

Septicemia Caused by *Leuconostoc lactis* with Intrinsic Resistance to Vancomycin in a Patient with Biliary Stent

Kyeong Seob Shin¹, Kyudong Han² and Seung Bok Hong^{3,†}

¹Department of Laboratory Medicine, Chungbuk National University, College of Medicine, Cheongju 361-711, Korea

²Department of Nanobiomedical Science & BK21 PLUS NBM Global Research Center for Regenerative Medicine, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

³Department of Clinical Laboratory Science, Chungbuk Health & Science University, Cheongwon 363-794, Korea

Leuconostoc spp. is intrinsically resistant against vancomycin and rarely causes the infection in immunocompromised patients. In this report, we describe a fatal case of *Leuconostoc lactis* bacteremia in a patient with biliary tract stent insertion to resolve the biliary tract obstruction by multiple pseudocysts in the pancreatic head region. *Leuconostoc lactis* isolated from the blood of the patients was confirmed by 16S rRNA sequencing and this isolate was susceptible against most antibiotics, including levofloxacin, penicillin, erythromycin and cefotaxime except vancomycin. The septic shock and multi-organ failure was abruptly progressed due to delayed use of adequate antibiotic. Using vancomycin as the empirical antibiotics in a bacteremic patient by Gram positive cocci, the treatment failures by the isolates with intrinsic resistance against vancomycin have to be considered. In addition, the prompt and accurate identification of *Leuconostoc* spp. are very important to select the adequate antibiotics.

Key Words: *Leuconostoc lactis*, Bacteremia, 16S rRNA sequencing, Vancomycin resistance

*Leuconostoc*은 catalase 음성, 조건 무산소성 그람양성 구균으로서 vancomycin이 결합하는 세포벽의 아미노산 구조가 다른 세균과 다르기 때문에 vancomycin에 고도의 자연내성을 보인다 (Rubin et al., 1988). 이 균은 토양과 식물뿐만 아니라 사람과 동물의 대장과 점막에 상재할 수 있으며, 과거에는 인체 내 감염을 일으키지 않는 것으로 알려져 있었다 (Aguirre et al., 1993). 최근에 장기간 항균제 투여환자, 면역력 저하환자 및 정맥도관 처치를 받는 환자가 증가하면서, 이 균은 균혈증 (Lee et al., 2011; Shin et al., 2011), 뇌수막염 (Coovadia et al, 1987), 골수염 (Kocak et al., 2007) 및 심내막염 (Starr JA, 2007) 등을 일으키는 것으로 보고되었다. 최근에 저자들은 *L. lactis*에 의한 패혈증 1예를 경험하였기에 간략한 문헌고찰과 함

께 보고하고자 한다. 환자는 2012년 8월 췌장의 두부(head)에서 생긴 다발성 가성낭(pseudocyst)에 의해 담도 폐색 증상이 발생하여 담도 스텐트를 삽입한 후 요양병원에서 2달 정도 치료받던 중 1일 전부터 발생한 발열로 응급의학과에 입원하였다. 입원 즉시 시행한 흉부 X-ray에서 폐렴소견이 관찰되어 vancomycin을 경험적으로 사용하였다. 입원 2일째에 자동혈액배양기에서 균의 증식 신호가 관찰되었고 그람염색에서 양성구균으로 중간 보고하였으며, 내원 4일 후 최종적으로 감수성 결과와 함께 *Leuconostoc* species로 보고되었다. 이어서 감수성 항균제인 levofloxacin으로 변경 투여하였으나 증상이 호전되다가 항균제 변경 3일 후(입원 7일째) 갑자기 혈압이 유지되지 않고 호흡이 빨라지면서 패혈성 쇼크와 다발성기관 기능부전이 급격히 진행되어 입원 9일만에 환자는 사망하였다. 환자의 혈액배양 검사과정 및 결과를 요약하면 다음과 같다. Bact/Alert 3D (bioMerieux, Marcy-l'Eltoile, France) 자동혈액배양기에 2쌍의 혈액배양 실시하였고 혈액배양 1일째에 2개의 배양 병 중 모두에서 균의 증식 신호가 있었다. 혈액한천배지 (Asan Pharm., Seoul, Korea)

*Received: June 19, 2013 / Revised: August 30, 2013

Accepted: September 26, 2013

†Corresponding author: Seung Bok Hong. Department of Clinical Laboratory Science, Chungbuk Health & Science University, Cheongwon 363-794, Korea.

