

A Case of Bacteremia Due to *Microbacterium oleivorans* Identified by 16S rRNA Sequencing Analysis

Bo Hyun Kim, Mi-Kyung Lee

Department of Laboratory Medicine, Chung-Ang University College of Medicine, Seoul, Korea

Microbacterium oleivorans is a gram-positive, coryneform rod bacterium. The pathogenic potential of the *Microbacterium* species has recently been reported to be increasing. *Microbacterium* comprises approximately 50 species. The differences in regards to the biochemical characteristics of *Microbacterium* species are unclear, and is why molecular investigations (e.g., using 16S rRNA gene sequencing) are the best method to identify the species. We report a case of

bacteremia that was caused by *Microbacterium oleivorans* in a 4-year-old boy, who had no specific medical history. This represents the first report of *M. oleivorans* bacteremia in Korea. (Korean J Clin Microbiol 2012;15:110-113)

Key Words: 16S rRNA, Bacteremia, *Microbacterium oleivorans*, Sequencing

서 론

Microbacterium 균종은 토양이나 하수 등 환경에 널리 분포하고, 가슴가나 병원 내 공기 중에서도 흔히 분리되는 그람 양성 막대균이다[1,2]. 현재까지 약 50여 종 이상의 *Microbacterium* 균종이 명명되었으나, 이 중 극히 일부에서만 임상적으로 의미 있는 감염의 원인으로 알려져 있고[1], 상대적으로 감염률이 낮기 때문에 종종 오염균으로 생각되었다[3]. 그러나 실제 *Microbacterium* 균종은 임상 검체에서 분리되는 노란 색소를 형성하는 coryneform bacteria의 대부분을 차지하는 것으로 알려져 있고[1], 최근 몇 년간 *Microbacterium*에 의한 감염증이 보고되는 빈도가 점점 증가하고 있다[2-9]. 주로 암 환자에서 항암 치료 등으로 면역력이 저하된 경우에 발생한 감염인 경우가 많지만[2-4,7,8,10], 면역력 저하가 없는 건강한 사람에서의 감염이 보고된 예도 있다[5,9,11].

Microbacterium 균종은 생화학적 특징이 매우 다양하고, 균종 간 그 특징의 차이가 명확하지 않은 경우가 많으므로 생화학적 방법만으로는 정확한 동정이 어렵다. 그러므로 균종 수준까지의 최종적인 동정은 16S rRNA에 대한 유전자 염기 서열 분석 등의 분자 유전학적 방법을 이용하는 것이 가장 좋은 것으로 알려져 있다[1,3,12]. 그러나 16S rRNA 유전자 부위가 서로 다른 *Microbacterium* 균종 사이에 매우 보존적이기 때문에

Microbacterium 균종까지 정확히 동정하는 것이 어려울 수 있다[3,6]. 실제 국내에서 *Microbacterium*에 의한 감염으로 보고된 4예 중 균종까지 동정하였던 보고는 2예로, 하나는 새로운 균종인 *Microbacterium pyrexiae*였고, 다른 하나는 *Microbacterium oxydans*로 동정이 되었다[8,11]. 저자들은 위장관염으로 입원한 소아의 혈액에서 분리된 그람 양성 막대균을 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 이용하여 *Microbacterium oleivorans*로 동정하였고, 현재까지 국내 보고가 없었던 균종에 의한 균혈증으로 판단되어 문헌 고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

4세 남자 환아가 내원 당일 시작된 복통, 구토, 설사와 동반된 탈수 증세를 주소로 입원하였다. 이전에 특이 병력 없이 건강했던 환아로, 입원 당시 체온 38°C, 맥박 108회/분, 호흡수 24회/분이었다. 환아는 급성 병색을 보였고, 신체 검진상 피부 긴장도(skin turgor)가 약간 감소되어 있었던 것 이외에 특이 소견은 관찰되지 않았다. 입원 시 시행한 말초혈액검사에서 백혈구 15,010/ μ L (호중구 11,888/ μ L), 혈색소 15.6 g/dL, 혈소판 291,000/ μ L이었다. 생화학 검사상 BUN/Cr 22/0.37 mg/dL, AST/ALT 27/15 IU/L, LDH 270 IU/L, Total bilirubin/direct bilirubin 0.6/0.1 mg/dL, hsCRP 0.63 mg/L으로 LDH의 상승을 제외하고는 특이 소견이 관찰되지 않았다. 내원 당시 발열이 있어 입원 직후 시행한 한 쌍의 혈액배양에서 2일 후 균 증식이 확인되었다. 이를 계대 배양한 혈액배양에서 48시간 후 노란색의 작은 집락이 관찰되었고(Fig. 1), MacConkey 한천배지

