

*Arthrobacter woluwensis*에 의한 카테터 연관성 균혈증 1예

신경섭¹ · 홍승복² · 손보라¹

충북대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 분당제생병원 진단검사의학과²

A Case of Catheter-Related Bacteremia by *Arthrobacter woluwensis*

Kyeong Seob Shin, M.D.¹, Seung Bok Hong, Ph.D.², and Bo Ra Son, M.D.¹

Department of Laboratory Medicine, Chungbuk National University College of Medicine¹, Cheongju; Department of Laboratory Medicine, Pundang Jesaeng General Hospital², Seongnam, Korea

Arthrobacter woluwensis, a catalase-positive coryneform bacterium recognized as an opportunistic pathogen, was repeatedly isolated from the blood of a 56-year-old male patient with metastatic colon cancer. The isolate was identified by various phenotypic tests and by sequencing analysis of 16S rRNA. Antimicrobial susceptibility testing was performed by E-test; the MICs to vancomycin, cefotaxime, and penicillin were 1.5 µg/mL, >64 µg/mL, and 4 µg/mL, respectively. The patient was treated with vancomycin, and the subclavian catheter, which was presumed to be the source of the infection, was removed. Thereafter, repeated blood cultures did not grow the organism. The infections of human caused by *A. woluwensis* have not been reported previously in Korea, probably because of the difficulty of identifying *Arthrobacter* strains by conventional biochemical tests (*Korean J Lab Med* 2006;26:103-6)

Key Words : *Arthrobacter woluwensis*, Bacteremia, 16S rRNA sequencing

서 론

*Arthrobacter*는 catalase 양성 coryneform 그람양성균으로 토양과 같은 환경에 널리 분포되어 있다[1]. 사람에서는 주로 *A. creatinolyticus*, *A. cummingsii* 및 *A. woluwensis* 등이 분리되며 이들 균은 기회감염균으로 간주된다[1-3]. *Arthrobacter*에 의한 인체 내 감염의 보고는 전 세계적으로 매우 드문데 균혈증[2-5], 비뇨기계 감염[2, 3] 및 수술 후 안구염[2] 등의 보고가 있다. 지금까지 보고된 예는 대부분 cellular fatty acid (CFA), peptido-

glycan 분석 또는 16S rRNA 분석에 의해 동정이 되었으며 이들 균에 대한 생화학적 자료가 적어 생화학적 검사만으로 이들 균을 정확히 동정하기 어렵다고 알려져 있다[2, 3, 5]. 국내에서 아직까지 이들 균 속(genus)에 의한 인체 내 감염의 보고는 없었는데 통상적인 생화학적 방법에 의한 균의 동정이 어려워 보고되지 않았을 가능성이 높다.

최근에 대장암 환자의 혈액 배양에서 한 종류의 coryneform 그람양성균이 반복적으로 분리되었으며 생화학적 검사만으로 정확하게 동정할 수 없었으나 16S rRNA 염기서열 분석을 시행하여 *A. woluwensis*로 동정하였기에 문헌고찰과 함께 보고하고자 한다.

증 례

대장암이 광범위하게 전이된 56세 남자가 내원 4일 전부터 발생한 호흡곤란 및 하지의 부종을 주소로 본원으로 전원되었다. 내

접 수 : 2005년 11월 18일 접수번호 : KJLM1905
수정본접수 : 2006년 3월 8일
게재승인일 : 2006년 3월 13일
교신저자 : 신 경 섭
우 361-711 충북 청주시 흥덕구 개신동 산 62
충북대학교병원 진단검사의학과
전화 : 043-269-6240, Fax : 043-271-5243
E-mail : ksshin@chungbuk.ac.kr

*본 논문은 2005년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비에 의해 연구되었음.

원 당시 환자의 쇄골하 정맥도관으로 수액이 주입되고 있었으며 환자는 열감 및 오한을 호소하였다. 환자의 체온은 36.8°C, 맥박과 호흡수는 각각 분당 128회 및 28회였으며 혈압은 100/70 mmHg 이었다. 복부의 압통 및 반발통은 없었으나 종괴가 만져졌으며 왼쪽 하지의 부종이 관찰되었다. 환자는 대장암의 전이에 의한 심부 정맥혈전증 및 폐색전증의 의심 하에 혈액종양내과로 입원하였다.

