

## *Haemophilus aphrophilus* 심내막염 1예

차충환, 신희봉, 장성수, 김민경\*, 김양수\*, 송재관\*, 김미나

울산대학교 의과대학 서울아산병원 진단검사의학교실, 내과학교실\*

### **A Case of *Haemophilus aphrophilus* Endocarditis**

Choong Hwan Cha, Hee Bong Shin, Seongsoo Jang, Min Kyung Kim\*,  
Yang Soo Kim\*, Jae Kawn Song\* and Mi-Na Kim

*Department of Laboratory Medicine and Internal Medicine\**, *University of Ulsan College of Medicine and Asan Medical Center, Seoul, Korea*

*Haemophilus aphrophilus* is a facultatively anaerobic gram-negative bacillus and require 5 to 10 % CO<sub>2</sub> to grow optimally. *H. aphrophilus* is differentiated from other members of *Haemophilus* species by no requirement of X or V factor. This organism is found as the normal flora in upper respiratory tract but a member of the HACEK group that cause native valve endocarditis. Since the first endocarditis of *H. aphrophilus* was reported at 1985 in Korea, we reported the second case.

A 35-year-old male patient was admitted to Asan Medical Center because of fever for 15 days and altered mentality developed 2 days ago. His echocardiography revealed a mitral valve regurgitation with a hypermobile vegetation and multiple septic emboli were also found in the brain MRI. Three sets of blood cultures were taken on the day of admission, all of which grew pleomorphic, gram-negative bacilli at incubation day 1. Catalase and oxidase test was negative and Vitek NHI card (bioMerieux Vitek, Inc., Hazelwood Mo., USA) identified the organisms to *H. aphrophilus* 50%/*H. paraphrophilus* 49% (Bionumber 257310). It was finally identified to *H. aphrophilus* with requirement tests of X or V factors; it required neither X nor V factor. This *H. aphrophilus* strain was negative in  $\beta$ -lactamase and was susceptible to ampicillin, gentamicin, cefuroxime, imipenem, ciprofloxacin, aztreonam, azithromycin, rifampin, and trimethoprim/sulfamethoxazole. This patient was successfully treated with ampicillin and gentamicin after mitral valve replacement under diagnosis of *H. aphrophilus* endocarditis (*Korean J Clin Microbiol 2003;6(2):172-176*)

**Key words :** *Haemophilus aphrophilus*, Endocarditis, septic Embolism

### 서 론

*Haemophilus aphrophilus*는 통성 혐기성 그람음성 간균으로 5~10%의 CO<sub>2</sub>에 의해 증식이 촉진되며 *Haemophilus*속 중 X-인자(hemin)나 V-인자(nicotin-amide-adenine dinucleotide)를 요구하지 않는 것이 특징이다[1]. 구강

의 정상 상재균에 속하고, 인체감염을 일으키는 경우가 흔하지는 않지만, 1940년에 Khairat가 심내막염 환자의 혈액에서 이 세균을 처음으로 분리한 이래 정상판막에 심내막염을 일으키는 중요한 원인균들인 HACEK (*Haemophilus-Actinobacillus-Cardiobacterium-Eikenella-Kingella*) 그룹의 하나로서 알려져 있다[1]. 심내막염 외에 드물게는 뇌동양, 균혈증, 폐렴, 복막염, 창상감염을 일으킬 수 있다[1-3]. 치명율이 심내막염의 30%, 뇌동양을 일으킨 경우는 약 50%에 이른다는 보고가 있어서 적절한 항균제 치료가 중요하다[3].

