

Two Cases of *Clostridium citroniae* Bacteremia in Cancer Patients

Yangsoon Lee, Eun-Mi Koh, Myungsook Kim, Dongeun Yong,
Seok Hoon Jeong, Kyungwon Lee, Yunsop Chong

Department of Laboratory Medicine and Research Institute of Bacterial Resistance,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Clostridium citroniae is a novel species reclassified from *C. clostridioforme*. *Clostridium* species are obligate anaerobes and spore-forming gram-positive rods. However, *C. citroniae* stains gram negative and does not consistently produce spores, making it difficult to identify. We isolated *C. citroniae* from the

blood and peritoneal fluid of one patient, and from the blood of another patient, both of whom were undergoing cancer chemotherapy. (Korean J Clin Microbiol 2010;13:125-127)

Key Words: *Clostridium citroniae*, Bacteremia

서 론

*Clostridium*은 아포를 형성하는 절대무산소성 그람양성 막대균의 한 군속으로, 그 군종이 매우 많고, 다양한 세균학적 성상을 보인다. *C. clostridioforme*, *C. ramosum*, *C. innocuum* 등은 도말 염색 시 그람음성으로 염색되기 쉽고, 아포의 관찰이 어려워 동정에 혼선을 주기도 한다[1]. 2005년에 Finegold 등은 *C. clostridioforme*을 생화학적 성장과 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 통해서, *C. hathewayi*, *C. bolteae* 및 *C. clostridioforme*의 3종으로 재분류하였다[2]. 이후 Warren 등은 *C. clostridioforme*을 다시 5종으로 분류하면서 *C. citroniae*와 *C. aldenense*을 새롭게 명명하였다[3]. 이러한 *C. clostridioforme* 군종은 사람의 장내에 분포하며, 면역이 억제된 환자들에게 균혈증 등 중증 감염을 일으킨 보고가 있다[3,4]. 저자들은 최근 *C. citroniae*가 환자의 혈액과 복수에서 동시에 분리된 1예와 혈액에서 분리된 1예를 보고하는 바이다.

증 례

1. 증례 1 (5154488)

69세의 여자 환자가 1일 전부터의 발열과 복통을 주소로 응

급실에 내원하였다. 환자는 내원 3년 전에 췌장암으로 진단받았고 5회의 항암치료와 방사선치료를 받았으며, 6차 항암치료 후 15일째 상기 증상이 발생하였다. 컴퓨터 단층 촬영 소견에서 장폐쇄가 의심되어, 내원 6일째에 회장창냄술(ileostomy)을 받았다. 수술 후 44일째 환자는 발열(38.2°C)이 있어서 혈액배양 및 복수배양을 시행하였다. 발열 당시 말초혈액 검사에서 백혈구수 $6.94 \times 10^9/L$ (호중구 67%, 림프구 25%, 단핵구 5%), 헤모글로빈 9.8 g/dL, 혈소판수 $29 \times 10^9/L$ 이었다.

혈액배양은 BacT/ALERT 3D blood culture system (bioMérieux, Durham, NC, USA)을 이용하여 호기성 배지(BacT/ALERT FA, FA)와 혐기성 배지(BacT/ALERT FN, FN)에 접종하여 배양하였다. 혈액배양병 3쌍 중 FN 3병에서 세균 증식이 있었고, 도말 염색에서 그람음성 막대균이 관찰되었다. Phenylethyl alcohol blood agar (PEBA)에 2일간 배양했을 때, 직경이 2~4 mm인 불룩한 회색 집락이 관찰되었다. 복수배양은 검체를 혈액한천, MacConkey 한천, thioglycollate 액체배지에 직접 접종하는 반정량 배양법과 혈액배양에 사용하였던 FA와 FN에 접종하는 두 가지 방법으로 시행하였다. Thioglycollate 액체배지와 FN에서 세균 증식이 있어서 PEBA에 계대배양하였다. 집락의 모양과 도말 염색 양상은 혈액배양에서 보이는 것과 같았다. Rapid ID 32A (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)로 균종 동정한 결과는 *Fusobacterium* spp. 62.1%와 *Clostridium* spp. 20.7%이었다. KOH string 시험에서 음성이었다. 시발체 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'), 1541R (5'-AAGGAGG-TGATCCAGCCGCA-3')로 16S rRNA 유전자 PCR을 하였고, 염기서열 분석은 ABI 3730xl (Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany) 장비를 이용하였다. GeneBank (<http://www.ncbi.nlm>

Received 2 March, 2010, Revised 23 June, 2010

Accepted 20 July, 2010

Correspondence: Kyungwon Lee, Department of Laboratory Medicine and Research Institute of Bacterial Resistance, Yonsei University College of Medicine, 250 Seongsan-ro, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea. (Tel) 82-2-2228-2446, (Fax) 82-2-313-0908, (E-mail) leekcp@yuhs.ac

