

인공판막 심내막염 환자의 혈액에서 *Haemophilus aphrophilus*와 Coagulase-Negative Staphylococci 동시 분리 1예

김창기¹, 조인주¹, 박윤희¹, 노경호¹, 용동은^{1,3,4}, 이경원^{1,3,4}, 김준명^{2,3,4}, 정윤섭^{1,3}

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 내과학교실², 세균내성 연구소³, 두뇌한국21 의과학사업단⁴

*Haemophilus aphrophilus*은 통성 혐기성 그람음성 구간균이며 5-10%의 CO₂가 있을 때 증식이 촉진된다. 다른 *Haemophilus*와는 달리 X인자와 V인자 없이 증식하며, 드물게 심내막염, 균혈증, 폐렴, 복막염 등의 중한 감염을 일으키는 것으로 알려져 있다. 국내에서도 *H. aphrophilus*에 의한 심내막염이 2예 보고되었으나, 세계적으로 다른 세균과의 복합감염은 아직 보고되지 않았다. 저자들은 인공판막 심내막염과 뇌농양이 속발한 38세 여자 환자의 혈액배양에서 *H. aphrophilus*와 coagulase-negative staphylococcus (CNS)를 동시 분리하였기에 보고하는 바이다. 환자는 대동맥판막치환술을 받은 과거력이 있었고 응급실에서 시행한 3쌍의 혈액배양 모두에서 *H. aphrophilus*와 CNS가 검출되었다. 환자는 응급 대동맥판막치환술을 시행받았으며 적출된 인공판막으로 시행한 배양에서 *H. aphrophilus*가 분리되었다. 입원 치료 중 실시한 뇌 자기공명영상검사에서 다발성 뇌농양이 발견되었다. 디스크 확산법으로 시행한 항균제감수성시험에서 *H. aphrophilus*는 ampicillin와 cefotaxime을 비롯한 모든 시험항균제에 감수성을 보였고, CNS는 oxacillin과 vancomycin에 감수성이었다. 환자는 *H. aphrophilus*와 CNS에 의한 복합세균 심내막염이 의심되어 ceftriaxone, teicoplanin, gentamicin의 항균제를 장기간 투여받았고 증상이 호전되어 퇴원하였다.

서 론

Haemophilus 균종은 통성 혐기성, 비운동성, 절대 기생 세균으로 도말염색에서 그람음성 구간균 혹은 간균으로 관찰되며[1], 증식을 위해서 혈액에 포함되어 있는 X인자(hemin)나 V인자(nicotin amide adenine dinucleotide) 혹은 두 가지 모두를 필요로 한다. *Haemophilus aphrophilus*는 5-10%의 CO₂가 있을 때 증식이 촉진되며 다른 대부분의 *Haemophilus*와 달리 X인자와 V인자 요구성이 없는 특징이 있다[2,3]. *H. aphrophilus*는 구강점막 상재균으로 정상인의 구강과 치태에서 흔히 분리되지만 치주질환을 유발하지 않는 것으로 알려져 있다[4]. 그러나 드물게 심내막염, 뇌농양, 균혈증, 폐렴, 복막염 등의 위중한 감염증을 일으키며, 그 중에서 심내막염이 가장 많이 보고되었다[2,4]. 국내에서도 박 등과 차 등이 *H. aphrophilus*에 의한 심내막염을 보고하였으며, 환자들 모두는 항균제 투여와 판막치환술을 통해 성공적으로 치료되었다[5,6]. 저

자들은 인공대동맥판막에 발생한 심내막염 때문에 대동맥판막치환술을 시행받은 환자의 혈액에서 *H. aphrophilus*와 coagulase-negative staphylococcus (CNS)를 동시에 분리하였기에 보고하는 바이다.

증 례

38세의 여자 환자가 약 한 달 전부터 발생한 운동유발성 호흡곤란과 발열로 응급실을 통해 내원하였다. 환자는 12년 전 대동맥판막협착증으로 판막치환술을 시행받았고, 수술 이후 특별한 증상 없이 지냈다. 환자는 내원 당시 급성병색을 보였으나 의식은 명료하였다. 내원시 활력징후는 혈압 110/80 mmHg, 심박수 120회/분, 호흡수 40회/분, 체온 38℃이었다. 이학적 검사에서 결막은 창백하였고, 양 하지에 함요부종이 있었으며 간비대가 있었다. 범수축기잡음이 청진되었고, 경식도심초음파에서 중증의 대동맥판막협착과 판막첨판에 증식증이 관찰되었다. 흉부방사선검사에서 심비대와 폐부종이 관찰되었다.

