

## 간경화 환자에서 발생한 *Atopobium rimae* 균혈증 1예

정희영<sup>1</sup> · 성홍섭<sup>1</sup> · 이미영<sup>1</sup> · 윤남섭<sup>1</sup> · 이성근<sup>2</sup> · 서동진<sup>2</sup> · 김미나<sup>1</sup>

울산의대 서울아산병원 진단검사의학과, 내과<sup>2</sup>

### A Case of Bacteremia by *Atopobium rimae* in a Patient with Liver Cirrhosis

Hee-Young Chung, M.D.<sup>1</sup>, Heungsung Sung, M.D.<sup>1</sup>, Mi-Young Lee, M.T.<sup>1</sup>, Nam Sup Yoon, M.T.<sup>1</sup>, Seung Geun Lee, M.D.<sup>2</sup>, Dong-Jin Suh, M.D.<sup>2</sup>, and Mi-Na Kim, M.D.<sup>1</sup>

Departments of Laboratory Medicine<sup>1</sup> and Internal Medicine<sup>2</sup>, University of Ulsan College of Medicine and Asan Medical Center, Seoul, Korea

*Atopobium rimae*, previously *Lactobacillus rimae*, is a strictly anaerobic, non-spore forming gram-positive rod which was frequently isolated from odontogenic infection. We report a case of *A. rimae* bacteremia. A 47-yr-old man with liver cirrhosis was admitted to the hospital via emergency room due to fever and chill. His abdominal and pelvic computed tomography revealed a small abscess near the left adrenal gland. Three sets of blood cultures were taken and non-spore forming, gram-positive rods were detected in all anaerobic vials. This isolate grew small nonhemolytic, gray-white translucent colonies on Brucella blood agar and was obligatory anaerobic on air-tolerance test. This organism was negative for catalase, indole, nitrate-reduction and  $\beta$ -lactamase and failed to identify by Vitek ANI card (bioMérieux, France). 16S rRNA sequences of this showed 99.8% homology of the published sequence of *A. rimae* (GenBank accession number AF292371). Aspirates of periadrenal abscess grew *Escherichia coli* and *Peptostreptococcus micros*. He was treated with metronidazole and imipenem and follow-up cultures of blood were negative at days 4 and 10. To our knowledge, this is the first report of bacteremia of *A. rimae*. (*Korean J Lab Med* 2007;27:351-4)

**Key Words :** *Atopobium rimae*, Bacteremia, 16S rRNA

## 서 론

*Atopobium* species는 절대혐기성, 아포 비형성, 그람양성 막대균으로 사람의 치아 주위 조직이나 질내에 정상 균무리로 존재하며, 치주염, 세균성 질증, 균혈증 등을 일으킨다고 알려져 있다 [1, 2]. 국내에서는 건강인과 임플란트 시행 후의 치아 주위 조직에서 *Atopobium rimae*를 분리한 보고 외에는 아직까지 이 균속에 의한 감염이 보고되지 않았다[3]. 이는 *Atopobium* spp.가

절대혐기성 균으로 장시간 배양해야 하고, 생화학적 방법에 의한 균 동정이 어려워 보고되지 않았을 가능성이 있다.

저자들은 간경화 환자의 혈액배양에서 분리된 절대혐기성, 아포 비형성, 그람양성 막대균을 16S rRNA 염기서열 분석을 통해 *A. rimae*로 동정하였기에 문헌고찰과 함께 보고하고자 한다.

## 증 례

B형 간염바이러스에 의한 간경화로 진단받은 47세 남자 환자가 2주전부터 발생한 발열과 오한을 주소로 응급실에 내원하였다. 환자는 3개월 전 식도정맥류에 의한 토혈로 내시경적 경화술을 시행받은 과거력이 있었다. 환자의 체온은 38.4°C, 맥박은 분당 126회, 호흡수는 분당 12회였으며 혈압은 90/50 mmHg이었으며,

접 수 : 2007년 7월 15일      접수번호 : KJLM2054  
수정본접수 : 2007년 8월 16일  
게재승인일 : 2007년 8월 16일  
교 신 저 자 : 성 홍 섭  
우 138-736 서울시 송파구 풍납2동 388-1  
서울아산병원 진단검사의학과  
전화 : 02-3010-4499, Fax : 02-478-0884  
E-mail : sung@amc.seoul.kr

