

## A Case of Pyogenic Spondylitis Due to *Aggregatibacter aphrophilus*

Kye-Hyung Kim<sup>1</sup>, Namhee Kim<sup>2</sup>, Kyung-Hwa Shin<sup>2</sup>, Shine Young Kim<sup>2</sup>,  
Chulhun L. Chang<sup>2</sup>, Jongyoun Yi<sup>2</sup>

Departments of <sup>1</sup>Internal Medicine and <sup>2</sup>Laboratory Medicine,  
Pusan National University School of Medicine, Yangsan, Korea

*Aggregatibacter aphrophilus*, a normal component of oral cavity flora, mostly causes infective endocarditis and only rarely causes spondylitis; no spondylitis cases have been previously reported in Korea. We report a case of pyogenic spondylitis due to *A. aphrophilus* without endocarditis. A 64-year-old man was admitted for back pain lasting 3 weeks. There was severe tenderness on lumbar spines but no fever. Laboratory evaluation showed leukocytosis and elevated C-reactive protein. Blood cultures were negative. Magnetic resonance imaging showed psoas abscess and vertebral inflammation. Pus was obtained by computerized tomography-guided aspiration from the psoas abscess and inoculated into blood culture bottles. After 5 days of incubation, growth was detected: the isolate was a Gram-negative short

rod bacteria identified as *A. aphrophilus* by the automated system; this was confirmed by 16S ribosomal RNA sequencing. There was no evidence of endocarditis in echocardiography and retinal examination. Back pain persisted despite 8 weeks of antibiotic treatment, so vertebral corpectomy was performed. *A. aphrophilus*, a rare cause of pyogenic spondylitis, can induce spondylitis without endocarditis. If a patient with pyogenic spondylitis shows negative routine bacterial cultures, fastidious organisms such as *A. aphrophilus* should be suspected and the blood culture bottles could be used. (**Ann Clin Microbiol 2014; 17:99-103**)

**Key Words:** *Aggregatibacter aphrophilus*, Pyogenic spondylitis, Vertebral osteomyelitis

### INTRODUCTION

*Aggregatibacter aphrophilus*는 산소성 발효성 그람음성 짧은 막대균으로, HACEK군중(*Haemophilus aphrophilus* (현재는 *Aggregatibacter aphrophilus*로 변경); *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (현재는 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*로 변경); *Cardiobacterium hominis*; *Eikenella corrodens*; *Kingella kingae*) 중 하나이다[1]. *A. aphrophilus*는 구강 정상 균무리로 특히 치아 사이나 치태에 존재한다. 이 균은 1940년대에 심내막염 환자의 혈액배양에서 처음으로 보고된 이후 심내막염 증례는 지속적으로 보고되고 있으며, 국내에서도 현재까지 총 4개의 *A. aphrophilus* 심내막염 증례가 보고되었다[1-5]. 이 균은 드물게 뇌농양, 균혈증, 폐렴 등도 일으킬 수 있다고 알려져 있으나[6,7], 국내에서 심내막염 이외의 증례로 보고된 바는 없다.

### CASE REPORT

64세 남자가 3주 전부터 시작된 허리 통증을 주소로 내원하였다. 환자는 3년 전 진단된 고혈압과 6개월 전 진단된 당뇨를 기저질환으로 가지고 있었다. 3주 전 허리 통증이 발생한 시기에 혈당 조절이 잘 되지 않았다. 응급실 내원 시 체온 36.3°C, 혈압 110/70 mmHg, 맥박 105회/분, 호흡수 18회/분이었다. 허리 통증은 가만히 있을 때나 움직일 때나 계속 있었고, 앉아 있을 때 가장 통증이 심했다. 식욕 부진이 있었으나 그 외 다른 증상은 없었다. 환자는 인근 병원 정형외과에서 허리 통증에 대해 acetaminophen과 prednisolone을 투여 받은 후에도 증상이 호전되지 않아 본원을 방문하였다. 환자는 급성 병색을 보였고, 신체 검진에서 요추 3-5번 사이에 압통이 있었다. 그 외 특이 소견은 관찰되지 않았다. 입원 시 시행한 전체혈구계산 검사에서 백혈구 11,480/ $\mu$ L (호중구 83.6%, 림프구 10.3%), 혈색소

Received 10 March, 2014, Revised 8 June, 2014, Accepted 9 June, 2014

Correspondence: Jongyoun Yi, Department of Laboratory Medicine, Pusan National University School of Medicine, 49 Busandaehak-ro, Mulgeum-eup, Yangsan 626-870, Korea. (Tel) 82-51-240-7417, (Fax) 82-51-240-7413, (E-mail) csm410@naver.com

© The Korean Society of Clinical Microbiology.

