

## [症 例]

*Corynebacterium amycolatum* による人工弁心内膜炎の 1 例竹澤理子<sup>1)</sup>・小野由可<sup>1)</sup>・鶴原日登美<sup>1)</sup>・油井明美<sup>1)</sup>・大楠清文<sup>2)</sup>・江崎孝行<sup>2)</sup><sup>1)</sup> 三井記念病院 検査部<sup>2)</sup> 岐阜大学大学院医学系研究科 病原体制御学分野

(平成 21 年 3 月 12 日受付, 平成 21 年 10 月 20 日受理)

症例は 56 歳男性。人工弁の心内膜炎の診断で、弁再置換術が実施された。血液培養からコリネバクテリウム様好気性グラム陽性桿菌が分離されたが市販の同定キットでは同定できなかった。人工弁に付着していた疣贅は、グラム染色にてグラム陽性桿菌が観察されたが、培養陰性であった。血液培養分離菌は 16S rRNA 遺伝子解析により、*Corynebacterium amycolatum* と同定された。疣贅組織からも検出菌と同一の遺伝子配列を示す細菌 16S rRNA 遺伝子が検出された。以上より、*C. amycolatum* による人工弁の感染性心内膜炎と診断された。*C. amycolatum* による心内膜炎の報告は極めてまれであり本邦初の報告となるが、誤同定による過小評価の可能性が指摘されており、同定には注意が必要である。

**Key words:** *Corynebacterium amycolatum*, 感染性心内膜炎, 人工弁, 血液培養, 遺伝子検査

## 序 文

近年、免疫不全の患者の増加に伴い、*Corynebacterium diphtheriae* 以外の *Corynebacterium* 属による日和見感染症が増加している<sup>1)</sup>。また、本属の菌は感染性心内膜炎 (IE) を惹起することがあり、その予後も悪いことが報告<sup>2)</sup>されている。すなわち、*Corynebacterium* 属による IE の 129 症例のうち、リスクファクターとして心臓弁膜症の既往が 31.0%、弁置換の既往は 19.3%、そして死亡率は 43.4%であったとの報告<sup>2)</sup>がある。これらの症例のうち、*Corynebacterium amycolatum* が原因菌の IE はわずか 2 例 (1.6%) であったが、この菌種の同定は病院検査室では困難であるために過小報告されている可能性が指摘されている。今回、我々は菌種の確定に苦慮したものの、血液培養にて *C. amycolatum* を分離・同定することができ、さらには、遺伝子解析によって人工弁の疣贅から直接、本菌種の DNA 検出に成功した IE の症例を経験したので報告する。

## 症 例

症例は 56 歳男性、主訴は発熱。既往歴として、2002 年に僧帽弁閉鎖不全治療のために人工弁置換術を施行されている。免疫不全による合併症、糖尿病などはなかった。2006 年 5 月 22 日、単径ヘルニア手術のため当院に入院した。入院時 38℃ 台の発熱を認め尿路感染症が疑われたため piperacillin 1 g×2/日の抗菌薬療法を開始したが、28 日に抗菌薬点滴治療を拒否し自主退院した。6 月 1 日より 39℃ 台の発熱を認め、翌 2 日当院外来を受診、静脈血培養を施行した。同 5 日他院に入院し、入院時検査で白血球数 10,100/μl、CRP 5.4 mg/dl と炎症所見を認め panipenem/betamipron (PAPM/BP) の抗菌薬療法が開始されたが、感染性心内膜炎が疑われたため同 10 日当院に加療目的で転院となった。抗菌薬は PAPM/BP から gentamicin (GM) 60 mg×2/日と vancomycin (VCM) 750 mg×2/日の併用療法に変更された。同 12 日、静脈血培養を施行した。心エコー検査では僧帽弁弁座の動揺、弁輪部疣贅、人工弁周囲逆流が認められた。心不全が増強したため同 14 日に僧帽弁再置換術が施行された。術中に提出された僧帽弁疣贅のグラム染色鏡検ではグラム陽性桿菌を認めたが培養は陰性であった。6 月 2 日に外来で採取された血液培養および入院後の合計 4 セットから、市販の同定キットで同定困難な好気性グラム陽性桿菌が検出された。さらに、心エコー上明らかな IE 陽性所見が得られたこと

