

## 임상검체로부터 분리한 녹농균의 생물학적 및 혈청학적 특성

임은경 · 김영희 · 김영부 · 오양호\*

부산대학교 의과대학 미생물학교실

### Biological and serological characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* from clinical specimens

Eun-Gyoung Lim, Young-Hee Kim, Yung-Bu Kim and Yang-Hyo Oh

Department of Microbiology College of Medicine Pusan National University Pusan, 602-739 Korea

#### Abstract

One hundred eight strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from the patients (sputum, urine, burn skin, stool and blood) of Pusan National University hospital were tested for exoenzyme production, antimicrobial susceptibility and serotyping. The results obtained were as follow: In exoenzyme production test, 50 strains (46.30 %) produced both protease and elastase. Thirty three strains (30.55 %) did not produce any exoenzyme, 18 strains (16.67 %) produced only protease and 7(6.48 %) stains only produced elastase.

As the result of antimicrobial susceptibility by the disc diffusion method, most strains were resistant to sulfamethoxazole (96.30 %). But the resistant rate against gentamicin and ticarcillin were 47.23 % and 46.30 % respectively. The resistant rate to other antibiotics were less than 40 %.

All strains could be serologically typed. Most strains were identified as type III: among them, 51 strains were belonged to serotype E. The correlation of serotype and exoenzyme production was not found.

**Key words** – *Pseudomona aeruginosa*, antimicrobial susceptibility, serotype

#### 서 론

원내 감염은 여러 나라에서 심각한 문제이며 일반적으로 원내감염보고는 *Enterobacteriaceae* (34 %), *Staphylococcus aureus* (30 %), *Pseudomonas aeruginosa* (29 %), Coagulase negative staphylococci (19 %), enterococci (12%)의 순서로 알려져 있다[20].

이 중에서 녹농균은 감염력이 약한 약독균으로 숙주의 방어기전이 약화된 개체에 흔히 감염되는 기회 감염균이다. 녹농균은 신체의 거의 모든 조직에 감염될 수 있으며 국소적인 병변은 흔히 화상, 상처부위, 각막조직, 요도 또는 폐조직 등에서 나타난다[1].

중증환자, 약성종양 또는 대사질환환자, 의료용 기기의 삽입 및 조작을 받고 있는 환자들이 녹농균 감염의 주된 대상자이며 항암제나 항균제를 오랫동안 투여했거나 방사선치료를 받은 환자에서 이 균 감염이 잘 일어나고 있다 [5]. 특히, 화상센타나 암센타와 같은 특수 병동에서 녹농균은 모든 감염증 가운데 30 %를 차지하고 있다. 세균성 심

\*To whom all correspondence should be addressed  
Tel : 051-240-7710, Fax : 051-243-2259  
E-mail : yhohmic@hyowon.ac.kr

내막염이나 위장염도 녹농균감염에 의해 일어나기도 하며 각각조직의 염증은 실명까지 초래할 수 있다[10]. 녹농균이 국소 감염에서 혈류를 통해 전신에 전파되면 기타 장기조직에 감염되기도 하여 패혈증을 일으키기도 하며 녹농균에 의한 패혈증의 경우 사망률이 높아서 면역능이 저하된 개체에서는 거의 80%에 달하고 있다[5].

녹농균의 병원성 인자로 현재까지 보고된 것은 lipopolysaccharide를 비롯하여 exotoxin A[22], protease[12], elastase[18], lecithinase, collagenase, glycolipid, surface slime, leucocidin (cytotoxin), enterotoxin, pigment[7, 9] 및 exoenzyme S[6, 8]등이 있는데 이 중에서 alkaline protease와 elastase는 collagen, elastin, proteoglycan, 보체, 섬유소원, 면역글로불린,  $\alpha$ -proteinase inhibitor 및 human bronchial mucosal proteinase inhibitor등을 분해하며 토끼와 마우스에서 장기출혈, carrageenin성 부종 억제와 혈관투과성 항진 등의 작용들을 한다고 보고되어 있다[3]. 또한 녹농균은 각종 항생제에 높은 내성을 나타내는 균으로 상용 항생물질 투여에 의하여 이들 약제의 감수성인 기타 세균이 발육억제되는 경우, 병변부위에서 녹농균의 상대적 증식으로 인해 항생물질 투여에 의한 균교대 현상이 나타나, 녹농균은 원내감염의 중요한 감염균주로 대두되었다[21]. 따라서 일단 녹농균의 감염이 일어나면 숙주 측의 조건이 개선되지 않는 한, 또 녹농균에 대해서 MIC가 적은 항균제를 강력하게 투여하지 않는 한 녹농균을 제거할 수가 없다[21].

