

# Central Venous Catheter-Related *Microbacterium* Bacteremia Identified by 16S ribosomal RNA Gene Sequencing

Chang-Jin Moon, Jong-Hee Shin, Eun-Sun Jeong, Seung-Jung Kee, Soo-Hyun Kim, Myung-Geun Shin, Soon-Pal Suh, Dong-Wook Ryang

Department of Laboratory Medicine, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

We describe here a case of central venous catheter (CVC)-related bacteremia caused by *Microbacterium* species in a 14-year-old patient, who had received chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia. All nine blood cultures obtained from admission day 2 to day 62 yielded the same yellow-pigmented coryneform rod. Both Vitek 2 (bioMerieux, USA) and MicroScan (Dade Behring, USA) identified the isolate as *Micrococcus* species, and the API Coryne (bioMerieux, France) identified the isolate as *Rhodococcus* or *Brevibacterium* species. However, the 16S rRNA gene sequence showed a 99% identity with *Microbacterium*

species. The bacteremia was recurrent or persistent over 60 days despite alternate systemic antibiotic therapy, but blood culture became negative after an addition of teicoplanin lock therapy for eradicating CVC-related bacteremia. This represents the first report of CVC-related *Microbacterium* bacteremia cured by antibiotic lock therapy in Korea. (*Korean J Clin Microbiol* 2009;12:97-101)

**Key Words:** 16S rRNA sequencing, Catheter-related bacteremia, *Microbacterium* species

## 서 론

*Microbacterium* 균종은 피부와 인두에 정상적으로 상재하는 그람 양성 막대균으로서, 임상 검체에서 분리되는 노란 색소를 가진 coryneform 세균의 대부분을 차지한다[1]. 최근 *Microbacterium*은 임상 검체에서 분리되는 빈도가 증가하고 있으나, 상대적으로 감염을 일으킬 확률이 낮아 자주 오염균으로 간주된다[2]. 이 균종에 의한 감염은 주로 혈액종양 또는 항암화학요법 등으로 면역이 저하된 환자에서 일어나며 감염성 심내막염 혹은 패혈증 등이 보고되고 있다[2-5]. 특히 이 균에 의한 혈류 감염은 중심정맥관 사용과 연관성이 높으며 전신성 항생제의 사용과 동시에 중심정맥관을 제거함으로써 회복됨이 보고되었다[2,3]. 국내에서 사람의 혈액에서 *Microbacterium*이 분리된 증례는 현재까지 두 예가 보고되었는데, 두 예 모두 발열을 주소로 내원한 심각한 기저질환이 없는 환자였고, 그 중 1예는 감염성 심내막염으로 진단되었다[4,6].

*Microbacterium* 균종은 드물게 인체 감염을 일으키고 생화학 적 성상이 다양하기 때문에 통상적 방법으로 동정하기가 어렵

고, 정확한 동정을 위해서는 대개 16S rRNA 유전자 염기서열 비교가 필요하다[2,3]. 저자들은 급성림프구성백혈병으로 항암 화학치료 중인 환자의 혈액에서 입원 후 60여일 동안 9차례 연속 분리된 균을 16S rRNA 유전자 염기서열분석을 이용하여 *Microbacterium*으로 동정하였고, 이 환자의 중심정맥관 연관 균혈증을 중심정맥관 제거 없이 antibiotic lock therapy로 치료하였기에 보고하는 바이다.

## 증 례

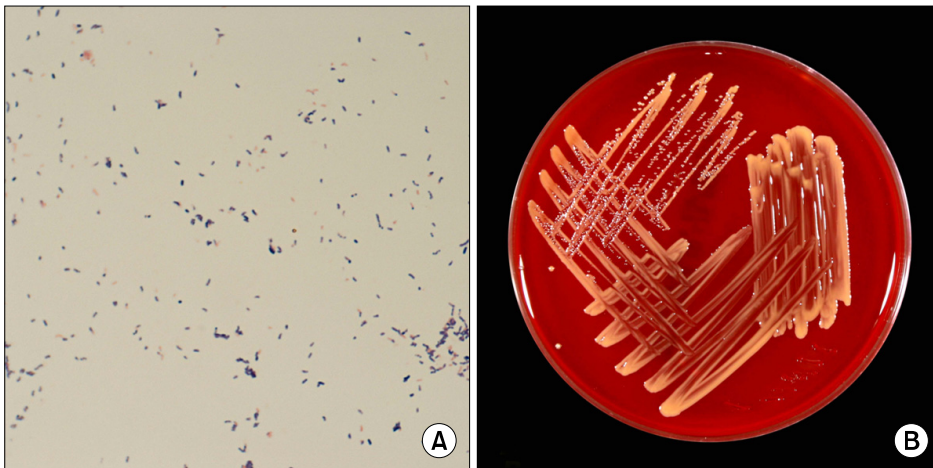
14세 남자 환자가 38.5°C의 발열, 복통, 구토 및 설사를 주소로 입원하였다. 환자는 2개월 전 급성림프구성백혈병으로 진단받고 관해 유도치료 시행 및 일차 강화 치료 시행 후 회복 중이었고 백혈병 진단 이후 혈관 내 중심정맥관(dual lumen-cuffed catheter)을 유지하고 있었다. 입원 당시 일반혈액 검사 소견은 백혈구 400/mm<sup>3</sup> (중성구 73.6%), 혈색소 8.6 g/dL, 혈소판 42,000/mm<sup>3</sup>으로 범혈구감소증을 보이고 있었다.

