

Chapter27

진단미생물학

I. 임상 환경

- 27.1 미생물 실험실에서의 안전
- 27.2 보건 관련 감염

27.1 미생물 실험실에서의 안전

- 임상미생물학 실험실 근무자들은 주요 생물유해물질(biohazard)에 노출되는 잠재적 위험이 있음
- 근무자들을 보호하기 위해 임상시료를 다루는 표준 실험지침(Standard operation protocol, SOP)이 비치돼있음
- 실험실은 그곳에서 다루는 시료의 잠재적 위험성에 따라 생물안전등급 (*biosafety level, BSL*)-1 에서 BSL-4 로 구분됨 (그림 27.1)

Table 27.2 Biosafety levels and guidelines for microbiology laboratories

<i>Biosafety level</i>	<i>Access</i>	<i>Precautions/specialized equipment</i> ^a	<i>Example and purpose</i>	<i>Microorganism examples</i>
BSL-1	Should be limited	Barrier protection (coats, gloves) <i>should</i> be used.	Teaching laboratory that does not work with known pathogens	<i>Bacillus subtilis</i>
BSL-2	Must be limited	Barrier protection <i>must</i> be used. Manipulations that may generate aerosols must be performed in a biological safety cabinet.	Laboratory that works with moderate-risk pathogens	<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Escherichia coli</i>
BSL-3	Must be limited; separated from public corridors	Barrier protection <i>must</i> be used. The laboratory is negatively pressurized and fitted with filters to prevent pathogen escape. Manipulations must be performed in a biological safety cabinet.	Laboratory that works with emerging and high-risk pathogens	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , human immunodeficiency virus (HIV)
BSL-4	Must be limited; separated from public corridors	Barrier protection <i>must</i> be used. Manipulations must be performed in a sealed biological safety cabinet or by personnel wearing positive pressure suits with an air supply, in addition to BSL-3 requirements (Figure 27.1).	Laboratory that works with emerging and high-risk pathogens, especially those spread by aerosols, or for which there is no treatment, cure, or vaccine	Ebola virus, drug-resistant <i>Mycobacterium tuberculosis</i>



CDC/PHIL, Jim Gathany

그림 27.1

27.2 보건 관련 감염

- 보건(의료시설) 관련 감염

(Healthcare-associated infection, HAI)

- 보건의료시설에서 유발된 국소 또는 전신성 감염 (그림 27.2)
- 병원감염(nosocomial infection)이라고도 함
- 일부 HAI는 환자로부터 유발됨
- 일부 HAI는 병원 근무자로부터 유발됨
 - 연간 1,700,000건 발생, 약 100,000명 사망(미국)

Table 27.3 Risk factors for hospital-acquired infections

Risk factor	Rationale
Patients	Patients are already ill or compromised
Newborn infants and the elderly	Not fully immune competent
Infectious disease patients	Pathogen reservoirs
Patient proximity	Increases cross-infection
Healthcare personnel	Can transfer pathogens between and among patients
Medical procedures (blood draws, etc.)	Breaching the skin barrier can introduce pathogens
Surgery	Exposes internal organs, may introduce pathogens, and stress lowers resistance to infection
Anti-inflammatory drugs	Lower resistance to infection
Antibiotic treatment	May select for resistant and opportunistic pathogens

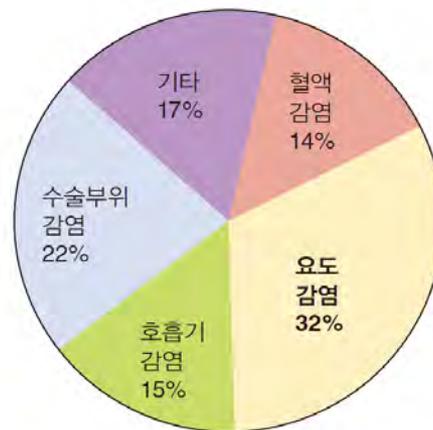


Table 27.4 Healthcare-associated pathogens

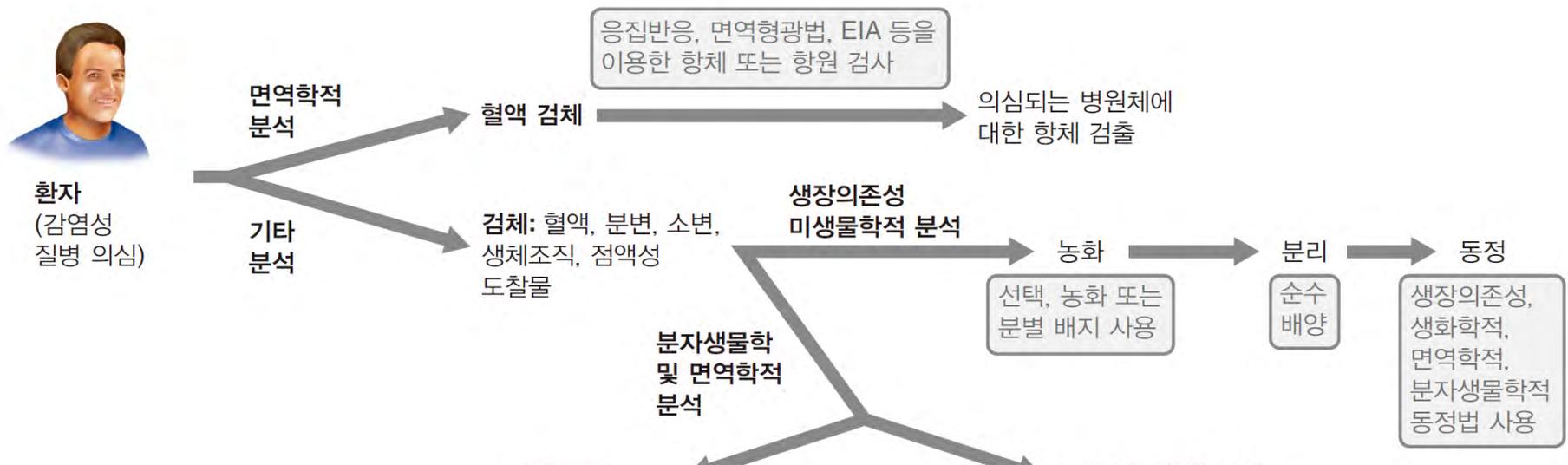
Pathogen	Common infection sites and diseases	Micrographs ^b
^a <i>Acinetobacter</i>	Wound/surgical site, bloodstream, pneumonia, urinary	 <i>Acinetobacter</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	Pneumonia	 <i>B. cepacia</i>
<i>Clostridium difficile</i> , <i>C. sordellii</i>	Gastrointestinal Pneumonia, endocarditis, arthritis, peritonitis, myonecrosis	 <i>C. difficile</i>
^a <i>Enterobacteriaceae</i> , carbapenem-resistant, especially <i>Escherichia coli</i> and <i>Klebsiella</i>	Pneumonia, wound/surgical site, bloodstream, meningitis	 <i>E. coli</i>
^a Vancomycin-resistant <i>Enterococcus</i> (VRE)	Wound/surgical site, bloodstream, urinary	 <i>Klebsiella</i>
Hepatitis	Chronic liver infection	 <i>Enterococcus</i>
Human immunodeficiency virus (HIV)	Immunodeficiency	 Hepatitis B virus
Influenza virus	Pneumonia	 HIV
<i>Mycobacterium abscessus</i>	Skin and soft tissue infections	 Influenza virus
^a <i>M. tuberculosis</i>	Chronic lung infection (tuberculosis)	 <i>M. tuberculosis</i>
Norovirus	Gastroenteritis	 Norovirus
^a <i>Staphylococcus aureus</i> Methicillin-resistant (MRSA) Vancomycin-intermediate and resistant (VISA, VRSA)	Bloodstream, pneumonia, endocarditis, osteomyelitis	 <i>S. aureus</i>

II. 병원체의 미생물학적 동정

- 27.3 병원체의 직접 감지
- 27.4 생장의존성 동정법
- 27.5 항미생물 약제 감수성 검사

27.3 병원체의 직접 감지

- 의사는 감염성 질환에 걸려있다고 의심이 되면,
 - 미생물학, 면역학 및 분자생물학적 검사를 시행하기 위해 환자의 조직 또는 체액 시료를 채취함 (그림 27.3)
 - 검체로는 혈액, 뇨, 분변, 타액, 뇌척수액, 농양, 등이 포함됨



27.3 병원체의 직접 감지

- 검체는 적절한 방법으로 채취되고 다루어져야 함
 - 검체는 실제 감염부위에서 채취되어야 함
 - 검체는 오염되지 않게 무균상태로 채취되어야 함
 - 분석에 충분한 양의 검체를 채취함
 - 검체의 채취, 저장 및 운반과정 동안 검체에 존재하는 생명체의 생존을 위해 대사작용에 필요한 환경을 유지해야 함

27.3 병원체의 직접 감지

- 일부 병원체는 조직 검체의 현미경 관찰로 직접 동정될 수 있음: 예 - 임균 (그림 27.5)
 - 임균의 일차 분리를 위해 사용되는 선별배지들 중 하나가 변형된 타이어-마틴 (MTM) 한천배지임
 - Blue colonies: cytochrome C(oxidase positive

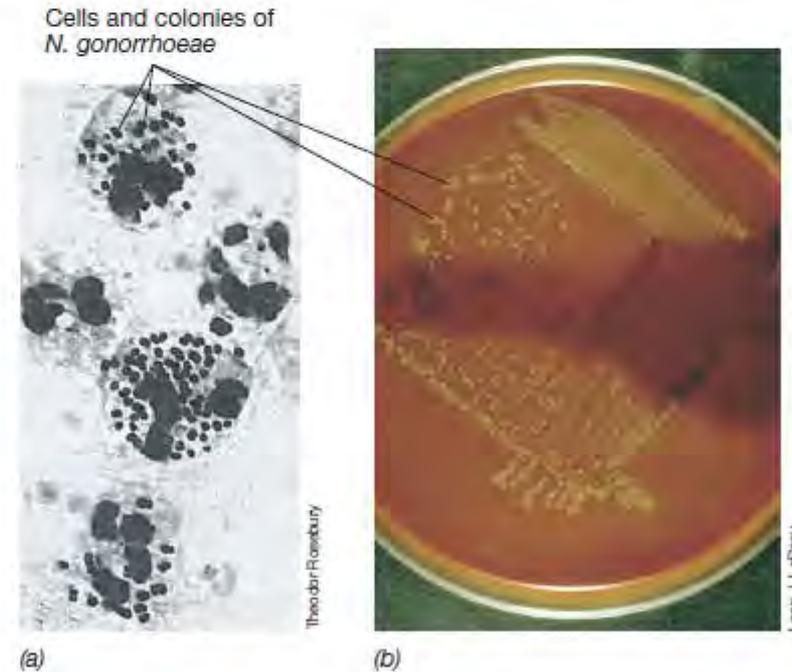


Figure 27.5 Identification of *Neisseria gonorrhoeae*. (a) *N. gonorrhoeae* cells within human polymorphonuclear leukocytes from a urethral exudate. Note the paired diplococci (leader). (b) *N. gonorrhoeae* growing on Thayer–Martin agar. The plate has been stained in the middle with a reagent that turns colonies blue if cells contain cytochrome *c* (the oxidase test). *N. gonorrhoeae* colonies in contact with the reagent are blue, indicating that they are oxidase-positive.

