

A Case of *Anaerobiospirillum succiniciproducens* Isolated from Blood Culture

Woo Ri Jang¹, Chung Hyun Nahm¹, Yeon Sook Moon¹, Young Soo Je¹, Dongeun Yong², Jin Ju Kim¹

Departments of Laboratory Medicine, ¹Inha University College of Medicine, Incheon,

²Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Anaerobiospirillum succiniciproducens is a spiral-shaped, gram-negative anaerobic bacterium. *A. succiniciproducens* is a rare cause of bacteremia in human, especially immunocompromised patients. This organism may be mistakenly identified when using an automated bacterial identification system, and may be mistaken for *Campylobacter* spp. when using Gram staining. We report a case of bacteremia caused by *A. succiniciproducens*, which was negative for catalase, oxidase, and urease and confirmed by 16S

rRNA sequencing (analysis revealed a 99% similarity), in a 69-year-old patient who was undergoing chemotherapy for treatment of a malignancy. To the best of our knowledge, this is the first report of bacteremia caused by *A. succiniciproducens* in Korea. (Korean J Clin Microbiol 2012;15:74-77)

Key Words: *Anaerobiospirillum succiniciproducens*, Bacteremia, Blood culture

서 론

*Anaerobiospirillum succiniciproducens*는 개와 고양이의 변에서는 분리되지만 인체감염의 보고는 드문 것으로 알려진 그람 음성 나선균이다. 1976년 처음 균이 알려진 후 균혈증의 원인균으로 미국, 유럽, 아시아 등 전 세계에서 꾸준히 보고되고 있으며, 현재까지 약 33예가 보고되었다. 대부분 만성 알코올중독, 악성 종양 등의 기저질환이 있거나 면역력이 저하된 환자에서의 발생이 보고되고 있다. 임상양상은 실사, 구토, 오심 등의 위장관 증상 혹은 발열이 가장 흔하였으나 증상이 없는 경우도 있으며, 임상경과는 자연적으로 호전되는 경우에서 사망에 이르기까지 다양하였다[1].

저자들은 위암으로 항암치료를 받은 환자의 혈액에서 16S rRNA 염기서열 분석을 통하여 *A. succiniciproducens*를 분리한 1예를 국내에서 처음으로 경험하여 문헌 고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

69세 여자 환자가 3개월 전 복막전이된 진행성 위암을 진단 받고 7차 항암치료를 위해 본원 소화기내과에 입원하였다. 입

원 당시 환자는 상악동 부위의 동통을 호소하였으며 이학적 검사상에서 압통이 있었고 부비동 방사선촬영에서 양쪽 상악동염이 관찰되었다. 일반혈액 검사에서는 혈색소가 8.6 g/dL, 백혈구 수가 2,400/ μ L (호중구 39.1%, 림프구 36.8%, 단핵구 9.4%)로 감소되었으며 혈소판은 185,000/ μ L이었다. LDH는 227 IU/L, 총단백은 5.6 g/dL, globulin은 2.4 g/dL, glucose는 156 mg/dL이었으며 혈청 전해질 농도와 임상화학검사 결과는 모두 정상이었다. 혈색소 수치가 감소해 수혈이 필요하다고 판단하여 적혈구 1단위를 수혈하던 중 38.9°C에 이르는 열이 발생하여 해열제 복용 후 적혈구 1단위를 추가로 수혈하였다. 혈액배양검사 2회, 객담배양검사, 요배양검사를 시행하고 일반혈액검사를 시행한 결과 백혈구 2,700/ μ L (호중구 61.5%, 림프구 21.8%, 단핵구 7.0%), 혈색소 10.1 g/dL, 혈소판 169,000/ μ L이었다. 수혈 후 cefotaxime sodium을 투약하였으며 발열이 소실되어 다음날 7차 항암치료를 시작하였으며 항생제 투약도 계속하여 3일 후 퇴원하였다.

