

# S. L. E. 환자 혈액에서 분리한 *Listeria monocytogenes*의 세균학적 특성

연세대학교 의과대학 임상병리과

정 윤 설 · 김 혜 숙 · 이 삼 열

=Abstract=

## Bacteriological Characteristics of the *Listeria monocytogenes* Isolated from the Blood of an S.L.E. Patient

Yunsop Chong, Hye Sook Kim and Samuel Y. Lee

Department of Clinical Pathology, Yonsei University College of Medicine

*Listeria monocytogenes* human infection is a relatively rare disease which usually is meningitis in newborn babies.

The organism was isolated from blood cultures of a 52 year old female patient with meningitis. It was considered that the underlying disease, i.e. S.L.E., and the steroid therapy which the patient had been receiving played some role for the *Listeria* infection.

The isolate was showing characteristics of *L. monocytogenes*, i.e. diphtheroid like morphology, motility with four peritrichous flagella, hemolytic small colonies on blood agar, growth in the presence of 7.5% salt and at 4 C, and inducing monocytosis in an experimentally infected rabbit. Serologically the organism was identified as *L. monocytogenes* 4b. The isolate was showing susceptibility to many antibiotics tested including ampicillin, penicillin and tetracycline which were the recommended drugs of choice for the treatment of Listeriosis.

It is the general opinion that Listeriosis is not so rare as literatures are showing. It is considered that some of the isolate of the organism from clinical specimens are mistakenly discarded due to the fact that the organism shows diphtheroid like morphology and that not many laboratories are able to recognize the organism. Literatures are seen which emphasize more careful examination of gram positive bacilli with diphtheroid like morphology especially when they are isolated from blood or from spinal fluid of patient.

*Listeria monocytogenes* 는 비교적 근년에 발견된 세균이고 이 세균 감염은 드문 것으로 알려져 있다. 이 세

균은 1926년 Murray에 의해 토끼에서 분리되고, 1929년 Nyfeldt에 의해 사람에서 분리된 이래 사람과 여러

가지 동물에 수막염과 패혈증을 이르고 유산의 원인도 됨이 세계 각지에서 보고되고 있다<sup>1-6</sup>. 이 세균감염증 가장 흔한 형은 신생아의 수막염으로 치명율도 높은 병이나 아직 그 증례가 그리 많지 않다. 이것은 그 세균감염이 그렇게 드물기 때문이라기 보다는 오히려 그 세균배양이 어렵고 또 배양되더라도 그 형태가 diphtheroid 같기 때문에 오염균으로 단정하여 폐기되기 쉬운 때문인 것으로 생각되고 있다<sup>1,3,4,6</sup>.

최근 이 세균감염에 대해 좀더 주의를 기울이게 되므로서 점차 많은 예가 보고 되고 있다<sup>3,7,8</sup>. 또한 중앙환자나 steroid 제가 투여된 성인 환자에서의 발생수가 늘어나고 있다<sup>3,6,9,10</sup>.

저자들은 여러가지 병명으로 여러차례 세브란스병원에 입원하였던 한 환자의 blood culture에서 이 세균을 분리하였기에 그 세균학적 특성과 약간의 동물실험적소견을 보고하는 바이다.

## 중 예

환자는 52세의 여자(#262624)로서 1972년 12월 5일에, S.L.E., suspected T.B. meningitis 및 hypertension 등의 impression으로 semicoma 상태로 입원하였다. 이보다 앞서 이 환자는 3년전부터 S.L.E. 및 고혈압증 치료를 위하여 수차례 걸쳐 본 병원에 입원한 바 있었고 상당량의 steroid 제를 투여받은 병력이 있었다. 이번 입원 2주일전부터는 productive cough를 보였으며 1주일전부터는 headache, nausea, vomiting을 나타내고, 입원전날부터는 drowsy mental state를 보였으므로 T.B. meningitis를 의심하게 되었다.