대부분의 항균제는 녹농균감염증에 대하여 별로 효과가 없으므로 녹농균감염환자의 생존에는 녹농균 정착의 예방과 일차적 질환의 관리가 무엇보다도 중요하다[4,19]. 이러한 처치가 제대로 지키지 않는 경우 녹농균의 전파확산은 증가하게되므로 병원내 역학 조사 및 분리 녹농균의 형별법등을 통해 녹농균의 확산을 방지하는 것이 중요하다.

본 연구는 임상가검물로부터 녹농균을 분리하여 분리부위별로 외독소생성 및 항균제감수성 양상과 혈청형별을 실시하여 이들 균의 특성 및 상호연관성을 살펴보았다.

## 실험재료 및 방법

### 사용균주

1999년 3월에서 8월 사이에 부산대학교 병원 외래환자의 객담, 소변, 분변, 혈액 및 화상피부 등의 임상가검물에

서 분리, 동정된 녹농균 108균주를 사용하였다.

### 세포외효소 검사법

#### 1) Protease 생성 시험

Protease 생성은 1% casein을 함유하는 Martley배지를 사용하였다. BHI (Brain Heart Infusion) broth로 37°C에서 18~24시간 배양한 배양액을 멸균한 원판 (disc)에 적셔 평판상에 두고 37°C에서 24~48시간동안 배양한 뒤 배지 내 casein을 분해하여 원판 주위에 투명대 (clear zone)를 형성하는 균주를 protease생성 균주로 판정하였다[3, 13].

#### 2) Elastase시험

1% elastin함유 Sbarra한천 평판배지를 만들어, 이 평판에 BHI broth로 37°C로 부란기내에서 18~24시간 배양한 상기 균주들의 배양액을 멸균한 원판에 적셔 이것을 Sbarra 배지 상에 놓고 37°C 부란기내에서 24~48시간동안 배양한 후에 원판 주위에 나타난 투명대를 관찰하여 elastase 생성 균주로 판정하였다[3,13].

### 항생제 감수성 시험

#### 1) 사용배지

항생제 검사를 위한 증균배지로는 nutrient broth (Difco. Lab. Detroit, MI., USA)를 사용하였고, 항생제 검사시험에 사용한 배지는 Mueller Hinton broth (Difco. Lab., Detroit, MI., USA)와 Mueller Hinton agar (Difco. Lab., Detroit, MI., USA)를 사용하였다.

#### 2) 항생물질

감수성 검사에 사용된 항균제 disc는 imipeneme (IPM) 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , ciprofloxacin (CIP) 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , sulfamethoxazole (SXT) 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , gentamicin (GM) 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , amikacin (AM) 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , carumonam (CAR) 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , ceftazidime (CAZ) 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , cefoperazone (CFZ) 75  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , ticarcillin (TIC) 75  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (BBL, Becton Dickinson Microbiology System Cockeysville, MD, USA)를 사용하였다.

#### 3) 원판확산법

항생제 감수성 검사를 위하여 Mueller Hinton broth에서 18-24시간 배양한 균액을 표준 백급이를 이용하여 일정량을 Mueller Hinton agar 표면에 균등하게 이식한 후 화

염멸균된 forceps를 이용하여 paper disc를 Mueller Hinton agar 표면에 균등한 간격으로 놓고 4℃에서 2시간 두었다가 37℃에서 24시간 배양하여 paper 원판 주변의 균발육저지 범위를 측정하고 표 1에 준하여 감수성 여부를 판정하였다[15].

