

Vibrio cholerae non-O1/non-O139 혈청형에 의한 장염 1예

이기은, 조지현

원광대학교 의과대학 진단검사의학교실

A Case of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 Gastroenteritis

Key Earn Lee, and Ji-Hyun Cho

Department of Laboratory Medicine, Wonkwang University, College of Medicine, Iksan, Korea

Vibrio cholerae is an autochthonous inhabitant of estuarine and seawater environment and is a facultative pathogen for humans. *V. cholerae* non-O1/non-O139 strains are associated with gastroenteritis, septicemia and/or extraintestinal infections. But the reported cases of gastroenteritis by non-O1/non-O139 serotype, are rare in Korea. The authors isolated *V. cholerae* non-O1/non-O139 strain from a stool of a 67 year-old-woman who had suffered from diabetes, hypertension and Alzheimer disease and analyzed presence of toxin genes by multiplex PCR method.

(*Korean J Clin Microbiol* 2002;5:139-142)

Key words : *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139, Gastroenteritis, Genotype, PCR

서 론

*Vibrio cholerae*는 해수와 연안수에 널리 분포하며, 대부분 환경에 존재하는 균주는 인체에 무해하지만, 특정 균주가 진화하여 인체감염을 초래하는 것으로 알려지고 있다[1]. *V. cholerae*는 임상증상과 관련하여 혈청형 O1과 O139 및 non-O1/non-O139로 구분된다[2]. O1/O139 형은 콜레라 독소를 생성하여 주로 심한 설사를 주소로 하는 유행성 장내감염을 일으켜 국내에서는 1종 법정전염병으로 관리되고 있는 반면에, non-O1/non-O139형[3]은 일반적으로 콜레라 독소를 형성하지는 않으나 장내독소나 용혈소등의 독소를 생성하며, 장내감염[4, 5]뿐만 아니라 혈액, 복수, 척수, 귀 창상, 호흡기, 담낭감염과 같은 장외감염을 일으키며, 특히 저항력이 감소된 환자에서는 치명적인 패혈증을 일으키는 것으로 알려져 있다[2, 6-9].

그러나, O-139 형의 출현에서 알 수 있듯이, 혈청형과 임상증상과의 관련이 완벽하지는 않으며[10], 환경에 존재하는 균주와 감염주 사이에 유전학적 성상이 매우 유

사할 뿐 만 아니라[11], 콜레라 독소가 파아지를 통하여 균주 간에 전달될 수 있으므로[12], 혈청형 분류이외에 몇 가지 독소 유전자의 존재에 따른 유전자형 조사가 콜레라의 진단과 역학조사에 있어서 더욱 중요하게 되었다 [13, 14]. 한편, 국내에서의 non-O1/non-O139 *V. cholerae* 감염에 대한 보고는 대부분이 장외감염[6-9]이며, 최근에 심하지 않은 설사를 주소로 하는 환자의 분변에서 분리된 보고[4]가 있는 정도이다. 따라서, 병원검사실에서 설사변에서 *V. cholerae*로 추정되는 집락이 분리되었으나 항혈청에 반응하지 않았을 때에 균주의 최종 보고와 이에 따른 환자관리에 곤란을 겪게 될 가능성이 높는데, *V. cholerae* 균주의 독소 유전자에 대한 검사는 세균의 특성과 역학적 조사뿐만 아니라, 균주의 동정에도 매우 유용할 것으로 생각된다[15, 16].

최근 저자들은 67세 환자의 설사변 배양에서 *V. cholerae* non-O1/non-O139 형을 분리하고, 유전자 검사를 통하여 확인하였기에 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

환 자 : 67세 여자

주 소 : 3일 전부터 하루에 5-6 회 설사

과거력 : 당뇨병 30년, 고혈압 8년의 과거력이 있으며 3년 전부터 노인성 치매로 치료중.

접수번호 : CM 5-02-11

교신저자 : 조지현

(570-711) 전북 익산시 신용동 344-2

원광대병원 진단검사의학과

Tel : 063) 850-1541 Fax : 063) 842-3786

현병력 : 상기 질환의 합병증으로 인한 피부 궤양으로 개인병원에서 치료 도중 3일 동안 설사가 계속되어 2002년 7월 19일 응급실을 경유하여 소화기 내과에 입원하였다. 음식 섭취력으로는 설사 발생 하루 전에 변질된 수박과 복숭아를 섭취하였다.

