

*Cedecea davisae*로 잘못 동정된 *Enterobacter hormaechei* 감염 2예

Two Cases of *Enterobacter hormaechei* Infection Misidentified as *Cedecea davisae* Infection

임용관¹ · 권오주¹ · 이미경¹ · 박경운²Yong Kwan Lim, M.D.¹, Oh Joo Kweon, M.D.¹, Mi-Kyung Lee, M.D.¹, Kyoung Un Park, M.D.²중앙대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 분당서울대학교병원 진단검사의학과²Department of Laboratory Medicine¹, Chung-Ang University College of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine², Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, Korea

Enterobacteriaceae is a family of gram-negative, rod-shaped bacteria that consists of various species. Among these, members of the genus *Cedecea* has been reported as relatively rare causative pathogens of human infections. Commercially available automated identification systems that use biochemical reactions are known to accurately identify *Enterobacteriaceae* species. However, the accurate identification of some organisms with diverse biochemical profiles by these automated identification systems may be problematic. In this study, we report two cases of isolate misidentification, from patients with acute cholecystitis and deep vein thrombosis, as *Cedecea davisae* with VITEK II system. Both the isolates were correctly identified as *Enterobacter hormaechei* using *gyrB* gene sequence analysis. We also performed 16S rRNA sequence analyses and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry analyses; however, indeterminate results were obtained from both the assays. Therefore, the sequence analysis of alternative genes, like *gyrB*, might be useful for accurate identification of species that belong to the family of *Enterobacteriaceae*.

Key Words: *Enterobacteriaceae*, *Cedecea davisae*, *Enterobacter hormaechei*, VITEK II, Sequence analysis

서론

*Enterobacteriaceae*는 조건무산소성인 그람음성막대균으로, 여러 가지 균종으로 이루어져 있다. 과거에는 생화학적 성상과 항원성의 차이로 *Enterobacteriaceae*를 분류하였으나, 핵산 분석이 분류에 이용되면서 새로운 균종이 발견되고 새로운 분류가 제안되었다. 그중 *Enterobacter* spp.는 식물, 흙, 물 및 동물과 사람의 장 내에 존재하는 균종으로, 지역사회 감염을 일으킬 수 있지만,

대부분은 병원 내 감염을 일으킨다고 알려져 있다[1].

이러한 *Enterobacter* spp.는 임상 검체에서 흔하게 발견되며 생화학적 성상을 이용하는 미생물 신속동정 시스템을 통해 일반적으로 정확하게 동정된다[2]. 하지만 *Enterobacter* spp.에 속하는 일부 균종은 대사 다양성을 보일 수 있기 때문에 미생물 신속동정 시스템에 의해 정확하게 동정되지 않을 수 있고, 비전형적인 생화학적 특성을 가진 균종은 다른 균으로 오인되거나 동정되지 않을 수도 있다[3].

이에 저자들은 임상 검체에서 *Cedecea davisae*로 잘못 보고된 증례 2예를 경험하였기에 보고하는 바이다.

증례

증례 1

평소 건강하였던 66세 여자환자가 내원 일주일 전부터 발생한 우상복부 통증을 주소로 응급실에 내원하였다. 신체검사에서 체온 36.8°C, 혈압 142/86 mmHg, 호흡수 20회/분, 맥박 80회/분이었다. 말초혈액검사에서 호중구 증가에 의한 백혈구 증가 소견을 보

Corresponding author: Mi-Kyung Lee

Department of Laboratory Medicine, Chung-Ang University College of Medicine, 102 Heukseok-ro, Dongjak-gu, Seoul 06973, Korea
Tel: +82-2-6299-2719, Fax: +82-2-6298-8630, E-mail: cpworld@cau.ac.kr

Received: January 13, 2015

Revision received: March 4, 2015

Accepted: March 4, 2015

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2015, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