내원 시 말초혈액검사 소견은 백혈구수 39,770/ μ L (호중구 92%, 림프구 3%, 단핵구 2%)으로 증가하였고, 혈색소와 적혈구용적은 5.9 g/dL와 18.0%로 저하되어 있었으며 혈소판수는 165,000/ μ L로 정상이었다. 혈청 전해질측정에서 sodium 138 mEq/L, potassium 4.72 mEq/L, chloride

Table 1. Biochemical characteristics of some species of HACEK group and the isolate from this report

Test	<i>H. aphrophilus</i> *	<i>H. paraphrophilus</i> *	<i>A. actinomycetemcomitans</i> *	<i>E. corrodens</i> *	YMC 03/06/B3034
X factor requirement	-	-	-	-	-
V factor requirement	-	+	-	-	-
Indole	-	-	-	-	-
Urease	-	-	-	-	-
Ornithine decarboxydase	-	-	-	+	-
Lysine decarboxylase	-	-	-	+	-
Fermentation of					
Glucose	+	+	+	-	+
Sucrose	+	+	-	-	+
Lactose	+	+	-	-	+
Mannitol	-	-	D [†]	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	-	+
Catalase	-	-	+	-	-

* Data from references 1 and 2

† D, differences encountered

99.5 mEq/L로 정상이었고, 총 CO₂ 18.1 mEq/L로 감소하였다. 혈액내 BUN/creatinine은 45.5/1.4 mg/dL으로 약간 상승하였고, 혈당은 124 mg/dL로 정상이었으며, NT-pro-BNP 값은 >35,000 pg/mL로 크게 증가해 있었다. 간기능 검사에서 aspartate aminotransferase/alanine aminotransferase 52/115 IU/L, 총 빌리루빈 6.1 mg/dL, 직접 빌리루빈 4.7 mg/dL로 증가되었다. 혈중 철 검사소견은 iron 41 µg/dL (참고치: 40-158 µg/dL), TIBC 192 µg/dL (참고치: 271-435 µg/dL), ferritin 351.4 ng/mL (참고치: 10-130 ng/mL)였다. 요검사에서 pH 5.0, protein 2+, RBC 3+, bilirubin 1+이었으며 경검에서 많은 수의 적혈구가 관찰되었다.

내원 시 응급실에서 3회의 혈액배양을 실시하였고, 자가 제조한 trypticase soy broth 40 mL와 thioglycollate medium 40 mL이 들어있는 3쌍의 혈액배양병에 정맥혈 5 mL씩 접종하여 35°C에서 배양하였다. 배양 2일 후 모든 혈액배양병에서 균증식이 관찰되었고, 도말염색에서 그람양성구균이 관찰되었다. 혈액한천에 24시간 계대배양 후 흰색의 불투명한 집락과 작은 이슬방울 같은 집락이 함께 관찰되었다. 흰색 집락은 그람양성구균으로 mannitol salt agar에서 산을 생성하였고, DNase와 coagulase 음성 결과를 보여 CNS로 동정하였다. 작은 집락은 도말염색에서 그람음성 구균군 혹은 간균이어서 MacConkey 한천과 chocolate 한천에 계대배양하였고 chocolate 한천에서만 24시간 배양 후 작은 집락이 관찰되었다(Fig. 1). Triple sugar iron 배지에서는 사면과 고층 산성이었고 가스 및 H₂S 생성은 없었다. Oxidase와 catalase는 음성이었고, 그 외의 생화학적 성상은 table 1과 같다. Vitek NHI card (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)에 의해 *H. aphrophilus* 50%/*H. paraphrophilus* 49% (Bionumber 277310)로 동정되었다. 이 두가지 세균의 감별을 위해 X인자와 V인자 요

구성을 검사하였다. 혈액한천에서 *Staphylococcus aureus* 회전 주위에 위성현상을 보이지 않아 V인자 요구도가 없는 것으로 판단하였고, δ-aminolevulinic acid 시험에 양성 이어서 X인자 요구도가 없는 것을 확인하여 *H. aphrophilus*로 동정하였다.

환자는 내원 2일째 응급으로 인공대동맥판막치환술을 시행받았다. 적출된 인공대동맥판막 배양에서는 그람음성구균만 증식하였고, 혈액배양에서 분리된 *H. aphrophilus*와 동일한 생화학적 성상을 보여 같은 균종으로 동정하였다. 디스크 확산법에 의한 항균제감수성시험에서 *H. aphrophilus*는 ampicillin, ampicillin-sulbactam, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, aztreonam, imipenem, meropenem, levofloxacin, tetracycline과 cotrimoxazole 모두에 감수성이었고, CNS는 oxacillin, cotrimoxazole, clindamycin, perfloracin, teicoplanin, vancomycin에는 감수성을 penicillin, tetracycline, fusidic acid에는 내성을 보였다.

