

# 유전자 염기서열 분석으로 원인균을 동정한 *Arcanobacterium haemolyticum* 균혈증 및 골수염 1예

배수영<sup>1</sup> · 최수미<sup>1</sup> · 강승지<sup>1</sup> · 장희창<sup>1</sup> · 박경화<sup>1</sup> · 정숙인<sup>1</sup> · 신중희<sup>2</sup>  
전남대학교 의과대학 내과학교실<sup>1</sup>, 진단검사의학교실<sup>2</sup>

## A Case of *Arcanobacterium haemolyticum* Bacteremia and Osteomyelitis Diagnosed by 16s rRNA Sequencing

Soo Young Bae<sup>1</sup>, Soomi Choi<sup>1</sup>, Seung-Ji Kang<sup>1</sup>, Hee-Chang Jang<sup>1</sup>, Kyung Hwa Park<sup>1</sup>, Sook-In Jung<sup>1</sup>, and Jong-Hee Shin<sup>2</sup>

*Arcanobacterium haemolyticum* is a catalase-negative, aerobic gram-positive rod. It causes pharyngitis, skin and soft tissue infection, osteomyelitis, endocarditis, meningitis, pneumonia, and septicemia. We experienced a case of *A. haemolyticum* bacteremia and osteomyelitis in a diabetic patient. The organism was misidentified as *Cellulomonas* species by automated system but correctly identified as *A. haemolyticum* by 16s rRNA sequencing.

Departments of <sup>1</sup>Internal Medicine and <sup>2</sup>Laboratory Medicine, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

**Key Words:** *Arcanobacterium*, Bacteremia, Sequence analysis, RNA

## 서론

*Arcanobacterium haemolyticum*은 1946년 MacLean 등에 의해 인두염 및 피부감염의 원인균으로 처음 기술되어 *Corynebacterium haemolyticum*으로 명명되었고 [1], 1982년 *Arcanobacterium* 속으로 재 분류되었다 [2]. 이 세균은 catalase 음성,  $\beta$ -용혈성 호기성 그람 양성 막대균으로, 인두나 창상에서 분리되더라도 정상 상재균이나 오염균인 경우가 대부분이지만, 드물게 인후염과 [3] 피부 및 연부조직 감염을 일으키고 [4, 5], 기저질환이 있는 환자에서 패혈증, 골수염, 삼내막염, 폐렴, 뇌농양 등 심부 감염을 일으킬 수 있다 [6-10].

호기성 그람 양성 막대균은 치료약제가 서로 다를 수 있음에도 불구하고, 자동화 기기나 전통적인 생화학적 방법을 시행하면 다른 균으로 잘못 동정되는 경우가 있고 [11], 적절한 항생제를 선정하는데 도움을 주지 못하는 경우가 많다. *A. haemolyticum*도 이중 하나로, 여러 항생제에 대한 치료반응이 잘 알려져 있지 않기에, 이 세균에 의한 감염증 환자의 경우 조기에 적절한 치료를 받지 못할 수 있다. 이러한 이유로, 세균의 정확한 동정을 위해 16s rRNA sequencing을 사용할 수 있으나 [11], 국내에서 *A. haemolyticum*을 16s rRNA sequencing을 사용하여 정확히 동정한 경우는 보고된 적이 없다.

저자들은 VITEK-2 시스템으로 원인균을 *Cellulomonas* species로 잘못 동정하였으나, 16s rRNA 유전자 염기서열 분석을 통하여 *A. haemolyticum*으로 동정한 당뇨증 및 균혈증 1예를 경험하였기에 이를 보고한다.

Copyright © 2010 by The Korean Society of Infectious Diseases | Korean Society for Chemotherapy

Submitted: November 13, 2009

Revised: January 13, 2010

Accepted: March 24, 2010

Correspondence to Hee-Chang Jang, M.D.