이며, AST 183 IU/L, ALT 181 IU/L, alkaline phosphatase 677 IU/L, gamma glutamyl transpeptidase 1,833 IU/L, lactate dehydrogenase 213 IU/L, C-reactive protein 11.8 mg/dL로 증가되어 있었다. 급성 담낭염을 의심하여 시행한 복부 컴퓨터 단층촬영에서 1.7 cm의 총담관 결석과 담도계의 확장 소견이 확인되어 환자는 입원하여 정맥주사용 levofloxacin로 경험적 항생제 치료를 시작하였다. 입원 2일째 검사 결과상 amylase가 급격히 상승하며 증상이 악화되어 응급으로 경피경간 담도 배액술(percutaneous transhepatic biliary drainage)을 시행하였고 이후 증상이 호전되어 보존적 치료를 유지하였다. 입원 11일째 복강경 담낭절제술을 시행하였고, 수술 중 시행한 담낭 조직배양에서 그람음성막대균 집락이 자랐으며, 분리된 균주는 VITEK II system (bioMérieux, inc., Marcy-l'Etoile, France)을 이용하여 동정한 결과 *C. davisae*로 확인되었다. 수술 후 별다른 합병증이 없으며 증상의 호전을 보여 입원 18일째에 퇴원하였다.

증례 2

췌장암으로 Whipple operation을 시행하였으며 6차례 항암화학요법 치료 후 경과 관찰 중이던 58세의 여자환자가 내원 5일 전부터 시작된 호흡곤란을 주소로 외래를 통해 입원하였다. 입원 후 시행한 하지 초음파에서 심부정맥 혈전증의 소견을 보였고, 흉부 컴퓨터단층촬영에서 폐색전증이 관찰되었다. 추가로 시행한 컴퓨터 단층촬영 혈관조영술에서 대퇴정맥, 장골정맥까지 혈전이 발생하여 dalteparin 투약을 시작하였다. 그리고 입원 3일째, 추가로 하대정맥 필터를 삽입하였으나 이후 하지부종이 점차 진행하여 악화되었다. 입원 3주 후, 신체검사상에서 발열(38.0°C), 빈맥(140회/분)이 동반되었고 발열 당시 말초혈액검사상에서 백혈구 수 3,250/μL (호중구 85%, 림프구 14%, 단핵구 1%), 헤모글로빈 9.9 g/dL, 혈소판 수 77,000/μL, C-reactive protein 144.7 mg/dL로 전신 염증반응 증후군에 합당한 소견을 보였다. 발열 당시 시행한 혈액배양에서 *C. davisae*가 분리되었지만 환자는 추가적인 치료를 모두 거부하여 입원 21일째에 사망하였다. 이 환자는 발열 당시 혈액배양만 시행하였고 그 이후 배양검사는 더 시행하지 않았다.

Table 1. Results of 16S rRNA sequencing

Case No.	ID	Identities	Gaps
1	<i>Enterobacter hormaechei</i> VIT-SNSJ	479/488 (98.16%)	0/488 (0%)
	<i>Enterobacter cloacae</i> ECNIH2	479/488 (98.16%)	0/488 (0%)
	<i>Enterobacter ludwigii</i> VS01-S1	479/488 (98.16%)	0/488 (0%)
2	<i>Enterobacter hormaechei</i> Nuan 5	489/490 (99.80%)	0/490 (0%)
	<i>Enterobacter cloacae</i> ECNIH2	489/490 (99.80%)	0/490 (0%)
	<i>Lactobacillus plantarum</i> AU5-800R	489/490 (99.80%)	0/490 (0%)

세균검사

두 환자에서 분리된 검체에서 정확한 균 동정을 위하여 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 실시하였다. 순수 분리된 집락에서 DNA를 추출한 뒤, 16S rRNA 유전자 절편을 증폭한 후 직접 염기서열을 분석하였다. 각각 488, 490 bp 크기의 염기서열을 얻었으며, 이를 NCBI BLAST의 데이터베이스와 비교하였을 때, *Enterobacter hormaechei*와 *Enterobacter cloacae*를 정확하게 감별할 수 없었다(Table 1). 이후 추가적으로 Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)를 이용한 VITEK MS system (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France)과 Bruker Biotyper (Bruker Daltonics, Leipzig, Germany)를 시행하였으나, 두 검사에서 모두 균종까지 정확하게 동정되지는 않았다(Table 2). 정확한 동정을 위하여 beta subunit of RNA polymerase (*rpoB*)와 DNA gyrase subunit B (*gyrB*)에 대한 염기서열 분석을 시행하였다. *rpoB*에 대한 유전자 염기서열을 NCBI BLAST의 데이터베이스와 비교하였을 때, 두 검체에서 모두 *E. hormaechei*와 *E. cloacae*에 대해 동일한 상동성을 보여 균속까지는 정확하게 감별하지 못 하였다(Table 3). 하지만 *gyrB*의 유전자 염기서열에서는 *E. hormaechei* (Genbank accession No. GL892086)와 각각 99.41% (1,171/1,178 bp), 99.22% (1,150/1,159 bp)의 일치도를 보였으며 두 번째로 높은 일치도를 보인 *E. cloacae* (Genbank accession No. FP929040.1)와 97.62% (1,150/1,178 bp), 97.41% (1,129/1,159 bp)의 상동성을 보여 최종적으로 *E. hormaechei*로 동정할 수 있었다(Table 4).

