

A Case of *Granulicatella adiacens* Septicemia Identified by 16S rRNA Sequencing Analysis

Kyeong Seob Shin¹, Bo Ra Son¹, Hye Won Jeong²

Departments of ¹Laboratory Medicine and ²Internal Medicine, College of Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, Korea

Granulicatella adiacens is one of the fastidious gram positive cocci previously described as nutritionally variant streptococci due to their requirement of L-cysteine, pyridoxal, or thiol compounds for growth. These bacteria have been identified as significant causative agents of endocarditis, ophthalmic infections, and meningitis. We report a case of septicemia caused by

G. adiacens in an 80-year-old patient with cholangiocarcinoma. The organism was identified by phenotypic and 16S rRNA sequencing analyses. (Korean J Clin Microbiol 2008;11:63-65)

Key Words: Nutritionally variant streptococci, *Granulicatella adiacens*, Septicemia

서 론

*Granulicatella adiacens*는 배양조건이 까다로운 그람양성 구균으로 이전에 nutritionally variant streptococci (NVS)로 불리었으며, DNA-DNA 교잡반응 연구에 의해 재분류 되었다[1]. NVS는 L- cysteine, pyridoxal hydrochloride (vitamin B₆의 활성형) 및 thiol compound 등을 성장에 요구하며[2,3], 그람양성 또는 음성균 주위에서 위성현상을 일으켜, nutritionally deficient streptococci, 또는 satelliting streptococci라고도 불린다. 1961년 Frenkel과 Hirsch 등[4]에 의해 최초로 분리되었고 streptococcal 심내막염의 원인균 중 5% 정도를 차지하며[3], 외이도염, 상처감염[5], 결막염[6], 뇌농양[7] 등을 일으킨 예가 보고되었다.

국내에서는 1995년 이 등[8]이 심내막염을 일으킨 예를 처음 보고하였으며 그 이후 패혈증을 일으킨 *G. adiacens* 1예[9]가 더 보고되었고, 이 균들은 penicillin을 제외한 대부분의 항균제에 감수성이었다. 저자들은 선혈관질환으로 담관암종(cholangiocarcinoma)을 가지고 있다가 폐렴으로 입원한 80세 남자 환자에서 *G. adiacens*에 의한 패혈증 1예를 경험하였다. 이 NVS는 생화학적 검사뿐 아니라 16S rRNA 염기서열 분석을 통하여 *G. adiacens*로 동정되었으며, 감수성 검사에서 vancomycin을 제외한 시험한 모든 항균제에 내성을 보였기에 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

1. 임상소견 및 검사소견

환자는 80세 남자로 8개월 전 담관암종으로 진단 받았고, 2개월 전부터 담도 스텐트를 설치한 상태로 내원 당일 발열과 오한을 주소로 응급의학과를 방문하였다.

내원 당시 체온 39.3°C, 혈압 120/80 mmHg, 맥박 92/분, 호흡수 24/분 이었다. 심음은 깨끗하였으며, 우측 폐 중·하부에서 약설음이 청진 되었다.

말초혈액검사에서 혈색소 10.8 g/dL, 백혈구 3,300/μL, 혈소판 229,000/μL 이었으며, BUN/Cr은 20/1.0 mg/dL, 총단백/알부민은 7.3/3.7 g/dL, AST/ALT는 21/15 IU/L, 총 빌리루빈은 0.4 mg/dL 이었다. 입원 다음날 시행한 일반혈액검사에서 백혈구수가 21,960/μL로 증가하였으며 호중구의 좌방 이동(간상 호중구: 30%)이 관찰되었다. CRP는 16.85 mg/dL이었으며 AFB 도말은 음성이었다.

흉부 방사선 검사에서 폐렴이 의심되어 호흡기내과로 입원하였으며 내원 일부터 ceftriaxone과 clindamycin이 투여되었으며, 투약한지 5일 후에 시행한 3쌍의 혈액배양은 음성이었다. 23일째 CRP는 0.7 mg/dL이었고 환자는 퇴원하였다.

2. 미생물학 검사 및 항균제 감수성 검사

3회의 혈액배양에서 3쌍의 호기성 및 혐기성 BACT/ALERT 3D (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, France) 혈액배양 병 중 2쌍에서 하루 만에 균이 증식되었고, 혈액배양액의 직접 그람염색에서 다양한 형태를 보이며 불규칙한 배열을 갖는 그람양성 구균과 함께 효모와 비슷한 크기의 균도 섞여 관찰되었다(Fig. 1A).