Department of Internal Medicine, Chonnam National University Hospital, 671, Jebong-ro, Dong-gu, Gwangju 501-757, Korea

Tel: +82-62-220-6296, Fax: +82-62-225-8578

E-mail: haroc153@naver.com

[www.icjournal.org](http://www.icjournal.org)

## 증례

73세 남자가 왼발 통증을 주소로 내원하였다. 환자는 기저질환으로 당뇨병, 고혈압, 전립선암이 있었다. 경구혈당강하제와 항고혈압제를 복용 중이었고, 3개월 전부터 전립선암에 대해 호르몬치료를 받았다.

내원 2주 전부터 환자의 왼쪽 엄지발가락이 검게 변하였고 통증이 생겼다. 내원 3일 전부터 발목에 홍반과 궤양이 생겼고, 고름이 나왔다. 그와 동시에 발열이 있고 의식이 저하되어 응급실에 내원하였다. 내원 당시 환자의 활력 징후는 혈압 110/70 mmHg, 맥박수 96회/분, 호흡수 20회/분, 체온 37.4℃였고, 이후 체온은 39.4℃까지 상승하였다. 신체검사상 왼쪽 발에 부종, 열감, 통증이 있었고, 발등동맥의 맥박이 감소되어 있었다. 말초혈액검사에서 백혈구  $19,700/\text{mm}^3$  (호중구 92.9%), 혈색소 9.6 g/dL, 혈소판  $438,000/\text{mm}^3$ , C-반응 단백 22.6 mg/dL, 적혈구 침강속도 120 mm/hr, 크레아티닌 1.6 mg/dL였다. 내원 시 시행한 전산화 단층촬영 혈관조영술 및 삼상 뼈주사 검사에서, 왼쪽 오금동맥 및 후경골동맥의 협착과 연부조직감염 및 골수염이 관찰되었다(Fig. 1).

내원 1일째, 2일째, 3일째 2쌍씩 혈액배양검사를 실시하였고 내원 1일째부터 경험적으로 ciprofloxacin을 정맥 주사하였다. 혈액배양은 BACTEC 9240 (BD, Cockeysville, MD, USA) 배양기를 사용하였다. 6쌍 모두에서 그람 양성 막대균이 관찰되었으며, API Coryne strip과 VITEK-2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)를 사용한 검사에서 *Cellulomonas* species로 동정되었다. 내원 2일째 및 내원 3일째 6일째 시행한 고름의 배양검사에서도 같은 균이 동정되었다. Ciprofloxacin을 투여한지 72시간 후에도 발열 및 균혈증이 지속되었고 다장기부전이 진행하였다. 16s rRNA 염기서열분석에서, 원인균은 *A. haemolyticum*으로 확인되었다. 내원 4일째 절개 및 병소 제거술을 시행하였고, 항생제를 piperacillin-tazobactam으로 교체하여 정맥 주사하였다. 내원 6일째 시행한 혈액배양검사에서는 음성하였고, 내원 7일째 발열이 소실되었다. 내원 23일째 무릎아래 절단술(below-knee amputation)을 시행하였고, 총 4주간 항생제를 투여하였다. C-반응 단백, 백혈구는 정상화되었으며 창상부위도 호전되어, 퇴원 후 재발 없이 8개월째 경과를 관찰 중이다.



**Figure 1.** Findings of osteomyelitis in tri-phase bone scan. Bony uptake of left 1st proximal and distal phalanges is not observed in delayed phase image. Increased uptakes of left 1st metatarsal bone head, tarsal bone, and upper portion of calcaneus are observed in delayed phase image.

## 미생물학적 동정 및 감수성 검사

혈액배양에서 검출된 균주를 혈액한천배지에서 48시간 배양하였을 때 회백색의 0.5 mm 크기의 집락이 자랐으며 집락 가장자리에 좁은 베타 용혈대가 관찰되었다. 그람 염색 상 그람 양성 막대균이 관찰되었다.

Proteinase K를 사용하여 균주의 유전자를 추출하였고 5'→3': AGTTTGATCCTGGCTCAG와 3'→5': GGTACCTTGTTACGACTT를 시발체로 하여 16s rRNA를 증폭하였다[11]. GenBank database에서 유사한 16s rRNA 염기서열을 비교 검색하였다. 분리된 균주의 135 bp와 408 bp 16s rRNA 염기서열은 GenBank accession number FJ477385.1과 AJ234059.1로 등록된 균주의 134 bp, 408 bp의 16s rRNA 염기서열과 99% 일치하여 *A. haemolyticum*으로 동정하였다.

