

[症 例]

Capnocytophaga canimorsus による菌血症の 1 症例

菊池一美¹⁾・江原和志¹⁾・宮坂淳子¹⁾・小山 忍¹⁾・矢口勇治¹⁾・玉井清子¹⁾
三井真由美¹⁾・野竹重幸¹⁾・村松紘一¹⁾・柳沢英二¹⁾・川上由行²⁾

¹⁾ 株式会社ミロクメディカルラボラトリー

²⁾ 信州大学医学部保健学科病因・病態検査学講座

(平成 16 年 9 月 16 日受付, 平成 16 年 12 月 10 日受理)

Capnocytophaga canimorsus はイヌやネコの口腔内常在菌であり, 本邦における菌血症, 敗血症の報告例は希である。我々は, *C. canimorsus* を血液培養より分離した症例を経験した。患者は, 95 歳女性。既往歴および現病歴は, 高血圧, 糖尿病, 脳血栓, C 型肝炎, 肝硬変である。2002 年 12 月末, ペットのネコにより受傷した。受傷部位は不明であるが, 咬傷と搔傷を受けた。その後下痢, 食欲不振の症状が出現し, 顔面浮腫, 意識レベル低下が認められ, 2003 年 1 月 6 日に入院した。入院時検査所見では, WBC 12,700/ μ l, CRP 12.57 mg/dl と炎症所見が確認された。入院時に静脈血液培養が行われ, 培養 2 日目に糸状のグラム陰性桿菌が鏡顕にて確認された。サブカルチャーを経て, 同定キット ID Test HN-20 (日水製薬) にて *C. canimorsus* と同定された。しかし, *Capnocytophaga cynodegmi* と生化学的性状が類似していることから, 16S rRNA 遺伝子の部分配列を増幅する PCR 反応を行い, 遺伝学的にも *C. canimorsus* を示唆する成績を得た。

Key words: *Capnocytophaga canimorsus*, bacteremia, cat bite and scratch, multi-underlying diseases, immuno-compromised patient

Capnocytophaga はヒトやイヌ, ネコなどの口腔内常在菌であり, CO₂ 要求性, 栄養要求性のグラム陰性桿菌で, 発育が緩徐などの特徴がある。Manual of Clinical Microbiology 8th ed.¹⁾ には 7 菌種が記載されている (ヒト由来は 5 菌種, イヌ, ネコ由来は 2 菌種)。ヒト由来の *Capnocytophaga* はオキシダーゼ陰性, カタラーゼ陰性であるのに対し, イヌ, ネコ由来のものはオキシダーゼ陽性, カタラーゼ陽性である。*Capnocytophaga* は易感染者に対し主に菌血症, 敗血症などを引き起こすとされている¹⁾。

我々は本邦において報告例が希な *Capnocytophaga canimorsus* を血液培養から分離する経験をしたので報告する。

C. canimorsus は, かつて CDC (Centers for Dis-

ease Control and Prevention) group Dysgonic Fermenter-2, *Capnocytophaga cynodegmi* は Dysgonic Fermenter-2-like bacteria と呼ばれていた^{2), 3)}。これらの菌種はイヌやネコの咬傷, 接触後に続発する菌血症, 敗血症, 髄膜炎および心内膜炎を含む血液疾患に関与しているとの報告がある。Ndon³⁾によると 1977 年に *C. canimorsus* の初発例を Butler が報告したと記載している。

I. 症 例

1. 患者: 95 歳, 女性。
2. 既往歴および現病歴: 高血圧, 糖尿病, 脳血栓, C 型肝炎, 肝硬変。
3. 主訴: 意識障害。
4. 経緯: 2002 年 12 月末頃, ペットのネコにより受傷した。傷は咬傷と搔傷であるが受傷部位は不明。その後下痢, 食欲不振の症状が出現した。2003 年 1 月 4 日顔面に浮腫が認められ, さらに 1 月 5 日より意識レベルの低下を伴い 1 月 6 日に入院した。
5. 入院時検査所見, 臨床経過: 入院時検査データ

著者連絡先: (〒384-2201) 長野県北佐久郡望月町印内 659-2

株式会社ミロクメディカルラボラトリー
菊池一美

TEL: 0267-54-2111

FAX: 0267-54-2444

Table 1. Patient's data at the time of hospitalization.

