

## 16S rRNA Sequencing으로 동정된 *Leuconostoc lactis* 균혈증 1예

김지영<sup>1</sup>, 김명희<sup>1</sup>, 박수연<sup>1</sup>, 박명재<sup>2</sup>, 서진태<sup>1</sup>, 이희주<sup>1</sup>

경희대학병원 진단검사의학과<sup>1</sup>, 내과<sup>2</sup>

*Leuconostoc*은 예전에는 인체 감염이 흔하지 않았으나, 면역력이 저하된 환자에서 균혈증을 포함한 감염을 일으키는 것으로 보고되고 있다. *Leuconostoc*은 여러 가지 생화학적 시험 결과가 lactobacilli, streptococci, pediococci, enterococci와 공통되는 점들이 있어 오인될 수 있다. *Leuconostoc* 균종의 특징은 vancomycin 내성을 보이는 것이며 이에 저자들은 vancomycin 내성을 보인 그람양성 구균에 대해 일반적인 kit로는 동정이 안 되었으나 16S rRNA sequencing으로 *Leuconostoc lactis*로 동정된 1예를 경험하였기에 보고하는 바이다.

### 서 론

*Leuconostoc*은 통성 혐기성, catalase 음성, 그람 양성균이다. 사람과 동물의 대장과 점막 등에 상재균으로 존재하고 토양이나 식물 등에 상재하며 과거에는 인체 감염은 흔하지 않았으나, 심한 기저질환을 갖고 있는 환자, steroid 투여 환자, 장기간 항균제 투여 환자 및 면역 저하 환자에서 균혈증을 포함해 뇌수막염, 유방 농양, 복막염, 복부 농양 등의 감염과 신생아에서 산도 감염으로 인한 균혈증을 일으키는 것으로 보고되어 있다[1-3,6-10]. *Leuconostoc*은 여러 가지 생화학적 시험 결과가 lactobacilli, streptococci, pediococci, enterococci와 공통되는 점들이 있어 잘못 동정될 수 있으며 모든 *Leuconostoc* 균은 vancomycin 자연 내성을 보인다[2,4,5,11].

저자들은 폐렴 증상을 보여 vancomycin으로 치료하던 62세 여자환자의 혈액에서 분리된 vancomycin 내성 그람 양성균을 16S rRNA sequencing을 시행하여 *Leuconostoc lactis*로 동정한 1예를 경험하였다. 우리나라에서는 *Leuconostoc* 균혈증이 분자적 진단방법을 거쳐 *L. lactis*로 동정된 예는 첫 예이기에 문헌 고찰과 함께 보고 하고자 하였다.

### 증 례

62세 여자 환자는 1995년 뇌경색으로 진단받고 좌측 편마비로 추적관찰 해오던 중, 2004년 7월 수두증으로 뇌실복막강단락 수술을 받았다. 환자는 고혈압과 갑상선 기능 항진증으로 약물 치료 받던 중 2005년 8월 구토가 동반된 간질발작 증상으로 응급실 경유하여 본원에 입원하였다. 환자는 내원 15일 후부터 발열, 폐부종 및 폐렴이 의심되는 증상으로 vancomycin과 teicoplanin으로 치료받았다. 환자는 내원당시의 말초혈액 검사상 백혈구수 6,510/ $\mu$ L (호중구 53%, 림프구 32%, 단핵구 12%, 호산구 1%)이었으며 혈색소는 12.4 g/dL, 혈소판은 80,000/ $\mu$ L로 혈소판 감소증을 보였다. PT, aPTT는 각각 13.9초(87%)와 45초로 정상범위를 보였다. 혈중의 전해질, BUN, creatinine, 혈당은 정상 범위이었으며 총단백과 알부민은 4.9 g/dL와 2.7 g/dL로 감소되어 있었다. 간 기능 검사는 모두 정상범위에 있었다. 환자는 발열 후 백혈구수가 8,300/ $\mu$ L (호중구 58%, 림프구 23%, 단핵구, 5% 호산구 12%)로 증가하였고 증상이 호전된 후에는 백혈구수가 6,010/ $\mu$ L로 감소하였다. 발열이 있어 실시한 객담 배양검사서 methicillin 내성 *Staphylococcus aureus*와 *Pseudomonas aeruginosa*가 다수 검출되었다. Vancomycin과 teicoplanin을 투약 중 환자의 중심 정맥 도관 검체와 혈액 배양에서 균 증식이 관찰되었으며 이 균을 혈액한천 및 MacConkey 배지에 계대 배양하여 24시간 배양 후 혈액 한천배지에서 1 mm 크기의 백색 균집락이 관찰되었으며, 그람 염색에서는 그람 양성 구균이 관찰되었다(Fig. 1). 이 균은 catalase와 oxidase 음성이었고 esculin 가수분해 및 pyrrolidonylarylamidase (PYR), leucine amino-