환자의 발열 양상은 간헐적이었다. 좌측 상복부에 압통이 있었으며 반발통은 없었고 장음은 저하되어 있었다. 폐혈증 의심 하에 내과계 중환자실로 입원하였다. 응급실에서 시행한 전체혈구계산에서 혈색소 13.1 g/dL, 백혈구 수 32,600/ $\mu$ L, 혈소판 수 55,000/ $\mu$ L이었으며, 백혈구 감별계산에서 호중구 89.6%, 림프구 6.6%, 단구 3.4%, 호산구 0.2%, 호염기구 0.2%이었다. AST 48 IU/L, ALT 22 IU/L, ALP 123 IU/L, 총빌리루빈 1.7 mg/dL, 단백질/알부민 6.5/2.2 g/dL이었고, CRP는 13.81 mg/dL로 증가되어 있었다. 복부 컴퓨터 단층 촬영에서 좌측 부신에 인접하여 조영이 증가되는 병변이 관찰되어 복강내 농양으로 진단하였다. 응급실에서 3회 연속 채취한 말초혈액은 각각 BACTEC Plus Aerobic/F와 BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F 배양병(Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)에 넣어 BACTEC 9240 (Becton-Dickinson) 혈액배양기에 배양하였다. 배양 4일째 3쌍의 혈액배양 중 혐기성 배양병 모두에서 균이 자랐으며, 그람염색과 아포염색 결과 불규칙하고 무아포성의 그람양성 막대균을 관찰할 수 있었다. 배양액을 혈액한천배지에 접종하여 35°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 배양한 결과 5일간 집락이 관찰되지 않았지만, Brucella 혈액한천배지에 접종하여 혐기성 배양을 실시한 결과 4일 후 1-2 mm 크기의 회백색 반투명의 비용혈성 균 집락이 관찰되었으며(Fig. 1A), 집락의 그람염색 형태도 혈액 배양액의 형태와 동일하였다(Fig. 1B). Catalase 음성, nitrate reduction 음성, indole 음성이었다. Brucella 혈액한천배지에 계대배양한 집락을 순수 분리 배양하여 Vitek ANI card (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France)로 동정한 결과 ANI profile 번호 1600201000으로 *Clostridium baratii* (99%)로 동정되었지만, 균의 특성과 맞지 않아 16S rRNA 염기서열 분석으로 동정을 시도하였다. 순수 분리된 집락에서 Ge-

nElute Bacterial Genomic DNA 키트(Sigma, St. Louis, MO, USA)로 DNA를 추출한 후 16S rRNA의 8-806번째 염기와 515-1,390번째 염기 부위를 각각 증폭하였다. 시발체의 염기서열은 8FPL 5'-AGTTTGATCCTGGCTCAG-3', 806R 5'-GG-ACTACCAGGGTATCTAAT-3', 515FPL 5'-TGCCAGCA-GCCGCGGTAA-3', 13B 5'-AGGCCCGGAACGTATTC-AC-3'이었으며, PCR 조건은 기존 문헌을 따랐다[4]. PCR 산물은 Power Gel Extraction kit (TaKaRa Bio Inc., Shiga, Japan)로 정제한 후 마크로젠(서울, 대한민국)에 의뢰하여 염기서열 분석을 실시하였다. 얻어진 16S rRNA 염기서열을 BLAST database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>)와 비교한 결과 *A. rimae* ATCC 49626 (GenBank accession no. AF292371)과 1,261 bp 중 1,259 bp (99.8%)가 일치하여 가장 높은 상동성을 보였다. *A. rimae* X67149 (GenBank accession no. X67149)와 1,239 bp 중 1,235 bp (99.7%)가 일치하였으며, *Atopobium parvum* ATCC 22793 (GenBank accession no. 292372)과는 1,269 bp 중 1,219 bp가 일치(96.1%)하였다. 유사한 염기서열을 갖는 절대 혐기성, 아포 비형성, 그람양성 막대균 18종을 대상으로 neighbour-joining 방법으로 clustalW (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw/>) 프로그램을 사용하여 계통발생학적 분석을 시행하였으며(Fig. 2), 생화학적 반응과 함께 *A. rimae*로 동정할 수 있었다. Brucella 혈액한천배지에 자란 집락으로 nitrocefin 디스크(Becton-Dickinson) 검사를 실시한 결과  $\beta$ -lactamase 음성이었다. E test (AB Biodisk, Solna, Sweden)로 항균제 감수성 검사를 실시한[5] 후, Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) 기준에 따라 감수성 여부를 판정한[6] 결과, penicillin G 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 0.094