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

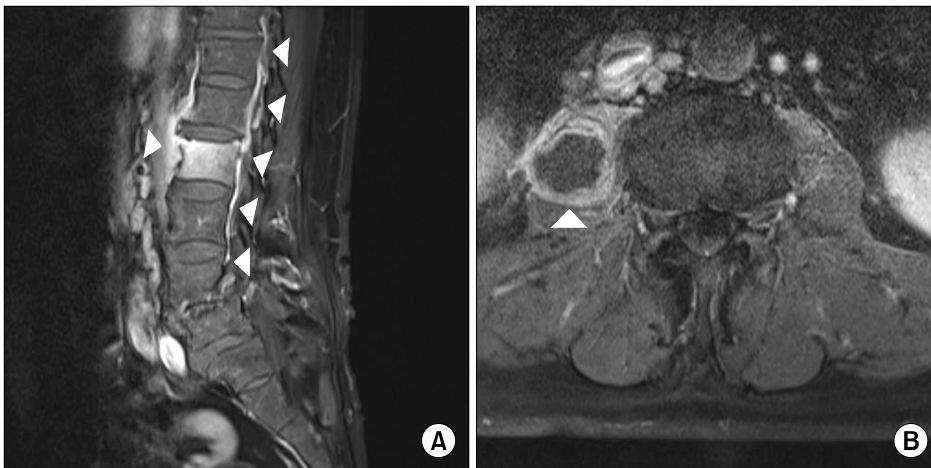
13.7 g/dL, 혈소판 286,000/ $\mu$ L였다. C-반응단백질이 16.09 mg/dL로 많이 상승되어 있었고, 생화학 검사 결과는 정상 범위 내였다. 내원 당시 시행한 세 쌍의 혈액배양에서는 균이 증식하지 않았다. 허리 통증이 심하고 백혈구 및 C-반응단백질이 증가되어 있어, 화농성 척추염을 의심하여 요추 자기공명영상을 촬영하였다.

자기공명영상에서 1번 요추의 끝판과 척추뼈몸통, 그리고 1번 요추부터 1번 천골까지의 척추열 농양 및 척추원반염, 오른쪽 허리근고름집이 관찰되었다(Fig. 1). 이에 화농성 척추염으로 판단하고 경험적 항균제로 cefazolin을 투여하기 시작하였다.

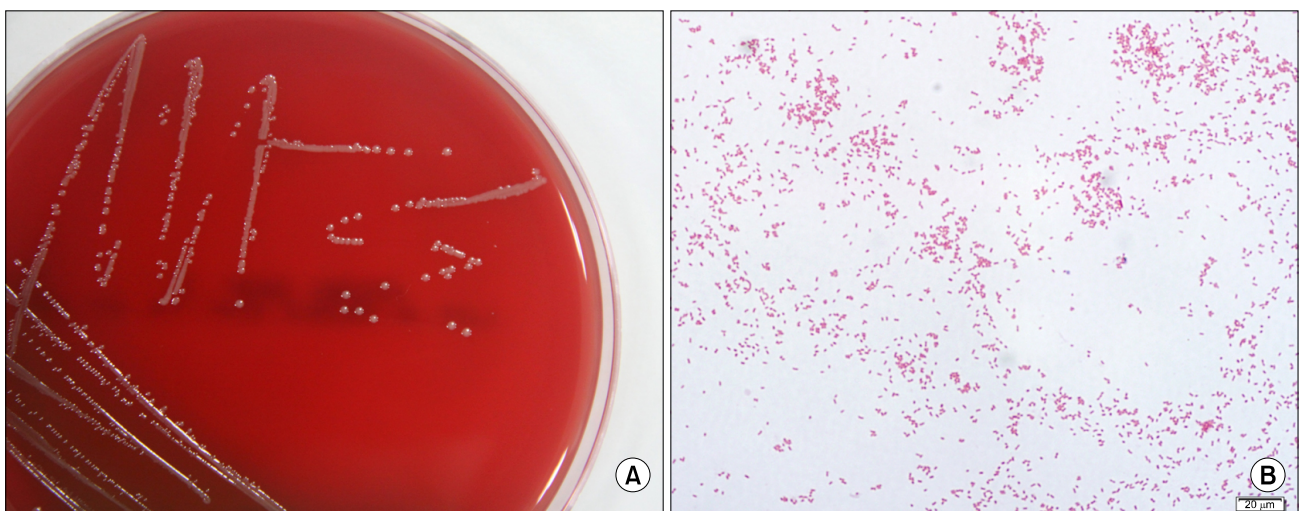
입원 5일째에 오른쪽 허리근고름집에서 컴퓨터단층촬영 유도하에 흡인을 하였다. 흡인한 고름을 혈액한천배지와 MacConkey 한천배지, brucella 한천배지에서 2일간 배양했을 때는 균 증식이 확인되지 않았으나, 혈액배양병에 넣어 배양하였더니 배양