입원치료 1개월간의 중요임상검사소견 및 경과를 hemoglobin 5.7~9.2g%, WBC 5,300~8,350/mm<sup>3</sup>에 대부분(79~85%)이 segmented neutrophil이었고 때로는 stab(1~5%), metamyelocyte(0~3%), 또는 myelocyte(0~1%)도 볼 수 있어 degenerative leukemoid reaction의 양상을 보였고 lymphocyte(11~14%)와 monocyte(0~1%)는 상대적으로 적은 편이었다. Urinalysis에서는 protein이 계속 卍로 나왔고 urine culture의 colony count가 입원당시 1,000/ml 이하이던 것이 입원중 100,000/ml 이상까지 상승하였고 그 세균은 Aerobacter로 동정되었다.

취수액은 입원시에 다소 xanthochromic하였고, protein 157 mg%, glucose 21 mg%, chloride 117 mEq/L, WBC 318/mm<sup>3</sup>, lymphocyte 100%이었다. AFB 검사는 negative였고 india ink preparation에서 cryptococ-

cus negative이었다. 입원당시 일반세균배양은 하지 않았으나 antimicrobial treatment 3주후의 뇌척수액은 무색투명하였고, protein 127 mg%, glucose 104 mg%, chloride 121 mEq/L, WBC 2/mm<sup>3</sup>이었다.

입원시 두차례에 걸쳐 실시된 blood culture가 모두 양성을 나타내므로 이어서 그 세균이 *L. monocytogenes*로 판명됨에 따라 환자는 T.B. meningitis가 아니라 *L. monocytogenes*에 의한 희귀한 meningitis case로 진단되어 urinary infection과 아울러 이 세균에 대한 항생제요법으로 ampicillin, lincomycin과 streptomycin 등이 투여되었으며, 1973년 1월 4일 호전된 상태로 퇴원하였다.

## 실험재료 및 방법

혈액배양용 배지로는 brain heart infusion(BHI)과 thioglycollate broth를 사용하였다. Subculture용 blood agar는 tryptose blood agar base에 bank blood 5%를 첨가하여 만들었다. 운동성은 SIM 배지로 검사하였고, carbohydrate fermentation은 1% carbohydrate 첨가 cystine trypticase agar(CTA)에서 2주일간 관찰하였다. Salt tolerance는 mannitol salt agar(MSA) plate로 시험하였다. Gelatin hydrolysis는 Frazier 방법으로, IMViC, nitrate reduction test는 enterobacteria 감별법에 따랐으며, H<sub>2</sub>S는 lead acetate paper strip으로, urease는 urea broth를 써서, catalase는 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 시험하였다<sup>11</sup>.

분리세균의 antibiotic susceptibility test는 Kirby-Bauer법에 따랐으며 Difco disk와 Müller-Hinton media를 써서 시험하였다<sup>12</sup>.

분리 세균이 토끼의 말초혈액에 monocyte를 증가시키는지 보기 위하여 24시간 역채배양액을 McFarland nephrometer 제 I관의 탁도에 맞춘 부유액 0.5 ml을 체중 약 1.5 kg인 토끼의 marginal ear vein 내로 주사하고, 매일 WBC count와 differential count의 변화를 관찰하였다<sup>3</sup>.

## 성 적

**분리세균의 특성** : 두 blood culture의 BHI에서 48시간에 세균성장이 관찰되었다. 그람염색표본에서 그람양성인 구균양 세균과 diphtheroid 양 간균을 볼 수 있었으며, flagella stain과 전자현미경 사진에서 2~4개의 peritrichous flagella를 볼 수 있었다.

Subculture된 blood agar에는 24시간 배양후에 좁은

**Fig. 1.** Gram stained smear of the culture of *L. monocytogenes* isolate.

용혈대를 갖는 0.5 mm 정도의 집락이 형성되었다. 집락은 원형, 표면 평활, 습윤, 투명, 노적상이었다. 한 천평판상의 집락은 부과광선을 써서 현미경 약확대로 관찰할 때 청회색을 띠었다.