국내에서는 1985년에 *H. aphrophilus* 심내막염 1예가 있은 이후로는 보고가 없었는데[2], 저자들이 *H. aphro-*

접수번호: CM 6-2-17

교신저자: 김미나

(138-736) 서울특별시 송파구 풍납2동 388-1

울산대학교 의과대학 서울아산병원 진단검사의학교과

TEL : 02) 3010-4511 FAX : 02) 478-0884

E-mail : mnkim@amc.seoul.kr

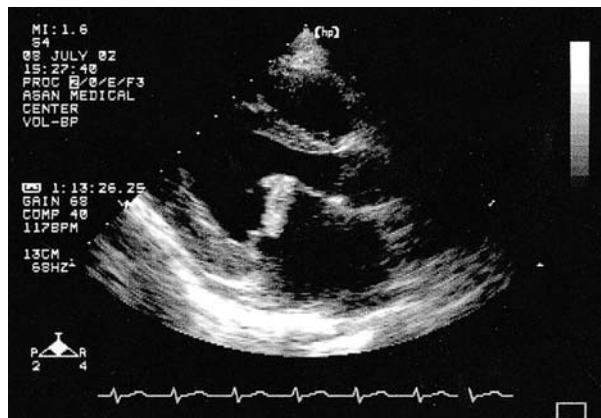


Fig. 1. Transthoracic echocardiography in emergency room showed severe rheumatic mitral regurgitation with a huge, hypermobile vegetation. This finding is consistent with active endocarditis.

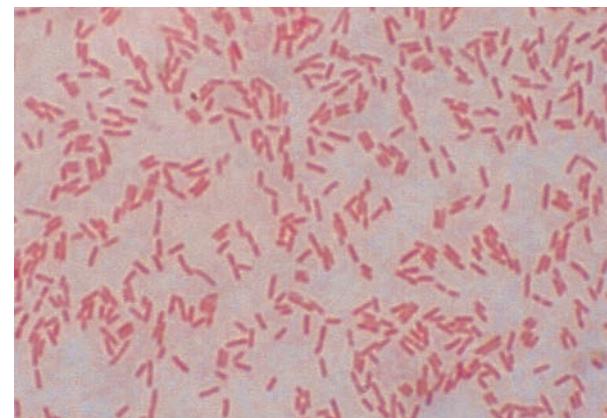


Fig. 2. Microscopy of the blood culture smear showed gram-negative pleomorphic bacilli (Gram stain,  $\times 1,000$ ).



Fig. 3. Colonies grown on a blood agar plate after 24 hour incubation in the incubator of 6% CO<sub>2</sub>. Gray-whitish convex, colonies of less than 1 mm in diameter with no hemolysis were shown.

*philus*에 의한 심내막염 1예를 경험하여 보고하는 바이다.

## 증례

35세 남자가 발열과 혼탁한 의식을 주소로 서울아산병원 응급실을 방문하였다. 이전에는 건강하였고 내원 15일 전 간헐적 발열, 기침, 두통으로 일차병원 방문하여 상기도 감염으로 진단 받고 약을 복용하였으나, 발열과 두통이 지속되었고 내원 2일 전부터 의식이 흐려지기 시작해서 응급실을 통해 입원하였다.

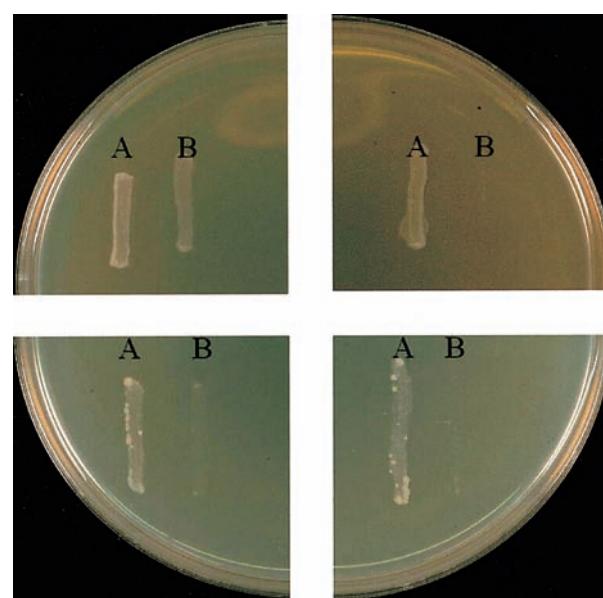


Fig. 4. X and V factor requirement tests. The isolate (A) grew on all media including a plain Mueller Hinton agar (MHA) while *H. influenzae* (B) grew only on the MHA containing both of X and V factor. Left upper plate; MHA containing both of X and V factors, right upper plate; MHA with X factor, left lower plate; MHA with V factor, right lower plate; plain MHA.

