

[症 例]

*Actinobacillus actinomycetemcomitans*による
細菌性心内膜炎の1例山本 剛^{1,2)}・黒川 学³⁾・西口 光¹⁾・阪下哲司¹⁾・片岡陳正²⁾¹⁾ 西神戸医療センター 臨床検査技術部²⁾ 神戸大学大学院医学系研究科³⁾ 神戸市環境保健研究所

(平成14年11月22日受付, 平成15年7月2日受理)

今回我々は、*Actinobacillus actinomycetemcomitans*による感染性心内膜炎の1例を経験した。患者は53歳、男性。会社の健康診断にて不整脈を指摘され近医を受診するも改善がなく、悪寒が持続するため再度受診したところ、CRP14.7mg/dlと高値、尿検査で上皮円柱を認めたため当院へ紹介となった。受診時に収縮期心雑音、心エコー検査で感染性心内膜炎のエコー所見を認め入院となった。入院時に採取された血液培養よりグラム陰性の短桿菌を検出したが、発育要求の厳しい通常検出されにくい細菌と判断されたため、従来法と16S rRNA上の遺伝子より解析することで*A. actinomycetemcomitans*と同定された。薬剤感受性成績はβラクタム薬に良好な値を示した。患者はsulbactam/ampicillin およびgentamicinにより加療され、著効したため28日病日後軽快により退院となった。今回の症例では菌同定に苦慮したが、従来法と16S rRNAの塩基配列により起炎菌の同定が迅速に行え、診断治療が速効した症例であった。

Key words: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, 感染性心内膜炎, 16S rRNA, オキシダーゼテスト

*Actinobacillus actinomycetemcomitans*は気道の常在菌として知られており、免疫能の低下した患者や高齢者、ウイルス感染症における二次感染を引き起こす菌である¹⁾。本邦における*A. actinomycetemcomitans*による感染性心内膜炎の報告例は少なく、起炎菌としての報告例は*Staphylococcus aureus*や*a-Streptococci*などの通常日常業務で遭遇する菌によるものがほとんどである。今回我々は、稀な感染事例と思われる*A. actinomycetemcomitans*による感染性心内膜炎の1例を経験したので報告する。

I. 症 例

患者: 53歳, 男性。

主 訴: 微熱, 貧血, 蛋白尿。

既往歴: 虫垂炎 (14歳)。

現病歴: 1999年11月勤務先の健康診断で、頻脈、不整脈を指摘され近医を受診するが、そのまま経過観察となる。翌月、上気道炎を主とする感冒様症状を認め治療するが微熱が持続し、貧血と蛋白尿も認めるようになった。その後、翌年1月に血液検査を実施したところCRP 14.7mg/mlと高値を認めるとともに尿一般検査にて円柱が認められたため、当院腎臓内科を紹介される。受診時に収縮期雑音(3LSB)を認め、感染性心内膜炎を疑い心エコー検査を実施したところ、僧房弁前尖部の逸脱および淡いエコー所見を認めた。

臨床経過: 入院時に提出された動脈血液培養が陽性となり、グラム染色を実施したところグラム陰性短桿菌が鏡検で確認された。患者は入院日よりampicillin (ABPC) 12 g/dayとgentamicin (GM) 120mg/dayによる加療を行うが、グラム陰性菌による感染のためABPCをceftriaxone (CTRX) 2g/dayへ変更し、CTRXとGMによる併用加療を実施した。しかし、その後*Brucella*症の可能性も示唆されたために、GMをrifampicin (RFP) 750mg/dayおよびdoxycycline (DOXY) 200 mg/dayへ変更した。その後、起炎菌が*A. actinomycetemcomitans*と判明したために、sulbactam

著者連絡先: (〒651-2273) 神戸市西区梶台5-7-1
西神戸医療センター 臨床検査技術部
山本 剛
TEL 078-997-2200 FAX 078-993-3777
E-mail: kensa@nmc-kobe.or.jp

