

뇌척수액에서의 *Listeria monocytogenes* 분리 2예 보고

연세대학교 의과대학 임상병리과·소아과학교실

정 윤섭·김 윤정·김 병수·이 귀녕·이 삼열

=Abstract=

Two cases of *Listeria monocytogenes* isolation from cerebrospinal fluid

Yunsop Chong, Yoon Chung Kim, Byung Soo Kim, Kui Nyung Yi and Samuel Y. Lee

Departments of Clinical Pathology and Pediatrics, Yonsei University College of Medicine
Seoul, Korea

Listeria monocytogenes infection was considered a rather rare disease and occurs mostly either in newborn babies or in young children. However, there has been increasing reports of this infection in elderly person with various underlying disease.

Recently we have experienced two cases of *Listeria* meningitis; one in a 4-year-old male with an acute lymphoblastic leukemia, and the other in a 43-year-old female with a breast cancer. Both were on various chemotherapeutic agents for their primary diseases when the organism, *L. monocytogenes* was found in their cerebrospinal fluid (CSF).

The degree of CSF pleocytosis were quite different by cases. The former case showed a marked increase, 3,350/mm³, and the latter slight, 410/mm³, Both showed a slight decrease of CSF glucose ranging 39 to 43 mg/100 ml. It seems that a routine CSF analysis bears a limited value in the diagnosis of *Listeria* meningitis.

A direct smear of CSF with Gram's stain revealed gram-positive bacilli in one case, but none in the other. Bacterial culture of CSF yielded plenty colonies in one case, but a few in the other. It seems that isolation of *L. monocytogenes* must not be considered very easy, and a negative direct smear does not necessarily mean a negative culture.

The two isolates we obtained showed the typical cultural and biochemical characteristics of *L. monocytogenes* and were found to belong to serotypes 1b and 4b. It was our experience that the identification of this organism was not very much matter because of its distinct characteristics, but the most important matter was how to think of the possibility of this organism at the beginning.

The two isolates were both susceptible to cephalothin, chloramphenicol, erythromycin, tetracycline and gentamicin; intermediate to ampicillin, penicillin and kanamycin; and resistant to cloxacillin.

Listeria monocytogenes 감염은 흔하지 않으나, 분리 보고는 차츰 증가 되고 있다.¹⁻³⁾ 이 세균에 의한 중요 감염증은 수막염과 패혈증이다.^{4,5)} 특히 신생아나 소아의 수막염이 가장 많은 것으로 보고 되어 있지만, 성인이라도 종양환자나 steroid 제 투여 환자등에 있어서는 이 세균 감염이 잘 알려져 있다.⁶⁻⁹⁾

저자는 이미 전신성 낭창(SLE) 환자 혈액에서 이 세균을 분리한 바 있는데¹⁰⁾ 그 후 다시 2명의 환자에서 이 세균을 분리하였기에 이에 보고 하는 바이다.

증 예

증예 1. 4세 남자 환자(unit no. 576549)가 수시간에 걸친 전신성 경련과 고열을 주소로 1975년 12월 17일 입원하였다. 이 환자는 20개월전에 임파아구성 백혈병으로 진단되었고 prednisolone, vincristine, 6-mercaptopurine, radiation 등의 치료를 받았고, 수막염으로 입원시에는 cyclophosphamide, prednisolone 및 vincristine이 투여되고 있었다.

입원시의 소견은 맥박 140/min, 호흡 44/min, 체온 38.2°C이었고, drowsy mental state, 경부강직 ++, 심전반사(DTR) Ⅲ/Ⅲ, Kernig's sign +, Brudzinski's sign +이었다. 혈액검사 소견은 Hb 12.4g/100ml, WBC 6250/mm³(stab 39%, segmented neutrophile 56%)이었고 toxic granules이 중등도 관찰되었다. 뇌척수액은 colorless, hazy, protein 183mg/100ml, glucose 39 mg/100ml, chloride 114 mEq/l, WBC 3350/mm³ (neutrophile 83%, lymphocyte 13%)이었다.

척수액 도말표본에서는 그람양성 간균이 증명되었고 배양에서 *L. monocytogenes*가 증식되었으며, 혈액의 세균배양은 음성이었다. 이 환자에는 ampicillin이 17일간 penicillin G가 2일간, gentamicin이 IV로 7일간 intrathecal로 10일간 투여 되었으며, 치료시작 10일후에는 체온이 정상으로 떨어졌으며 76년 1월 5일에 호전된 상태로 퇴원하였다.