27.3 병원체의 직접 감지

- 분리된 균은 다양한 배지에서 관찰되는 세균집락의 특성에 의해 잠정적 동정을 함
 - 잠정적 동정은 확정적 동정을 위해 더 세부적인 검사가 필요함
- 임상적으로 중요한 대부분의 미생물은 특화된 생장배지에서 생장, 분리 및 동정이 가능함
 - 일반배양배지: 대부분의 호기성 및 통성 호기성 세균이 생장가능 (혈액한천배지; 그림 27.6a 및 b)
 - 농화배지(enriched media): 선택된 병원균의 생장을 증가시키기 위해 특별한 생장인자가 포함
 - 선택배지(selection media): 특정 미생물은 생장하나 그 외의 다른 미생물은 자라지 못함
 - 분별배지(differential media): 미생물의 생장여부 및 배지에서 나타나는 생장 특성을 바탕으로 미생물을 동정 (그림 27.6c)

27.3 병원체의 직접 감지

- 혈액 배양
 - 균혈증 (Bacteremia)
 - 혈액 내에 세균이 존재
 - 건강한 사람에서는 거의 나타나지 않음
 - 패혈증 (Septicemia)
 - 혈액 감염
- 혈액배양이 패혈증 원인균을 분리 동정하는 유일하고 즉각적인 방법

Table 27.5 Enriched and selective media for primary isolation of pathogens

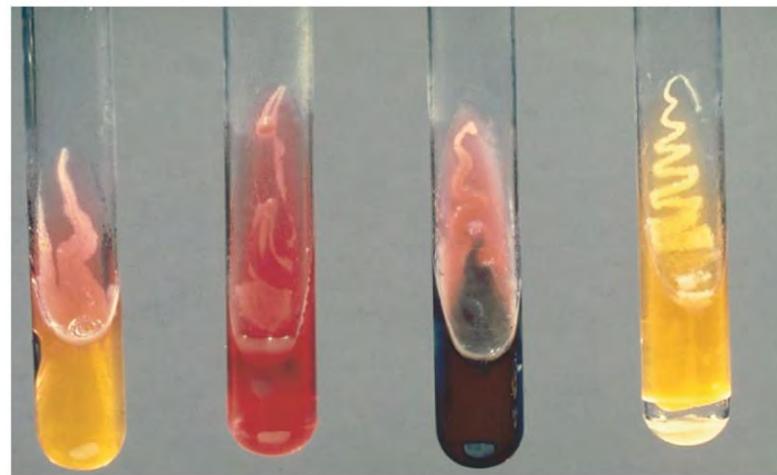
Specimen	Media ^a		
	Blood agar	CA	Enteric agar
Fluids from chest, abdomen, pericardium, joint	+	+	+
Feces: rectal or enteric transport swabs	+	+	+
Surgical tissue biopsies	+	-	+
Throat, sputum, tonsil, nasopharynx, lung, lymph nodes	+	+	+
Urethra, vagina, cervix	+	+	+
Urine	+	-	+
Blood ^b	+	+	+
Wounds, abscesses, exudates	+	+	+

^aBlood agar, 5% whole sheep blood in trypticase soy agar; CA, chocolate agar (heated blood in trypticase soy agar); enteric agar, for example eosin-methylene blue (EMB) agar.

^bBlood is cultured initially in broth. Depending on the Gram stain characteristics of isolates, subculturing is done on enteric agar (gram-negative) or chocolate agar (gram-positive).

27.3 병원체의 직접 감지

- 소변 배양
 - 비뇨기 감염은 흔한 질병으로 특히 여성에게 많이 나타남
 - 질병 원인균이 종종 정상균총 임
 - 비뇨기 병원균은 다음 배지에서 배양 가능함
 - 일반배양배지 (혈액한천배지)
 - 선택배지 (맥콩키한천, 에오신-메틸렌블루 한천배지)
 - 추가적인 분별배지를 사용하여 원인균을 더 세부적으로 구별할 수 있음 (그림 27.7)



27.3 병원체의 직접 감지

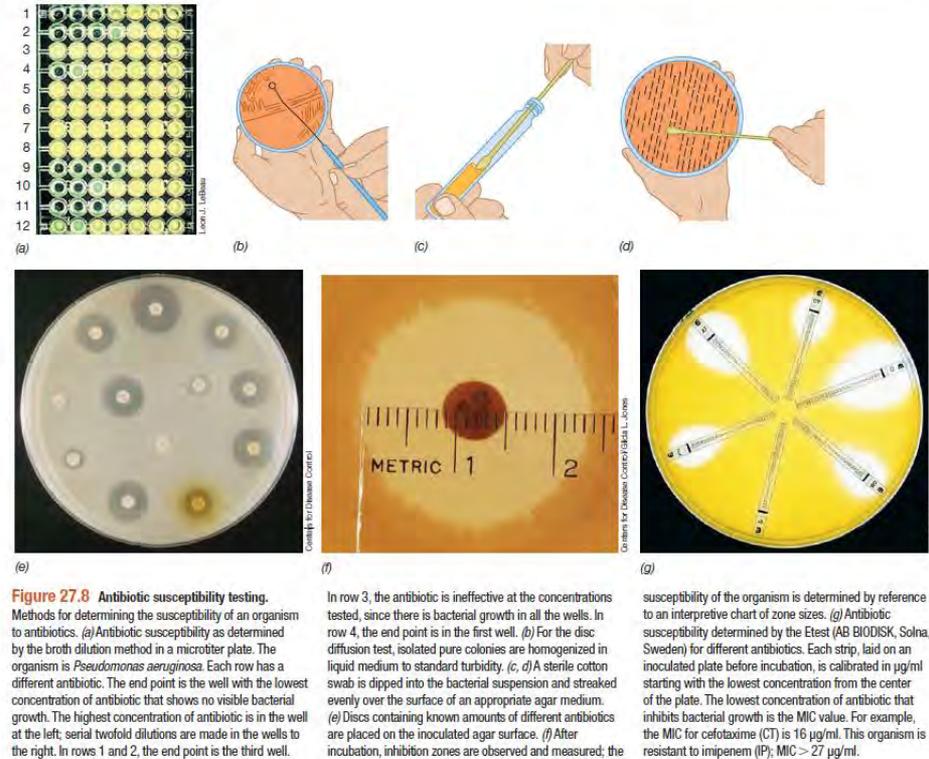
- 혐기성 미생물의 배양
 - 일부 병원균은 완전 혐기성 세균임
 - 완전 혐기성 세균의 분리, 생장 및 동정은 아래의 이유로 복잡함
 - 검체 오염
 - 시료 채취, 운반 및 배양과정 동안 무산소 상태를 유지하는 어려움
 - 무산소 배양을 위해 한천배지를 무산소 상태로 밀폐된 용기에 보관
 - 검체를 담은 용액은 thioglycolate와 같은 환원제나, 산화-환원 지시약인 resazurin을 첨가하여 색깔변화를 통한 산소오염을 알려줌
 - Anaerobic glove box에서 배양

27.4 생장의존성 동정법

- 병원균의 동정을 위해 몇 가지 생화학적 검사가 자주 이용됨
- 특화된 배지가 (선택 및 분별 배지) 몇 가지 특정 검사를 동시에 접종하여 빠르게 평가할 수 있는 키트의 형태로 자주 활용됨
- 분별배지에 특정 기질의 대사과정과 관련된 효소의 존재 유무를 측정하는 생화학적 검사를 첨가함

27.5 항미생물 약제 감수성 검사

- 항생제 감수성 검사를 위한 최소 성장억제 농도 (Minimum inhibitory concentration, MIC) 측정은 항생제 희석 분석법을 사용함 (그림 27.8a)
 - 항생제를 연속적으로 희석하여 미세적정판의 골에 넣고 표준량의 검사 미생물을 접종함
 - 미생물의 성장억제를 관찰함
- 디스크 확산 검사
 - 항미생물 활성을 측정하는 표준 검사법
 - 한천배지에 배양한 미생물을 고르게 도말함 (그림 27.8b, c 및 d)
- 억제환 (그림 27.8e 및 f)
 - 항미생물 제제의 미생물 감수성을 결정하는데 사용
- Etest 는 항미생물 약제를 일정한 농도변화가 나도록 고정화한 가는 플라스틱 막대를 이용



III. 생장-비의존적 진단법

- 27.6 감염성 질환에 대한 면역분석
- 27.7 응집반응
- 27.8 면역형광법
- 27.9 효소 면역측정법, 신속 진단검사 및 면역블롯
- 27.10 핵산 증폭

27.6 감염성 질환에 대한 면역분석

- 임상 의사는 병원균이 만드는 항원에 대한 환자의 항체 역가를 (정량적) 측정하여 감염 여부를 확인할 수 있음 (그림 27.9)
- 응집반응과 효소 면역분석법(EIA)은 일반적으로 사용되는 검사법임
- 피부 검사법은 병원균에 대한 노출 여부를 검사하는 방법 중 하나임

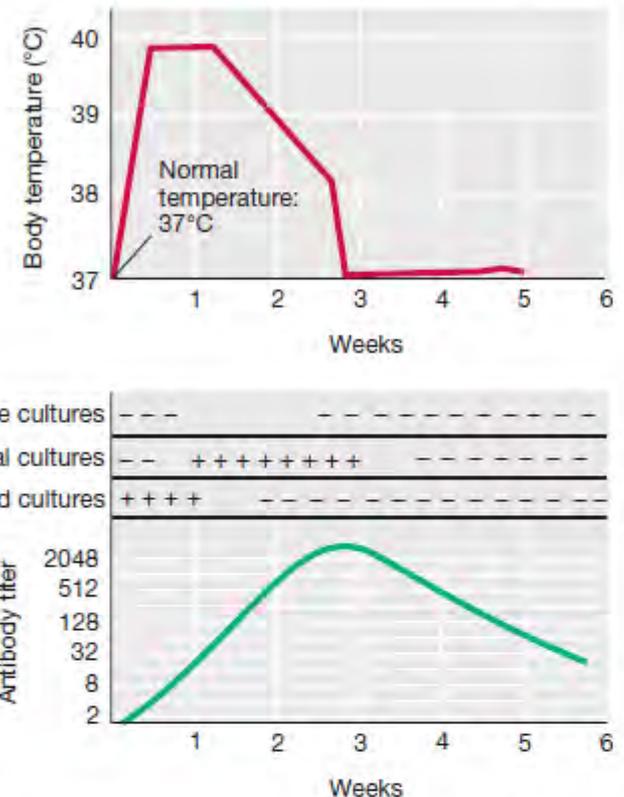


Figure 27.9 Infection and immunity in typhoid fever. The data are a composite pattern seen in untreated patients. Body temperature indicates acute disease progression over time. Antibody titer was measured by determining the highest twofold serum dilution causing agglutination of *Salmonella enterica* serovar Typhi (Section 31.5). Titer is shown as the reciprocal of the highest dilution showing an agglutination reaction. Presence of viable bacteria in blood, feces, and urine was determined from cultures. The pathogen clears from the blood as the antibody titer rises, while clearance from feces and urine requires more time. Body temperature gradually drops to normal as the antibody titer rises. Typhoid used to be a major public health threat in the United States before drinking water was routinely filtered and chlorinated (Section 28.5).

