

임상검체에서의 *Haemophilus aphrophilus* 분리 5예

연세대학교 의과대학 임상병리과¹, 소아과² 치과대학 구강의과³

정윤섭¹·김태숙¹·이삼열¹·설준희²·양성익³·이의웅³

- Abstract -

Isolation of *Haemophilus aphrophilus* from Five Clinical Specimens

Yunsop Chong¹, Tae-Sook Kim¹, Samuel Y. Lee¹, Jun-Hee Sul², Sung-Ik Yang³
and Eui-Wung Lee³

Departments of Clinical Pathology¹ and Pediatrics², Yonsei University College of Medicine,
and Department of Oral Surgery³, Yonsei University, College of Dentistry, Seoul, Korea

Haemophilus aphrophilus is a fastidious gram-negative bacillus found in mouth of normal individuals. Though *H. aphrophilus* infection is quite rare, it includes such serious ones as endocarditis and brain abscess. The authors isolated *H. aphrophilus* from five patients with the diagnosis of lung abscess, conjunctivitis, brain abscess and facial masticator space abscess. Two of the patients died. Three of the patients also yielded other species of bacteria from the same specimens. One of the isolate was intermediately susceptible to amikacin and resistant to tobramycin, indicating the necessity of a routine susceptibility test in order to select the proper antimicrobial agents. Since *H. aphrophilus* can be differentiated from other similar organisms by morphological and biochemical characteristics, one should determine the possibility of this organism when fastidious gram-negative bacilli are isolated from blood or from sites adjacent to upper respiratory tract.

서 론

증 례

*Haemophilus aphrophilus*는 호기성 그람음성 간균이며, 5~10%의 CO₂가 있을 때 증식이 촉진된다¹⁰. 이 세균은 genus *Haemophilus*에 분류되어 있으나 X-인자나 V-인자없이 증식이 된다. 1940년에 Khairat는 심내막염 환자의 혈액에서 이 세균을 처음으로 분리하였고 이어서 이 세균은 정상 구강의 1/3에서 분리가 보고되었다¹⁰. 그 감염이 흔하지는 않으나 감염증 중에서는 심내막염이 가장 많고, 드문 감염증으로는 뇌농양, 균혈증, 폐렴, 복막염, 창상감염이^{3,7-10,15,16,18-20} 보고되어 있다. 그 치명율은 심내막염의 경우는 약 30%이고 뇌농양의 경우는 약 50%이다¹⁰. 이 세균은 배양과 동정이 쉽지 않아서^{4,12,13} 그 감염을 모르고 지나가는 경우도 있을 것으로 생각된다.

저자들은 지난 11년 사이에 5명의 환자에서 이 세균을 분리하였으며 그중 2명의 환자는 사망한 예를 경험하였기에 이에 보고하는 바이다.

증례 1은 1974년 10월 19일에 폐농양으로 진단된 41세의 남자(unit. no. 61421)로 흉수의 배양에서 소수의 *H. aphrophilus*(균주번호 74-10-819)와 함께 다수의 *Peptostreptococcus intermedius*가 분리되었다.

증례 2는 1977년 5월에 폐농양으로 진단된 56세의 남자(unit no. 793329)이었다. 객담의 배양에서 다수의 *H. aphrophilus*(균주 번호 77-5-1072)와 함께 중등도의 α-용혈성 연쇄구균과 중등도의 비병원성 *Neisseria*가 분리되었다.

증례 3은 3개월된 남아(unit no. A1379864)로 출생 직후부터 눈에서 농성 분비물이 나와서 1983년 4월 21일 내원한 환자였다. 누낭(lacrimal sac)을 눌러서 채취한 검체에서 다수의 *H. aphrophilus*(균주 번호 83-4-2516)와 함께 다수의 *Staphylococcus aureus*가 분리되었다.

증례 4는 2년 3개월의 여아(unit no. A1213705)로 10일간의 구토와 좌측 편측부전마비(hemiparesis)를 주소로 1984년 4월 3일에 입원하였다. 이 환

Table 1. Clinical conditions of the patients from whom *H. aphrophilus* was isolated

Case	Age (yr)	Sex	Diagnosis	Other organism isolated
1	41	m	Lung abscess	<i>P. intermedius</i> †
2	56	m	Lung abscess	α -hemolytic <i>Streptococcus</i> † Nonpathogenic <i>Neisseria</i> †
3	3/12	m	Conjunctivitis	<i>S. aureus</i> †
4	2 $\frac{3}{12}$	f	Brain abscess	None ^a
5	17	m	Abscess, masticator space, Face	None

^aSmear of spinal fluid showed small number of gram-positive cocci in pairs.