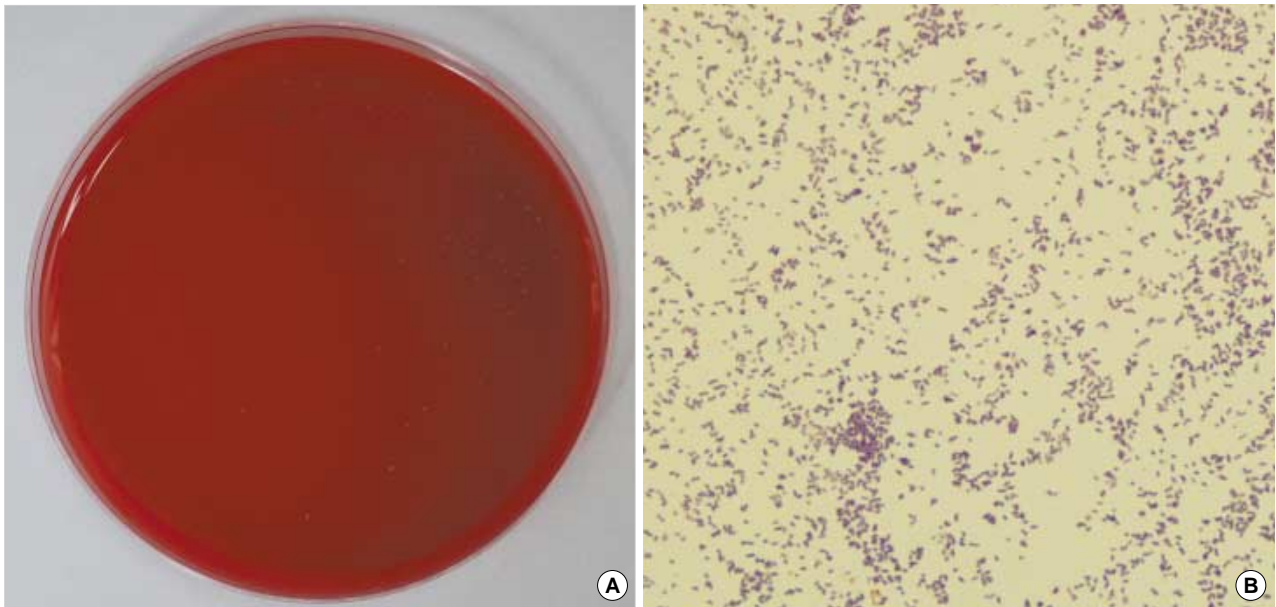


Fig. 1. Culture characteristics of *Atopobium rimae*. (A) 1-2 mm sized gray-whitish translucent non-hemolytic colonies on Brucella agar after 4 days incubation. (B) Microscopic findings showing gram-positive rods (Gram stain,  $\times 1,000$ ).