27.6 감염성 질환에 대한 면역분석

- 혈청학(serology)
 - 체외에서 항원-항체 반응을 연구하는 학문
- 혈청학적 반응들이 많은 면역진단 검사에서 사용됨
- 진단을 위한 혈청학적 검사의 유용성은 검사의 특이성과 민감도에 의존함
 - 특이성(specificity): 항체가 특정 항원 만을 인식할 수 있는 능력
 - 민감도(sensitivity): 측정할 수 있는 항원의 최소농도

27.7 응집반응

- 응집반응

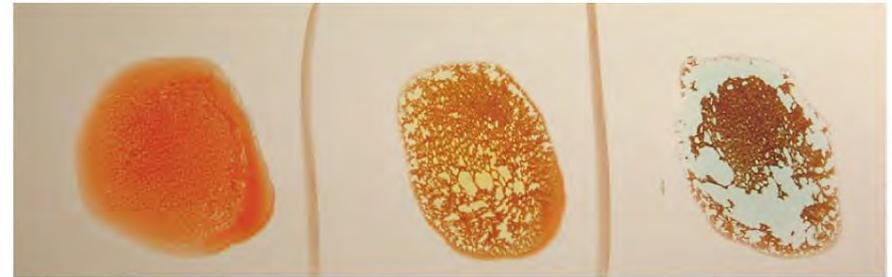
- 입자형태의 항원에 특이적인 항체가 결합하여 입자 항원들이 서로 뭉쳐서 가시적인 덩어리를 형성하는 것
- 응집검사는 수행하기가 쉽고, 특이적이며, 싸고, 빠르며, 민감함
- 표준화된 응집반응이 혈액형 확인 및 많은 병원균과 병원균 생산물의 동정에 사용됨

27.7 응집반응

- 직접

응집반응(agglutination)

- 수용성 항체가 세포 또는 다른 비수용성 입자의 표면에 있는 항원과 결합하여 가시적인 덩어리를 형성하는 것
- 적혈구 표면 항원의 동정에 사용됨 (그림 27.10)



O형

B형

A형

(a)

혈액형	백인	아프리카계 미국인	히스패닉	아시아계
O	45%	51%	57%	40%
A	40%	26%	31%	28%
B	11%	19%	10%	25%
AB	4%	4%	2%	7%

(b)

27.7 응집반응

• 수동 응집반응(*passive agglutination*)

- 라텍스 또는 활성탄 알갱이 같은 입자 또는 세포에 흡착이나 화학적 결합을 통하여 수용성 항원 또는 항체를 고정한 후, 항원-항체 반응으로 일어나는 응집반응을 말함 (그림 27.11)
- 직접 응집반응보다 5배 정도 민감도가 높아질 수 있음

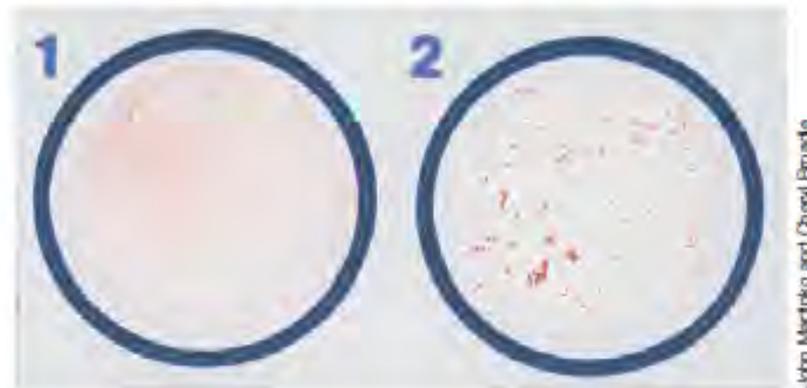


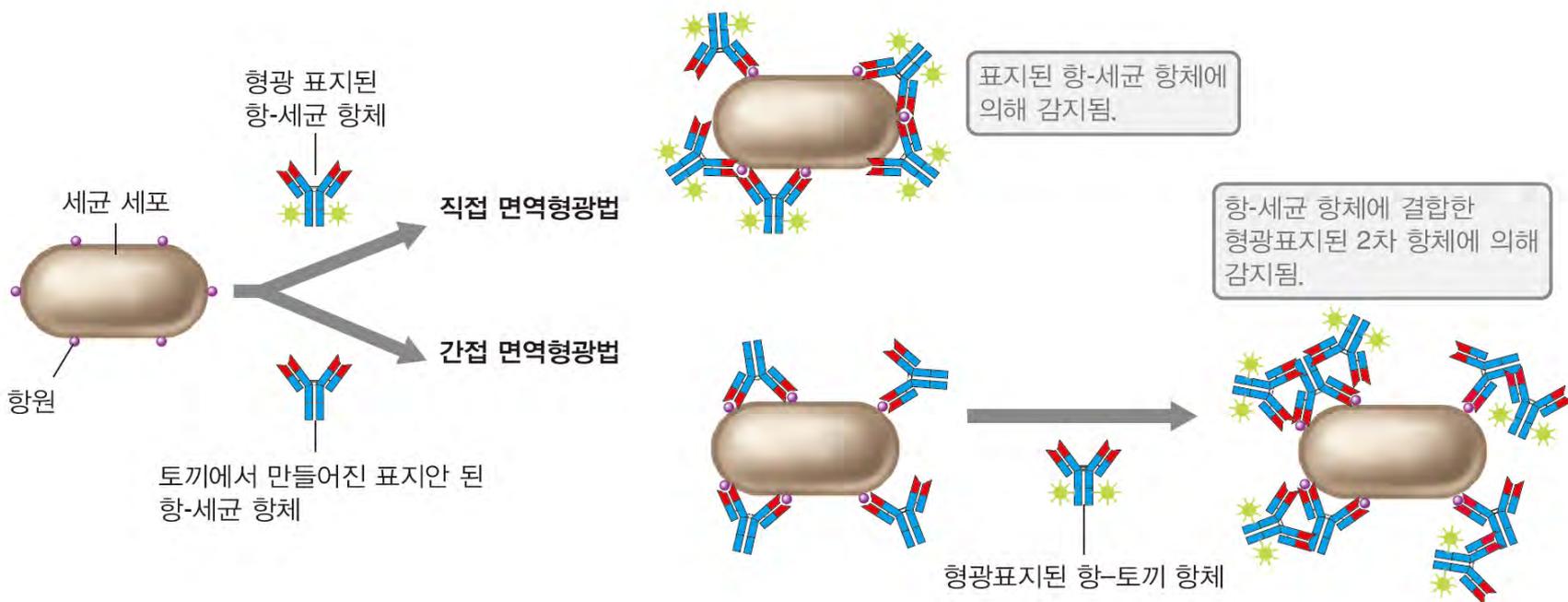
Figure 27.11 Latex bead agglutination test for *Staphylococcus aureus*. Panel 1 shows a negative control. Note the uniform pink color of the suspended latex beads coated with antibodies to protein A and clumping factor, two antigens found exclusively on the surface of *S. aureus* cells. Panel 2 shows the same suspension after a loopful of material from a bacterial colony was mixed into the suspension. The bright red clumps indicate a positive agglutination, identifying the colony as *S. aureus*.

27.8 면역형광법

- 형광염료가 결합된 항체를 이용하여 형태가 보존된 세포에서 항원을 감지할 수 있음
- 로다민 B (붉은색)와 플로레신 이소티오시아네이트 (FITC) (황록색)가 흔하게 사용되는 형광염료임

27.8 면역형광법

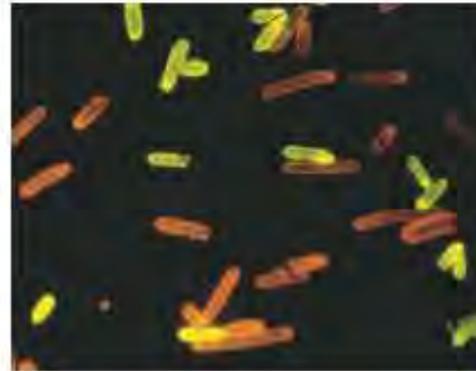
- 형광 방법
 - 직접 형광법
 - 표적항원에 결합하는 항체에 형광염료가 직접 결합되어 있음
 - 간접 형광법
 - 표적항원에 결합하는 1차 항체는 형광염료가 결합되어 있지 않으며, 1차 항체에 결합하는 2차 항체에 결합된 형광염료에 의해 감지됨 (그림 27.12)
- 2가지 방법이 모두 널리 사용됨



27.8 면역형광법

활용

- 병원체의 표면에 항체와 결합하는 항원을 가지고 있으면 병원체는 형광을 띠 (그림 27.13)
- 형광항체는 감염된 숙주 조직에 직접 적용될 수 있어 신속한 진단이 가능함
- 면역형광법은 비감염성 질환의 진단에도 사용됨 (예, 악성 종양세포)



(a)



(b)

Figure 27.13 Fluorescent antibody identification of bacteria. (a) Cells of *Clostridium septicum* were stained with antibody conjugated with fluorescein isothiocyanate, which fluoresces yellow-green. Cells of *Clostridium chauvoei* were stained with antibody conjugated with rhodamine B, which fluoresces red-orange. (b) Immunofluorescent stained cells of *Legionella pneumophila*, the cause of legionellosis. The specimen was taken from biopsied lung tissue. The individual organisms are 2–5 μm in length. The cells were stained green with antibodies coupled to fluorescein isothiocyanate.

Weilbome Research Laboratories

William B. Cherry

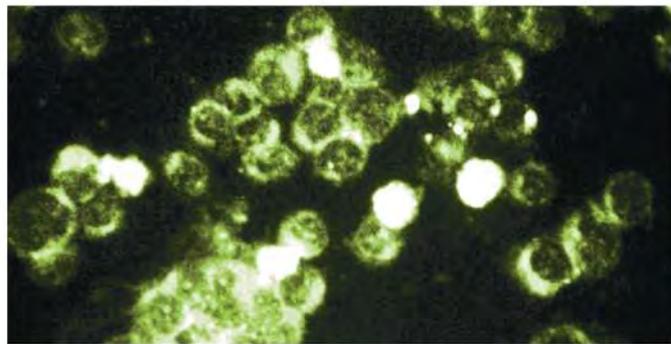
27.8 면역형광법

- 형광항체의 추가 활용가능 용도:
 - 혼합된 세포들로부터 특정 세포의 분리
 - 여러 종류의 세포들이 혼합된 시료에서 개별 세포 종류에 속하는 세포의 수를 측정
 - 바이러스 감염진단 보조 (그림 27.14)



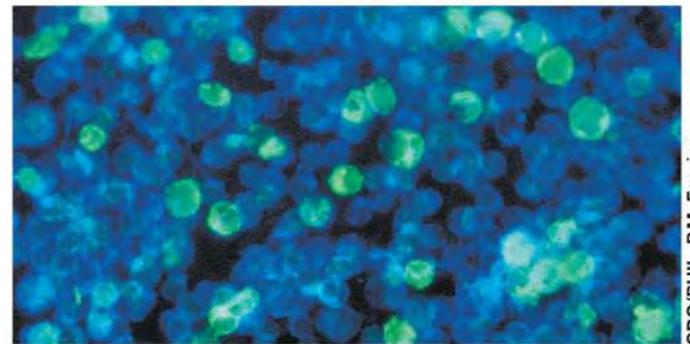
Dharam Ablashi and Robert C. Gallo

(a)



CDC/PHIL, H.C. Lyerla

(b)



CDC/PHIL, P.M. Feorino

(c)

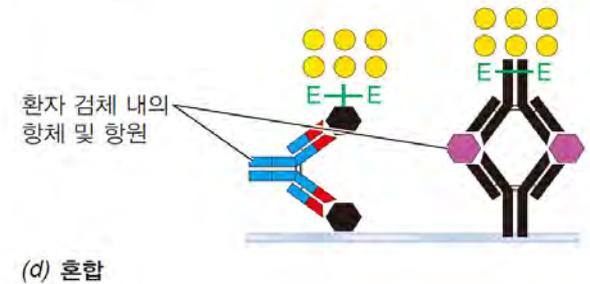
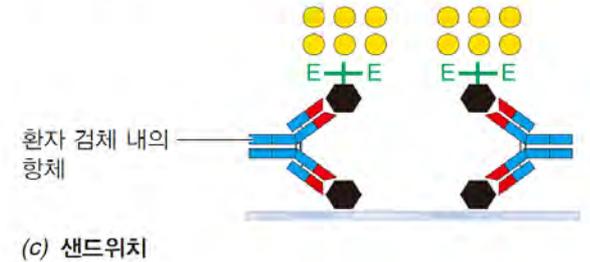
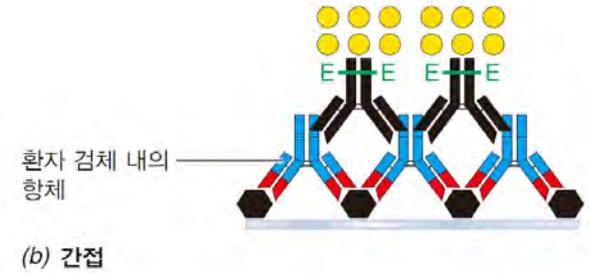
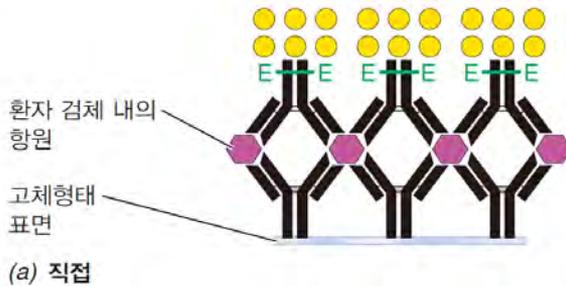
27.9 효소 면역측정법, 신속 진단검사 및 면역블롯

