

Aberrant Forms of *Escherichia coli* in Urine Culture

Youngeun Ma, Jang Ho Lee, Seung-Tae Lee, Chang-Seok Ki, Nam Yong Lee

Department of Laboratory Medicine and Genetics, Samsung Medical Center,
Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Bacterial morphology can be altered by various factors, including antibiotics. Unusually shaped, large, swollen organisms were observed in a urine culture obtained from a patient who had no history of antibiotic therapy. The organism was identified as *Escherichia coli* by the Vitek 2 system and by DNA sequencing of 16S rRNA and *gyrB*. The patient had no symptoms except fever, which subsided without

medication. Microbiology laboratories should be aware of the potential appearance of such bacilli to avoid confusion with fungi and other naturally occurring filamentous organisms. (Korean J Clin Microbiol 2010;13:128-131)

Key Words: Atypical bacterial forms, *Escherichia coli*, Urine

서론

1940년 Gardner가 penicillin에 의한 세균의 형태 변화에 대해 기술한 이후[1], 비정상적 형태를 갖는 세균이 환자의 검체에서 분리된 증례[2-5]와 실험을 통해 항생제에 의한 세균의 형태 변화를 관찰한 연구들이 다수 보고되었다[6,7]. 이러한 비정상적 형태의 세균은 혈액, 객담, 뇌척수액, 조직 등 다양한 검체에서 분리되었으며, 균의 종류도 특정 세균에 국한되지 않고 *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* 등으로 다양하게 나타났다.

항생제에 의한 세균의 형태변화는 최소억제농도 이하의 항생제가 세균의 길이성장은 억제하지 못하지만 자가분해효소를 억제하여, 길이성장은 일어나되 분리가 일어나지 않아 나타나는 현상이라 생각되며, 이와 유사한 비정형의 균이 항생제를 사용한 적 없는 환자에서 보고된 증례들도 있었다[6].

국내에서도 환자 검체에서 동정된 비정형균의 증례보고[8,9]와 실험적으로 유발된 비정형 형태의 세균에 대한 보고[10]가 있었으나, 염기서열분석을 통해 동정 확인된 경우는 없었다. 저자들은 항생제를 사용한 과거력이 없는 환자의 소변 검체에서 분리된 비정형균을 동정하고, 염기서열분석을 통해 확인하였기에 이를 보고하고자 한다.

증례

77세 여자 환자가 좌측 중간대뇌동맥 경색으로 뇌혈관 조영 및 혈전용해술 후 입원치료 받던 중, 입원 2일째 발열이 있어 혈액배양 및 소변배양 검사를 시행하였다. 혈액배양검사서 자라는 미생물의 없었으나, 소변배양검사결과 MacConkey 배지에서 자주색의 작은 집락을 갖는 미생물이 자랐다(Fig. 1). 그람 염색에서는 커다란 그람음성균이었으나 형태 및 크기가 매우 불규칙하여 사상형 또는 방추형 등의 여러 가지 형태를 보이며 매우 불규칙했다(Fig. 2). Vitek 2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)를 이용하여 동정한 결과 β -glucuronidase에서 비전형적으로 양성반응을 보이긴 하였으나, excellent identification의 confidence level, probability 98.59%로 *Escherichia coli* (*E. coli*)로 동정되었다. Chromogenic culture media에서 배양한 결과와 중합효소연쇄반응과 염기서열분석을 이용한 동정 결과도 *E. coli*로 Vitek 2의 결과와 일치했다. 환자는 발열 이외의 증상은 없었고, 별다른 치료 없이 발열 증상도 사라졌다.

