

[症 例]

自動血液培養で陽性シグナルを呈しなかった
Capnocytophaga canimorsus による
敗血症の一症例

古谷明子¹⁾・吉田里美¹⁾・久保 綾¹⁾・山下麻衣子¹⁾
伊藤達章¹⁾・鈴木道雄²⁾・今岡浩一²⁾・大楠清文³⁾

¹⁾ 佐世保共済病院中央臨床検査科

²⁾ 国立感染症研究所獣医科学部

³⁾ 岐阜大学大学院医学系研究科病原体制御学分野

(平成 22 年 2 月 1 日受付, 平成 22 年 4 月 30 日受理)

Capnocytophaga canimorsus はイヌやネコの口腔内常在菌であるが、まれに咬傷による敗血症例が報告されている。筆者らは、イヌ咬傷により敗血症性ショックに陥った症例を経験した。症例は 44 歳男性。既往歴は慢性蕁麻疹、尿路結石である。2008 年 11 月 3 日、飼いイヌに右示指を咬まれ、右示指末節骨開放骨折を認めたため手術目的で入院となったが経過は順調であった。11 月 6 日に激しい頭痛があり、翌日には食思不振、下痢、呼吸苦、顔面に皮疹、手指に水泡、足底にチアノーゼが出現した。11 月 8 日に静脈血液培養 2 セットを開始したが、培養 3 日を経過しても陽性反応を示さなかった。そこで、直接ボトル内の血液を抜き取りグラム染色を行った結果、ボトル 4 本中 2 本で糸状のグラム陰性桿菌を確認した。患者背景より *C. canimorsus* を疑い、血液培養液から直接 16S rRNA 遺伝子配列の解析を行い *C. canimorsus* を確認した。後日分離された患者由来菌株および飼いイヌの口腔内ぬぐい液検体の 16S rRNA 遺伝子配列を決定した結果、いずれも *C. canimorsus* と同定された。

Key words: *Capnocytophaga canimorsus*, 犬咬傷, 血液培養, グラム染色, PCR

序 文

Capnocytophaga 属菌はヒトおよび動物の口腔内に常在する紡錘状のグラム陰性桿菌である。通性嫌気性菌であり、炭酸ガスおよび嫌気培養で発育する。本属には 7 菌種が含まれるが、イヌ、ネコの口腔内常在菌である *Capnocytophaga canimorsus* は、オキシダーゼ陽性、カタラーゼ陽性を示し、ヒト由来の *Capnocytophaga* とは区別される。*C. canimorsus* は、イヌ、ネコ咬傷後まれに敗血症、髄膜炎などを引き起こし、世界中では 200 例ほどが報告されており、高齢者、易感染者に重症例が多いとされ、致死率は 30% とされ

ている^{1~3)}。本邦でも十数例が報告されている^{3~7)}。今回筆者らは、自動血液培養で陽性シグナルを示していない検体について直接グラム染色を行うことで *C. canimorsus* 同定につながった症例を経験した。

症 例

患 者: 44 歳, 男性

既往歴: 慢性蕁麻疹, 尿路結石

主 訴: 敗血症性ショック

現病歴: 2008 年 11 月 3 日飼いイヌに右示指を咬まれ当院受診した。右示指末節骨開放骨折(図 1)を認めたため、緊急手術目的で入院となり、洗浄、デブリドマンを施行した。爪甲は、爪根部で爪母から脱臼しており、一部損傷を認めたが、爪根を爪母に整復できた。創部は開放しドレーンを留置した。

臨床経過(表 1): 初診時血液検査において白血球 8,960/ μ l, CRP は陰性。抗菌薬は、cefazolin (CEZ) と isepamicin (ISP) が投与開始され、術後 2 日目までは

著者連絡先: (〒857-8575) 長崎県佐世保市島地町 10-17
佐世保共済病院
古谷明子
TEL: 0956-22-5136
FAX: 0956-22-6082
E-mail: kensa@kkk.sasebo.nagasaki.jp