- 효소 면역측정법 (Enzyme immunoassay, EIA or enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)
 - 매우 민감한 면역학적 분석법
 - 임상진단 및 연구용으로 널리 사용됨
 - 효소가 공유결합으로 결합된 항체를 사용
 - 신속진단 검사는 EIA와 유사
 - 항원-항체 복합체를 감지함

27.9 효소 면역측정법, 신속 진단검사 및 면역블롯

- 4가지 다른 EIA 방법이 자주 사용됨 (그림 27.15):
 - 직접 EIA: 항원 검출
 - 간접 EIA: 항체 검출
 - 샌드위치 EIA: 항체 검출
 - 혼합 EIA: 직접 EIA와 샌드위치 EIA의 혼합

검은색 항체 (Y) 및 항원 (●)은 분석키트에 함께 공급된다.
 채색된 항체 (Y)와 항원 (●)은 환자 검체로부터 나온다.
 E+E는 항체 또는 항원에 결합된 효소를 나타낸다.
 ● 효소 활성에 의해 색깔이 나타남.



27.9 효소 면역측정법, 신속진단 검사 및 면역블롯

- 신속진단 검사(그림 27.16)
 - 고정된 막대모양의 주형에 시약이 흡착되어 있음
 - 체액을 주형에 적용
 - 주형에는 색깔을 띠는 분자 (발색제)가 결합된 수용성 항원이 있음
 - 주형에는 또한 한 줄로 고정된 항원이 있음
 - 항체가 항원과 결합함
 - 발색제가 모여 농도가 충분히 높아지면 색깔이 나타남

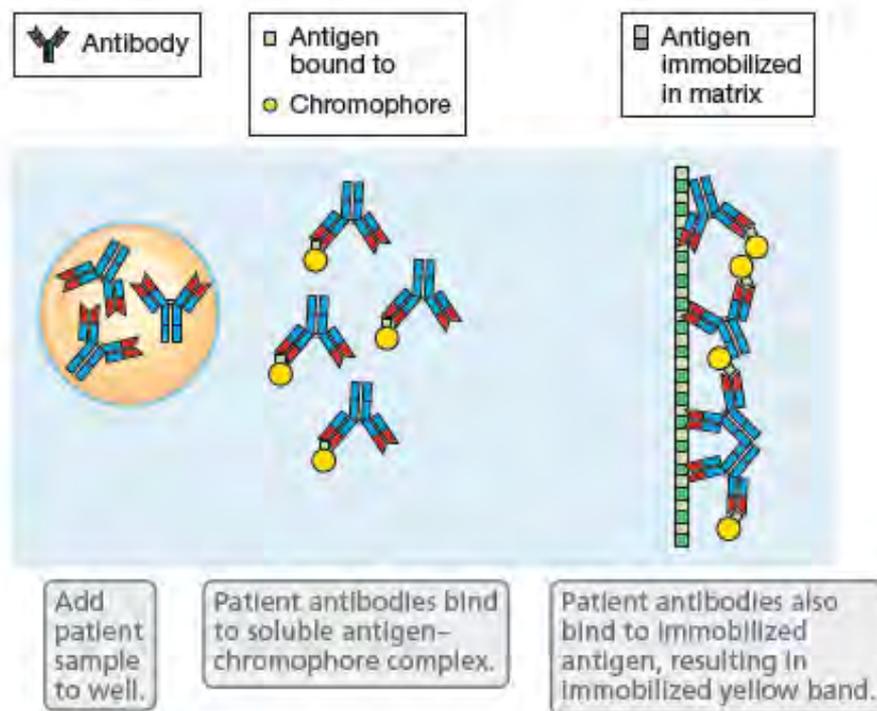


Figure 27.16 Rapid tests. A body fluid such as urine, blood, saliva, or sputum is applied to the reagent-support matrix containing soluble antigen conjugated to a chromophore. The liquid sample diffuses through the matrix, and antibodies bind the chromophore-labeled antigen. Incorporated into the matrix is a single line of antigen fixed to the matrix. When the labeled antigen-antibody complex contacts and binds the fixed antigen, the concentration of labeled complex builds and the chromophore becomes visible as a colored line on the line of fixed antigen, indicating a positive test for the antibody.

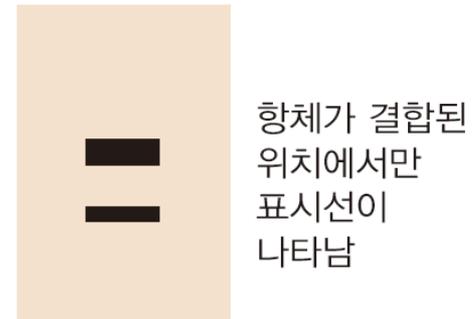
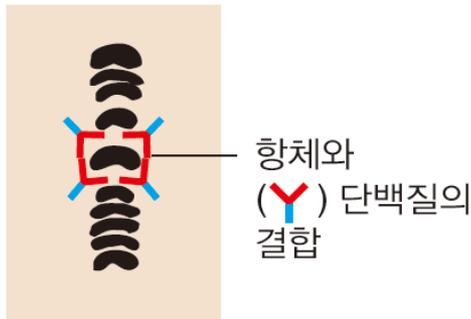
27.9 효소 면역측정법, 신속 진단검사 및 면역블롯

- 면역블롯 (immunoblot)
 - 단백질 전기영동 후, 단백질을 박막에 전이시키고 특정 항체를 첨가하여 감지함 (그림 27.17)
 - 면역블롯 방법은 특정 항원에 대한 항체 또는 항원 자체를 감지하는데 사용됨

1. 분리된 HIV 단백질들을 담고 있는 막을 환자 혈청으로 처리한다. HIV 양성 항체는 막에 결합한다.

2. 효소가 결합된 2차 항체를 첨가하여 항원-항체 복합체에 결합시킨다.

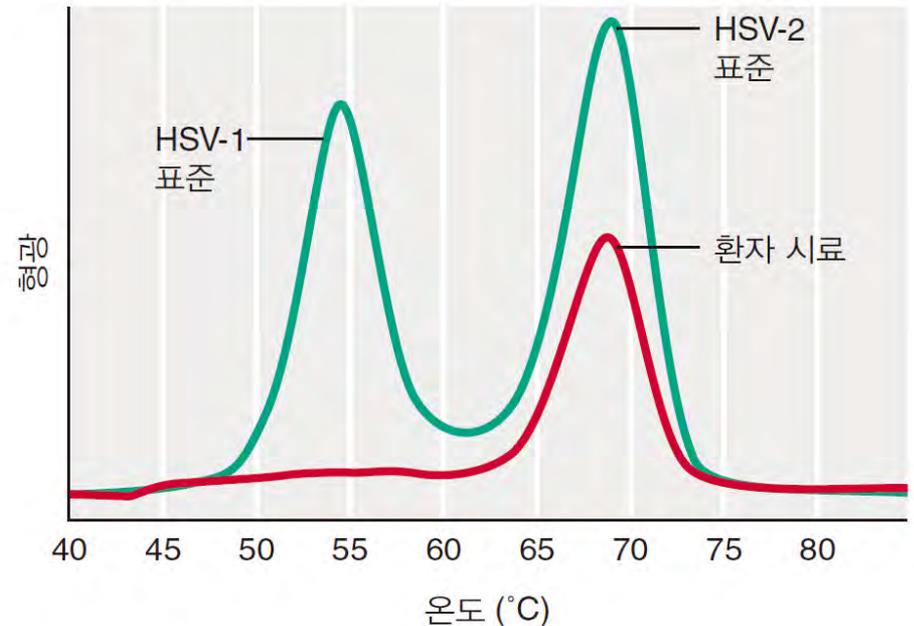
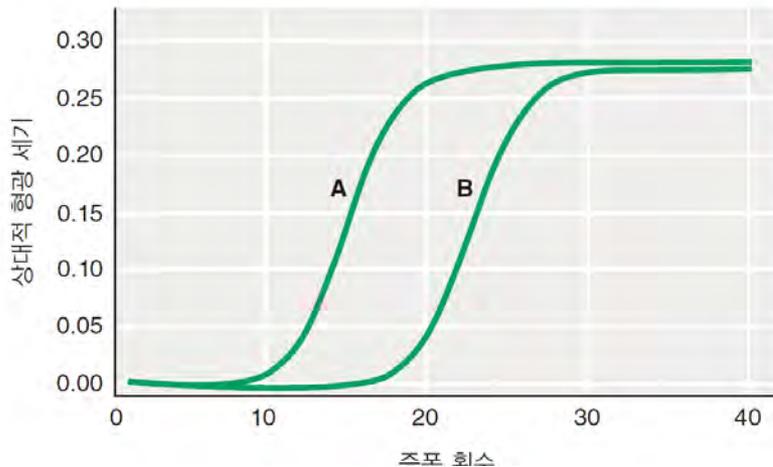
3. 효소의 기질을 첨가하여 항체가 결합된 단백질을 가시화 한다.



면역 블롯 실험방법

27.10 핵산 증폭

- 중합효소 연쇄반응 (Polymerase chain reaction, PCR)
 - 증폭된 유전자 절편의 존재는 병원체의 존재를 확인함 (그림 27.18)
 - 역전사 PCR (RT-PCR)
 - 병원체-특이적 RNA를 이용해 cDNA를 만듦
 - 정량적 실시간 PCR (qPCR; 그림 27.19)
 - 형광 표지된 PCR 산물을 이용
 - 거의 즉시 결과를 나타냄



IV. 향미생물 억제

- 향미생물 억제는 아래의 특성을 기준으로 분류함:
 - 분자구조
 - 작용기작 (그림 27.20)
 - 항생활성 범위 (그림 27.21)
- 향미생물 억제제의 2가지 종류
 - 합성 향미생물 억제제
 - 항생제 (천연 향미생물제)

세포벽 형성

- Cycloserine
- Vancomycin
- Bacitracin
- Penicillins
- Cephalosporins
- Monobactams
- Carbapenems

엽산 대사

- Trimethoprim
- Sulfonamides

세포막 구조 및 기능

- Polymyxins
- Daptomycin

DNA gyrase

- Quinolones
 - Nalidixic acid
 - Ciprofloxacin
 - Novobiocin

RNA 신장

- Actinomycin

DNA 주형 RNA 중합효소

- Rifampin
- Streptovaricins

단백질 합성 (50S 억제제)

- Erythromycin (macrolides)
- Chloramphenicol
- Clindamycin
- Lincomycin

단백질 합성 (30S 억제제)

- Tetracyclines
- Spectinomycin
- Streptomycin
- Gentamicin
- Kanamycin
- Amikacin
- Nitrofurans

단백질 합성 (tRNA)

