

Catheter-related Bacteremia due to *Microbacterium oxydans* Identified by 16S rRNA Sequencing Analysis and Biochemical Characteristics

Hye In Woo, Jang Ho Lee, Seung-Tae Lee, Chang-Seok Ki, Nam Yong Lee

Department of Laboratory Medicine & Genetics, Samsung Medical Center,
Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Microbacterium oxydans, a coryneform gram-positive bacillus, have been isolated from a wide variety of environmental sources and reported its pathogenic potential with increasing frequency in the last few years. *Microbacterium* comprises more than 60 species. 16S rRNA sequences in different *Microbacterium* species are highly conserved and the differences of biochemical characteristics between several species are unclear. As a result, identification of *Microbacterium* to species level has been difficult in most clin-

ical microbiology laboratories. In this article, we report a case of catheter-related bacteremia caused by *M. oxydans* that was identified by 16S rRNA sequencing analysis and phenotypic characteristics in patient with diffuse large B-cell lymphoma. (Korean J Clin Microbiol 2010;13:173-177)

Key Words: *Microbacterium oxydans*, Bacteremia, 16S rRNA

서 론

Microbacterium 군종은 토양과 폐수, 병원의 공기나 가슴기 등 환경에 널리 분포하며[1,2], 사람에서 드물게 질병과 관련된 것으로 알려진 그람 양성 막대균이다. 일반적으로 임상 검체에서 분리되는 노란 색소를 형성하는 coryneform 세균의 대부분을 차지하나[1], 상대적으로 감염을 일으킬 확률이 낮기 때문에 자주 오염균으로 생각되었다[3]. 하지만 최근 몇 년간 사람에서 감염의 원인균으로 보고되는 빈도가 증가하고 있으며, 정상인에서도 보고된 예가 있으나[4,5] 대부분 암이나 항암치료와 같은 면역력이 저하된 환자에서의 발생이 보고되고 있다[3,6-8]. 국내에서 임상검체에서 분리된 *Microbacterium*의 증례는 현재까지 세 예가 있으며, 두 예는 기저질환이 없는 환자에서 각각 감염성 심내막염과 균혈증의 원인균으로 보고된 것이었고[4,7], 다른 한 예에서는 급성림프구성백혈병 환자에서 중심정맥관 연관 균혈증의 원인이었다[5].

현재 *Microbacterium* 군종은 60여종 이상이 알려져 있으며 (<http://www.bacterio.cict.fr>), 최근에도 지속적으로 새로운 군종이 보고되고 있다. *Microbacterium* 군종은 다양한 생화학적 성

상을 보이고 군종 간에 성상의 차이가 명확하지 않은 경우가 있기 때문에 생화학적 방법만을 이용해서는 동정이 어려우며, 따라서 다른 세균과 마찬가지로 같은 군속이나 군종에서 일관성 있게 보존되어 있는 16S rRNA 등에 대한 유전자 염기서열 분석이 *Microbacterium*의 동정에 이용되고 있다[1,3,9]. 하지만 *Microbacterium* 일부 군종은 군종 간에 16S rRNA 염기서열의 일치도가 높아 여전히 임상미생물 검사실에서는 *Microbacterium*을 동정하는데 많은 어려움을 겪고 있으며, 실제로 국내에서 보고된 세 증례 중 군종까지 동정된 보고는 단 한 예에 불과하였고, 이는 새로운 군종인 *Microbacterium pyrexiae*로 동정되었다[5].

저자들은 미만성 거대세포 림프종 환자의 혈액에서 지속적으로 분리된 그람 양성 막대균을 16S rRNA 유전자 염기서열 분석과 함께 생화학적 성상을 고려하여 *Microbacterium oxydans*로 동정하였고, 이에 의한 중심정맥관 연관 균혈증을 경험하였기에 간단한 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

환자는 61세 남자로 4개월 전 미만성 거대세포 림프종으로 진단받았고, 1개월 전까지 팔꿈치의 감염성 관절염으로 ciprofloxacin과 rifampicin을 투여받았다. 항암치료를 위해서 중심정맥관을 유지한 상태로 내원 당일 발열과 구토를 주소로 본원

Received 31 May, 2010, Revised 14 July, 2010

Accepted 20 August, 2010

Correspondence: Nam Yong Lee, Department of Laboratory Medicine & Genetics, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, 50 Iwron-dong, Gangnam-gu, Seoul 135-710, Korea. (Tel) 82-2-3410-2706, (Fax) 82-2-3410-2719, (E-mail) micro.lee@samsung.com



Fig. 1. *Microbacterium oxydans* colonies grown for 48 hours on blood agar plate. Note yellow, smooth colonies.