Tel: +82-43-210-8308, Fax: +82-43-210-8289

e-mail: sbhong8646@hanmail.net

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

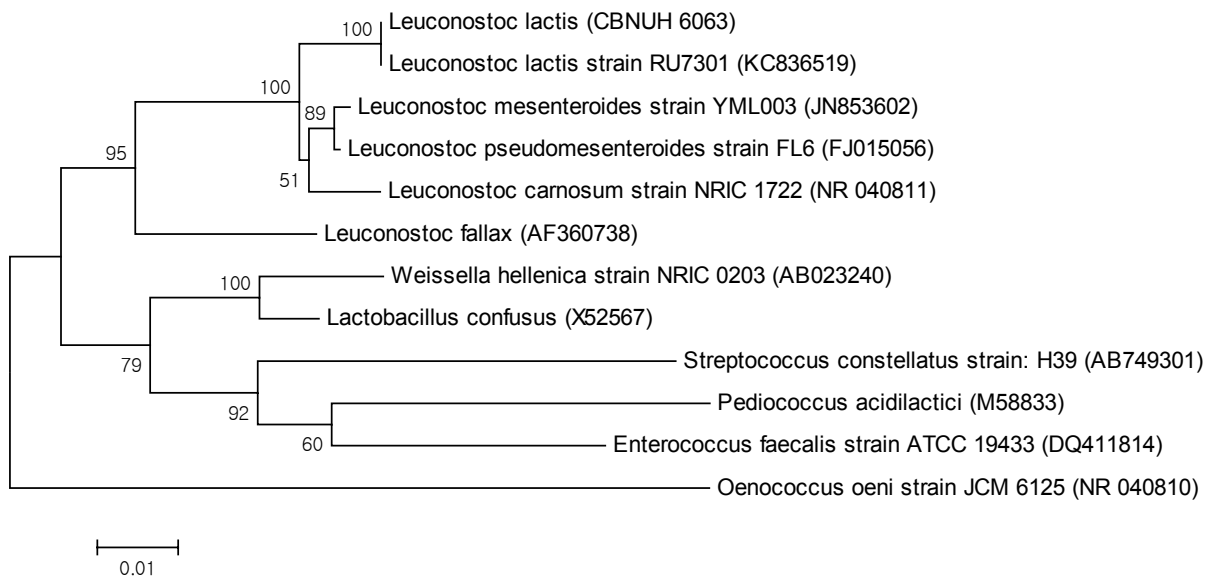


Fig. 1. Phylogenetic tree of the current isolate (CBNUH 6063) and closely related Gram positive bacteria. This neighbor-joining tree was constructed using 16S rRNA gene sequences, based on the Kimura two-parameter distance. Bootstrap values (%) are shown near their corresponding branches; '0.1' indicates 0.1 nucleotide substitutions per site.

와 MacConkey 한천배지 (Asan Pharm., Seoul, Korea)에 접종 후 35°C에서 배양하였고 24시간 후 혈액한천배지에서 α 용혈성 집락이 형성되었다. 균 집락은 catalase 음성이었으며, Vitek II system (bioMerieux, Hazelwood, MO, USA)에서 *L. pseudomesenteroides*로 동정되었다. E-test (AB BIODISK, Solna, Sweden)로 시행한 감수성 검사에서 vancomycin에 고도 내성 (최소억제농도 $\geq 256 \mu\text{g/mL}$)이었으며, penicillin, cefotaxime, erythromycin, chloramphenicol, levofloxacin, tetracycline에 감수성이었다. 이후 균의 정확한 동정을 위하여 16S rRNA 염기서열 분석을 시도하였다. 염기서열은 KC836519 *L. lactis*와 100% 일치하였고 16S rRNA 염기서열로 유사한 균 종과 같이 작성한 계통도 (phylogenetic tree)는 그림 1과 같다 (Fig. 1).

