

배양가능한 피부세균의 분리 및 동정

배영민[†]

창원대학교 생명보건학부

(2020년 10월 25일 접수: 2020년 12월 29일 수정: 2020년 12월 29일 채택)

Isolation and identification of culturable bacteria from human skin

Young-Min Bae[†]

Department of Life Science and Public Health, Changwon University

(Received October 25, 2020; Revised December 29, 2020; Accepted December 29, 2020)

요 약 : 나이가 20-25세인 남녀 성인들 20명(남성 5명, 여성 15명)의 엄지손가락 표면에 상재하는 세균을 채취하고 Luria-Bertani agar에서 배양하였다. 배양된 세균들의 16S rDNA를 polymerase chain reaction을 통하여 증폭하고, 그 염기서열을 분석하였다. 이렇게 얻어진 염기서열을 genbank의 자료들과 비교하여 세균들을 동정한 결과, 총 14종의 세균들이 확인되었다. 개인별로는 평균 2.5종의 배양 가능한 세균들을 손의 피부에 보유하는 것으로 확인되었다. 확인된 세균 중에서는 *Staphylococcus* 종들이 가장 널리 존재하고 있었으며, 다음으로는 *Micrococcus luteus*이었다. *Staphylococcus* 종들의 경우에는 그 분포에 있어서 성별에 따른 차이가 적었으나, *Micrococcus luteus*의 경우에는 남자보다 여자에게서 훨씬 더 많이 분리되는 경향을 보였다. 이러한 결과는 피부 질환에 대한 연구, 피부질환에 대한 치료제 개발, 피부에 사용하는 화장품개발 등의 분야에 도움이 될 것으로 사료된다.

주제어 : 피부미생물, 세균, polymerase chain reaction, 16S rDNA, 피부질환

Abstract : Bacteria were collected from the thumb surface of the twenty young adults that are 20 to 25 years old and cultured on the Luria-Bertani agar. The 16S rDNA of the cultured bacteria was amplified by polymerase chain reaction(PCR) and DNA sequence of the PCR products analyzed. Total 14 different bacterial species were identified by comparing their 16S rDNA sequence with the data in genbank. It appears that each individual has 2.5 different bacterial species in average. Staphylococcal species were the most abundant among the identified bacteria and *Micrococcus luteus* was the second. Staphylococcal species were isolated at similar frequency between male and female donors but *Micrococcus luteus* was isolated more frequently from female than male donors. The result obtained in this study might be useful in research of dermatic diseases, searching for new drugs for those diseases and development of new cosmetics.

Keywords : Skin microorganism, bacteria, polymerase chain reaction, 16S rDNA, dermatic disease

[†]Corresponding author
(E-mail: yominbae@changwon.ac.kr)

1. 서론

인체에서 가장 큰 기관으로 간주되는 피부는 외부의 신호를 내부로 전달하며 병원성 미생물, 독소 및 여러 가지 불리한 환경에 대한 일차적인 방어벽 역할을 수행한다[1]. 피부에 존재하는 공생적 미생물군집은 병원성 미생물들과 경쟁하여 이들의 증식을 억제하며 피부의 면역세포들과도 교감하여 여러 가지 면역반응에 영향을 미친다[1]. 장내균총 뿐만 아니라 최근에는 피부균총을 구성하는 미생물들의 조성이 개인의 건강에 큰 영향을 미친다는 보고들이 속속 발표되고 있다[1]. 건선(psoriasis)이나 아토피 피부염(atopic dermatitis) 환자들은 정상인과 확연히 다른 피부균총을 가진다는 사실만 보아도 피부에 존재하는 미생물 군집의 중요성을 알 수 있다[1]. 피부는 인간의 몸이 외부세계와 맞닿아 있는 경계이므로, 피부에 존재하는 미생물 군집은 신체 내부 및 외부 환경의 영향을 받지 않을 수 없고, 따라서 피부 미생물 군집은 나이, 성별, 습도, 직업, 주거환경 또는 개인별 위생 상태에 따라서 많은 차이를 보이는 것으로 보고되어 있다[1, 2, 3]. Ying et al.은 중국 Shanghai의 농촌지역과 도시지역에 거주하는 주민들의 피부미생물을 서로 비교하였는데, 나이, 성별, 물리적 피부 변수, 신체에서 시료가 채취된 부위, 거주지역 등에 따라 피부미생물들의 분포가 달라진다고 보고하였다[2]. 미생물군집은 시료가 채취된 인체 부위에 따라 가장 크게 차이가 나며, 다음으로는 농촌지역 또는 도시지역으로 구분되는 거주지에 따라 차이를 보였다[2]. 피부에 존재하는 미생물들 중에서는 병원성인 것들도 있지만 병원성 미생물에 대한 숙주의 방어벽을 돕기 때문에 공생체로 간주되는 것들도 있다[3]. Shami et al.은 Saudi Arabia 주민들을 상대로 배양 가능한 피부미생물들을 조사하였는데, 젊은 사람들보다 나이가 많은 사람들에서 더 많은 가짓수의 세균들이 분리되었고, 피부 부위별로는 발, 손, 두피의 순서로 많은 종류의 세균이 확인되었다[3]. 또한 가장 빈번하게 분리된 세균은 *Micrococcus* 종이였고, 다음으로는 *Staphylococcus* 종들이었다[3]. 따라서 여러 다양한 지역에 거주하는 사람들의 피부에 존재하는 미생물을 주거환경, 성별 또는 나이에 따라 분석해 보면 피부건강을 유지하거나 미용을 위해 이용될 수 있는 자료들이 얻어질 수 있다. 이러한 목적을 위하여 본 연구에서는 경남 창원지역에