		2003/1/6	2003/1/7			2003/1/6	2003/1/7
TP	(g/dl)	5.8		RBC	($\times 10^4/\mu\text{l}$)	503	561
T-Bil	(mg/dl)	2.9		WBC	($\times 10^2/\mu\text{l}$)	127	181
D-Bil	(mg/dl)		1.0	Hb	(g/dl)	11.9	13.5
ZTT	(U)		21.2	Ht	(%)	35.9	39.1
ALP	(IU/L)		304	PLT	($\times 10^4/\mu\text{l}$)	7.0	4.3
AST	(IU/L)	87		Neutrophil (Stab)	(%)	2.0	5.0
ALT	(IU/L)	31		Neutrophil (Seg)	(%)	90.0	89.0
LD	(IU/L)	709		Lympho	(%)	4.0	4.0
γ -GTP	(IU/L)		18	Mono	(%)	4.0	2.0
Ch-E	(IU/L)		80	Eosino	(%)	0.0	0.0
CK	(IU/L)	182		MCV	(fL)	71.4	69.7
AMY	(IU/L)		30	MCH	(pg)	23.7	24.1
BUN	(mg/dl)	48.1		MCHC	(%)	33.1	34.5
UA	(mg/dl)		6.7	ESR 1 h*	(mm/h)	38	
CRE	(mg/dl)	2.2		ESR 2 h*	(mm/h)	71	
T-CHO	(mg/dl)		104				
TG	(mg/dl)		96	Albumin fraction	(%)	47.3	
Glu	(mg/dl)		348	α -1 Globulin fraction	(%)	6.2	
Ca	(mg/dl)	7.8		α -2 Globulin fraction	(%)	13.6	
CRP	(mg/dl)	12.57		β -Globulin fraction	(%)	7.7	
Na	(mEq/L)	147		γ -Globulin fraction	(%)	25.2	
K	(mEq/L)	3.6		A/G Ratio		0.9	
Cl	(mEq/L)	103					
Chylenia		(-)	(-)	Influenza virus A			(-)
Hemolysis		1+	(-)	Influenza virus B			(-)

* ESR: erythrocyte sedimentation rate

Table 2. Clinical course of blood temperature, WBC, CRP and dose of antibiotics of the patient.

Date	2003	1/6	1/7	1/8	1/9	1/10	1/11	1/12	1/13	1/14
Body temperature* ¹	(°C)	38.2	37.5	37.4	37.4	37.2	36.5	36.0	36.8	36.8
WBC	(μl)	12,700	18,100							13,600
CRP	(mg/dl)	12.57								1.42
MINO* ²		●	●							
IPM/CS* ³		●	●	●	●	●	●	●	●	●

*¹ Average value of the day

*² MINO: minocycline

*³ IPM/CS: imipenem/cilastatin

を Table 1 に示す。WBC および CRP の増加などの炎症反応が認められた。また、高熱のためインフルエンザが疑われ、抗原検査が行われたが陰性であった。多くの検査項目において異常値が確認されたが、既往歴が多く異常値の原因の断定は困難であった。臨床経過を Table 2 に示す。血液培養施行後から抗菌薬は、1月6日から13日まで imipenem/cilastatin (IPM/CS), 6日, 7日は minocycline (MINO) が投与され、体温, CRP の低下が確認された。意識の低下に対して

は CT 検査が行われ左頭部に脳塞栓が認められた。患者は入院 15 日目の 1 月 20 日に永眠された。

II. 細菌学的検査所見

1. 入院時血液培養 (静脈): 好気用ボトルに BACTEC PLUS Aerobic/F を、嫌気用ボトルに BACTEC PLUS Anaerobic/F を使用し、自動血液培養装置 BACTEC 9240 (共に日本ベクトン・ディッキンソン) にて実施した。培養 2 日目に自動血液培養装置

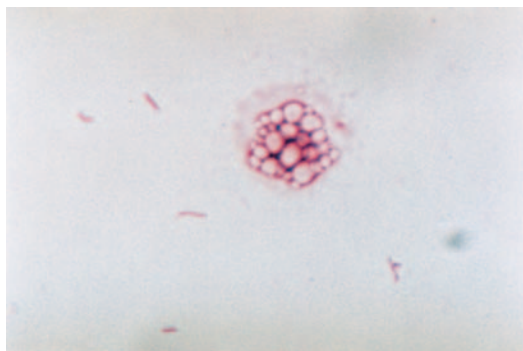


Fig. 1. Gram's stain of the blood culture bottle.