접 수 일: 06/8/17 게재승인일: 06/8/31

교신저자: 이희주

(130-702)서울시 동대문구 회기동 1

경희의료원 진단검사의학과

TEL : 02)958-8674 FAX : 02)958-8609

E-mail : leehejo@khmc.or.kr

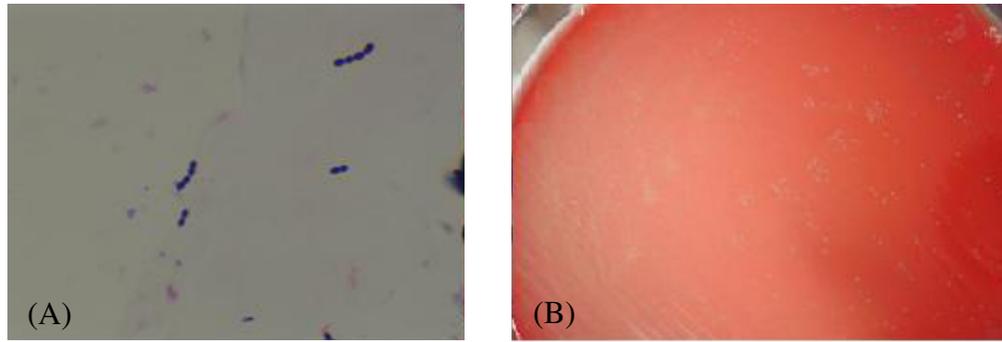


Fig. 1. *Leuconostoc lactis* isolated from the patient. (A) microscopic findings, Gram stain ( $\times 1,000$ ); (B) colonies grown on a blood agar plate.

Table 1. Phenotypic characteristics of *Leuconostoc lactis* isolated from the patient

Tests	<i>Leuconostoc lactis</i> *	Isolates
Oxidase	-	-
Catalase	-	-
Urease	-	-
Growth in MacConkey	-	-
Dextran formation	-	+
Esculin hydrolysis	-	-
Acid from:		
L-Arabinose	w	-
Cellobiose	-	-
Fructose	-	ND
Galactose	+	ND
Gluconate	-	ND
Lactose	+	-
Maltose	+	ND
Mannitol	-	-
Mannose	-	ND
Melibiose	-	+
Raffinose	-	-
Ribose	-	-
Salicin	-	-
Trehalose	-	-
D-Xylose	-	+
$\alpha$ -Methyl-glucoside	-	ND

\*Data from references [4,15].

+, All strains positive; -, all strains negative; w, delayed reactions; ND, not done.

peptidase (LAP) 시험에서 음성을 보였다. 그리고 6.5% NaCl에서의 증식, nitrite 환원 양성, glucose, sucrose, melibiose 및 D-xylose를 발효하였으며 cellobiose, lactose, mannitol, raffinose, ribose, salicin 및 trehalose는 발효하지 않는 생화학적 특징을 보였다(Table 1). CLSI의 디스크 확산법에 의한 항균제 감수성 시험에서 cephalothin,

clindamycin 및 erythromycin에 감수성, trimethoprim-sulfamethoxazole, penicillin G, vancomycin 및 teicoplanin에는 내성을 보였다(Table 2). Vitek GPI card (bioMerieux Vitek, Hazelwood, MO, USA) 동정 결과 *Streptococcus equinus* 80%, *Streptococcus salivarius* 14%이었으며 다시 이 균을 동정하기 위해 rapid STR (Innovative diagnostic