거주하는 20대 초반의 건강한 성인 남녀를 대상으로 호기적 조건하의 Luria-Bertani agar에서 배양 가능한 피부세균들을 분리하고 동정하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약 및 재료

실험에 사용된 Luria-Bertani(LB) agar는 Bacto™ Tryptone (BD), Bacto™ Yeast extract (BD), sodium chloride (Junsei Chemical Co.) 및 agar (USB corp.)를 사용하여 제조하였다. Genomic DNA preparation에는 NucleoSpin Microbial DNA Kit(Macherey-Nagel)이 사용되었고, plasmid DNA preparation에는 NucleoSpin Plasmid EasyPure kit(Macherey-Nagel)이 사용되었다. PCR에 사용된 *Pfu* DNA polymerase 및 dNTP mixture는 Promega Corporation (Madison, WI, USA)의 제품을 사용하였다.

2.2. 시료의 채집

시료 제공자의 엄지손가락을 LB agar의 표면에 접촉시켜서 세균을 옮긴 후, 30°C에서 3일간 배양하였다.

2.3. 시료의 분석

LB agar에 나타난 세균의 집락들을 분리하여 새로운 LB agar에 도말하고 배양하였다. 이렇게 얻어진 세균들을 집락의 형태에 따라 몇 개의 그룹으로 나누고 각 그룹에 속하는 세균들을 Gram 염색법으로 염색한 후에 각 세균 세포의 형태 및 색을 현미경으로 관찰하였다. 집락의 특징 및 Gram 염색의 결과로 관찰된 각 세균들의 형태 및 염색 특성을 바탕으로 세균들을 여러 그룹으로 나누었다.

2.4. Genomic DNA 추출

각 그룹을 대표하는 세균들을 LB broth에 접종하고 30°C에서 180 rpm으로 교반하며 충분한 농도에 도달할 때까지 배양하였다. 이렇게 배양된 세균 세포로부터 genomic DNA를 추출하였다. Genomic DNA의 추출에는 Macherey-Nagel, Inc. (Bethlehem, PA, USA)의 NucleoSpin Microbial DNA kit를 사용하였고, 실험방법은 kit에 동봉된 protocol에 따랐다.

2.5. 16S rDNA의 증폭

정제된 genomic DNA들을 template로 사용하여 polymerase chain reaction (PCR)을 수행하였다. PCR 반응을 위해서는 DNA template 100 ng, forward primer 2.5 pmol, reverse primer 2.5 pmol, dNTPs mixture 2 μ l (10 nM each) 그리고 *Pfu* DNA polymerase 1 μ l (3 U)를 포함하는 100 μ l의 반응액에서 반응을 진행하였다. 16S rDNA 중에서 V3-V4 region을 증폭하기 위해서는 forward primer로서 341f 및 reverse primer로서 785r을 사용하였다[4] (Table 1). 이렇게 얻어진 염기서열로 정확한 동정이 불가능할 경우에는 forward primer로 16S rDNA 5'-말단의 conserved region을 target으로 하여 제조된 fD1 및 reverse primer로 16S rDNA 3' 부위를 target으로 하여 제조된 rP2를 사용하여 16S rDNA 전체를 증폭하여 추가로 분석하였다[5] (Table 1). V3-V4 region을 증폭할 때에는 95°C에서 2분간 한 cycle, 그리고 95°C에서 45초, 55°C에서 45초, 72°C에서 1분씩 30 cycle을 진행시킨 후, 최종적으로 72°C에서 5분간 유지시켰고, 16S rDNA 전체를 증폭할 때에는 elongation time을 2분으로 증가시켰다.