내원 당시 혈압 90/56 mmHg, 체온 38.7°C, 맥박수 126회/분, 호흡수 24회/분이었다. 외관상 급성 병색이었고 반흔수상태이었다. 심음은 규칙적이었고 grade III의 범수축기 심장음이 들렸다. 경부와 전흉부에 점상출혈이 있었다. 과거력상 류마티스열의 위험인자는 없었고, 내원 전 치과치료를 받았다.

내원 당시의 일반 혈액 검사상 혈색소 13.0 g/dL, 백혈구 51,900/ L, 혈소판 30,000/ L이었다. 혈액응고 검사상

PT 73.2 %, aPTT 40.2 초, fibrinogen 583 mg/dL, D-dimer 3.20  $\mu$ g/mL, FDP 10  $\mu$ g/mL이었다. 생화학 검사상 혈청총 단백은 5.9 g/dL, 알부민은 2.1 g/dL이고 AST 41 U/L, ALT 77 U/L, 총빌리루빈 1.9 mg/dL, 간접빌리루빈 0.8 mg/dL, BUN 85 mg/dL, creatinine 2.7 mg/dL, LD 1340 U/L, CK 808 U/L, Troponin-I 0.7 ng/mL, 혈당 191 mg/dL, ESR 26mm/hr, CRP 30.61 mg/dL이었다.

경흉부심초음파에서  $10 \times 23$  mm 크기의 과운동성의 증식물과 심한 류마티스성 승모판 폐쇄부전이 관찰되어 활동성 심내막염으로 진단하였다(Fig. 1). 뇌컴퓨터단층 촬영 검사에서 미만성 뇌부종 소견을 보였으며 뇌자기공명영상 검사에서 다발성 괘혈성 색전 소견을 보였다.

입원 1일 후 승모판대치술을 받았다. 응급실에서부터 ampicillin과 gentamicin을 사용하였고 입원 1일 째 nafcillin을 추가하여 사용하다가 입원 4일 후 응급실에서 시행한 혈액배양 검사에서 *Haemophilus* 종으로 보고함에 따라 nafcillin은 입원 5일에 중단하였고, 입원 5일부터 7일 까지 ceftazidime을 추가사용하였으며 입원 31일에 creatinine이 증가함에 따라 입원 32일에 gentamicin을 중단하였고 입원 40일까지 ampicillin을 사용하였다.

발열은 항균제를 사용하면서 감소해서 입원 3일 째  $38.6^{\circ}\text{C}$ 의 발열이 있은 후 더 이상 발열은 없었다. 수술 후부터 환자 의식은 명료해졌으나 운동성 실어증의 소견을 보였다. 입원 7일 째 경흉부초음파에서 인공판막의 기능은 양호하나 중등도의 심낭삼출액이 관찰되었고 입원 12일 째 경흉부초음파에서 심낭삼출액이 증가하여 심낭천자를 실시하였다. 입원 15일 째 흉막삼출이 관찰되어 흉

강천자를 하였고, 농흉으로 판단되어 입원 16일에 흉관을 삽입하여 배액하다가 입원 32일에 흉관을 제거하였다. 입원 23일 째 심방조동이 발생하여 직류 심장을 동전환을 시행하였다. 입원 32일에 다시 실시한 심초음파에서 심낭삼출액은 관찰되지 않았으며 입원 46일에 다시 실시한 심초음파에서 인공판막의 기능은 양호하여 입원 47일에 퇴원하였다. CRP는 점차 감소하여 입원 11일에 8.49 mg/dL이었다.

### 미생물학적 검사소견

응급실에서 의뢰한 3쌍의 혈액배양은 BACTEC 9240 (Becton Dickinson, Cockeysville, Md., USA) 시스템으로 배양하였다. 배양 1일째에 3쌍 중 호기성 3병, 협기성 2병에서 다형의 그람 음성 간균이 자랐고(Fig. 2), 이를 혈액한천 배지와 MacConkey 배지에 계대배양한 결과 혈액한천 배지에서 24시간 배양 후 용혈을 보이지 않는 1 mm 미만 크기의 회백색의 접락들이 자랐다(Fig. 3). 소변 배양, 뇌척수액 배양, 승모판 증식물 배양에서는 균이 자라지 않았고 입원 3일 혈액배양과 15일 째의 흉강천자액에서도 균은 자라지 않았다.