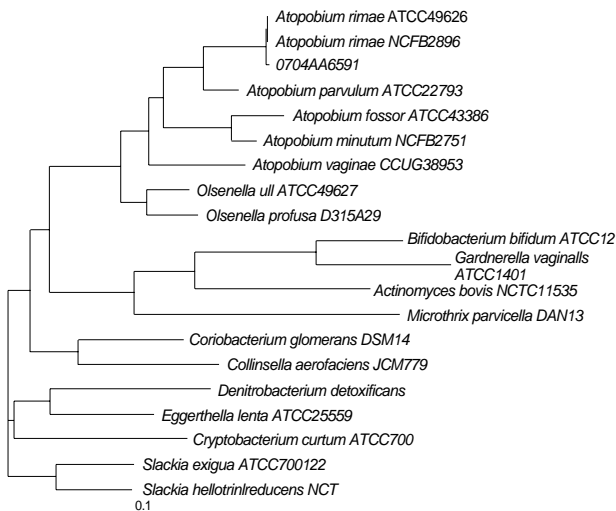


Fig. 2. Unrooted tree showing the phylogenetic relationships of the current isolate (0704AA6591) and closely related gram-positive bacteria. The tree constructed using the neighbour-joining method was based on a comparison of 1,261 bp. The phylogenetic tree was generated by ClustalW and visualized by TreeView. Distances are presented as number of substitutions per site (a scale of '0.1' means 0.1 nucleotide substitution per site).

$\mu\text{g/mL}$ , cefotaxime MIC 0.5  $\mu\text{g/mL}$ , imipenem MIC 0.032  $\mu\text{g/mL}$ , metronidazole MIC 0.75  $\mu\text{g/mL}$ , tetracycline MIC 0.75  $\mu\text{g/mL}$ 로 모두 감수성이었으며, 감수성 기준이 없는 vancomycin MIC는 2  $\mu\text{g/mL}$ 였다. 입원 10병일째 좌측 부신 부위의 농양을 전산단층촬영술 유도하에 흡인하여 배양한 데서는 *Escherichia coli*와 *Peptostreptococcus micros*가 자랐다. 경험적 항균제로 내원 1일째 cefotaxime을 사용하다가 내원 2일째 metronidazole을 병용하였으며, 내원 3일째 vancomycin과 imipenem으로 항균제를 교체하여 4일간 치료하였다. 혈액배양에서 혐기성 그람양성 막대균을 보고한 후 imipenem과 metronidazole로 바꾸었다. 입원 4일째와 10일째 시행한 혈액 배양에서 균이 분리되지 않았고, 입원 10일째 혈압과 체온 정상범위이고 백혈구 6,900/ $\mu\text{L}$  중성구 62%, CRP 1.96 mg/dL로 감소하였다. 입원 20일째 환자는 전반적인 상태가 회복되어 퇴원하였다.

## 고 찰

본 증례는 복강 내 농양이 있는 간경화 환자의 혈액에서 분리한 절대 혐기성, 아포 비형성, 그람양성 막대균을 16S rRNA 염기서열 분석을 통해 *A. rimae*로 동정한 증례이다. 복강내 농양 흡인액에서는 이 균이 배양되지 않았는데, 이는 *A. rimae*가 구강내 상재균으로 내원 당시 환자의 발열 양상이 간헐적이었기 때문에 복강내 농양과는 별개로 간헐적인 균혈증을 일으켰을 가능성이 있다. 또한,  $\beta$ -lactam 항균제와 metronidazole로 치료한 지 각각 10일, 6일이 경과한 후 농양 흡인을 시행하여 이 균은 치료되

었을 가능성도 배제할 수는 없다.

절대 혐기성, 아포 비형성, 그람양성 막대균을 중 수준까지 동정하는 것은 기존의 상품화된 동정 키트로는 어렵기 때문에 정확한 균동정을 위해 gas-liquid chromatography (GLC), 염기서열 분석 등이 필요하다. 이 경우 시간이 많이 걸리고 검사실 인력이 많이 들기 때문에 감염의 심각도를 고려하여 결정하여야 한다[2]. 본 증례의 경우 Vitek ANI card에서 *C. baratii*로 동정되었으나, *C. baratii*는 아포 형성균이며 형태도 *Clostridium* spp.로 생각할 수 없었다. 환자의 임상상이 패혈증에 합당하였고 3쌍의 혈액배양에서 동일균이 배양되어 임상적으로 의미 있는 균으로 판단하여 16S rRNA 염기서열 분석을 시도하였다.