응급실을 내원하였고, 내원 당시 체온은 38.7°C, 혈압 142/84 mmHg, 맥박 96회/분, 호흡수 20회/분이었다. 환자는 급성 병색을 보였으나 복부진찰을 비롯한 다른 신체검사소견에서는 이상이 없었다.

내원 당시 말초혈액검사에서 혈색소 9.0 g/dL, 백혈구 2,550/ μ L (호중구 2,210/ μ L), 혈소판 89,000/ μ L이었으며, CRP는 5.57 mg/dL이었다. 입원 2일째 시행한 말초혈액검사에서 혈소판 7.9 g/dL, 백혈구 880/ μ L (호중구 600/ μ L), 혈소판 60,000/ μ L로 호중구 감소성 발열로 진단되었고, 항생제 투약의 과거력이 있으며 수양성 설사를 보여 위막성 대장염 의심하에 metronidazole의 투여를 시작하였다.

내원 당일 말초혈액 2쌍과 중심정맥관을 통해 3쌍의 호기성 및 혐기성 혈액배양이 실시되었고, 3일 후 말초혈액 1쌍과 중심정맥관을 통한 혈액배양 3쌍 모두에서 균이 증식되었다. 계대 배양한 MacConkey 한천배지에서는 집락이 자라지 않았으나, 혈액한천배지에서 흰색 또는 회색의 작은 집락이 24시간 만에 관찰되었고, 계대 배양 48시간 후 집락은 점차 노란색을 띠었으며(Fig. 1), 그람 염색상 짧고 굵은 형태의 그람 양성 막대균이었다(Fig. 2). 이어서 내원 2일, 5일, 7일에 추가적인 혈액배양이 시행되었고, 말초혈액배양 2쌍에서는 균이 증식하지 않았으나 중심정맥관을 통한 혈액배양 8쌍 중 7쌍에서 모두 동일한 그람 양성 막대균이 분리되었고, 내원 7일에 실시한 중심정맥관 tip 배양에서는 균이 자라지 않았다. 생화학적 검사상 catalase 양성, coagulase 음성, oxidase 음성이었고, Vitek 1 system (bioMerieux-Vitek, Hazelwood, MO, USA)에서 BAP ID card로 검사하여 92% *Bacillus amyloliquefaciens*, 7% *Paenibacillus thiaminolyticus*로 동정되었고, Vitek 2 system (bioMerieux-Vitek, Hazelwood, MO, USA)에서 GP ID card를 이용

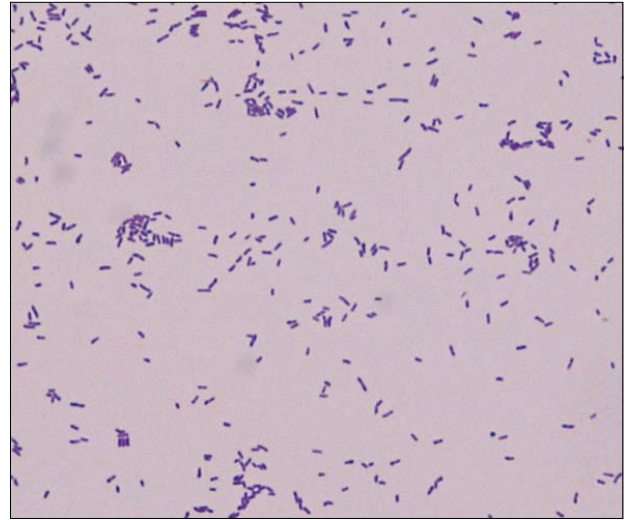


Fig. 2. Microscopic finding of *Microbacterium oxydans* isolated from the case showing short and slightly bent gram-positive bacilli ($\times 1,000$).