내원 후 실시한 9번의 혈액배양(내원 2일, 28일, 33일, 55일, 57일, 58일, 59일, 61일 및 62일)에서 모두 동일한 그람 양성 막대균이 분리되었는데, 이 균은 혈액 한천배지에서 48시간 배양 후 연한 황색의 작은 집락을 형성하였다(Fig. 1). 생화학적 검사상 catalase 양성, oxidase 음성, 이동성(motility) 음성이었으며 nitrate 환원검사 음성, CAMP test 양성이었다. Vitek 2 (bioMerieux,

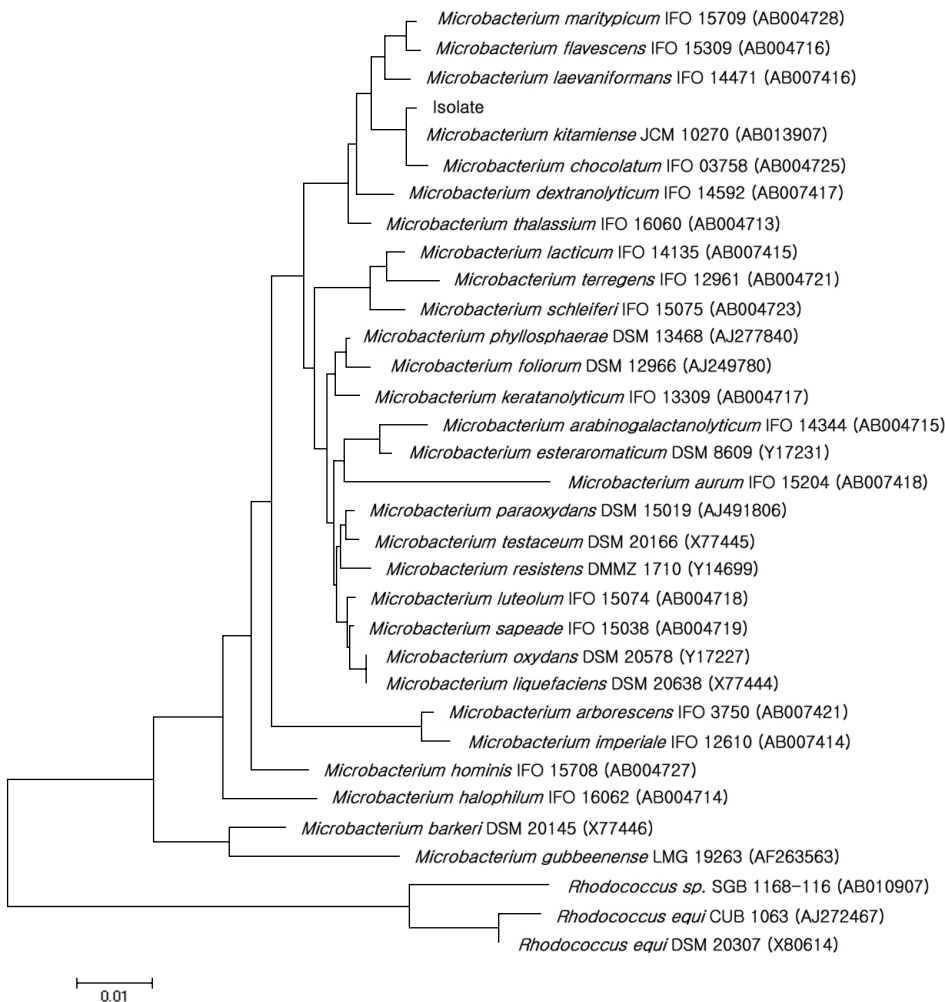
Received 16 February, 2009, Revised 6 April, 2009