Received 2 January, 2008, Accepted 26 February, 2008
Correspondence: Kyeong Seob Shin, Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, Chungbuk National University, 62, Gaesindong, Heungduk-gu, Cheongju 361-711, Korea. (Tel) 82-43-269-6240, (Fax) 82-43-271-5243, (E-mail) ksshin@chungbuk.ac.kr

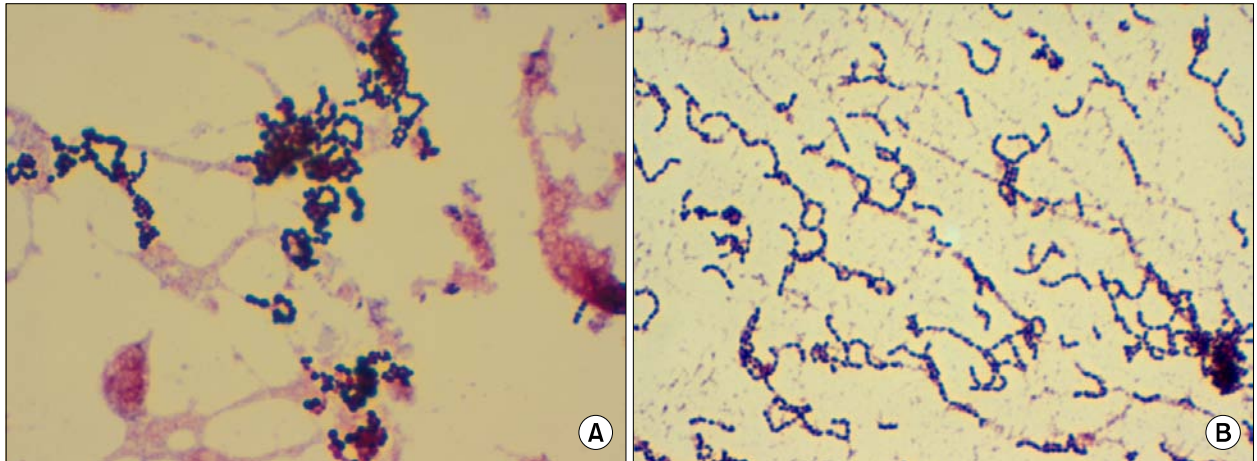


Fig. 1. Gram stain of *Granulicatella adiacens* isolated from the case. Smears were prepared directly from a positive blood culture vial (Bact/Alert 3D blood culture broth) (A), or from a culture grown again in the blood culture broth supplemented with 0.001% pyridoxal hydrochloride (B). Figure A shows characteristic gram-positive pleomorphic cocci in pairs and short chains. In addition yeast like cells were noted. Figure B shows characteristic gram-positive cocci in typical streptococcal chains.

이 균은 혈액한천배지 및 MacConkey 한천배지에서는 성장하지 않았으나 *Staphylococcus aureus*로 확선했던 혈액한천배지에서 *S. aureus* 주위에서 위성집락이 관찰되어 NVS로 예비동정하였다. 0.001% pyridoxal hydrochloride (PH)를 첨가한 혈액배양 병에 균의 집락을 접종한 후 배양한 혈액배양의 직접 그람염색에서 전형적인 연쇄상 구균의 형태를 보였으며(Fig. 1B), 0.001% PH가 첨가된 5% sheep blood에서 optochin에 내성이었다. 상품화된 균 동정제품을 사용하였을 때 API 20 STREP (bio-Merieux, Marcy-l'Etoile, France)과 Vitek 2 system (bioMerieux, Inc., Hazelwood, MO., USA)에서 각각 profile 014000 (% ID 80.4%, T index; 1.0; API 20 STREP V7.0)과 98.48%로 *G. adiacens*로 동정되었다. 16S rRNA 염기서열 분석은 (주) 마크로젠(서울)에 의뢰하였는데, 방법을 간략히 요약하면 다음과 같다. InstaGene Matrix (Bio-Rad, Hercules, CA., USA)를 이용하여 DNA를 추출하였다. 이어서 27F/1492R 시발체를 이용하여 증폭 한 후 Dynabeads PCR clean kit (Dynal Biotech ASA, Oslo, Norway)를 이용하여 PCR 산물을 정제하여 16S rRNA 염기서열의 분석에 이용하였다. 염기서열 분석은 Applied Biosystems 모델 3730XL 자동 DNA sequencing system (Applied Biosystems, Foster city, CA., USA)을 이용하여 분석하였다. NCBI (National Center for Biotechnology Information)의 GeneBank database에서 유사한 16S rRNA 염기서열을 비교분석하였는데 *G. adiacens* AY879304 와 99.85% 일치하였다. 항균제 감수성 검사는 0.001% PH가 포함된 5% sheep blood MH agar에서 시행한 E-test (AB BIODISK, Solna, Sweden) 및 디스크 확산법에서 vancomycin에 감수성이었으나, cefotaxime (MIC; 1.5 ug/mL), penicillin (MIC; 0.5 ug/mL), cefepime, chloramphenicol에는 중간내성이었고, erythromycin, clindamycin