이 세균은 MSA 에 성장하여 7.5% 식염에 내성을 가졌음을 보였고, 접종된 배지물 4°C 냉장고에 보관하여도 세균이 서서히 성장하였다. 37°C 나 실온에 배양된 SIM 배지에서 운동성을 볼 수 있었고 semisolid 인 CTA

tube 에서는 배지 표면 밑 약 5 mm 에 heavy growth 를 보여 이 세균이 microaerophilic 임을 나타내었다.

MR, VP 및 catalase 시험 양성이었다. Indole, H<sub>2</sub>S 및 urease 생성, nitrate 환원, citrate utilization, gelatin hydrolysis 는 모두 음성이었다. Glucose 로부터 gas 없이 산만 생성하였고, dextrin, galactose, lactose, levulose, salicin, sorbitol, sucrose, xylcse 는 발효하였고, adonitol, arabinose, dulcitol, incsitol, inulin 및 mannitol 은 2주일간 변화되지 않았다. 이상의 생물학적 특성에 따라 이 분리 세균을 *L. monocytogenes* 로 동정하였다.

혈청학적인 시험은 Dr. Nagai(일본 삿포로 의과대학 부속병원 검사부)가 agglutination 및 agglutination absorption test 를 하였고 그 혈청형은 4b 로 동정되었다.

Antibiotic susceptibility test 는 chloramphenicol, lincomycin, ncvobiocin, penicillin 및 tetracycline 에 susceptible, ampicillin 에는 intermediate, cloxacillin 에는 resistance 를 나타내었다.

**동물시험 :** 시험세균이 주사된 새마리의 토끼는 주사 후 2일, 3일, 8일에 각각 폐사하였다. 제 8일에 폐사한 토끼의 말초혈액에서는 주사 제 2일부터 약간의, 그리고, 제 6일에는 현저한 leucocytosis 를 보였고, 제 3일부터는 3~16%의 monocytosis 를 나타내었다(표 5).

**Fig. 2.** The *L. monocytogenes* isolate showing a bacillus with rounded ends and four peritrichous flagella.

**Table 1.** Biological characteristics of the *L. monocytogenes* isolate

Characteristics	Reaction of the isolate
Morphology	Small gram positive bacilli
Motility	+
Blood agar	beta-hemolysis
Growth	
4 C	+
MSA	+
Gelatin hydrolysis	-
H <sub>2</sub> S	-
Nitrate reduction	-
Catalase	+
Urease	-
Indole	-
MR	+
VP	+
Simmons' citrate	-
Dextrose	+
Dextrin	+
Galactose	+
Lactose	+
Levulose	+
Maltose	+
Salicin	+
Sorbitol	+
Sucrose	+
Xylose	+
Adonitol	-
Arabinose	-
Dulcitol	-
Inositol	-
Inulin	-
Mannitol	-

**Table 2.** Slide agglutination test of the *L. monocytogenes* isolate

<i>L. monocytogenes</i> O antiserum	Agglutination
1	-
2	-
3	-
4b	+

**Table 3.** Quantitative agglutination and absorption test with *L. monocytogenes* O antiserum.

<i>L. monocytogenes</i> O antiserum	Absorption with	<i>L. monocytogenes</i> O agglutinogen			
		4a	4b	4e	No. 136
4a	None	800*	-#	400	-
	No. 136	400	-	100	-
4b	None	-	1,600	400	1,600
	No. 136	-	-	-	-
4e	None	-	400	800	400
	No. 136	-	-	100	-

\* Highest dilution showing agglutination.

# No agglutination with 1:50 diluted serum.  
No. 136: the isolate.

**Table 4.** Quantitative agglutination test and absorption test with H antiserum.

<i>L. monocytogenes</i> H antiserum	Absorption with	<i>L. monocytogenes</i> agglutinogen			
		4b O	4b H	4e H	No. 136 H
4b	None	-*	1,600#	1,600	1,600
	No. 136	-	-	-	-

\* No agglutination with 1:50 diluted serum.