- Mupirocin
- Puromycin

지질 생합성

- Platensimycin

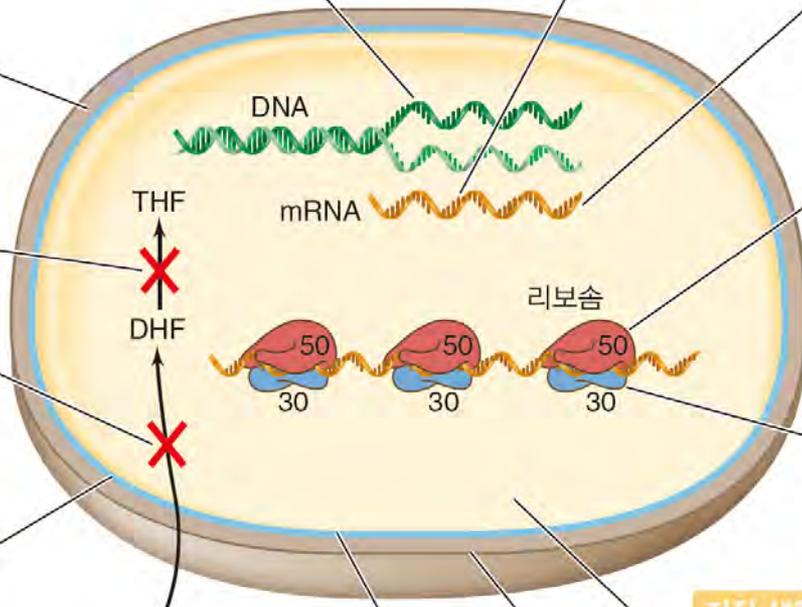


그림 27.20

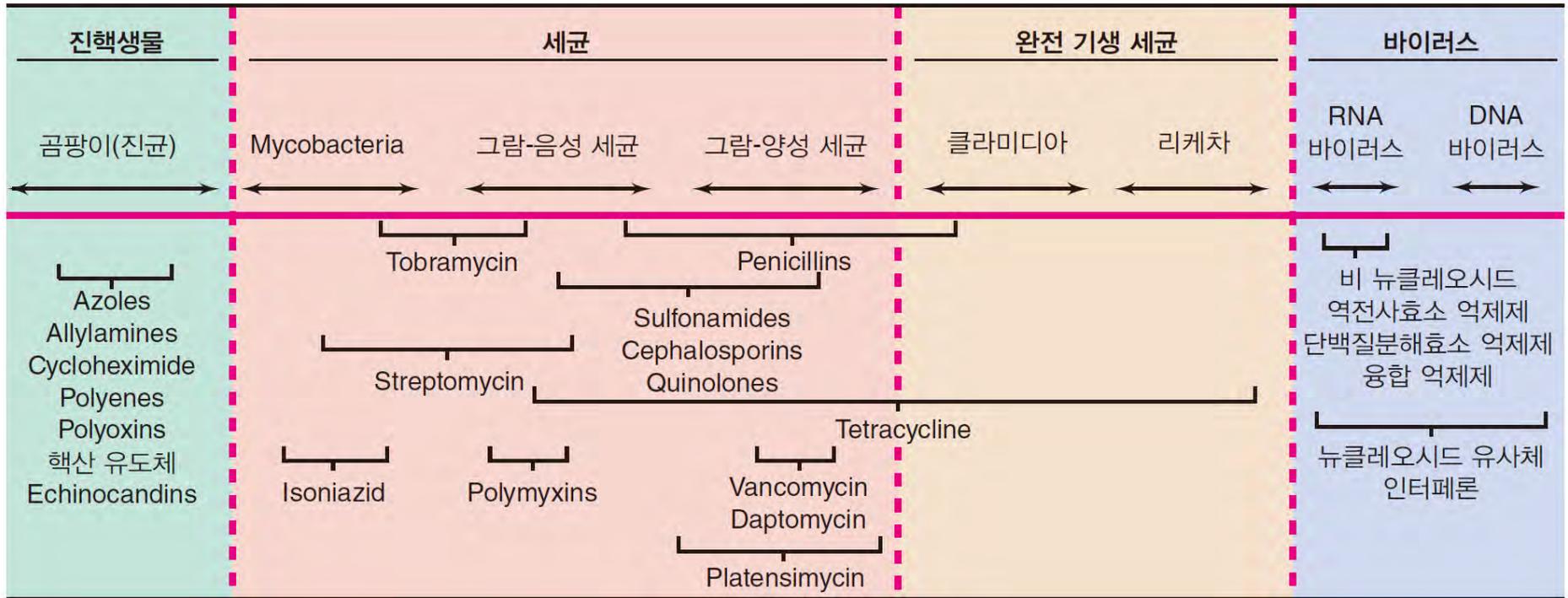
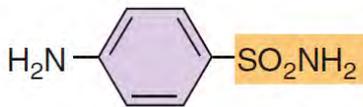


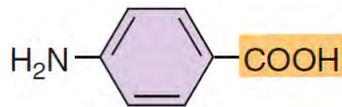
그림 27.21

27.11 합성 항미생물 약제

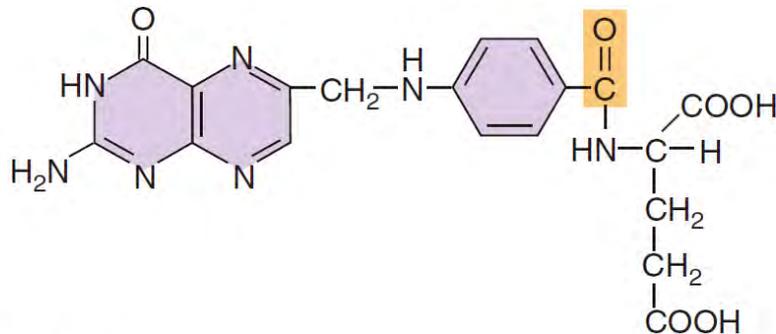
- 생장인자 유사체(growth factor analog)는 성장인자와 유사한 구조를 하고 있지만 세포에는 기능을 하지 않음
 - 비타민, 아미노산 및 다른 화합물의 유사체
- 설파계 약제(sulfa drug): 1930년대 Gerhard Domagk에 의해 발견
 - 세균의 성장억제 (sulfanilamide가 가장 간단한 형태; 그림 27.23)
- Isoniazid는 mycolic acid의 합성을 저해함으로써 *Mycobacterium*에만 성장억제 효능을 나타내는 성장인자 유사제임



(a) 설파닐 아마이드



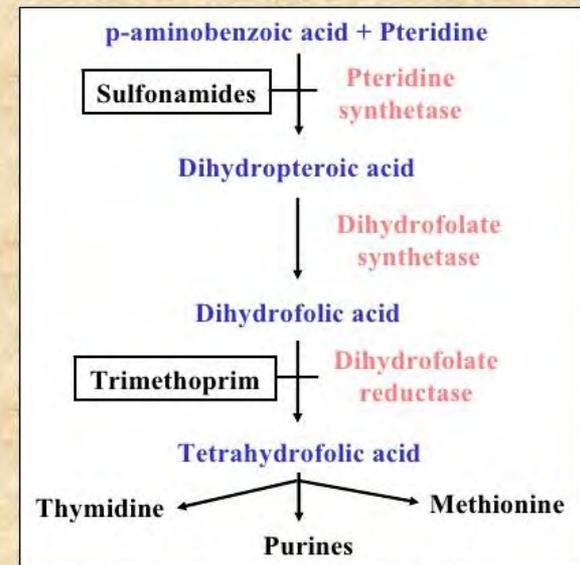
(b) p-Aminobenzoic acid



(c) 엽산

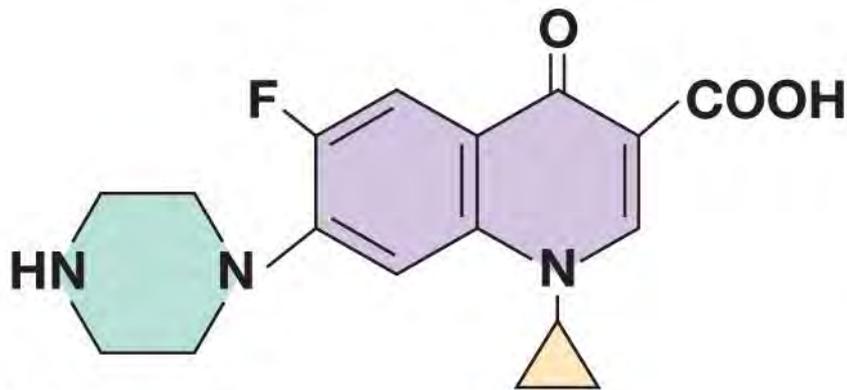
Inhibitors of Folic Acid Synthesis

- Basis of Selectivity- Bacteria synthesize folic acid, humans do not. We get it from our diet.
- Review of Folic Acid Metabolism
- Tetrahydrofolate required for the methyl group on methionine, and for thymidine and purine synthesis.

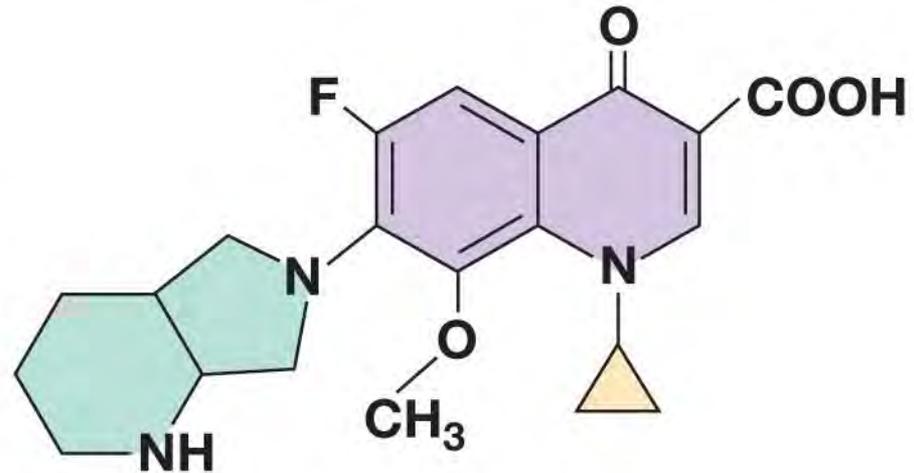


27.11 합성 항미생물 약제

- 퀴놀론(QUINOLONES)은 DNA gyrase의 기능을 저해하는 항미생물 제제임 (예, ciprofloxacin; 그림 27.24)



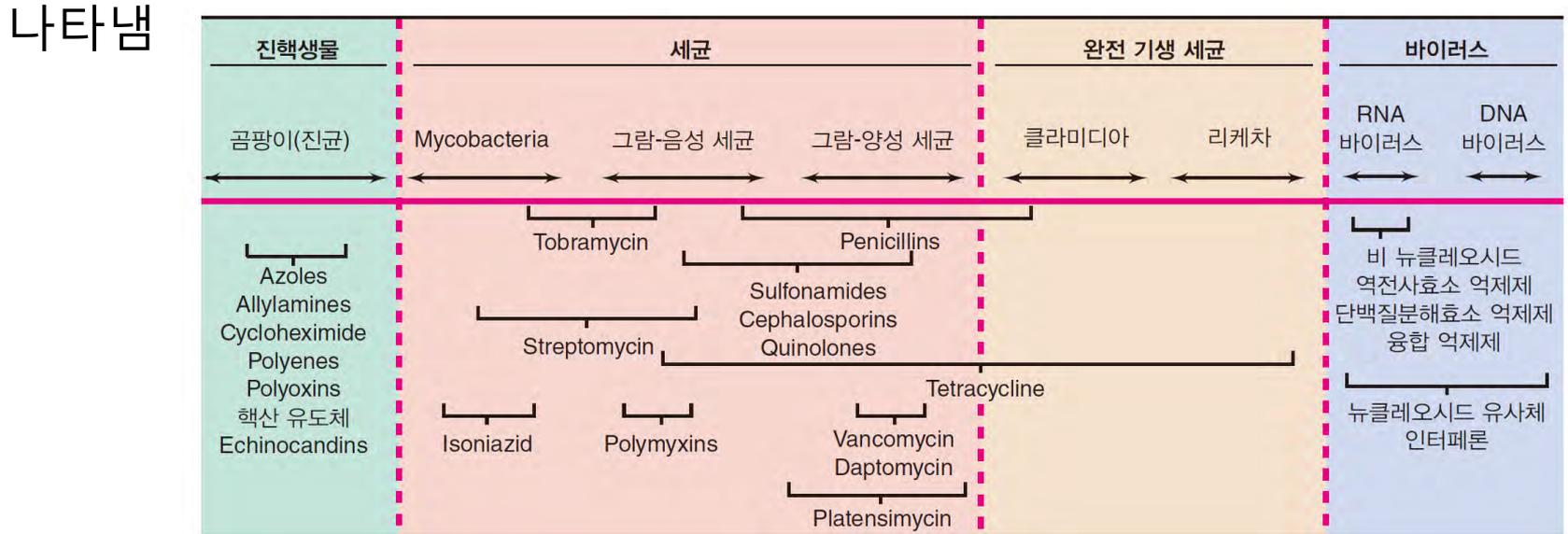
(a)



