

A Case of Bacteremia Caused by *Arthrobacter woluwensis*

Gee-Young Kim¹, Jin-Tae Suh¹, Seok-Keun Choi², Hee-Joo Lee¹

Departments of ¹Laboratory Medicine and ²Neurosurgery, Kyunghee University College of Medicine, Seoul, Korea

Arthrobacter spp. are coryneform bacteria known as a soil flora and also part of normal flora of human. Since coryneform bacteria are often reported to be a cause of life-threatening diseases, and especially the human infections of *Arthrobacter* spp. are reported recently, it is important to identify them to the genus and species levels by additional studies including molecular tests. We report a case of bacteremia cau-

sed by *Arthrobacter woluwensis*, which was misidentified initially as *Leifsonia aquatica* by commercial kits and conventional tests, but correctly identified by 16S rRNA sequencing. (Korean J Clin Microbiol 2007;10: 160-163)

Key Words: *Arthrobacter woluwensis*, Bacteremia, 16SrRNA sequencing

서 론

Arthrobacter 균종은 coryneform 그람양성간균이며 토양에 주로 서식하며 정상인에서 상재균으로도 존재한다[1]. 과거 *Arthrobacter*에 의한 인체 감염의 보고는 드물며 21개의 속으로 나누어져 있어 생화학적 검사만으로 이 균을 정확히 동정하기는 어렵다고 알려져 있다[2-4]. 국내에서는 *Arthrobacter woluwensis*에 의한 감염이 2006년 1예 보고되어 있으며, 상품화된 동정키트인 API Coryne (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)에서 다른 균으로 잘못 동정된 바가 있다[4]. 외국의 경우 *A. woluwensis*에 의한 인체 감염이 2예가 보고되었고 모두 혈액배양에서 분리되었다[1,3]. Coryneform 균이 인체에 치명적인 감염원이라는 점과 특히 *Arthrobacter*에 의한 인체 감염의 보고가 문체시 되고 있어 생화학적 검사 외의 추가검사를 통한 속, 종까지의 규명이 중요하다[1,3]. 저자들은 키트 동정방법과 생화학적 검사로는 *Leifsonia aquatica*으로 동정되었으나 16S rRNA sequencing으로 *A. woluwensis*로 동정된 1예를 경험하였기에 보고하는 바이다.

증 례

뇌경색으로 1년 전부터 경희의료원 신경외과에 입원하여 치료받고 있던 91세 여자환자가 2007년 2월 발열과 구토 증상을 보였다. 환자의 체온은 38.2°C로 상승되어 있었고, 일반혈액검사에서 백혈구수는 12,550/ μ L (호중구 84.4%, 림프구 8.4%)로

증가해 있었고, 혈색소 10.9 g/dL, 혈소판 수 193,000/ μ L이었다. ESR 27 mm/hr, CRP 19.0 mg/dL로 상승된 소견을 보였다. 그 외 AST 23 IU/L, ALT 11 IU/L, ALP 56 IU/L, 총 빌리루빈 0.92 mg/dL, protein/albumin 5.6/3.2 g/dL, BUN/creatinine 12/0.6 mg/dL으로 정상이었고 glucose 184 mg/dL로 증가해 있었다. 요 시험지붕검사에서 잠혈이 있었으며 요침사 현미경검사에서 적혈구(10~29/HPF)와 백혈구(5~9/HPF)가 관찰되었고, 요배양에서 *Enterococcus faecium*이 100,000 CFU/mL 이상 분리되었다.

이들에 걸쳐 호기성 및 혐기성 혈액 배양병 2쌍씩 총 4쌍을 자동 혈액배양기(BacT/ALERT 3D, bioMérieux, Inc., Durham, NC., USA)를 이용하여 혈액 배양 검사를 시행하였는데 배양된 4쌍 모두에서 동일하다고 생각되는 균이 증식되었으며 이 균을 혈액한천배지에 계대하여 37°C에서 24시간 배양한 결과 회백색의 용혈이 없는 균 집락이 관찰되었다(Fig. 1). 그람염색에서는 coryneform의 그람양성 간균이 관찰되었다(Fig. 2). 이 균은 catalase와 oxidase 양성이고 운동성은 없었으며 esculin과 gelatin 가수분해, citrate, urease, N-acetyl β -glucosaminidase, β -galactosidase, α -glucosidase 및 DNase 양성이고 nitrate 환원 음성이었다. 또한 산 생성 시험에서는 모두 음성이었다(Table 1). Catalase 양성, 운동성 음성이라는 점에서 *Corynebacterium* spp.를 의심하여 API CORYNE V3.0 (bioMérieux)으로 *Microbacterium* spp./*Leifsonia aquatica* (86%)로 동정되었다. 그러나 *Microbacterium* spp./*L. aquatica*과는 균 집락의 형태 및 모양, urease, DNase, 산 생성 등의 생화학적 특징이 차이를 보여 16S rRNA sequencing을 추가로 시행하였다.