5일째에 균 증식이 확인되었다. 균이 증식한 혈액배양병(BacT/ALERT FA, bioMérieux, Inc., Marcy-l'Etoile, France)에서 배양액을 취하여 그람염색한 결과 짧은 그람음성막대균이 관찰되었다. 그람염색 결과를 확인한 후 항균제는 ceftriaxone으로 변경하였다. 이 분리주를 고형 배지에 계대배양 하였더니 혈액한천배지에서 흰색을 띄는 작은 집락이 관찰되었고, MacConkey 한천배지에서는 집락이 자라지 않았다(Fig. 2A). 균 집락의 그람염색에서도 짧은 그람음성막대균이 관찰되었다(Fig. 2B). 이 균은 생화학적 검사에서 과산화수소분해효소 음성, 산화효소 음성이었으며, Vitek 2 system (bioMérieux, Inc.)에서 NH Card로 동정한 결과 *Aggregatibacter aphrophilus*였다(Table 1).

상기 동정 결과를 확인하기 위해 16S ribosomal RNA (rRNA) 유전자 염기서열 분석을 시행하였다. MicroSeq 500 16S rDNA Bacterial Identification PCR and Sequencing Kits (Applied



**Fig. 1.** Sagittal (A) and axial (B) gadolinium-enhancement T1-weighted magnetic resonance imaging scans of the lumbar spine on hospital admission. Enhancement of endplate of L1, the vertebral body of L2 and the paravertebral spaces from L1 to S1 (A, arrowheads). A large lesion with low signal intensities and peripheral enhancement in the right psoas muscle (B, arrowhead).



**Fig. 2.** (A) Colonies grown on a blood agar plate after 36 hours of incubation in 5% CO<sub>2</sub> at 35°C. The 1 mm-sized white colonies with no hemolysis are shown. (B) Gram stain microscopy of a colony grown on the blood agar plate. Gram-negative short rods are shown (Gram stain,  $\times 1,000$ ).

**Table 1.** Selected key biochemical reactions of *Aggregatibacter aphrophilus* and the isolate of this study

| Reaction                                    | <i>A. aphrophilus</i> <sup>a</sup> | The isolate of this study <sup>b</sup> |
|---|------------------------------------|--|
| Urease                                      | -                                  | -                                      |
| Ornithine decarboxylase                     | -                                  | -                                      |
| Indole                                      | -                                  | N/A                                    |
| O-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside | +                                  | N/A                                    |
| $\beta$ -galactopyranosidase indoxyl        | N/A                                | +                                      |
| Acid from:                                  |                                    |  |
| Glucose                                     | +                                  | +                                      |
| Lactose                                     | + <sup>D</sup>                     | N/A                                    |
| Sucrose                                     | +                                  | +                                      |
| Xylose                                      | v                                  | -                                      |
| Mannose                                     | +                                  | +                                      |
| Maltose                                     | +                                  | +                                      |
| Mannitol                                    | -                                  | N/A                                    |
| Trehalose                                   | + <sup>D</sup>                     | N/A                                    |
| Melibiose                                   | v                                  | N/A                                    |

<sup>a</sup>Data are from reference 6. +,  $\geq 90\%$  of strains positive; -,  $\geq 90\%$  of strains negative; v, variable; D, delayed reaction.

<sup>b</sup>Results of Vitek 2 NH Card.

Abbreviation: N/A, not available.