Table 1. Biochemical characteristics of *C. citroniae* clinical isolates

Phenotypic characteristics	<i>C. citroniae</i> *	Case 1	Case 2
Gram stain	Positive	Negative	Negative
Indole production	+	+	+
Urease	-	-	-
Reduction of nitrate	-	-	-
Acid production from			
Lactose	-	-	-
Mannose	+	+	+
Melezitose	-	-	-
Raffinose	-	-	-
Rhamnose	+	+	+
α -arabinosidase	-	-	-
α -galactosidase	-	-	-
α -glucosidase	-	-	-
β -galactosidase	-	-	-
β -galactosidase-6-phosphate	-	-	-
β -glucosidase	-	-	-
β -glucuronidase	-	-	-
Alanine arylamidase	-	-	-
Alkaline phosphatase	+	-	-
Arginine arylamidase	-	-	-
Arginine dihydrolase	-	-	-
Glycine arylamidase	-	-	-
Leucyl glycine arylamidase	-	-	-
N-acetyl- β -glucosaminidase	-	-	-
Phenylalanine arylamidase	-	-	-
Proline arylamidase	-	-	-
Pyroglutamic acid arylamidase	-	-	-
Tyrosine arylamidase	-	-	-

*Cited reference 3.

nih.gov/genbank/)에서 16s rRNA 유전자 염기서열을 비교하였을 때, *C. citroniae* (DQ 279737, GenBank)의 염기서열과 99.6% 일치하였다. 추가로 시행한 산생성 시험에서 분리된 균주는 mannose와 rhamnose 양성, lactose, melezitose 및 raffinose 음성이었다(Table 1)[3,5]. 환자는 cefixime을 1주일 동안 투여 받았고 증상이 호전되어 퇴원하였다.

2. 증례 2 (4403459)

51세의 남자 환자가 내원 2일 전부터 발생한 오한, 발열, 전신쇠약을 주소로 외래를 통해 입원하였다. 환자는 직장암이 뇌에 전이되었고, 10회의 항암치료를 받았다. 입원 후 급성신부전, 혼미상태로 4개월간 중환자실에서 보존치료를 받던 중 갑작스러운 발열(38.0°C)이 있어 혈액배양 검사를 시행하였다. 발열 당시 말초혈액 결과는 백혈구수 $14.97 \times 10^9/L$ (호중구 88%, 림프구 6%, 단핵구 4%), 헤모글로빈 9.0 g/dL, 혈소판 $107 \times 10^9/L$, 혈청 C-반응단백(CRP) 151 mg/L (참고범위 0~8 mg/L)이었다. 혈액배양은 증례 1과 같은 방법으로 시행하였다. 3쌍의 혈액배양 중 2개의 혐기성 배양병에서 배양 1일 후에 세균 증식이 관찰되었고, 도말 염색에서 그람음성 막대균이 관찰되었다. 배양된 세균의 집락 모양과 Rapid ID 32A을 이용한 생화학적 성상

은 증례 1과 같았다. 16S rRNA 유전자 염기서열을 분석하였고, 그 결과 *C. citroniae* (GenBank accession number DQ 279737.1)의 염기서열과 99.7% 일치하였다. 환자는 cefoperazone/sulbactam 치료를 받고, 4일 후 추가적으로 시행한 혈액배양에서 세균증식이 없었으나, 신기능 악화와 혼수상태가 지속되었고 10일 후 사망하였다.

고 찰

*Clostridium*은 사람의 장내, 흙, 깃털 등 환경에 널리 분포하며, 사람에게 균혈증, 복부 농양, 근막염 등의 감염을 일으킨다[6-8]. 아포를 형성하는 절대무산소성 그람양성 막대균으로, 그 생화학적 성상이 매우 다양하고 200여 균종이 알려져 있다. *Clostridium* 균종은 대개 절대무산소성이나, *C. tertium*, *C. histolyticum* 등은 내기성을 보이기도 한다. *C. clostridioforme*은 다른 *Clostridium* 균종과 다르게 도말 염색 시 흔히 그람음성으로 보이는 경향이 있어 다른 무산소성 그람음성 막대균과 감별이 어렵다[1]. *C. clostridioforme*은 1906년 *Bacterium clostridioforme*로 처음 보고되었고, 1976년에 아포가 발견된 이후 이를 *Clostridium clostridioforme*로 개명하였다[2]. 최근 Warren 등은 *C. clostridioforme*을 생화학적 성상에 따라 *C. clostridioforme*, *C. boltea*, *C. hathewayi*, *C. aldenense* 및 *C. citroniae* 5균종으로 분류하였다[3]. 이 중 새롭게 명명된 *C. aldenense*, *C. citroniae*은 다른 3균종과 indole을 생성하는 점이 다르고, *C. aldenense*와 *C. citroniae*은 rhamnose, raffinose의 발효 여부에 따라서 감별할 수 있다. 한 연구에 의하면 발표한 *C. citroniae*는 대부분의 항협기성 약제에 감수성이나, moxifloxacin에 내성이라고 보고하였다[7].

