

Clostridium symbiosum Isolated from Blood

Hee Jae Huh, Seung Tae Lee, Jang Ho Lee, Chang Seok Ki, Nam Yong Lee

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

Clostridium symbiosum was isolated from the blood of a 61-year-old immunocompromised woman who had diagnosed ovarian cancer with multiple metastases and who had developed persistent tachycardia. A blood culture was drawn from the peripherally inserted central catheter, and non-spore-forming gram-negative rods were detected in an anaerobic vial. The organism showed tiny and pinpoint colonies and was unidentified by Vitek II (bioMérieux,

France). The 16S rRNA gene sequence showed a 99.4% identity with *C. symbiosum*. To our knowledge, this represents the first report of *C. symbiosum* isolation in Korea. (Korean J Clin Microbiol 2010;13: 90-92)

Key Words: *Clostridium symbiosum*, Immunocompromised patient, Gram's stain, 16S rRNA sequencing

서 론

혐기성 균혈증은 전체 균혈증의 약 5% 이내로 보고되고 있으나, 높은 사망률과 관련되어 있는 것으로 알려져 있다[1,2]. 혐기성 균혈증의 원인균은 *Bacteroides*와 *Clostridium* 속이 가장 흔하며, 이는 국내 연구에서도 같은 결과를 보였다[1-4]. 그 중 *Clostridium* 속은 약 200여 종이 존재하나 임상검체에서는 일부 균종만 분리되며, 대부분의 경우 자연 환경과 토양에 널리 분포하고 장관계에 정상 상재균으로 서식하지만, 종양, 간부전, 당뇨 등의 기저질환으로 인해 면역력이 저하되거나, 위장관 수술 등의 위험 인자가 있는 경우 혐기성 균혈증을 유발할 수 있다[1,5]. *Clostridium symbiosum*은 장내 상재균 중의 하나로 위와 같은 위험 인자에 의해 인체에 드물게 감염을 유발할 수 있다. 현재까지 *C. symbiosum* 감염에 대해 세계적으로 2개의 증례만이 보고되었고, 국내에서는 보고된 바 없다[6,7]. 이에 저자 등은 국내 처음으로 임상 검체에서 동정된 *C. symbiosum*을 보고하고자 한다.

증 례

61세 여자 환자가 2008년 2월 난소암 재발을 진단받고 항암

치료를 받았으나 다발성 원격전이로 질병이 진행되어 2009년 2월 입원하여 보존적 치료를 받던 중 입원 17일째부터 빈맥이 지속되었다. 당시 체온은 37.6°C, 맥박은 분당 162회, 호흡은 분당 20회, 혈압은 133/68 mmHg이었고, 심장초음파 검사에서 이상 소견은 발견되지 않았다. 입원 18일째 말초혈액 1쌍과 전완부 피정맥(antecubital vein)에 삽입된 말초삽입형 중심정맥관(peripherally inserted central catheter) 혈액 1쌍, 흉수 그리고 요에서 각각 배양 검사를 시행한 후 경험적 항생제로 piperacillin/tazobactam을 투여하였다. 자동 혈액배양기(BacT/ALERT 3D, bioMérieux, Inc., Durham, NC)를 이용한 말초삽입형 중심정맥관 혈액배양에서 약 22.5시간 만에 혐기성 배양병에서 균이 증식하였으며 그람 염색에서 아포를 형성하지 않는 그람 음성 막대균이 검출되었다. 이후 입원 19일째 말초삽입형 중심정맥관을 제거하여 시행한 tip 배양에서는 균이 검출되지 않았다. 혈액 배양액을 혈액한천배지와 MacConkey 한천배지에 접종하여 35°C, 5% CO₂에서 배양한 결과 집락이 관찰되지 않았지만, Brucella 혈액한천배지에 접종하여 혐기성 배양을 실시한 결과 48시간 후 바늘 끝 크기의 반투명한 집락이 관찰되었고(Fig. 1), 그람 염색에서 그람 음성 막대균을 재확인할 수 있었다(Fig. 2). 부루셀라 혈액한천배지에 계대배양한 집락을 순수 분리 배양하여 Vitek II ANI 카드(bioMérieux, France)로 동정한 결과 unidentified organism으로 동정이 되지 않아 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 시행하였다. 시발체 16S-4F (5'-TTG GAG AGT TTG ATC CTG GCT-3'), 16S-534R (5'-TAC CGC GGC TGC TGG CAC-3')와 16S-27F (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3'), 16S-801R (5'-GGC GTG GAC TTC CAG GGT ATC T-3')을 이용하여 16S rRNA 유전자 절편을 증폭한 후 510 bp

Received 20 January, 2010, Revised 24 March, 2010

Accepted 20 April, 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) mi-cro.lee@samsung.com



Fig. 1. Tiny and pinpoint *Clostridium symbiosum* colonies grown for 48 hours on Brucella agar.

