



Brevibacterium otitidis에 의한 이염의 한국 내 첫 증례

The First Case of Otitis in Korea Caused by Brevibacterium otitidis

문선호 · 이아진 · 김상경 · 전창호 · 박천강 · 서현석

Seon-Ho Mun, M.D., A-Jin Lee, M.D., Sang-Gyung Kim, M.D., Chang-Ho Jeon, M.D., Cheon-Gang Park, M.D., Hun Suk Suh, M.D.

대구가톨릭대학교병원 진단검사의학과

Department of Laboratory Medicine, Daegu Catholic University School of Medicine, Daegu, Korea

Brevibacterium spp. are gram-positive rods that are considered to be strictly nonpathogenic, and a very few cases of their infection in humans have been reported. In this study, we report a case of otitis caused by *Brevibacterium otitidis*. A 53-year-old woman, who visited the hospital, complained of symptoms, such as otorrhea from both ears, ear fullness, tinnitus, and hearing impairment, for several months. Ear discharge was cultured on blood agar for pathogen identification. Bacteria from the isolated colony were initially identified as *Actinomyces odontolyticus* by VITEK 2 (bioMérieux, France), whereas VITEK[®] MS (bioMérieux, France) identified them as *Brevibacterium luteolum*. Subsequently, bacteria from the isolated colony were confirmed as *B. otitidis* by 16S rRNA sequencing. Antimicrobial susceptibility testing confirmed their sensitivity to vancomycin and linezolid and resistance to clindamycin and penicillin. To our knowledge, this is the first reported case of otitis caused by *B. otitidis* in Korea.

Key Words: *Brevibacterium otitidis*, 16S Ribosomal RNA, Otitis

서 론

*Brevibacterium otitidis*는 운동성이 없고, 용혈을 일으키지 않으며, 카탈레이즈 양성 반응을 보이는 Coryneform 그람 양성 막대균이다. *Brevibacterium* spp.는 1953년에 Breed에 의해 처음 명명되었으며[1], 현재는 30종이 알려져 있으며, 임상적으로 연관 있는 것은 9종으로 알려져 있다[2]. 이 균종은 주로 유제품이나 사람 피부 등에서 서식하며, 과거에는 임상 검체에서 *Brevibacterium* spp.가 동정되면 오염이나 착오(misidentification)로 인식되었으나 최근에는 인체 감염 사례가 종종 보고되고 있다[5]. *B. casei*에 의한 균혈증[3], *B. iodinum*에 의한 복막염[4], *B. otitidis*에 의한 이염

[1], 수술부위 감염[5]과 심내막염[6] 사례 등이 보고되었다. 지금까지 문헌조사 등에 의하면 국내에서 *B. otitidis*에 의한 감염 사례가 보고된 적은 없었으며, 최근 저자들이 16S rRNA 유전자 염기서열 분석으로 *B. otitidis*를 동정한 이염 증례를 국내에서 처음 경험하여 보고하고자 한다.

증 례

53세 여성이 수개월간 지속된 양측 이루 증상으로 지역 의원에서 계속 치료받았으나 치료 후에도 상기 증상 지속되어 본원 이비인후과 외래로 내원하였다. 내원 당시에 이루 외에도 이명, 이충만감, 청력장애, 통증 숫자평정척도(numeral rating scale, NRS) 3점의 귀 통증 증상들이 양쪽으로 동반되어 있었다. 이명에 대해서는 이명장애지수(tinnitus handicap inventory, THI) 설문을 시행하였으며, 결과는 30점으로 경도의 이명으로 나타났다. 과거력으로 5년 전 본원 산부인과에서 왼쪽 난소종양 및 자궁근종을 진단받고 복강경으로 왼쪽 난관난소절제술 및 근종절제술을 받은 병력이 있으며, 그 외 다른 과거 병력이나 수술력은 없었다. 본원 이비인후과 외래 내원 당시에 활력 징후는 혈압 130/80 mmHg, 맥박 90회/분, 호흡 20회/분, 체온 36.3°C였다. 이비인후과 외래에서 시행한 이경 진찰에서 오른쪽 고막에 연노랑색의 반투명한 분비물이 관찰되어 이 분비물을 멸균 면봉으로 채취하여 배양검사를 진행하였다.