2.6. PCR 산물의 cloning

PCR products는 0.7% agarose gel에서 분자량에 따라 separation 시켜서 산물을 확인한 후, Promega Corporation의 Gel and PCR purification system을 사용하여 DNA를 정제하였다. 정제된 PCR product는 ATP와 T4 polynucleotide kinase로 5' 말단을 인산화시켜 주었다. 제한효소 *Sma*I으로 절단하고 bacterial alkaline phosphatase로 처리하여 5' 말단의 인산기를 제거한 pBluscript II SK- plasmid DNA와 PCR 산물을 섞어서 ligation 시키고, competent *Escherichia coli* DH5 α 에 transformation 하였다. Transformation된 *E. coli* 세포들을 100 μ

g/ml의 ampicillin을 함유하는 MacConkey agar에 도말하고 37°C에서 배양하였다. 나타난 colony들 중에서 흰색 colony들을 골라서 이들로 부터 plasmid DNA를 추출한 후에, supercoiled plasmid DNA를 agarose gel electrophoresis로 분석하였다. 예상되는 크기의 PCR 산물이 확인되면 (주)솔젠틸(Daejeon, Korea)에 의뢰 하여 insert DNA들의 염기서열을 분석하였다.

2.7. 16S rDNA 염기서열의 분석

얻어진 염기서열은 Genbank의 BLAST program으로 다른 세균들의 16S rDNA 염기서열들과 similarity를 비교하여 분리된 세균들을 동정하였다[6].

3. 결과 및 고찰

3.1. 시료의 수집 및 분석

나이가 20-25세인 남녀 대학생들 20명(남성 5명, 여성 15명)의 엄지손가락을 LB agar의 표면에 접촉시켜서 세균을 옮긴 후 30°C에서 3일간 배양하였다. 시료를 채취한 때가 11월이었는데, 이 시기에 사람 손가락 표면의 온도가 대략 30°C 정도 되는 것으로 보고되었으므로, 채취된 세균들의 배양온도를 30°C로 결정하였다[7]. 세균들을 집락의 형태 및 현미경 관찰 결과에 따라서 분리한 후에, 각 그룹을 대표하는 세균들의 genomic DNA를 추출하고, 이것을 template로 사용하여 16S rDNA를 증폭하였다. 이렇게 얻어진 PCR 산물들을 plasmid에 삽입하여 염기서열 분석을 수행하였다. 얻어진 염기서열들은 Genbank의 BLAST program을 이용하여 세균을 동정하였다 [6].

3.2. 분리된 세균의 분석

수집된 세균들을 분석한 결과 14종의 세균들이

Table 1. Primers used for PCR to amplify 16S rDNA

Name	Sequence
341f	5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3'
785r	5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'
fD1	5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3'
rP2	5'-ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3'

Table 2. Total numbers of bacteria isolated from male donors

Phylum	Bacteria	Number
Actinobacteria	<i>Micrococcus luteus</i>	1
Actinobacteria	<i>Pseudoarthrobacter equi</i>	1
Firmicutes	<i>Bacillus clausii</i>	1
Firmicutes	<i>Staphylococcus aureus</i>	3
Firmicutes	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2
Firmicutes	<i>Staphylococcus petrasii</i>	4
Firmicutes	<i>Virgibacillus</i> spp.	1

Table 3. Total numbers of bacteria isolated from female donors

Phylum	Bacteria	Number
Actinobacteria	<i>Corynebacterium</i> spp.	1
Actinobacteria	<i>Micrococcus luteus</i>	11
Firmicutes	<i>Bacillus clausii</i>	1
Firmicutes	<i>Paenebacillus</i> spp.	1
Firmicutes	<i>Staphylococcus aureus</i>	5
Firmicutes	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3
Firmicutes	<i>Staphylococcus petrasii</i>	11
Proteobacteria	<i>Massilia timonae</i>	1
Proteobacteria	<i>Moraxella osloensis</i>	1
Proteobacteria	<i>Roseomonas mucosa</i>	1
Proteobacteria	<i>Sphingomonas phylospaeae</i>	1

