

A Case of Indophenol Oxidase-positive *Stenotrophomonas maltophilia* Isolated from Urine in a Patient with Acute Lymphoblastic Leukemia

Seungok Lee¹, Bin Cho², Su-Mi Choi³, Kyoung Sil Park⁴, Myungshin Kim¹

Department of ¹Laboratory Medicine, ²Pediatrics, and ³Internal Medicine, College of Medicine, the Catholic University of Korea, ⁴Division of Clinical Microbiology, St. Mary's Hospital, The Catholic University of Korea

Stenotrophomonas maltophilia is a motile, non-fermentative, gram-negative rod. It is one of the important nosocomial pathogens associated with substantial morbidity and mortality such as pneumonia and bacteremia in immunocompromised patients. It should be carefully examined in the course of identification because it is frequently isolated together with other non-fermentative, gram-negative rods from clin-

ical specimens. We report an isolate of *S. maltophilia* showing an oxidase-positive reaction, which is very rare for the species. (Korean J Clin Microbiol 2008; 11:132-135)

Key Words: *Stenotrophomonas maltophilia*, Oxidase-positive, 16S rRNA sequencing

서 론

*Stenotrophomonas maltophilia*는 운동성의 포도당 비발효 그람음성 간균으로 Pseudomonadaceae속, Pseudomonas종의 rRNA 상동성에 따른 분류에 따라 V군에 속한다[1]. *S. maltophilia*는 물이 있는 환경에서 널리 서식하며, 최근 이 균에 의한 병원내 감염 빈도가 증가함에 따라서 원내 환경배양 감시가 더욱 요구되고 있다. 생화학적 방법으로 포도당 비발효 세균을 감별하기 위해서는 TSI (triple sugar iron)배지에서 사면이나 고층에서의 산성반응, MacConkey 한천배지에서 증식한 집락 관찰과 oxidase (indophenol oxidase, cytochrome oxidase)검사 등이 유용하게 이용된다[2]. *S. maltophilia* 균종은 TSI 배지에서 산을 생성하지 않고 MacConkey 한천배지에서 분홍색 색소를 형성하지 않으며 oxidase 음성 반응을 나타내는 것으로 알려져 있다[1].

저자들은 특징적으로 oxidase 검사상 양성을 보이면서 생화학적 반응 및 16S rRNA 염기서열분석으로 *S. maltophilia*로 동정된 1예를 경험하였기에 보고하는 바이다.

증 례

3세 남자 환자로 2007년 8월 급성 림프구성 백혈병 재발로 진단되어 입원하여 입원 5일째 재관해 화학요법을 시행 받았다. 화학요법 10일째부터 38.3°C의 호중구 감소성 발열이 발생하였다. 일반혈액검사에서 혈색소 10.5 g/dL, 백혈구수 $0.13 \times 10^9/L$ (호중구 7.7%, 림프구 92.3%), 혈소판수 $30 \times 10^9/L$, CRP 51.44 mg/L (참고치 <5 mg/L), 요시헨지붕 검사에서 pH 7.0, 적혈구 음성, 단백질 음성 및 nitrate 음성이었고 요침사 현미경 검사에서 적혈구와 백혈구는 관찰되지 않았다. 발열 초기 흉부 방사선 검사 소견은 정상하였고, 이학적 검사에서도 발열의 병소가 분명치 않은 불명열이었다. 중심정맥 카테터로부터 채취한 혈액 배양 검사와 중간 소변 배양 검사가 의뢰되었다. 혈액 배양 검사에서는 vancomycin 감수성 그람 양성 간균이 자랐다. 소변 정량 배양에서는 혈액한천배지와 MacConkey 배지에서 $10^4 \sim 10^5/mL$ 그람 음성 간균이 자랐으며 oxidase 검사를 시행하였다. Oxidase 검사는 혈액한천배지 위의 독립된 신선 균 집락을 여과용지에 묻힌 뒤 BD Oxidase Reagent Droppers (Becton, Dickinson and Company, Sparks, Md, USA) 시약 1~2방울과 반응시켜 1~15초 후 청-보라색으로 변하여 양성으로 판독하였다. 상기 집락은 그람 음성균 동정 및 감수성 검사용 Microscan Neg Combo 32 panel (Dade Behring Inc., Deerfield, IL, USA)에서 *S. maltophilia*로 동정되었으며, 추가로 시행한 API 20 NE kit (bioMérieux, l'Etoile, France) 검사 결과에서 oxidase 양성이면서 숫자화된 생화학 패턴(bionumber) 1472355와