Received 17 February, 2012, Revised 30 March, 2012

Accepted 7 May, 2012

Correspondence: Mi-Kyung Lee, Department of Laboratory Medicine, Chung-Ang University Hospital, 224-1 Heukseok-dong, Dongjak-gu, Seoul 156-755, Korea. (Tel) 82-2-6299-2719, (Fax) 82-2-6298-8630, (E-mail) cpworld@cau.ac.kr



Fig. 1. Yellow-pigmented and smooth *Microbacterium oleivorans* colonies grown for 48 hours on blood agar plate.

에서는 집락이 자라지 않았다. 그람 염색상 짧고 굵은 형태의 그람 양성 막대균이 관찰되었다(Fig. 2). 생화학적 검사상 catalase 음성, coagulase 음성, oxidase 음성이었고 이동성(motility)은 관찰되지 않았다. Vitek 2 system (bioMérieux-Vitek, Hazelwood, MO, USA)에서 ANC ID card를 이용하였을 때 89%의 가능성(probability)으로 *Microbacterium flavescens*가 동정되었다. 정확한 균종 동정을 위해 혈액배양에서 자란 균의 DNA를 추출하여 약 1,400 bp의 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 시행하였다. 분석된 염기 서열은 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) database에서 *Microbacterium oleivorans* type strain DSM16091T (BLAST accession no. AJ698725.1)과 99.0% 일치율을 보였고, 이와 0.8% 이내의 유사성을 보이는 그 외의 다른 균종은 없었다. 따라서 본 균주는 *Microbacterium oleivorans*로 판단할 수 있었다.

환아는 항균제 투여 없이 수분 공급 및 대증 요법만으로 증상이 호전되었고, 더 이상의 발열 증세도 보이지 않아 내원 3일째에 특별한 문제 없이 퇴원하였다.

고 찰

Microbacterium 군속은 호기성 그람 양성의 노란색 색소를 생성하는 coryneform 세균이다. Catalase에 다양한 반응을 보이며, oxidase 양성일 수 있고, 운동성 및 그 외의 생화학적 특징들이 다양하게 관찰될 수 있다[1]. 그러므로 생화학적 방법만으로는 정확한 동정이 어렵고, 16S rRNA에 대한 염기 서열 분석을 시행하여 균종을 동정하는 것이 가장 좋은 방법으로 알려져 있다[1,3,12]. 본 균주는 그람 염색상 그람 양성의 coryneform의 막대균으로 관찰되었고, 혈액천천배지에 접종했을 때 황색의

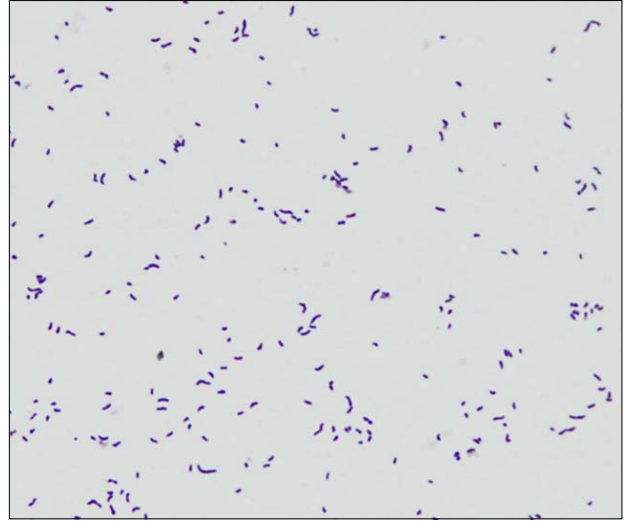


Fig. 2. Gram staining of *Microbacterium oleivorans* isolated from this case showing short and irregularly bent gram-positive bacilli (Gram stain, $\times 1,000$).