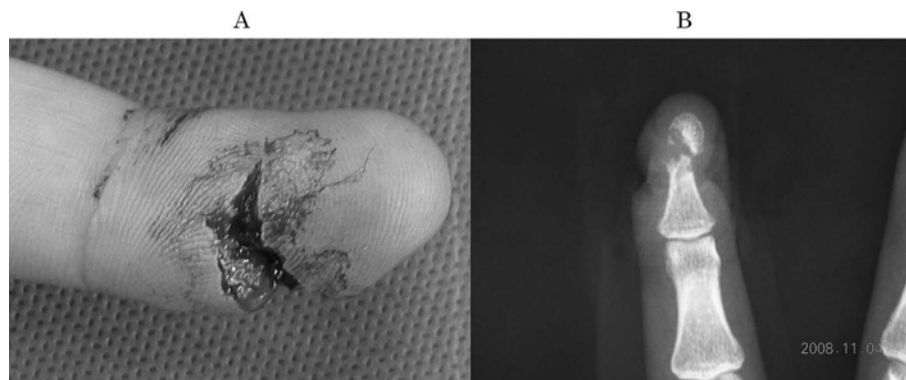


図 1. A: 右示指咬傷部所見, B: 右示指咬傷部 X 線画像

表 1. 入院時 (受傷時), 11 月 8 日 (受傷 5 日目) 検査所見

	入院時	11 月 8 日		入院時	11 月 8 日
Blood chemistry			Peripheral blood		
TP (g/dl)	7.2	5.1	WBC ($\times 10^2/\mu\text{l}$)	89.6	20.9
T-bil (mg/dl)	0.39	4.45	Neut (%)	44.2	79.4
D-bil (mg/dl)		3.4	Lymph (%)	46.8	14.4
AST (IU/L)	23	373	Mono (%)	4.8	0.5
ALT (IU/L)	28	144	Eo (%)	3.8	3.8
LDH (IU/L)	179	958	Baso (%)	0.4	1.9
ALP (IU/L)	187	323	RBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	493.0	398.0
γ -GTP (IU/L)	83	212	Hb (g/dl)	16.1	13.0
CPK (IU/L)	73	134	Hct (%)	46.2	37.8
BUN (mg/dl)	10.5	27.8	Plt ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	34.8	0.7
Cre (mg/dl)	0.85	3.98	Coagulation test		
Na (mEq/L)	143.0	139.5	PT (INR)	0.82	3.88
K (mEq/L)	3.93	3.67	APTT (sec)	25.1	131.0
Cl (mEq/L)	103.9	101.1	Fbg (mg/dl)		71.8
CRP (mg/dl)	0.04	22.26	ATIII (%)		59.6

特に問題なく経過していたが、11月6日夜間激しい頭痛、38.6℃の発熱。頸部硬直はなくCT所見も異常はなかった。翌日頭痛著変なく、食欲不振、夕方より下痢の症状が出現し、その後呼吸苦、四肢のしびれ感が出現し、深夜顔面に皮疹を認めた。11月8日血液検査結果(表2)より播種性血管内凝固症候群(DIC)と診断され、人工呼吸器管理となりDIC加療と抗菌薬は、meropenem (MEPM)とclindamycin (CLDM)に変更し投与された。また、両上肢に水泡、足趾末端血行障害と思われるチアノーゼが出現してきた。受傷指は、色調不良で、皮下の治癒傾向も乏しく、感染源の可能性も考えられることから、末節骨を第一関節から切離し、切断術を行い、洗浄後開放創とした。抗菌薬は、翌日よりpiperacillin (PIPC)、さらに11月11日よりminocycline (MINO)を追加した。一時状態が増