저자들은 항암치료를 받고 있는 말기암 두 환자의 혈액과 복수에서 *C. citroniae*를 배양한 2예를 경험하였다. 그람염색과 상품화된 신속동정 kit을 이용하여 동정하였으나, 처음에는 *Fusobacterium*과 *Clostridium* 간 감별이 어려웠다. 이는 Rapid ID 32A으로 동정 가능한 균종에 *Clostridium citroniae*가 포함되어 있지 않기 때문일 것이다. 따라서 분자유전학적 방법인 16S rRNA 유전자 염기서열을 분석하였고, *C. citroniae*임을 확인하였다. 추가적으로 시행한 시험결과 indole 반응 양성이고, rhamnose를 발효하는 등 *C. citroniae* 성상과 일치함을 확인할 수 있었다. 그러나, 상품화된 키트를 이용한 alkaline phosphatase 반응은 음성으로, 보고된 균주의 성상과 달랐다[3].

*C. septicum*으로 인한 균혈증이 회맹장부위 종양 환자에서 흔하고, 간경변 환자에서 균혈증이 동반될 때 높은 사망률을 보이는 경우가 보고된 바 있다[4,9]. 본 증례는 *C. citroniae*가 췌장암과 직장암 말기 환자들에서 각각 분리되어, 이 균종과 임상양상과의 관련성에 관한 추후 연구가 필요하겠다. *C. clostridioforme*을 5균종으로 분류한 이후, *C. citroniae*에 의해 발생

한 감염의 보고 예는 없기에 저자들은 균혈증 및 복수감염을 일으킨 *C. citroniae* 증례를 보고하는 바이다.

참 고 문 헌

1. Murry PR, Baron EJ, et al. eds. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. American Society for Microbiology; 2007:889-910.
2. Finegold SM, Song Y, Liu C, Hecht DW, Summanen P, Könönen E, et al. *Clostridium clostridioforme*: a mixture of three clinically important species. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005;24:319-24.
3. Warren YA, Tyrrell KL, Citron DM, Goldstein EJ. *Clostridium aldenense* sp. nov. and *Clostridium citroniae* sp. nov. isolated from human clinical infections. J Clin Microbiol 2006;44:2416-22.
4. Bodey GP, Rodriguez S, Fainstein V, Elting LS. Clostridial bacteremia in cancer patients. A 12-year experience. Cancer 1991; 67:1928-42.
5. Summanen P, Baron EJ, Citron DM, et al. Wadsworth anaerobic bacteriology manual. 5th ed. Star Publishing, 1993.
6. Elsayed S, Zhang K. Human infection caused by *Clostridium hathewayi*. Emerg Infect Dis 2004;10:1950-2.
7. Song Y, Liu C, Molitoris DR, Tomzynski TJ, Lawson PA, Collins MD, et al. *Clostridium bolteae* sp. nov., isolated from human sources. Syst Appl Microbiol 2003;26:84-9.
8. Woo PC, Lau SK, Woo GK, Fung AM, Yiu VP, Yuen KY. Bacteremia due to *Clostridium hathewayi* in a patient with acute appendicitis. J Clin Microbiol 2004;42:5947-9.
9. Chen YM, Lee HC, Chang CM, Chuang YC, Ko WC. *Clostridium* bacteremia: emphasis on the poor prognosis in cirrhotic patients. J Microbiol Immunol Infect 2001;34:113-8.

=국문초록=

악성종양환자에서 발생한 *Clostridium citroniae* 균혈증 2예

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실, 세균내성연구소
 이양순, 고은미, 김명숙, 용동은, 정석훈, 이경원, 정윤섭

*Clostridium citroniae*은 *C. clostridioforme*에 포함되었던 것이 새롭게 분류되어 명명된 균종이다. *Clostridium* 균종은 아포를 형성하는 절대무산소성 그람양성 막대균이지만, *C. citroniae*은 도말 염색 시 흔히 그람음성으로 보이고, 아포가 잘 관찰되지 않아 동정이 어렵다. 저자들은 *C. citroniae*가 항암치료를 받은 암환자의 혈액과 복수에서 동시에 분리된 1예와 혈액에서 분리된 1예를 경험하였기에 보고하는 바이다. [대한임상미생물학회지 2010;13:125-127]

교신저자 : 이경원, 120-752, 서울시 서대문구 성산로 250
 연세대학교 의과대학 진단검사의학교실, 세균내성연구소
 Tel: 02-2228-2446, Fax: 02-313-0908
 E-mail: leekcp@yuhs.ac