동정 결과의 확인을 위해 *A. haemolyticum*에 대한 표현형검사인 reverse CAMP test를 추후 추가로 시행하였다. 혈액한천배지에 *Staphylococcus aureus* ATCC 29213을 중앙에 한 줄로 그은 다음 시험 균주를 3~4 mm 가까이 직각으로 2~3 cm 길이로 획선하고 CO<sub>2</sub> 환경에서 24시간 동안 배양한 후 용혈대의 억제여부를 관찰하였다. *S. aureus* ATCC 29213 주위에서 용혈이 억제되고, 분리 균주에서 용혈이 증가되어 양성으로 판정하였다(Fig. 2).

VITEK-2 시스템 및 디스크 확산법[12, 13]으로 시행한, 항생제 감수성 검사에서 penicillin, oxacillin, vancomycin, erythromycin, tetracycline, chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin에는 감수성, trimethoprim-sulfamethoxazole에는 내성이었다.

## 고찰

*A. haemolyticum*에 의한 국소 감염의 경우 다른 여러 가지 세균과



**Figure 2.** Reverse CAMP test. *Arcanobacterium haemolyticum* is streaked horizontally and *Staphylococcus aureus* ATCC 26923 was streaked vertically. The inhibition zone of hemolysis of *Staphylococcus* ATCC 25923 is noted near the streak line of *Arcanobacterium haemolyticum*.

동시에 검출되는 경우가 많아, 이 세균 자체가 발병 및 사망에 크게 기여한다고 보기는 어렵다[3-5]. 심부 감염 및 전신 감염을 일으키는 경우 대개 당뇨, 압, 고령, 알코올 중독 등 면역기능감소를 일으키는 기저 질환이 있는 환자에서 발생하며, 단일균만 검출되는 경우가 있다[7-10]. 본 증례 역시 기저질환으로 당뇨병, 고혈압, 전립선암이 있었고, 심부 감염증이었으며, *A. haemolyticum* 단일균만 검출되어, 기존의 보고와 부합하는 소견을 보였다.

드물게 검출되거나, 생화학적으로 구분하기 어려운 특성을 지니는 세균, 느리게 자라는 세균은 전통적인 미생물 검사법이나 자동화 시스템으로는 정확히 동정하지 못하는 경우가 많다. 이러한 점을 보완하기 위해 16s rRNA 유전자의 염기서열분석이 이용되고 있다[11]. 본 증례에서 동정된 그람 양성 막대균은 VITEK-2 시스템에 의한 동정법으로는 *Cellulomonas* species로 보고되었지만, 16s rRNA 염기서열분석상 *A. haemolyticum*으로 동정하였다. 이는 16s rRNA 염기서열분석으로 *A. haemolyticum*을 정확히 동정하여 치료에 적합한 국내 첫 번째 보고이다.

*A. haemolyticum* 심부 감염증의 치료약제에 대해서는 정해진 바가 없으며, 항균제 감수성 검사에 대한 기준도 잘 정립되어 있지 않다[12, 13]. Erythromycin 및 고용량 penicillin 정맥주사가 좋은 치료 결과를 보임이 보고된 바 있으나[4-6]. Penicillin에 대한 억제검사에서 감수성을 보인 균주도, 살균검사(bactericidal test)에서는 관용성(tolerance)을 보일 수 있다고 알려져 있다[14]. 따라서 치료반응이 미미한 경우 penicillin과 gentamicin 병합투여를 고려할 수 있다[14]. In-vitro 검사에서는 *A. haemolyticum*이 ciprofloxacin에 감수성을 보임이 알려져 있으나, *A. haemolyticum* 심부 감염증에 대한 ciprofloxacin의 치료 결과에 대해서는 임상 자료가 매우 부족하다[4, 15]. 이 증례에서는 균혈증이 소실된 것이 ciprofloxacin에서 piperacillin-tazobactam으로 항생제를 변경하여서인지 아니면 병소에 대한 제거술을 시행해서인지 구분하기 어려우나, ciprofloxacin 투여에도 불구하고 혈액 및 병소에서 미생물학적 호전이 없었고 환자 상태가 악화된 소견을 보였다.