발열 시 시행한 요배양검사에서는 균이 검출되지 않았고 객담배양검사서 α 용혈성 사슬알균이 자랐다. BACTEC 9240 Blood Culture System (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)으로 2회 실시한 혈액배양에서 무산소성 혈액배양병(BACTEC Lytic Anaerobic/F) 1개에서 2일만에 균이 증식되었으며 산소성 혈액배양병(BACTEC Plus Aerobic/F)에서는 증식되지 않았다. 양성의 혈액배양 원인균을 브루셀라 혈액한천배지와 chocolate 배지에 계대배양하였으나 배양 2일까지 균이 관찰되지 않아 다시 계대배양한 결과, 브루셀라 혈액한천배지에서 비용

Received 4 November, 2011, Revised 21 February, 2012

Accepted 21 February, 2012

Correspondence: Jin Ju Kim, Department of Laboratory Medicine, Inha University College of Medicine, 27 Inhang-ro, Jung-gu, Incheon 400-711, Korea. (Tel) 82-32-890-2502, (Fax) 82-32-890-2529, (E-mail) jkimmd@inha.ac.kr



Fig. 1. Colonies of *Anaerobiospirillum succiniciproducens* grown on brucella blood agar plate after 48 hours of incubation.

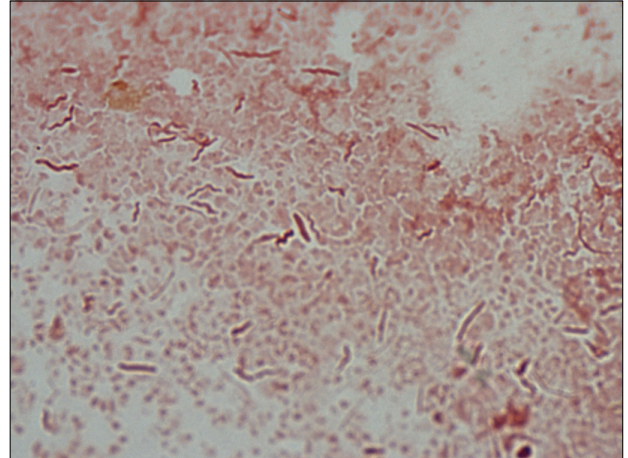


Fig. 2. Gram stain findings of the *Anaerobiospirillum succiniciproducens* showing spiral Gram negative anaerobic rods (Gram stain, ×1,000).

혈성의 투명하고 원형인 0.5 mm 크기의 집락이 48시간 후에 관찰되었다(Fig. 1). Aerotolerance 검사를 시행하여 브루셀라 혈액천배지에서만 균이 자라는 것을 확인하였다. 그람염색상 그람음성의 나선형 간균이 보였다(Fig. 2). 생화학적 검사상 oxidase 음성, catalase 음성, urease 음성이었고, VITEK I automated system (bioMérieux, Inc., Marcy l'Etoile, France) 동정 결과는 *Bacteroides distasonis*였고, VITEK II Anaerobes & Corynebacteria (ANC) 동정카드(bioMérieux, Inc.)에 의해서 L-leucine arylamidase, ELLMAN 양성으로 *Fusobacterium nucleatum* (97.3%)으로 동정되었다. *B. distasonis*는 그람염색에서 분홍색으로 군단이 둥글고 곧은 형태이며 *F. nucleatum*도 그람음성으로 가늘고 길며 끝이 뾰족한 간균으로 환자에서 분리된 균의 그람염색 결과와 차이를 보였다. 균의 동정을 위하여 16S rRNA 염기서열 분석을 시행하였는데, 방법은 다음과 같다[2]. 대상 균주를 부유시킨 증류수 100 μ L를 100°C에서 10분간 중탕 후 4°C에서 13,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 불순물을 침전시켰다. 상청액 10 μ L를 DNA template로 사용하여 중합효소연쇄반응을 시행하였다. 한쌍의 시발체를 이용하여 Mastercycler gradient (Eppendorf, Hamburg, Germany)로 94°C 20초, 50°C 40초, 72°C 2분의 과정을 35회 반복 후 72°C에서 5분간 연장반응을 실시하여 16S rRNA 유전자를 증폭시켰다. 증폭된 DNA는 전기영동으로 band를 확인한 후 QIAquick Gel Extraction kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)를 이용하여 증폭산물을 정제하였다. 정제된 DNA는 ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster city, CA, USA)를 사용하여 양방향으로 염기서열을 분석하였다. 16S rRNA 염기서열을 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 또는 EMBL (<http://www.ebi.ac.uk/embl/>)의 자료와 비교하여 *A. succiniciproducens* (GenBank accession No. U96412)와 99% 상동성을 가진 것으로 확인하였다. 항균제감수성시험은 시행하지 않았다. 본

증례에서는 같은 날 시행한 2회의 혈액배양에서 1회만 균이 증식되어 오염균일 가능성을 배제할 수 없었으나, *A. succiniciproducens*가 피부 상재균이나 오염균으로 보고된 예가 없어 오염균이 아닐 것으로 생각하였다.