悪したが、以後は改善傾向となり16日人工呼吸器より離脱となった。

細菌学的検査所見

1. 培養検査

11月8日深夜、静脈血培養2セット採取。好気ボトルはBACTEC PLUS Aerobic/Fを、嫌気ボトルはBACTEC PLUS Anaerobic/Fを使用し自動血液培養装置BACTEC9050にて実施した。培養開始3日目、陽性シグナルは見られなかったが、患者情報を詳しく確認したところ、イヌ咬傷後の敗血症が疑われる症例であることが判明した。そこで、血液培養ボトル4本すべての血液を一部抜き取り、グラム染色を行ったところ、好気ボトル2本について、糸状のグラム陰性桿菌をごく少数認めた(図2)。さらに、11月7日に採血

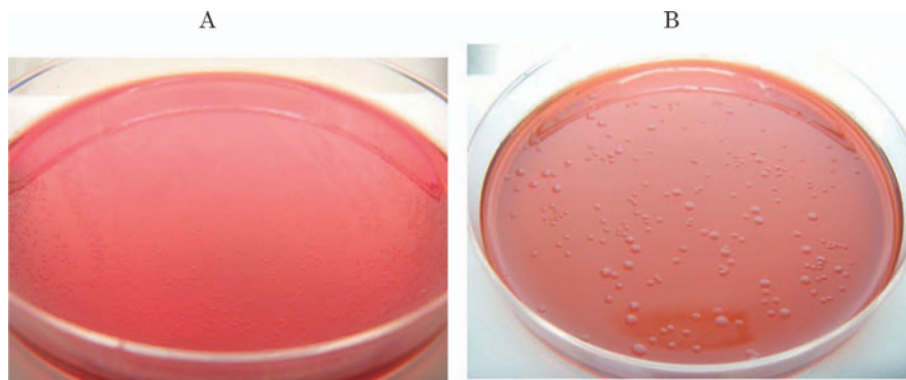


図 3. コロニーの性状
A: 嫌気培養 6 日間 B: さらに 5% 炭酸ガス培養 1 日間

表 3. 薬剤感受性成績

分類	一般名	略号	感受性
ペニシリン系	Amoxicillin	AMPC	S
	Ampicillin	ABPC	S
	Clavulanic/Amoxicillin	AMPC/CVA	S
	Piperacillin	PIPC	S
	Benzylopenicillin	PCG	S
セフェム系	Cefazolin	CEZ	I
	Cefotaxime	CTX	S
	Ceftriaxone	CTRX	I
	Latamoxef	LMOX	I
カルバペネム系	Imipenem/Cilastatin	IPM/CS	S
	Meropenem	MEPM	S
アミノグリコシド系	Gentamicin	GM	R
	Streptomycin	SM	R
マクロライド系	Azithromycin	AZM	S
	Erythromycin	EM	S
テトラサイクリン系	Tetracycline	TC	S
	Doxycycline	DOXY	S
	Minocycline	MINO	S
キノロン系	Nelidixic acid	NA	S
	Ofloxacin	OFLX	S
	Ciprofloxacin	CPFX	S
リンコマイシン系	Clindamycin	CLDM	S
クロラムフェニコール系	Chloramphenicol	CP	S
ポリペプチド系	Polymyxin-B	PL-B	R
抗結核薬	Rifampicin	RFP	S
ST 合剤	Sulfamethoxazole/Trimethoprim	ST	S

S: susceptible I: intermediate R: resistant

内容液より後日分離された3株について、DNAを抽出しPCR検査を行った。

C. canimorsus および *Capnocytophaga cynodegmi* の16S rRNA 遺伝子に対する特異的プライマーを用いた検査では、3株ともその双方に陽性を示した。16S rRNA 遺伝子シーケンスを解析の結果、本分離株ではゲノム内に複数存在すると示唆される16S rRNA 遺伝子オペロンの塩基配列に多型が認められ、そのため用いた双方のプライマーに陽性反応を示したものと考えられた。しかしながら *C. canimorsus* に特異的な *gyrB* 遺伝子のPCR検査で陽性を示したことから、本分離株は *C. canimorsus* と考えられた。また、咬傷の原因となった飼育犬の口腔内ぬぐい液については、分離株が得られなかったため詳細な解析はできなかったが、培養液から抽出したDNAを用いたPCR検査では *C. canimorsus* および *C. cynodegmi* 双方に陽性を示した。このことから、咬傷原因となった飼育犬が口腔内に *C. canimorsus* を保有していることが示唆された。