Table 2. Results of MALDI-TOF MS identification

Case No.	Bruker Biotyper		VITEK MS system	
	ID	Score	ID	Confidence value
1	<i>Enterobacter cloacae</i>	2.117	<i>Enterobacter cloacae</i>	50
	<i>Enterobacter cloacae</i>	1.991	<i>Enterobacter asburiae</i>	50
	<i>Enterobacter hormaechei</i>	1.989		
2	<i>Enterobacter cloacae</i>	2.207	<i>Enterobacter cloacae</i>	50
	<i>Enterobacter cloacae</i>	2.200	<i>Enterobacter asburiae</i>	50
	<i>Enterobacter hormaechei</i>	2.146		

Table 3. Results of *rpoB* sequencing

Case No.	ID	Identities	Gaps
1	<i>Enterobacter hormaechei</i> ATCC 49162	981/983 (99.80%)	0/983 (0%)
	<i>Enterobacter cloacae</i> EN-291	981/983 (99.80%)	0/983 (0%)
	<i>Enterobacter cloacae</i> EN-280	981/983 (99.80%)	0/983 (0%)
2	<i>Enterobacter hormaechei</i> ATCC 49162	969/971 (99.79%)	0/971 (0%)
	<i>Enterobacter cloacae</i> EN-291	969/971 (99.79%)	0/971 (0%)
	<i>Enterobacter cloacae</i> EN-280	969/971 (99.79%)	0/971 (0%)

Table 4. Results of *gyrB* sequencing

Case No.	ID	Identities	Gaps
1	<i>Enterobacter hormaechei</i> ATCC 49162	1,171/1,178 (99.41%)	0/1,178 (0%)
	<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	1,150/1,178 (97.62%)	0/1,178 (0%)
	<i>Enterobacter cloacae</i> SSM 2554	1,147/1,178 (97.37%)	0/1,178 (0%)
2	<i>Enterobacter hormaechei</i> ATCC 49162	1,150/1,159 (99.22%)	0/1,159 (0%)
	<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 9394	1,129/1,159 (97.41%)	0/1,159 (0%)
	<i>Enterobacter cloacae</i> SSM 2554	1,126/1,159 (97.15%)	0/1,159 (0%)

고 찰

*E. hormaechei*는 그람음성막대균으로 *Enterobacteriaceae*에 속하며 임상 검체에서 흔히 분리된다고 알려져 있다. 이 균종은 1989년 O'Hara 등[4]이 *Enterobacter*속을 제안하고 정의한 미생물 학자인 Estenio Hormaeche의 이름을 따서 명명한 새로운 *Enterobacter* spp.로, 과거에 enteric group 75 불렸으며, *E. cancerogenus*와 유사한 생화학적 성상을 가진다. *E. hormaechei*는 주로 사람의 객담, 담낭, 창상감염 등에서 분리되며, 드물지만 혈류감염을 일으킬 수 있다. 특히 미국과 브라질의 소아 중환자실에서 발생한 패혈증의 원인균으로 밝혀져 임상적 중요성이 부각되었다. 1993년 미국 소아 중환자실에서 *E. hormaechei*에 의한 패혈증이 집단 발생하였는데, 당시 5명의 유아의 혈액배양에서 이 균이 동정되고, 한 명의 유아에서 기관지염의 원인균으로 밝혀졌다. 추가로 4명의 유아에서 집락형성(colonization)이 확인되었으나, 이 균에 의한 사망은 보고되지 않았다[5]. 또한 브라질의 소아 중환자실에서도 *E. hormaechei*에 의한 혈류감염의 집단 발생이 보고되었는데, 당시에는 비경구영양법이 집단 발생의 원인으로 지목되었다[6].