Catalase와 oxidase 음성이었고 Vitek NHI card (bioMerieux Vitek, Inc., Hazelwood Mo., USA)에서 bionumber 257310, *Haemophilus aphrophilus* 50%/*Haemophilus paraphrophilus* 49%으로 동정되었고,  $\beta$ -lactamase는 음성이었다. 두 가지 균종을 감별하기 위해 X-인자(hemin)나 V-인자(nicotin-amide-adenine dinucleotide) 요구성 검사를 실시

Table 1. Antimicrobial susceptibility test

Antimicrobials	Disc Diffusion Test		E test	
	Zone of inhibition(mm)	Interpretation	MIC ( $\mu$ g/mL)	Interpretation
Ampicillin	44	S		
Ampicillin/Sulbactam			0.25	S
Amoxicillin/Clavulanate	36	S		
Amikacin			4	S
Gentamicin			1.5	S
Cefuroxime	40	S	0.094	S
Cefotaxime			0.5	S
Ceftriaxone	44	S	<0.016	S
Cefepime			0.125	S
Imipenem	32	S	0.50	S
Meropenem			0.023	S
Aztreonam			0.016	S
Azithromycin	30	S	0.50	S
Ciprofloxacin	40	S	0.006	S
Levofloxacin	46	S		
Rifampin	30	S		
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	25	S		

하였다. Mueller-Hinton agar에 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 hemin을 첨가한 배지, 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 nicotin-amide-adenine dinucleotide를 첨가한 배지, 둘 다를 첨가한 배지, 둘 다 첨가하지 않은 보통의 Mueller-Hinton agar를 제조하였고, 두 가지 인자를 모두 요구하는 대조균주로 *H. influenzae* ATCC 49766을 사용하였다. *H. influenzae*는 V-인자와 X-인자를 모두 첨가한 배지에서만 자랐고, 환자에서 분리된 균주는 네 가지 배지에서 모두 자라 이 균을 *H. aphrophilus*로 동정하였다(Fig. 4).

NCCLS guideline에 따라 디스크 확산법과 E test를 실시하였다[4]. 배지는 *Haemophilus* test medium을 사용하고, 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 하룻밤 배양 후 *H. influenzae*의 감수성 기준에 따라 해석하였다. 디스크확산법에서 ampicillin을 비롯한 검사한 모든 항균제에 감수성이었다(Table 1). E test에서 최소억제 농도는 ampicillin/sulbactam 0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  등으로 모두 검사한 항균제에 대해 감수성이었다(Table 1).

## 고 찰

본 증례는 승모판에 증식물이 있고, 3쌍의 혈액배양에서 모두 *H. aphrophilus*가 배양되어 *H. aphrophilus*에 의한 심내막염으로 확진할 수 있었다[5]. *Haemophilus* 균종에 의한 심내막염은 모든 감염성 심내막염의 0.8-1.3%를 차지하고[6], *H. aphrophilus*는 *Haemophilus*에 의한 심내막염의 가장 흔한 원인균으로 알려져 있지만[2,7,8] 국내에서 보고는 드물다. 문헌 고찰 상 국내에서는 1985년 *H. aphrophilus* 심내막염이 1예 보고된 적이 있어[2], 이 증례가 두 번째 보고로 생각된다.

*H. aphrophilus*는 구강의 정상상재균이고, 일반 임상검체에서는 드물게 분리된다. 하지만, 감염성 심내막염의 원인 중 3-5%[7,8], 자연판막에서 발생한 감염성 심내막염의 5-10%를 차지하는 중요한 원인균이고[9,10], 신생아나 면역저하된 소아에서는 더 흔하다[11]. 치과적 질환 또는 구강 외상이 있는 경우와 치과적 치료를 받는 경우 등이 심내막염의 중요한 위험인자이다[8,9,12,13]. 본 증례의 경우 증상이 시작되기 전 치과적 치료를 받은 병력이 있었다.