Biosystems, Foster City, CA, USA)를 이용하여 16S rRNA 유전자 5' 말단의 처음 500 bp 정도를 PCR로 증폭한 후 염기서열을 분석하였다. 분석된 염기서열을 BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)를 이용하여 GenBank에 저장된 염기서열들과 비교하였다. 환자 분리주의 염기서열은 다양한 *A. aphrophilus* 균주와 99.1-99.8% 일치하였다. 분류학상 가까운 다른 여러 균종과 비교했을 때는 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (GenBank accession no. NR\_102928) 96.7%, *Aggregatibacter segnis* (NR\_044749) 91.2%, *Haemophilus parainfluenzae* (NR\_042878) 93.5%, *Haemophilus influenzae* (NR\_074863) 91.4%였다. *A. aphrophilus*와는 99% 이상 일치하면서 다른 균종과는 일치도가 0.8% 이상 차이가 났으므로, 최종적으로 *A. aphrophilus*로 동정하였다[8].

균종 동정 결과가 *A. aphrophilus*였으므로 구강 병변이나 치과 치료 병력을 확인하였으나 특이 소견은 없었다. 또한 심내막염이 동반되어 있는지 확인하기 위해 안저 검사, 경흉부 및 경식도초음파를 시행하였다. 안저 검사는 정상이었고, 초음파에서는 경미한 대동맥판막역류 외에 심내막염의 증거는 확인되지 않았다. 항생제를 8주간 투여 후 허리 통증은 일부 호전되었으나 완전히 사라지지는 않아 1, 2번 요추의 척추체 제거술을 시행하였고, 이후 허리 통증은 호전되었다. 항생제는 총 95일간 투여하였고, 입원 109일째 퇴원하였다. 이후 추적 관찰 2년까지 재발하지 않았다.

## DISCUSSION

*A. aphrophilus*는 구강 내 정상 균무리이나 이에 의한 감염증은 흔하지 않다[9]. 이 균에 의한 전신 침습성 감염증 중 절반이 치과 질환이나 치과 시술과 연관되어 있다[10]. *A. aphrophilus*는 HACEK 균종 중 하나로 심내막염이 가장 흔한 감염증이고, 뇌농양, 뇌수막염, 안구내염, 간농양 등이 보고된 바 있다[6,7]. *A. aphrophilus*에 의한 화농성 척추염은 매우 드물고, 대개 발생하더라도 치과 질환이나 시술, 또는 척추 시술 후 발생한 경우가 많다[7]. 본 증례는 심내막염이 동반되지 않은 환자에서 발생한 화농성 척추염으로, 이전에 척추 시술이나 치과 시술의 병력도 없었다. 현재까지 보고된 *A. aphrophilus*에 의한 화농성 척추염의 가장 흔한 침범부위는 요추이고, 화농성 척추염에서 진행하여 허리근농양을 형성하거나 경막의 공간까지 침범하는 경우가 흔히 있다[7]. *H. aphrophilus*와 *H. paraphrophilus*로 따로 분류되었던 시기에도 두 균종에 의한 화농성 척추염 증례는 흔하지 않다. *H. paraphrophilus*에 의한 화농성 척추염은 1990년대에 3개의 증례가 보고되었고, 경추, 흉추, 요추 침범이 각각 1예씩 있었으며, 세 증례 모두 항생제 치료에 좋은 반응을 보였다[11-13]. *H. aphrophilus*에 의한 화농성 척추염은 요추가 가장 흔한 침범부위로, 구강 내 병변이 있거나 척추시술 등과 연관되어 발생한 경우가 많았다. 치료제로는 퀴놀론, 페니실린, 세팔로스포린 등이 유용한 것으로 알려져 있으나, 치료 반응이 느려서 평균 10.1주간, 길게는 27주까지 투여한 경우도 보고된 바 있다[7]. 본 증례에서는 항생제 치료 후 허리 통증은 일부 호전되었으나 완전히 회복되지는 않아 척추체 제거술과 함께 항생제 치료를 14주 가까이 병행한 뒤에야 비로소 완치되었다. 이전에 보고된 증례들도 항생제 및 수술적 치료를 병행하여 완치한 경우가 대부분이었다[7].

*A. aphrophilus*는 예전에 *Haemophilus* 속으로 분류된 적이 있었는데 당시는 *H. aphrophilus*와 *H. paraphrophilus*가 각각 별도의 종으로 분류되었다[1]. *H. paraphrophilus*는 V 인자가 성장에 필요하지만 *H. aphrophilus*는 X 인자나 V 인자가 성장에 필요하지 않다. 그러나 현재는 DNA 분석을 이용한 분류학적 연구에 따라 *H. aphrophilus*와 *H. paraphrophilus*를 합쳐 *A. aphrophilus* 하나의 종으로 분류하고, V 인자가 성장에 필요한 *H. paraphrophilus*는 *A. aphrophilus* 중 V 인자가 성장에 필요한 균주(strain)로 분류하게 되었다[1].