著者連絡先: (〒101-8643) 東京都千代田区神田和泉町 1 番地  
三井記念病院 検査部 細菌検査室  
竹澤理子  
TEL: 03-3862-9111 (内線 2510)  
FAX: 03-3862-3880  
E-mail: saikin-kensa@mitsuishosp.or.jp

から確定診断された。治療が継続されるも、同22日、人工弁感染性心内膜炎による出血性脳梗塞により永眠された。

#### 微生物学的検査

1. **検査材料**：血液培養検査は、自動血液培養装置 BACTEC9120（日本 BD）にて実施した。外来受診時に提出された静脈血培養1セットと入院後に提出された6セットのうち3セットの、好気用ボトルのみが培養4～6日後に陽転した。6月14日の僧帽弁再置換術の際には、術中採取の僧帽弁疣贅が提出された（Fig. 1）。

2. **塗抹鏡検所見**：血液培養は陽転した時点でグラム染色を行った。すべてグラム陽性コリネ様桿菌であった。また、術中採取の僧帽弁疣贅も同様であった（Fig. 1）。念のために、コロニーの抗酸染色を実施したが、抗酸性は示さなかった。

3. **分離培養**：静脈血培養液のサブカルチャーを行った結果、24時間培養後の血液寒天培地上にラフ型黄白色小集落が形成された。僧帽弁疣贅の培養は、増菌培地、分離培地いずれも培養7日後において発育が認められなかった。

4. **菌種同定検査**：静脈血培養液からサブカルチャーした菌株を同定検査に用いた。カタラーゼテストは陰性を示した。簡易同定キットの Api Coryne（日本バイオメリュー）と Rap ID CB plus（アムコ）を用い菌種の同定を試みたが、いずれも該当コードがなく、同定不能であった。生化学的同定法では菌種の同定ができなかったため岐阜大学へ遺伝学的な同定を依頼した。分離菌株の16S rDNA塩基配列（アクセッション番号；AB490399）は *C. amycolatum* の基準株（X82057）と99.1%（1388/1400）の類似度があることが判明した。さらに *Corynebacterium* 属66菌種（基準株）の16S rDNA塩基配列を入手して系統解析を実施した結果、本菌株は *C. amycolatum* と同じクラスターを形成していた。以上の分子系統解析によって、分離菌株は *C. amycolatum* と同定された。

5. **僧帽弁疣贅の遺伝子検査**：分離培養で菌の発育が認められなかった僧帽弁疣贅からDNAを抽出後、broad-range PCR法にて16S rDNA領域の増幅を試みた。増幅産物が得られたため、精製後、シーケンス解析を行った<sup>3)</sup>。この塩基配列と分離菌株の16S rDNA塩基配列とを照合した結果、100%一致した。すなわち、僧帽弁疣贅から *C. amycolatum* と相同性の高いDNAが検出・同定された。

6. **薬剤感受性試験**：ドライプレート‘栄研’（栄研

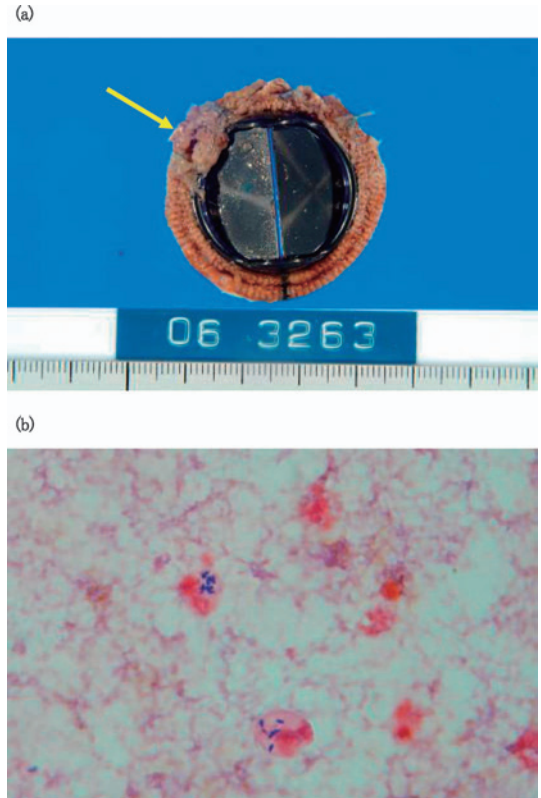


Fig. 1. (a) Macroscopic photograph of the prosthetic valve with vegetation. (b) Gram stain of the valve vegetation ( $\times 1,000$ ).