자는 단일심실, 단일심방, 단일방실파막, 동맥관개방(patent ductus arteriosus), 폐동맥 협착증(pulmonary stenosis)등의 선천성 심장질환을 가지고 있었다. 체온은 입원시 39.5°C이었고, 말초혈액 검사소견은 leukocyte 12,300/ μ l (segmented neutrophil 89%, band 2%, lymphocyte 9%) erythrocyte 6,630,000/ μ l, hemoglobin 22.3g/dl, hematocrit 72% 이었다. 척추액의 소견은 leukocyte 39,500/ μ l, protein 415 mg/dl, glucose 2 mg/dl이었다. 척수액의 도말표본에서는 다수의 백혈구와 소수의 그람양성 쌍구균이 관찰되었고 배양에서는 소수의 *H. aphrophilus*(균주 번호 84-4-2073)가 분리되었다. 2회 시행된 혈액배양은 모두 음성이었다. 환자에게는 ampicillin 등의 항생제가 투여되었으나 호전되지 않았고 brain CT scan에서 측두두정골(temporoparietal)부위에 2개의 큰 농양이 관찰되었다. 수술을 권했으나 이를 거부하고 중독한 상태로 입원 제 8일에 환자는 퇴원하였고 사망하였다.

증례 5는 17세의 남자(unit no. 1557252)로 4개월간의 안면부 좌측 협부의 동통과 종창을 주소로 1984년 8월 28일 내원하였다. 좌측하악골 우각부에는 10 cm 크기의 발적, 종창 및 동통이 있었고, 개구장애 및 연하장애를 나타내었다. 또한 좌측 하악부 림프절증과 제 3대구치주위의 치주종창이 있었다. 환자는 발열 및 오한이 있었으며, X선 소견상 좌측하악골 우각부의 만성골수염이었고 동안면부에 누공이 있었다. 말초혈액 소견은 leukocyte 15,900/ μ l (segmented neutrophil 74%, band 4%, eosinophil 2%, lymphocyte 17%, monocyte 3%)이었다. 환부의 절개와 배농이 시행되었고, 그 검체에서 소수의 *H. aphrophilus*가 단독으로 배양되었다. bacampicillin이 투여되었으나 호전되지 않아서 입원 제 9일에 골수염 수술을 구강외로 전신마취하에 시행하였고, penicillin G와 gentamicin이 투여되었으나 호전되지 않았으며, 39°C 내외의 고열이 지속되었다. 환자는 무뇨, 상복부 통증, 구토등의 소견을

보인 다음날인 입원 제23일에 사망하였다.

재료 및 방법

검체는 혈액한천, MacConkey한천 및 Brewer thioglycollate medium에 접종하였고 35°C의 CO₂ 배양기에 배양하였다. 척수액과 눈에서 채취한 검체는 chocolate한천에도 접종하였고 혐기성배양이 의뢰된 폐농양 환자의 객담은 phenylethanol 혈액한천에 접종하여 GasPak(BBL)을 써서 혐기성으로 배양하였다.

증식된 세균의 동정은 Kilian¹¹⁾과 Weaver등¹²⁾에 따랐다.

감별시험은 재래식 방법에 의하였다. 즉 V-인자의 요구성은 *Staphylococcus* 획선 주위에서의 위성현상과 V-인자 disk를 써서, X-인자의 요구성은 X-인자 disk를 써서 시험하였다. indole시험은 Motility indole ornithine medium(Difco)에 접종하여 Kovac시약으로 시험하였고, urease시험은 Christenson urea agar로, 탄수화물에서의 산이나 가스 생성은 Cystein tryptic agar(Difco)에 0.5%~1%의 탄수화물을 첨가하여 시험하였다.

Catalase시험은 3% H₂O₂를 써서, oxidase시험은 p-aminodimethylaniline oxalate 1% 수용액을 써서, 질산염 환원 시험은 sulfanilic acid와 α -naphthylamine시약을 써서 시험하였다. 항생제 감수성 시험은 Kirby-Bauer법에¹³⁾ 따랐으나 배지는 혈액한천을 사용하였다.