염기서열분석은 시발체 16S-4F (5'-TTGGAGAGTTTGATC-CTGGCT-3'), 16S-534R (5'-TACCGCGGCTGCTGGCAC-3')와 16S-27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'), 16S-801R (5'-GGCGTGGACTTCCAGGGTATCT-3')을 이용하여 16S rRNA 유전자 절편을 증폭한 후 658 bp의 증폭산물을 얻었다. 이를 National Center For Biotechnology Information: The Basic Local Alignment Search Tool (NCBI BLAST)의 데이터베이스와 비교하였을 때, *E. coli*와 *Shigella* spp. 모두 가능성이 있어 감별이 필요하므로 *gyrB* 유전자에 대한 염기서열분석을 추가로 시행하였다. 시발체 *gyrB*-63C-F (5'-GAAGTCATCATGAC-CGTTCTGCAYGCNGGNGNA ARTTYGA-3')와 *gyrB*-63C-

Received 7 February, 2010, Revised 13 July, 2010

Accepted 20 August, 2010

Correspondence: Nam Yong Lee, Department of Laboratory Medicine and Genetics, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, 50 Irwon-dong, Gangnam-gu, Seoul 135-710, Korea. (Tel) 82-2-3410-2706, (Fax) 82-2-3410-2719, (E-mail) micro.lee@samsung.com

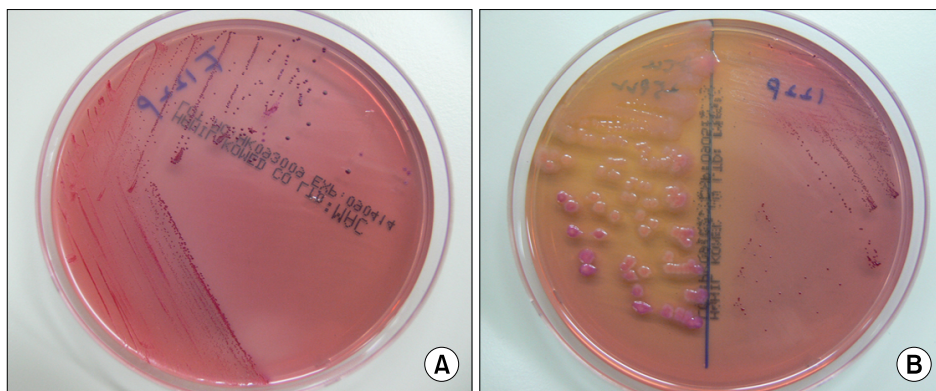


Fig. 1. (A) Small, dry and purple colonies in MacConkey agar plate, 2 days, (B) Comparison with *E. coli* ATCC 25922, in MacConkey agar plate, 2 days (left: *E. coli* ATCC 25922).

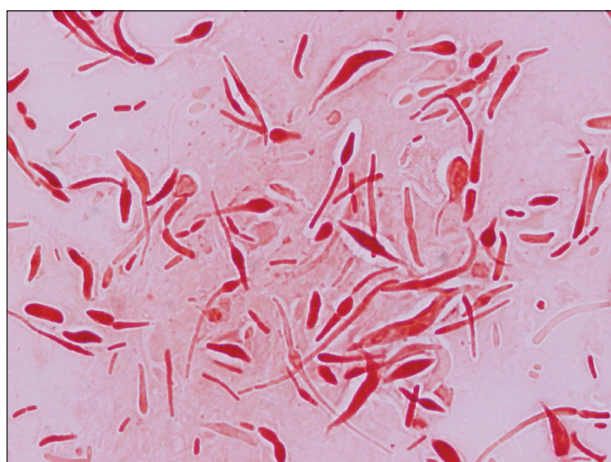


Fig. 2. Unusual shaped large, swollen organisms resembling fungus spore were mixed with a few normal sized bacilli. Long bacilli, filamentous form and elongated bacilli with bulge were also seen (Gram stain, $\times 1,000$).

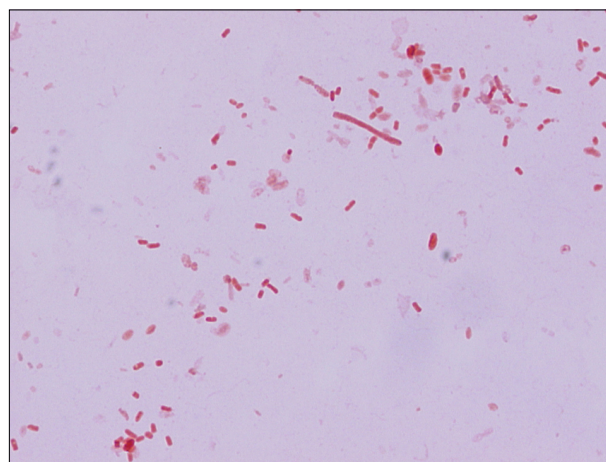


Fig. 3. The organism reverted to normal Gram-negative bacilli. But, some are still larger than normal *E. coli* (Gram stain, $\times 1,000$).