**혈청형별 검사방법**

진단용 항혈청은 Kitasato연구소 제품인 진단혈청 13종류를 사용하였으며 실험방법은 Homma법에 준하였다[17].

즉 순수배양한 피검균의 큰 집락을 백금선으로 소량 긁어 슬라이드 글라스 위에서 생리식염수와 혼합하여 자연응집이 일어나지 않는 것을 확인한 후 3종의 혼합혈청과 각각 혼합하여 약 30초 전 후에 응집의 유무를 관찰하여 강한 응집을 나타내는 것을 양성으로 하였다. 각 항혈청을 사용하여 응집반응을 실시하여 양성으로 관찰되면 O형 항원으로 형별하였다. 의심스러운 응집반응이나 2종 이상의 항혈청에 응집한 경우는 피검균액을 120℃에서 10분 가열한 후 재검사하였다.

**결과 및 고찰**

**분리균주**

전체 108균주가 분리되었으며 객담에서 56주 (51.85%), 소변에서 20균주 (18.52%), 화상피부에서 10주 (9.26%), 변

Table 1. Zone of diameter standard for *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotics	Content of antibiotics ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Zone of diameter (mm)		
		R	I	S
Imipeneme	10	13	14-15	16
Ciprofloxacin	5	15	16-20	21
Sulfamethoxazole	25	10	11-15	16
Gentamicin	10	12	13-14	15
Amikacin	30	14	15-16	17
Carumonam	30	17	18-22	23
Ceftazidime	30	14	15-17	18
Cefoperazone	75	12	13-17	18
Ticarcillin	75	14	-	15

R: resistant, I: intermediate, S: susceptible

에서 4주 (3.7%), 혈액에서 3주 (2.78%)순으로 분리되었으며 기타 검체에서 분리한 15균주 (13.89%)도 실험에 사용하였다 (표 2).

**세포외효소 생성 성적**

각 균주들에 대한 세포외 효소 생성양상을 알아보기 위해 protease와 elastase의 생성여부를 검사하였으며 그 결과를 표 3에 나타내었다. 시험한 녹농균 중에서 protease와 elastase를 동시에 생성하는 균주가 전체의 46.30%인 50균주로 가장 많았으나, 이들 두 효소 모두를 생성하지 않는 균주도 30.55%인 33균주였다. Protease만을 생성하는 균주는 18주 (16.67%)였으며, 전체적으로 protease를 생성하는 균주는 68균주로 전체의 62.97%으로 나타내었다. 반면에 elastase만을 생성하는 균주는 7균주 (6.48%)이고 전체적으로는 57균주 (52.78%)가 이 효소를 생성하는 것으로 나타났다. 각각의 분리부위에 따른 녹농균의 세포외 효소 생성양상은 객담의 경우 56균주 중 24균주가 두 효소를 모두를 생성하지 않았으며 화상환자에서 분리한 녹농균의 경우는 10균주 중 7균주가 이 두 효소 모두를 생성하였고, 한 균주를 제외한 나머지 모든 균주가 이 두 효소 중 적어도 하나를 생성하는 것으로 나타났다. 혈액과 분변에서 분리한 균주의 경우는 다른 분리균주와는 다르게 protease보다는 elastase를 대부분 생성하였으며, 혈액 분리주의 경우는 3균주 모두가 elastase를 생성하였고 분변분리주는 4균주 중 3균주가 생성하였으며 protease의 경우 혈액 분리주에서 1균주, 분변분리주에서 2균주만이 생성하였다.