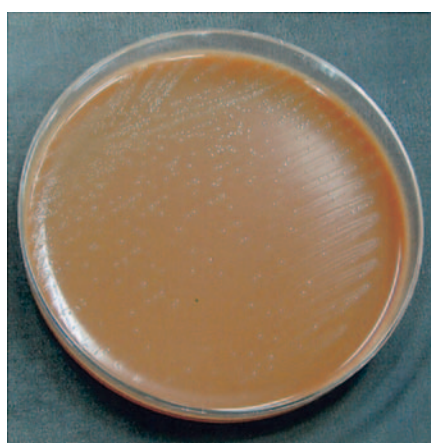


Fig. 2. Growth of the clinical isolate on chocolate agar.

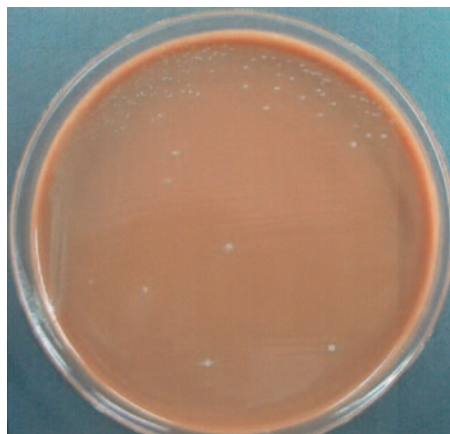


Fig. 3. Growth of *C. canimorsus* ATCC 35979 on chocolate agar.



Fig. 4. Growth of *C. cynodegmi* ATCC 49044 on chocolate agar.

にて両ボトル陽性となったため直ちにグラム染色を行ったところ糸状のグラム陰性桿菌が確認された (Fig. 1)。サブカルチャーは、チョコレート寒天 (BBL), 5% 羊血液寒天 (BBL), BTB 乳糖加寒天 (BBL), ブルセラ HK 寒天 (RS) (極東製薬) を使用し、チョコレート寒天, 5% 羊血液寒天は 37°C, CO₂ 培養 (7% CO₂ 濃度), BTB 乳糖加寒天は 35°C, 好気培養, ブルセラ HK 寒天は 37°C, 嫌気培養を行った。サブカルチャー 3 日目に、チョコレート寒天, 5% 羊血液寒天, およびブルセラ HK 寒天において微小コロニーの形成を認めた。4 日目には、コロニー直径 1 mm, 辺縁スムーズなレンズ状のコロニーとなり、わずかに gliding (培地表面に不規則に広がる) を呈していた (Fig. 2)。コロニー形態は、高齢者の喀痰培養検査にてしばしば見られる *Capnocytophaga* (例えば *Capnocytophaga ochracea*) のコロニー形態とは異なり、*Haemophilus*

様であった。

2. 分離菌株の同定: 上記の性状から *Haemophilus* 類縁菌, いわゆる HACHEKS を疑い同定を進めた。オキシターゼ陽性, カタラーゼ陽性, 同定キット ID Test HN-20 (日水製薬) にて *C. canimorsus* (プロファイル No: 3013121, 同定確率 98%) と同定された。Manual of Clinical Microbiology 8th ed. から抜粋した *Capnocytophaga* の鑑別性状, および分離菌の同定キットでの性状を Table 3 に示す。分離菌株は Sucrose の分解能に違いを認めるものの, *C. cynodegmi* と生化学的性状が類似しているため, 菌種の同定に際しては遺伝学的手法も並行して検討することとした。