/ampicillin (SBT/ABPC) 12g/dayの単剤投与に変更し加療を継続。その後、容態は安定して、平成13年2月20日に軽快となり退院(表1)。

II. 細菌学的所見

1. 血液培養検査

入院時に鼠径部および左肘関節部の動脈より同時に血液培養を実施した。血液培養は血液自動培養装置BACTEC 9120で、96F好気用レズンボトル、97F嫌気用レズンボトル(以上日本ベクトンディッキンソン)を用い検査した。培養50時間後に左肘関節部からの血液培養が陽性となり、遅れて鼠径部からの血液培養も陽性となった。左肘関節部の血液培養をシリンジで3ml採取し滅菌スピッツへ分注後、3,000r.p.m.で10分間遠心集菌して、バッフィーコートを採取したものをスライドガラスへ塗布して塗抹検査に用いた。塗抹検査はグラム染色を実施したが菌体の有無は判別できなかった。その後、血液培養が陽性となった培養液は、5%ヒツジ血液寒天培地およびチョコレートI寒天培

地(以上日本ベクトンディッキンソン)を用いて37℃、5% CO₂条件下で、ブルセラRS寒天培地(極東製薬工業)を用い嫌気条件下、35℃でサブカルチャーを行った。

血液培養検査は、入院日より4日連続して鼠径部および左肘関節部の2セットが1回/日提出されていたが、入院後3日目まではすべて陽性であった、4日目には鼠径部からの検出しかなかった。入院後5日目以降は血液培養からは菌が検出されなくなった。血液培養は臨床状態が落ち着いてからは、2/5、2/20、3/10に採取されたがすべて菌は検出されなかった。

2. 同定検査および結果

サブカルチャー実施48時間後にチョコレートII寒天培地上に微小なコロニーを確認したため、コロニーを直接スライドガラスに塗布してグラム染色したところ、グラム陰性短桿菌を認めた(図1)。グラム陰性短桿菌は従来法にてカタラーゼ試験陽性、オキシダーゼ試験陰性、温度発育性(25℃: poor, 37℃: good, 42℃: poor)、炭酸ガス要求性あり、血液要求性なし

表1 臨床経過

	1/23	1/24	1/25	1/27	1/29	2/1	2/5	2/8	2/16	2/20
WBC(/μl)	7,000	7,700	7,900	5,700	7,200	7,500	6,400	5,200	4,100	
Neut(%)		82.0	86.0		73.2	74.6	77.1	71.8	64.6	55.2
Lymp(%)		13.0	10.0		19.7	18.3	15.1	17.4	24.3	29.6
RBC(×10 ⁴)	287	328	300	310	316	310	293	291	294	
Hb(g/dl)		8.1	9.2	8.5	8.4	8.7	8.4	8.0	7.9	8.1
Ht(%)		24.9	28.4	25.8	26.4	27.0	26.4	24.7	24.7	24.7
PLT(×10 ⁴)	24.6	29.2	28.3	30.4	42.6	50.1	57.4	39.0	33.8	
CRP(g/dl)		10.5	12.4	12.1	10.9	7.7	8.3	6.6	2.0	0.5
GOT(IU/l)		22	29	41	39	30	25	25	18	17
GPT(IU/l)		24	29	37	41	44	29	33	27	21
γ-GTP(IU/l)	133				189	313	247	235	119	88
LDH(IU/l)		171	202	153	164	151	190	148	158	152
CPK(IU/l)		31	65	23					29	
BUN(mg/dl)	16	14	16	17	21	25	29	19	19	
Cre(mg/dl)	1.0	1.1	1.2	1.3	1.6	1.7	2.1	2.0	1.7	
Glu(mg/dl)	94		111	101		98				
体温(℃)		39.0	38.8	38.6	39.0	37.4	39.0	37.2	37.4	37.0
血液培養	+	+	+	-			-		-(2/10)	-(3/10)
抗菌薬			ABPC(12g/day)							
			GM(120mg/day)				SBT/ABPC(12g/day)			
					CTR(2g/day)					
					DOXY(200mg/day)					
				RFP(750mg/day)						

であった。その後、国立感染症研究所に依頼して16S rRNA 塩基配列による同定検査を精査してもらった

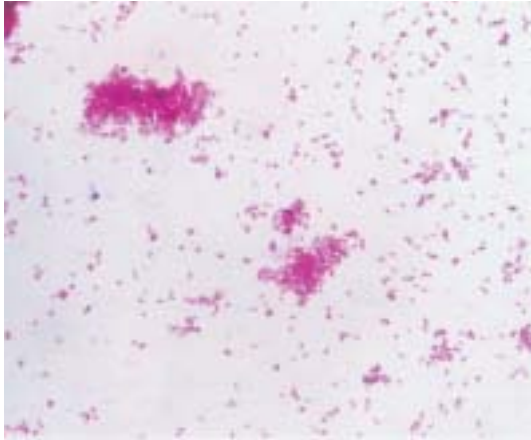


図1 チョコレート寒天上の集落から実施した塗沫染色所見 (Gram染色 西岡の変法×1000)