이 균종은 산소성 세균이고 배양에 영양보충배지가 필요할 수 있으며, 성장이 느리고, MacConkey 배지에서는 자라지 않는다. 5-10%의 이산화탄소가 균 성장을 촉진시킨다[6]. 본 증례에서도 허리근농양의 고름을 흡인하여 혈액배양병에 넣어 배양하였더니, 배양 5일째에야 균 증식이 확인된 것을 보아 이 균의 성장이 느림을 알 수 있다. 같은 검체를 일반 고형배지에 접종하여 2일간만 배양했을 때는 균 증식이 관찰되지 않았다.

그리고 화농성 척추염 환자에서 혈액배양을 하면 50-70%가 양성인 것으로 알려져 있으나[14], 본 증례에서는 내원 당시의 혈액배양 검사가 음성이었다. 혈액배양에서 균이 자라지 않았고 이후 허리근농양을 흡인할 때는 경험적 항생제 투여 중이었기 때문에, 흡인한 고름을 일반적 고형배지에서만 배양하지 않고 혈액배양병에 접종한 것이 본 증례에서 이 균의 배양을 가능하게 한 것으로 생각한다. 화농성 척추염의 미생물학적 진단을 위해 흡인한 농이나 조직의 세균 배양 시 일반 고형배지와 혈액배양배지를 비교한 연구는 아직까지는 없다[15]. 그러나 보통 일반고형배지는 2일간, 혈액배양병은 5일간 배양하므로 본 증례와 같이 성장 조건이 까다로운 균종은 일반고형배지만 배양하면 음성으로 보고될 수도 있다. HACEK 균종이더라도 최신의 혈액배양 배지 및 장비를 사용하면 5일간의 배양으로 충분히 검출된다고 알려져 있으나[6], *A. aphrophilus*에 의한 균혈증을 동반한 화농성 척추염의 한 증례에서는 혈액배양에서 6일째에 배양된 것으로 보고되었다[9]. 따라서, 성장조건이 까다로운 균이 의심되는 경우에는 본 증례와 같이 검체가 혈액이 아니더라도 혈액배양병에 넣어 배양하거나, 배양기간을 늘려 배양하는 것이 미생물학적 진단에 도움이 될 수 있을 것으로 보인다.

*A. aphrophilus*는 화농성 척추염의 드문 원인균으로서, 심내막염 없이도 척추염을 일으킬 수 있다. 화농성 척추염에서 일반적인 세균 배양을 실시했을 때 균이 잘 자라지 않으면 성장 조건이 까다로운 *A. aphrophilus*와 같은 균을 의심하여, 혈액배양병을 배지로 사용하거나 배양 기간을 늘리는 것을 고려해야 한다.

## ACKNOWLEDGMENTS

본 연구는 2013년도 양산부산대학교병원 임상연구비와 2011학년도 부산대학교 신입교수연구정착금 지원으로 이루어 졌음.

## REFERENCES

- Nørskov-Lauritsen N and Kilian M. Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus* comb. nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. nov., and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor-dependent and V factor-independent isolates. *Int J Syst Evol Microbiol* 2006;56:2135-46.
- Jang YM, Kee SY, Kim BS, Kim YB, Ahn SY, Choi YH, et al. A case of *Haemophilus aphrophilus* native valve endocarditis. *Korean J Med* 2010;78:257-60.
- Huh JH, Bae SY, Kim JS, Lee KN, Lee CK. A case of *Haemophilus parainfluenzae* endocarditis. *Korean J Clin Microbiol* 2009;12:78-81.
- Kim CK, Cho I, Park YH, Roh KH, Yong D, Lee K, et al. Isolation of *Haemophilus aphrophilus* and coagulase-negative staphylococci from the blood of a patient with prosthetic valve endocarditis. *Korean J Clin Microbiol* 2006;9:71-5.
- 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.
- Zbinden R and von Graevenitz A. *Actinobacillus*, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Kingella*, *Pasteurella*, and other fastidious or rarely encountered gram-negative rods. In: Versalovic J, ed. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, DC; ASM Press, 2011:574-87.
- Colson P, La Scola B, Champsaur P. Vertebral infections caused by *Haemophilus aphrophilus*: case report and review. *Clin Microbiol Infect* 2001;7:107-13.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Interpretive criteria for identification of bacteria and fungi by DNA target sequencing: approved guideline. Document MM18-A. Wayne, PA; Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
- Pasqualini L, Mencacci A, Scarponi AM, Leli C, Fabbriciani G, Callarelli L, et al. Cervical spondylodiscitis with spinal epidural abscess caused by *Aggregatibacter aphrophilus*. *J Med Microbiol* 2008;57(Pt 5):652-5.
- Huang ST, Lee HC, Lee NY, Liu KH, Ko WC. Clinical characteristics of invasive *Haemophilus aphrophilus* infections. *J Microbiol Immunol Infect* 2005;38:271-6.
- Samuel W, Dryden M, Sampson M, Page A, Shepherd H. Spinal abscess of *Haemophilus paraphrophilus*. A case report. *Spine (Phila Pa 1976)* 1997;22:2763-5.
- Chadwick PR, Malmick H, Ebizie AO. *Haemophilus paraphrophilus* infection: a pitfall in laboratory diagnosis. *J Infect* 1995;30:67-9.
- Scerpella EG, Wu S, Oefinger PE. Case report of spinal epidural abscess caused by *Haemophilus paraphrophilus*. *J Clin Microbiol* 1994;32:563-4.
- Nolla JM, Ariza J, Gómez-Vaquero C, Fiter J, Bermejo J, Valverde J, et al. Spontaneous pyogenic vertebral osteomyelitis in nondrug users. *Semin Arthritis Rheum* 2002;31:271-8.
- Gouliouris T, Aliyu SH, Brown NM. Spondylodiscitis: update on diagnosis and management. *J Antimicrob Chemother* 2010;65 Suppl 3:iii11-24.