Corresponding author: Hun Suk Suh, M.D., Ph.D.

https://orcid.org/0000-0001-6364-5525

Department of Laboratory Medicine, Daegu Catholic University School of Medicine, 33 Duryugongwon-ro 17-gil, Nam-gu, Daegu 42472, Korea
Tel: +82-53-650-4143, Fax: +82-53-653-8672, E-mail: hssuh@cu.ac.kr

Received: September 11, 2018

Revision received: December 8, 2018

Accepted: December 10, 2018

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2019, Laboratory Medicine Online

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

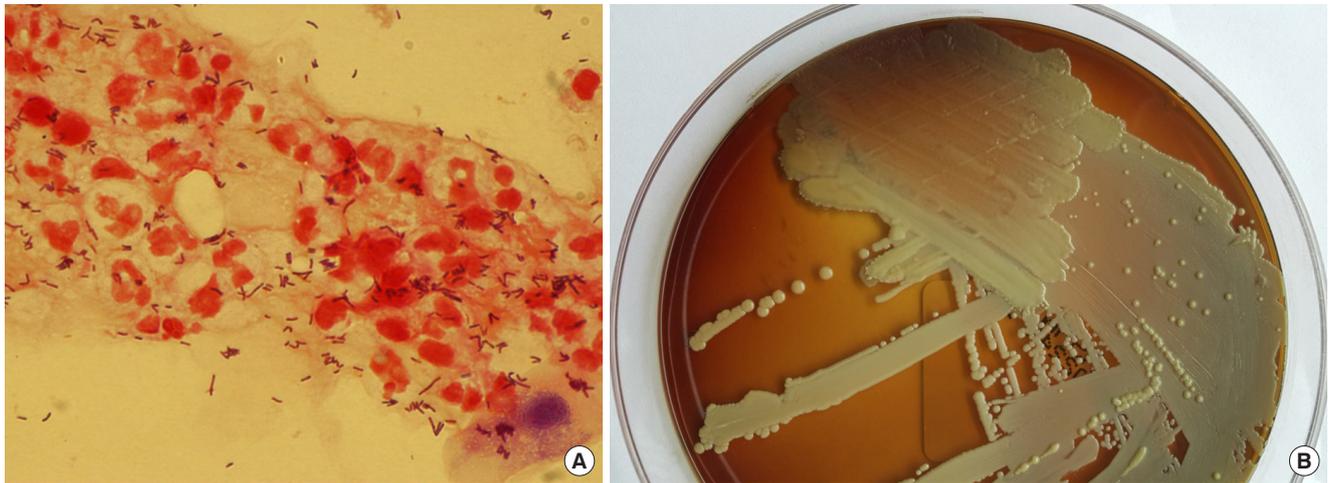


Fig. 1. Images of microscopic findings and colony morphology of *Brevibacterium otitidis*. (A) Gram staining of ear discharge observed under 1,000x shows many neutrophils and gram-positive v-shaped or rod shaped diplobacilli. (B) Growth of yellowish, smooth, circular colonies on blood agar plate.

먼저 멸균 면봉으로 채취한 분비물을 그대로 그람 염색 시행 결과, 다수의 호중구와 그람 양성 막대균이 염색에서 관찰되었다. 그람 양성 막대균은 2개의 막대 모양이 직선이나 V자 형태로 각이 있는 쌍막대균 형태를 보였다(Fig. 1A). 또한 멸균 면봉으로 채취한 분비물을 혈액한천배지와 MacConkey 배지에 접종한 후 35°C 환경에 24시간 배양하였고, 그 결과 MacConkey 배지에서는 관찰된 집락이 없었으나 혈액한천배지에서 표면이 부드럽고 누르스름한, 원형의 비용혈성 집락이 관찰되었다(Fig. 1B). 이 집락을 이용해 다시 그람 염색을 시행하였고, 먼저 환자 검체로 바로 시행했던 결과와 마찬가지로 그람 양성의 직선 형태 혹은 V자 모양의 쌍막대균이 관찰되었다. 분리된 그람 양성 쌍막대균을 미생물 자동화 동정기기인 VITEK2 (bioMérieux, Marcy l’Etoile, France)로 분석한 결과, 91% probability로 *Actinomyces odontolyticus*가 동정되었다. 본 증례에서 나타난 배양된 집락의 형태와 그람 염색 결과가 *A. odontolyticus*의 알려진 특징과 상이한 양상을 보여 MALDI-TOF 질량분석기기인 VITEK® MS (bioMérieux)로 집락을 다시 분석하였고, *Brevibacterium luteolum* 단독으로 식별되었다. VITEK2와 VITEK® MS가 상이한 동정결과를 보여 정확한 균종 확인을 위해 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 마크로젠(Seoul, Korea)에 의뢰하였다. PCR primer에는 27F 5’ (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3’와 1492 R 5’ (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3’을 사용하였고, sequencing primer에는 785F 5’ (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3’와 907R 5’ (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3’을 사용하였으며, 나온 결과를 16S rRNA 염기서열 BLAST (the GenBank Basic Local Alignment Search Tool) database를 이용하여 분석한 결과 *B. otitidis* (GenBank accession no. NR_041752.1)에 대하여 99.59% (1,471/1,477)의 일치도를 보여, *B. otitidis*로 판정할 수 있었다.