また、これらの菌株は、いずれもオキシダーゼ陽性、カタラーゼ陽性であり、同定キットID Test HN-20(日水製薬)においても *C. canimorsus* (プロファイルNo. 3010001, 同定確率100%) と同定された。

3. 薬剤感受性試験(表3)

5%ウサギ脱繊維血加ハートインフュージョン寒天を使用し、センシディスク法(日本ベクトン・ディッキンソン社)で行った。35°C・5%CO₂条件下で48時間培養後、阻止円を計測し、センシディスクの感受性判定表の数値および対照菌株 *Staphylococcus aureus* および *Escherichia coli* の同条件での結果を参考に阻止円の十分大きいものを感性(S)とし、全く阻止円のないものを耐性(R)とし、その中間を(I)と判定した。ペニシリン系、テトラサイクリン系薬剤には感性を示したが、セフェム系では中間、アミノグリコシド系には耐性であった。今回、DIC後に使用された薬剤に対しては、すべて感性であった。

考 察

C. canimorsus はイヌ、ネコの口腔内常在菌であり、イヌ、ネコの咬傷や密な接触により感染し、まれに易感染者に対して敗血症、腎不全、髄膜炎やDICを起こして死に至る例もあると言われている。敗血症を発症したときの死亡率は30%と報告されており、進行が速く非常に危険な感染症である^{1,2)}。そのため敗血症に対する迅速な救命医療を行う必要がある。また、高齢者や易感染状態にない健康人の重症例の報告もあ

り^{1~3)}、今回の症例もそうであった。本邦における報告例はまれであるが、*C. canimorsus* 感染症に対する認知度の低さや菌の増殖が遅いことによる同定の困難さなどがあり、見逃されている可能性も否定できない。医療従事者のイヌ・ネコ咬傷感染症への認識を深める必要があると思われる。また、欧米に比べ血液培養の頻度ははるかに少ないことも報告数が少ない要因と考えられる⁴⁾。

イヌ、ネコ咬傷から感染症を起こす起炎菌として、黄色ブドウ球菌、連鎖球菌、*Pasteurella*、種々の嫌気性菌が知られている。なかでも *Pasteurella multocida* は、*C. canimorsus* 同様グラム陰性桿菌であるが、糸状の形態の *C. canimorsus* に対して、*Haemophilus influenzae* 様の短桿菌を呈している。また *P. multocida* は、受傷後24時間以内に激しい局所の腫脹が現れる³⁾のに対し、*C. canimorsus* は潜伏期が2~14日と長く、局所症状よりも全身症状が現れることが多い、などの違いからの鑑別も可能である^{3,8)}。

今回の症例では、受傷後3日目に頭痛などの症状が出始めているがその時点で血液培養は施行されていなかった。DIC状態となったため、血液ボトル2セット採取されたが、自動血液培養は陽転することなく経過していた。患者の詳しい情報を得たのが培養3日目であり、その時点で血液培養ボトル内の血液を直接抜き取り、グラム染色を行い、菌を確認するに至った。イヌ咬傷など特徴的な患者背景があり、明らかに敗血症が疑われる症例において、臨床とのコミュニケーションを密に取ることが、原因菌の検索に重要であると再認識した。