의 염기서열을 얻었으며, 이를 National Center For Biotechnology Information: The Basic Local Alignment Search Tool (NCBI BLAST)의 데이터베이스와 비교하였을 때, *C. symbiosum*의 type strain인 GenBank accession number, M59112.1과 99.4% 상동성을 가진 것으로 확인되었다.

말초삽입형 중심정맥관 혈액배양과 동시에 시행된 말초혈액과 흉수 배양에서는 균이 검출되지 않았으며 요로삽관을 통해 채취한 요배양 검사에서는 *Escherichia coli* (2×10^4 CFU/mL)와 *Pseudomonas aeruginosa* (1.5×10^4 CFU/mL)이 동정되었다. 이후 입원 21일과 26일째 시행한 혈액과 요 배양 검사에서 모두 균은 검출되지 않았으며, 지속적인 보존적 치료와 항생제 투여에도 환자의 상태가 호전되지 않다가 입원 29일째 환자는 사망하였다.

고 찰

Clostridium 속은 흙, 민물, 갯벌에 분포되어 있고 약 200여 종의 균종 중 임상검체에서는 일부 균종만 분리되며 일반적으로 그람 양성의 아포를 형성하는 막대균의 특징을 보인다[8]. 그러나 본 증례에서와 같이 몇몇 종에서는 일반적인 환경에서 아포를 형성하지 않거나 그람 염색에서 음성의 결과를 보여 균의 동정에 혼란을 야기할 수 있다. *C. symbiosum*을 비롯하여 *C. ramosum*, *C. clostridioforme*와 같은 경우 주로 그람 음성으로 보여 *Bacteroides* 속이나 *Fusobacterium* 속으로 오인되기도 하였으며, 실제로 *C. symbiosum*은 이전에 *Fusobacterium symbiosum*으로 알려진 바 있다[9]. 이와 같이 현상은 산소유리기의 중화에 필요한 효소가 부족한 혐기성 균에서 주로 볼 수 있으며, 그람 염색 과정 중 탈색에 취약하여 발생하게 된다. 이러한 과

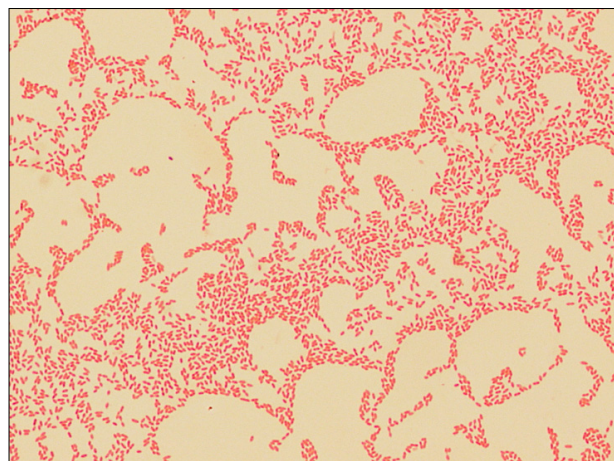


Fig. 2. Gram stain of *Clostridium symbiosum* showed Gram negative rod-shaped bacteria under a light microscope ($\times 1,000$).

도한 탈색은 염색 과정에서 혐기성 배양환경이 유지되지 못하고 산소에 노출되면서 산소의 독성에 민감한 일부 혐기성 균의 세포벽이 약화되기 때문인 것으로 보인다[9].

뿐만 아니라 *C. symbiosum*은 계대배양이 어려우며 균종을 감별할 수 있는 생화학적 검사 방법이 제한적이어서 표현형으로 균을 동정하기 어렵다. 앞서 보고된 2개의 증례에서 모두 *C. symbiosum*을 고체배지에 배양하였을 때 자라지 않거나 미세하게 자라고, 또한 계대배양이 어려운 특징을 보였으며, 두 경우 모두 16S rRNA 유전자 염기서열 분석으로 균종을 확인하였다[6,7]. 본 증례에서도 브루셀라 한천 배지에 배양하여 48시간 뒤 미세한 집락을 확인하였고, 이를 48시간 더 배양을 하여도 집락의 크기는 변화가 없었다. 따라서 이와 같이 표현형에 의해 판독이 어려운 경우 16S rRNA 유전자 염기서열 분석의 분자유전학적 방법이 유용하다.