16S rRNA sequencing은 다음과 같이 시행하였다. 세균의 DNA를 GenElute Bacterial Genomic DNA kit (Sigma, St. Louis, USA)를 사용해서 추출한 후 16S rRNA의 519 bp~1146

Received 17 August, 2007, Accepted 20 September, 2007

Correspondence: Hee-Joo Lee, Department of Laboratory Medicine, Kyunghee University College of Medicine, 1, Hoegi-dong, Dong-daemun-gu, Seoul 130-702, Korea. (Tel) 82-2-958-8674, (Fax) 82-2-958-8609, (E-mail) leehejo@khmc.or.kr

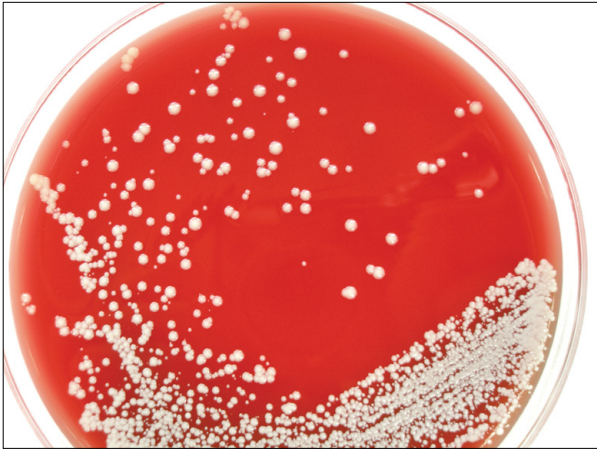


Fig. 1. Colonies grown on a blod agar plate.

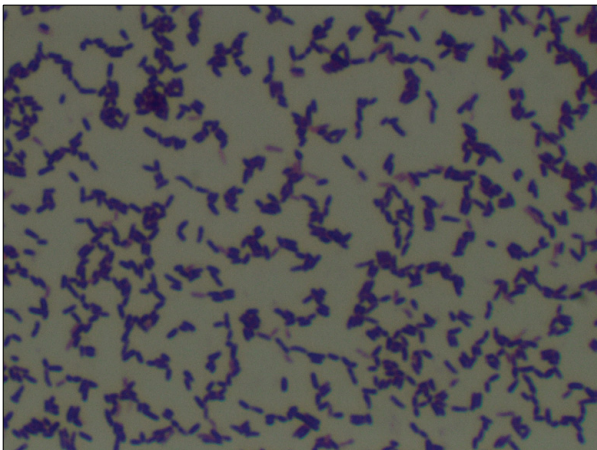


Fig. 2. Microscopic findings of *Arthrobacter woluwensis* isolated from the blood culture (Gram stain, ×1,000).

bp 부위를 증폭하였다. Primer 염기서열은 519F 5'- CAGCA-GCCGCGGTAATAG-3', 1146R 5'-GGGGCATGA TGA CTT-GACGTC-3'이었다. 중합효소연쇄반응(PCR) 산물은 PCR purification kit (TaKaRa, DyneBio Inc., Seongnam-si, Gyenggi-do, Korea)로 정제한 뒤 마크로젠(서울, 대한민국)에서 Applied Biosystem model 3730XL (Applied Biosystems, Foster city, CA., USA)를 이용하여 분석하였다. 16S rRNA sequencing 결과는 Genbank database에서 검색한 결과 *A.woluwensis* accession number X93353과 100% 일치하였다.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 디스크 확산법으로 시행한 항균제 감수성 시험에서는 ciprofloxacin, linezolid, penicillin G, vancomycin, teicoplanin, trimethoprim-sulphamethoxazole, cilndamycin 및 erythromycin에 감수성, rifampin에는 중간 내성, oxacillin에는 내성을 보였다(Table 2).

환자는 이 후 열흘간 linezolid를 투여받고 실시한 2회의 혈액

Table 1. Biochemical characteristics of *Arthrobacter woluwensis* isolated from the patient

Tests	<i>A. woluwensis</i> *	Isolate
Catalase	+	+
Oxidase	NM	+
Urease	+	+
Glucose fermentation	+	+
Esculin hydrolysis	+	+
Motility	V	-
Gelatin hydrolysis	+	+
Citrate	+	+
Nitrate reduction	-	-
N-acetyl β-glucosaminidase	+	+
β-galactosidase	+	+
α-glucosidase	+	+
DNase	+	+
Acid from:		
Gluconate	V	-
Maltose	V	-
Mannitol	-	-
Sucrose	V	-
D-Xylose	-	-

*Data from references[1,4,7].