Table 2. Characteristics of the antimicrobial susceptibility of *Leuconostoc lactis* isolated from the patient

Antimicrobials	<i>Leuconostoc</i> spp.*	Isolates
Trimethoprim-sulphamethoxazole	resistant	resistant
Cephalothin	susceptible	susceptible
Clindamycin	susceptible	susceptible
Penicillin G	susceptible	resistant
Erythromycin	susceptible	susceptible
Vancomycin	resistant	resistant
Teicoplanin	resistant	resistant

\*Data from references [2,11,16].

systems, Inc., Atlanta, GA, USA)을 시행하여 *Leuconostoc mesenteroides* 80%, *L. lactis* 20%의 결과를 얻었다. 정확한 동정을 위하여 16S rRNA sequencing을 시도하였다. 세균의 DNA를 GenElute Bacterial Genomic DNA kit (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 사용해서 추출한 후 16S rRNA의 519 ~ 1146번째 염기부위를 primer로 증폭하였다. Primer sequence는 519F 5'-CAGCAGCCGCGGTAATAG-3', 1146R 5'-GGGGCATGATGACTTGACGTC-3'이었다. 중합효소연쇄반응(PCR) 산물은 PCR purification kit (TaKaRa, DyeBioInc, 성남, 대한민국)로 정제한 뒤 마크로젠(서울, 대한민국)에서 sequencing을 하였다. 16S rRNA sequencing에서는 *L. lactis*와 상동성 100%를 보였다.

환자는 세 번 연속 시행한 혈액배양 검사에서 모두 *L. lactis*가 배양되었으며, 혈액 배양검사 양성결과와 항균제 감수성 시험 결과 보고 후 vancomycin과 teicoplanin을 ceftazidime과 ceftriaxone으로 교체하여 투여 받고 4일 만에 발열, 폐렴 증상이 호전되어 퇴원하였다.

## 고 찰

그람 양성, catalase 음성, 비운동성인 통성혐기성 구균인 *Leuconostoc*은 장기간 항균제 투여 환자, 면역력 저하 환자, 혈액투석 환자 및 정맥도관 처치를 받은 환자에서 감염을 일으키는 것으로 보아 인체 침입 경로를 vancomycin같은 항균제를 오래 사용하면 위장관계 상재균의 분포양상을 변화시켜 *Leuconostoc*이 정착하고 이로부터 혈류로의 침입이 쉬워 균혈증을 일으키거나 정맥도관 등의 시술부위에 *Leuconostoc*이 정착하고 혈류를 통해 침입하는 것으로 본다[2-3,5-6,8-10,12-14]. 본 증례에서도 환자는 균이 분리되기 한 달 전부터 항균제를 투여 받고 있었으며 중심 정맥 도관을 삽입하고 있었다.

우리나라에서는 *Leuconostoc* 균혈증은 1997년과 2002년에 각각 2건씩 4건이 보고되었으며 이처럼 국내에서 *Leuconostoc* 균혈증 보고가 적은 이유는 감염자체가 적은 것이 가장 큰 이유이지만, 균동정이 까다롭고 비병원성 세균으로 인식하는 것도 하나의 원인으로 생각된다

[6,17]. 또한 *Leuconostoc lactis*로 동정된 예는 없었는데 본 예의 경우 16S rRNA를 이용한 균동정을 시행하여 *Leuconostoc lactis* 균혈증을 국내에서 처음 보고하고자 하였다. 이와 같이 분자유전학 방법을 사용해 종속까지 동정해냄으로서 *Leuconostoc* 균속 중 인체 감염을 일으키는 균종을 밝혀내는데 도움을 줄 것이라 생각한다.