R (5'-AGCAGGGTACGGATGTGCGAGCCRTCNACRTCN-
CRTC NGTCAT-3')를 이용하여 *gvrB* 유전자 절편을 증폭한 후
1137 bp의 증폭산물을 얻었다[11]. 이를 NCBI BLAST의 데이
터베이스와 비교하였을 때, *E. coli*의 subtype strain인 GenBank
accession number; AB083911.1과 100% 상동성을 가진 것으로
확인되었다[12].

이 균종을 몇 차례의 계대배양과 thioglycollate 액체배지에서
증균배양 후 다시 그람염색을 시행하였는데 비정형의 균들은
거의 없고 일반적인 그람 음성 간균 형태였으나 일부에서는 아
직도 크기가 큰 *E. coli*들이 관찰되었다(Fig. 3).

Vitek 2 장비를 이용한 균주의 항생제 감수성 검사에서는 결
과가 나오지 않은 상태로 종료되었으며, 이는 성장속도가 너무
느려서 나타난 결과로 추측되었다. 디스크 확산법으로도 시도
해 보았으나 그 성장이 좋지 않아서 결과 판독이 불가능했다.

고 찰

세균의 형태는 항생제 이외에도 배지, 영양상태 등의 영향을
받다고 알려져 있으나 항생제에 의한 영향이 가장 크다고 하
며[6], 이런 이유로 항생제를 사용한 과거력이 없는 환자에서
비정형균이 발견된 경우는 드물었다.

비정형인 다양한 형태의 세균들을 정의하는 용어에는 aber-
rant (or abnormal) form, L-form, protoplast, spheroplast 등이 있
으며, 이 중 L-form, protoplast, spheroplast는 성장과 동정에 특
수한 배지를 필요로 하는 경우로 정의된다. L-form은 세포벽이
결여된 세균으로 삼투압적으로 안정된 배지에서 자라고, proto-
plast는 주로 그람 양성균으로서 세포벽이 결여되어 있으며 성
장에 적절한 배지를 필요로 하는 경우이다. Spheroplast는 그람
음성균으로 일부 세포벽을 유지하고 있으나 고장성 배지를 필
요로 하는 경우이다. Aberrant form이 가장 일반적인 용어이며
비정상적인 모양을 보이나 일반적인 배지에서 자라는 경우를

뜻한다[2,3]. 본 증례에서 발견된 *E. coli*의 경우 고장성의 배지에서 성장 여부 및 양상과 세포벽 결여 등에 대한 확인이 부족하여 L-form 혹은 spheroplast와의 명확한 감별은 어려우나, 일반 배지에서 배양이 가능했다는 점으로 보아 aberrant form으로 추측된다.

환자 검체에서 분리된 비정형균은 국내에서 4예가 보고된 바 있으며, *E. coli*와 *Enterobacter cloacae*가 각각 2예씩 보고되었다. 항생제 과거력이 있었던 경우와 없었던 경우가 각각 1예씩 있었으며, 2예에서는 항생제 과거력이 명확하게 기술되어 있지 않았다[8,9]. 본 증례에서 관찰된 비정형 *E. coli*는 1998년 항생제 과거력이 있는 환자에서 발견되어 보고되었던 *E. coli*와 가장 유사한 형태를 띠고 있었다.

