

## 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 성상과 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                           | +                     | +        | +        |
| $\alpha$ -arabinosidase            | —                     | —        | —        |
| $\alpha$ -galactosidase            | —                     | —        | —        |
| $\alpha$ -glucosidase              | —                     | —        | —        |
| $\beta$ -galactosidase             | —                     | —        | —        |
| $\beta$ -galactosidase-6-phosphate | —                     | —        | —        |
| $\beta$ -glucosidase               | —                     | —        | —        |
| $\beta$ -glucuronidase             | —                     | —        | —        |
| Alanine arylamidase                | —                     | —        | —        |
| Alkaline phosphatase               | +                     | —        | —        |
| Arginine arylamidase               | —                     | —        | —        |
| Arginine dihydrolase               | —                     | —        | —        |
| Glycine arylamidase                | —                     | —        | —        |
| Leucyl glycine arylamidase         | —                     | —        | —        |
| N-acetyl- $\beta$ -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, 갯벌 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 항혐기성 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