신체검사소견 : 환자는 전신쇠약과 치매 증세를 나타내었으며, 미골부위 (coccygeal area) 피부 궤양이 관찰되었고, 혈압은 130/70, 맥박 84/분, 호흡수 20/분, 체온은 37.6°C이었다.

Table 1. Characteristics of *V. cholerae* non-O1/non-O139 isolate

Reactions	Properties	
	<i>V. cholerae</i> *	Isolate
Indole production	99%	+
Methyl red	99%	+
Voges-Proskauer	75%	+
Citrate, Simmons	97%	+
H ₂ S on TSI	0%	-
Urea hydrolysis	0%	-
Phenylalanine deaminase	0%	-
Arginine	0%	-
Lysine	99%	+
Ornithine	9%	+
Motility	99%	+
Glucose (acid)	100%	+
Acid from		
Arabinose	0%	-
Cellobiose	8%	-
Galactose	0%	+
Inositol	0%	-
Lactose	7%	-
Maltose	99%	+
Mannitol	99%	+
Raffinose	0%	-
Salicin	1%	-
Sorbitol	1%	-
Sucrose	100%	+
Trehalose	99%	+
Xylose	0%	-
Nitrate reduction	99%	+
Oxidase	100%	+
String test	100%	+
Growth in		
0% NaCl	100%	+
1% NaCl	100%	+++
6% NaCl	53%	-
8% NaCl	1%	-

*: see Reference 4.

검사소견 : 응급실 내원시의 *Clostridium difficile* 독소 검사에 음성, 분변검사서서 혈구세포는 관찰되지 않았으며, 일반혈액검사서서 백혈구 14,220/ul 호중구 94.2%, 혈색소 13.6g/dl, 혈소판 376,000/ul이었다. 혈청 단백, 간기능 검사치는 참고치 범위이었으나, BUN 28.2mg/dl, Creatinine 2.3mg/dl, Na 135mEq/L, K 3.2 mEq/L, 동맥가스 압검사상 pH 7.1, TCO₂ 3.5mM/L, PCO₂ 11.1mM/L, HCO₃⁻ 3.1 mM/L, 혈청과 소변 삼투압은 각각 333, 339mosm/kg H₂O로서 대사성 산혈증과 탈수 소견을 보았다.

미생물검사 : 입원 당시의 설사변 배양은 GN(gram negative) broth에 증균하여 XLD(xylose-lysine-desoxycholate) 배지, SS(salmonella-shigella) 배지, TCBS(thiosulfate citrate-bile salts) 배지에 계대 배양하였다. 배양 하루 후에 TCBS 배지에서 다수의 황색 집락이 관찰되었으며, 이는 MacConkey 한천배지에서 무색, 혈액한천배지에서 베타 용혈성, oxidase 양성이었으며, *V. cholerae* O1 항혈청(국립보건원에 의뢰, O1과 O139 항혈청)에 반응하지 않았다. string test (0.5% sodium deoxycholate)에 양성이었으며, API 20E (bioMerieux sa, Marcy-l' Etoile, France)에 *V. cholerae* (코드 5347124)로 동정되었다. Nutrient broth를 이용한 호염성 검사에서는 0%와 1%에서만 균이 성장하였다(Table 1). 디스크 확산법[17]에 의한 항균제 감수성 시험에서 ampicillin, cotrimoxazole, chloramphenicol 및 tetracycline에 모두 감수성이었다. 입원 1일째 시행한 혈액배양, 4일과 6일째 시행한 분변배양에서 세균은 자라지 않았으며, 입원 7일째 실시한 피부궤양 검체에서 *S. aureus* (methicillin resistant)가 배양되었다.