검사소견 : 응급실 내원 당시 시행한 일반혈액검사에서 혈색소 9.46 g/dL, 백혈구 수 16,000/ μ L, 혈소판 수 139,000/ μ L, AST 57 IU/L, ALT 29 IU/L, ALP 149 IU/L, 총 빌리루빈 1.6 mg/dL, protein/albumin 5.9/2.9 g/dL, BUN/creatinine 67/2.9 mg/dL이었고, CRP는 9.0 mg/dL으로 증가되어 있었다. 일반 요검사에서 혈뇨가 관찰되었으며 요배양에서 *Enterococcus faecalis* 가 분리되었다. 내원 후 시행한 혈관 컴퓨터 단층 촬영에서 심부 정맥혈전증 및 폐색전증으로 진단되었다.

균 배양 및 동정 : 자동 혈액배양기(BacT/ALERT 3D, bio-Mérieux, Inc., Durham, NC., USA)를 이용한 혈액배양에서 입원당시 말초혈관(2쌍) 및 쇄골하 정맥도관(2쌍)으로부터 채혈한 혈액배양 병 모두에서 22-26시간 배양 후에 균이 증식되었다. 입원 후 2일(2쌍) 및 5일째(2쌍)에 쇄골하 정맥도관에서 채혈한 혈액과 입원 6일째(3쌍) 말초혈액에서 채혈한 혈액의 배양에서도 동일한 균이 증식되었다. 36°C와 5% CO₂ 조건의 혈액한천배지에서 24시간 배양 후 2 mm 크기의 회백색의 비용혈성 균 집락이 관찰되었고 그람염색에서는 불규칙하고 무아포성의 그람양성 간균이었다(Fig. 1). 이 균은 catalase 양성이고 운동성이 없어 *Corynebacterium* species로 생각되었다. API Coryne (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)에서 24시간 및 48시간 후 판독결과 각각 *Brevibacterium* species 및 *Corynebacterium aquaticum* 으로 동정되었으나 일부 생화학적 성상, 균 집락의 크기 및 증식속도 그리고 그람염색 형태가 이들 균과 차이를 보였다[6, 7]. 20°C 및 42°C에서 증식하였고, esculin 및 N-acetyl β -glucosaminidase (BNAG) 양성, 72시간 후 urease 양성이었으며, 그 외의 표현형

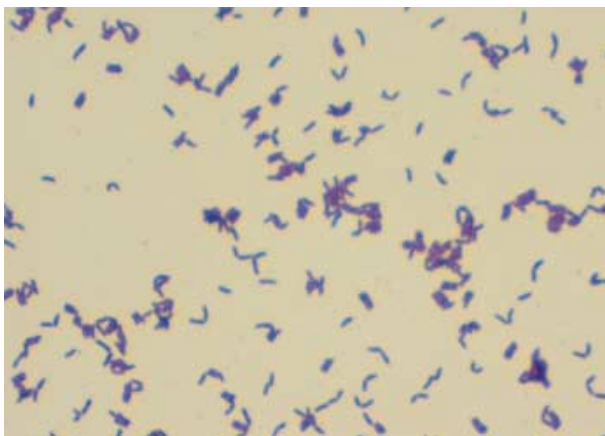


Fig. 1. Microscopic findings of *Arthrobacter woluensis* isolated from the blood culture showing irregularly shaped Gram-positive rods (Gram stain, \times 1,000).

검사 결과는 Table 1과 같았다. 결국 그람염색형태 및 생화학적 성상으로는 균을 동정할 수 없다고 판단되어 16S rRNA 염기서열을 분석하였다.