化学)を用いて最小発育阻止濃度(MIC)を測定した結果、ペニシリン系薬、セフェム系薬、levofloxacin、sulfamethoxazole/trimethoprimに耐性傾向を示していた。minocyclineは0.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下、VCMは0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ で感受性を示した。さらに、本症例で投与されたGM,VCMについては、E-test（アスカ純薬）を用いて追加試験を行ったところ、GMのMIC値は32  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、VCMのMIC値は0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

#### 考 察

*C. amycolatum* はヒトの皮膚に常在するグラム陽性、無芽胞、好気性または通性嫌気性の桿菌で、ミコール酸をもたない新種として1988年に記載・登録された<sup>4),5)</sup>。その後、本菌種による全身感染症例は1996年に報告された敗血症<sup>6)</sup>が初めてであり、これまでに好中球減少の患者における敗血症が数例散見されるのみである<sup>7),8)</sup>。とりわけ、本菌によるIEの症例は今回の自験例を含めて、世界でわずか4例が報告され

Table 1. Characteristics of four different cases of *C. amycolatum* endocarditis

Author	Country	Year	Age/Sex	Diagnosis	Associated IVD	Treatment	Outcome
Present case	Japan	2006	56/male	Prosthetic mitral valve endocarditis	None	Vancomycin, gentamicin	Died
Knox & Holmes	England	2002	74/female	Native mitral valve endocarditis	Right IJ HD catheter	Vancomycin, rifampicin	Survived
Daniels, et al.	Belgium	2003	88/female	Native aortic valve endocarditis	None	Cefuroxime	Died
Dalal, et al.	USA	2008	84/female	Native mitral valve endocarditis	Left subclavian HD catheter	Vancomycin, daptomycin, rifampicin	Survived

HD, haemodialysis; IJ, internal jugular; IVD, intravascular device.

ているだけである。しかしながら、本菌種が誤同定されていたために過小評価されていることが指摘されている。すなわち、臨床から分離された *Corynebacterium* 属のうち最も検出頻度の高い菌種は *C. amycolatum* であり、そのうち 24% が感染症の起炎菌であったとの報告<sup>1)</sup>がある。また、Esteban らは、1992 年 1 月から 1997 年 12 月の 5 年間に Api Coryne データベースバージョン 1.0 によって *C. xerosis* と同定された臨床分離の 22 菌株をバージョン 2.0 のデータベースを用いて再検査したところ、18 株が *C. amycolatum* と同定されたと報告<sup>5)</sup>している。したがって、*C. xerosis* が起炎菌として報告された全身感染例の中には *C. amycolatum* による感染が含まれていた可能性を強く示唆するものである。本菌は同定のキーとなる生化学的性状が変化に富んでいるため、同定キットを用いた菌種の確定が難しい。実際、今回の我々の菌株でもカタラーゼ反応が陰性だったことや、pyrazinamidase (PYZ), glucose (GLU) の反応が基準株と異なり陰性だったことなどから同定することができなかった。このような背景から、Api Coryne のデータベースにおいて、バージョン 2.0 以降では *C. amycolatum* を識別できるように改善されてはいるものの、確実な同定にはミコール酸クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィー、遺伝子学的同定法などを用いる必要があることが報告<sup>4), 5), 9)</sup>されている。しかしながら、これらの解析法は一般的な病院臨床微生物検査室では実施できないのが実情であるので、今回のケースのように 16S rDNA 塩基配列による同定を依頼することも選択肢の一つである。