Accepted 1 May, 2009

Correspondence: Jong-Hee Shin, Department of Laboratory Medicine, Chonnam National University Medical School, 671, Jebongno, Dong-gu, Gwangju 501-757, Korea. (Tel) 82-62-220-5342, (Fax) 82-62-224-2518, (E-mail) shinjh@chonnam.ac.kr



**Fig. 1.** (A) Gram staining of *Microbacterium* species showing irregular, short, thin gram positive rods (Gram stain,  $\times 1,000$ ). (B) Yellow-pigmented colonies grown on blood agar plate after 48 hours of incubation at 37°C.



**Fig. 2.** Phylogenetic tree showing the relationship of the isolate from our patient to related species.

Inc., Hazelwood, MO, USA) 동정결과는 *Micrococcus luteus*/  
*Micrococcus lylae*였고, MicroScan WalkAway 96 system (Dade  
 Behring, Sacramento, CA, USA) 동정결과는 *Micrococcus* spe-

cies였으며 API Coryne system (bioMerieux, Marcy-l'Etoile,  
 France)을 이용한 동정결과는 *Rhodococcus* species 혹은 *Brevi-*  
*bacterium* species이었다.

혈액배양에서 자란 균의 DNA를 추출하여 16S rRNA 유전자의 UFPL 및 URPL primer (5'-AGTTTGATCCTGGCTCAG-3', 5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3')를 이용하여 PCR을 이용하여 약 1,300 bp의 염기서열을 분석하였고[7], 이를 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) database와 MEGA4 (megasoftware, Tempe, AZ, USA)를 이용하여 Neighbor-Joining method로 계통학적 분류를 시행하였다. 본 증례의 균주는 *Microbacterium kitamiense* (BLAST accession no. AJ717354) 및 *Microbacterium chocolatum* (BLAST accession no. AM18150)과 각각 99.0%의 일치율을 보였다(Fig. 2).

Cefepime (3 g/day, 입원 2일부터 6일까지, 입원 24일부터 29일까지, 입원 56일부터 59일까지)과 ceftizoxime (3 g/day, 입원 13일부터 20일까지, 입원 46일부터 55일까지)의 정맥주사를 교대로 투여하여 임상양상이 일시적으로 호전되었으나 항생제 치료를 중단하면 다시 발열이 발생하는 현상이 내원 60일까지 반복되었다. 입원 55일째부터 다시 균혈증이 발생하여 지속적으로 말초 혈액배양에서 동일 균이 분리됨에 따라 중심정맥관 연관 균혈증을 의심하였고 입원 61일째부터 중심정맥도관을 teicoplanin으로 채운 후 고농도로 유지시키는 teicoplanin lock therapy를 실시하였으며(입원 61일부터 65일까지), 동시에 imipenem (2 g/day, 입원 61일부터 69일까지)을 정맥주사하였다. 입원 62일째 중심정맥도관에서 채취한 혈액에서는 동일한 균이 배양되었으나 말초혈액 배양에서는 균이 분리되지 않았고, 이 이후 말초혈액이나 중심정맥도관을 통한 혈액 배양 둘 다에서 균이 더 이상 분리되지 않았으며 환자의 발열 증상도 호전되었다. 환자는 내원 71일째 퇴원하였다.

## 고 찰

임상적으로 드물게 발견되는 세균에 의한 감염은 역학, 임상 경과, 항생제 감수성 결과 및 생화학적 특성 등에 대한 정보가 충분하지 않기 때문에 일반 임상 미생물 검사실에서 이러한 세균을 정확히 동정하기는 어렵다. 일반적인 검사로 동정하기 어려운 세균을 정확히 동정하기 위한 여러 분자유전학적 검사법이 개발되었고, 이 중 16S rRNA 유전자 염기서열을 비교하는 방법이 가장 널리 사용되고 있다[8-10]. 국내에서 보고된 *Microbacterium* 증례 2예 중 한 예는 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 통하여 원인균을 동정한 반면[2], 심내막염의 예의 경우 원인균을 API Corynebacterium system (bioMerieux, France)으로 동정하였다[4]. 본 증례에서는 중심정맥관 연관 균혈증의 원인균을 16S rRNA 유전자 염기서열분석을 시행함으로써 *Microbacterium* 균속임을 확인하였다.