최 등[2]의 보고에 따르면 protease와 elastase 동시 생성균주가 34.1%, protease만을 생성하는 균주는 39.8%이며

Table 2. *Pseudomonas aeruginosa* isolated recovered from clinical specimens

Source	No. of strain (%)
Sputum	56 (51.85)
Urine	20 (18.52)
Burn skin	10 ( 9.26)
Stool	4 ( 3.70)
Blood	3 ( 2.78)
Others	15 (13.89)
<b>Total</b>	<b>108 ( 100 )</b>

Table 3. Exoenzymes production by *Pseudomonas aeruginosa*

Exoenzymes		No. of strains from isolated						Total (%)
Protease	Elastase	Sputum	Urine	Burn Skin	Stool	Blood	Other	
+	+	17	16	7			7	50 (46.30)
+	-	12	1	1	2	1	1	18 (16.67)
-	+	3	1	1	1	2	2	7 ( 6.48)
-	-	24	2	1	1		5	33 (30.55)
Total		56	20	10	4	3	15	108 (100)

elastase만을 생성하는 균주는 4.6%, 모두 생성하지 않는 균주는 21.6%로 protease를 생성하는 균주가 역시 가장 많음을 알 수 있었다. 이러한 결과로부터 각 감염부위에서 독성의 원인이 되는 물질이 각기 다르며 이들의 원인 규명에 이 같은 실험결과가 도움이 될 수 있으리라 여겨진다.

녹농균에 대한 항생제 감수성

시험균주에 대한 항생제 감수성을 알아보기 위해 원판 확산법을 실시한 결과는 표 4와 같다. 먼저 객담에서 분리한 균주의 경우를 살펴보면 대부분의 균주 (96.30%)가 SXT에 저항성을 나타내었고, CIP와 TIC에 대해서는 40% 이상의 저항성을 나타내었으며 나머지 항생제에 대해서는 40% 미만의 저항성을 보였다. 즉, 조사한 항생제에 대해서 SXT를 제외하고는 대부분 50% 이상의 감수성을 보이는 것으로 나타났다.

소변에서 분리한 녹농균의 경우 전 균주가 SXT에 저항성을 나타내었으며, GM에 대해서는 80%의 저항성을 나타내었다. AM, TIC, CFZ, IPM, CIP에 대해서도 40~60%의 저항성을 보였으며 나머지 두 항생제, CAR 및 CAZ에 대해서는 비교적 높은 감수성을 보였다. 화상피부의 경우, CAR, CFZ를 제외한 조사한 모든 항생제에 대해서 객담의 경우보다 높은 저항성을 나타내었고 SXT에 대해서는 전 균주가 저항성을 나타내었다. 혈액과 분변에서는 비록 소수만이 분리되었으나 이들 대부분이 객담이나 화상에서 분리된 균주보다는 항생제에 대해 훨씬 높은 감수성을 보이는 것으로 나타났다.

결과적으로 전 균주에 대한 항생제 감수성 양상은 객담 분리균에서처럼 SXT를 제외하고는 조사한 항생제에 대해서 대부분 50% 이상의 감수성을 보이는 것으로 나타났다.

녹농균 감염에 대한 치료법으로 가장 많이 쓰이는 것은

항생제 치료이나, 녹농균은 본질적으로 항생제에 대한 내성이 강하며 특히 계속적인 항생제 처리에 매우 빠르게 내성균이 나타나고 있으므로[11] 이들이 가지고 있는 항생제에 대한 감수성 여부를 조사하는 것은 감염부위에 대한 약제 선택에 도움이 될 뿐만 아니라 내성균주의 출현 및 이들의 형별에도 중요한 정보가 될 수 있을 것으로 여겨진다.

혈청형

녹농균에 대한 혈청형 조사의 결과를 표 5에 나타내었다. 결과에서 보듯이 조사한 전 균주가 형별 가능하였으며 대부분의 균주가 III군에 속하였다 (79.63%). III형 중에서도 E형에 속하는 균주가 51균주로 가장 많은 것으로 나타났으며 G형도 19균주로 나타났다. I형 중에서는 L형에 많이 분포되어 있었는데 전반적으로 본 실험균주들은 III형과 I형의 특정 혈청형에 속하는 균주들이 많은 것으로 나타났다.