작은 집락을 형성하였다. 이와 같은 그람 염색 및 배양된 집락의 소견으로 보아 노란 색소를 가진 그람 양성 세균 중 임상적으로 가장 흔히 분리되는 *Microbacterium* 균종을 먼저 생각할 수 있었고, 실제 Vitek 2 system에 의해서도 *Microbacterium flavescens*로 동정되었다. 그러나 Vitek 2 system의 database에서 *Microbacterium* 군속에 포함되는 균종은 *Microbacterium flavescens*가 유일하였고, 동정된 균에 대한 가능성이 89%로 낮았다. 그리고 무균 검체(예: 혈액, 뇌척수액 등)에서 coryneform의 세균이 분리되었을 경우, 적합한 방법으로 얻어진 임상 검체에서 coryneform의 세균이 우세균으로 분리된 경우, 그리고 소변 검체에서 coryneform의 세균이 단독으로 10^4 /mL개 이상 분리되었거나 우세균으로 10^5 /mL개 이상 분리된 경우에는 해당 세균을 균종 수준까지 동정하여야 한다고 알려져 있으므로[1], 혈액 검체에서 coryneform bacteria가 분리된 본 증례의 경우 균종 수준까지의 동정이 필요하다고 판단하였다. 따라서 정확한 균종 동정을 위해 16S rRNA 염기 서열 분석을 시행하였으며, 그 결과 본 균주는 *Microbacterium oleivorans*로 확인되었다. 따라서 본 증례를 통해 그람 염색 및 배양된 세균의 집락 소견과 통상적으로 상품화된 제품으로 *Microbacterium* 군속을 동정할 경우 균종 수준까지는 어느 정도 판단할 수 있으나, 노란 색소를 가진 다른 coryneform 세균과의 감별 및 정확한 균종 동정을 위해서는 추가적인 방법이 반드시 필요하겠다는 것을 알 수 있었다.

임상 검체에서 분리되는 *Microbacterium* 균종 간에는 16S rRNA 유사성이 매우 높기 때문에[6] 균종까지 명확히 동정되는 경우는 그리 흔치 않다. 이 경우 *rpoB*나 다른 housekeeping gene region에 대한 추가적인 염기 서열 분석을 시행하여 균종

동정의 민감도와 특이도를 높일 수 있다[12]. CLSI (the Clinical and Laboratory Standards Institute) MM18-A 지침에 따르면 16S rRNA 유전자 염기서열분석에서 coryneform 그람 양성 막대균의 경우 97% 이상 일치하면 동일 군속으로 동정할 수 있고, 99% 이상 일치하면 동일 군종으로 동정할 수 있다[13]. 본 증례의 균주는 16S rRNA 염기 서열 분석시 *Microbacterium oleivorans* type strain DSM16091T (BLAST accession no. AJ698725.1)과 99.0%의 일치율을 보였고, 이와 0.8% 이내의 유사성을 보이는 다른 군종이 없었기 때문에 큰 어려움 없이 군종 동정을 할 수 있었으나, 만일 다른 군종과의 감별이 쉽지 않을 때에는 16S rRNA 외에 *secA*, *gyrB*, *rpoB* 등 다른 유전자 부위에 대한 염기 서열 분석을 고려해 보아야 할 것이다[8].