성적

11년간에 *H. aphrophilus*가 분리된 환자는 5명이었다. 폐농양 환자의 흉수에서는 다수의 *P. intermedius*와 함께, 또 다른 폐농양환자의 객담에서는 α -용혈성 *Streptococcus* 및 비병원성 *Neisseria*와 함께, 결막염 환자에서는 다수의 *S. aureus*와 함께

Table 2. Characteristics of *H. aphrophilus* isolates

Test	<i>H. aphrophilus</i> ^a	Reaction of isolate:				
		74-10-819	74-5-1072	83-4-2516	84-4-2089	84-8-2719
V-factor requirement	- ^b	-	-	-	-	-
X-factor requirement	-	-	-	-	-	-
Indole production	-	-	-	-	-	-
Urease	-	-	-	-	-	-
Hemolysis	-	-	-	-	-	-
Gas from glucose	+	+	-	-	+	-
Acid from glucose	+	+	+	+	+	+
lactose	+	+	+	+	+	+
maltose	+	+	+	+	+	+
mannitol	-	-	-	-	-	-
sucrose	+	+	+	+	+	+
xylose	-	-	-	-	-	-
Catalase	-	-	NT	NT	-	W
Oxidase	-	W	NT	+	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+
TSI slant acid	+	+	+	+	+	+
butt acid	+	+	+	+	+	+
gas	+/-	-	-	-	+	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	-

^aAdapted from Kilian and Biberstein (1984) and Weaver et al. (1979).

^b+, positive; -, negative; w, weak positive; NT, not tested.

Table 3. Antimicrobial susceptibility of *H. aphrophilus* isolates

Antimicrobial agent	Susceptibility of:	
	74-10-819	84-4-2073
Ampicillin	S ^a	S
Cephalothin	NT	S
Chloramphenicol	S	S
Tetracycline	S	S
Amikacin	NT	I
Gentamicin	S	S
Kanamycin	S	S
Tobramycin	NT	R
Cotrimoxazole	NT	S

^aS, susceptible; I, intermediate; R, resistant; NT, not tested.

*H. aphrophilus*가 분리되었다. 안면부 협부 농양에서는 단독으로 분리되었고, 뇌종양 환자의 척수액에서는 도말 표본에서는 그람양성 쌍구균이 관찰되었으나 *H. aphrophilus*가 단독으로 분리되었다 (Table 1).

분리된 균주들은 그람음성인 작은 간균이었다. 혈

액한천에는 연한 황색의 불투한 작은 집락이 형성되었고 그 증식은 CO₂ 배양시 더 양호하였다. Thioglycollate medium에서는 과립상 증식을 보였다. X나 V인자를 필요로 하지 않았으며, TSI에서는 산성 사면과 고층을 보였으며, 1주는 가스도 생성하였다. 질산염 환원 은 모두 양성 이었고, oxidase 반응은 균주에 따라서 달랐다. 산생성이 glucose, lactose, maltose, sucrose에서는 양성, mannitol과 xylose에서는 음성이었다. 그밖의 성상은 Table 2와 같았다. 항균제 감수성은 amikacin과 tobramycin을 제외한 항균제에 감수성이었다 (Table 3).

고 찰

*H. aphrophilus*는 구강의 상재균으로 35%의 건강 성인에서 배양되지만¹⁶⁾ 이 세균이 임상검체에서 드물게 분리되는 것은 영양 요도가 높고 느리게 증식되기 때문으로 생각된다. 이 세균감염 보고는 흔하지 않는데, 보고된 예는 대부분이 심내막염이고 다음으로는 뇌농양이며, 균혈증, 폐렴, 복막염, 창상감염, 골수염 등도 있다.^{8, 10, 11, 18)} 다른 기회감염 세

균과 마찬가지로 이 세균도 기존질환을 가진 환자에 감염을 일으키는 일이 많다¹⁵⁾.