증예 2. 43세의 여자환자(unit no. 722072)가 구토, 두통, 고열, drowsy mental state를 주소로 1976년 7월 8일 입원하였다. 이 환자는 2년전에 유방암으로 진단되어 5-fluorouracil, prednisolone, testosterone 등이 투여되어왔고 1개월전부터는 radiation therapy도 받고 있었다.

입원시 소견은 맥박 80/min, 체온 39.2°C였고 경도의 경부강직, 사지의 pitting edema가 있었다. 혈액

검사 소견은 Hb 7.5g/100ml, WBC 7200/mm³(stab 1%, segmented neutrophile 91%), 중등도의 toxic granule등이었다. 척수액 검사소견은 colorless, hazy, protein 80 mg/100 ml, glucose 43 mg/100 ml, chloride 103 mEq/l, WBC 410/mm³(neutrophile 20%, lymphocyte 80%)이었다.

척수액의 그람염색에서는 세균이 증명되지 않았고, 배양에서 *L. monocytogenes*가 증식되었다. 이 환자에게는 입원즉시 ampicillin이 투여되기 시작했고 입원 5일 후 부터는 chloramphenicol이 추가되어 7월 22일까지 투여되었다. 입원 5일후부터 체온은 정상으로 되었고 1개월후에 호전되어 퇴원하였다.

실험재료 및 방법

척수액은 멸균 시험관내에 채취되었고, 통상방법에 따라 검사되었다. 즉 원심 분리하여 얻은 침사를 그람 염색을 위한 도말표본 제작과 세균배양을 위해 사용하였다. 세균배양을 위하여는, 혈액한천 및 초코렛 한천 평판과 Brewer thioglycollate medium(BTM, Difco)에 접종하고, 평판배지는 양초통에 넣어 35°C에 배양하였다.

분리된 세균을 동정하기 위한 시험으로서, 운동성은 MIO 배지(Difco)와 현탁표본으로, 용혈성은 수혈용 혈액을 5% 넣어 만든 혈액한천 평판으로, 4°C에서의 증식능은 CTA(Difco) 시험관에서, 6%식염내성은 식염첨가 CTA에서 검사하였다. H₂S생성은 초산염(lead acetate)법으로, 질산염 환원은 0.1% KNO₃ 첨가 thioglycollate broth에서, catalase시험은 3% H₂O₂를 써서, urease는 Christensen urea agar(Difco)로, indole 생성은 MIO 배지에 배양한후 Kovac 시약으로 시험하였다. 탄수화물에서의 산생성은 1% 탄수화물 첨가 CTA를 써서 시험하였다. 그밖의 시험은 통상방법에 따랐고,¹¹⁾ 항생제감수성검사는 Kirby-Bauer 법¹²⁾에 의하였다. 분리세균의 혈청형검사는 slide응집, 정량응집 및 흡수시험에 의하였다.

성 적

4세의 남자 환자는 수막염 증세를 보인 즉시 입원하였고, 이때 채취된 척수액 침사의 도말표본에서는 약간의 백혈구와 함께 약간의 그람양성 간균이 관찰되었다. 침사를 접종하고 24시간 배양한 혈액한천과 초코렛한천 평판에는 다수의 집락이 형성되었고 BTM에도

세균이 증식되었으며, 이 세균은 그람양성 간균이었다 (균주번호 75-12-607).

43세의 여자환자는 수막염의 증세를 보인 2일 후에 입원하였다. 척수액 침사의 그람염색표본에서는 소수의 백혈구만 보였고, 세균은 관찰되지 않았다. 척수액이 접종된 혈액한천과 초코렛한천 평판에는 2~3개의 집락이 24시간 배양후에 형성되었고 BTM에도 세균이 증식되었으며, 이 세균들은 그람양성 간균이었다(균주번호 76-7-302).