Table 3. Differentiation of genus *Capnocytophaga*.¹⁾

	1	2	3	4	5	6	7	Isolate
Oxidase	—	—	—	—	—	+	+	+
Catalase	—	—	—	—	—	+	+	+
Arginine	—	—	—	ND	ND	+	+	NT
Nitrate to nitrite	—	V	—	—	+	—	V	—
Acid from								
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	V	V	—	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	—	+	—
Xylose	—	—	—	—	—	—	—	—
Melibiose	—	—	—	—	—	—	+	NT

(Citation from Graevenitz, A. V., R. Zbinden, R. Mutters, et al.¹⁾)1: *C. ochracea* 2: *C. sputigena* 3: *C. gingivalis* 4: *C. granulosa* 5: *C. haemolytica* 6: *C. canimorsus*7: *C. cynodegmi*

ND: no data available

V: variable

NT: not tested

Table 4. Antimicrobial susceptibility test of the isolate.

PCG	S	GM	R
ABPC	S	TOB	R
CMZ	S	AMK	R
CTM	S	EM	S
CZX	S	CLDM	S
AZT	S	MINO	S
IPM	S	ST	R
MEPM	S	CPFX	S
CP	S	LVFX	S

S: susceptible R: resistant

3. 薬剤感受性試験: チョコレート寒天 (BBL) を使用し, Kirby-Bauer ディスク法 (センシディスク, 日本ベクトン・ディッキンソン, 以下 K-B ディスク法) に行なった。37°C, 4 日間 CO₂ 培養 (7% CO₂ 濃度) を行い, K-B ディスク法の *Haemophilus* 属の基準にて判定した。結果を Table 4 に示す。アミノグリコシド系抗菌薬および sulfamethoxazole/trimethoprim (ST 合剤) に耐性を示したが, これ以外の抗菌薬には感性を示した。

III. 遺伝学的検討

1. 参考菌株: ATCC (American Type Culture Collection) 株を入手した。Fig. 3 に *C. canimorsus* ATCC 35979 を, Fig. 4 に *C. cynodegmi* ATCC 49044 のチョコレート寒天上のコロニー所見を示す。

分離株のコロニー所見は *C. canimorsus* 参考菌株と類似していた。*C. cynodegmi* 参考菌株は *C. canimorsus* に比べ, 発育が早く培養 2 日目にはコロニー直径約 2 mm となり, 白色コロニーでアーモンド臭を示した。

2. プライマー: GenBank 登録の 16S rRNA 遺伝子の塩基配列を基に, SIGMA GENOSYS JAPAN に作成依頼した。それぞれのプライマーの塩基配列を以下に示す。

C. canimorsus (増幅サイズ 301 bp)

Forward:

5'-GTATTGTTTGGTGGCATCACTGA-3'

Reverse:

5'-GCCGATGCTTATTCATACA-3'

C. cynodegmi (増幅サイズ 301 bp)

Forward:

5'-GTATTATTTGGTGGCATCATTAG-3'

Reverse:

5'-GCCGATGCTTATTCGTATG-3'

3. PCR

Sample: 分離株 (肉眼的に相違が認められるコロニー 3 株) および ATCC 株 2 株の合計 5 株を使用した。

DNA 抽出: DNA 抽出キット (QIAGEN) を使用し, グラム陰性菌用プロトコールにて行った。

プライマー濃度: 各々のプライマーは 0.25 mM に調整した。反応液として Ready-To-Go PCR Beads (Amersham Pharmacia) を使用した。サンプルを 5

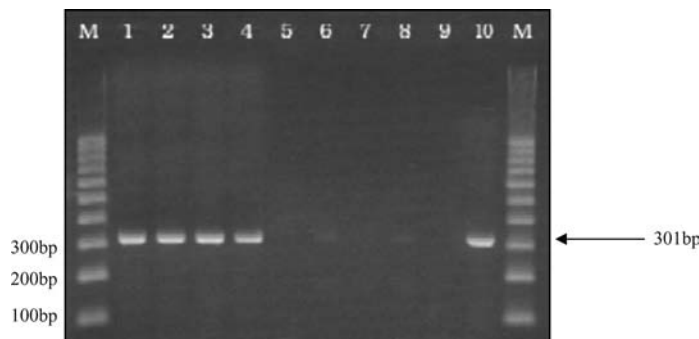


Fig. 5. PCR amplification products of *Capnocytophaga* isolates and reference strains analyzed.

