D.J. Evans Jr., and W. Tjoa, 1977. Hemagglutination of human group A erythrocytes by enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from adults with diarrhea. correlation with colonization factor. *Infect. Immun.* **18**, 330-337.
4. Ewing, H.W. and B.R. Davis, 1961. O antiserum pools for preliminary examination of *Escherichia coli* cultures. CDC Publication, CDC, Atlanta, U.S.A.
5. Gross, R.J., and B. Rowe, 1985. Serotyping of *Escherichia coli*. In "The virulence of *Escherichia coli*", Sussman, M.(Ed.), Academic Press, London, pp. 345-363.
6. Källenius, G., R. Möllby, S.B. Svenson, L. Helin, H. Hultberg, B.Cedergren, and J. Winberg, 1981. Occurrence of P-fimbriated *Escherichia coli* in urinary tract infections. *Lancet*, **ii**, 1369-1372.
7. Kauffman, F. 1947. The serology of the coli group. *J. Immunol.* **57**, 71-100.
8. Kelly, D.G., F. Duff, S.F. Diskin, and S.F. Cahalone, 1969. Prevalence of urinary tract infection in Dublin school children. *J. Irish Med. Ass.* **62**, 420-422.
9. Kunin, C.M., R. Deutscher, and A. Paquin, 1964. Urinary tract infection in school children, an epidemiologic, clinical and laboratory study. *Medicine* **43**, 91-130.
10. Minshew, B., J. Jorgensen, G. Counts, and S. Falkow, 1978. Association of hemolysin production, hemagglutination of human erythrocytes, and virulence for chicken embryos of extraintestinal *Escherichia coli* isolates. *Infect. Immun.* **28**, 359-367.
11. Ørskov, I., R. Ørskov, A. Birch-Anderson, M. Kanamori, and C. Svanborg-Eden, 1981. O, K, H and fimbrial antigens in *Escherichia coli* serotypes associated with pyelonephritis and cystitis. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* **33**, 18-25.
12. Peddie, B.A., K.A. Bettelheim, and A.Y. Chereschsky, 1981. O and H serotypes of *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections. *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.* **A 250**, 47-51.
13. Svenson, C.B., G. Källenius, R. Möllby, H. Hultberg, and J. Winberg, 1982. Rapid identification of P-fimbriated *Escherichia coli* by a receptor-specific agglutination test. *Infection* **10**, 209-214.
14. Väisänen-Rhen, V., J. Elo, E. Väisänen, A. Siitonen, F. Orskov, I. Orskov, S.B. Svenson, P.H. Mäkelä, and T. K. Korhonen, 1984. P-fimbriated clones among uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Infect. Immun.* **43**, 149-155.
15. Wong, T.W., and K.A. Bettelheim, 1976. Serotypes of *Escherichia coli* from urinary tract infections in Hong Kong. *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.* **A 236**, 481-486.

(Received May 14, 1991)

(Accepted July 16, 1991)