유전자검사 : 환자에서 분리된 1 균주 이외에 대조균주 8주 (*V. cholerae* O1 Classical, El Tor 각 1주, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* 각 1주, 환경검체에서 분리된 non-O1/non-O139 2주, *V. mimicus*, *V. fluvialis*, 각 1주)를 대상으로 multiplex PCR 방법[11]을 이용하여 *V. cholerae* 균주에 존재하는 ctxA(cholera toxin subunit A, CTX), tcpA(toxin-coregulated pilus, classic과 El tor 형) 및 toxR 유전자의 존재를 검사하였다. *V. cholerae* O1 균주에서는 toxR(779bp), ctxA(564bp), tcpA(Classical 620bp, El Tor 453bp) 유전자가 검출되었으나 환자에서 분리된 균주 및 non-O1/non-O139 균주에서는 toxR(+), ctxA(-), tcpA(-)이었으며, 나머지 대조 균주들은 3가지 유전자가 검출되지 않았다(Table 1, Fig. 1).

치료 및 경과 : 환자는 수액제제 및 quinolone 치료를 시행하였으며, 내원 하루 후에는 설사가 중지되었으며, 입원 7일째에 다소 증상이 호전되던 중 퇴원하였다.

고 찰

국내에서 *V. cholerae* non-O1/non-O139 형 감염은 대부분 장외감염 및 면역능 저하와 관련된 패혈증[6-9]이며,

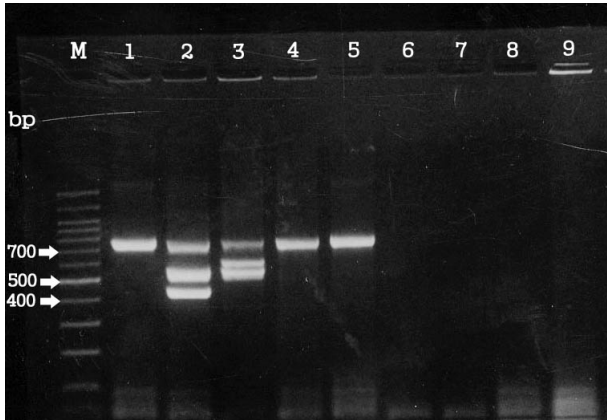


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of amplicons obtained using multiplex PCR. Lane M, molecular weight marker (100bp ladder, Genotek); lane 1, *V. cholerae* from the patient; lane 2, *V. cholerae* O1 El Tor, Ogawa; lanes 3, *V. cholerae* O1 Classical, Inaba; lanes 4 and 5, *V. cholerae* non-O1/O139; lane 6, *V. mimicus*; lane 7, *V. fluvialis*; lane 8, *V. parahaemolyticus*; lane 9, *V. vulnificus* (ctxA 564bp, tcpA El Tor 453bp, classical 620bp, toxR 779bp).

장내감염은 어등[4]이 장염 소아의 분변 검체에서 1예를 보고한 것이 있을 뿐이다. 이는 1995년 국립보건원보[18] 통계에서 *V. cholerae* non-O1은 총 93주이었고, 이 중 16주가 의사감염 환자의 대변 및 혈액등의 검체에서 분리되었으며, 외국의 경우에 설사환자의 2.7%-4.9%에서 non-O1/non-O139 혈청형이 분리되며[5], non-O1형의 1/2이 분변 검체에서 분리되었다는 보고와는 대조적인데[2], non-O1/non-O139형에 의한 장염이 대부분 경미한 증상을 호소하며, 단기간에 치유가 가능하기에 분변검체에서 분리된 예가 실제보다 적을 가능성이 지적된 바[7] 있다.

최근 *V. cholerae* non-O1/non-O139 형에 대한 중요성은, 환경에 존재하는 *V. cholerae* 균주가 병원성 균주의 저장소(reservoir)로 인식되고[1], non-O1/non-O139 혈청형 중에서 콜레라와 유사한 증상의 감염에 대한 보고[10]와 이들 혈청형에서 콜레라 독소 유전자가 검출된다는 보고[13, 14]에 의하여 증가되고 있으며, Rivera 등[13]은 환경에 존재하는 non-O1/non-O139 혈청형의 위험성을 경고하고, *V. cholerae* 혈청형 이외에 독성 관련 유전자 검사의 중요성이 병원성의 파악과 역학조사에 중요함을 강조하였다. 한편, 설사변에서의 *V. cholerae* 분리는 TCBS 배지에서 황색집락을 형성하고, 인체감염이 보고된 비브리오 균종 중에서 *V. cholerae*와 *V. mimicus*만이 비호염기성(non-halophilic)이라는 점과, 항혈청 검사와 장내세균의 동정에 사용하는 일반적인 생화학적 검사를 통하여 동정할 수 있다[4]. 그러나, 국내에서는 분변에서 이들 균주의 분리율이 낮으므로, 전통적인 동정방법에 의하여 *V. cholerae*가 의심되나 항혈청에 반응하지 않을 때에 균주의 최종 동정이 지체되고 환자 관리에 문제점이 발생할