=국문초록=

***Aggregatibacter aphrophilus*에 의한 화농성 척추염 1예**부산대학교 의학전문대학원 <sup>1</sup>내과학교실, <sup>2</sup>진단검사의학교실김계형<sup>1</sup>, 김남희<sup>2</sup>, 신경화<sup>2</sup>, 김신영<sup>2</sup>, 장철훈<sup>2</sup>, 이종윤<sup>2</sup>

*Aggregatibacter aphrophilus*는 구강내 정상균무리 중 하나로 주로 감염성 심내막염을 유발한다. 또한 매우 드물게 척추염과 같은 골 및 관절의 감염을 일으키기도 한다고 알려져 있으나 국내에서는 보고된 증례가 없었다. 저자들은 감염성 심내막염이 동반되지 않은 *A. aphrophilus* 화농성 척추염 환자를 경험하였기에 보고하고자 한다. 고혈압과 당뇨가 있는 64세 남자가 3주 전 시작된 허리 통증으로 내원하였다. 내원 당시 발열은 없었으나 요추에 심한 통증이 있었고, 백혈구 및 C-반응단백질이 증가되어 있었다. 혈액배양에서는 균이 자라지 않았으나, 척추 자기공명영상에서 요추와 천골 및 그 주변으로 염증과 농양이 관찰되어 컴퓨터단층촬영 유도 하에 고름을 흡인하였다. 흡인한 고름을 배양 시 일반 고형배지에서는 균이 증식되지 않았으나 혈액배양병에서는 배양 5일째에 균이 증식되었으며, 그람염색에서 짧은 그람음성 막대균이 관찰되었다. 이 분리주는 자동화 장비에서 생화학적으로 동정한 결과 *A. aphrophilus*였고, 16S ribosomal RNA 유전자 염기서열 분석에서 *A. aphrophilus*로 최종동정하였다. 균종 동정 결과가 *A. aphrophilus*였으므로 심내막염 동반 여부를 확인하기 위해 안저 검사 및 심초음파를 시행하였으나, 안저 검사는 정상이었고 심초음파에서 심내막염의 증거는 발견되지 않았으며, 구강병변이나 치과치료병력도 없었다. 항균제를 8주간 투여하였으나 허리 통증이 지속되어 척추체 제거술을 시행하였고, 이후 통증은 호전되었다. *A. aphrophilus*는 화농성 척추염의 드문 원인균으로서, 심내막염 없이도 척추염을 일으킬 수 있다. 화농성 척추염에서 일반적인 세균 배양을 실시했을 때 균이 잘 자라지 않으면 *A. aphrophilus*와 같은 성장조건이 까다로운 균을 의심하여 혈액배양병을 사용하는 것을 고려해야 한다. [Ann Clin Microbiol 2014;17:99-103]

교신저자 : 이종윤, 626-870, 경남 양산시 물금읍 부산대학교 49  
 부산대학교 의학전문대학원 진단검사의학교실  
 Tel: 051-240-7417, Fax: 051-240-7413  
 E-mail: csm410@naver.com