16S rRNA 염기서열 분석 : 36°C에서 24시간 배양한 후 균 집락을 취하여 멸균된 생리식염수에 풀고 원심분리 후 침전물을 InstaGene Matrix (Bio-Rad, Hercules, CA., USA)를 이용하여 DNA를 추출하였다. 이어서 27F (5'->3': AGAGTTTGAT-CMTGGCTCAG)/1492R (5'->3': TACGGYTACCTTGTT-ACGACTT) 시발체로 16S rRNA를 증폭하여 1,403 bp의 염기서열을 분석하였는데 염기서열의 분석은 Applied Biosystem model 3730XL 자동 DNA sequencing system (Applied Biosystems, Foster city, CA., USA)을 이용하였다. 결정된 16S rRNA 염기서열간의 유사도를 알아보기 위하여 GenBank database에서 유사한 16S rRNA 염기서열을 비교검색하였다. 위 증례에서 분리된 균은 기존에 보고된 *A. woluensis*[4]와 99.9% (GenBank accession number AY112986으로 등록된 1,333 bp의 16S rRNA 염기서열과 1,332 bp가 일치)의 유사도를 보였다. *A. woluensis* CBU05/5295의 16S rRNA 염기서열은 accession number DQ317590으로 GenBank 염기서열 데이터베이스에 등록되었다.

항균제 감수성 검사 및 임상경과 : 환자는 초기에 amikacin 및 cefotaxime을 경험적으로 사용하였으나 이후에 3회의 혈액배양에서 동일한 균이 반복 분리되었다. E-test를 이용한 감수성 결과 cefotaxime 및 penicillin의 MIC는 각각 $>64 \mu$ g/mL과 4μ g/mL이었고, vancomycin의 MIC는 1.5μ g/mL이었다. 환자는 입원 3일째부터 vancomycin을 사용하였으며 입원 6일째 쇄골하 정맥도관을 제거하였는데 이후 시행한 2회(4일 및 7일 후)의 혈액배

Table 1. Biochemical characteristics of *Arthrobacter woluensis* isolated from the patient

Test*	<i>A. woluensis</i> [†]	Isolate
Catalase	+	+
Motility	-	-
Growth at 20°C	growth	growth
42°C	growth	growth
esculin	+	+
gelatin hydrolysis	+	+
citrate	+	+
Nitrate reduction	-	-
Urease [‡]	+	+
β -galactosidase [§]	+	+
α -glucosidase [§]	+	+
N-acetyl β -glucosaminidase [§]	+	+
DNase	+	NT
Desferrioxamine	R	NT
Alkaline phosphatase	+	+
β -glucosidase [§]	+	+

*All tests were the results from API Coryne except catalase, motility and growth at 20°C and 42°C; [†]*A. woluensis* DSM 10495[5]; [‡]results after 72 hr incubation; [§]results after 48 hr incubation.

Abbreviation: NT, not tested.

양에서 더 이상 균은 분리되지 않았고, 백혈구는 7,880/ μ L, CRP는 2.78 mg/dL로 감소하였으며 체온은 정상 범위를 보였다. 환자는 항균제 치료 중 입원 12일째에 폐쇄성 농에서 메티실린 내성 황색포도구균이 분리되었으며 기존 질환의 악화로 입원 17일째에 자의 퇴원하였다.

고 찰

Arthrobacter는 동정의 어려움 때문에 매우 드물게 보고되어 정확한 감염 경로 및 사람에서 상재 부위 등은 잘 알려져 있지 않으며 병원성에 대해서도 명확히 알려져 있지 않다. 일반적으로 병원성은 낮으며 사람의 피부나 점막의 상재 균은 아닐 것으로 추정된다[2]. Funke 등[2]에 의하여 임상검체에서 분리된 11주의 Arthrobacter species중에서 4주가 A. woluwensis와 A. cuminisii으로 새로이 명명되었는데, A. woluwensis가 사람에서 분리된 경우는 문헌 검색에 의하면 2예 정도이며 그 중 1예는 아급성 세균성 심내막염 환자에서 분리되었고[4], 나머지 1예는 혈액 배양에서 분리되었다[2]. 카테터 연관성 균혈증이 의심될 때 카테터의 끝부분을 반정량적으로 배양하는 것이 중요한데[6] 본 증례에서는 카테터를 직접 배양하지는 못하였다. 그러나 항균제(vancomycin)의 사용 후에도 동일한 균이 반복하여 분리되다가 카테터를 제거한 후 더 이상 균이 분리되지 않아 카테터 연관성 균혈증으로 사료되었다.