확인되었다. 분리된 세균 중에서는 *Staphylococcus petrasii*가 20명 중에서 15명으로부터 분리되어 시료 제공자의 75%가 보유하고 있었다. 따라서 이 세균이 가장 널리 분포되어 있는 것으로 나타났다. 이 세균은 남성의 경우에는 5명 중에서 4명으로부터 분리되었으므로 남성의 80%가 보유하고 있었고(Table 2), 여성의 경우에는 15명 중에서 11명으로부터 분리되었으므로 여성의 73%가 보유하는 것으로 확인되었다(Table 3). 따라서 이 세균의 분포는 성별에 따라 별다른 차이를 보이지 않았다. 두 번째로 자주 분리된 세균은 *Micrococcus luteus*로서 이 세균은 전체적으로는 시료 제공자의 60%가 보유하고 있으나, 남성의 경우에는 20%, 여성의 경우에는 73%가 보유하고 있었다. 따라서 이 세균의 경우에는 남성보다 여성들이 훨씬 더 흔하게 보유하고 있는 것으로

나타났다. 세 번째로는 *Staphylococcus aureus*로서 전체적으로는 40%가 보유하고 있으며, 남성의 60%, 여성의 33%가 보유하고 있었다. 따라서 이 세균의 경우에는 여성보다 남성에게서 더 많이 분리되는 경향을 보이고 있다. 남성과 여성 모두에서 개인에 따라 1종부터 4종까지의 세균들이 분리되었고, 평균적으로 남성들은 2.6종, 여성들은 2.5종의 세균들이 분리되었다(Table 4). 그러므로 개인별로 분리되는 세균의 가짓수는 성별에 따라 큰 차이가 없음을 알 수 있었다. 분리된 14종의 세균들이 속하는 문(phylum)을 살펴보면 모두 Actinobacteria, Firmicutes 및 Proteobacteria의 3개 문(phylum)에 속한다는 것을 알 수 있고, 특이하게도 남성들로부터 분리된 세균들은 모두 Actinobacteria와 Firmicutes에 속하는 Gram 양성 세균들이었다(Table 2).

Table 4. Number of isolated bacteria from male and female donors

Bacteria	Number
Male 1	3
Male 2	2
Male 3	4
Male 4	3
Male 5	1
Female 1	2
Female 2	3
Female 3	1
Female 4	2
Female 5	4
Female 6	4
Female 7	2
Female 8	2
Female 9	2
Female 10	4
Female 11	2
Female 12	2
Female 13	3
Female 14	2
Female 15	4

3.3. 분리된 세균들의 특성

분리된 세균 중에는 여러 가지 주목할 만한 세균들이 많이 포함되어 있는데, 그 중에서도 *Virgibacillus* spp.는 한 명의 남성에게서만 분리가 되었다. 이 세균은 호염성 세균으로서 주로 염전을 포함한 해양환경, 젓갈, 김치 등에서 분리가 되었다[8]. 본 실험실에서 확인을 해 본 바로도 이 세균은 nutrient agar와 같이 염분의 농도가 낮은 배지에서는 증식하지 않았다. 아마도 이 남성이 시료를 제공하기 직전에 이 세균을 포함한 물질과 접촉을 하여서 이 남성의 피부에 이 세균이 일시적으로 존재하게 된 것으로 추정된다.

피부상재 세균 중에서 가장 흔한 것이 *Staphylococcus epidermidis*로 알려져 있으나, 본 연구에서는 이 세균보다 *Staphylococcus petrasii*가 더 흔하게 존재하는 것으로 나타났다. *S. petrasii*라는 종 이름은 2013년에 최초로 사용되었으며, *S. petrasii*는 *S. epidermidis*와 마찬가지로

로 coagulase 음성이고 사람 피부에 널리 존재하는 것으로 알려져 있다[9]. *S. epidermidis*는 피부 공생균이지만 *S. petrasii*는 면역력이 떨어진 환자들에게 감염증을 일으키는 기회성병원체로 알려져 있다[9].