*Leuconostoc*은 집락 형태가 투명한 점상의 집락을 띠고 그람 염색 상 그람 양성 구균형태를 보여 과거에는 *Streptococcus*로 잘못 동정되는 일이 많았는데 특히 구균이 짝을 이루거나 짧은 사슬 형태를 보이며 알파 용혈성 집락을 보이는 특징 때문에 viridans *Streptococci*로 잘못 동정될 가능성이 크다[2]. 또한 생화학적 성상이 *Lactobacilli*, *Streptococci*, *Pediococci*, *Enterococci* 등과 비슷하여 오인되는 경우도 많았다[6,7]. *Leuconostoc* 균종은 *L. lactis*외에 *L. mesenteroides*, *L. paramesenteroides*, *L. oenos*, *L. pseudomesenteroides*, *L. citreum* 및 *L. dextranicum*가 있고 다른 *Leuconostoc* 균종과 *Leuconostoc lactis*의 차이는 glycopeptid G3의 존재이다. 특히 생화학적 검사 상 가장 비슷한 *Leuconostoc mesenteroids*는 glycopeptide G3가 없기 때문에 분명한 차이를 보인다. 또한 *Lactobacillus*균종에서도 이 특징을 찾을 수 없다[4,6,15]. 본 증례에서도 Vitek GPI card와 rapID STR에서 동정되지 않는 것을 경험하였다. 항균제 감수성 결과에서 vancomycin과 teicoplanin에 내성을 보인 것이 Vitek GPI card의 결과를 의심하는 단서가 되어주었다. 본 실험에서 생화학적 검사 결과가 *L. lactis* 균주와 불일치를 보인 것이 네 가지 이었는데, 이처럼 생화학적 성상 등에 의한 방법으로 균의 정확한 동정이 어려움을 알 수 있었다(Table 1).

혈액, 늑막액, 폐포성 세기관지액, 소변, 뇌척수액 및 복수 등에서 동정된 모든 *Leuconostoc* 균종은 세포벽의 전구체로 인해 vancomycin에 자연 내성을 보이며 gentamicin, clindamycin, imipenem, chloramphenicol, erythromycin, daptomicin 등에는 감수성이다. 이 중 특히 gentamicin에 대해 감수성 균주가 가장 많았으며 이외에도 tetracycline, minocycline, doxycycline 등에 감수성을 보이며 다량의 penicillin 치료에도 잘 반응하는 것으로 알려져 있다[1,2,11,16]. 본 증례에서 동정된 균은 cephalothin,

clindamycin 및 erythromycin에 감수성을 나타내었으나 일반적으로 감수성을 보이는 것으로 알려져 있는 penicillin에 대해서는 내성을 나타내었다(Table 2). 그러나 최근 국내 보고에서 penicillin에 대해서 내성을 보인 경우가 종종 있음을 찾을 수 있었다[6,17].

결론적으로 연구자들은 vancomycin 내성을 보인 그람 양성 구균에 대해 일반적인 kit로는 동정이 안 되었으나 16S rRNA sequencing으로 *L. lactis*로 동정된 1예를 경험하였다.

### 감사의 글

16S rRNA sequencing을 해주신 서울 아산병원 김미나, 성홍섭 교수님께 감사드립니다.