Lane 1, 2, 3, 6, 7, 8: Clinical isolates
 Lane 4, 9: *C. canimorsus* ATCC 35979
 Lane 5, 10: *C. cynodegmi* ATCC 49044
 Lane 1~5: *C. canimorsus* primer
 Lane 6~10: *C. cynodegmi* primer
 M: Marker

μl , 総量を $25 \mu\text{l}$ になるように反応液を調整した。

反応条件: 熱変性 94°C 1分, アニーリング 51°C 1分, 伸張反応 72°C 1分, 25 サイクル行った。

電気泳動: PCR 産物 $7 \mu\text{l}$, ローディング Buffer $2 \mu\text{l}$ を 3% アガロースゲルにアプライした。ミニゲル電気泳動システム Mupid-2 (コスモ・バイオ) にて約 40 分間電気泳動を行い, Marker は 100 bp Molecular Ruler (BIO-RAD) を使用した。泳動終了後エチジウムブロマイドにて染色し, UV 照射下にて写真を撮った (Fig. 5)。分離株はレーン No. 1, 2, 3, 6, 7, 8, *C. canimorsus* ATCC 35979 はレーン No. 4, 9, *C. cynodegmi* ATCC 49044 はレーン No. 5, 10 である。No. 1~5 は *C. canimorsus* 用のプライマーを使用, No. 6~10 は *C. cynodegmi* 用のプライマーを使用した。レーン No. 1, 2, 3 に 301 bp の増幅産物が認められ, レーン No. 4 と PCR 増幅産物が同一であることから, 分離株は *C. canimorsus* であると示唆される所見となった。

IV. 考 察

C. canimorsus はイヌやネコの咬傷や接触により, 易感染者に対して時に重篤な菌血症, 敗血症, 心内膜炎, 髄膜炎および全身性の壊死性病変を起こすことが知られている^{2), 3)}。また, 脾臓摘出患者やアルコール中毒患者においても感染しやすいとの報告⁵⁾もある。症例の患者は 95 歳と高齢で糖尿病などの複数の基礎疾患を有する易感染患者と考えられ, ペットのネコにより受傷し菌血症を合併した。患者は入院 15 日目に永

眠された。*C. canimorsus* 菌血症が致命症になったか否かは断定できなかったが, 死期を早めたことは否めない事実と考えられた。*C. canimorsus* が血液培養から検出されるバックグラウンドが合致している症例と考えられた。なお, ペットのネコの口腔内細菌検査は実施できなかった。

イヌ, ネコ由来の *Capnocytophaga* による菌血症および敗血症の報告例は本邦では希であるが, 高齢者がペットとしてイヌやネコとともに生活する機会が増加している現状においては今後感染者の増加も懸念されている²⁾。特に本邦では, 欧米に比べ血液培養の頻度ははるかに少ない実情があるため, 本菌による菌血症, 敗血症が見逃されている可能性が危惧される。*Capnocytophaga* は多くの抗菌薬に感受性を有しているため, 血液培養前に抗菌薬投与が行われた場合にはさらに検出率の低下が起こることも推測される。

血液培養が陽性を呈し, グラム染色にてグラム陰性桿菌が確認されたら *Capnocytophaga* も視野に入れ, サブカルチャーは培養延長を行うなどの慎重な対応が必要と考える。さらに, *C. canimorsus*, *C. cynodegmi* と同様にイヌ, ネコの口腔内常在菌である *Pasteurella multocida*^{6), 7)} や, 猫ひっかき病の起炎菌の *Bartonella henselae*^{8)~10)} も咬傷, 搔傷感染から全身感染症をも引き起こす可能性がある細菌であることも忘れてはならないと考える。