# Highest dilution showing agglutination.  
No. 136: the isolate

**Table 5.** WBC and differential count of the peripheral blood of a rabbit inoculated with *L. monocytogenes* isolate.

Inoculation	WBC count per mm <sup>3</sup>	Diff. Count %		
		Neut.	Lymp.	Mono.
before	5,300	25	75	
1 days after	5,500	38	62	
2 days after	6,800	36	64	
3 days after	6,450	37	60	3
4 days after	7,200	40	44	16
6 days after	16,900	63	25	12
7 days after	17,250	53	32	15

The rabbit died on the 8th day after inoculation.

## II 안

Murray 는 1926년 *L. monocytogenes* 를 최초로 분리 하였는데, 감염된 토끼 말초혈액에 monocyte 가 증가함

을 관찰하고 이 세균을 *Bacterium monocytogenes* 로 명명하였다. 1927년 Pirie 는 이 세균을 rodent 에서 분리하여 *Listerella hepatolytica* 로 명명하였다가 1940년에 *Listeria monocytogenes* 로 부르게 되었다<sup>3)</sup>.

1929년 Gill 은 양에서 이 세균을 분리하였고 이어서 세계각지의 여러 종류의 동물에서 뇌염, 유산, 전신감염의 원인균으로 보고되었다.

1929년 Nyfeldt 가 infectious mononucleosis 환자에서 이 세균을 분리한 이래 세계 각지에서 1,500건 이상의 human infection 이 보고되었다<sup>13)</sup>. 그러나 실제로는 이보다 더 많은 listeria 중 환자가 있었으리라는 추측이다. 즉 미국에서의 예를 보면 대부분의 환자가 근년에 보고되었다. 첫째가 발견된 1935년 이후 20년간은 40예, 그후 5년간에 144예, 그후 5년간에 355예가 보고되었는데, 이것은 이 세균감염이 증가된 것이 아니고 발견율이 높아졌기 때문인 것으로 생각되고 있다<sup>3)</sup>. 일본에서는 1958년에 최초의 보고가 있었고 1972년말에 이르기까지 63예가 일본각지에서 보고되었다<sup>5,14,15)</sup>.

이 세균은 주로 수막염을 일으키나, 패혈증, 임부의 유산, 심내막염, 폐염, 농양형성의 원인이 되기도 한다<sup>2,16,17)</sup>.

이 세균은 infectious mononucleosis 환자에서 분리된 일이 있고, 이 세균감염 환자에서 10~15%의 monocyte 를 볼 때가 있으므로 한때 infectious mononucleosis 의 병원체로 생각하기도 하였었다. 그러나 이 세균감염에서 monocyte 증가가 늘 있는 것은 아니며 정상혈액상을 보이는 환자도 많은 것으로 보고되어 있다<sup>6)</sup>. 저자들의 예에 있어서도 monocyte 의 증가는 볼 수 없었다.

*Listeria* 증은 주로 신생아나 유아에서 볼 수 있지만<sup>18)</sup> 성인 혹은 노인에서도 볼 수 있다. 성인에 있어서는 neoplastic, diabetic 혹은 기타 중증환자에서 이 세균 감염을 흔히 볼 수 있고, 특히 steroid 나 cytotoxic drug 투여나 radiation 과 밀접한 관계가 있음이 보고되어 있다<sup>6,10)</sup>. 저자들이 *Listeria* 균을 분리한 것은 52세의 SLE 환자로부터 인데 장기간의 steroid 투여가 *Listeria* infection 을 초래했으리라 생각된다.

이 환자는 입원시 T.B. meningitis 로 생각되었는데 그것은 이 환자에 steroid 가 사용되었고, spinal fluid cell count 가 318/mm<sup>3</sup>에 불과했고, 100% lymphocyte 였기 때문이었다. 척수액의 세균배양을 안하였으므로 *Listeria* 수막염이었다는 증거는 없지만 이 세균에 의한 수막염인 경우 그 척수액은 clear 할 때도 있고, cell count 는 많기도 적기도 하며, 그 cell type 도 초기에는 neutrophil 이지만 후기에는 monocyte 가 증가하므로 흔히

T.B. meningitis 로 생각하기 쉽다는 점을 고려할 때 이 환자는 *Listeria meningitis* 였으리라 보고 보여진다<sup>11,19)</sup>.