최근 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)의 증가와 *Clostridium difficile* 등의 치료를 위해 vancomycin 사용량이 급격히 증가하면서 vancomycin-resistant enterococci (VRE)의 증가와 더불어 *Leuconostoc*에 의한 인체감염이 증가되고 있다 (Swenson et al., 1990). 이 균에 의한 감염은 주로 병원에 장기간 입원한 면역이 저하된 환자에서 발생하는데, vancomycin과 같은 항균제의 오랜 사용으로 위장관계에서 상재균의 분포양상이 변화되어 *Leuconostoc*이 정착하고 이로부터 혈류 등으로 이들 균의 침입이 쉬워져 균혈증을 일으킬 수도 있고, 이들 환자에

서 이 균이 정맥도관에 정착하여 혈류를 통하여 침입할 수도 있다 (Handwerger et al., 1990). 본 증례에서는 입원 전에 vancomycin 사용유무를 알 수 없었으나 2개월 동안 담도 스텐트를 가지고 있었으므로 담도나 장관에 정착되어 있던 *Leuconostoc*이 혈류로 침입하였을 가능성이 높다. 한편 용혈이 없거나 α 용혈을 보이는 집락을 형성하며 catalase 음성인 그람양성구균이 vancomycin에 내성을 보이면 *Leuconostoc* 이외에 *Pediococcus*, *Lactobacilli* 및 VRE와의 감별이 필요한데, *Leuconostoc*은 Leucine aminopeptidase 음성, arginine degradation 음성, PYR 음성, glucose에서 CO₂를 생성하는 것을 확인함으로써 이들 균과 감별을 할 수 있다 (Facklam et al., 1995). 그러나 새로운 균종이 계속 첨가되고 분류가 바뀌어 전통적인 생화학적 방법으로 균 종의 동정이 어려우며 상품화된 동정제품도 비슷한 실정이다 (Cibik et al., 2000; Lee et al., 2000; Lee et al., 2011). *Leuconostoc* 균 속에는 *L. mesenteroides*, *L. lactis*, *L. pseudomesenteroides*, *L. citreum*, *L. fallax*, *L. argentium*, *L. carnosum*과 *L. gelidum*의 8균종이 있는데 (Cibik et al., 2000), 이들 균 중 일반적인 배양 환경에서 증식하는 것은 일부이며, 생화학적 성상이 기초배지의 종류, 배양 온도와 기간, 접종량 등의 여러 가지 조건에 따라 달라질 수 있어 생화학적 성상만으로 감별은 매우 어렵다. 따라서 균 종간의 정확한 동정을 위해서는 16S rRNA 염기서

열 분석 등의 분자생물학적 방법이 이용된다 (Martinez-Murcia et al., 1993). Lee 등은 인체의 혈액에서 분리된 20개의 *Leuconostoc*을 2가지의 상품화된 동정방법과 16S rRNA 염기서열로 분석하였을 때 상품화된 동정방법간에 10% (2/20)만이 일치하였으며, 두 가지 상품화된 동정방법의 결과는 16S rRNA 염기서열로 동정한 결과와 비교하여 각각 30% (6/20)와 15% (3/20)만이 일치하였다. 그리고 이들 대부분 (15/20)의 균은 16S rRNA 염기서열 분석을 통해 *L. lactis*로 동정되었으나 생화학적 방법으로 동정하였을 때 대부분이 *L. pseudomesenteroides* (14/15)이었다 (Lee et al., 2011).