가능성이 있다. 본 연구에서는 단순히 끓이는 방법[19]에 의하여 염색체 DNA를 추출하고, 3가지 독소 관련 유전자를 multiplex PCR법[11]으로 동시에 확인하였기에, 병원 검사실에서 *V. cholerae* 역학조사뿐만 아니라 균주 동정, 병원성 파악에 적용할 수 있을 것으로 사료되었다.

본 연구에서 조사한 ctxA, tcpA, toxR 유전자[2]는 *V. cholerae* 감염에 필수적인데, 각각 콜레라 독소의 생성, 소장벽 부착, CTX와 TCP 및 그 외 독성 요소들(virulence factors)의 생성을 조절하는 기능과 관련된다[14]. toxR 유전자는 모든 비브리오 균주에 존재하는데, 그 염기서열이 종간에 상당한 차이를 나타내어 비브리오 균종간의 구분에 사용될 수 있다[16]. toxR 유전자는 *V. cholerae* 균주에서 대부분 발견되지만 non-O1/non-O139형에서 매우 드물게 검출되지 않을 수 있으며[11], *V. mimicus*에서는 발견되지 않았다[13]. 한편, tcpA와 ctxA 유전자는 대부분의 독성 *V. cholerae* O1과 O139형에서 관찰되고, 비독성 *V. cholerae* O1이나, non-O1/non-O139형에서는 검출되지 않으나 일부 균주에서는 발견될 수 있다[3, 11, 13-15]. 본 조사에서도 본 증례의 균주를 포함한 *V. cholerae* 균주들에서 모두 toxR 유전자가 검출되었으나 *V. mimicus*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis* 균주에서는 검출되지 않아, toxR 유전자 검출이 *V. cholerae*의 동정에 유용할 것으로 생각되었다. 또한, 1995년 국내 콜레라 유행때의 균주에서는 3가지 유전자가 모두 검출되었고 tcpA 염기서열의 차이에 의하여 classical과 El Tor biotype을 구분할 수 있었으며, 본 증례의 균주와 환경에서 분리된 non-O1/non-O139 균주에서는 ctxA와 tcpA 유전자는 검출되지 않고 toxR만이 검출되었기에, 분리된 균주의 병원성에 대하여서도 판단할 수 있었다.

일반적으로 비브리오 감염은 간질환이나 기타 면역이 저하된 환자에서 해산물 섭취나 피부상처의 바닷물 노출과 관련되어 발생한다[2]. 어등[4]이 보고한 증례에서는 선행질환이나 음식 섭취력에 대하여 알 수 없었으나, 본 증례에서는 당뇨, 고혈압, 노인성 치매와 피부궤양을 앓고 있었으며, 응급실에 내원 전에 다른 병원에 입원한 상태였으므로, 상한 과일 섭취가 감염과 연관되었을 가능성이 있으나 확인할 수는 없었다.

요 약

저자들은 장기간 당뇨, 고혈압, 노인성 치매를 앓고 있는 67세 여자 환자의 설사변 배양에서 *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 균주를 분리하고, 유전자 검사를 통하여 확인하였기에 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