한명의 여성에게서 *Massilia timonae*가 분리되었는데, 이 세균은 원래 뇌수막염(meningoencephalitis) 환자에게서 분리되어 1998년에 최초로 보고된 병원성 세균이다[10]. 그 이후로 이 세균이 뇌수막염 이외에도 수술 후 상처감염, 골수염(osteomyelitis), 가성 뇌종양(cerebral pseudotumor), 패혈증(sepsis) 등의 원인균인 것으로 보고가 되었다[10].

또 다른 한명의 여성에게서 Gram 음성, 호기성 coccobacillus인 *Moraxella osloensis*가 분리되었는데, 이 세균은 암, 백혈병, 장기이식 환자 등의 면역력이 저하된 사람들에게서 드물게 감염증을 일으키는 기회성 병원체로 알려져 있고, 또한 건강한 사람의 피부 및 호흡기에 존재하는 정상 균총의 일부로 간주되었다. 그러나 이 세균이 최근에 복막염(peritonitis), 패혈증(bacterimia), 골수염(osteomyelitis)의 원인균인 사례가 세계 각지에서 보고되었다[11, 12, 13].

또 다른 한명의 여성으로부터 *Roseomonas mucosa*가 분리되었다. Myles et al.은 건강한 사람과 아토피 피부염을 앓고 있는 사람으로부터 수집된 *R. mucosa*를 인간의 피부 표면에 도포하여 보았더니 건강한 사람에게서 얻어진 세균은 아토피 피부염 증상을 완화시켜주었으나, 아토피 피부염을 앓고 있는 사람으로부터 얻어진 세균은 아토피 피부염의 증상을 악화시켰다고 보고하였다[14]. 원래 이 세균은 *S. epidermidis*와 함께 피부공생세균으로 알려져 있고, 피부에 이러한 공생 세균들의 밀도가 높으면 *Staphylococcus aureus*와 같은 병원성 세균들의 증식을 억제해 주는 것으로 알려져 왔다. 따라서 그들은 아토피 피부염 증상을 완화시키기 위하여 이 세균을 사용할 수 있음을 제시하였다[14]. 그러나 이 세균이 감염성 심내막염(infective endocarditis), 패혈증(bacterimia), 안구내염(endophthamitis) 및 복막염(peritonitis)을 일으키는 기회성병원체라는 보고도 있었다[15, 16, 17, 18]. 그 후에 Myles et al.은 건강한 사람의 피부에서 수집한 *R. mucosa*로 live biotherapeutic products (LBP)를 제조하였고, 이 제품을 성인 및 어린이에게 사용해 본 결과 특별한 감염증이나 염증반응 없이 아토피 피

부염 증상의 완화에 효과가 있었다고 보고하였다 [19]. 따라서 이 세균의 병원성은 균주특이적 (strain-specific)이라고 볼 수 있다. 이 세균의 병원성에 대한 분자유전학적인 연구가 진행된다면 이러한 여러 가지 의문에 대한 답을 얻을 수 있다고 판단된다.

한 명의 남성에게서 분리된 *Bacillus clausii*는 probiotics로 많이 사용되는 세균으로서 Ianiro et al.은 이 세균이 급성설사 증상을 보이는 어린이의 증상을 완화해 주는 효과가 있다고 보고하였다 [20]. 그러나 이 세균을 probiotics로 사용한 어린이에게서 패혈증이 나타났다는 보고도 있다 [21]. 그러므로 이 세균의 경우에도 병원성이 균주에 따라 다르게 나타나는 것인지 아니면 세균을 투여 받은 사람의 면역력에 따라 다르게 나타나는 것인지에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다.

Corynebacterium 속(genus) 세균이 한명의 여성에게서 분리되었는데 이 속에 속하는 세균들은 인간의 전신 피부에 존재하고 특히 습한 부위에서 그 밀도가 높은 것으로 보고되었는데, 피부 표피에 병원성을 보이는 *Corynebacterium minutissimum*과 *Corynebacterium tenuis* 두 종을 제외한 대부분의 종들은 비병원성으로 알려져 있다 [22].