HACEK 균종들은 성장이 느리고,  $\text{CO}_2$ 를 필요로 하는 등 조건이 까다로워서 배양이 어렵다. 이런 이유로 배양 음성 심내막염의 경우 혈액배양을 2주까지 연장하고, 계대배양을 할 때 초콜릿 배지를 추가하여 5-10%  $\text{CO}_2$ 환경에서 배양하는 것이 필요하다[6]. 본 증례에서는 3쌍의 혈액배양 모두 하룻밤 배양 후 균이 검출되었는데 이것은 BACTEC 9240과 같은 자동혈액배양기의 검출시스템이 *Haemophilus* 균종을 과거의 방법보다 더 빠르고 민감하게 검출하기 때문으로 생각된다[14]. 따라서 혈액배양 시스템이 진보에 따라 HACEK과 같은 까다로운 균종의 분리율이 늘 것으로 생각된다.

세균성 심내막염은 통상 장기적, 살균적 약물치료가 필요적이기 때문에 균종 수준의 동정과  $\beta$ -lactamase 검사, 때로는 감수성검사가 필요하다. HACEK 균종을 동정하려면 미생물 검사실에서 통상적으로 사용하는 수준 이상의 동정검사가 필요하다. *H. aphrophilus*는 *H. paraphrophilus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*와 형태학적으로나 생화학적으로 유사하여 상업적인 동정 kit로는 확실히 감별하기 어렵다. 가장 중요한 감별점은 *H. paraphrophilus*는 성장에 V-인자가 필요한데 비해 *H. aphrophilus*는 X-인자나 V-인자를 요구하지 않는다[1]. *A. actinomycetemcomitans*와의 감별은 sucrose, lactose와 같은 탄수화물에서의 산생성, catalase test 등으로 할 수 있다[1,2]. 심내막염 환자의 혈액배양에서 다형의 그람음성 간균이 관찰되고, 계대배양 시 혈액한천배지나 초콜릿 배지에서  $\text{CO}_2$ 를 보충해주어야 잘 자라는 경우 HACEK을 의심해서 적절한 동정 kit와 추가적인 확인검사를 사용해서 동정해야 할 것이다.

Henrik 등이 심내막염을 일으킨 4종의 *Haemophilus*에 대해  $\beta$ -lactam 항생제와 tobramycin 병합요법과 ciprofloxacin 단독요법을 비교한 논문에서 *H. aphrophilus*는 양쪽 치료 모두에서 살균효과가 떨어져서 장기적 치료가 필요할 것으로 보고한 바 있다[15]. 본 증례는  $\beta$ -lactamase 음성이고 항균제 감수성 검사에서는 ampicillin을 포함한 모든 항균제에 감수성으로 ampicillin과 gentamicin의 병합요법으로 성공적으로 치료되었다. 과거에 모든 HACEK 균종에서 ampicillin에 대해 감수성을 나타내었으나 *Haemophilus* 균종에서  $\beta$ -lactamase 생성에 의한 ampicillin에 대해 내성을 나타내는 균종이 보고되고 있다[8,9,16,17]. 따라서 과거 *Haemophilus* 심내막염은 고용량의 ampicillin과 aminoglycoside 병합요법으로 치료하는 것이 표준이었으나, 현재는 3세대 cephalosporin을 사용하는 것이 표준이며 원인균이 ampicillin에 감수성을 보이는 경우 ampicillin과 gentamicin의 병합요법이 사용될 수 있다[8,9,13].

## 요 약

*Haemophilus aphrophilus*는 통성 혐기성 그람음성간균으로 5~10%의  $\text{CO}_2$ 에 의해 증식이 촉진되며 *Haemophilus*속 중 X인자나 V인자 없이 증식이 되는 것이 특징이다. 구강의 정상 상재균에 속하고, 자연판막 심내막염을 일으키는 중요한 원인균들인 HACEK의 하나에 속한다. 국내에서 *H. aphrophilus* 심내막염은 1985년 1예가 보고된 후 없었는데, 저자들이 1예를 경험하여 보고하는 바이다. 35세 남자환자가 내원 15일 전부터 발생한 발열과 내원 2일 전 동반된 의식혼탁으로 응급실을 통해 입원하였다. 뇌내 다발성 패혈성 색전과 승모판 증식물이 관찰되어 뇌색전을 동반한 심내막염이 진단되었다. 3쌍의 혈액배양에서 배양 1일째에 호기성 3병, 혐기성 2병에서 다