저자들의 5예중 제1예는 폐농양 환자로 흉수에서 분리되었으므로 이 세균이 감염에 관련되었음이 분명하다고 하겠다. 그러나 *P. intermedius*가 동시에 분리되었으므로 혼합감염을 일으킨 것으로 생각할 수 있을 것이다. 제2예인 폐농양 환자에서는 다른 검체를 채취하지 못하여 객출된 담을 혐기성 배양에 사용하였고 *H. aphrophilus*가 분리되었다. 다른 병원성 세균은 분리되지 않았으나 상기도의 상재균이 동시에 분리되었으므로 이 세균도 상재균으로 있던 것이 분리되었을 가능성을 배제할 수는 없다. 제3예의 환자는 결막염이었고 누낭의 분비물에서 이 세균이 분리되었으므로 상재균이 분리된 것이라고 할 수는 없다. 그러나 다수의 *S. aureus*와 동시에 분리되었으므로 이 경우 또한 혼합감염을 일으킨 것이라고 생각된다. 제4예의 환자는 최초에는 수막염이 의심되었으나 뇌종양으로 밝혀졌다. 척수액의 도말표본에서는 그람양성 쌍구균이 관찰되어서 폐렴구균이 배양될 것으로 기대했으나 *H. aphrophilus*만이 배양되었다. 검체 채취전에 다른 병원에서 투여한 항생제가 그람양성 구균의 증식을 억제하였을 것으로 생각된다. 뇌농양은 혼합감염이 많은 것으로 미루어 볼때 이 환자도 혼합감염이었을 것으로 생각된다. 이 환자가 가진 선천성 심장질환은 뇌농양의 선행요인이 되었을 것으로 생각된다. 제5예의 환자는 하악 연조직의 농양에서 이 세균이 단독으로 분리되었으므로 감염균이었음이 분명하다고 하겠으나, 골수염의 원인균도 이 세균이었는지는 알 수 없다. 이 환자는 사망하였는데 Kraut 등¹⁶⁾에 의하면 이 세균에 의한 뇌농양 환자의 치명율은 54.5%이다. Ho 등¹⁰⁾은 수술후 열상후 골수염이 된 1예가 penicillin G 투여로 치유되었음을 보고하고 있으나 저자들의 제5예인 하악 골수염 환자는 외과적 수술과 bacampicillin, gentamicin, penicillin G 등의 투여가 무효이었고 사망하였다.

*H. aphrophilus*는 영양요구도가 크고 느리게 증식하는데 이와 유사하며 구강에 상재하고 심내막염등을 일으키므로 감염을 요하는 세균에는 *Actinomyces actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga*, *Cardiobacterium hominis*, *H. parainfluenzae*, *H. paraphrophilus* 등이 있다. 이들 중에서 그 성상이 가장 유사하여 *H. aphrophilus*와 특히 감별을 요하는 것은 *A. actinomycetemcomitans*와 *E. corrodens*로 알려져 있다.^{4, 11, 12, 13)} 저자들은 *E. corrodens*와 *A. actinomycetemcomitans*는 분리보고한 바 있으나^{1, 2, 5, 6)} *H. aphrophilus*의 분리는 보

고한 바가 없다. 분리균주는 TSI에 산을 생성하고, corroding colony를 형성하지 않으며, oxidase가 음성이거나 약한 양성이므로 *E. corrodens*가 아님을 알 수 있었다. 또한 분리주들은 catalase가 음성이거나 약한 양성이며, indole이 음성이므로 *C. hominis*가 아님을 알 수 있었고, lactose에서 산을 생성함으로 *A. actinomycetemcomitans*가 아님을 알 수 있었다.

*H. aphrophilus*가 genus *Haemophilus*에 분류되어 있으나 증식을 위해 X나 V인자를 필요로 하지 않는 점이 다른 균종과 다르다. 이 두 인자를 필요로 하지 않는 또다른 *Haemophilus*에는 *H. hemoglobinophilus*와 *H. ducreyi*가 있다^{12, 14)}.

이 세균은 neomycin, oxacillin, ampicillin에 내성임이^{8, 16)} 보고된 바 있다. Ho 등¹⁰⁾의 분리주는 aminoglycoside의 최소저지 농도가 비교적 높아서 gentamicin 8 µg/ml, tobramycin 16 µg/ml임을 보고한바 있는데 저자들이 제4예에서 분리한 균주는 amikacin에는 intermediate, tobramycin에는 내성인 결과를 보였다. 다른 항균제에는 감수성이 있음에도 불구하고 뇌농양 환자에게는 항균요법이 효과가 없었다. 이것은 외과적 치료를 항균요법이 대신할 수 없음을 보인것이라고 하겠다. 제5예인 하악골수염 환자는 외과적 치료와 항균요법을 같이 시행하였는데도 사망하였다.

심내막염 환자의 혈액, 뇌농양 검체, 혼은 상기도 인접조직의 감염에서 영양요구도가 크고 느리게 증식하는 작은 그람음성 간균이 분리되었을때는 그 감염이 드물지만 *H. aphrophilus*의 가능성도 검토하여야 할 것이다.

결 론

1974~83년 사이에 폐농양, 결막염, 뇌농양 혹은 하악골 골수염인 5명의 환자 검체에서 *H. aphrophilus*를 분리하였다. 이 환자들 중 2명은 사망하였다. 3명의 환자에서는 이 세균과 함께 다른 세균이 동시에 분리되었다. 분리된 1주는 일부 항생제에 내성이었으며 따라서 임상검체에서 이 세균이 분리되면 감수성 검사를 하고 그 결과에 따라서 항생제를 선택하는 것이 좋을 것으로 생각되었다.