### 참 고 문 헌

- Ruoff KA. *Aerococcus*, *Abiotrophia*, and other infrequently isolated aerobic catalase-negative gram-positive cocci. In: Manual of Clinical Microbiology. Murray PR, Baron EJ, et al. Eds. 8th ed, ASM Press, 2003:434-44.
- Templin KS, Crook T, Riley III, Whitener C, Aber RC. Spontaneous bacterial peritonitis and bacteremia due to *Leuconostoc* Species in a patient with end-stage liver disease: A case report. J Infect 2001;43:155-7.
- Taneja N, Rani P, Emmanuel R, Khudaier BY, Sharma SK, Tewari R, et al. Nosocomial urinary tract infection due to *Leuconostoc mesenteroides* at a tertiary care centre in north India. Indian J Med Res 2005;122:178-9.
- Barreau C and Wagener G. Characterization of *Leuconostoc lactis* strains from human sources. J Clin Microbiol 1990;28:1728-33.
- Friedland LR, Snipelisky M, Khoosal M. Meningitis in a neonate caused by *Leuconostoc* sp.. J Clin Microbiol 1990;28:2125-6.
- Youn JS, Park YJ, Kim BK, Kim SM, Shim SI. Two cases of bacteremia caused by *Leuconostoc citreum*. Korean J Lab Med 1997;17:623-8.
- Cappelli EA, Barros RR, Camello TC, Teixeira LM, Merquior VL. *Leuconostoc pseudomesenteroides* as a cause of nosocomial urinary tract infections. J Clin Microbiol 1999;37:4124-6.
- Ferrer S, de Miguel G, Domingo P, Pericas R, Prats G. Pulmonary infection due to *Leuconostoc* species in a patient with AIDS. Clin Infect Dis 1995;21:225-6.
- Golledge CL. Infection due to *Leuconostoc* species. Rev Infect Dis 1991;13:184-5.
- Handwerger S, Horowitz H, Coburn K, Kolokathis A, Wormser GP. Infection due to *Leuconostoc* species: six cases and review. Rev Infect Dis 1990;12:602-10.
- Swenson JM, Facklam RR, Thornsberry C. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus*, and *Lactobacillus* species. Antimicrob Agents Chemother 1990;34:543-9.
- Barry H, Clancy MT, Brady A, O'Higgins N. Isolation of a *Leuconostoc* species from a retroareolar breast abscess. J Infect 1993;27:208-10.
- Green M, Wadowsky RM, Barbadora K. Recovery of vancomycin-resistant gram-positive cocci from children. J Clin Microbiol 1990;28:484-8.
- Wenocur HS, Smith MA, Vellozzi EM, Shapiro J, Isenberg HD. Odontogenic infection secondary to *Leuconostoc* species. J Clin Microbiol 1988;26:1893-4.
- Isenberg HD, Vellozzi FM, Shapiro J, Rubin LG. Clinical laboratory challenges in the recognition of *Leuconostoc* spp. J Clin Microbiol 1988;26:479-83.
- Coovadia YM, Solwa Z, van den Ende J. Meningitis caused by vancomycin-resistant *Leuconostoc* sp. J Clin Microbiol 1987;25:1784-5.
- Uh Y, Lee HG, Hwang GY, Yoon KJ, Yoo SY, Koo BS, et al. Two Cases of *Leuconostoc* Bacteremia. Korean J Clin Microbiol 2002;5(1):62-7.

## A Case of Bacteremia Caused by *Leuconostoc lactis* Identified by 16S rRNA Sequencing

Gee-Young Kim<sup>1</sup>, Myung-Hee Kim<sup>1</sup>, Su-Yon Park<sup>1</sup>,  
Myung-Jae Park<sup>2</sup>, Jin-Tae Suh<sup>1</sup>, and Hee-Joo Lee<sup>1</sup>

*Departments of Laboratory Medicine<sup>1</sup>, and Internal Medicine<sup>2</sup>, Kyunghee University, College of Medicine,  
Seoul, Korea*

---

*Leuconostoc* spp. used to be considered nonpathogens to human, but human infections have been reported including bacteremia in compromised patients. *Leuconostoc* spp. may be misidentified as lactobacilli, streptococci, pediococci and enterococci due to atypical biochemical tests. *Leuconostoc* spp. are intrinsically resistant to vancomycin. We report a case of bacteremia caused by *Leuconostoc lactis* identified by 16S rRNA sequencing; the isolate was not identified by commercial kits.

**(Korean J Clin Microbiol 2006;9(2):137-141)**

**Keywords:** *Leuconostoc lactis*, *Leuconostoc* spp., 16S rRNA sequencing

---

**Address reprint requests to :** Hee-Joo Lee, M.D., Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, Kyunghee University,  
1 Hoeki-dong, Dongdaemoon-gu, Seoul 130-702, Korea.  
TEL. +82-2-958-8674 FAX. +82-2-958-8609 E-mail: leehejo@khmc.or.kr