검사실에서 coryneform균을 정확히 동정하기 위해서 일부의 검사(그람염색, catalase 및 운동성, CAMP검사 등)를 제외하면 상품화된 동정용 검사 키트(API Coryne 등)에 주로 의존하게 된다. 본 증례에서 사용하였던 API Coryne의 데이터베이스에는 Brevibacterium species, C. aquaticum 및 Arthrobacter species는 서로 유사한 생화학적 성상을 보이며 Brevibacterium species 및 Arthrobacter species는 개별적 종(species) 범위까지 감별할 수 없다. Arthrobacter species간에 생화학적 성상은 다양한데 Arthrobacter species중 A. woluwensis는 N-acetyl β -glucosaminidase (BNAG), esculin 및 urea의 가수분해 시험이 모두 양성을 보인다[2]. API Coryne의 데이터베이스에서 Brevibacterium species는 위 검사가 모두 음성이며 C. aquaticum은 BNAG와 esculin의 가수분해 시험이 양성이고 A. woluwensis 이외의 일부 Arthrobacter species는 esculin의 가수분해 시험만 양성을 보일 수 있다. 이 증례에서 48시간 후에 BNAG 및 esculin의 가수분해 시험에 양성결과를 보였기 때문에 C. aquaticum으로 동정되었을 것이다. 그리고 urea의 가수분해 시험은 A. woluwensis 및 일부 Arthrobacter species에서만 양성을 보이며 C. aquaticum에서는 음성인데 본 증례의 경우 72시간 후 양성이었다. 실제로 API Coryne로 동정 시 C. aquaticum으로 동정된 후 16S rRNA 염기서열 및 CFA 분석 등에 의해 A. woluwensis로 동정한 예가 보고되고 있다[4]. 아직까지 Arthrobacter species의 균 동정에

통상적인 생화학적 방법은 보조적인 수단으로 이용될 수밖에 없는 것은 A. woluwensis에 의한 인체 내 감염의 예가 적고 이로 인해 이 균의 생화학적 자료가 적으며 Corynebacterium의 감별이 임상적으로 중요한 경우가 많지 않기 때문일 것이다[2-5]. 그러나 BNAG, esculin 가수분해 및 urease의 성상은 A. woluwensis의 균종을 확인하는데 도움이 될 것으로 사료된다[5].

Arthrobacter의 정확한 동정을 위해 CFA, peptidoglycan 분석 및 16S rRNA 염기서열 분석 등이 유용하게 이용되고 있다[2, 5, 7]. Bernard 등[7]은 CFA 분석으로 CDC coryneform group B-1중 B-1b는 Arthrobacter에 포함됨을 보고하였으며, Funke 등[8]은 Arthrobacter의 CFA는 C_{15:0ai}가 대부분을 차지하며 Brevibacterium은 C_{15:0ai}와 C_{17:0ai}의 합이 75% 이상이므로 이것이 두 가지 균 속의 감별에 이용될 수 있다고 하였다. Arthrobacter의 peptidoglycan은 diamino acid가 L-lysine으로 구성되어 있으며 각 중 마다 특이한 peptidoglycan 구조를 보이는데 A. woluwensis는 L-lysine-D-aspartic acid로 구성되는 특이한 구조를 갖는다[2]. 그러나 일반 검사실에서 균의 동정을 위해 위 두 가지 방법을 이용하기는 매우 어렵다. 최근 다양한 분자생물학적 방법이 검사실에서도 쉽게 접근이 가능하게 되었는데 16S rRNA는 단일 종의 세균에서 매우 안정적으로 유지되므로 16S rRNA 염기서열의 분석은 기존의 여러 가지 생화학적 방법에 의한 균 동정의 대체 또는 보조적 수단으로 이용되고 있다[9, 10]. A. woluwensis의 16S rRNA 염기서열은 다른 Arthrobacter와 적어도 2.5% 이상의 차이를 보이며 이 균 속(genus) 중 가장 특이하였다고 알려져 있다[2]. 본 증례는 기존에 보고된 A. woluwensis[4]와 99.9%의 유사도를 보여 생화학적으로 동정할 수 없었던 예를 동정할 수 있었다.