Received 28 April, 2008, Accepted 20 August, 2008

Correspondence: Myungshin Kim, Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul 150-713, Korea. (Tel) 82-2-3779-1835, (Fax) 82-2-3779-2285, (E-mail) microkim@catholic.ac.kr

Table 1. Biochemical characteristics of *Stenotrophomonas maltophilia* isolate from the patient

Test	<i>S. maltophilia</i> *	Isolate
Oxidase	0	+
Growth on Macconkey	100	+
Nitrate reduction	39	+
Arginine dihydrolase	0	-
Lysine decarboxylase	93	+
Ornithine decarboxylase	0	-
Indole	0	-
Motility	100	+
Hydrolysis of : Urea	3	-
Citrate	34	+
Gelatin	93	+
Esculin	39	+
Acide from : Glucose	86	+
Sucrose	63	-
Maltose	100	+
Mannitol	0	-

*Data from reference[1].

예측도 99.5%로 *S. maltophilia*로 동정되었으며, Vitek 2 그람 음성균 동정용 카드(bioMérieux) 결과에서도 예측도 99.0%로 *S. maltophilia*로 동정되었다. 약제 감수성 결과는 imipenem, amikacin, aztreonam, cefotaxime, cefepime, tobramycin 및 trimethoprim/sulfamethoxazole 내성, ciprofloxacin 중등도 내성, levofloxacin 감수성으로 다제 내성(multidrug-resistant) 양상을 보였다.

생화학적 성상을 요약해 본 결과 oxidase 양성인 특이점을 제외하고는 다른 포도당 비발효 그람 음성 간균들과 구별되는 특징으로 lysine decarboxylase 양성, arginine dihydrolase 음성, maltose 양성, mannitol 음성 등의 전형적인 *S. maltophilia*에 적합한 소견을 보였다(Table 1). 최종적으로 16S rRNA 염기서열 분석을 마크로젠(서울, 대한민국)에 위탁 의뢰하여 시행하였다. 사용한 시발체 염기서열은 518F 5'-CCAGCAGCCGCGGTAA TACG-3', 800R 5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3'이었다. Ribosomal Database Project-II (<http://rdp.cme.msu.edu>)와 BLAST (bl2seq) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi>) 프로그램으로 분석한 결과 *S. maltophilia* accession number AB255384와 100% 일치하였다. 환아는 요로감염의 증상, 증후가 뚜렷하지 않았고, 의미있는 세균뇨(significant bacteriuria)가 아닌 것으로 판단되어 항균제를 변경하지 않고, 투여 중이던 meropenem, isepamicin과 vancomycin을 유지하였다. 입원 18일째 중심정맥 카테터로부터 채취한 혈액과 입원 21일째 중간 소변으로 배양 검사를 다시 실시하였으며 동일한 균이 배양되었다. 중심정맥 카테터에서 채취한 혈액배양에서 동정된 그람 양성 간균은 오염균의 가능성이 높지만 환아가 중증의 호중구 감소 상태에서 타 광범위 항균제에 반응하지 않아 중심정맥 카테터

를 제거하고 meropenem, isepamicin 및 vancomycin 항균제 병합요법을 유지하였다. 입원 23일 및 26일 제 각각 시행한 혈액 배양 및 중간 소변 배양에서 더 이상 균이 자라지 않음을 확인하였다.

고 찰

*S. maltophilia*는 건강인에게는 일반적으로 감염을 일으키지 않지만 드물게 농기구에 의한 상처 감염을 일으킬 수 있고, 암 및 장기이식, 후천성면역결핍증 등에 의한 면역저하자, 중환자실 인공호흡기 설치 환자 등에서 실제적인 이환율 및 사망률과 연관된 중요한 기회감염성 병원균이다[1]. 최근 면역저하 인구의 증가에 따라 이 균에 의한 감염 빈도가 세계적으로 증가 추세에 있으며 호흡기 감염이 1.2~4.8%로 가장 빈번하다[3]. 특히 낭포성 섬유증 환자의 호흡기 검체에서 *Pseudomonas aeruginosa* 다음으로 분리 빈도가 높은 것으로 알려져 있다[1]. 한 연구에서는 낭포성 섬유증 소아 환자에서 *S. maltophilia* 분리 빈도가 10%였으며, 모두 *P. aeruginosa*와 같이 분리되었다[4]. 비호흡기감염 중에는 균혈증이 0.4%~1.3%로 빈번한데 특히 면역저하 소아의 경우 사망률이 40.6%에 이를 정도로 매우 높다[3,5]. 이외의 요로감염, 안구감염, 심내막염, 뇌수막염, 연부 조직감염, 상처감염, 유양돌기염, 부고환염, 담낭염, 골연골염, 점액낭염, 복막염 등을 일으킨다[1].