なお, 本症例の概要は第 14 回日本臨床微生物学会総会 (2004 年) にて報告した。

謝 辞

稿を終わるにあたり、ご協力いただきました東松山医師会病院内科医、荻野達夫先生、検査科の齊藤義典技師長、中村道子技師、ならびに長野県動物愛護センター・ハローアニマルの松沢淑美先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Graevenitz, A. V., R. Zbinden, R. Mutters, et al. 2003. *Actinobacillus*, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Kingella*, *Pasteurella*, and other fastidious or rarely encountered Gram-negative rods. p. 609-622. In: Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. (P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, et al., ed.), American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 2) 紺野昌俊. 2001. 抗菌薬療法の考え方 第1巻 検出細菌から考える抗菌療法. 株式会社ミット. 16. *Capnocytophaga* sp. 52-53.
- 3) Ndon, J. A. 1992. *Capnocytophaga canimorsus* septicemia caused by a dog bite in hairy cell leukemia patient. J. Clin. Microbiol. 30: 211-213.
- 4) Barrow, G. I., R. K. A. Feltham, 坂崎 利一監訳. 1999. Cowan and Steel's 医学細菌同定の手びき. p. 185-186, 第3版, 近代出版.
- 5) Lion, C., F. Escande, J. C. Burdin. 1996. *Capno-*

cytophaga canimorsus infection in human: review of the literature and cases report. Eur. J. Epidemiol. 12: 521-533.

- 6) 荒島康友. 2003. 特集 人畜共通感染症—最近のトピックス— パスツレラ症, 臨床と微生物 30: 385-389.
- 7) Bradaric, N., I. Milas, B. Luksic, et al. 2000. Erysipelas-like cellulitis with *Pasteurella multocida* bacteremia after a cat bite. Croat. Med. J. 41: 446-449.
- 8) 上野弘志, 森田千春. 1995. 特集 人畜共通感染症の現況 猫ひっかき病, 臨床と微生物 22: 393-397.
- 9) Tsukahara, M., H. Iino, C. Ishida, et al. 2001. *Bartonella henselae* bacteremia in patients with cat scratch disease. Eur. J. Pediatr. 160: 316.
- 10) Del Prete, R., D. Fumarola, S. Ungari, et al. 2000. Polymerase chain reaction detection of *Bartonella henselae* bacteremia in an immunocompetent child with cat scratch disease. Eur. J. Pediatr. 159: 356-359.
- 11) Frigiola, A., T. Badia, R. Lovato, et al. 2003. Infective endocarditis due to *Capnocytophaga canimorsus*. Ital. Heart J. 4: 725-727.
- 12) Sarma, P. S., S. Mohanty. 2001. *Capnocytophaga cynodegmi* cellulites, bacteremia, and pneumonitis in a diabetic man. J. Clin. Microbiol. 39: 2028-2029.

A Rare Case of Bacteremia Due to *Capnocytophaga canimorsus*

Kazumi Kikuchi,¹⁾ Kazushi Ehara,¹⁾ Atsuko Miyasaka,¹⁾ Shinobu Koyama,¹⁾ Yuji Yaguchi,¹⁾ Kiyoko Tamai,¹⁾ Mayumi Mitsui,¹⁾ Shigeyuki Notake,¹⁾ Kouichi Muramatsu,¹⁾ Hideji Yanagisawa,¹⁾ and Yoshiyuki Kawakami²⁾

¹⁾ Miroku-Medical Laboratory Inc.

²⁾ Division of Clinical Microbiology and Immunology, Department of Biomedical Laboratory Sciences, School of Health Sciences, Shinshu University

Capnocytophaga species are slow growing and fastidious Gram-negative rods that require carbon dioxide for growth and are well known as constituents in oral flora of cats, dogs and humans. These organisms cause wound infection, bacteremia, septicemia and so on in humans, especially in immunocompromised patients. We encountered a case of bacteremia due to *C. canimorsus* of a 95-year-old female patient with multi-underlying diseases. She was bitten and scratched by her pet cat somewhere on her limbs. She passed away on the 15th day of her hospitalization. Routine biochemical identification processes were carried out using commercially available kit, together with molecular 16S rRNA-directed PCR assay with American type culture collection reference strains. The results obtained from both procedures coincided well with each other. However, we failed to investigate oral bacterial cultures of her pet cat.

Key words: *Capnocytophaga canimorsus*, bacteremia, cat bite and scratch, multi-underlying diseases, immuno-compromised patient