*E. hormaechei*가 속하는 *Enterobacteriaceae*는 일반적으로 임상검체에서 생화학적 성상을 이용하는 자동화 장비나 Analytical Profile Index (API) 검사를 통해 동정하게 된다. 이러한 검사방법은 균종까지 동정하는 데 있어 비교적 정확하다고 알려져 있으나[2], 다양한 생화학적 성상을 나타내는 일부 균속은 자동화 장비에서 정확한 균종 동정에 한계가 있다고 보고되었다[3]. 이번 증례에서도 VITEK II system을 사용하였을 때 두 균종 모두 *C. Davisae*로 잘못 동정되었다. *Enterobacteriaceae*에 속하는 *C. Davisae*는 정상적으로 사람의 위장관 및 피부상재균으로 존재하며[7], 사람의 객담, 점막궤양, 혈액 등에서 분리되기도 한다[8]. 매우 드물게 면역이 감소된 환자에서 균혈증도 일으킬 수 있다고 보고되었지만[9], 아직까지 정확한 병인적 역할은 알려지지 않았다.

이번 증례와 유사하게 VITEK II system에서 *E. hormaechei*가 다른 균종인 *Cronobacter sakazakii*로 잘못 보고되는 경우가 있었다[10]. 해당 증례에서는 분자유전학 방법으로 흔히 사용되고 있

는 16S rRNA의 염기서열 분석으로 *E. hormaechei*를 확인하였으나, 이번 증례에는 16S rRNA의 염기서열 분석에서 정확한 균종 동정을 하지 못했다. 이는 16S rRNA 유전자 서열이 상당히 비슷하여 동정이 정확하게 되지 않기 때문이며, 이러한 문제는 특히 *Enterobacteriaceae*에서 많이 알려져 있다[11]. 이들 균종의 경우에는 16S rRNA 유전자에 의한 동정의 정확성이 낮을 수밖에 없어, 이러한 문제 때문에 *rpoB*, *gyrB* 그리고 *hsp60*과 같은 다른 부위에 대한 염기분석이 제시되었고[3, 11], 이번 증례에서도 *gyrB*를 통하여 *E. hormaechei*로 동정할 수 있었다.

MALDI-TOF MS는 최근 균을 신속하고 정확하게 동정하기 위하여 많이 이용되고 있다[12]. 균을 동정하는 데 있어 생화학적 성상을 이용하는 방법보다 MALDI-TOF MS는 매우 다양하게 발전하고 있지만, 아직까지는 일부의 분류군에 있어서 동정이 완벽하게 되지 않는다고 알려져 있으며 *E. cloacae* complex도 이러한 분류군에 속한다고 알려져 있다. 특히 *E. cloacae*와 *E. nimipressuralis*는 MALDI-TOF MS를 통해 정확하게 동정되었지만, *E. asburiae*, *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. ludwigii*는 *E. cloacae*와 정확하게 구별할 수 없었다는 보고가 있었다[13]. 이 증례에서도 Bruker Biotyper의 database에 *E. hormaechei*가 포함되어 있었지만 균속까지 정확하게 동정되지 않았고, VITEK MS system은 database에 *E. hormaechei*가 포함되어 있지 않아 *Enterobacter*속까지만 확인할 수 있었다. 이에 *Enterobacter* spp.의 정확한 동정을 위해 MALDI-TOF MS database의 개선 및 추가적인 평가가 필요할 것으로 생각된다.

이번 증례에서 분리된 *E. hormaechei*가 속하는 *Enterobacteriaceae*는 표현형이 매우 다양하게 나타나 일부 균종에서 정확한 동정이 어려울 수 있어[14], 임상미생물 검사실에서 생화학적 방법이나 MALDI-TOF MS로 *C. Davisae*와 같은 임상 검체에서 매우 드물게 분리되는 세균이 동정되었을 경우 정확한 균종 동정을 위한 추가적인 방법이 필요할 수 있다. 또한 *Enterobacteriaceae*에서 16S rRNA 유전자 염기서열의 상동성이 매우 높아 이 부위에 대한 직접 염기서열 분석도 *Enterobacteriaceae*의 균종 동정 시 정확성이 낮을 수 있다. 그러므로 *gyrB*와 같은 다른 유전자 부위에 대한 직접 염기서열 분석이 매우 드물게 분리되는 *Enterobacteriaceae*의 정확한 균종 동정에 유용하게 사용될 것으로 생각된다.