일반적으로 *Microbacterium*의 동정은 대부분의 임상 미생물 검사실에서 일반적으로 시행되는 생화학적 검사로는 어렵다고 알려져 있다. 본 균주는 Vitek 2와 MicroScan에 의해 *Micrococ-*

*cus* species로 동정되었으며 API Coryne에 의해서는 *Rhodococcus* species 혹은 *Brevibacterium* species로 동정되었다. 그람 염색상 *Micrococcus* species는 그람 양성의 알균이 사량체(tetramer)를 이루는 것이 특징인데 비해, 본 균은 그람 양성의 막대균으로서 감별할 수 있었다. 또한 본 균은 *Rhodococcus* species 혹은 *Brevibacterium* species와는 달리 배양검사에서 황색의 작은 집락을 형성하여서 쉽게 감별이 가능하였다. 본 증례에서 동정된 *Microbacterium* 균주는 Laffineur 등[3]이 대부분의 *Microbacterium* 균종에서 반응을 보이지 않는다고 보고한 glycerol 및 erythritol에 대해서 반응을 보이지 않아, 균속이 일치하는 소견을 보였다. 한편, 임상 검체에서 분리되는 노란 색소를 가진 coryneform 세균으로는 *Microbacterium* 이외에 *Cellulomonas* 균종이 있다. *Cellulomonas*는 urea 음성, casein 가수분해 음성, nitrate 양성이고 sucrose로부터 산을 생성하는 반면 *Microbacterium*은 이 4가지 검사에 모두에 대해 다양한 반응을 보일 수 있으나 확실한 동정을 위해서는 16S rRNA 유전자 염기서열 분석이 요구된다[2]. 따라서 본 증례는 통상적 상품화된 제품을 이용하여 본 균속을 동정할 경우 다른 균종으로 잘못 동정될 가능성을 보여주었다.

CLSI (the Clinical and Laboratory Standards Institute) MM18-A 지침에 따르면 16S rRNA 유전자 염기서열분석에서 coryneform 그람 양성 막대균의 경우 97% 이상 일치하면 동일 균속으로 동정할 수 있고, 99% 이상 일치하면 동일 균종으로 동정할 수 있다[11]. 그런데, 본 균주는 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 실시하여 BLAST database를 이용하여 계통학적 분류를 시행한 결과, *M. kitamiense* 및 *M. chocolatum* (BLAST accession no. AM18150)의 두 균종과 각각 99%의 높은 일치율을 보였다. Takeuchi와 Hatano에 따르면[12], *M. chocolatum*의 경우 D-arabinose 음성, D-mannose 양성, D-mannitol 양성, N-acetyl glucosamine 음성, D-maltose 양성 등의 특징을 보이는데 이는 본 증례의 결과와 모두 일치하였다. 그러나 *M. kitamiense*의 경우 현재 보고가 1예밖에 없었고[13], 이 보고에서는 상세한 생화학적 양상을 밝히지 않아서 본 균주와 비교가 어려웠다. 따라서 이 두 균종과 다른 균종을 감별할 수 있는 생화학 및 다른 유전자의 염기서열분석 양상에 대한 추가 정보가 필요한데, 현재 이에 대한 보고가 거의 없어 *Microbacterium* 균종 내의 다른 균종과 감별 동정은 어려울 것으로 생각되었다. Lau 등[2]은 16S rRNA 유전자 부위가 서로 다른 *Microbacterium* 균종 사이에 매우 보존적이어서(highly conserved), 균종을 구분할 수 있다기보다는 *Microbacterium*의 균속 수준(genus level)까지만 동정이 가능하다고 하였는데, 본 증례에서도 *Microbacterium* 균종의 동정에 있어 유전자염기서열 분석법의 한계성을 확인할 수 있었다[2].