고 찰

*Anaerobiospirillum*는 무산소성 아포비형성 그람음성인 나선균으로 운동성을 가지며 *A. succiniciproducens*와 *A. thomasi*의 2가지 군종이 있고 위장관염, 균혈증 등의 인체감염을 드물게 일으키는 것으로 알려져 있다[3,4]. 지금까지 연구에서 개와 고양이의 변에서는 상재균으로 분리되기도 하였으나 인체에서 상재균으로 존재하는지는 아직 밝혀지지 않았다[3]. *A. thomasi*는 위장관염과 설사 등의 경미한 증상을 유발하지만[3] *A. succiniciproducens*는 경과가 가벼운 위장관염 외에도 드물게 균혈증의 형태로 심한 병원성을 나타낸 보고가 있었다[5-8].

*A. succiniciproducens*는 1976년에 Davis 등[9]에 의해 개의 인후와 변에서 처음으로 동정되어 보고되었다. 1981년 Rifkin과 Opdyke[10]가 *A. succiniciproducens*에 의한 인체감염으로 균혈증을 처음 보고한 이후로 미국, 아프리카와 독일, 영국, 스페인 등의 유럽, 뉴질랜드, 호주, 이스라엘, 브라질, 홍콩, 일본, 말레이시아 등의 전세계에서 감염 증례가 보고되고 있으나 [4,6-8,11] 아직까지 국내에 보고된 증례는 찾을 수 없었다. 특히 *A. succiniciproducens*에 의한 균혈증은 대부분 기저 질환이 있는 환자에서 발생하는데, 간경변, 당뇨병, 알코올중독증, 죽상동맥경화증, 악성 종양 환자와 최근에 수술을 받은 과거력이 있는 환자와 같이 면역력이 저하된 경우 발생하는 양상을 보였다[5,6].

A. succiniciproducens 균혈증의 임상양상은 위장관 증상이

가장 흔하였고 38°C 이상의 발열 또는 10,000/ μ L 이상의 백혈구증가증 등으로 다양하게 보고되었다[5]. 본 증례의 환자는 입원 전부터 발생한 상악동 부위의 통증으로 X-ray 검사를 시행한 결과 부비동염으로 진단받았고 입원 후 38.9°C의 발열을 보여 시행한 혈액배양검사서 *A. succiniciproducens* 균혈증으로 진단되었다.

McNeil 등[5]의 보고에 따르면 *A. succiniciproducens*에 의한 균혈증 환자 22명 중 77%에서 위장관 증상이 있었고 36%에서 위장관 출혈 소견이 있었으며 환자의 변에서 구부러진 세균이 관찰됨에 따라 위장관을 통한 혈액 감염의 가능성을 주장하였다. 그러나 아직까지 감염 경로에 대해서는 정확하게 밝혀지지 않았으며 개와 고양이의 변에서 상재균으로 발견되고 감염 환자들 중 애완동물을 길렀던 보고가 있어 인수공통감염의 가능성이 제기되고 있다[12,13]. 저자들의 증례 환자의 경우에는 동물과의 접촉 여부를 알 수 없었으며 위장관 증상은 호소하지 않아 대변 검사도 시행하지 않았다.