요 약

*Enterobacteriaceae*는 조건무산소성 그람음성막대균으로 다양한 균종으로 이루어져 있으며, 그중 *Cedecea*는 임상 검체에서 매우 드물게 분리되는 것으로 알려져 있다. 생화학적 성상을 이용하는 자동화 장비를 통하여 비교적 정확하게 균종 동정이 가능하

다고 알려져 있지만, 다양한 생화학적 성상을 나타내는 일부 균속은 자동화 장비에서 정확한 균종 동정에 한계가 있을 수 있다. 저자들은 급성 담낭염 환자와 심부정맥 혈전증 환자에서 분리되어 VITEK II system에서 *C. davisae*로 동정된 두 그람음성막대균에 대하여 *gyrB* 유전자 염기서열분석을 시행하였고 그 결과 두 균 모두 *C. davisae*가 아닌 *E. hormaechei*임을 확인하였다. 그뿐만 아니라 이들 균에 대하여 시행한 MALDI-TOF MS와 16S rRNA 염기서열 분석 결과에서도 정확하지 않은 동정 결과를 보여 *gyrB*와 같은 다른 유전자 부위에 대한 직접 염기서열 분석이 *Enterobacteriaceae*의 정확한 균종 동정에 유용하게 사용될 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Sanders WE Jr and Sanders CC. *Enterobacter* spp.: pathogens poised to flourish at the turn of the century. Clin Microbiol Rev 1997;10:220-41.
2. Ling TK, Liu ZK, Cheng AF. Evaluation of the VITEK 2 system for rapid direct identification and susceptibility testing of gram-negative bacilli from positive blood cultures. J Clin Microbiol 2003;41:4705-7.
3. Delmas J, Breyse F, Devulder G, Flandrois JP, Chomarat M. Rapid identification of *Enterobacteriaceae* by sequencing DNA gyrase subunit B encoding gene. Diagn Microbiol Infect Dis 2006;55:263-8.
4. O'Hara CM, Steigerwalt AG, Hill BC, Farmer JJ 3rd, Fanning GR, Brenner DJ. *Enterobacter hormaechei*, a new species of the family *Enterobacteriaceae* formerly known as enteric group 75. J Clin Microbiol 1989;27:2046-9.
5. Wenger PN, Tokars JI, Brennan P, Samel C, Bland L, Miller M, et al. An outbreak of *Enterobacter hormaechei* infection and colonization in an intensive care nursery. Clin Infect Dis 1997;24:1243-4.
6. Campos LC, Lobianco LF, Seki LM, Santos RM, Asensi MD. Outbreak of *Enterobacter hormaechei* septicaemia in newborns caused by contaminated parenteral nutrition in Brazil. J Hosp Infect 2007;66:95-7.
7. Bae BH and Sureka SB. *Cedecea davisae* isolated from scrotal abscess. J Urol 1983;130:148-9.
8. Perkins SR, Beckett TA, Bump CM. *Cedecea davisae* bacteremia. J Clin Microbiol 1986;24:675-6.
9. Abate G, Qureshi S, Mazumder SA. *Cedecea davisae* bacteremia in a neutropenic patient with acute myeloid leukemia. J Infect 2011;63:83-5.
10. Townsend SM, Hurrell E, Caubilla-Barron J, Loc-Carrillo C, Forsythe SJ. Characterization of an extended-spectrum beta-lactamase *Enterobacter hormaechei* nosocomial outbreak, and other *Enterobacter hormaechei* misidentified as *Cronobacter (Enterobacter) sakazakii*. Microbiology 2008;154:3659-67.
11. Mollet C, Drancourt M, Raoult D. *rpoB* sequence analysis as a novel basis for bacterial identification. Mol Microbiol 1997;26:1005-11.
12. van Baar BL. Characterisation of bacteria by matrix-assisted laser desorption/ionisation and electrospray mass spectrometry. FEMS Microbiol Rev 2000;24:193-219.
13. Pavlovic M, Konrad R, Iwobi AN, Sing A, Busch U, Huber I. A dual approach employing MALDI-TOF MS and real-time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. FEMS Microbiol Lett 2012;328:46-53.
14. Ohad S, Block C, Kravitz V, Farber A, Pilo S, Breuer R, et al. Rapid identification of *Enterobacter hormaechei* and *Enterobacter cloacae* genetic cluster III. J Appl Microbiol 2014;116:1315-21.