및 tetracycline 등에 내성이었다[10,11].

고 찰

NVS는 1961 Frenkel 및 Hirsch 등[4]에 의해 최초로 분리되었으며, Kawamura 등[12]이 16S rRNA 염기서열 분석으로 *Streptococcus*와 계통 발생학적으로 다르다는 것을 증명하여 *Abiotrophia*로 명명하였으나 *A. defectiva*를 제외한 균은 *Granulicatella*로 다시 명명되었다[13]. *G. adiacens*의 동정은 혈액배양이 양성인 경우 그람염색에서 다양한 형태의 그람양성 또는 음성 구균이 관찰되고 통상적인 계대배양 배지에서 자라지 않지만 *S. aureus* 확선했던 주위에서 위성현상을 보이면 의심할 수 있으며, API 20 STREP 및 Vitek system으로도 동정될 수 있다[9]. 본 예의 경우도 그람염색과 *S. aureus* 확선했던 주위의 위성현상으로 예비동정 단계에서 NVS로 생각하였으며 API 20 STREP 및 Vitek 2 system으로 동정하였을 때 *G. adiacens*로 동정되었다. 확인을 위해 시행된 16S rRNA 염기서열 분석에서 ATCC AY879304 균주와 99.9% 일치하였다. *G. adiacens*는 통상적인 배지에서 잘 자라지 않기 때문에 vitamin B₆이 보충된 배지에서 항균제 감수성 검사를 시행해야 되며, 이 균에 의해 감염된 환자에서 항균제 치료는 일반적으로 penicillin과 aminoglycoside제의 병합요법이 추천되며 vancomycin과 rifampin은 서로 상승 작용이 있어 효과가 큰 것으로 알려져 있다[14]. Tuohy 등[15]은 penicillin 감수성 55%, cefazolin 감수성 52%, amoxicillin 감수성 81%, clindamycin, rifampin, levofloxacin, ofloxacin, vancomycin에 모두 감수성으로 보고하였으며, 국내에서 분리된 예[8,9]에서는 penicillin, tetracycline, erythromycin 등에만 내성으로 보고되었으나 본 예의 경우

vancomycin을 제외하고 시험한 모든 항균제에 중간내성 또는 내성을 보였다. 그러나 환자는 clindamycin 및 ceftriaxone의 치료에 반응하였다. 본 증례는 담관암종을 갖고 있었던 80세 남자환자에서 발생한 *G. adiacens*에 의한 패혈증으로, 담도 스텐트 또는 구강 내 상재균의 흡인이 본 증례의 감염원인으로 추정된다. 이 증례와 같이 혈액배양액의 도말에서 균이 관찰되나 일반 고형 배지에서 균이 자라지 않을 경우에는 *S. aureus*의 획선을 시행하는 것이 유용하다고 생각된다. 대부분의 검사실에서는 혈액배양에 양성인 검체가 많지 않으며 객담을 배양할 때도 통상적으로 *S. aureus*를 획선하기 때문에 혈액배양에 양성인 모든 검체를 고형 배지에 접종할 때 처음부터 *S. aureus* 획선을 시행하여도 미생물 검사실 업무의 증가는 미미하여 별 부담이 안 될 것이다. 이와 같은 *S. aureus* 획선으로 NVS 뿐만 아니라 *Hemophilus* spp.와 같이 위상현상을 나타내는 균종이 있는 검체에서 균의 분리 및 동정 시간을 단축시킬 수 있을 것으로 예상된다.