*A. succiniciproducens*의 항균제감수성시험은 표준화된 방법이 없기 때문에 판정기준이 없으며, 대부분의 보고에서 시행하지 않았지만 일부는 항균제감수성시험을 시행하였다. Pienaar 등[4]은 Wilkins Chalgren agar를 이용한 한천회색법으로 검사하여 혐기성세균에 대한 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 breakpoints를 기준으로 판독하였으나, 대부분의 보고에서는 검사방법과 판독기준에 대한 자세한 기술이 없었다[1]. Tee 등[6]은 carbenicillin, chloramphenicol, cephalothin에 감수성, vancomycin과 nalidixic acid에는 내성, penicillin G, ampicillin, erythromycin, clindamycin, metronidazole에 대해서는 다양한 결과를 보인다고 하였다. 일반적으로 무산소성 세균은 항균제감수성시험이 힘들고 부정확하여 clindamycin과 metronidazole 등의 경험적 항생제 치료가 권장되는데, 이들 항생제에 내성인 균이 보고되며[4,8,13] 그람염색에서 유사한 형태를 보이는 *Campylobacter*의 치료에 사용되는 항생제에 내성인 경우가 있어, 적절한 치료를 위한 정확한 동정이 필요하다고 생각된다. 그러나, 감염 환자 대부분이 면역력이 저하되어 있고 적절한 치료를 받아도 사망에 이르는 경우가 있는 반면 항생제 치료를 받지 않고 호전되는 경우도 있어[5,6] 아직까지 항생제 치료가 효과적이고 어떤 항생제로 치료해야 하는지에 대해서는 불분명한 것으로 보인다. 전세계적으로 인체감염의 보고가 지속되고 있으므로 항균제감수성시험의 표준화가 필요할 것으로 생각된다. 저자들의 증례 환자도 부비동염이 동반되어 혈액배양 결과가 나오기 전에 cefotaxime 치료를 시작하였고 이후 발열 증상이 호전되었으나 항생제가 *A. succiniciproducens* 치료에 효과적이었는지에 대해서는 알 수 없었다.

*A. succiniciproducens*의 동정에는 전자 현미경으로 극모를 확인하거나 생화학 성상을 이용한 검사를 이용할 수 있으며 16S rRNA 염기서열분석이 확진 검사로 알려져 있다[1,6-8]. 생

화학적 특징은 catalase, oxidase, indole, nitrate 환원 시험에 모두 음성이고 API-ZYM (bioMérieux) 검사에서는 leucine arylamidase, phosphohydrolase, α -glucosidase, β -galactosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase가 양성이며 fructose, glucose, lactose, maltose, raffinose와 sucrose를 발효시키는 것으로 알려져 있다[12]. 그러나, Pienaar 등[4]이 분리한 균은 β -galactosidase와 lactose 시험에 음성이고 raffinose를 발효하지 못하였다. 생화학 시험은 본 증례처럼 자동화균주 동정기계에서 *B. distasonis*와 *F. nucleatum*로 잘못 동정된 경우, 그람염색에서 형태가 유사한 *Campylobacter*와의 감별[6], *Anaerobiospirillum* spp.의 또 다른 인체감염균인 *A. thomasi*와의 감별에 도움이 된다. *B. distasonis*와 *F. nucleatum*은 모두 나선형이 아니며, *B. distasonis*는 indole 음성, catalase 양성이고, cellobiose, salicin, sucrose, trehalose, xylose를 발효시킨다. *F. nucleatum*은 catalase, urease, nitrate 환원 시험 음성, indole 양성이며, fructose, glucose, lactose, mannose를 발효시키지 않는다. 그람염색에서 나선형을 보이는 *Campylobacter*는 catalase와 oxidase 검사에서 양성이고, *A. thomasi*는 α -glucosidase, β -galactosidase가 음성이므로 *A. succiniciproducens*와 감별할 수 있다. 그러나 본 증례에서는 oxidase, catalase, urease 이외의 생화학 시험을 시행하지 못하였기 때문에 16S rRNA 염기서열 분석을 실시하였다. 특히, 지금까지 자동화균주 동정기계를 이용한 증례 보고를 찾을 수 없었는데, 자동화 장비가 이 균종을 정확히 동정하지 못하기 때문으로 생각된다. 본 증례에서 사용한 VITEK system의 경우 database에 *A. succiniciproducens*가 포함되어 있지 않아 생화학적 성상이 유사한 균으로 동정되었다고 생각된다.

저자들은 복막전이된 진행성 위암으로 항암치료를 받은 환자의 혈액에서 *A. succiniciproducens*를 분리한 1예를 경험하였으며 본 증례를 국내에서 처음으로 보고하는 바이다.