본 연구를 수행한 결과, 피부에서 병원체, 기회성병원체 및 공생체를 포함한 다양한 세균들이 분리되었다. 이러한 세균들은 인간의 피부라는 서식처를 놓고 서로 경쟁을 하며 균형을 유지하고 있다. 그러나 이러한 균형은 외부로부터의 작은 환경변화에도 쉽게 깨질 수 있고, 그러면 여러 가지 피부질환이 발생하게 된다. 피부에 상재하는 세균들의 종류 및 각 세균들이 피부에 미치는 영향을 세밀히 분석하고 연구한다면 정상 피부균총의 균형이 파괴되었을 때에 신속하게 원상태로 복구시켜서 피부질환을 자연친화적인 방법으로 치료하는 것이 가능해질 수도 있다. 현재 세균감염을 치료하기 위하여 사용하고 있는 여러 가지 항생제에 대해서 내성을 나타내는 세균들은 빠른 속도로 증가하고 있으나 새로운 항생제들이 발견되는 속도는 급격히 떨어지고 있다. 이러한 현실을 감안한다면 미생물을 이용해서 미생물을 제어하고, 결과적으로 인간의 질환을 치료하는 방법이 야말로 가장 바람직한 대안이 될 수가 있다. 이러한 이유로 피부 미생물에 대한 좀 더 체계적이고 깊이 있는 연구가 필요하다고 본다.

4. 결론

20대 초반 성인들의 피부에 주로 존재하는 세균들에 대한 연구를 수행하기 위하여 나이가 20-25세인 남녀 대학생들 20명(남성 5명, 여성 15명)의 손가락 표면에 상재하는 세균을 채취하고 배양 가능한 세균들을 동정하였다. 그 결과, 14종의 세균들이 확인되었으며, 개인별로 평균 2.5종의 세균을 손에 보유하는 것으로 확인되었다. 세균의 가짓수는 성별에 따른 차이가 거의 없었다. 확인된 세균 중에서는 *Staphylococcus* 종들이 가장 널리 존재하고 있었으며, 두 번째로는 *Micrococcus luteus*이었다. *Staphylococcus* 종들의 경우에는 그 분포에 있어서 성별에 따른 차이가 적었으나, *Micrococcus luteus*의 경우에는 남성보다 여성에게서 훨씬 더 많이 분리되는 경향을 보였다. 이러한 결과는 피부 질환에 대한 연구, 피부질환에 대한 치료제 개발, 피부에 사용하는 화장품개발 등의 분야에 큰 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2019~2020년도 창원대학교 자율연구과제 연구비 지원으로 수행된 연구결과임(IRB No. 7001066-202012-BR-003).

References

1. J. Lehtimäki, A. Karkman, T. Laatikainen, L. Paalanen, L. von Hertzen, T. Haahtela, I. Hanski, L. Ruokolainen, "Patterns in the skin microbiota differ in children and teenagers between rural and urban environments" *Sci Rep*, Vol.7, pp. 45651, (2017).
2. S. Ying, D. N. Zeng, L. Chi, Y. Tan, C. Galzote, C. Cardona, S. Lax, J. Gilbert, Z. X. Quan, "The Influence of Age and Gender on Skin-Associated Microbial Communities in Urban and Rural Human Populations", *PLoS One*, Vol.10, pp. e0141842, (2015).