지금까지 알려진 *S. maltophilia* 감염의 위험인자는 숙주의 면역능 저하이다[6]. 특히, 인공호흡기 중환자실 환자, 중심정맥 카테터 삽입, carbapenem과 같은 광범위 항생제 투여는 집락형성(colonization)과 감염의 위험도를 증가시킨다[7,8]. *S. maltophilia* 균종은 아연 의존형(zinc-dependent) penicillinase를 생성하며 imipenem에 내성이며 *Pseudomonas* 치료제로 흔히 사용되는 aminoglycoside와 beta-lactam 약제에 자연 내성이므로 집락형성을 용이하게 할 수 있다[1,6]. Trimethoprim-sulfamethoxazole에 감수성이므로 감염 시 1차 선택 약제로 사용된다. 그러나 최근 본 증례에서와 같이 다제 내성 *S. maltophilia*의 분리 빈도가 증가하고 있는데[3], 이러한 현상은 이전의 carbapenem 또는 quinolones 사용 및 균 분리 30일 이내에 중환자실에 입원한 경우와 관련이 높다고 한다[9]. 한 연구에서는 *S. maltophilia*가 분리된 환자에서 무증상의 집락형성 보다 원내 감염의 빈도가 2배 가량 높았으며, 병의 중증도가 심할수록, 입원기간이 길수록, 이전에 광범위 항생제를 사용한 경우 감염의 위험도가 높다고 보고하였다[10]. 또한, 숙주 면역능 저하는 중환자실 다제내성 세균의 획득 감염과도 독립적으로 연관되어 있다[11].

진단은 운동성이 있는 그람 음성 간균으로 lysine과 DNase 양성, oxidase 음성으로 다른 *Pseudomonas* 균과는 쉽게 감별될 수 있다. 집락은 혈액한천배지에서 연한 황색 또는 라벤다 녹

색을 보인다. 드물게 Oxidase 반응이 느리게 나타나면서 다른 생화학적 특성은 동일한 *S. maltophilia*가 외국에서 발견되어 왔으나[6], 현재까지 국내에 보고된 바는 없었다.

Oxidase 검사는 세균의 indophenol oxidase (cytochrome oxidase) 효소 생성 유무를 확인하는 검사로서, 그람 음성 포도당 비발효균의 동정 초기 단계에 수기법으로 쉽고 간단히 분류할 수 있는 필수 검사로서 Kovacs 시약(1% tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride in water)이 일반적으로 사용된다. 여과용지 또는 디스크 위에 균을 묻힌 뒤 시약과 반응시켜 10~15초 후 어두운 청-보라색이 되면 양성으로 판독한다. 철을 함유한 loop는 위양성을 보일 수 있으므로 백금 또는 나무 스틱을 이용하여 집락을 여과지에 묻힌 뒤 시약을 떨어뜨려도 된다. 또한 고농도의 포도당을 함유한 선택 배지에서는 포도당 발효로 oxidase 작용이 억제되어 위음성을 보일 수 있으므로, 반드시 비선택 배지에서 24시간 배양한 집락으로 시험해야 한다 [1,2].

*S. maltophilia*의 경우 통상적으로 indophenol oxidase를 생성하지 않는 것으로 알려져 있으므로, 1차적으로 균을 분류하는 단계에서 본 증례와 같이 oxidase 검사 양성인 경우, oxidase 반응과 다른 생화학 결과의 불일치로 인하여 균 동정 단계에 혼동을 초래할 수 있다. 본 증례에서 분리된 균주는 oxidase 반응을 제외한 나머지 생화학적 반응은 *S. maltophilia*에 적합하였으며 흔히 사용되는 동정 키트인 API 20 NE, Microscan 및 Vitek 2 모두에서 정확한 동정이 이루어 졌으며 염기서열분석 결과와도 일치하였다.

이 증례에서 oxidase 양성의 생화학적 특성을 지닌 이형(variant) *S. maltophilia* 생기기 된 원인에 대하여는 밝히지 못했지만, 향후 이에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 특히, *S. maltophilia* 균주는 단독으로 분리되기 보다는 다제 내성을 나타내는 주요 병원성 감염균들인 *P. aeruginosa*, *Acinetobacter species*, *Burkholderia cepacia* 등의 다른 포도당 비발효 그람 음성 세균들과 함께 분리되는 경우가 많기 때문에 깊은 주의가 필요하다[12,13].