結果、相対類似度98.528%で*A. actinomycetemcomitans*と同定された。また従来法による性状確認でも*A. actinomycetemcomitans*と同定された(表2)。

また、MICによる薬剤感受性試験はヒツジ血液加ミューラーヒントン培地(日本ベクトンディッキンソン)を使用し、E-test(アスカ純薬)で35℃、5%炭酸ガス条件下で24時間培養後判定した。薬剤感受性の結果はABPC 0.64 µg/ml, SBT/ABPC 0.64 µg/ml, amoxicillin 0.64 µg/ml, amoxicillin/clavulanic acid 0.64 µg/ml, CTRX 0.32 µg/ml, cefotaxime 0.64 µg/ml, meropenem 0.64 µg/ml, GM 2.0 µg/ml, amikacin 16 µg/ml, chloramphenicol 1.0 µg/ml, trimethoprim/sulfamethoxazole 0.64 µg/mlであった(表3)。

III. 考察

今回検出された、*A. actinomycetemcomitans*は栄養要求の厳しいグラム陰性桿菌で、HACEK groupの一つとして知られている。マッコンキー寒天培地のよう

表2 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*の従来法による同定結果

Tests	Result	Tests	Result
Morphology	Gram (-), coccobacilli	Production of Catalase	+
Colony appearance	0.5mm, white, smooth and slightly dome	Indole	-
Growth on MacConkey agar	slightly +	Lysine decarboxylase	-
Trypticase Soy Agar	+	Ornithine decarboxylase	-
5% Sheep blood agar	+	Oxydase	weak +
5% Equine blood agar	+	Phosphatase	-
Chocolate agar (sheep)	+	Urease	-
Chocolate agar (equine)	+	β-lactamase	-
Growth requirement of X factor	-	TSI slant acid	+
V factor	-	TSI butt acid	+
L-cystin	-	Acid from Glucose	+
Growth at 22℃	-	Fructose	+
30℃	+	Inositol	-
37℃	+	Inulin	-
Growth present with 4.5% NaCl	-	Mannitol	+
Hemolysis on sheep blood agar	-	Mannose	+
Motility (0.2% agar)	-	Melibiose	-
Hydrolysis of Esculin	-	Lactose	-
Simmons citrate	-	Salicin	-
Nitrate reduction	+	Sucrose	-
Nitrite reduction	-	Trehalose	-
		Xylose	+

表3 薬剤感受性成績

antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
ampicillin	0.64
ampicillin/sulbactam	0.64
amoxicillin	0.64
amoxicillin/clavulanic acid	0.64
ceftriaxone	0.32
cefotaxime	0.64
meropenem	0.64
gentamicin	2.0
amikacin	16
chloramphenicol	1.0
trimethoprim/sulfamethoxazole	0.64

なグラム陰性桿菌用の選択培地には発育せず、発育は遅く同定に困難である。

本菌が検出された背景には、患者は特に目立った既往歴がなく、また歯根手術など歯科治療の治療歴はなく、患者の歯並びが悪いのと長期間に渡る感冒様症状を呈していたために、口腔より本菌が血液中に侵入し感染性心内膜炎を起こしたものと推測される。

本菌は抗菌薬の投与がない条件下でも発育速度が遅く、血液培養陽性になるまでに丸2日以上も要している。本菌を同定していく過程で後に精査した結果より、従来法でオキシダーゼ試験は陽性だったのにも関わらず、サブカルチャーの寒天培地上より釣菌した菌でチトクローム・オキシダーゼ試験はポア・オキシダーゼテスト(栄研化学)で実施したが陰性を示した。併せて実施していた、血液要求性やマッコンキー寒天培地上の発育性、糖分解性などから *Brucella* sp.や *Francisella* sp.の可能性も疑うことになった。そのため、臨床側に疑いが明確になるまで、細胞寄生性細菌の治療も考慮してRFPの投与も実施してもらったが、最終的に16S rRNAの塩基配列により *A. actinomycetemcomitans* と同定されRFP投与も中止とした。