하였을 때 *Kocuria kristinae*로 동정되었다. 하지만, 집락의 성장 및 그람 염색 소견이 이들 균주와 일치하지 않는 것으로 판단되어, 그람 염색 소견에 따라 *Corynebacterium* species로 중간 보고되었고, API Coryne system (bioMerieux, Marcy-l'Etoile, France)과 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 이용한 균동정을 시행하였다. API Coryne system에서 원인균은 alkaline phosphatase, α -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase, β -glucosidase 양성이었고, glucose, mannitol, maltose를 발효한 반면, pyrrolidonyl arylamidase, β -glucuronidase, β -galactosidase, urease 음성이었고, ribose, xylose, lactose, saccharose, glycogen을 발효하지 않았다. 또한 nitrate를 환원하지 않았으며, gelatin을 가수분해하지 않아서, 동정결과는 *Listeria* species, *Cellulomonas* species, *Microbacterium* species 혹은 *Leifsonia aquatica*로 나타났다.

16S rRNA 유전자 염기서열은 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) database에서 *Microbacterium oxydans* EU373400.1과 99.1%, *Microbacterium paraoxydans* AJ581908.1과 99.5% 일치하였고, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 기준과 Laffineur 등의 보고에 기재된 *M. oxydans*와 *M. paraoxydans*의 생화학적 성상의 차이에 근거하여 원인균은 *M. oxydans*로 동정되었다[6,10].

환자는 내원 3일째 짧고 굵은 형태의 그람 양성 막대균의 보고 이후 vancomycin을 투여받았고, 이후 간헐적인 발열을 보여 내원 7일 중심정맥관을 제거하였다. 내원 9일째 실시한 말초혈액배양에서 더 이상 균이 분리되지 않았고, 발열 증상도 호전되었다. 환자는 내원 12일까지 vancomycin을 투여받았고, 내원 14일째 항암치료 후 특별한 문제 없이 퇴원하였다.

고 찰

Microbacterium 군속은 1919년에 Orla-Jensen 등에 의해 최초로 제안되었으며[11], 호기성 그람 양성균의 노란색 색소를 생성하는 coryneform 세균이다. 운동성은 다양하며 대부분에서 catalase 양성이고, oxidase 양성일 수 있다[1]. 임상검체에서 주로 동정되는 균종은 *M. oxydans*, *M. paraoxydans*, *M. foliorum*이며[12], 이 중 *M. paraoxydans*는 2003년 Laffineur 등에 의해 *M. oxydans*에서 분리된 균종이다[6]. *M. paraoxydans*는 *M. oxydans*와 가장 유사한 생화학적 성상을 보이는 것으로 알려져 있으며, 두 균종 모두 D-arabinose 양성, raffinose 음성, N-acetylglucosamine 양성이나, *M. oxydans*는 2-ketogluconate, esterase lipase, α -chymotrypsin, β -glucosidase 양성인 반면, *M. paraoxydans*는 음성이고, *M. oxydans*가 lactose를 발효하지 못하는 반면, *M. paraoxydans*는 lactose를 발효하는 것으로 알려져 있다[6].

본 증례의 균주는 Vitek system에 의해 *B. amyloliquefaciens*, *P. thiaminolyticus* 또는 *K. kristinae*로 동정되었으나 집락과 그람 염색상이 합당하지 않아 추가적으로 16S rRNA 염기서열분석을 실시하였다. 그 결과 *M. oxydans*와 99.1%, *M. paraoxydans*와 99.5%의 일치도를 보였고, CLSI MM18-A에 의하면 16S rRNA 염기서열의 일치도가 99% 이상이며, 그 차이가 0.8% 미만인 둘 이상의 균종이 동정된 경우 생화학적 성상에 따라 균을 동정할 수 있는 것으로 되어 있어[10], 생화학적 검사결과를 함께 고려하여 동정하였다. 본 균주는 API Coryne system 결과상 *Listeria species*, *Cellulomonas species*, *Microbacterium species* 혹은 *Leifsonia aquatica*로 동정되었으나, 일반적인 *Microbacterium* 군속의 생화학적 성상을 보였으며, β -glucosidase 양성을 보이고, lactose를 발효하지 못하여 16S rRNA 염기서열분석결과와 생화학적 성상에 근거해 *M. oxydans*로 동정되었다.