(b)

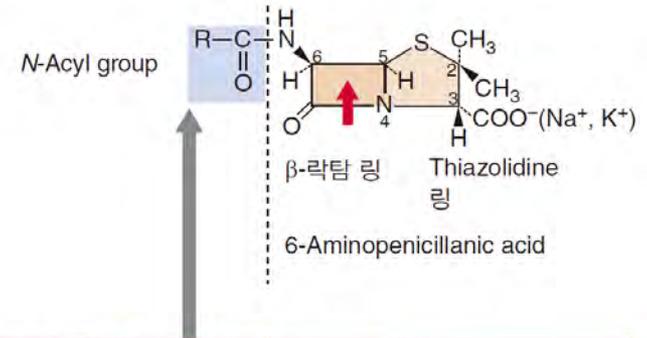
27.12 천연 항미생물 약제: 항생제

- 항생제(antibiotics)는 천연에서 생산되는 항미생물제임
 - 알려진 항생제들 중 1% 이하가 임상적으로 유용함
 - 효능 증가를 위해 변형시킬 수 있음 (부분합성(semisynthetic) 항생제)
- 항생제 종류에 따른 미생물의 감수성은 크게 차이 남
 - 그람양성과 그람음성 세균은 항생제 감수성에 차이를 보임
 - 광범위 항생제(broad spectrum antibiotics)는 양 그룹에 모두 감수성을 나타냄



27.13 베타-락탐 항생제: 페니실린(penicillin) 및 세팔로스포린(cephalosporium)

- 베타-락탐계 (β -lactam) 항생제는 가장 중요한 항생제 중의 하나임
 - 페니실린과 세팔로스포린이 포함됨
 - 전세계적으로 사용되는 항생제의 절반이상을 차지함
- 페니실린 (그림 27.25)
 - Alexander Fleming에 의해 발견
 - **그람 양성 세균에 우선적으로 효과**
 - 일부 부분합성 형태가 일부 그람 음성 세균에 효과
 - **세포벽 합성을 억제함**

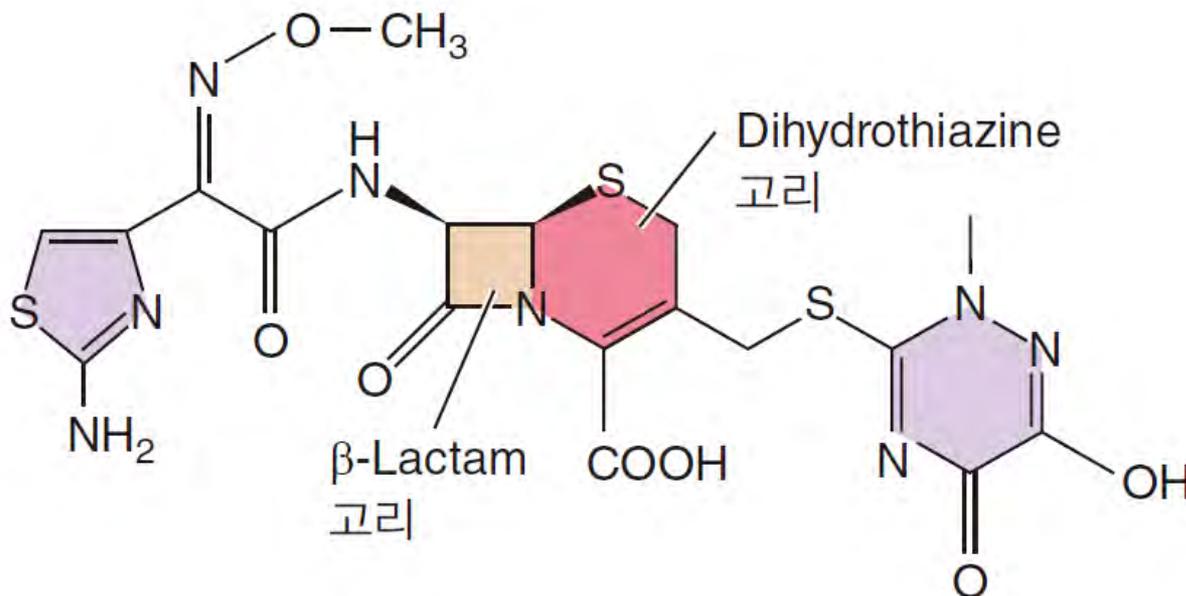


N-Acyl 그룹	명칭
	자연 페니실린 Benzylpenicillin (페니실린 G) 그람-양성 세균에 활성 β -lactamase에 민감
	부분합성 페니실린 메티실린 산에 안정적, β -lactamase에 내성
	옥사실린 산에 안정적, β -lactamase에 내성
	앰피실린 광범위한 활성 (특히 그람-음성 세균에 대하여), 산에 안정적, β -lactamase에 민감
	카베니실린 광범위한 활성 (특히 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>), 산에 안전적이거나 구강복용은 비효과적, β -lactamase에 민감

27.13 베타-락탐 항생제: 페니실린 및 세팔로스포린

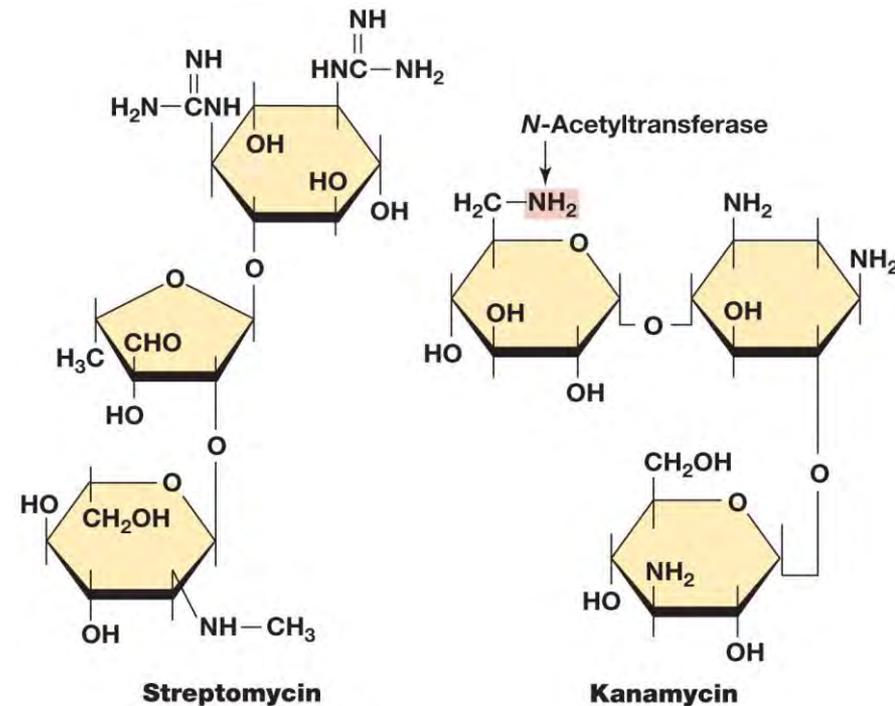
- 세팔로스포린 (그림 27.26)

- 진균류인 *Cephalosporium*에 의해 생산
- **페니실린과 같은 작용 기작**
- 페니실린보다 넓은 항생 활성범위
- 베타-락탐 고리들 자르는 효소에 대한 **저항성(β -lactamase에 내성)**
- 임질 치료에 일반적으로 사용



27.14 세균으로부터 나온 항생제

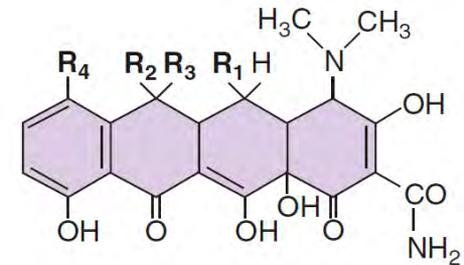
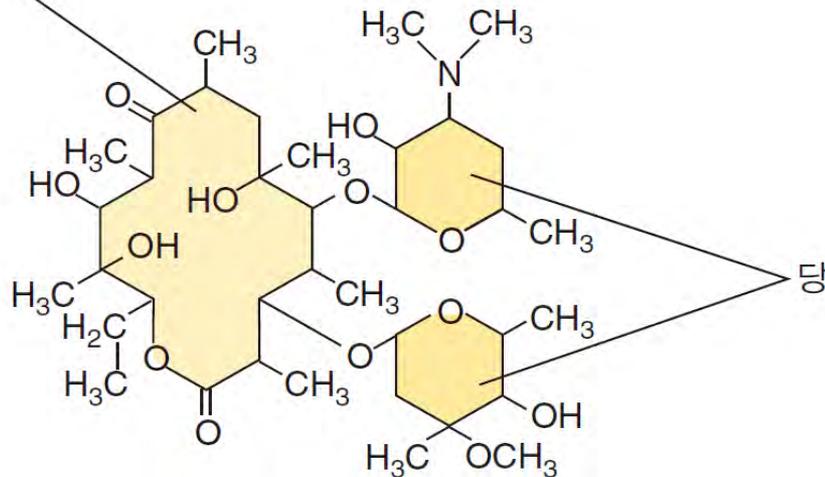
- 세균에 대해 항생활성을 나타내는 많은 항생제가 세균들에 의해 만들어짐
 - 아미노글리코사이드 (Aminoglycosides)는 글리코시드 결합(glycosidic linkage)으로 연결된 아미노당(amino sugar)을 가지고 있는 항생제임 (그림 27.27)
 - 예: 스펙토마이신, 카나마이신, 네오마이신, 젠타마이신
 - 30S subunit와 결합하여 단백질 합성을 방해
 - 오늘날에는 일반적으로 사용되지 않음
 - 다른 항생제 치료가 실패할 경우 사용됨



27.14 세균으로부터 나온 항생제

- 마크로라이드 (Macrolides)는 당이 결합된 락톤 고리를 가지고 있음 (그림 27.28)
 - 예: erythromycin
 - 리보솜의 50S 서브유닛을 표적으로 하는 광범위 항생제
- 테트라사이클린 (Tetracyclines)은 4개의 고리를 가지고 있음 (그림 27.29)
 - 사람과 동물에서 의료용으로 널리 사용
 - 단백질 합성을 억제하는 광범위 항생제
 - 리보솜의 30S 서브유닛 기능을 억제

마크로라이드 고리

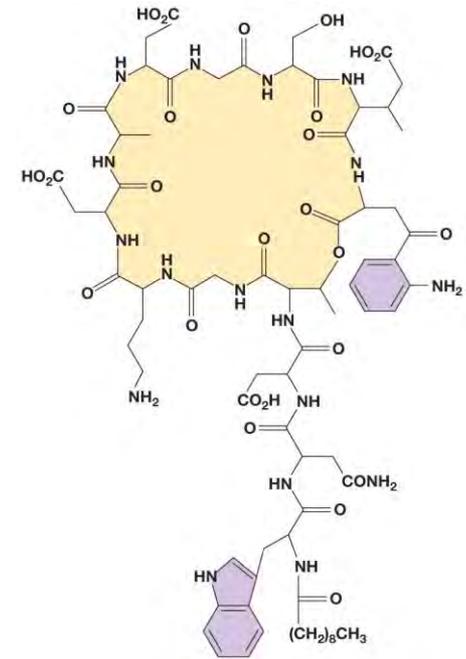


테트라 사이클린 유사체	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Tetracycline	H	OH	CH ₃	H
7-Chlortetracycline (aureomycin)	H	OH	CH ₃	Cl
5-Oxytetracycline (terracycline)	OH	OH	CH ₃	H