*Leuconostoc*에 대한 항균제 감수성 기준은 정해져 있지 않았지만, *Virdans Streptococci*에 대한 감수성 기준을 적용할 때 penicillin, ampicillin, clindamycin, macrolides, carbapenem, aminoglycoside 항생제에 통상적으로 감수성이다 (Handwerger et al., 1990; Yamazaki et al., 2009). 한편 penicillin이 1차 선택 항균제이나 감수성 결과가 다양할 수 있으므로, 감수성 결과에 따라 적절한 항균제 선택이 필요하다. *Leuconostoc*에 의한 균혈증의 항균제 치료 후 사망률은 잘 알려져 있지 않은데, 국내의 경우 6예 중 1예를 제외하고 모두 회복되었다 (Youn et al., 1977; Uh et al., 2002; Kim et al., 2006). 사망한 1예도 항균제 치료의 실패라기 보다 기존 질환의 악화에 의한 가능성을 시사한다 (Shin et al., 2011). 그리고 국외에서도 20예 중 1예만 항균제 치료의 실패가 보고되었을 뿐이다 (Lee et al., 2011). 본 증례는 초기에 경험적으로 *Leuconostoc*에 자연내성인 vancomycin으로 치료하였기 때문에 균혈증의 진행을 막을 수 없었는데, 적합한 항균제로 변경함에도 불구하고 패혈성 쇼크 및 다기관 기능부전으로 이미 진행되었을 가능성이 높다. 이는 *Leuconostoc*에 의한 균혈증에서도 환자의 상태에 따라 적절한 항균제의 투여가 늦어질 경우 치명적인 병인균으로 작용할 수 있음을 시사한다 하겠다. 아직까지 그람양성균은 암환자를 포함한 면역이 감소한 환자에서 균혈증을 야기하는 중요한 원인균이다 (Wisplinghoff et al., 2003). Vancomycin은 세포벽에 존재하는 D-ala-D-ala과 결합하여 대부분의 그람양성세균의 세포벽 합성을 억제하는 glycopeptide계 항균제로 지난 수십 년 동안 면역이 감소된 환자에서 그람양성균에 의한 감염의 경험적 치료에 사용되어 왔다 (Hughes et al., 1997; Hughes et al., 2002). 그러나 최근에 vancomycin 사용의 증가로 인해 이 항균제에 대한 감수성이 감소하거나 내성인 균이 증가하였으며, 면역이 감소한 환자에서 vancomycin

에 자연내성인 균에 의한 감염으로 인해 항균제 치료 실패가 증가되고 있다 (Moise-Broder et al., 2004; Mahajan et al., 2012). 따라서 2010년 IDSA (the Infectious Disease Society of America)의 치료지침에서는 MRSA와 VRE에서 대체 항균제 (예; daptomycin과 linezolid)의 사용을 권고하였다 (Freifeld et al., 2011). 한편 Rolston 등은 1,082명의 암환자에서 분리된 그람양성구균의 항균제 감수성 연구에서 이들 대체 항균제는 vancomycin에 대한 감수성이 저하된 MRSA 및 VRE에 vancomycin보다 동등하거나 우수한 감수성을 보였을 뿐 아니라, *Leuconostoc*을 포함한 vancomycin 자연내성 그람양성균에도 감수성이었다고 보고하였다 (Rolston et al., 2013). 이는 면역이 감소한 환자에서 항균제의 경험적 치료에 이들 항균제를 vancomycin의 대체 항균제로 고려할 수 있음을 시사한다.

결론적으로 담도 스텐트를 가지고 있는 환자에서 vancomycin에 자연내성인 *L. lactis*에 의한 패혈증이 발생하였으며 적절한 항균제의 투여가 늦어져 치료에 실패한 1예를 보고하며, 면역이 저하된 환자의 혈액배양에서 catalase 음성 그람양성구균이 분리될 경우 경험적 항균제를 선택할 때 vancomycin을 대체 항균제로 변경하거나 vancomycin 내성균에 대응하기 위한 항균제를 추가하는 것을 고려해야 할 필요가 있을 것으로 사료된다. 게다가 빠르고 정확한 균의 동정 및 항균제 감수성 검사가 적절한 항균제의 선택을 위해 매우 중요할 것이다.

REFERENCES

- Aguirre M, Collins MD. Lactic acid bacteria and human infection. *J Appl Bacteriol.* 1993. 75: 95-107.
- Cibik R, Lepage E, Talliez P. Molecular diversity of *Leuconostoc mesenteroides* and *Leuconostoc citreum* isolated from traditional French cheeses as revealed by RAPD fingerprinting, 16S rDNA sequencing and 16S rDNA fragment amplification. *Syst Appl Microbiol.* 2000. 23: 267-278.
- Coovaida YM, Solwa Z, van den Ende J. Meningitis caused by vancomycin-resistant *Leuconostoc* sp. *J Clin Microbiol.* 1987. 25: 1784-1785.
- Facklam R, Elliott JA. Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, Gram-positive cocci, excluding the streptococci and enterococci. *Clin Microbiol Rev.* 1995. 8: 479-495.
- Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, Boeckh MJ, Ito JI, Mullen CA, Raad II, Rolston KV, Young JA, Wingard JR. Clinical

- practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the Infectious Disease Society of America. *Clin Infect Dis*. 2011. 52: e56-93.
- Handwerger S, Horowitz H, Coburn K, Kolokathis A, Wormser GP. Infection due to *Leuconostoc* sp: six cases and review. *Rev Infect Dis*. 1990. 12: 602-610.
- Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Bow EJ, Brown AE, Calandra T, Feld R, Pizzo PA, Rolston KV, Shenep JL, Young LS. 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin Infect Dis*. 2002. 34: 730-751.
- Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Brown AE, Edwards JE, Feld R, Pizzo PA, Rolston KV, Shenep JL, Young LS. 1997 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with unexplained fever. *Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis*. 1997. 25: 551-573.
- Kim JG, Kim MH, Par SY, Park YJ, Suh JT, Lee HJ. A case of bacteremia caused by *Leuconostoc lactis* identified by 16S rRNA sequencing. *Korean J Clin Microbiol*. 2006. 9: 137-141.
- Kocak F, Yurtseven N, Aydemir N, Yuksek A, Yavuz SS. A case of osteomyelitis due to *Leuconostoc lactis*. *Scand J Infect Dis*. 2007. 39: 278-280.
- Lee MR, Huang YT, Lee PI, Liao CH, Lai CC, Lee LN, Hsueh PR. Healthcare-associated bacteremia caused by *Leuconostoc* species at a university hospital in Taiwan between 1995 and 2008. *J Hosp Infect*. 2011. 78: 45-49.
- Mahajan SN, Shah JN, Hachem R, Tverdek F, Adach JA, Mulanovich V, Rolston KV, Raad II, Chemaly RF. Characteristics and outcomes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in patients with cancer treated with vancomycin: 9-year experience at a comprehensive cancer center. *Oncologist* 2012. 17: 1329-1336.
- Martinez-Murcia AJ, Harland NM, Collins MD. Phylogenetic analysis of some *Leuconostoc* and related organisms as determined from large-subunit rRNA gene sequences: assessment of congruence of small-and large-subunit rRNA derived trees. *J Appl Bacteriol*. 1993. 74: 532-541.
- Moise-Broder PA, Sakoulas G, Eliopoulos GM, Schentag JJ, Forrest A, Moellering Jr RC. Accessory gene regulator group II polymorphism in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is predictive of failure of vancomycin therapy. *Clin Infect Dis*. 2004. 38: 1700-1705.
- Rolston KV, Kapadia M, Tarrand J, Coyle E. Spectrum of Gram-positive bacteremia and in vitro activities of daptomycin, linezolid and vancomycin against organisms isolated from cancer patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2013. 41: 516-520.
- Rubin LG, Shapiro J, Isenberg HD. Infection with vancomycin-resistant "Streptococci" due to *Leuconostoc* species. *J Infect Dis*. 1988. 157: 216.
- Swenson JM, Facklam RR, Thornsberry C. Antimicrobial susceptibility of vancomycin resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus*, and *Lactobacillus* species. *Antimicrob Agents Chemother*. 1990. 34: 543-549.
- Shin JH, Her M, Moon C, Kim D, Lee SH, Jung SJ. *Leuconostoc* bacteremia in a patient with amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis and tuberculosis arthritis. *Mod Rheumatol*. 2011. 21: 691-695.
- Starr JA. *Leuconostoc* species-associated endocarditis. *Pharmacotherapy*. 2007. 27: 766-770.
- Uh Y, Lee HG, Hwang GY, Yoon KJ, Yoo SY, Koo BS, Kim HY. Two cases of *Leuconostoc* bacteremia. *Korean J Clin Microbiol*. 2002. 5: 62-67.
- Wisplinghoff H, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Current trends in the epidemiology of nosocomial bloodstream infections in patients with hematological malignancies and solid neoplasm in hospitals in the United States. *Clin Infect Dis*. 2003. 36: 1103-1110.
- Yamazaki R, Mori T, Sugita K, Aisa Y, Ikeda Y, Okamoto S. *Leuconostoc* septicemia a neutropenic patient with acute myelogenous leukemia relapsed after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2009. 11: 94-95.
- Youn JS, Park YJ, Kim BK, Kim SM, Shim SI. Two cases of bacteremia caused by *Leuconostoc citreum*. *Korean J Clin Pathol*. 1997. 17: 623-628.