3. A. Shami, S. Al-Mijalli, P. Pongchaikul, A. Al-Barrag, S. AbduRahim, "The prevalence of the culturable human skin aerobic bacteria in Riyadh, Saudi Arabia", *BMC Microbiol*, Vol.19, pp. 189, (2019).
4. S. Thijs, M. Op De Beeck, B. Beckers, S. Truyens, V. Stevens, J. D. Van Hamme, N. Weyens, J. Vangronsveld, "Comparative Evaluation of Four Bacteria-Specific Primer Pairs for 16S rRNA Gene Surveys", *Front Microbiol*, Vol.8, pp. 494, (2017).
5. W. G. Weisburg, S. M. Barns, D. A. Pelletier, D. J. Lane, "16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study", *J Bacteriol*, Vol.173, pp. 697-703, (1991).
6. M. Johnson, I. Zaretskaya, Y. Raytselis, Y. Merezuk, S. McGinnis, T. L. Madden, "NCBI BLAST: a better web interface", *Nucleic Acids Res*, Vol.36, pp. W5-9, (2008).
7. M. J. Kim, "Differences in Skin Temperature and Perceived Thermal Comfort Based on Age, Sex and Clothing Weight of Participants in a Room at Recommended Room Temperature", *Korean J. Community Living Science*, Vol.15, pp. 55-64, (2004).
8. Y. J. Oh, J. Y. Jang, S. K. Lim, M. S. Kwon, J. Lee, N. Kim, M. Y. Shin, H. K. Park, M. J. Seo, H. J. Choi, "*Virgibacillus kimchii* sp. nov., a halophilic bacterium isolated from kimchi", *J Microbiol*, Vol.55, pp. 933-938, (2017).
9. V. Vrbovska, V. Kovařovic, I. Mašlaňová, A. Indráková, P. Petráš, O. Šedo, P. Švec, L. Fišarová, M. Šiborová, K. Mikulášek, I. Sedláček, J. Doškař, R. Pantůček, "*Staphylococcus petrasii* diagnostics and its pathogenic potential enhanced by mobile genetic elements", *Int J Med Microbiol*, Vol.309, pp. Article 151355, (2019).
10. A. H. Van Craenenbroeck, K. Camps, P. Zachée, K. L. Wu, "*Massilia timonae* infection presenting as generalized lymphadenopathy in a man returning to Belgium from Nigeria", *J Clin Microbiol*, Vol.49, pp. 2763-2765, (2011).
11. N. J. Alkhatib, M. H. Younis, A. S. Alobaidi, N. M. Shaath, "An unusual osteomyelitis caused by *Moraxella osloensis*: A case report", *Int J Surg Case Rep*, Vol.41, pp. 146-149, (2017).
12. Y. Maruyama, T. Shigemura, K. Aoyama, N. Nagano, Y. Nakazawa, "Bacteremia due to *Moraxella osloensis*: a case report and literature review", *Braz J Infect Dis*, Vol.22, pp. 60-62, (2018).
13. A. Yamada, K. Kasahara, Y. Ogawa, K. Samejima, M. Eriguchi, H. Yano, K. Mikasa, K. Tsuruya, "Peritonitis due to *Moraxella osloensis*: A case report and literature review", *J Infect Chemother*, Vol.25, pp. 1050-1052, (2019).
14. I. A. Myles, N. J. Earland, E. D. Anderson, I. N. Moore, M. D. Kieh, K. W. Williams, A. Saleem, N. M. Fontecilla, P. A. Welch, D. A. Darnell, L. A. Barnhart, A. A. Sun, G. Uzel, S. K. Datta, "First-in-human topical microbiome transplantation with *Roseomonas mucosa* for atopic dermatitis", *JCI Insight*, Vol.3, pp. e120608, (2018).
15. N. Beucler, M. Meyer, A. Choucha, P. Seng, H. Dufour, "Peritonitis caused by *Roseomonas mucosa* after ventriculo-peritoneal shunt revision: a case report", *Acta Neurochir (Wien)*, Vol.162, pp. 2459-2462, (2020).
16. M. Bhende, A. Karpe, S. Arunachalam, K. L. Therese, J. Biswas, "Endogenous endophthalmitis due to *Roseomonas mucosa* presenting as a subretinal abscess", *J Ophthalmic Inflamm Infect*, Vol.7, pp. 5, (2017).
17. K. Kimura, H. Hagiya, I. Nishi, H. Yoshida, K. Tomono, "*Roseomonas mucosa* bacteremia in a neutropenic child: A case report and literature review", *IDCases*, Vol.14, pp. e00469, (2018).
18. S. Shao, X. Guo, P. Guo, Y. Cui, Y. Chen, "*Roseomonas mucosa* infective endocarditis in patient with systemic lupus

- erythematosus: case report and review of literature”, *BMC Infect Dis*, Vol.19, pp. 140, (2019).
19. I. A. Myles, I. N. Moore, C. R. Castillo, S. K. Datta, “Differing Virulence of Healthy Skin Commensals in Mouse Models of Infection”, *Front Cell Infect Microbio*, Vol.8, pp. 451, (2018).
 20. G. Ianiro, G. Rizzatti, M. Plomer, L. Lopetuso, F. Scaldaferrri, F. Franceschi, G. Cammarota, A. Gasbarrini, “*Bacillus clausii* for the Treatment of Acute Diarrhea in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials”, *Nutrients*, Vol.10, No.8, pp. 1074, (2018).
 21. S. Joshi, S. Udani, S. Sen, S. Kirolikar, A. Shetty, “*Bacillus Clausii* Septicemia in a Pediatric Patient After Treatment With Probiotics”, *Pediatr Infect Dis J*, Vol.38, pp. e228–e230, (2019).
 22. Y. E. Chen, M. A. Fischbach, Y. Belkaid, “Skin microbiota–host interactions”, *Nature*, Vol.553, pp. 427–436, (2018).