27.14 세균으로부터 나온 항생제

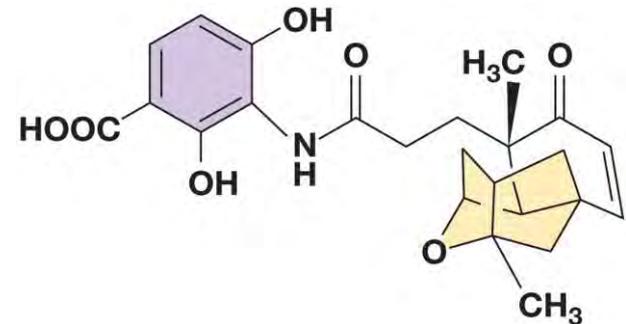
- 덱토마이신 (Daptomycin) (그림 27.30)

- *Streptomyces*에서 생산
- 그람 양성 세균의 치료에 사용
- 세포막에 구멍을 만듦



- 플라텐시마이신 (Platensimycin)

- 새로운 구조 형태의 항생제 (그림 27.31)
- 광범위 항생제; MRSA 및 반코마이신 내성 장내구균에 효과적임



27.15 항바이러스 약제

- 대부분의 항바이러스 약제는 숙주의 구조를 표적으로 하여 숙주세포에 독성을 나타냄
- 일반적으로 사용되는 대부분의 항바이러스제는 뉴클레오시드 유사체 (예, AZT) 임
 - 역전사 효소를 저해하여 바이러스 DNA의 합성을 차단
 - 뉴클레오시드 역전사 효소 억제제로도 불림
 - 비뉴클레오시드 역전사 효소 억제제 (NNRTI)는 역전사 효소에 직접 결합하여 효소의 활성을 억제함

Table 27.6 Antiviral compounds

Category/ examples	Mechanism of action	Virus affected
Fusion inhibitor		
Enfuvirtide	Blocks HIV-T lymphocyte membrane fusion	HIV (human immunodeficiency virus)
Interferons		
α , β , γ -Interferon	Induces proteins that inhibit viral replication	Broad spectrum (host-specific)
Neuraminidase inhibitors		
Oseltamivir (Tamiflu [®]) and zanamivir (Relenza [®])	Block active site of influenza neuraminidase	Influenza A and B
Nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI)		
Nevirapine	Reverse transcriptase inhibitor	HIV
Nucleoside analogs		
Acyclovir (Figure 29.42)	Viral polymerase inhibitor	Herpes viruses, <i>Varicella zoster</i>
Zidovudine (AZT) (Figure 29.48a)	Reverse transcriptase inhibitor	HIV
Ribavirin	Blocks capping of viral RNA	Respiratory syncytial virus, influenza A and B, Lassa fever
Nucleotide analogs		
Cidofovir	Viral polymerase inhibitor	Cytomegalovirus, herpesviruses
Tenofovir (TDF)	Reverse transcriptase inhibitor	HIV
Protease inhibitors		
Indinavir, saquinavir (see Figure 27.37)	Viral protease inhibitors	HIV

27.15 항바이러스 억제제

- 단백질분해효소(Protease) 억제제는 커다란 바이러스 단백질 사슬을 각 바이러스 구성 단백질로 자르는 과정을 저해함
- 융합 억제제는 바이러스가 숙주세포에 융합하여 감염되는 것을 막음
- 인플루엔자 감염을 제한하는 억제제:
 - Neuraminidase 억제제 (Tamiflu, Relenza)
- 인터페론은 작은 크기의 단백질로 숙주의 비감염 세포를 자극하여 항바이러스 단백질의 생산을 촉진하여 바이러스의 증식을 억제함

27.16 항진균 약제

- 진핵생물인 진균은 화학요법으로 치료하는데 어려움이 있음 (그림 27.32)
 - 여러 세포기관들이 동물 및 사람의 것과 같음
 - 그 결과, 많은 항진균제들이 국소적으로 사용됨
 - 몇 개의 약제만이 진균에 특이적인 대사과정을 표적으로 함

세포막 기능:

Polyenes은 ergosterol에 결합하여 세포막 형성을 방해

소포체

Ergosterol 합성:

Azoles과 allylamines은 합성을 저해

핵

리보솜

미토콘드리아

미세소관 형성:

Griseofulvin은 유사분열 동안 미세소관 형성을 방해

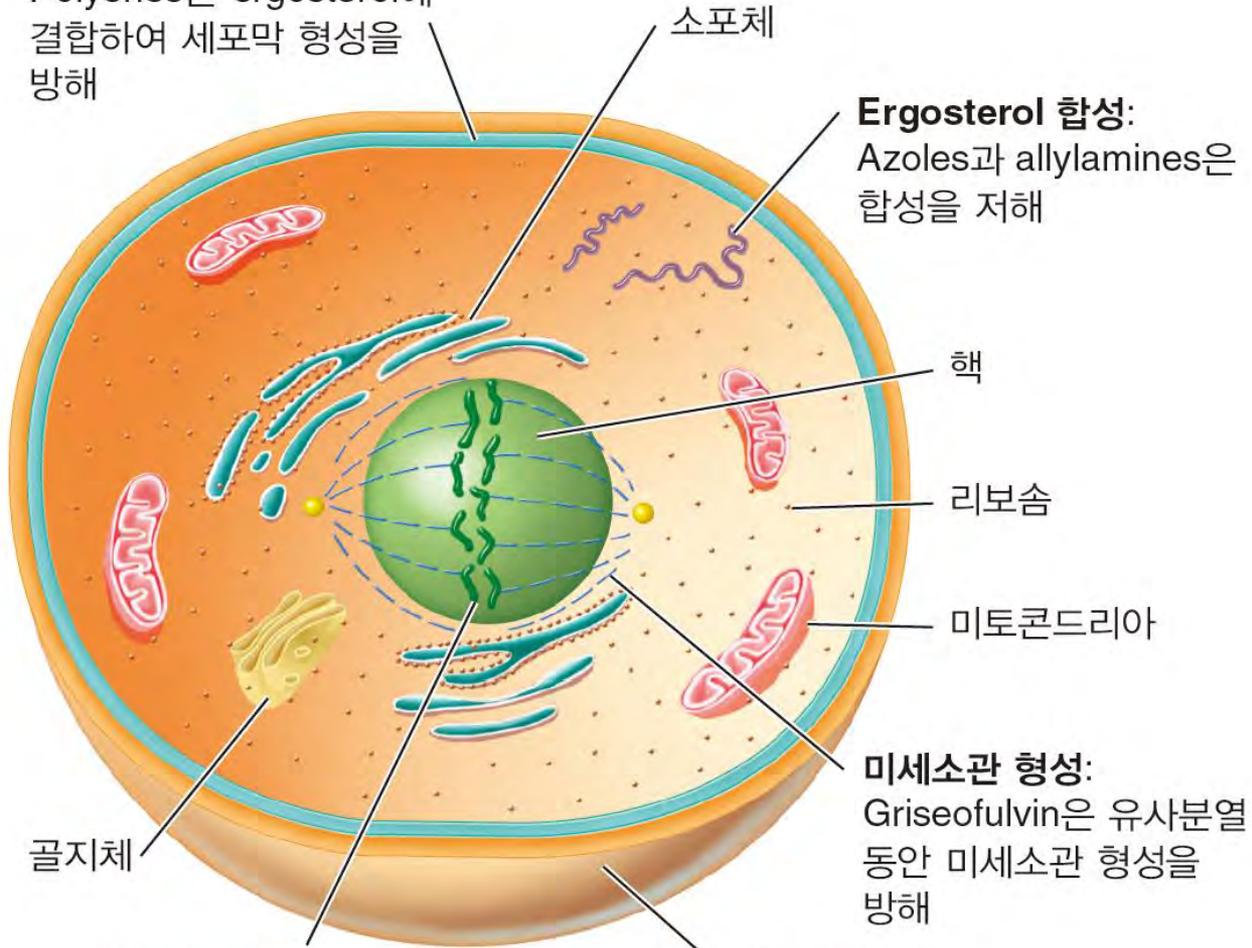
골지체

핵산 합성:

5-Fluorocytosine은 뉴클레오티드 유사체로 핵산의 합성을 저해한다.

세포벽 합성:

Polyoxins은 키틴합성을 억제한다. Echinocandins은 글루칸 합성을 저해한다.



27.16 항진균 약제

- 에르고스테롤(Ergosterol) 억제제 은 진균 세포막의 특이적 구성성분인 에르고스테롤을 표적으로 함
- 에치노칸딘(Echinocandins)
 - 1,3 β -D glucan 합성효소를 억제
 - *Candida* 감염 치료에 사용
- 다른 약제들은 키틴 또는 엽산 생합성을 저해하거나 미세소관(microtubule) 중합체 형성을 억제함
- 항진균제 내성 진균이 나타나고 있음

V. 항미생물 약제 내성

- 27.17 약제내성 기작 및 확산
- 27.18 새로운 항미생물 약제

27.17 약제내성 기작 및 확산

- 항미생물 약제 내성
 - 정상적으로 감수성을 보이던 화학적 치료제의 효과에 미생물이 저항력을 얻게 되는 것

27.17 약제내성 기작 및 확산

- 미생물이 특정 항생제에 저항성을 갖는 5가지 기작:

- 항생제가 세포 안으로 들어오지 못하게 함
- 항생제를 파괴하여 불활성화 시킴 (그림 27.33)
- 항생제의 표적물질을 변형시킴
- 내성을 갖는 생화학적 대사경로를 개발
- 유출(efflux)이라는 과정을 통해 항생제를 세포 밖으로 배출함

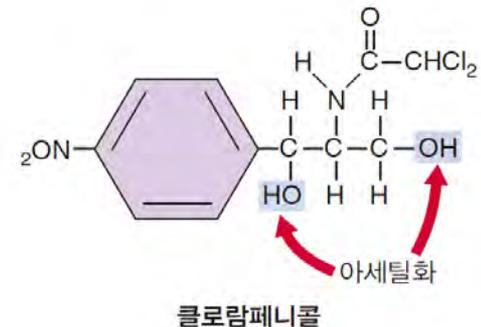
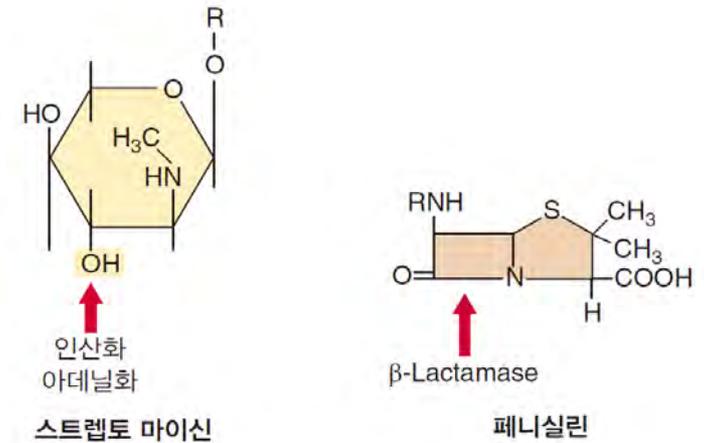