호기성 그람 양성 막대균이 혈액배양에서 동정되고, 병원균으로 판단된다면, 동정결과가 정확하지 않거나 시간이 많이 소요될 수 있는 자동화기기 검사법 또는 생화학적 검사법 만을 임상에 활용하기 보다는, 정확하고 신속한 동정이 가능한 16s rRNA 염기서열분석을 조기에 진단에 사용하는 것을 고려해 볼 수 있다.

## 참고문헌

- MacLean PD, Liebow AA, Rosenberg AA. A hemolytic *Corynebacterium* resembling *Corynebacterium ovis* and *corynebacterium pyogenes* in man. J Infect Dis 1946;79:69-90.
- Collins MD, Jones D, Schofield GM. Reclassification of '*Corynebacterium haemolyticum*' (MacLean, Liebow & Rosenberg) in the genus *Arcanobacterium* gen. nov. as *Arcanobacterium haemolyticum* nom. rev., comb. nov. J Gen Microbiol 1982;128:1279-81.
- Mackenzie A, Fuite LA, Chan FT, King J, Allen U, MacDonald N, Diaz-Mitoma F. Incidence and pathogenicity of *Arcanobacterium haemolyticum* during a 2-year study in Ottawa. Clin Infect Dis 1995;21:177-81.
- Dobinsky S, Noesselt T, Rücker A, Maerker J, Mack D. Three cases of *Arcanobacterium haemolyticum* associated with abscess formation and cellulitis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999;18:804-6.
- Esteban J, Zapardiel J, Soriano F. Two cases of soft-tissue infection caused by *Arcanobacterium haemolyticum*. Clin Infect Dis 1994;18:835-6.
- Skov RL, Sanden AK, Danchell VH, Robertsen K, Ejlersen T. Systemic and deep-seated infections caused by *Arcanobacterium haemolyticum*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1998;17:578-82.
- Vargas J, Hernandez M, Silvestri C, Jiménez O, Guevara N, Carballo M, Rojas N, Riera J, Alayo E, Fernández M, Rodríguez-Morales AJ, Silva M. Brain abscess due to *Arcanobacterium haemolyticum* after dental extraction. Clin Infect Dis 2006;42:1810-1.
- Waller KS, Johnson J, Wood BP. Radiological case of the month. Cavitary pneumonia due to *Arcanobacterium hemolytic*. Am J Dis Child 1991;145:209-10.
- Alós JL, Barros C, Gómez-Garcés JL. Endocarditis caused by *Arcanobacterium haemolyticum*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995;14:1085-8.
- Ford JG, Yeatts RP, Givner LB. Orbital cellulitis, subperiosteal abscess, sinusitis, and septicemia caused by *Arcanobacterium haemolyticum*. Am J Ophthalmol 1995;120:261-2.
- Adderson EE, Boudreaux JW, Cummings JR, Pounds S, Wilson DA, Procop GW, Hayden RT. Identification of clinical coryneform bacterial isolates: comparison of biochemical methods and sequence analysis of 16S rRNA and rpoB genes. J Clin Microbiol 2008;46:921-7.
- Carlson P, Kontiainen S, Renkonen OV. Antimicrobial susceptibility of *Arcanobacterium haemolyticum*. Antimicrob Agents Chemother 1994;38:142-3.
- Carlson P, Korpela J, Walder M, Nyman M. Antimicrobial susceptibilities and biotypes of *Arcanobacterium haemolyticum* blood isolates. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999;18:915-7.
- Nyman M, Banck G, Thore M. Penicillin tolerance in *Arcanobacterium haemolyticum*. J Infect Dis 1990;161:261-5.
- Malini A, Deepa EK, Manohar PV, Borappa K, Prasad SR. Soft tissue infections with *Arcanobacterium haemolyticum*: report of three cases. Indian J Med Microbiol 2008;26:192-5.