환자의 혈액배양에서 분리된 세균은 diphtheroid 같은 그람양성 간균과 더불어 구균양 세균도 보였다. 이 세균은 다형성이어서 흔히 구균과 간균이 섞여있는 것으로 생각하기 쉽다. *Listeria* 가 임상검사에서 배양 되었을 때 오염된 diphtheroid 세균으로 생각하고 버리는 일이 있을 것이므로 *Listeria* 분리 기회를 놓지게 되는 일이 있으리라 생각되고 있다. 임상검사에서 특히 척수액이나 혈액에서 diphtheroid 양인 세균이 배양 되었을 때는 *Listeria* 의 가능성을 검토할 것이 요청되고 있다<sup>4)</sup>.

*Listeria* 를 diphtheroid 로부터 감별하기는 어렵지 않다. *Listeria* 는 운동성이 있는데 운동성은 실온에 배양할 때에 더 활발하다. Gaseous requirement 는 microaerophilic 이므로 semisolid media tube 의 표면 밑에 heavy growth 를 볼 수 있다. Blood agar 위의 집속 용혈을 일으키나 그 용혈이  $\beta$ -streptococcus 처럼 뚜렷하지 않다. 6% 이상의 식염에 내성을 가지며, 4°C 에서도 성장한다<sup>20)</sup>.

분리 strain 의 편모염색과 전자현미경 사진에서는 2~4개의 peritrichous flagella 를 볼 수 있었다. 혈청형은 4b 로 동정되었다. *L. monocytogenes* 는 그 O 항원과 H 항원에 따라 1, 2, 3 및 4형으로 분류된다. 2형과 3형은 드물며, 근년에 분리된 균주는 대부분이 4b 형이고 그 다음이 1형으로 보고되어 있다<sup>3,6,18)</sup>.

분리된 strain 의 동정을 뒷받침하기 위한 토끼 시험에서, 토끼의 폐사로 인해 주사후 제 7일까지만 말초 혈액상을 관찰할 수 있었는데, 제 4일에 monocyte 는 16%로 증가되었다. *Listeria* 균의 액체배양액을 정맥내로 주사하면 3~5일후에 monocyte 가 40%까지 증가된다<sup>3)</sup>. 토끼에 대한 *Listeria* 균의 병원성은 대단히 커서 토끼를 폐사시킨다<sup>20)</sup>.

토끼의 안 결막낭내에 액체배양액 한방울을 적하하면 1~5일후에 각결막염을 일으키는 것이 특징이며 이것을 Anton test 라고 한다<sup>3,20)</sup>. Mice 에도 병원성이 커서 이 세균을 복강내 주사하면 5일 내에 폐사된다. 분리 strain 으로 Anton test 와 mouse test 는 시험하지 않았다.

분리주는 시험된 여러 antibiotic 에 감수성을 보였지만 cloxacillin 에는 저항성을 나타내었다. *L. monocytogenes* 는 여러 항생제에 감수성을 가지고 있고 penicillin, ampicillin, tetracycline 이 drug of choice 로 보고되어 있는데<sup>4,10,18)</sup>, 저자의 분리주는 ampicillin 에 inter-

mediate susceptibility를 나타내었다. 이 환자는 ampicillin, lincomycin 과 streptomycin 을 투여받았으며 호전되었다.

## 결 론

드문 세균인 *L. monocytogenes* 가 52세의 여자 SLE 환자 혈액에서 분리되었다. SLE 와 steroid 의 사용이 이 세균감염을 가능케 하였다고 생각된다. 환자는 결핵성수막염이 의심되었으나 *L. monocytogenes* 에 의한 수막염이었을 것으로 생각된다.