형의 그람음성간균이 자랐고, catalase, oxidase음성이었고 Vitek NHI card (bioMerieux Vitek, Inc., Hazelwood Mo., USA)에 의한 동정검사에서 *H. aphrophilus* 50%/*H. paraphrophilus* 49%(Bionumber 257310)이고, V인자와 X인자의 요구성 검사로 *H. aphrophilus*로 확인하였다. 항균제 감수성 검사는  $\beta$ -lactamase음성이었고 *Haemophilus* test medium을 사용한 항균제 감수성 결과에서는 ampicillin, gentamicin, cefuroxime, imipenem, ciprofloxacin, aztreonam, azithromycin, rifampin, and trimethoprim/sulfamethoxazole에 모두 감수성을 나타내었다. 환자는 승모판을 대치하고, ampicillin, gentamicin 병합요법을 실시하여 성공적으로 치료되었다.

### 참 고 문 현

1. Joseph M. *Haemophilus*. In: Patrick RM, Ellen JB, et al. eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1999: 604-13.
2. Park SS, Hong SI, Park MH, Suk IS, Kim SI. *Isolation of Haemophilus aphrophilus from the blood of a patient with subacute bacterial endocarditis*. 임상병리와 정도 관리 1985;7:43-7.
3. 정윤섭, 김태숙, 이삼열, 설준희, 양성익, 이의웅. 임상 검체에서의 *Haemophilus aphrophilus* 분리 5예. 대한 미생물학회지 1985;20:73-7.
4. NCCLS. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twelfth Informational Supplement*. NCCLS document M100-S12. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania, USA, 2002.
5. David TD, Andrea SL, David KB, Duke Endocarditis Service. *New criteria for diagnosis of endocarditis: Utilization of specific echocardiographic findings*. Am J Med 1994;96:200-9.
6. Bayer AS, Scheld WM. *Endocarditis and intravascular infections*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 5th ed. Vol 3. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000:857-902.
7. Yei-Hsien C, Allen H, Yi-Hui L, Heike S, Robert SB, Alan F. *An unusual blood culture isolate in a 5-year-old boy*. Curr Opin Pediatr 2001;13:75-9.
8. Brouqui P, Raoult D. *Endocarditis due to rare and fastidious bacteria*. Clin Microbiol Rev 2001;14:177-207.
9. Hand WL. *Haemophilus species (including chancroid)*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 5th ed. Vol 3. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000:2378-81.
10. Walter RW, Adolf WK, Adnan SD, Kathryn AT, Arnold B, Donald K, et al. *Antibiotic treatment of adults with infective endocarditis due to streptococci, enterococci, staphylococci, and HACEK microorganisms*. JAMA 1995; 274:1706-13.
11. Micheal MB. *Pediatric bacterial endocarditis*. Pediatr Clin North Am 1999;46: 275-87.
12. Thomas ER, Eugene AS, Larry DE, James HT. *Hemophilus aphrophilus endocarditis with a probable primary dental focus of infection*. Chest 1981;80:109-10.
13. Elie FB, Franklin RC, James MS. *Infective endocarditis due to unusual or fastidious microorganisms*. Mayo Clin Proc 1997;72:532-42.
14. Rohner P, Pepey B, Auckenthaler R. *Comparative evaluation of BACTEC aerobic Plus/F and Septi-Chek Release blood culture media*. J Clin Microbiol. 1996;34:126-9.
15. Henrik W, Niels F, Erno G, Jette B. *Killing curve activity of ciprofloxacin is comparable to synergistic effect of lactam-tobramycin combinations against Haemophilus species endocarditis strains*. APMIS 1992;100:856-60.
16. Coll-Vinent B, Suris X, Lopez-Soto A, Miro JM, Coca A. *Haemophilus paraphrophilus endocarditis: Case report and review*. Clin Infect Dis 1995;20:1381-3.
17. Darras-Joly C, Lortholary O, Mainardi JL, Etienne J, Guillemin L, Acar J, et al. *Haemophilus endocarditis: Report of 42 cases in adults and review*. Clin Infect Dis 1997;24:1087-94.