임상적으로 중요한 *Microbacterium* 균종에 의한 감염 보고는 현재 세계적으로 약 20예가 보고되고 있으며 주로 감염성 심내

막염, 내안구염 및 균혈증 등이고 최근 이 균에 의한 균혈증의 집단발병도 보고되었다[2-5]. 국외에서 혈액종양 환자에서 항암화학요법 중인 환자에서 *Microbacterium* 균종에 의한 중심정맥관 연관 균혈증이 현재까지 약 6예 정도 보고되고 있는데 [2,3], 국내에서는 면역저하 환자에서의 중심정맥관 연관 감염은 보고된 바 없다. 중심정맥관 관련 패혈증의 진단에는 카테터를 제거하여 반정량적으로 tip을 배양하는 방법이 주로 이용되고 있으나[14], 중심정맥관을 제거하지 않고 유지하면서 중심정맥관 관련 패혈증을 진단할 수 있는 정량혈액배양법, 중심정맥관을 통한 혈액과 말초혈액의 배양에서의 양성 검출 시간차를 이용하는 법 등도 이용되고 있다[15]. 본 환자의 경우 중심정맥관 제거 후 tip 배양이나 정량혈액배양법 등이 의뢰되지 않아 이 방법을 이용한 중심정맥관 연관 균혈증 진단은 하지 못하였으나 입원 62일에 중심정맥도관을 통한 혈액과 말초혈액에서 동시에 혈액배양을 실시한 결과, 중심정맥도관을 통한 혈액에서는 균이 배양되었으나 말초혈액 배양에서는 균이 분리되지 않은 점과 중심정맥관에 antibiotic lock therapy로 균혈증이 회복된 점으로 중심정맥관 연관 균혈증으로 진단할 수 있었다. 따라서 본 증례는 급성림프구성백혈병 환자에서 발생한 *Microbacterium* 균종에 의한 중심정맥관 연관 균혈증의 국내 첫 증례로 생각된다.

Alonso-Echanove 등이 2001년에 보고한 바에 의하면 면역저하 환자에 있어서 *Microbacterium* 균종의 감염은 높은 유병률과 사망률을 나타내었다[5]. 국외에서 보고된 중심정맥관 연관 균혈증의 경우 대개 vancomycin, penicillin G 및 ampicillin 등 항균제를 전신적으로 투여하고 중심정맥도관을 제거하여 치료하였는데[2,3], 본 증례의 경우 지속적인 항암화학치료를 위해 중심정맥도관을 제거할 수 없는 상황이었다. 환자는 3세대 및 4세대 cephalosporin 치료에 일시적인 임상양상의 호전을 보이고 혈액배양에도 음성을 보였지만 항생제 투여를 중단하면 발열이 재발하고 다시 혈액배양에서도 동일 균이 분리되었다. 따라서 중심정맥관 연관 균혈증을 의심하고 혈관 내 유치도관 연관 감염증의 치료지침에 따라 teicoplanin을 중심정맥도관에 채우고 고농도로 유지하였다[16]. 최근 중심정맥관을 교환하지 않고 도관 내의 공간에 항생제를 채워넣는 antibiotic lock 치료가 중심정맥관 연관 균혈증을 효과적으로 치료할 수 있다는 보고들이 있으나 이에 의한 치료율은 원인균주에 따라서 다르게 나타난다. 예를 들면 *Staphylococcus aureus*보다 coagulase 음성 *staphylococci*에 의한 감염이 더 좋은 치료성적을 나타낸다[17]. 본 증례는 *Microbacterium* 균속에 의한 중심정맥관 연관 균혈증을 antibiotic lock 치료에 의해 치료될 수 있음을 처음으로 보여준 예라 생각된다.

결론적으로 본 증례는 입원환자, 면역저하 환자 및 중심정맥관을 사용 중인 환자에서 노란색소를 가진 coryneform 세균이 분리될 경우 *Microbacterium* 균종의 가능성을 고려해야 하며

*Microbacterium*의 동정은 상품화된 제품만으로는 정확히 동정하지 못할 가능성이 있으므로 16S rRNA 유전자 염기서열분석을 고려해야 함을 보여주었다.