박 등[16]에 따르면 객담에서 분리한 녹농균의 혈청형은 L형, K형 및 E형이 각각 33%를 차지하며 1982년도 박[5]의 보고에 따르면 전체 295균주 가운데 257주인 87%가 형별 가능했으며, 이 가운데 71주인 27.6%가 B형을 나타내었고 G, E 및 A형이 각각 24.9%, 23.0% 및 7.8%를 보였고 J, L 및 M등은 전혀 형별되지 않았다고 한다. 녹농균에서 특정 혈청형과 특정 병원성사이에 어떠한 연관성이 있음이 밝혀져 있으며 혈청형 특이적인 효소생성에 관한 보고[14]도 있어, 본 실험에서 대부분의 균주가 한 혈청형에 집중되어있는 결과로 미루어 보아 특정 혈청형과 병원성과의 어떠한 연관성이 있지 않을까 하였으나 본 연구에 사용된 균주들은 혈청형과 세포의 효소생성 및 항생제 감수성과의 연관성을 살펴본 결과 (표 6) 특별한 연관성을 찾아볼 수 없었다. 항생제 사용이 녹농균의 혈청형 변이에 영향을

임상검체로부터 분리한 녹농균의 생물학적 및 혈청학적 특성

Table 4. Antibiotic susceptibility to the isolates recovered from sputum, urine, burn skin, blood, stool and others

Antibiotics	Sources	No. of strains (%)		
		R	I	S
Imipeneme	sputum	9	3	44
	urine	8	0	12
	burn skin	2	0	8
	stool	0	1	3
	blood	1	0	2
	others	0	2	13
		20(18.51)	6( 5.56)	82(75.93)
Ciprofloxacin	sputum	16	10	30
	urine	12	2	6
	burn skin	5	2	3
	stool	2	0	2
	blood	0	0	3
	others	6	0	9
		41(37.96)	14(12.96)	53(49.08)
Sulfamethoxazole	sputum	54	1	1
	urine	20	0	0
	burn skin	10	0	0
	stool	4	0	0
	blood	3	0	0
	others	13	2	0
		104(96.29)	3( 2.78)	1( 0.93)
Gentamicin	sputum	23	0	33
	urine	16	0	4
	burn skin	5	0	5
	stool	0	0	4
	blood	0	1	2
	others	7	0	8
		51(47.22)	1( 0.93)	56(51.85)
Amikacin	sputum	14	7	35
	urine	11	3	6
	burn skin	5	0	5
	stool	0	0	4
	blood	0	0	3
	others	4	1	10
		34(31.48)	11(10.19)	63(58.33)
Carumonam	sputum	16	8	32
	urine	2	5	13
	burn skin	1	2	7
	stool	0	2	2
	blood	0	0	3
	others	3	1	11
		22(20.37)	18(16.67)	68(62.96)
Ceftazidime	sputum	12	4	40
	urine	2	3	15
	burn skin	0	3	7
	stool	0	0	4
	blood	0	0	3
	others	2	2	11
		16(14.82)	12(11.11)	80(74.07)
Cefoperazone	sputum	11	6	39
	urine	9	1	10
	burn skin	3	2	5
	stool	0	0	4
	blood	0	1	2
	others	3	1	11
		26(24.07)	11(10.19)	71(65.74)
Ticarcillin	sputum	26	0	30
	urine	11	0	9
	burn skin	4	0	6
	stool	1	0	3
	blood	1	0	2
	others	7	0	8
		50(46.30)	0(0)	58(53.70)

Table 5 Distribution of serotypes of *Pseudomonas aeruginosa* isolates employed in this study

Source	Serotype												
	I					II				III			
	A	C	H	I	L	B	J	K	M	D	E	F	G
Sputum	1		1	1	7	4			2	2	28	10	15
Urine										1	14	2	3
Burn skin	2						1				7		
Stool									1		2		1
Blood					2								1
Others	3		1	1	9	4	1		3	3	51	13	19
Total(%)	14 (12.96)					8 (7.41)				86 (79.63)			