*H. aphrophilus*는 형태와 생화학적 성상을 가지고 다른 유사한 균종으로 부터 감별할 수 있으므로, 혈액이나 상기도 인접 조직의 감염에서 영양요구도가 크고 느리게 증식하는 그람음성 간균이 분리되었을때는 이 세균의 가능성도 검토하여야 할 것이다.

83-4-2516와 84-4-2089 두 균주의 동정을 확인하여 준 미국 CDC의 Dr. Robert E. Weaver와 세균분

리와 동정을 도와준 임상병리과 박홍자, 권용재씨에 감사한다.

참 고 문 헌

- 1) 권오현 · 최영숙 · 정윤섭 · 이삼열 : 위암 수술후에 생긴 농흉 천자액에서의 *Eikenella corrodens*의 분리. 대한병리학회지, 12 : 413, 1978.
- 2) 이영순 · 임창현 · 정윤섭 · 이삼열 : 임상검체에서의 *Eikenella corrodens* 분리. 대한임상병리학회지, 4 : 123, 1984.
- 3) Bieger RC, Brewer NS and Washington JA : *Haemophilus aphrophilus*: a microbiologic and clinical review and report of 42 cases. *Medicine* 57 : 345, 1978.
- 4) Bottone EJ, Kittick J Jr and Schneiersson SS : Isolation of bacillus HB-1 from human clinical sources. *Amer. J. Clin. Pathol.* 59 : 560, 1973.
- 5) Chong Y, Lee KW, Lee SY and Cho SY : Isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from the blood of a patient with subacute bacterial endocarditis. *Yonsei Med. J.* 24 : 54, 1983.
- 6) Chong Y, Lee SH and Lee SY : *Actinomyces israelii* and *Eikenella corrodens* isolation from a pleural effusion case. *Yonsei Med. J.* 13 : 50, 1972.
- 7) Ellner JJ, Rosenthal MS, Lerner PI and McHenry MC : Infective endocarditis caused by slow-growing, fastidious, gram-negative bacteria. *Medicine* 58 : 145, 1979.
- 8) Elster SK, Mattes LM, Meyers BR and Jurado RA : *Haemophilus aphrophilus* endocarditis: Review of 23 cases. *Amer. J. Cardiol.* 35 : 72, 1975.
- 9) Enck R and Bennett JM : Isolation of *Haemophilus aphrophilus* from an adult with acute leukemia. *J. Clin. Microbiol.* 4 : 194, 1976.
- 10) Ho JL, Soukiasian S, Oh WH and Snyderman DR : *Haemophilus aphrophilus* osteomyelitis. *Amer. J. Med.* 76 : 159, 1984.
- 11) James AL and Robinson JVA : A comparison of the biochemical activities of *Bacteroides corrodens* and *Eikenella corrodens* with those of certain other gram-negative bacteria. *J. Med. Microbiol.* 8 : 59, 1975.
- 12) Kilian M : A taxonomic study of the genus *Haemophilus*, with the proposal of a new species. *J. Gen. Microbiol.* 93 : 9, 1976.
- 13) Kilian M : *Haemophilus*. P. 330. In Lennette EH, Balows A, Hausler WJ Jr, Truant JP (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 3rd ed. Am. Soc. Microbiol., Washington, D.C., 1980.
- 14) Kilian M and Biberstein EL : Genus II. *Haemophilus*, p. 558. In Krieg NR (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. 1. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1984.
- 15) King EO and Tatum HW : *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Haemophilus aphrophilus*. *J. Infect. Dis.* 111 : 85, 1962.
- 16) Kraut MS, Attebery HR, Finegold SM and Sutter VL : Detection of *Haemophilus aphrophilus* in the human oral flora with a selective medium. *J. Infect. Dis.* 126 : 189, 1972.
- 17) NCCLS : Performance standards for antimicrobial disc susceptibility test. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, 1979.
- 18) Page MI and King EO : Infection due to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Haemophilus aphrophilus*. *N. Engl. J. Med.* 275 : 181, 1966.
- 19) Root TE, Silva EA, Edwards LD and Topp JH : *Haemophilus aphrophilus* endocarditis with a probable primary dental focus of infection. *Chest* 80 : 109, 1981.
- 20) Sutter VL and Finegold SM : *Haemophilus aphrophilus* infections: clinical and bacteriologic studies. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 174 : 468, 1970.
- 21) Weaver, RE, Tatum HW and Hollis DG : The identification of unusual pathogenic gram-negative bacteria. Center for Disease Control, Atlanta, 1979.