## 참 고 문 헌

1. Funke G and Bernard KA. Coryneform Gram-Positive Rods. In: Murray PR, Baron EJ, et al. eds. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed, Washington; ASM Press, 2007:485-514.
2. Lau SK, Woo PC, Woo GK, Yuen KY. Catheter-related *Microbacterium* bacteremia identified by 16S rRNA gene sequencing. J Clin Microbiol 2002;40:2681-5.
3. Laffineur K, Avesani V, Cornu G, Charlier J, Janssens M, Wauters G, et al. Bacteremia due to a novel *Microbacterium* species in a patient with leukemia and description of *Microbacterium paraoxydans* sp. nov. J Clin Microbiol 2003;41:2242-6.
4. Kim CH, Suk JE, Han WS, Kim YH, Hwang BY, Jeong HW, et al. A case of native valve infective endocarditis caused by *Microbacterium* species. Korean J Med 2004;67(Supple):S923-S6.
5. Alonso-Echanove J, Shah SS, Valenti AJ, Dirrigl SN, Carson LA, Arduino MJ, et al. Nosocomial outbreak of *Microbacterium* species bacteremia among cancer patients. J Infect Dis 2001;184:754-60.
6. Ko KS, Oh WS, Lee MY, Peck KR, Lee NY, Song JH. A new *Microbacterium* species isolated from the blood of a patient with fever: *Microbacterium pyrexiae* sp. nov. Diagn Microbiol Infect Dis 2007;57:393-7.
7. Lipuna JJ, Dulaney BJ, McMenamin JD, Whitby PW, Stull TL, Coenye T, et al. Development of rRNA-based PCR assays for identification of *Burkholderia cepacia* complex isolates recovered from cystic fibrosis patients. J Clin Microbiol 1999;37:3167-70.
8. Fredricks DN and Relman DA. Sequence-based identification of microbial pathogens: a reconsideration of Koch's postulates. Clin Microbiol Rev 1996;9:18-33.
9. Harmsen D, Rothganger J, Froesch M, Albert J. RIDOM: Ribosomal differentiation of medical micro-organisms database. Nuclei Acids Res 2002;30:416-7.
10. Petti CA. Detection and identification of microorganisms by gene amplification and sequencing. Clin Infect Dis 2007;44:1108-14.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interpretive criteria for identification of bacteria and fungi by DNA target sequencing; approved guideline. CLSI document MM18-A. Wayne, PA; CLSI, 2008.
12. Takeuchi M and Hatano K. Proposal of six new species in the genus *Microbacterium* and transfer of *Flavobacterium marinitypicum* ZoBell and Upham to the genus *Microbacterium* as *Microbacterium maritypicum* comb. nov. Int J Syst Bacteriol 1998;48:973-82.
13. Matsuyama H, Kawasaki K, Yumoto I, Shida O. *Microbacterium kitamiense* sp. nov., a new polysaccharide-producing bacterium isolated from the wastewater of a sugar-beet factory. Int J Syst Bacteriol 1999;49:1353-7.
14. Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. N Engl J Med 1977;296:1305-93.
15. Blot F, Schmidt E, Nitenberg G, Tancrede C, Leclercq B, Laplanche A, et al. Earlier positivity of central-venous- versus peripheral-blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis. J Clin Microbiol 1998;36:105-9.
16. Mermel LA, Farr BM, Sherertz RJ, Raad II, O'Grady N, Harris JS,

et al. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. Clin Infect Dis 2001;32:1249-72.

17. Poole CV, Carlton D, Bimbo L, Allon M. Treatment of catheter-

related bacteremia with an antibiotic lock protocol: effect of bacterial pathogen. Nephrol Dial Transplant 2004;19:1237-44.

=국문초록=

## *Microbacterium*에 의한 중심정맥관 연관 균혈증 1예: 16S rRNA 유전자 염기서열분석을 이용한 균 동정

전남대학교 의과대학 진단검사의학교실

문창진, 신중희, 정은선, 기승정, 김수현, 신명근, 서순팔, 양동욱

저자들은 급성림프구성백혈병으로 진단받고, 관해 유도치료 및 일차 강화 치료시행 후 회복 중이던 14세 남아에서 *Microbacterium*에 의한 중심정맥관 연관 균혈증을 경험하였기에 보고하는 바이다. 내원 후 2일부터 62일까지 시행한 9차례의 혈액배양에서 황색의 작은 집락을 형성하는 그람양성 막대균이 지속적으로 분리되었다. 이 균은 Vitek 2 (bioMérieux, USA)와 MicroScan WalkAway 96 system (Dade Behring, USA)에 의해 *Micrococcus* spp.로, API Coryne system (bioMérieux, France)에 의해 *Rhodococcus* spp. 및 *Brevibacterium* spp.로 동정된 반면, 16S rRNA 유전자 염기서열분석 결과, *Microbacterium* 균종과 99%의 일치율을 보였다. 전신적인 항생제 치료에도 불구하고 환자의 균혈증은 2개월간 지속되었으나, 중심정맥관 연관 균혈증 치료를 위한 teicoplanin lock therapy 시행 후 혈액배양에서 더 이상 균이 자라지 않았다. 본 증례는 국내에서 중심정맥관 연관 *Microbacterium* 균혈증에 관한 첫 증례보고이다. [대한임상미생물학회지 2009; 12:97-101]

교신저자 : 신중희, 501-757, 광주시 동구 제봉로 671  
전남대학교병원 진단검사의학과  
Tel: 062-220-5342, Fax: 062-224-2518  
E-mail: shinjh@chonnam.ac.kr