Table 6. Correlation between exoenzymes production and serotype of *Pseudomonas aeruginosa* isolates employed in this study

Exoenzymes		Serotype												
Protease	Elastase	I					II				III			
		A	C	H	I	L	B	J	K	M	D	E	F	G
+	+	3				2	1				2	24	5	13
+	-					1	1		2			5	3	6
-	+					1						5	1	
-	-			1	1	5	2	1		1	1	17	4	
Subtotal		3		1	1	9	4	1		3	3	51	13	19
Total(%)		14 (12.96)					8 (7.41)				86 (79.63)			

준다는 보고도 있으나 특정 혈청형 및 이들에 관한 연구는 앞으로 더 많이 이루어져야 할 것이다.

### 요 약

부산대학교 병원 외래환자의 임상 가검물로부터 분리한 녹농균 108균주에 대하여 이들의 병원성과 관련된 세포의 효소생성과 항생제 감수성 양상 및 혈청형 형별을 실시하였다. 세포의 효소 생성시험에서 protease와 elastase를 동시에 생성하는 균주가 전체의 46.30%인 50균주로 가장 많았고, 두 효소 모두를 생성하지 않는 균주는 30.55%였다.

Protease만을 생성하는 균주는 18주 (16.67%)였으며 elastase만을 생성하는 균주는 7균주 (6.48%)였다. 객담에서 분리한 녹농균들은 세포의 효소를 생성하지 않는 균주가 가장 많았으며 화상환자에서는 10균주 중 7균주가 이 두 효소 모두를 생성하며, 혈액과 분변에서 분리한 균주는 protease보다는 elastase를 대부분 생성하였다. 항생제 감수성 양상의 결과, 객담분리균의 경우, 대부분 (96.30%)이 SXT

에 저항성을 보였고, GM과 TIC에 대해서는 40% 이상의 저항성을 나타내었고 나머지 항생제에 대해서는 40% 미만의 저항성을 보였다. 화상피부의 경우, SXT에 대해서는 전 균주가 저항성을 보였고 CAR, CFZ를 제외한 항생제에 대해 객담의 경우보다 높은 저항성을 나타내었다. 혈액과 분변에서는 대부분이 객담이나 화상에서 분리된 균주보다는 항생제에 대해 훨씬 높은 감수성을 보였다. 녹농균에 대한 혈청형 조사 결과, 전 균주가 형별 가능하였으며 대부분의 균주가 III군에 속하였다. III형 중에서도 E형 균주가 51균주로 가장 많았으며 G형에 19균주, F형에 13균주로 나타났고 I형 중에서는 9균주가 L형에 속하였다. 혈청형과 세포의 효소 생성과의 연관성비교 결과 뚜렷한 특징은 발견할 수가 없었다.