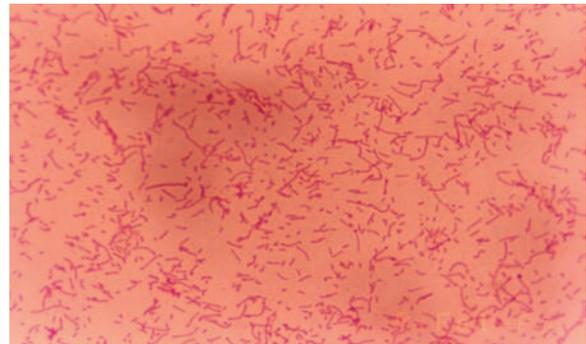


Fig. 1. A microscopic finding of *H. aphrophilus*. Gram-negative coccobacilli and rods are seen. (Gram stain, ×1,000)

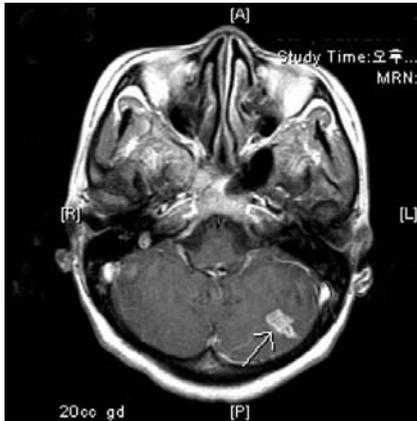


Fig. 2. Septic emboli in Brain MRI. An enhancing nodule (arrow) in left cerebellum is noted.

Piperacillin-tazobactam, ciprofloxacin, roxithromycin으로 약물치료를 시작하였고, 혈액배양 결과가 보고된 이후 *H. aphrophilus*와 CNS에 의한 복합세균 심내막염이 의심되어 teicoplanin, ceftriaxone, gentamicin 병합요법으로 치료약제를 변경하였다. 내원 4일째 시행한 혈액배양에서 음성결과를 보였다. 내원 11일에 실시한 뇌 자기공명혈관조영술에서 동맥류 소견은 없었으나 뇌자기공명영상 검사에서 대뇌와 좌측 소뇌 피질하부에 다발성의 농양이 관찰되었다(Fig. 2). 환자는 약물요법에 반응하여 증상이 호전되었으며 내원 35일에 시행한 뇌 자기공명영상 검사에서 뇌농양이 관찰되지 않아 퇴원하였다.

고 찰

저자들은 인공대동맥판막 심내막염이 있는 환자의 혈액에서 *H. aphrophilus*와 CNS가 분리된 환자 1례를 경험하였다. 감염성심내막염의 주요 원인균은 *S. aureus*, CNS, *Streptococcus* species이며, 드물게 HACEK 군(*Haemophilus* spp., *Actinobacillus actinomycescomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Kingella Kingae*)에 의해서 심내막염이 발생한다[7].

HACEK 군에 속한 세균들은 유전학적으로 다른 계통의 세균들이지만 구인두에서 흔히 분리되고 증식이 느리며 5-10%의 이산화탄소에 의해 증식이 촉진되는 공통점이 있다[8]. 혈액배양에서 검출되기까지 평균 3-5일이 필요하며 30일 이후에 증식이 보고된 예도 있었다[8]. HACEK 군 세균에 의한 심내막염은 전체 감염성심내막염의 약 3% 정도를 차지하지만, 증식이 느린 특성 때문에 실제 발생빈도는 이보다 더 높을 것으로 생각된다[4]. 심내막염은 일반적으로 정확한 균종 동정에 따른 장기간의 약물치료가 필수적인데, 배양조건이 까다로운 특징 때문에 임상 검체에서 HACEK 군 세균의 배양과 동정은 어려운 것으로 알려져 있다[8]. 상용화된 키트를 이용하더라도

위음성 결과의 가능성과 변종의 출현으로 인해 동정에 어려움을 겪는 경우가 많다. 경우에 따라서 정확한 균종 동정을 위해 16S rRNA 유전자 분석이 필요하다[6].