참 고 문 헌

1. Bouvet A, Grimont F, Grimont PAD. *Streptococcus defectives* sp. nov. and *Streptococcus adiacens* sp. nov., nutritionally variant streptococci from human clinical specimens. Int J Syst Bacteriol 1989;39:290-4.
2. Carey RB, Gross KC, Roberts RB. Vitamin B6-dependent *Streptococcus mitior* (mitis) isolated from patients with systemic infections. J Infect Dis 1975;131:722-6.
3. Roberts RB, Krieger AG, Schiller NL, Gross KC. Viridans streptococcal endocarditis; the role of various species, including pyridoxal-dependent streptococci. Rev Infect Dis 1979;1:955-65.
4. Frenkel A and Hirsch W. Spontaneous development of L forms of streptococci requiring secretions of other bacteria or sulphhydryl compounds for normal growth. Nature (London) 1961;191:728-30.
5. George RH. The isolation of symbiotic streptococci. J Med Microbiol 1974;7:77-83.
6. Namdari H, Kintner K, Jacksons BA, Namdari S, Hughes L, Peairs RR, et al. *Abiotrophia* species as a cause of endophthalmitis following cataract extraction. J Clin Microbiol 1999;37:1564-6.
7. Biermann C, Fries G, Jehnichen P, Bhakdi S, Husmann M. Isolation of *Abiotrophia adiacens* from a brain abscess which developed in a patient after neurosurgery. J Clin Microbiol 1999;37:769-71.
8. Lee SY and Pai CH. Two cases of nutritionally variant streptococci from patients with endocarditis. Korean J Clin Pathol 1995;15:273-80.
9. Kwon O, Park SD, Uh Y, Yoon KJ, Kwon SO, Kim HY. A case of septicemia by *Granulicatella adiacens*. Infect Chemother 2005; 37:368-71.
10. Thornsberry C, Swenson JM, Baker CN, McDougal LK, Stocker SA, Hill BC. Methods for determining susceptibility of fastidious and unusual pathogens to selected antimicrobial agents. Diagn Microbiol Infect Dis 1988;9:139-53.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth informational supplement. CLSI document M100-S16, Wayne, PA; CLSI, 2006.
12. Kawamura Y, Hou XG, Sultana F, Liu S, Yamamoto H, Ezaki T. Transfer of *Streptococcus adiacens* and *Streptococcus defectives* to *Abiotrophia* gen. nov. as *Abiotrophia adiacens* comb. nov. and *Abiotrophia defectives* comb. nov., respectively. Int J Syst Bacteriol 1995;45:798-803.
13. Collins MD and Lawson PA. The genus *Abiotrophia* (Kawamura et al.) is not monophyletic; propose of *Granulocatella* gen. nov., *Granulicatella adiacens* comb. nov., *Granulicatella elegans* comb. nov. and *Granulicatella balaenopterae* comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol 2000;50:365-9.
14. Carey RB, Brause BD, Roberts RB. Antimicrobial therapy of vitamin B6-dependent streptococcal endocarditis. Ann Intern Med 1977;87:150-4.
15. Tuohy MJ, Procop GW, Washington JA. Antimicrobial susceptibility of *Abiotrophia adiacens* and *Abiotrophia defectiva*. Diagn Microbiol Infect Dis 2000;38:189-91.

=국문초록=

16S rRNA 염기서열 분석으로 확인된 *Granulicatella adiacens*에 의한 패혈증 1예

충북대학교 의과대학 ¹진단검사의학교실, ²내과학교실

신경섭¹, 손보라¹, 정혜원²

*Granulicatella adiacens*는 배양조건이 까다로운 그람양성 구균으로 성장을 위해 L-cysteine, pyridoxal 또는 thiol 복합물을 필요로 하기 때문에 이전에 nutritionally variant streptococci로 분류되기도 하였다. 이 균은 구강, 장내 및 생식기 등에 상재균으로 존재하지만 드물게 심내막염, 안구내염 및 뇌수막염 등을 일으킨 예가 보고되었다. 저자들은 전통적인 균주 동정법 및 16S rRNA 염기서열 분석을 통하여 동정된 *G. adiacens*에 의한 패혈증 1예를 80세 담관암종 환자에서 경험하였기에 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다. [대한임상미생물학회지 2008;11:63-65]

교신저자 : 신경섭, 361-711, 충북 청주시 흥덕구 개신동 산 62번지
충북대학교병원 진단검사의학과
Tel: 043-269-6240, Fax: 043-271-5243
E-mail: ksshin@chungbuk.ac.kr