### 참 고 문 헌

1. Body, G. P., L. Jadeja and L. Elting. 1985. *Pseudomonas bacteremia retrospective analysis of 410 episodes.*

- Arch. Intern. Med.* **145**, 1621-1629.
2. Choi, H. J., G. J. Choi, Y. B. Kim and Y. H. Oh. 1991. Studies on the production of exoenzyme, pigment and serotype of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens. *Pusan Med. Coll.* **31**, 99-107.
  3. Chung, Y. H., Y. J. Cho and I. S. Suh. 1985. Virulence of *Pseudomonas aeruginosa* associated with production of protease and elastase. *J. Kor. Soc. Microbiol.* **20**, 191-198.
  4. Gould, I. M. and R. Wise. 1985 *Pseudomonas Aeruginosa* : Clinical manifestations and management. *The Lancet.* **30**, 1224-1226.
  5. Ha, T. Y., S. H. Lim and H. Choe. 1991. Effect of *Pseudomonas aeruginosa* infection on production of IL-2 and IL-6 and other parameters of immunocompetency in mice. *J. Kor. Soc. Microbiol.* **26**, 563-578.
  6. Jay, R., J. P. Kristin and T. B. Joseph. 1999. *Pseudomonas aeruginosa* exoenzyme S is a biglutamic acid ADP-ribosyltransferase. *Infec. Immun.* 1508-1510.
  7. Jean, M. M., N. Alice, S. Alain, G. Claude and A. H. Ian. 1996. Pyoverdinin is essential for virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Infec. Immun.* 518-523.
  8. Joan, C. O., E. F. Jennifer, M. M. Eileen, M. D. Katherine, L. Y. Timothy, W. F. Dara and S. V. Timothy. 1999. Interruption of multiple cellular processes in HT-29 epithelial cells by *Pseudomonas aeruginosa* exoenzyme S. *Infec. Immun.* 2847-2854.
  9. Kwon, Y. S., M. G. Kim, M. J. Kim, S. K. Yun, Y. B. Kim and Y. H. Oh. 1993. Antimicrobial activity of pyocyanine from *Pseudomonas aeruginosa* against *Staphylococcus aureus*. *J. Pusan Med. Coll.* **33**, 31-37.
  10. Lee, J. M. and T. Y. Kim. 1998. Clinical analysis of 20 cases with *Pseudomonas* corneal ulcers in contact lens wearers. *Infections.* **30**, 185-189.
  11. Lee, K. W., G. J. Choi, Y. B. Kim and Y. H. Oh. 1991. Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens. *J. Pusan Med. Coll.* **31**, 119-132.
  12. Lee, S. E., M. H. James, R. C. Armando, C. G. Linda and J. O. Richard. 1988 Protease IV, a unique extracellular protease and virulence factor from *Pseudomonas aeruginosa*. *The J. Biol. Chem.* **273**, 1672-1677.
  13. Lee, Y. K., Y. B. Kim, Y. H. Oh, M. K. Kim, M. J. Kim and S. K. Yun. 1993. Exoenzyme production, serotype and antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens. *J. Pusan Med. Coll.* **33**, 27-38.
  14. Livemore, D. M., T. L. Pitt, C. S. Jones, M. J. A. Cress, R. J. Williams. 1985. PSE-4 beta lactamase: a serotype-specific enzyme in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Med. Microbiol.* **19**, 45-53.
  15. Morgan, M. S. 1995. Perceptions of a medical microbiology service: A survey of laboratory users. *J. Clin. Pathol.* **48**, 915-918.
  16. Park, M. G. 1994. Typings and typing variations different by antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from sputum. MD Thesis. *Dept. of Med. Pusan Natl. Univ.*
  17. Pencheva, P. 1986. Serotyping of *Pseudomonas aeruginosa*. *Acta microbiologica Hungaria.* **33**, 345-349.
  18. Peter, B., G. Arjan, B. Wilbert, T. Jan. 1998. Secretion of elastolytic enzymes and their propeptides by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. bacteriol.* **180**, 3467-3469.
  19. Robert, R. M., B. Carole, D. D. Stephanie, E. S. Janet and M. W. Marilyn. 1997. Multiple antibiotic-resistant gram-care facility: A case-control study of patient risk factors and prior antibiotic use. *Infection control and hospital epidemiology.* **18**, 809-813.
  20. Victor, N. G., D. Kristoffel, S. B. Natalia, D. R. Hans and E. G. Peter. 1996. A modified PCR-based method for rapid non-radioactive detection of clinically important pathogens. *Microbiol. Immunol.* **40**, 611-616.
  21. Walter, H. T., S. Ralf, L. Birgit and B. Dierk. 1998. Surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units: Clusters of nosocomial cross-infection and encounter of a multiple-antibiotic resistant strain. *Chemotherapy.* **44**, 243-259.
  22. Yoichi, H., K. Teruo, K. Fumiko, Y. Toshiyuki, I. Kohichi, T. Hiromu, M. Shigefumi, T. Kazunori, Y. Yasuaki, K. Shimeru, N. Masayasu, K. Satoshi and K. Shigeru. 1999. Effect of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A on endotoxin-induced tumour necrosis factor production in murine lung. *J. Med. Microbiol.* **48**, 471-477.