HACEK 군에 속하는 *H. aphrophilus*는 구강상재균이며 *Haemophilus* 균종 중에서 심내막염을 유발하는 빈도가 가장 높은 세균이다[6]. *H. aphrophilus*는 HACEK 군에 속하는 여러 세균과 유사한 성상을 보이며, 그 중에서도 *A. actinomycescomitans*와 *E. corrodens*와 감별을 요한다[2]. 분리균주는 oxidase가 음성이므로 *E. corrodens*가 아님을 알 수 있었고, catalase와 indole이 음성이므로 *C. hominis*와 구별되었으며 lactose에서 산을 생성하는 것이 *A. actinomycescomitans*와의 차이점이었다. 그러나 catalase 음성인 *A. actinomycescomitans*와 catalase 양성인 *H. aphrophilus*가 보고되고 있고, 일부 *H. paraphrophilus*가 V 인자 요구성을 상실하거나 위음성 결과를 보일 수 있다. 따라서 이들 세균과의 감별에 세심한 주의를 요한다[9].

판막치환술 후 12개월 이내에 발생한 인공판막 심내막염의 30-35%, 12개월 이후에 발생한 심내막염의 10-12%가 CNS에 의해 발생한다[7]. 혈액에서 CNS가 분리될 경우 그 해석이 어려운데, staphylococci는 피부 정상상재균이며 혈액배양의 흔한 오염균이지만 판막치환술 같은 인공보형물 사용과 침습적 시술이 증가함에 따라 CNS에 의한 균혈증이 증가하고 있기 때문이다[10]. 따라서 CNS가 혈액에서 분리될 경우 다수 혈액병의 균종식 여부와 발열 등의 임상 양상을 고려하여 CNS에 의한 오염을 감별해야 한다.

*H. aphrophilus*에 의한 심내막염이나 뇌농양은 치과 질환, 발치와 같은 치과 처치, 구강 외상 또한 상기도 감염 등의 선행요인이 있는 것으로 알려져 있다[8,11,12]. 또한 이 세균은 동물의 구강에서도 흔히 분리되는데 개와의 접촉으로 인해 *H. aphrophilus*에 감염된 사례가 보고되었다[11,13]. 과거 국내 보고된 심내막염 2예의 경우 모두 선행 요인을 가지고 있었는데 한 환자는 심실중격결손이 있었으며 다른 환자의 경우 특별한 과거력은 없었지만 발병하기 전에 상기도 감염 증상과 치과 치료의 병력이 있었다[5,6]. 본 증례의 환자는 내원 전 치과 치료를 받은 병력은 없었으나 입원치료 중에 만성 치주염을 진단받았고, 심내막염의 감염원으로 판단하여 치료하였다. 또한 환자는 심부전증과 감염성 색전에 의한 뇌농양 등의 합병증이 발생하였다. 색전증은 감염성심내막염의 흔한 합병증이며, *H. aphrophilus*에 의한 심내막염에서 색전증이 잘 발생하는것으로 알려져 있다[5].

과거에는 HACEK 군 세균에 의한 심내막염 치료에 ampicillin과 gentamicin의 병합 투여하는 것이 일반적이었다[8]. 현재까지 국내, 외에서 보고된 *H. aphrophilus*는 대부분 ampicillin을 비롯한 다수의 항균제에 감수성을 보였고[5,6,14], 본 증례의 분리주도 모든 시험항균제에 감수성이었다. 그러나 일부 *Haemophilus* 균종이 플라스미드성 β -lactamase를 생성하여 ampicillin 내성을 보이고 있

어 ampicillin 대신 β -lactamase에 안정한 cephalosporin이 치료 요법에 포함되어야 한다고 하였다[8]. *H. aphrophilus*와 함께 분리된 CNS는 penicillin에는 내성이었으나 oxacillin과 vancomycin에 감수성이었다.

복합세균 감염에 의한 심내막염은 전체 인공판막심내막염의 3-7% 정도로 드물며[7], *H. aphrophilus*와 CNS 동시 감염은 보고되지 않았다. 환자는 응급실에서 시행한 세 쌍의 혈액배양 모두에서 *H. aphrophilus*와 CNS가 동시에 증식하여 teicoplanin, ceftriaxone, gentamicin을 투여받았다. 그 후 인공대동맥판막 배양에서 *H. aphrophilus*만이 분리되어 복합세균 감염성심내막염을 증명할 수 없었으나 환자가 응급실에서 바로 항균제를 투여받았기 때문인 것으로 추정하였다.