+, all strains positive; -, all strains negative; V, variable reaction, NM, not mentioned.

Table 2. Antimicrobial susceptibilities of *Arthrobacter woluwensis* isolated from the patient

Antimicrobials	<i>Arthrobacter woluwensis</i> * MIC (μg/mL)	Isolate Zone diameter (mm)
Trimethoprim-sulphamethoxazole	NM	29
Ciprofloxacin	16	21
Linezolid	NM	35
Penicillin G	4	30
Clindamycin	4	21
Oxacillin	NM	23
Rifampin	32	11
Erythromycin	2	30
Vancomycin	2	25
Teicoplanin	0.06	22

*Data from reference[1].

Abbreviation: NM, not mentioned.

배양검사에서 더 이상 균이 자라지 않았고 체온은 정상화되었으며, 백혈구 수치는 4,550/μL (호중구 62.1%, 림프구 25.4%)으로 정상화되었으며 증상이 호전되었다.

고 찰

Arthrobacter 균종은 확실하게는 알려져 있지 않으나 환경, 특히 토양에 존재하며 사람 상재균으로 여겨져 왔다. 인체 감염 경로 역시 잘 알려져 있지 않다. 병원성 역시 잘 알려져 있지 않으나 일반적으로 낮은 병원성을 가지며 균혈증, 비뇨기계 감염 및 수술 후 안구염 등의 보고가 있다[1-4]. 국내에서 보고되었던 *A. woluwensis* 증례는 카테터 연관 균혈증으로 추정되는데 본 증례는 카테터 검체가 아닌 말초혈액검체였으며 환자가 고령이며 오랜 기간 입원하고 있어 면역력이 저하된 기회감염으로 생각되었다. *Arthrobacter* 균종은 크기가 큰 편이고 회백색을 띄며 부드럽고 반짝이는 비용혈성 집락을 갖는데 이는 *Brevibacterium* spp.와 비슷하나 *Brevibacterium* spp.는 치즈 냄새가 나는 것이 특징이다[5]. *Arthrobacter* 균종에서 *Arthrobacter cummingsii*가 인체에서 가장 자주 동정되며 다른 *Arthrobacter* 균종들의 집락보다 크기가 작은 것이 특징이다. 또한 *Arthrobacter* 균종들이 cellular fatty acid (CFA) 분석에서 C_{15:0ai}가 두드러진다는 특징 외에 *A. cummingsii*는 C_{14:0i}와 C_{14:0}이 전체 CFA의 2~4%를 보인다. *A. woluwensis*는 대부분의 *Arthrobacter* 균종들이 그러하듯이 C_{15:0ai}가 두드러진다[2,6]. 그 외에도 *Arthrobacter creatinolyticus*, *A. luteolus*, *A. albus* 등의 인체 감염이 보고되고 있으며 *A. cummingsii*, *A. woluwensis* 및 *A. creatinolyticus*만이 기회감염을 일으키는 병원균이라고 알려져 있다[7,8].

Coryneform균을 동정하는 것은 복잡하고 문제점이 많아 정확한 동정을 위해서는 생화학적 검사, CFA 분석, cell wall diamino acid analysis 및 16S rRNA sequencing 같은 다양한 검사가 필요하며 정확한 속, 종은 16S rRNA sequencing으로 동정된다[1]. 일반적으로 생화학적 검사만으로는 정확한 동정이 어려우므로 일반 검사실에서는 균의 동정이 어려워 *Arthrobacter*에 의한 감염증 보고가 실제보다 많지 않은 것으로 생각한다[4]. API CORYNE V3.0 (bioMérieux)와 RapID CB Plus (Remel Inc., Lenexa, Kansas, USA)는 Coryneform균을 빠르게 동정해 낼 수 있는 상품화된 방법이지만 본 예와 같이 API CORYNE V3.0에서는 *L. aquatica*로 동정되었으나 16S rRNA sequencing을 통해서 *A. woluwensis*로 동정된 예가 국내외에서 보고되었다[3,4]. *Arthrobacter*는 운동성이 있는 것이 있고 DNase, N-acetyl β -glucosaminidase (NABG)와 gelatin, esculin 및 urea 가수분해 양성이다. *L. aquatica*은 집락이 노란색인 것이 특징이고 운동성이 있고 NABG에 양성, DNase에 강한 양성을 보이는 것은 *Arthrobacter*와 같으나 gelatin과 urea 가수분해 음성이다. 2006년 보고된 국내 증례에서는 48시간 이후 BNAG, esculin 가수분해 시험에 양성을 나타내었고 urea 가수분해는 72시간 후에 양성을 나타내어 API CORYNE V3.0에서 *L. aquatica*로 잘못 동정되었다고 보고하였다[4]. 본 증례에서도

API CORYNE V3.0에서 urea 가수분해가 음성으로 판독됨에 따라 *L. aquatica*로 동정되었다고 생각하였다.