Microbacterium 군종이 주로 일으키는 감염은 균혈증, 창상 감염, 중심정맥관 등 외인성 물질 연관 감염(foreign body-related infection)이고, 임상검체에서 주로 동정되는 군종은 *M. oxydans*, *M. paraoxydans*, *M. foliorum*으로 알려져 있다[1]. *Microbacterium* 군종은 피부 상재균으로 알려진 군종은 아니지만 무생물성의 생활 환경에 널리 분포하고[1], 임상 검체에서 분리되는 경우 대부분 오염균으로 간주되었던 군종이다. 그러나 최근 몇 년간 사람에서 발생한 중요한 감염 보고가 증가하고 있고[2-9,11], 이 중 균혈증과 연관된 감염인 경우가 가장 많았으며, 대부분 악성 종양 및 항암치료 등에 의해서 면역력이 저하된 환자에서 발생한 보고였으나[3,4,7,8,10] 암이나 면역결핍이 없는, 정상 면역력을 가진 환자에서 발생한 *Microbacterium* 군종에 의한 균혈증도 보고되어 있다[5,9,11]. 이 중 국내 보고는 현재까지 4예가 있으며, 두 예는 각각 급성 림프구성 백혈병 환자와 미만성 거대세포 림프종 환자에서 중심정맥관 연관 균혈증의 원인이었고[7,8], 다른 두 예는 기저질환이 없던 환자에서 각각 감염성 심내막염과 균혈증의 원인균으로 보고된 것이었다[5,11]. 본 증례에서도 특별한 과거 병력이 없던 건강한 소아에게서 발생한 *Microbacterium oleivorans*에 의한 균혈증을 확인할 수 있었다. 본 증례의 균주는 한 쌍의 혈액배양에서 자란 균이었고, 환아는 항생제 치료 없이 자연 회복 되었으며, 입원 이후 추가적인 혈액배양을 시행하지 않아서 오염을 완전히 배제할 수는 없었으나, 최근 *Microbacterium* 군종에 의한 감염이 보고되는 빈도가 증가하고 있고, 흔한 오염균으로 분리되는 군종이 아니며, 환아에게 발열이 있었을 당시 채취한 혈액 검체에서 분리된 균이었으므로 본 증례의 균주는 일시적인 균혈증을 일으킨 원인균으로 생각된다. 또한 소아에서 *Haemophilus influenzae* type b에 의한 잠복 균혈증의 경우 약 5%에서, *Streptococcus pneumoniae* 잠복 균혈증의 경우 약 30-40%에서 자연 회복될 수 있다고 알려져 있으므로[14], 본 증례의 경우에도 항생제 치료 없이 자연 회복된 일시적인 *Microbacterium oleivorans* 균혈증의 가능성을 충분히 고려할 수 있을 것으로 생각된다.

2005년에 독일의 한 석유 저장고에서 처음으로 *Microbacterium oleivorans*가 분리된 이후[15], 현재까지의 국외 보고로는 2008년에 18개월 된 남아의 혈액에서 분리된 *Microbacterium oleivorans*에 대한 보고가 유일하고[6], 국내에서는 본 증례가 *Microbacterium oleivorans*에 의한 균혈증의 첫 보고로 생각된다. 추가적으로 본 증례에서는 시행하지 않았지만, 최근 조기 균혈증의 증거로 널리 이용되고 있는 procalcitonin 증가 등의 생화학적 표지자가 관찰된다면 본 증례의 균주가 실제 균혈증을 일으킨 원인균임을 좀 더 확실하게 뒷받침해 줄 수 있는 근거가 되었으리라 생각한다.

본 증례의 환아는 위장관염을 주소로 내원하였고, 그러므로 *Microbacterium oleivorans* 균혈증이 위장관염에서부터 시작된 것으로 추측되나 현재까지 보고된 문헌 중에서는 *Microbacterium* 군종 감염에 의한 위장관염에 대한 보고는 아직 없었다. 그러므로 좀 더 정확한 원인 관계를 규명하기 위해서는 환아의 분변 검체로부터 *Microbacterium oleivorans*이 배양되는지를 확인해 볼 필요가 있을 것으로 판단되나, 본 증례의 환아는 대변 배양을 시행하지 않아서 정확한 원인 관계의 규명을 할 수 없었던 것이 제한점으로 생각된다.

Microbacterium 군종의 항균제 감수성 기준은 아직 확립된 것이 없고, 이와 관련된 연구 역시 많지 않은 실정이다. 임상 검체에서 분리된 *Microbacterium* 군속의 50군종을 대상으로 CLSI의 *Corynebacterium* 군종에 대한 최소억제농도 기준에 맞추어 broth microdilution method로 항균제 감수성 검사를 시행하였던 한 연구에 따르면, linezolid와 meropenem에 대해서는 모든 균주가 감수성이었고, 대부분의 균주에서 vancomycin, doxycycline에 감수성을 보였으며, 약 80%에서 penicillin에 감수성을 나타냈다고 하였다[6]. 또한 *Microbacterium resistens*는 vancomycin에 내성이나, teicoplanin에는 감수성을 나타낸다고 알려져 있다[16]. 국내에서도 vancomycin, teicoplanin, meropenem 등을 이용하여 *Microbacterium* 균혈증을 치료하였다고 보고하고 있다[5,7,8,11]. 그러므로 *Microbacterium* 군종에 의한 감염이 의심될 때에는 이와 같은 항균제 감수성 결과를 바탕으로 경험적 항균제 치료를 시작하는 것이 바람직할 것이다.