Table 27.8 Bacterial resistance to antibiotics

<i>Resistance mechanism</i>	<i>Antibiotic example</i>	<i>Genetic basis of resistance</i>	<i>Mechanism present in:</i>
Reduced permeability	Penicillins	Chromosomal	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Enteric bacteria
Inactivation of antibiotic Examples: β -lactamases; modifying enzymes such as methylases, acetylases, phosphorylases, and others	Penicillins	Plasmid and chromosomal	<i>Staphylococcus aureus</i> Enteric Bacteria
	Chloramphenicol	Plasmid and chromosomal	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
	Aminoglycosides	Plasmid	Enteric bacteria
Alteration of target Examples: RNA polymerase, rifamycin; ribosome, erythromycin, and streptomycin; DNA gyrase, quinolones)	Erythromycin	Chromosomal	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Rifamycin		Enteric bacteria
	Streptomycin		Enteric bacteria
	Norfloxacin		Enteric bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>
Development of resistant biochemical pathway	Sulfonamides	Chromosomal	Enteric bacteria
			<i>Staphylococcus aureus</i>
Efflux (pumping out of cell)	Tetracyclines	Plasmid	Enteric bacteria
	Chloramphenicol	Chromosomal	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i>
	Erythromycin	Chromosomal	<i>Staphylococcus</i>

27.17 약제내성 기작 및 확산

- 환자에서 분리된 대부분의 약제내성 세균은 R 플라스미드에 약제내성 유전자를 가지고 있음
- 여러 증거들이 R 플라스미드는 항생제가 사용된 시대 이전에 이미 존재하고 있다는 것을 나타냄
- 의료, 수의학 및 축산 분야에서의 항생제 사용이 R 플라스미드의 확산을 유도함 (그림 27.34)
 - 항생제 과다사용의 많은 예
 - 항생제가 필요 이상으로 남용되고 있음
(예, 축산업에서 동물 사료에 첨가제로 항생제가 사용됨)

27.17 약제내성 기작 및 확산

- 거의 모든 병원성 미생물들은 일부 항미생물제에 저항성을 가지고 있음 (그림 27.35)
- 적은 수의 병원균들이 알려진 모든 항미생물 약제에 대한 내성을 나타내고 있음
 - 메티실린 내성 황색포도상구균(MRSA)
- 항생제를 필요한 경우에만 적절하게 사용함으로써 내성발생을 최소화할 수 있음
- 특정 항생제에 대한 내성은 그 항생제를 수년간 사용하지 않음으로써 복원될 수 있음

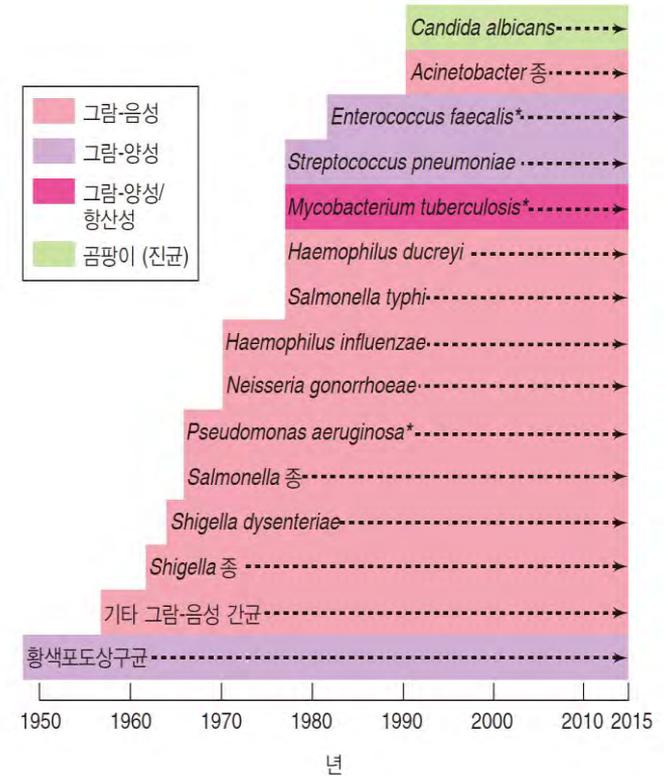
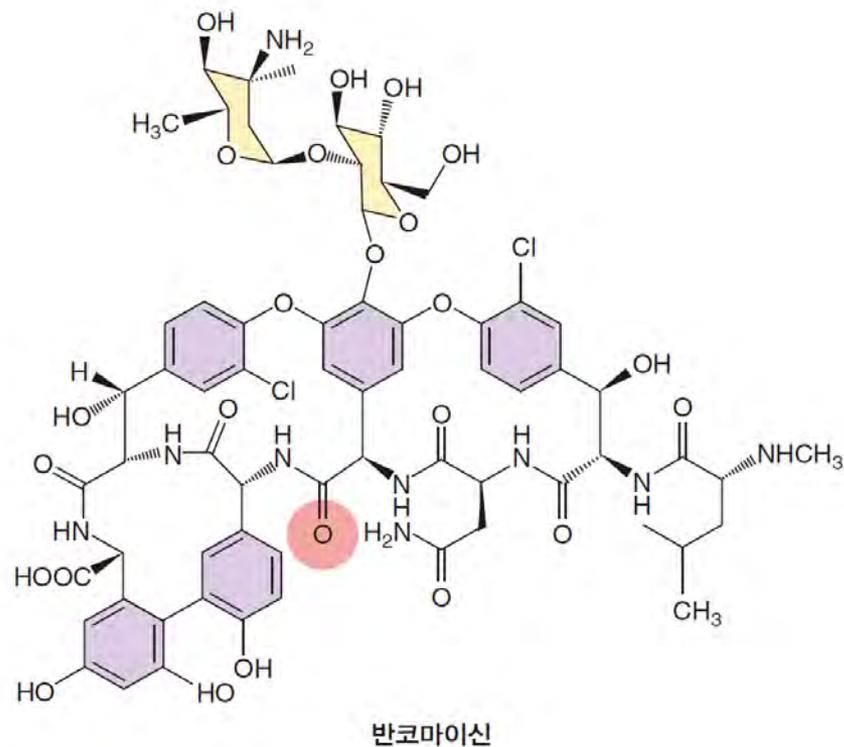


Table 27.9 Guidelines for prevention of antimicrobial drug resistance

<i>Directive</i>	<i>Action/examples</i>	<i>Rationale</i>
Vaccinate to prevent common diseases	Immunize with DPT and other required and recommended vaccines.	Immunization prevents diseases that may require antimicrobial drug treatment.
Avoid unnecessary invasive procedures	Avoid catheters, biopsies, and so on unless absolutely necessary.	Parenteral procedures increase the risk of pathogen exposure.
Identify and target the pathogen	Use the antibiotic that selectively targets the pathogen of concern. For example, treat streptococcal sore throat with penicillin instead of erythromycin.	Exposure to broader-spectrum antibiotics is unnecessary and may damage local microflora, leading to infection by opportunistic pathogens.
Treat with the oldest effective antimicrobial drug	For example, treat streptococcal sore throat with penicillin instead of vancomycin.	Treatment with the latest antimicrobials enhances potential for resistance selection.
Monitor antimicrobial use	Discontinue treatment after the prescribed course.	Unnecessary treatment enhances potential for antibiotic resistance selection.
Break the chain of contagion	Isolate patients when practical and practice good housekeeping and personal hygiene.	Reducing contact and practicing good hygiene limits potential for cross-contamination of healthcare providers and clients.
Access experts	Consult with healthcare infection-control teams.	Local information can best inform selection of antibiotic therapy.

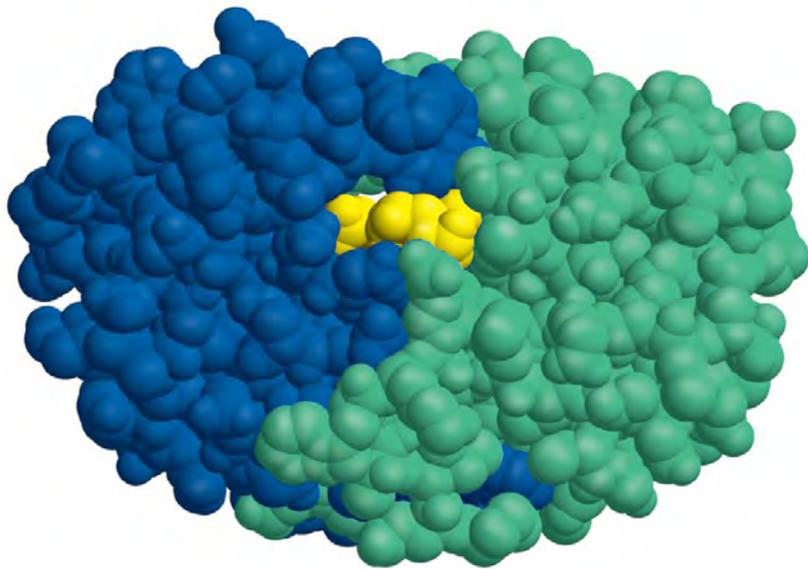
27.18 새로운 항미생물 약제

- 항생제 내성에 대한 장기적 해결책은 새로운 항미생물 약제를 개발하는 것임
 - 기존 항미생물 약제를 변형하는 것도 종종 성공적임 (그림 27.36)
- 자동화된 화학합성법 (조합화학)이 신약개발의 속도를 높였음
 - 하나의 유용한 임상약품을 찾기 위해 약 7백만 개의 화합물을 탐색해야 함

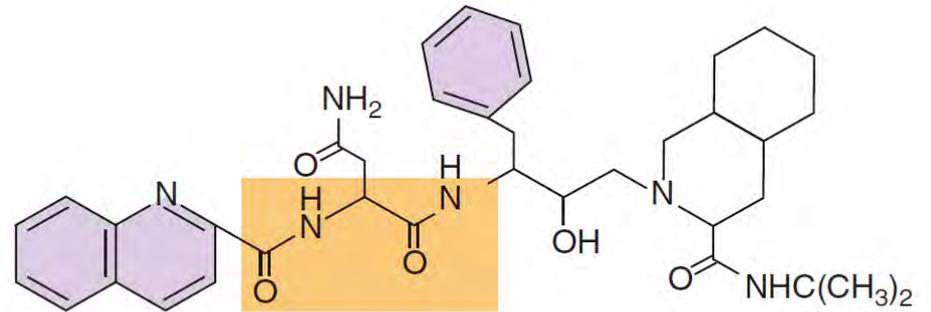


27.18 새로운 항미생물 약제

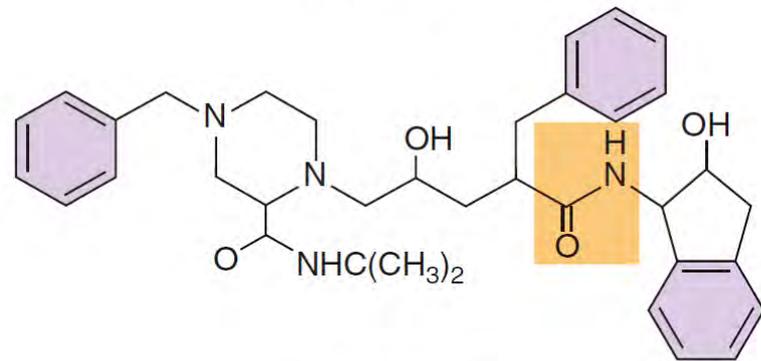
- 최근에는 미생물의 특정 구조인자와 결합하는 분자를 설계하기 위해 컴퓨터가 사용됨
 - 가장 성공적이 예는 *sauquinavir* 이다 (그림 27.37)
 - HIV 단백질분해 효소의 활성화 부위에 결합함
- 천연 물질을 탐색하기 위한 새로운 방법들이 사용됨
 - 플라텐시마이신(platensimycin)의 발견: 세균의 지질합성 방해
- 약제 병용 치료법이 이용될 수 있음 (예, ampicillin과 sulbactam)
- 박테리오파지를 활용한 치료법



(a) HIV 프로테아제



Saquinavir



Indinavir

(b)