16S rRNA 염기서열 분석을 이용한 균 동정법이 이용되면서 염기서열 상동성에 따라 새롭게 균종들이 명명되거나 기존 균종들이 재분류되고 있다[7, 8]. *Atopobium* spp.는 포도당 대사의 최종 산물로 유산을 생성하기 때문에, *A. rimae*와 *A. minutum* 등은 이전에 *Lactobacillus* spp.로 분류되었다가, G+C 함유량, DNA-DNA 상동성, 생화학적 반응 등에 의해 1991년 *Atopobium* spp.로 처음 재분류되었다[2, 9]. *Atopobium* spp. 중에도 *A. parvulum*과 *A. fossor* 등은 이전 *Streptococcus parvulus*와 *Eubacterium fossor*로 분류되었다가 16S rRNA 염기서열 분석을 통해 *Atopobium* spp.로 재분류되었으며[10, 11], *A. vaginae*는 건강한 여성의 질 상재균이며 세균성 질증의 원인이 되기도 하는데 16S rRNA 염기서열 분석을 통해 *Atopobium* spp.로 명명되었다[12]. 임상검사실에서 절대혐기성, 아포 비형성, 그람양성균의 균종 동정이 필요한 때는 16S rRNA 염기서열 분석이 유용한 검사법으로 판단되며, 집락에 색소가 없으면서 catalase, indole, nitrate 환원 반응에 모두 음성이면 *Atopobium* spp.의 가능성을 염두에 두어야 하겠다[2].

*Atopobium* spp.에 대한 항균제 감수성 보고는 다른 절대혐기성, 아포 비형성, 그람양성 막대균과 마찬가지로 드물다[2]. *A. vaginae*는 세균성 질증의 치료에 주로 쓰이는 metronidazole에는 내성인 균주가 많은 반면, clindamycin에는 모두 감수성으로 보고되었다[13, 14]. *A. rimae*의 항균제 감수성에 대한 보고는 아직까지 없었으며 본 증례에서는 nitrocefin 디스크를 이용한  $\beta$ -lactamase 검사를 시행한 결과 음성이었다. E test로 시행한 항균제 감수성 결과 환자에서 사용한 cefotaxime, imipenem, metronidazole 등에 모두 감수성이었다. 환자는  $\beta$ -lactam계 항균제와 metronidazole로 치료받았으며, 균혈증과 복강내 농양 모두 합병증 없이 치료되었다. 일반적으로 penicillin과 정주용 carbapenem 등의  $\beta$ -lactam 계열 항균제는 혐기성 그람 양성균에 효과가 있으며, 혐기성 세균 치료제로 흔히 쓰이는 metronidazole에는 일부 혐기성 그람 양성균이 내성을 보인다고 알려져 있다[2].

*A. rimae*는 건강한 사람의 잇몸 틈새 또는 임플란트 시행 후 치아 주위 조직에서 분리되며 치아 주위 조직염을 일으킨다고 알려져 있지만 아직까지 균혈증을 일으킨 보고는 없었다[2, 3, 8, 9]. 본 증례는 *A. rimae*에 의한 최초의 균혈증 증례로, 상품화된 혐

기성 세균 동정 키트로는 균종을 동정할 수 없어 16S rRNA 염기서열 분석을 통해 정확한 균종을 동정할 수 있었다.

## 요 약

*Atopobium rimae*는 과거 *Lactobacillus rimae*로 명명되었던 균으로 치주 감염에서 종종 분리되는 절대혐기성, 아포 비형성, 그람양성 막대균이다. 저자들은 *A. rimae* 균혈증 1예를 경험하여 보고하고자 한다. 간경화로 진단받은 47세 남자 환자가 발열과 오한을 주소로 본원 응급실에 내원하였다. 복부 컴퓨터단층촬영에서 좌측 부신에 인접하여 작은 농양이 발견되었다. 내원 당시 시행한 세 쌍의 혈액배양 중 모든 혐기성 배양액에서 아포 비형성, 그람양성 막대균이 배양되었다. 배양액을 Brucella 배지에 접종해서 1-2 mm 크기의 회백색 비용혈성 집락을 얻었으며, 산소허용 검사 결과 절대혐기성균이었다. Catalase, indole 및 nitrate 환원 검사와  $\beta$ -lactamase 모두 음성이었고, Vitek ANI card (bio-Mérieux sa, Marcy-l'Etoile, France)를 이용한 동정에는 실패하였다. 16S rRNA 염기서열분석에서 기존에 보고된 *A. rimae* (GenBank accession number AF292371)와 99.8% 상동성을 보였다. 부신 주위 농양을 세침흡인한 데서는 *Escherichia coli*와 *Peptostreptococcus micros*가 자랐다. 환자는 metronidazole과 imipenem으로 치료 후 입원 4일째와 10일째 혈액 배양에서 균이 분리되지 않았다. 본 증례는 *A. rimae*에 의한 첫 균혈증 보고이다.