*Microbacterium*은 환경에 널리 분포하며 환자의 검체에서 분리되는 경우 대부분에서 오염균으로 생각되었지만[1,2], 최근 몇 년간 사람에서의 감염보고가 현저하게 늘어나고 있는 추세이다[3,12]. 소변, 관절액, 창상, 유리체액 등에서의 분리가 보고되었으나 대부분에서 혈류감염의 원인균으로 보고되었고, 혈액암 및 항암치료 등에 의해서 면역력이 저하된 환자에서의 보고가 대부분이다[3,12,13]. 전과 경로는 명확히 알려져 있지 않고 집단 발병도 보고되었으나, 대부분에서 산발적으로 발생하며 중심정맥관 삽입이 감염의 위험인자로 보고되었다[8]. 실제로 우리나라에서도 2004년 이후 지금까지 세 건의 보고가 있었으며, 모두 혈액에서 분리되었고, 두 건은 *Microbacterium* spp.로 동정되었고, 한 건은 새로운 균종인 *M. pyrexiae*로 동정되었다[4,5,7]. 본 증례에서는 *M. oxydans*가 말초혈액과 중심정맥관을 통해 채취한 혈액배양에서 각각 1번과 10번에 걸쳐 분

리되었기에 중심정맥관 연관 균혈증의 원인균인 것으로 생각되며, 국내에서 *M. oxydans*에 의한 중심정맥관 연관 균혈증의 첫 보고로 생각된다.

*M. oxydans*에서는 vancomycin에 대한 MIC가 독립적으로 보고된 바 없으나 대부분의 *Microbacterium*은 *M. resistens*를 제외하고는 vancomycin에 감수성이 있는 것으로 보고되었으며[3,12,14], 본 증례에서도 vancomycin에 임상적인 호전을 보였다.

Microbacterium 속에는 현재까지 많은 균종이 포함되어 있으나, 균종의 동정에 있어 일반 임상미생물 검사실에서는 많은 어려움이 있는 것으로 알려져 있다. 본 증례에서처럼 *Microbacterium*의 동정에 있어서 자동화 장비를 이용한 결과는 정확하지 않을 수 있고, 따라서 그람 염색과 집락의 특성을 고려한 판단과 16S rRNA 염기서열분석 및 추가적인 생화학적 검사의 시행이 필요한 것으로 생각된다. 본 증례에서는 16S rRNA 염기서열분석만을 이용하였을 때 균종까지 동정할 수 없었는데, *Microbacterium*의 동정에 있어서 몇몇 이와 유사한 경험이 보고되어 왔다. Lau 등은 16S rRNA의 염기서열은 *Microbacterium* 균종 사이에 매우 보존적이어서 16S rRNA 염기서열분석은 *Microbacterium* 속을 동정하는 데 적절하지만 균종의 동정을 위해서는 다양한 유전자의 염기서열분석이나 계통분석이 필요한 것으로 보고하였다[3]. 실제로 16S rRNA 염기서열분석상 *M. paraoxydans*는 *M. oxydans*와 99.3%에서 99.4%의 일치도를 보이며, 그 외 *Microbacterium liquefaciens*, *Microbacterium saperdae*, *Microbacterium luteolum*과도 99% 이상의 일치도를 보이는 것으로 보고되었다[6]. 또한, *Microbacterium* 균종의 보고는 하나 또는 매우 적은 균주를 대상으로 한 경우가 많아서 생화학적 성상을 비교하는데 부적합한 경우가 많은 것으로 기술되었다[3]. 본 증례의 균주는 16S rRNA 염기서열분석에서 *M. oxydans* 또는 *M. paraoxydans*로 동정되었고, 이전의 보고에서 두 균종 사이의 생화학적 성상에 대한 기술이 잘 되어 있었기 때문에 균종까지 동정이 가능하였다[6]. 하지만 Lau 등의 보고처럼 16S rRNA와 일반적인 생화학적 성상에 의한 동정이 불가능한 경우가 더러 있기 때문에 일부 *Microbacterium*의 동정에 있어서는 추가적인 유전자 염기서열의 분석이 필요할 것으로 생각하였다. 이에 따라 본 증례에서는 추가적으로 secA 유전자 염기서열분석을 시도하였으나 표준염기서열의 부재로 분석이 불가능하였고, 그 외 gyrB, rpoB 등 다른 유전자에 대해서 *M. oxydans*는 염기서열이 보고된 바 있으나 *M. paraoxydans*는 16S rRNA 이외의 유전자 염기서열이 보고된 바 없어서 추가적인 분자유전학적 분석은 불가능하였다[15]. 따라서 *Microbacterium* 속의 새로운 균종의 보고 시에 16S rRNA 염기서열분석의 한계점이 알려져 있는 만큼 추가적인 유전자의 염기서열을 함께 보고하는 것이 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로 저자들은 미만성 대세포 림프종 환자에서 발생