이 두 분리 균주의 형태는 짧은 구균양 세균과 다소 긴 그람양성 간균이며 평행 혹은 V자형 배열로 소위 diphtheroid양 형태를 보였다. 혈액한천에 24시간 배양후에 생긴 집락은 다소 불완전하고 좁은 용혈대를 보였고 집락의 크기는 0.5~1.0 mm 이었으며, 원형, 평활, 투명, 노적상이었다. CTA 배지에서는 표면 아래 3~4 mm 에 heavy growth를 보여 이 세균이 미세호기성임을 나타내었다. 운동성이 있었으며 편모염색에서 4개이하의 편모가 관찰되었다(Fig. 1). 이 세균은 4°C나 6% NaCl 함유 배지에서 증식되었다. H₂S 생성, 질산염 환원, urease와 indole 생성, Simmon citrate에서의 증식등은 모두 음성이었다. catalase, MR, 및 VP 시험은 양성이었다. 당발효 결과도 *L. monocytogenes*의 특성과^{5,13)} 일치하였다(Table 1).

Fig. 1. *Listeria monocytogenes* with upto 4 flagella(Leifson's flagella stain).

혈청학정 시험은 75-12-607주는 slide 응집반응에서 *L. monocytogenes* O1 antiserum 및 O2 antiserum 과 응집되었고, O antiserum 및 H antiserum과의 정량응집시험과 흡수시험 결과에 의거 *L. monocytogenes* serotype 1b로 동정되었다. 76-7-302주는 slide 응집시험에서 O4b antiserum에 의해 응집되었고, 또한 O antiserum 및 H antiserum과의 정량 응집반응과 흡수시험결과 serotype 4b로 동정되었다(table 2).

이 두 분리주의 항생제 감수성은 ampicillin, penicillin kanamycin에는 intermediate, cephalothin,

Table 1. Cultural and biochemical characteristics of the *Listeria monocytogenes* isolates

Characteristic	Isolate	
	75-12-607	76-7-302
Gram-positive bacilli	+	+
Motility	+	+
beta-hemolysis	+	+
Growth at 4C	+	+
6% NaCl tolerance	+	+
H ₂ S(lead acetate)	-	-
Nitrate reduction	-	-
Catalase	+	+
Urease	-	-
Indole	-	-
Methyl red	+	+
Voges-Proskauer	+	+
Simmon's citrate	-	-
Acid from		
Dextrin	+	+
Fructose	+	+
Glucose	+	+
Glycerin	+	+
Lactose	+	+
Maltose	+	+
Mannose	+	+
Rhamnose	+	+
Salicin	+	+
Sucrose	+	+
Trehalose	+	+
Adonitol	-	-
Arabinose	-	-
Dulcitol	-	-
Galactose	-	-
Inositol	-	-
Inulin	-	-
Mannitol	-	-
Raffinose	-	-
Sorbitol	-	-
Xylose	-	-

chloramphenicol, erythromycin, tetracycline, gentamicin에는 감수성, cloxacillin에는 내성이었다. 75-12-607주가 분리된 환자는 세균이 배양 되기 전에

Table 2. Serotypes of *Listeria monocytogenes* isolates

Isolate	Serotype
75-12-607	1b
76-7-302	4b

gentamicin 치료를 시작하였으므로 broth dilution 법으로 gentamicin의 최소억제농도 (MIC)를 측정하였으며 그것은 1.25 µg/ml이었다.

고 찰

*Listeria*증은 흔치 않은 감염이다.¹⁻³⁾ Levetter 등은 이 세균에 의한 것은 전세균성수막염의 0.8%에 불과하다고 보고하였다.⁴⁾ 이 세균감염 보고가 희귀한 것은 감염이 드문 이유 이외에 이 세균의 형태가 그람 양성 간균이며 diphtheroid 양 이므로 오염균으로 잘못 판단하기 쉬운 때문인 것으로 생각되고 있다.¹⁴⁻¹⁶⁾ 이 세균은 주로 신생아나 소아의 감염을 일으키고⁵⁾, 감염증으로는 농흉, 기관지염, 심내막염 등 다양한 것이 있지만 이러한 감염은 드물고 수막염과 패혈증이 대부분인 것으로 알려져 있다.^{4,6)} 그러나 최근에는 중앙, 당뇨병, 알콜중독 등의 기원질환을 가진 성인환자와 corticosteroid, cytotoxic drug 등의 사용환자에서의 보고가 많이 있으며⁶⁻⁹⁾, 이러한 환자에서도 수막염이나 패혈증이 많은 것으로 알려져 있다. 근년에 *Listeria*증 보고가 점점하고, 수막염에서도 이 세균을 분리하게 된 것은 이 세균 감염에 대한 관심이 높아졌음에 기인되었을 것이 분명하지만^{17,18)}, 기원질환으로 인해 세균감염에 대한 저항성이 낮아진 환자가 증가되고 있음에도 연유되고 있는 것으로 생각된다. 즉 저자들이 분리한 예들은 이미 보고한 1예와¹⁰⁾ 더불어 모두 기원질환을 가진 환자에서 이었다. 4세 환자는 급성 임파구성 백혈병 치료를 20개월에 걸쳐 받았고 43세의 유방암 환자는 2년간 합암치료를 받았으므로 이 세균 감염을 초래하게 되었을 것으로 생각된다.