*C. amycolatum* による IE の臨床的な特徴を把握するべく、本症例と過去の欧米での 3 例を Table 1 にまとめてみた。まず、*Corynebacterium* 属の菌種による IE は典型的には成人男性で左心系への感染が多いとされる一方で、*C. amycolatum* による IE では女性に

好発するとされている<sup>2)</sup>。欧米での 3 例はすべて女性であった。さらに、すべて生体弁（自己弁）への感染で、その内訳は 2 例が僧帽弁、1 例が大動脈弁であった。本症例は男性の僧帽弁における人工弁への感染であった。本菌による敗血症や関節炎ほかの感染症では、易感染性患者でしかも血管内カテーテルを挿入している患者に多いとされている<sup>4)</sup>。今回の我々の症例ではカテーテルの挿入はなかったが、欧米での 2 例は血管内カテーテルが挿入されており、そのうち 1 例は院内感染例であった<sup>10)</sup>。*C. amycolatum* は多剤耐性の傾向があることから治療上も注意が必要である。ヨーロッパにおいて分離された 18 株の耐性率は ampicillin, cefazolin が 38.9%, GM が 44.4%, erythromycin, clindamycin, ciprofloxacin が 94.4%, rifampicin (RFP) が 11.1% で、VCM と tetracycline には耐性がなかった<sup>5)</sup>。本症例分離菌株においても多剤耐性の傾向が見られた。投与された VCM は 0.5  $\mu\text{g/ml}$  と感受性であったが、GM は MIC 値が 32  $\mu\text{g/ml}$  と高値を示していた。VCM と RFP を併用した欧米の 2 例<sup>4), 10)</sup>は予後良好であったが、cefuroxime で治療された 1 例<sup>11)</sup>と本症例は残念ながら死の転帰をたどっている。したがって、カテーテルからの院内感染による IE では MRSA や CNS のみならず *C. amycolatum* も起炎菌として念頭に入れておく必要がある。また、薬剤感受性試験結果の報告と同時に、これら過去の治療が記述された文献を臨床サイドへ積極的に提供することも大切である。

*C. amycolatum* による IE 症例がまれであるもう一つの要因として、本菌が皮膚の常在菌であるため通常は汚染菌と解釈されている可能性がある。とりわけ、血液培養の 1 本のみが陽性の場合にはしばしば無視される<sup>2), 4)</sup>。実際、血液培養のコンタミネーションの 10% が *Corynebacterium* 属の菌種であったとの報告<sup>12)</sup>が見られる。一方で、菌血症を起こしたグラム

陽性菌の5%を *Corynebacterium* 属の菌種が占めていたという検討結果<sup>13)</sup>もあることから、適切な方法で無菌的に採取された血液培養が複数回陽性になった場合には起炎菌として考慮する必要がある。そのためには、IE診断のガイドライン<sup>14)</sup>に基づいてエピソードの間に複数回の血液培養検査を施行するように臨床サイドに働きかけていくことも重要である。IEの臨床的診断として Duke 判定基準<sup>14), 15)</sup>が用いられる。改定された Duke 判定基準では、原因菌によって陽性基準の回数が異なるが、12時間以上の間隔で採取した血液培養が2回以上陽性か、1時間以上の間に複数回施行された血液培養で3回ならずべてが、4回以上であれば大部分で検出されれば大基準を満たすことになる。さらに心エコー所見で確定診断となる<sup>14), 15)</sup>。*Corynebacterium* 属の菌種が血液培養で分離された際には、臨床医との連携を密にして、真の起炎菌か否かの判断ができる検査体制を整えていくことも大切である。