*Actinobacillus*による感染性心内膜炎では発熱、体重減少、脾腫、肝腫、疣贅などを主訴とすることが多く、また患者背景としては歯科治療、歯科感染症に起因するものが多く、好発年齢としては中年層に頻発する²⁾。一方、本菌のみならず僧房弁上に菌が付着し感染を起

こすと致命的になる場合も多く、最終的な治療法としては弁置換術などによる治療が必要となってくる。本邦での感染性心内膜炎の報告例は、*a-streptococci*や *Staphylococcus* sp.によるものがほとんどでグラム陰性桿菌によるものは少ない。本菌による感染性心内膜炎の報告例も稀であるが、海外文献でのグラム陰性桿菌による感染事例も多いという国による差もある³⁾。

僧房弁の疣贅に起因する感染性心内膜炎の場合、放置例の25%は死亡に至る。また、治療する場合には、その半数で外科的処置が必要となる。本症例のように僧房弁の逸脱を呈する感染性心内膜炎の場合は死亡率が高いが、血液培養検査により93%も起炎菌が検出可能となるため非常に有用な検査法である。

IV. 結語

今回は *A. actinomycetemcomitans*による感染性心内膜炎の1症例を報告した。栄養要求の厳しい菌のため菌の同定に苦慮したが、遺伝子学的な同定により迅速に対応できた。このように、稀な起炎菌により重篤な感染症を引き起こした場合でも強毒菌による感染も考慮されるため、迅速な対応によって臨床側に早く正確なデータの報告が望まれる。

謝辞

今回、16S rRNAの塩基配列をしていただいた、国立感染症研究所細菌第二部の柴田尚弘先生、荒川宜親先生に深謝いたします。

なお、本症例は第13回日本臨床微生物学会総会にて報告した。

文献

- 1) Reinier M. 1999. *Actinobacillus*, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Kingella* and Other Fastidious or Rarely Encountered Gram-Negative Rods. p. 561-571, In: (P. R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, et al. ed), American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 2) P. Brouqui and D. Raoult. 2001. Endocarditis Due to Rare and Fastidious Bacteria, *Clinical Microbiology Reviews*. 14: 177-207.
- 3) 兩宮武彦. 1991. 感染性心内膜炎, 弁膜症, 感染性心内膜炎. 循環器疾患. 最新内科学大系 37: 369-389.

A case of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* endocarditis

Go Yamamoto^{1, 2)}, Manabu Kurokawa³⁾, Hikaru Nishiguchi¹⁾
Tetsuji Sakashita¹⁾, Nobumasa Kataoka²⁾

¹⁾ Department of Clinical Laboratory, Nishi-Kobe Medical Center

²⁾ Kobe Institute of Health

³⁾ Kobe University Graduate School of Medicine

Infectious diseases caused by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* have been rarely reported in Japan. *A. actinomycetemcomitans* are belonging to HACEK group bacteria, which is often found on the mucous membranes of respiratory or genitourinary tracts of healthy individuals.

The patient was a 53-year-old male, and he consulted a clinical office in Nov. 1999, according to the recommendation of health checkup suggesting arrhythmia. He suffered from an influenza-like disease with upper respiratory infection in the next month and the symptom once got well, but continuous "slight fever", "anemia" and "proteinuria" were observed. In January, he consulted a clinic on account of lasting slight fever. A high level of CRP (14.7 mg/dl) and epithelial cast in urine sediment were observed, then he consulted the department of internal medicine for renal diseases. Systolic murmur was auscultated and prolaption of apex of mitral valve was suggested by an echocardiogram, so an infectious endocarditis was suspected and the patient was admitted to our hospital. Gram-negative coccobacilli were detected by the arterial blood culture after 50 hours incubation. This coccobacilli grew very slowly and was identified as *A. actinomycetemcomitans* by the conventional identification method and a sequencing analysis of the 16S rRNA. This strain showed good susceptibility to many b-lactams.

The patient was prescribed with 12 g/day of ampicillin and 120 mg/day of gentamicin in the initial step of chemotherapy. Later, prescription was switched to 2 g/day of ceftriaxone, 750 mg/day of rifampicin and 200 mg/day of doxycycline as the secondary step of chemotherapy.

After the identification of *A. actinomycetemcomitans* was confirmed, the third step of chemotherapy was started with 12 g/day of sulbactam/ampicillin.

The patient recovered and discharged after 28 days admission with accurate chemotherapy through exact identification of the pathogen by the conventional identification procedure and the nucleotide sequencing analysis of bacterial 16S rRNA.