Listeria 수막염 환자 척수액의 그람염색에서는 이 세균을 볼 수 없을 때도 있고, 있다고 하더라도 그 수는 적은 경우가 많은 것으로 알려져 있다.⁶⁾ 즉 Levetter⁴⁾에 의하면 이 세균이 분리된 환자 25명중 19명에서는 그람염색에서 세균이 발견 안되었고, 발견된 6명중 3예에서는 그람양성 간균 이외의 세균인 것으로 잘못 관찰되었다. 4세 환자의 경우에는 백혈구와 더불어

그람양성 간균이 관찰되어서 *Listeria* 감염증을 의심할 수 있었으나, 43세 환자의 경우에는 소수의 백혈구만이 관찰되었고, 일반 척수액 검사소견도 백혈구는 410/mm³에 불과했으며 80%는 임파구이어서 결핵성 수막염을 의심케하는 소견이었다.¹⁹⁾ *Listeria* 수막염에서는 백혈구수가 360~14,000/mm³로 다양하며, 호중구의 비율도 9~100%이며, 당도 1/3의 환자에서만 현저한 감소를 보이기 때문에, 이러한 검사소견이 이 수막염을 진단하기에는 도움이 안될 때도 있음이 알려져 있다.⁴⁾ 43세 환자 척수액의 배양에서는 혈액한천, 초코릿한천 및 BTM에 모두 세균이 배양되었으나 그 집락수는 각평판에 2~3개씩에 지나지 않아, 척수액중에 소수의 세균만이 있었음을 보여주었다.

이 세균의 그람염색 조건은 diphtheroid 등 오염균과 혼동되기 쉽지만, 혈액한천상의 집락은 용혈성 연쇄구균과 혼동되기 쉽다. 그러나 이 용혈은 연쇄구균의 것보다 덜 분명하고 그 용혈대도 좀 더 좁다. 또한 이 세균은 미세호기성이므로 반고체배지의 중간에 잘 증식되며, 6% 식염내성, 운동성 양성인 점등으로 *L. monocytogenes*임을 추측할 수 있다.⁶⁾ 첫 분리주를 포함한 3 균주 모두의 성상이 예외없이 전형적이었던 점으로 미루어, 혈청학적 시험이나 동물시험 없이 배양특성과 생화학적 특성만으로도 *Listeria*속의 다른 균종으로 부티의 감별과 정확한 동정이 가능한 것으로 생각된다.

1958~1975년 사이에 114주가 분리된 일본에서는 혈청형 4b와 1이 많은 것으로 알려져 있다.⁵⁾ 저자가 분리한 것은 이미 보고한 1주¹⁰⁾를 포함해 3 주 뿐이므로 그 경향을 알 수는 없지만, 4b와 1만이 분리된 것으로 미루어 이 형들이 혼할 것으로 생각된다.

*Listeria*증의 치료에는 ampicillin, penicillin, erythromycin 등이 유효한 것으로 보고되어 있다.^{3,7-9,19)} 두 분리주의 disk-diffusion 감수성 검사결과는 ampicillin과 penicillin G는 intermediate로 나타났으나 다른 약제감수성은 외국에서의 보고와 비슷하였다. 한 환자는 ampicillin, penicillin G 및 gentamicin 이 투여되고 다른 한 환자는 ampicillin과 chloramphenicol이 투여되어 호전되었으므로 어느 약제가 유효하였는지 알 수는 없으나, ampicillin이 가장 많이 투여되었고 한 환자에서는 amicillin 5일간 투여후에 체온이 정상으로 된점으로 미루어 이 약제가 유효했던 것으로 생각된다.

결 론

남자 4세 및 여자 43세 두 수막염 환자의 척수액에서 *L. monocytogenes*를 분리하였다. 이 환자들은 각기 급성임파아구성 백혈병과 유방암에 대한 치료를 받고 있었다.