분리세균은 그 형태, 생물학적 특성, 토끼에서 monocytosis 를 이끄는 점등이 전형적인 *L. monocytogenes* 이었다. 그 혈청학적형은 4b 이었다.

분리 주는 시험된 여러 항생제에 감수성을 보였고 cloxacillin 에는 저항성을 나타내었다. Ampicillin 에는 intermediate susceptibility 를 나타내었다. 환자는 ampicillin, lincomycin 과 streptomycin 이 투여되었으며 호전되어 퇴원하였다.

*Listeria* 감염은 문헌에 나타나는 예수보다는 더 많으리라고 추측되는 병이다. 혈액이나 척수액등에서 diphtheroid 양의 세균이 배양되면 *listeria* 의 가능성을 검토할 필요가 있을 것이다.

(이 세균을 혈청학적으로 동정한 Dr. Nagai 에 감사하며, 이 세균동정을 위해 협조하여 준 임상병리과 박홍자씨와 여러직원에게 감사한다.)

## REFERENCES

- 1) Dedrick, J.W.: *Listeria meningitis. A report of eight cases. Am. J. Med. Sci.*, 233, 617, 1957.
- 2) Beck, A., O'Brien, P.K. & MacKenzie, V.F.: *Case of stillbirth due to infection with listeria monocytogenes. J. Clin. Path.*, 19, 567, 1966.
- 3) Gray, M.L. & Killinger, A.H.: *Listeria monocytogenes and Listeric infections, Bacteriol. Rev.*, 30, 309, 1966.
- 4) Polk, L.D.: *Listeriosis-rare or rarely recognized. Clin. Ped.*, 9, 635, 1970.
- 5) Nagai, T.: *Isolation and identification of Listeria monocytogenes. Modern Media*, 18, 25, 1972.
- 6) Buchner, L.H. & Schneierson, S.S.: *Clinical and laboratory aspects of Listeria monocytogenes infections with a report of ten cases. A.J. Med.*, 45, 904, 1968.
- 7) Hood, M.: *Listeriosis, report of ten cases, Am J. Clin. Path.*, 28, 18, 1957.
- 8) Gordon, R.C., Barrett, F.F. & Yow, M.D.: *Ampicillin treatment of Listeriosis, J. Ped.*, 77, 1067, 1970.
- 9) Louria, D.B., Hensle, T., Armstrong, D., Collins, H.S., Blevins, A. & Krugman, D.: *Listeriosis complicating malignant disease. Ann. Int. Med.*, 67, 261, 1967.
- 10) Louria, D.B., Blevins, A. & Armstrong, D.: *Listeria infections. Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 174, 545, 1970.
- 11) Blair, J.E., Lennette, E.H. & Traunt, J.P.: *Manual of clinical microbiology. Am. Soc. Microbiol., Baltimore, 1970.*
- 12) 이삼열: 임상병리 검사법, 2 ed., 연세대 출판부, 서울, 1972.
- 13) Joklick, W.K., Smith, D.T.: *Zinsser microbiology, 15th ed., Apleton-Century-Crofts, New York, 1972.*
- 14) Nagai, T.: *Listeriosis. 感染症*, 7, 249, 1972.
- 15) Nagai, T.: *Personal communication.*
- 16) Elston, H.R., Zencka, A.E. & Sketch, M.H.: *Listeria monocytogenes endocarditis. Arch. Intern. Med.*, 124, 488, 1969.
- 17) Kendall, M.J., Clarke, S.W. & Smith, W.T.: *Spinal abscess due to Listeria monocytogenes. J. Path.*, 107, 9, 1972.
- 18) Girard, K.F. & Gavin, W.F.: *Listeriosis in the newborn. J. Path. Bact.*, 74, 93, 1957.
- 19) MacNair, D.R., White, J.E. & Graham, J.M.: *Ampicillin in the treatment of Listeria monocytogenes meningitis. Lancet*, 1, 16, 1968.
- 20) Julianelle, L.A.: *Biological and immunological studies of Listerella. J. Bacteriol.*, 423, 67, 1941.