우리나라에서는 *A. woluwensis* 균혈증은 2006년에 1건이 보고되었다. 이처럼 국내에서 *Arthrobacter*에 의한 균혈증의 보고가 적은 이유는 감염 자체가 적은 것이 가장 큰 이유겠지만, 균 동정이 까다롭고 비병원성 세균으로 인식하는 것도 하나의 원인으로 생각된다.

*Corynebacterium*이 임상검체에서 분리되었을 때 그것이 감염을 일으킨 것으로 판단이 되면 항균제 감수성 시험을 해야 한다. 균종이 많고 감수성에 예외가 많아서 감수성을 예측하기 어려우며 vancomycin에 자연 내성균도 있다. 특히 *L. aquatica*는 vancomycin에 대한 MIC가 높다는 보고도 있다[9]. 항균제 감수성 검사 결과 본 증례의 균은 vancomycin에 감수성을 보였다. 보고되어 있는 *A. woluwensis*의 MIC와 본 증례의 결과를 비교했을 때 ciprofloxacin을 제외하고는 일치된 소견이었다 (Table 2).

결론적으로 연구자들은 혈액 배양에서 증식된 coryneform 그람양성 구균에 대해 상품화된 기존의 동정키트는 *L. aquatica*로 동정되었으나 16S rRNA sequencing으로 *A. woluwensis*로 동정된 1예를 경험하였기에 보고하는 바이다.

참 고 문 헌

1. Funke G, Hutson RA, Bernard KA, Pfyffer GE, Wauters G, Collins MD. Isolation of *Arthrobacter* spp. from clinical specimens and description of *Arthrobacter cummingsii* sp. nov. and *Arthrobacter woluwensis* sp. nov.. J Clin Microbiol 1996;34:2356-63.
2. Funke G, Pagano-Niederer M, Sjöden B, Falsen E. Characteristics of *Arthrobacter cummingsii*, the most frequently encountered *Arthrobacter* species in human clinical specimens. J Clin Microbiol 1998;36:1539-43.
3. Bernasconi E, Valsangiacomo C, Peduzzi R, Carota A, Moccetti T, Funke G. *Arthrobacter woluwensis* subacute infective endocarditis: case report and review of the literature. Clin Infect Dis 2004; 38:e27-31.
4. Shin KS, Hong SB, Son BR. A case of catheter-related bacteremia by *Arthrobacter woluwensis*. Korean J Lab Med 2006;26:103-6.
5. Funke G and Carlotti A. Differentiation of *Brevibacterium* spp. encountered in clinical specimens. J Clin Microbiol 1994;32: 1729-32.
6. Bernard KA, Bellefeuille M, Ewan EP. Cellular fatty acid composition as an adjunct to the identification of asporogenous, aerobic gram-positive rods. J Clin Microbiol 1991;29:83-89.
7. Wauters G, Charlier J, Janssens M, Delmée M. Identification of *Arthrobacter oxydans*, *Arthrobacter luteus* sp. nov., and *Arthrobacter albus* sp. nov., isolated from human clinical specimens. J Clin Microbiol 2000;38:2412-5.
8. Hou XG, Kawamura Y, Sultana F, Shu S, Hirose K, Goto K, et al. Description of *Arthrobacter creatinolyticus* sp. nov., isolated from human urine. Int J Syst Bacteriol 1998;48:423-9.
9. Funke G, von Graevenitz A, Weiss N. Primary identification of *Aureobacterium* spp. isolated from clinical specimens as "*Corynebacterium aquaticum*". J Clin Microbiol 1994;32:2686-91.

=국문초록=

*Arthrobacter woluwensis*에 의한 균혈증 1례

경희대학병원 ¹진단검사의학과, ²신경외과

김지영¹, 서진태¹, 최석근², 이희주¹

Arthrobacter 균종은 coryneform 그람양성간균이며 토양에 주로 서식하며 사람에서 상재균으로도 존재한다. Coryneform 균이 치명적인 감염원이라는 보고가 증가하고 있으며 특히 *Arthrobacter*에 의한 인체 감염이 최근 보고되고 있어 생화학 적 검사 외의 추가검사를 통한 속, 종까지의 규명이 중요하다. 이에 저자들은 상품화된 동정키트인 API Coryne (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)에서 *L. aquatica*로 잘못 동정되었으나 16S rRNA sequencing으로 *A. woluwensis*로 동정 된 균혈증 1예를 경험하였기에 보고하는 바이다. [대한임상미생물학회지 2007;10:160-163]

교신저자 : 이희주, 130-702, 서울시 동대문구 회기동 1
경희의료원 진단검사의학과
Tel: 02-958-8674, Fax: 02-958-8609
E-mail: leehejo@khmc.or.kr