척수액의 백혈구수는 1명에서는 3350/mm³로 현저한 증가를 보인 반면, 1명에서는 그 증가가 410/mm³에 불과하였다. 척수액 glucose는 39, 와 43 mg/100 ml로 약간의 감소만을 보였다.

척수액의 그람염색에서는 1명의 환자에서만 세균이 발견되었다. 배양에 있어서 1명에서는 많은수의 집락이 형성되었으나 다른 1명에서는 그 집락수는 2~3개에 불과하였다.

분리주는 전형적인 배양 및 생화학적 특성을 보였고 혈청형은 1b와 4b이었다. 항상제 감수성검사 결과는 ampicillin과 penicillin G에 intermediate이었다.

본 분리주의 혈청학적 동정을 담당한 日本札幌醫大永井龍夫 교수의 호의를 진심으로 감사하며, 본 균주의 분리와 동정을 도와준 박흥자, 김성욱씨께 사의를 표합니다.

References

- 1) Hood, M.: Listeriosis, report of ten cases. Am. J. Clin Path., 28, 18, 1957.
- 2) Gray, M.L. & Killinger, A.H.: *Listeria monocytogenes*. and Listeric infections. Bacteriol. Rev., 30, 309, 1956.
- 3) Bayer, A. S., Chow, A.W. & Guze, L.B.: *Listeria monocytogenes* endocarditis: Report of a case and review of the literature. Am. J. Med. Sci., 273, 319, 1977.
- 4) Levetter, A., Leedom, J.M., Mathies, A.W., Ivler, D. & Wehrle, P.F.: Meningitis due to *Listeria monocytogenes*. N. Eng. J. Med., 285, 598, 1971.
- 5) Nagai, T.: Isolation and identification of *Listeria monocytogenes*. Modern Media, 18, 25, 1972.
- 6) Louria, D. B., Hensle, T., Armstrong, D., Collins, H.S., Blevins, A. & Krugman, D.:

- Listeriosis complicating malignant disease. Ann. Int. Med., 67, 261, 1967.*
- 7) Louria, D. B., Blevins, A. & Armstrong, D.: *Listeria* infections. Ann. N.Y. Acad. Sci., 174, 545, 1970.
- 8) Ascher, N.L., Simmons, R.L., Marker, S. & Najarian, J.S.: *Listeria* infection in transplant patients. Arch. Surg., 113, 90, 1978.
- 9) Watson, G.W., Fuller, T.J., Elms, J. & Kluge, R.M.: *Listeria cerebritis*. Arch. Intern. Med., 138, 83, 1978.
- 10) 정운섭 · 김혜숙 · 이삼열 : SLE환자 혈액에서 분리한 *Listeria monocytogenes*의 세균학적 특성. 大韓微生物學會誌. 8, 27, 1973.
- 11) Blair, J.E., Lennette, E.H. & Truant, J.P.: Manual of clinical microbiology. 2nd ed., Am. Soc. Microbiol., Baltimore, 1974.
- 12) FDA: Standardized disc susceptibility test. FDA regulations. Apr. 1. 1976, p.680.
- 13) Buchanan, R.E. & Gibbons, N.E.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed., Williams & Wilkins, Baltimore, 1974. p.593.
- 14) Dedrick, J.W.: *Listeria meningitis*. A report of eight cases. Am. J. Med. Sci., 233, 617, 1957.
- 15) Buchner, L.H. & Schneierson, S.S.: Clinical and laboratory aspects of *Listeria monocytogenes* infections with a report of ten cases. Am. J. Med., 45, 904, 1968.
- 16) Polk, L.D.: *Listeriosis*-Rare or rarely recognized. Clin. Ped., 9, 635, 1970.
- 17) Rheingold, O.J., Chiprut, R.O. & Dickinson, G.M.: Spontaneous peritonitis of cirrhosis. Ann. Intern. Med., 87, 455, 1977.
- 18) Gordon, R.C., Barrett, F.F. & Yow, M.D.: Ampicillin treatment of *Listeriosis*. J. Ped., 77, 1067, 1970.
- 19) MacNair, D.R., White, J.E. & Graham, J.M.: Ampicillin in the treatment of *Listeria monocytogenes* meningitis. Lancet, 1, 16, 1968.
- 20) Nagai, T.: Personal communication.