결론적으로 저자들은 특이 병력 없이 건강했던 환아에게서 발생한 균혈증의 원인균을 16S rRNA 염기 서열 분석을 통하여 *Microbacterium oleivorans*로 동정하였기에 보고하는 바이다. 임상 검체에서 노란색 집락을 보이는 coryneform의 그람 양성 세균이 분리되는 경우 *Microbacterium* 군종의 감염 가능성을 항상 고려해야 하고, 정확한 동정을 위해 생화학적 특성의 분석뿐만 아니라 16S rRNA 염기 서열 분석이 필요할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Versalovic J, Carroll KC, et al. eds. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed, Washington, DC; American Society for Microbiology, 2010:413-42.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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 Suppl 3:S923-6.
6. Gneiding K, Frodl R, Funke G. Identities of *Microbacterium* spp. encountered in human clinical specimens. J Clin Microbiol 2008;46:3646-52.
7. 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.
8. Woo HI, Lee JH, Lee ST, Ki CS, Lee NY. Catheter-related bacteremia due to *Microbacterium oxydans* identified by 16S rRNA sequencing analysis and biochemical characteristics. Korean J Clin Microbiol 2010;13:173-7.
9. Enoch DA, Richardson MP, Hill RL, Scorer PM, Sismey A. Central venous catheter-related bacteraemia due to *Microbacterium paraoxydans* in a patient with no significant immunodeficiency. J Clin Pathol 2011;64:179-80.
10. Adderson EE, Boudreaux JW, Hayden RT. Infections caused by coryneform bacteria in pediatric oncology patients. Pediatr Infect Dis J 2008;27:136-41.
11. 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.
12. Adderson EE, Boudreaux JW, Cummings JR, Pounds S, Wilson DA, Procop GW, et al. Identification of clinical coryneform bacterial isolates: comparison of biochemical methods and sequence analysis of 16S rRNA and *rpoB* genes. J Clin Microbiol 2008;46:921-7.
13. 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.
14. Behrman RE, Kliegman RM, et al. eds. Nelson Textbook of Pediatrics. 17th ed, Philadelphia; Saunders, 2004:842-3.
15. Schippers A, Bosecker K, Spröer C, Schumann P. *Microbacterium oleivorans* sp. nov. and *Microbacterium hydrocarbonoxydans* sp. nov., novel crude-oil-degrading Gram-positive bacteria. Int J Syst Evol Microbiol 2005;55:655-60.
16. 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.

=국문초록=

16S rRNA 염기서열분석으로 동정한 *Microbacterium oleivorans*에 의한 균혈증 1예

중앙대학교 의과대학 진단검사의학교실

김보현, 이미경

Microbacterium 균종은 환경에 널리 분포하는 그람 양성, coryneform의 막대균이다. 주로 오염균으로 여겨졌으나 최근 면역저하자 및 정상인에서 감염을 일으켰다는 보고가 증가하고 있다. *Microbacterium* 균종은 약 50여 종 이상이 알려져 있으며 균종 간 생화학적 특징의 차이가 명확하지 않으므로 통상적인 검사 방법으로는 균종 수준까지 정확히 동정하기 어려운 균으로 알려져 있다. 따라서 정확한 *Microbacterium* 균종 수준까지의 동정을 위해서는 16S rRNA에 대한 염기서열 분석을 시행하여 균종을 동정하는 것이 가장 좋은 방법으로 알려져 있다. 저자들은 특이 과거력 없이 건강하였던 환아에서 일시적인 균혈증을 일으킨 *Microbacterium oleivorans* 1예를 16S rRNA 염기서열분석을 통해 동정하였고, *M. oleivorans*에 의한 국내 첫 감염 보고라 판단하여 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다. [대한임상미생물학회지 2012; 15:110-113]

교신저자 : 이미경, 156-755, 서울시 동작구 흑석동 224-1
중앙대학교병원 진단검사의학과
Tel: 02-6299-2719, Fax: 02-6298-8630
E-mail: cpworld@cau.ac.kr