なお、本論文の要旨は第18回日本臨床微生物学会(長崎, 2007年2月)において発表した。

## 文 献

- 1) Lagrou, K., J. Verhaegen, M. Janssens, et al. 1998. Prospective study of catalase-positive coryneform organisms in clinical specimens: Identification, clinical relevance, and antibiotic susceptibility. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 30: 7-15.
- 2) Belmares, J., S. Dettlerline, J. B. Pak, et al. 2007. Research article. *Corynebacterium* endocarditis species-specific risk factors and outcomes. *BMC Infect. Dis.* 7: 4.
- 3) 大楠清文, 江崎孝行. 2008. 感染症診断における遺伝子解析技術の適応. *日臨徴誌* 18: 163-176.
- 4) Dalal, A., C. Urban, S. Segal-Maurer. 2008. Case report. Endocarditis due to *Corynebacterium amycolatum*. *J. Med. Microbiol.* 57: 1299-1302.
- 5) Esteban, J., E. Nieto, R. Calvo, et al. 1999. Microbiological characterization and clinical significance of *Corynebacterium amycolatum* strains. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 18: 518-521.
- 6) De Miguel-Martinez, I., F. Fernandez-Fuertes, A. Ramos-Macias, et al. 1996. Sepsis due to multiply resistant *Corynebacterium amycolatum*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 15: 617-618.
- 7) De Miguel, I., E. Rodriguez, A. M. Martin. 1999. *Corynebacterium amycolatum*: Sepsis in hematologic patients. *Enferm. Infect. Microbiol. Clin.* 17: 340-341.
- 8) Adderson, E. E., J. W. Boudreaux, R. T. Hayden. 2008. Infections caused by coryneform bacteria in pediatric oncology patients. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 27: 136-141.
- 9) Funke, G., K. A. Bernard. 2007. Coryneform Gram-positive rods. p. 485-514. In: *Manual of clinical microbiology*, 9th ed. (P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, et al. ed.), American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 10) Knox, L. K., A. H. Holmest. 2002. Nosocomial endocarditis caused by *Corynebacterium amycolatum* and other nondiphtheriae corynebacteria. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 97-99.
- 11) Daniels, C. 2003. Case report. Native valve endocarditis with aorta-to-left atrial fistula due to *Corynebacterium amycolatum*. *Eur. J. Echocardiogr.* 4: 68-70.
- 12) Van Scoy, R. E., S. N. Cohen, J. E. Geraci, et al. 1997. Coryneform bacterial endocarditis: Difficulties in diagnosis and treatment, presentation of three cases, and review of literature. *Mayo Clin. Proc.* 52: 216-219.
- 13) Zinner, S. H. 1999. Changing epidemiology of infections in patients with neutropenia and cancer: Emphasis on Gram-positive and resistant bacteria. *Clin. Infect. Dis.* 29: 490-494.
- 14) 日本循環器学会・日本胸部外科学会・日本小児科循環器学会・日本心臓病学会合同研究班. 2008. 感染性心内膜炎の予防と治療に関するガイドライン. 日本循環器学会.
- 15) Jennifer, S. Li., D. J. Sexton, N. Mick, et al. 2000. Clinical articles. Proposed modification to the Duke criteria for the diagnosis. *Clin. Infect. Dis.* 30: 633-638.

---

## A Case of Prosthetic Valve Endocarditis Due to *Corynebacterium amycolatum*

Riko Takezawa,<sup>1)</sup> Yuka Ono,<sup>1)</sup> Hitomi Ubara,<sup>1)</sup> Akemi Yui,<sup>1)</sup>  
Kiyofumi Ohkusu,<sup>2)</sup> Takayuki Ezaki<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Clinical Laboratories, Mitsui Memorial Hospital

<sup>2)</sup> Department Microbiology, Gifu University Graduate School of Medicine

The patient was a 56-year-old man. He was diagnosed with prosthetic valve endocarditis and underwent valve replacement surgery. *Corynebacterium*-like aerobic Gram-positive bacilli isolated from blood culture could not be identified with a commercial identification kit. Gram-positive bacilli were detected from prosthetic valve vegetation by gram staining but were negative in culture. Using 16S rRNA gene analysis, the bacillus recovered from the blood culture was identified as *Corynebacterium amycolatum*. Bacterial 16S rRNA genes showing identical sequences as the 16S rRNA genes of the bacterium isolated from the blood culture were also detected from the vegetation tissue. Thus, it was diagnosed as prosthetic valve infective endocarditis caused by *C. amycolatum*. Case reports of endocarditis due to *C. amycolatum* are extremely rare. This is the first case report in Japan, but the possibility of underestimation due to misidentification cannot be disregarded, as such, caution is needed in identification.