Table 1. Disc diffusion test of *Brevibacterium otitidis*

| Antibiotic | Inhibition zone diameter (mm) | Breakpoint* (mm) | Result |
|------------|-------------------------------|------------------|-----------------|
| CC | 10 | 20 | Resistant |
| VA | 44 | 17 | Susceptible |
| E | 28 | NA [†] | NA [†] |
| IPM | 40 | NA [†] | NA [†] |
| LZD | 26 | 25 | Susceptible |
| P | 16 | 29 | Resistant |

*From *Corynebacterium* spp. disc diffusion breakpoint of the EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, 2016; [†]No breakpoint exists for erythromycin and imipenem. Abbreviations: CC, clindamycin; VA, vancomycin; E, erythromycin; IPM, imipenem; LZD, linezolid; P, penicillin; EUAST, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

배양된 균에 대해 디스크확산법 항균제 감수성 검사를 시행하였으며, Clindamycin은 10 mm, Vancomycin은 44 mm, Erythromycin은 28 mm, Imipenem은 40 mm, Linezolid는 26 mm, Penicillin은 16 mm의 억제대가 관찰되었다. 동시에 E-test도 시행하였으며, 최소억제농도는 Vancomycin 0.125 mg/dL, Imipenem 0.125 mg/dL이었다(Table 1).

본 증례보고는 대구가톨릭대학교병원 IRB 심의를 통과한 후 진행하였다(CR-18-171).

고찰

Brevibacterium spp.는 Coryneform 그람양성 막대균으로, 과거에는 임상 검체에서 동정되면 해당 균에 대한 감염보다는 검체 오염으로 주로 간주되었다. 하지만 최근에 보고된 증례들을 통해, 검

체 오염이 아닌 병원균으로서 균혈증[3, 7], 복막염[4, 8], 심내막염[6], 수술부위 감염[5] 등의 다양한 감염을 유발할 수 있는 것이 확인되었다. 임상 검체에서 동정되는 *Brevibacterium* spp.에서 가장 흔하게 발견되는 균은 *B. casei*로 알려져 있다[9]. 현재 한국에서는 악성 림프종 환자에서의 혈액에서 배양된 *B. casei*에 대한 1예가 보고되었다[3].

*B. otitidis*는 1996년에 Pascual 등[1]이 2명의 *Brevibacterium* spp.에 의한 이염 증례를 보고하며 처음 명명되었다. 첫 2명의 증례 보고 이후로 *B. otitidis*에 대한 증례가 세 차례 더 보고되었으며, 이염이 아닌 미세추간관절제술 후 수술부위 감염[5], 복막투석 환자에서 나타난 복막염[8], 심내막염[6] 등의 병원균으로 검출된 증례가 보고되었다. 이번 증례는 광범위한 문헌 조사를 하였으나 국내에서 *B. otitidis*에 대한 보고는 발견하지 못하였으며 따라서 *B. otitidis* 감염에 대한 국내 첫 증례로 판단된다.

Roland 등은 2,887개의 외이도염 검체를 분석하였고, 총 348개가 coryneform bacteria였으나 274개의 *Microbacterium* spp.를 제외하고, 4개의 *Brevibacterium* spp.를 포함한 나머지 coryneform bacteria에 대해서는 빈도수가 적고 주로 비병원성 상재균으로 알려져 있어 중요한 외이도염 원인균으로 분석하지 않았다[14]. 그러나 본 증례에서는 이염과 관련된 환자의 증상, 이루 그람 염색에서 관찰된 호중구, 단일균이 동정된 것 등으로 볼 때 동정된 *B. otitidis*가 병원균으로 작용했다고 볼 수 있다.