대부분의 *Clostridium* 균종은 사람의 장관 내 상재균으로 일반적인 경우 감염을 유발하지 않으나, 면역 저하나 위장관 수술력 등의 위험 인자가 있는 경우 기회 감염을 일으킬 수 있다. 본 증례에서는 원격전이가 있는 난소암의 면역 저하 환자에게서 시행된 말초삽입형 중심정맥관 혈액 배양 1쌍에서만 균이 동정되어 *C. symbiosum*의 균혈증을 증명하지는 못하였다. 그러나 Woo 등의 연구에 의하면 임상적으로 유의한 *Clostridium* 균혈증의 38명의 환자 중 89.5%에서 단 한 쌍의 혈액 배양검사 결과가 양성이었다. 이에 Woo 등은 면역 저하와 같은 위험인자를 가지고 있는 환자의 혈액에서 *Clostridium*이 분리된 경우 대개 임상적으로 유의하다고 설명하고 있다[10]. 따라서 본 증례에서도 말초삽입형 중심정맥관 혈액 배양 1쌍에서 균이 동정되었으나, 배양이 어려운 균종이며, 면역 저하 환자에게서 동정된 점을 고려할 때 *C. symbiosum*이 균혈증의 원인균임을 배제할 수 없을 것으로 보인다.

본 증례는 국내 첫 *C. symbiosum* 동정에 대한 보고로, *C. symbiosum*은 장내 상재균 중 하나로 면역이 저하되거나 위장관 수술을 받은 경우 균혈증을 유발할 수 있다. 균의 동정 시 배양이 어렵고, 그람 음성 막대균으로 보일 수 있어 판독에 주의를 요한다. 상품화된 혐기성 세균 동정 카드로 쉽게 동정이 되지 않으므로, 이 경우 16S rRNA 염기서열 분석이 균의 동정에 매우 유용하다.

참 고 문 헌

1. Blairon L, De Gheldre Y, Delaere B, Sonet A, Bosly A, Glupczynski Y. A 62-month retrospective epidemiological survey of anaerobic bacteraemia in a university hospital. Clin Microbiol Infect 2006;12:527-32.
2. Diekema DJ, Beekmann SE, Chapin KC, Morel KA, Munson E, Doern GV. Epidemiology and outcome of nosocomial and community-onset bloodstream infection. J Clin Microbiol 2003;41:3655-60.
3. Park Y, Lee Y, Kim M, Choi JY, Yong D, Jeong SH, et al. Recent trends of anaerobic bacteria isolated from clinical specimens and clinical characteristics of anaerobic bacteremia. Infect Chemother 2009;41:216-23.
4. Zahar JR, Farhat H, Chachaty E, Meshaka P, Antoun S, Nitenberg G. Incidence and clinical significance of anaerobic bacteraemia in cancer patients: a 6-year retrospective study. Clin Microbiol Infect 2005;11:724-9.
5. Wilson JR and Limaye AP. Risk factors for mortality in patients with anaerobic bacteremia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004;23: 310-6.
6. Decousser JW, Bartizel C, Zamni M, Fadel N, Doucet-Populaire F. *Clostridium symbiosum* as a cause of bloodstream infection in an immunocompetent patient. Anaerobe 2007;13:166-9.
7. Elsayed S and Zhang K. Bacteremia caused by *Clostridium symbiosum*. J Clin Microbiol 2004;42:4390-2.
8. The Korean Society for Laboratory Medicine. Diagnostic Laboratory Medicine. 4th ed. E Public; 2009:497.
9. Johnson MJ, Thatcher E, Cox ME. Techniques for controlling variability in gram staining of obligate anaerobes. J Clin Microbiol 1995;33:755-8.
10. Woo PC, Lau SK, Chan KM, Fung AM, Tang BS, Yuen KY. *Clostridium* bacteraemia characterised by 16S ribosomal RNA gene sequencing. J Clin Pathol 2005;58:301-7.

=국문초록=

혈액에서 분리된 *Clostridium symbiosum*

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 진단검사의학과

허희재, 이승태, 이장호, 기창석, 이남용

*Clostridium symbiosum*은 장내 상재균 중의 하나로 면역 저하 등의 위험 인자가 있는 경우 인체에 드물게 감염을 유발한다. 저자들은 혈액에서 *C. symbiosum*이 분리된 1예를 경험하여 보고하고자 한다. 원격전이가 있는 난소암 환자의 말초삽입형 중심정맥관 혈액의 혐기성 배양 병에서 바늘 끝 크기의 반투명한 집락을 형성하는 아포 무형성 그람 음성 막대균이 검출되었다. 이 균은 Vitek II (bioMérieux, France)에 의해 unidentified organism으로 동정이 되지 않았고, 16S rRNA 염기서열 분석 결과 *C. symbiosum*과 99.4%의 일치율을 보였다. 본 증례는 국내에서 *C. symbiosum*을 동정한 첫 증례보고이다. [대한임상미생물학회지 2010;13:90-92]

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