한 중심정맥관 연관 균혈증의 원인균을 16S rRNA 염기서열분석과 생화학적 성상을 바탕으로 *M. oxydans*로 동정하였기에 보고하는 바이다. 면역기능이 저하된 환자에서 노란색 집락을 보이는 coryneform의 그람 양성 세균의 분리 시 *M. oxydans* 감염의 가능성을 고려하여야 하며, 이의 동정을 위해서 16S rRNA 염기서열분석과 함께 생화학적 분석이 필요할 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

- Murray PR, Baron EJ, et al. eds. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. American Society for Microbiology; 2006:485-507.
- Funke G, Falsen E, Barreau C. Primary identification of *Microbacterium* spp. encountered in clinical specimens as CDC coryneform group A-4 and A-5 bacteria. J Clin Microbiol 1995;33:188-92.
- 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.
- Kim CH, Jung ES, Han WS, Kim YH, Hwang BY, Jeong HW, et al. A case of native infective endocarditis caused by *Microbacterium* species. Korean J Med 2004;67:S923-6.
- 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.
- 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.
- Moon CJ, Shin JH, Jeong ES, Kee SJ, Kim SH, Shin MG, et al. Central venous catheter-related *Microbacterium* bacteremia identified by 16S ribosomal RNA gene sequencing. Korean J Clin Microbiol 2009;12:97-101.
- 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.
- Tang YW, Von Graevenitz A, Waddington MG, Hopkins MK, Smith DH, Li H, et al. Identification of coryneform bacterial isolates by ribosomal DNA sequence analysis. J Clin Microbiol 2000;38:1676-8.
- CLSI. Interpretive Criteria for Identification of Bacteria and Fungi by DNA Target Sequencing: Approved Guideline. CLSI document MM18-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2008.
- Orla-Jensen S. The Lactic acid Bacteria. Copenhagen; Host and Son, 1919.
- Gneiding K, Frodl R, Funke G. Identities of *Microbacterium* spp. encountered in human clinical specimens. J Clin Microbiol 2008; 46:3646-52.
- Funke G, Haase G, Schnitzler N, Schrage N, Reinert RR. Endophthalmitis due to *Microbacterium* species: case report and review of *Microbacterium* infections. Clin Infect Dis 1997;24:713-6.
- Funke G, Lawson PA, Nolte FS, Weiss N, Collins MD. *Aureobacterium resistens* sp. nov., exhibiting vancomycin resistance and teicoplanin susceptibility. FEMS Microbiol Lett 1998;158:89-93.
- Richert K, Brambilla E, Stackebrandt E. The phylogenetic significance of peptidoglycan types: Molecular analysis of the genera *Microbacterium* and *Aureobacterium* based upon sequence comparison of *gyrB*, *rpoB*, *recA* and *ppk* and 16SrRNA genes. Syst Appl Microbiol 2007;30:102-8.

=국문초록=

16S rRNA 염기서열분석과 생화학적 검사로 동정한 *Microbacterium oxydans*에 의한 중심정맥관 연관 균혈증 1예

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 진단검사의학교실

우혜인, 이장호, 이승태, 기창석, 이남용

*Microbacterium oxydans*는 환경에 널리 분포하는 coryneform의 그람 양성 막대균으로 과거에는 오염균으로 생각되었으나 최근 몇 년간 사람에서의 감염보고가 증가하고 있다. *Microbacterium* 균종은 60여종 이상이 알려져 있으며 균종 간에 16S rRNA의 염기서열의 일치도가 높고 생화학적 성상의 차이가 명확하지 않은 경우가 있어 대부분의 임상미생물 검사실에서는 균종까지 정확히 동정하기 어려운 균으로 알려져 있다. 본 증례에서 저자들은 미만성 대세포 림프종 환자에서 중심정맥관 연관 균혈증을 일으킨 *M. oxydans* 1예를 생화학적 성상과 16S rRNA 염기서열분석을 통해 동정하였기에 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다. [대한임상미생물학회지 2010;13:173-177]

교신저자 : 이남용, 135-710, 서울시 강남구 일원동 50번지
삼성서울병원 진단검사의학과
Tel: 02-3410-2706, Fax: 02-3410-2719
E-mail: micro.lee@samsung.com