이번 증례에서 배지에 생성된 집락을 VITEK2 system으로 동정했을 때 *A. odontolyticus*로 나왔다. *A. odontolyticus*는 rust-brown 또는 red-colored 집락을 형성하고, 배지에서 최소 5일 이상 성장시켜야 나타나는 것으로 알려져 있으며[10], 본 증례에서 생성된 집락은 누르스름하고 둥근 모양으로 *A. odontolyticus*와는 상이한 모습을 보였다(Fig. 1B). 그람 염색에서 *Actinomyces* spp.는 그람 양성 막대균이 분지(branching) 형태를 보이는 것이 특징적이지만[11], 본 증례에서는 그람 염색에서 분지 형태가 없는 그람 양성 쌍막대균의 모양을 보였다. 이렇게 집락의 형태와 그람 염색 관찰을 통해 VITEK2 system에서 얻은 동정 결과가 오류가 있을 것이라고 예상할 수 있었고, 비교를 위해 VITEK[®] MS를 이용하여 해당 집락을 다시 검사하였고, *B. luteolum*으로 확인되었고, 확진을 위해 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 시행하여 *B. otitidis*로 확인할 수 있었다. 앞서 먼저 보고된 *B. otitidis*에 의한 심내막염 증례와 미세추간관절제술 수술부위 감염 증례의 경우도 모두 처음 시행한 검사에서는 diptheroid로 동정되었으나, 본 증례와 마찬가지로 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 통해 *B. otitidis*로 동정되었다[5, 6]. 또한 Funmilola 등이 2016년에 *Brevibacterium* spp.의 VITEK2, MADI-TOF mass spectrometry, 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 통한 동정 결과를 비교하는 연구를 발표하였는데, VITEK2에서는

동정 결과가 모두 잘못 나왔으며, VITEK[®] MS 동정 결과 일부에서는 속 단계(genus level)는 맞게 나왔으나 종 단계(species level)에서 틀리게 나왔다[12]. 이렇게 *B. otitidis* 감염에 대한 본 증례와 타 증례 및 연구 등에서 착오(misidentification)가 잘 일어났으며, 이를 통해 희귀하게 동정되는 균에 대해서는 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 통해 정확한 동정이 필요함을 알 수 있다.

Brevibacterium spp.의 항균제 감수성에 대해서는 아직 연구가 많이 이뤄지지 않았다. *Brevibacterium* spp.에 대한 항균제 감수성 검사는 European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)와 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines 등에 기재되어 있지 않다. EUCAST version 6.0 (2016)에 *Brevibacterium* spp.와 유사한 Coryneform 그람 양성 막대균인 *Corynebacterium* spp.의 디스크 확산법에 대한 변곡점(breakpoint)이 기재되어 있으며[2, 13], 이 기준에 본 증례의 *B. otitidis*의 항균제 감수성 검사 결과를 비교하면 vancomycin, linezolid에 감수성이 있고, clindamycin과 penicillin에 대해서는 저항성을 가지고 있다(Table 1). Funmilola 등[12]은 *Brevibacterium* spp. 10 균주에 대해 디스크 확산법 검사를 시행한 후 Staphylococci에 준해서 해석하였고, 그 결과 penicillin, fusidic acid, trimethoprim에 내성, vancomycin, linezolid에 감수성을 보였다. 본 증례에서 시행한 디스크 확산법 결과를 Staphylococci에 준해서 해석하면 erythromycin, imipenem, linezolid에 감수성, clindamycin과 penicillin에 저항성을 나타내게 된다. 본 증례에서는 환자에게 본원 첫 방문 당시 외이도염(otitis externa)에 대한 광범위 항생제인 ciprofloxacin계열 귀 물약(ear drop)이 처방되었다. 그러나 환자가 이후 추가적인 외래 방문을 하지 않아 해당 항생제 치료가 효과가 있었는지 추적관찰을 할 수 없었다. *B. otitidis* 감염에 대해서는 복막염 환자에서 cefazolin 및 gentamicin 치료[8], 심내막염 환자에서 vancomycin 및 gentamicin 치료[6] 등이 효과적이었다는 증례가 있으나 그 외에 치료 효과에 대한 연구가 아직 많지 않아 추후 연구가 더 필요하다.