Aberrant form은 환자 검체에서 매우 드물게 발견되어 그 임상적 의의에 대해서는 밝혀진 바가 많지 않다. 본 증례에서는 항생제 감수성 검사에 실패하였으나, 실험적으로 유발된 비정형 세균으로 시행한 항생제감수성 검사에서는 정상 세균과 차이가 없었다고 보고된 바 있다[10]. 항생제 치료 중 aberrant form이 발견되었다면 치료하고자 하는 부위의 항생제 농도가 최소억제농도보다 낮게 유지되고 있음을 의미하는 것일 수 있으므로 치료 시 참고해야 한다.

또한 임상미생물 검사실에서는 비정형의 세균이 있을 수 있음을 알고, 이러한 균이 동정되었을 때 다른 진균류나 사상형 세균으로 오인하여 잘못 보고되거나 결과 보고가 지연되는 일이 없도록 해야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. Gardner AD. Morphological effects of penicillin on bacteria. *Nature* 1940;146:837-8.
2. Loria DB, Kaminski T, Grieco M, Singer J. Aberrant forms of bacteria and fungi found in blood or cerebrospinal fluid. *Arch Intern Med* 1969;124:39-48.
3. Middleton J and Chmel H. Aberrant form of *Pseudomonas aeruginosa* in sputum and cerebrospinal fluid causing infection in a compromised patient. *J Clin Pathol* 1978;31:351-4.
4. Magnussen CR and Hruska JF. Aberrant forms of *Escherichia coli* in blood cultures: in vitro reproduction of an in vivo observation. *J Clin Microbiol* 1980;12:690-4.
5. Lorian V, Waluschka A, Kim Y. Abnormal morphology of bacteria in the sputa of patients treated with antibiotics. *J Clin Microbiol* 1982;16:382-6.
6. Lorian V and Atkinson B. Abnormal forms of bacteria produced by antibiotics. *Am J Clin Pathol* 1975;64:678-88.
7. Lorian V and Atkinson B. Effect of serum on gram-positive cocci grown in the presence of penicillin. *J Infect Dis* 1978;138:865-71.
8. Kim AS, Kang JC, Lee SH. Unusual morphology of aberrant forms of bacteria in urine: presented with grotesque-giant form with central emptiness and fusiform ends. *Korean J Clin Pathol* 1998; 18:403-6.
9. Kwon HJ, Seo EJ, Shim SI. Aberrant forms of bacteria in urine: report of three cases. *Korean J Clin Pathol* 1993;13:479-81.
10. Yoon KH, Kim CJ, Cho JH, Moon YH. Abnormal forms of bacteria produced by antimicrobial agents in vitro. *Korean J Clin Pathol* 1995;15:264-72.
11. Yamamoto S and Harayama S. PCR amplification and direct sequencing of *gyrB* genes with universal primers and their application to the detection and taxonomic analysis of *pseudomonas putida* strains. *Appl Environ Microbiol* 1995;61:3768.
12. Sung H and Kim MN. Reliability of sequence-based identification of microorganism. *Infect Chemother* 2008;40:355-6.

=국문초록=

소변배양에서 발견된 비정형 대장균 1예

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 진단검사의학교실

마영은, 이장호, 이승태, 기창석, 이남용

항생제 등의 원인에 의해 세균의 형태 변화가 있을 수 있다고 알려져 있다. 비정형균이 임상 검체에서 발견되는 것은 드문 일이며, 특히 항생제를 사용한 과거력이 없는 경우 더욱 드물다. 저자들은 항생제를 사용한 적이 없는 발열 환자의 소변배양에서 크기가 크고 모양이 불규칙한 그람음성의 비정형균을 발견하였으며, 이 세균은 Vitek 2 및 염기서열분석을 통해 *Escherichia coli*로 동정되었다. 환자는 발열 이외의 다른 증상은 없었고, 치료 없이 발열 증상도 사라졌다. 미생물 검사실에서는 이러한 비정형균이 존재할 수 있음을 알고, 다른 진균류 혹은 사상형 세균으로 오인하지 않도록 주의해야 할 것이다. [대한임상미생물학회지 2010;13:128-131]

교신저자 : 이남용, 135-710, 서울시 강남구 일원동 50번지
삼성서울병원 진단검사의학과
Tel: 02-3410-2706, Fax: 02-3410-2719
E-mail: micro.lee@samsung.com