## 참고문헌

1. Kumar PS, Griffen AL, Barton JA, Paster BJ, Moeschberger ML, Leys EJ. New bacterial species associated with chronic periodontitis. J Dent Res 2003;82:338-44.
2. Könönen E and Wade WG. *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, and other non-spore-forming anaerobic gram-positive rods. In: Murray PR, Baron EJ, et al. eds. Manual of clinical microbiology. 9th ed. Washington, DC: ASM Press, 2007:872-88.
3. Lim SH, Kim KW, Yoo SY, Kook JK, Chang YI. Identification of bacteria from the peri-implant sulcus of orthodontic mini-implants using 16S rDNA clone library. Korean J Orthod 2006;36:251-62. (임성훈, 김광원, 유소영, 국중기, 장영일. 16S rDNA 클론 library 제작 및 핵산염기서열 결정을 통한 고정용 미니임플란트 주위 열구의 세균 동정. 대한치과교정학회지 2006;36:251-62.)
4. Relman DA. Universal bacterial 16S rRNA amplification and sequencing. In: Persing DH, Smith TF, et al. eds. Diagnostic molecular microbiology principles and applications. 1st ed. Washington DC: ASM Press, 1993;489-95.
5. Citron DM and Hecht DW. Susceptibility test methods: anaerobic bacteria. In: Murray PR, Baron EJ, et al. eds. Manual of clinical microbiology. 9th ed. Washington, DC: ASM Press, 2007:1214-22.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. Approved Standard, M11-A7. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007.
7. Woo PC, Ng KH, Lau SK, Yip KT, Fung AM, Leung KW, et al. Usefulness of the MicroSeq 500 16S ribosomal DNA-based bacterial identification system for identification of clinically significant bacterial isolates with ambiguous biochemical profiles. J Clin Microbiol 2003;41:1996-2001.
8. Nolte FS and Caliendo AM. Molecular detection and identification of microorganisms. In: Murray PR, Baron EJ, et al. eds. Manual of clinical microbiology. 9th ed. Washington, DC: ASM Press, 2007: 218-44.
9. Olsen I, Johnson JL, Moore LV, Moore WE. *Lactobacillus uli* sp. nov. and *Lactobacillus rimae* sp. nov. from the human gingival crevice and emended descriptions of *Lactobacillus minutus* and *Streptococcus parvulus*. Int J Syst Bacteriol 1991;41:261-6.
10. Collins MD and Wallbanks S. Comparative sequence analyses of the 16S rRNA genes of *Lactobacillus minutus*, *Lactobacillus rimae* and *Streptococcus parvulus*: proposal for the creation of a new genus *Atopobium*. FEMS Microbiol Lett 1992;74:235-40.
11. Kageyama A, Benno Y, Nakase T. Phylogenetic and phenotypic evidence for the transfer of *Eubacterium fossor* to the genus *Atopobium* as *Atopobium fossor* comb. nov. Microbiol Immunol 1999;43:389-95.
12. Rodriguez Jovita M, Collins MD, Sjoden B, Falsen E. Characterization of a novel *Atopobium* isolate from the human vagina: description of *Atopobium vaginae* sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1999;49:1573-6.
13. De Backer E, Verhelst R, Verstraeten H, Claeys G, Verschraegen G, Temmerman M, et al. Antibiotic susceptibility of *Atopobium vaginae*. BMC Infect Dis 2006;6:51.
14. Ferris MJ, Masztal A, Aldridge KE, Fortenberry JD, Fidel PL Jr, Martin DH. Association of *Atopobium vaginae*, a recently described metronidazole resistant anaerobe, with bacterial vaginosis. BMC Infect Dis 2004;4:5.