요 약

Brevibacterium spp.는 그람 양성 막대균으로, 비병원성으로 알려져 있으며 인체 감염 사례는 매우 드물게 보고되었다. 이번 연구에서 저자들은 *Brevibacterium otitidis*에 의한 이염 증례를 보고한다. 53세 여성이 수개월간 지속되는 이루 증상과 이충만감, 이명, 청력 장애 등이 동반되어 병원을 방문하였다. 균 동정을 위해 이루를 혈액한천배지에 배양하였고, 집락은 처음에 VITEK 2에 의해 *Actinomyces odontolyticus*로 동정되었다. VITEK[®] MS는 집락을 *B. luteolum*으로 동정하였다. 집락은 16S rRNA 유전자 염기서열

분석에 의해 *B. otitidis*로 확인되었다. 항균제 감수성 검사에서는 vancomycin과 linezolid에는 감수성이 있으면서 clindamycin과 penicillin에는 저항성을 보이는 것으로 확인되었다. 저자들이 알고 있는 바에 의하면 이번 증례는 한국 내에서 *B. otitidis*에 의한 이염의 첫 증례 보고이다.

이해관계

저자들은 본 연구와 관련하여 어떠한 이해관계도 없음을 밝힙니다.

REFERENCES

- Pascual C, Collins MD, Funke G, Pitcher DG. Phenotypic and genotypic characterisation of two *Brevibacterium* strains from the human ear: description of *Brevibacterium otitidis* sp. nov. *Med Microbiol Lett* 1996;5:113-23.
- Jorgensen JH, Pfaller MA, eds. *Manual of clinical microbiology*. 11th ed. Washington DC: ASM Press, 2015:475.
- Jung YJ, Huh HJ, Ki CS, Lee NY. Misidentification of *Brevibacterium casei* as *Propionibacterium acnes* isolated from the blood of a patient with malignant lymphoma. *Ann Clin Microbiol* 2014;17:95-8.
- Antoniou S, Dimitriadis A, Polydorou F, Malaka E. *Brevibacterium iodinum* peritonitis associated with acute urticaria in a CAPD patient. *Perit Dial Int* 1997;17:614-5.
- Alida FT, Henry M, Meaghan C, Anne B, Denise M, Edmond S, et al. *Brevibacterium otitidis*: an elusive cause of neurosurgical infection. *J Med Microbiol* 2013;62:486-8.
- Krishna ND, Margo AS, Vee JG, Steven AG, Daniel RL. *Brevibacterium endocarditis*: a first report. *Clin Infect Dis* 2002;35:e20-1.
- Lina B, Carlotti A, Lesaint V, Devaux Y, Freney J, Fleurette J. Persistent bacteremia due to *Brevibacterium* species in an immunocompromised patient. *Clin Infect Dis* 1994;18:487-8.
- Georges W, Bernard VB, Veronique A, Rene C, Jacqueline C, Michele J, et al. Peritonitis due to *Brevibacterium otitidis* in a patient undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Clin Microbiol* 2000;38:4292-3.
- Gruner E, Steigerwalt AG, Hollis DG, Weyant RS, Weaver RE, Moss CW, et al. Human infections caused by *Brevibacterium casei*, formerly CDC groups B-1 and B-3. *J Clin Microbiol* 1994;32:1511-8.
- Valour F, Sénéchal A, Dupieux C, Karsenty J, Lustig S, Breton P, et al. Actinomycosis: etiology, clinical features, diagnosis, treatment, and management. *Infect Drug Resist* 2014;7:183-97.
- Jorgensen JH, Pfaller MA, eds. *Manual of clinical microbiology*. 11th ed. Washington DC: ASM Press, 2015:926.
- Funmilola AA and Maureen O. Comparison of VITEK 2, MALDI-TOF and partial sequencing of 16S rRNA gene in identification of *Brevibacterium* species with its antibiotic susceptibility pattern. *Nig J Pharm Res* 2016;12:69-73.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_6.0_Breakpoint_table.pdf (Updated on Jan 2016).
- Roland PS and Stroman DW. Microbiology of acute otitis externa. *Laryngoscope* 2002;112:1166-77.