참 고 문 헌

1. Kelesidis T. Bloodstream infection with *Anaerobiospirillum succiniciproducens*: a potentially lethal infection. South Med J 2011; 104:205-14.
2. Park Y, Shin HB, Kim CK, Roh KH, Yum JH, Yong D, et al. Identification of bacterial and fungal isolates by sequence analysis of 16S rRNA and internal transcribed spacer. Korean J Clin Microbiol 2010;13:34-9.
3. Malnick H. *Anaerobiospirillum thomasi* sp. nov., an anaerobic spiral bacterium isolated from the feces of cats and dogs and from diarrheal feces of humans, and emendation of the genus *Anaerobiospirillum*. Int J Syst Bacteriol 1997;47:381-4.
4. Pienaar C, Kruger AJ, Venter EC, Pitout JD. *Anaerobiospirillum succiniciproducens* bacteraemia. J Clin Pathol 2003;56:316-8.
5. McNeil MM, Martone WJ, Dowell VR Jr. Bacteremia with *Anaerobiospirillum succiniciproducens*. Rev Infect Dis 1987;9: 737-42.
6. Tee W, Korman TM, Waters MJ, Macphree A, Jenney A, Joyce L,

- et al. Three cases of *Anaerobiospirillum succiniciproducens* bacteremia confirmed by 16S rRNA gene sequencing. J Clin Microbiol 1998;36:1209-13.
7. Secchi C, Cantarelli VV, Pereira Fde S, Wolf HH, Brodt TC, Amaro MC, et al. Fatal bacteremia due to *Anaerobiospirillum succiniciproducens*: first description in Brazil. Braz J Infect Dis 2005;9:169-72.
 8. Fadzilah MN, Faizatul LJ, Hasibah MS, Sam IC, Bador MK, Gan GG, et al. *Anaerobiospirillum succiniciproducens* bacteraemia in a patient with acute lymphoblastic leukaemia. J Med Microbiol 2009;58:142-3.
 9. Davis CP, Cleven D, Brown J, Balish E. *Anaerobiospirillum*, a new genus of spiral-shaped bacteria. Int J Syst Bacteriol 1976;26:498-504.
 10. Rifkin GD and Opdyke JE. *Anaerobiospirillum succiniciproducens* septicemia. J Clin Microbiol 1981;13:811-3.
 11. Mikami Y, Otsuka Y, Sugiura H, Ohkusu K, Ezaki T, Sunaga R, et al. [*Anaerobiospirillum succiniciproducens* septicemia]. Rinsho Byori 2007;55:930-5.
 12. Malnick H, Williams K, Phil-Ebosie J, Levy AS. Description of a medium for isolating *Anaerobiospirillum* spp., a possible cause of zoonotic disease, from diarrheal feces and blood of humans and use of the medium in a survey of human, canine, and feline feces. J Clin Microbiol 1990;28:1380-4.
 13. Goddard WW, Bennett SA, Parkinson C. *Anaerobiospirillum succiniciproducens* septicemia: important aspects of diagnosis and management. J Infect 1998;37:68-70.

=국문초록=

혈액에서 분리된 *Anaerobiospirillum succiniciproducens* 1예

¹인하대학교 의과대학, ²연세대학교 의과대학 진단검사의학교실

장우리¹, 남정현¹, 문연숙¹, 제영수¹, 용동은², 김진주¹

*Anaerobiospirillum succiniciproducens*는 나선형의 그람음성 무산소성 세균이다. *A. succiniciproducens*는 특히 면역력이 저하된 환자에서 드물게 균혈증을 일으킨다. 이 균은 자동화균주 동정기계에서 다른 균으로 동정되거나 그람염색상에서 *Campylobacter* spp.로 동정될 수도 있다. 저자들은 위암으로 항암치료를 받던 69세 환자에서 catalase, oxidase, urease에 음성이고, 16S rRNA 염기서열분석에서 *A. succiniciproducens*로 동정된 균혈증 1예를 국내에서 처음으로 경험하였기에 보고하는 바이다. [대한임상미생물학회지 2012;15:74-77]

교신저자 : 김진주, 400-711, 인천시 중구 인항로 27
 인하대학교 의과대학 진단검사의학교실
 Tel: 032-890-2502, Fax: 032-890-2529
 E-mail: jkimmd@inha.ac.kr