Arthrobacter 감수성에 대한 자료는 드문데 Funke 등의 보고[2]에 의하면 Arthrobacter 내에서 A. woluwensis의 MIC가 가장 높다고 하였다. 이 증례에서 E-test를 이용한 감수성 결과 cefotaxime (>64 μ g/mL), penicillin (4 μ g/mL) 및 vancomycin (1.5 μ g/mL)의 MIC는 기존의 보고[2]와 유사하였다. 이 증례에서 환자는 초기에 cefotaxime과 amikacin으로 치료하였을 때 반응이 없었으나 vancomycin을 투여하고 감염원으로 추정되는 쇄골하 정맥도관을 제거한 후 균은 더 이상 분리되지 않았고 CRP는 초기보다 감소되었고 백혈구 수는 정상화되었다.

결론적으로 대장암이 전이된 환자의 혈액에서 카테터를 통하여 감염된 것으로 추정되는 A. woluwensis가 분리되었으며 vancomycin에 대한 MIC는 낮았다. 이 균은 생화학적 성상만으로 동정하기 어려우므로 그람염색 형태만 보고되거나 잘못된 균명으로 보고될 수도 있을 것이다. 따라서 무균성 검체에서 분리되는 coryneform 그람양성균을 생화학적 검사로 정확히 동정하기 어려울 경우 16S rRNA 염기서열분석과 같은 분자생물학적 방법이 유용할 것으로 사료된다.

요 약

기회감염균으로 간주되고 있으며 catalase 양성, coryneform 그람양성균인 *Arthrobacter woluwensis*가 대장암이 전이된 56세 남자의 혈액에서 반복하여 분리되었다. 다양한 표현형 검사 및 16S rRNA 염기서열 분석을 통하여 균을 동정하였다. E-test를 이용한 감수성 검사에서 vancomycin의 MIC는 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었고, cefotaxime 및 penicillin의 MIC는 각각 $>64 \mu\text{g}/\text{mL}$ 과 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었다. 환자에게 vancomycin이 투여되었으며 감염원으로 추정되는 쇄골하 정맥도관이 제거된 후 균은 더 이상 분리되지 않았다. *Arthrobacter*는 생화학적 검사만으로 동정하기 어렵기 때문에 *A. woluwensis*에 의한 인체 내 감염은 국내에서 아직 보고되지 않았을 가능성이 높다.

참고문헌

1. Hou XG, Kawamura Y, Sultana F, Shu S, Hirose K, Goto K, et al. Description of *Arthrobacter creatinolyticus* sp. nov., isolated from human urine. *Int J Syst Bacteriol* 1998;48:423-9.
2. Funke G, Hutson RA, Bernard KA, Pfyffer GE, Wauters G, Collins MD. Isolation of *Arthrobacter* spp. from clinical specimens and description of *Arthrobacter cummingsii* sp. nov. and *Arthrobacter woluwensis* sp. nov.. *J Clin Microbiol* 1996;34:2356-63.
3. Funke G, Pagano-Niederer M, Sjöden B, Falsen E. Characteristics of *Arthrobacter cummingsii*, the most frequently encountered *Arthrobacter* species in human clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1998;36:1539-43.
4. Bernasconi E, Valsangiacomo C, Peduzzi R, Carota A, Moccetti T, Funke G. *Arthrobacter woluwensis* subacute infective endocarditis: case report and review of the literature. *Clin Infect Dis* 2004;38:e27-31.
5. Wauters G, Charlier J, Janssens M, Delmee M. Identification of *Arthrobacter oxydans*, *Arthrobacter luteus* sp. nov., and *Arthrobacter albus* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *J Clin Microbiol* 2000;38:2412-5.
6. Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N Engl J Med* 1977;296:1305-9.
7. Bernard KA, Bellefeuille M, Ewan EP. Cellular fatty acid composition as an adjunct to the identification of asporogenous, aerobic gram-positive rods. *J Clin Microbiol* 1991;29:83-9.
8. Funke G and Carlotti A. Differentiation of *Brevibacterium* spp. encountered in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1994;32:1729-32.
9. Tang YW, Ellis NM, Hopkins MK, Smith DH, Dodge DE, Persing DH. Comparison of phenotypic and genotypic techniques for identification of unusual aerobic pathogenic gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol* 1998;36:3674-9.
10. Shin KS, Son BR, Hong SB. A case of bacteremia caused by *Arcobacter butzleri*. *Korean J Lab Med* 2005;25:259-61. (신경섭, 손보라, 홍승복. *Arcobacter butzleri*에 의한 균혈증 1예. 대한진단검사의학회지 2005;25: 259-61.)