Capnocytophaga 属菌は多くの抗菌薬に感受性を示すため、今回のように培養施行前に抗菌薬の投与がなされていた場合、薬剤により強くダメージを受けていて検出率が低下する可能性もある^{6,9)}。当院では、血液培養期間を7日間に設定しているが、血液中の菌量が非常に少なかったことから菌が十分に増殖せず、自動機器が陽性と感知できなかった可能性も考えられる。菌の増殖能などから、血液培養期間の延長も考慮することが必要であると思われる。今回、血液培養が陽性シグナルを呈さない時点で、直接血液スマアをグラム染色することが迅速診断につながった。さらに、血液培養液から直接遺伝子解析することで迅速な菌種の同定が可能であった。これらの方法は適切な治療方針を決定するうえでたいへん有用であった。

結 語

今回筆者らは、自動血液培養で陽性シグナルを呈さ

ない検体から直接グラム染色を行うことにより *C. canimorsus* 同定につながった症例を経験した。

文 献

- 1) Janda, J. M., et al. 2006. Diagnosing *Capnocytophaga canimorsus* infections. *Emerg. Inf. Dis.* 12: 340-342.
- 2) Gaasta, et al. 2009. *Capnocytophaga canimorsus*. *Vet. Microbiol.* doi: 10.1016/j.vetmic.2009.01.040
- 3) 今岡浩一. 2009. 犬, 猫由来細菌感染症. *獣医学雑誌* 13(1): 65-70.
- 4) 菊池一美, 他. 2005. *Capnocytophaga canimorsus* による菌血症の 1 症例. *日本臨床微生物学会誌* 15: 9-14.
- 5) 高橋春樹, 他. 2009. *Capnocytophaga canimorsus* による敗血症・多臓器不全の一救命例. *日救急医学誌* 20: 226-231.
- 6) 竹川啓史, 他. 2008. *Capnocytophaga canimorsus* による敗血症 4 例の検討. *日本臨床微生物学会誌* 18: 148.
- 7) 太田求磨, 他. 2009. *Capnocytophaga canimorsus* による敗血症の 1 剖検例. *感染症学雑誌* 83: 661-664.
- 8) 今岡浩一. 2007. 意外と知らない感染症. *チャイルドヘルス* 10(11): 768-771.
- 9) 小林郁夫. 2006. 全自動血液培養検査装置 BD パクテック™ 9000 シリーズの特徴と測定原理. *臨床と微生物* 33: 61-65.

Positive Gram's Stain of Blood Culture without Positive Signals on BACTEC9050

Akiko Furutani,¹⁾ Satomi Yoshida,¹⁾ Aya Kubo,¹⁾ Maiko Yamashita,¹⁾ Tatsuaki Itoh,¹⁾ Michio Suzuki,²⁾ Koichi Imaoka,²⁾ Kiyofumi Ohkusu³⁾

¹⁾ Department of Clinical Laboratory, Sasebo Kyosai Hospital

²⁾ Department of Veterinary Science, National Institute of Infectious Diseases

³⁾ Department of Microbiology, Gifu University Graduate School Medicine

Capnocytophaga canimorsus is capnophilic, slow-growing, filamentous, facultative aerobic, Gram-negative bacteria and is found in the oral cavity of dogs and cats. *C. canimorsus* sometimes causes septicemia, endocarditis and meningitis in people after dog or cat bite and fatality rate due to septicemia is estimated up to 30%. We encountered the case of septicemia due to *C. canimorsus* infection by a pet dog bite. After 3 days blood culture, any positive signals were not observed on BACTEC9050, however we performed Gram's stain and PCR of blood samples from culture bottles and obtained positive staining and specific amplification of 16S rRNA gene of *C. canimorsus*. Thereafter, isolated bacterial strains from subcultures of blood culture and wound tissues were also determined as *C. canimorsus* by PCR, genome sequencing analysis and biochemical test. This study suggests that early detection of bacteria by Gram's stain and PCR of the blood culture is helpful for the determination of primary causative organism and treatment of septic patient, even if positive signal is not observed on automated blood culture microbial detection system.