참 고 문 헌

1. Colwell RR and Huq A. Environmental reservoir of *Vibrio cholerae*. The causative agent of cholera. *Ann N Y*

- Acad Sci 1994;15:740:44-54.*
2. Keusch GT and Waldor MK. *Cholera and Other Vibrioses. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. Braunwald E, Fauci A, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL ed. 15th ed. McGraw-Hill, 2001:980-986.*
 3. Kurazono H, Pal A, Bag PK, Nair GB, Karasawa T, Mihara T, et al. *Distribution of genes encoding cholera toxin, zonula occludens toxin, accessory cholera toxin, and El Tor hemolysin in Vibrio cholerae of diverse origins. Microb Pathog 1995;18:231-5.*
 4. 어영, 정안숙, 장인호, 윤갑준, 이해용. *Vibrio cholerae Non-O1/O139에 의한 장염 1예. 대한임상병리학회지 2001;21:49-52.*
 5. Mukhopadhyay AK, Garg S, Mitra R, Basu A, Rajendran K, Dutta D, et al. *Temporal shifts in traits of Vibrio cholerae strains isolated from hospitalized patients in Calcutta: a 3-year (1993 to 1995) analysis. J Clin Microbiol 1996;34:2537-43.*
 6. Chong YS, Kwon OH, Lee SY, Kim BS, Min JS. *Non-O group 1 Vibrio cholerae septicemia and peritonitis. Yonsei Med J 1985;26:82-4.*
 7. 정운섭, 이삼열, 이상인, 정재복, 전재윤, 시마다 도시오. *Vibrio cholerae Serogroup non-O1에 의한 간경변증 환자의 패혈증 3예. 감염 1991;23:117-23.*
 8. 이경아, 이창훈, 강영숙, 정운섭, 정명현. *Vibrio cholerae non-O1 중이염 1예. 대한임상병리학회지 1996;16:110-4.*
 9. 박도심, 이영진, 김신무, 조지현. *Vibrio cholerae non-O1/O139 복막염 1예. 대한임상미생물학회지 2000;3:142-146.*
 10. Sharma C, Thungapathra M, Ghosh A, Mukhopadhyay AK, Basu A, Mitra R, et al. *Molecular analysis of non-O1, non-O139 Vibrio cholerae associated with an unusual upsurge in the incidence of cholera-like disease in Calcutta. India J Clin Microbiol 1998;36:756-763.*
 11. Singh DV, Matte MH, Matte GR, Jiang S, Sabeena F, Shukla BN, et al. *Molecular analysis of Vibrio cholerae O1, O139, non-O1, and non-O139 strains: clonal relationships between clinical and environmental isolates. Appl Environ Microbiol. 2001;67:910-21.*
 12. Waldor MK and Mekalanos JJ. *Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin. Science 1996;272:1910-4.*
 13. Rivera ING, Chun J, Huq A, Sack RB, Colwell RR. *Genotypes associated with virulence in environmental isolates of Vibrio cholerae. Appl Environ Microbiol 2001;67:2421-9.*
 14. Ghosh C, Nandy RK, Dasgupta SK, Nair GB, Hall RH, Ghose AC. *A search for cholera toxin (CT), toxin coregulated pilus (TCP), the regulatory element ToxR and other virulence factors in non-O1/non-O139 Vibrio cholerae. Microb Pathog 1997;22:199-208.*
 15. Hoshino K, Yamasaki S, Mukhopadhyay AK, Chakraborty S, Basu A, Bhattacharya SK, Nair GB, Shimada T, Takeda Y. *Development and evaluation of a multiplex PCR assay for rapid detection of toxigenic Vibrio cholerae O1 and O139. FEMS Immunol Med Microbiol 1998;20:201-7.*
 16. Kim YB, Okuda J, Matsumoto C, Takahashi N, Hashimoto S, Nishibuchi M. *Identification of Vibrio parahaemolyticus strains at the species level by PCR targeted to the toxR gene. J Clin Microbiol. 1999;37:1173-7.*
 17. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twelfth informational supplement. M100-S12. Wayne, Pennsylvania; National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002.*
 18. 김호훈, 신영학, 강연호, 유천권, 박미선, 정미영 등. *장관내 감염 세균성 병원체의 항원 및 유전물질 이용을 위한 연구 -Vibrio cholerae non-O1균의 O-혈청군 분포 및 O-항혈청 특이성에 관한 연구-. 국립보건원보 1995; 32; 11-20.*
 19. Hervio-Heath D, Colwell RR, Derrien A, Robert-Pillot A, Fournier JM, Pommepuy M. *Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France. J Appl Microbiol 2002;92:1123-35.*