참 고 문 헌

1. Kilian M. Haemophilus. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of clinical microbiology. 8th ed. Washington; ASM press, 2003; 623-35.
2. Chong Y, Kim TS, Lee SY, Sul JH, Yang SI, Lee EW. Isolation of *Haemophilus aphrophilus* from Five Clinical Specimens. J Korea Soc Microbiol 1985;20:73-7.
3. Weyant RS, Moss CW, Weaver RE, Hollis DG, Jordan JG, Cook EC, et al. Identification of Unusual Pathogenic Gram-Negative Aerobic and Facultatively Anaerobic Bacteria. 2nd ed. Baltimore; Williams & Wilkins, 1996; 370-1
4. Paju S, Carlson P, Jousimies-Somer H, Asikainen S. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Haemophilus aphrophilus* in systemic and nonoral infections in Finland. APMIS 2003;111:653-7.
5. Park SS, Hong SI, Park MH, Suk JS, Kim SI. Isolation of *Haemophilus aphrophilus* from the Blood of a Patient with Subacute Bacterial Endocarditis. J Clin Pathol and Quality Assurance 1985;7:43-7.
6. Cha CH, Shin HB, Jang S, Kim MK, Kim YS, Song JK, et al. A Case of *Haemophilus aphrophilus* Endocarditis. Korean J Clin Microbiol 2003;6:172-6.
7. Mylonakis E and Calderwood SB. Infective endocarditis in adults. N Engl J Med 2001;345:1318-30.
8. Brouqui P and Raoult D. Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. Clin Microbiol Rev 2001;14:177-207.
9. Dogan B, Asikainen S, Jousimies-Somer H. Evaluation of two commercial kits and arbitrarily primed PCR for identification and differentiation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, and *Haemophilus paraphrophilus*. J Clin Microbiol 1999;37:742-7.
10. Huebner J and Goldmann DA. Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens. Annu Rev Med 1999;50:223-36.
11. Isom JB, Gordy PD, Selner JC, Brown LJ, Willis M. Brain Abscess Due To *Haemophilus Aphrophilus*. N Engl J Med 1964;271:1059-61.
12. Akhondi H and Rahimi AR. *Haemophilus aphrophilus* endocarditis after tongue piercing. Emerg Infect Dis 2002;8:850-1.
13. Abla AA, Maroon JC, Slifkin M. Brain abscess due to *Haemophilus aphrophilus*: possible canine transmission. Neurosurgery 1986;19:123-4.
14. Colson P, La Scola B, Champsaur P. Vertebral infections caused by *Haemophilus aphrophilus*: case report and review. Clin Microbiol Infect 2001;107-13.

Isolation of *Haemophilus aphrophilus* and Coagulase-Negative Staphylococci from the Blood of a Patient with Prosthetic Valve Endocarditis

Chang Ki Kim¹, Injoo Cho¹, Youn Hee Park¹, Kyoung Ho Roh¹, Dongeun Yong^{1,3,4},
Kyungwon Lee^{1,3,4}, June Myung Kim^{2,3,4}, and Yunsop Chong^{1,3}

*Departments of Laboratory Medicine¹, Internal Medicine²; Research Institute of Bacterial Resistance³;
and Brain Korea 21 Project for Medical Sciences⁴, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea*

Haemophilus aphrophilus is a facultative anaerobic, gram-negative coccobacillus or bacillus and its growth is stimulated by 5 to 10% CO₂. Most *Haemophilus* species require either exogenous X or V factor or both to grow, but *H. aphrophilus* can grow without these factors. *H. aphrophilus* rarely causes invasive infections such as endocarditis, septicemia, pneumonia and peritonitis in human. Two cases of infective endocarditis by *H. aphrophilus* have been reported in Korea. However, there has been no report of polymicrobial endocarditis by *H. aphrophilus* and other bacteria. We isolated *H. aphrophilus* and coagulase-negative staphylococci (CNS) from the blood of a 38-year-old woman with prosthetic valve endocarditis. She underwent an emergent operation and a culture of the prosthetic valve grew *H. aphrophilus*. Brain abscess was developed at hospital day 11. *H. aphrophilus* was susceptible to all antibiotics tested such as ampicillin and cefotaxime, and CNS was susceptible to oxacillin and vancomycin. The patient responded well to therapy with ceftriaxone, teicoplanin, and gentamicin. (*Korean J Clin Microbiol* 2006;9(1):71-75)

Keywords: *Haemophilus aphrophilus*, Coagulase-negative staphylococci, Endocarditis

Address reprint requests to : Dongeun Yong, M.D., Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, 134 Shinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea.
TEL. +82-2-361-5866 FAX. +82-2-313-0908 E-mail: deyong@yumc.yonsei.ac.kr