결론적으로, 드물게 oxidase 양성 반응을 보이더라도 집락 모양이 전형적이고 다른 생화학 반응이 *S. maltophilia*에 적합하면서 carbapenem 내성인 경우, oxidase 양성 *S. maltophilia*를 고려하여야 할 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

1. Lipuma JJ, Currie BJ, Lum GD, Vandamme PAR. *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Ralstonia*, *Cupriavidus*, *Pandoraea*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Delftia*, and *Acidovorax*. In: Murray PR, Baron EJ, et al. eds. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed., Washington; American Society for Microbiology; 2007:749-69.
2. Chong Y, Lee K, Kim HS, Lee SY. Diagnostic Microbiology. 3rd ed. Seoul; Seohung Publishing Company, 2000;235-52.
3. Gales AC, Jones RN, Forward KR, Liñares J, Sader HS, Verhoef J. Emerging importance of multidrug-resistant *Acinetobacter* species and *Stenotrophomonas maltophilia* as pathogens in seriously ill patients: geographic patterns, epidemiological features, and trends in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-1999). Clin Infect Dis 2001;32:S104-13.
4. Gladman G, Connor PJ, Williams RF, David TJ. Controlled study of *Pseudomonas cepacia* and *Pseudomonas maltophilia* in cystic fibrosis. Arch Dis Child 1992;67:192-5.
5. Wu PS, Lu CY, Chang LY, Hsueh PR, Lee PI, Chen JM, et al. *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia in pediatric patients- a 10-year analysis. J Microbiol Immunol Infect 2006;39:144-9.
6. The Johns Hopkins Medical Institutions. *Stenotrophomonas*. The Johns Hopkins Microbiology Newsletter. <http://pathology5.pathology.jhmi.edu/micro/v17n14.htm> [online]
7. Elting LS, Khardori N, Bodey GP, Fainstein V. Nosocomial infection caused by *Xanthomonas maltophilia*: a case-control study of predisposing factors. Infect Control Hosp Epidemiol 1990;11:134-8.
8. Spencer RC. The emergence of epidemic, multiple- antibiotic-resistant *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* and *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia*. J Hosp Infect 1995;30:S453-64.
9. Ansari SR, Hanna H, Hachem R, Jiang Y, Rolston K, Raad I. Risk factors for infections with multidrug-resistant *Stenotrophomonas maltophilia* in patients with cancer. Cancer 2007;109:2615-22.
10. Caylan R, Yilmaz G, Sucu N, Bayraktar O, Aydin K, Kaklikkaya N, et al. Nosocomial *Stenotrophomonas maltophilia* infections in a university hospital. Mikrobiyol Bul 2005;39:25-33.
11. Nseir S, Di Pompeo C, Diarra M, Brisson H, Tissier S, Boulo M, et al. Relationship between immunosuppression and intensive care unit-acquired multidrug-resistant bacteria: a case-control study. Crit Care Med 2007;35:1318-23.
12. Burdge DR, Noble MA, Campbell ME, Krell VL, Speert DP. *Xanthomonas maltophilia* misidentified as *Pseudomonas cepacia* in cultures of sputum from patients with cystic fibrosis: a diagnostic pitfall with major clinical implications. Clin Infect Dis 1995; 20:445-8.
13. Sattler CA, Mason EO Jr, Kaplan SL. Nonrespiratory *Stenotrophomonas maltophilia* infection at a children's hospital. Clin Infect Dis 2000;31:1321-30.

=국문초록=

급성 림프구성 백혈병 환자의 소변에서 분리된 Indophenol oxidase-양성 *Stenotrophomonas maltophilia* 1예

가톨릭대학교 의과대학 ¹진단검사의학교실, ²소아과학교실, ³내과학교실, ⁴가톨릭대학교 성모병원 진단검사의학과 미생물부
이승욱¹ · 조 빈² · 최수미³ · 박경실⁴ · 김명신¹

*Stenotrophomonas maltophilia*는 운동성의 포도당 비발효 그람 음성 간균이다. 면역저하 환자에서 폐렴, 균혈증 등 실제적인 이환율 및 사망률과 연관된 중요한 기회감염성 병원균의 하나이다. 이 균은 많은 경우 다른 포도당 비발효 그람 음성 세균들과 함께 분리되므로 동정에 깊은 주의를 요한다. 저자들은 특징적으로 oxidase 양성을 보이면서 생화학 반응 및 16S rRNA 염기서열분석으로 *S. maltophilia*로 동정된 1예를 경험하였기에 보고하는 바이다. [대한임상미생물학회지 2008;11:132-135]

교신저자 : 김명신, 150-713, 서울시 영등포구 여의도동 62번지
가톨릭대학교 의과대학 진단검사의학교실
Tel: 02-3779-1835, Fax: 02-3779-2285
E-mail: microkim@catholic.ac.kr