

[症 例]

在宅中心静脈栄養患者にみられた *Gordonia sputi* 敗血症の 1 例
—原因菌の分離・同定・鑑別を中心に—

檀園恭子¹⁾・村上日奈子^{1, 5)}・大楠清文²⁾・彦坂あゆみ¹⁾・福澤 滋¹⁾
前原千佳子¹⁾・安井久美子¹⁾・湯本重雄¹⁾・岩田守弘¹⁾・青池 望³⁾
館田一博^{1, 3)}・鷲澤尚宏⁴⁾・江崎孝行²⁾・山口恵三^{1, 3, 5)}

- 1) 東邦大学医療センター大森病院臨床検査部
- 2) 岐阜大学大学院医学研究科再生分子統御学講座病原体制御学分野
- 3) 東邦大学医学部微生物学・感染症学講座
- 4) 東邦大学医療センター大森病院栄養治療センター
- 5) 東邦大学医療センター大森病院感染管理部

(平成 20 年 11 月 10 日受付, 平成 22 年 6 月 30 日受理)

在宅中心静脈栄養患者にみられた *Gordonia sputi* 敗血症の 1 例を経験した。本患者は小腸全摘術後の短腸症候群にて、皮下埋め込み式ポートを用いて自宅で高カロリー輸液により管理されていた。抗菌薬不応性の発熱がみられたため入院精査となり、血液培養より 5 回にわたって好気性グラム陽性桿菌が分離された。日常業務の細菌検査では *Gordonia* 属、および *Rhodococcus* 属が疑われたが、正確な菌種の同定には至らなかった。ペニシリン G およびパニペナムの併用により解熱がみられ、皮下埋め込み式ポートは温存したまま退院となった。後日、分離菌の 16S rRNA 解析により原因菌が *G. sputi* であることが明らかとなった。*Gordonia* 属は免疫不全宿主におけるカテーテル感染症としてこれまでに数例報告されている。今後、危険因子を有する宿主においてグラム陽性桿菌が分離された場合には本菌も念頭において対応することが重要であると思われる。

Key words: *Gordonia sputi*, 敗血症, 在宅中心静脈患者, 16S rRNA

はじめに

Gordonia 属は土壌をはじめとして自然界に広く分布する *Corynebacterium* 様のグラム陽性桿菌であり、*Nocardia* 属などの好気性放線菌の近縁に分類される。本菌群は以前 *Rhodococcus* 属に含まれていたが、1980 年代の後半に 16S rRNA の解析結果から新しい属として分類された。これまでに 13 菌種が登録されており、そのうち *G. sputi* を含む 5 菌種のヒトへの病原性が報告されている^{1, 2)}。近年、免疫不全宿主における *Gordonia* 属による感染症症例が散見されており、

特にカテーテル関連敗血症の原因菌として分離される症例が多い。本邦において *Gordonia* 感染症の報告はまれであるが、その同定の特殊性・困難さからも見逃されている症例が存在している可能性も考えられる^{3~5)}。

今回われわれは、在宅中心静脈栄養施行中の患者の血液から *G. sputi* を繰り返し分離した症例を経験した。本症例の臨床経過、原因菌の分離・同定における特徴および近縁細菌との 16S rRNA 比較に加え、本菌群の病原的意義について若干の考察を加えて報告する。

著者連絡先: (〒143-8541) 東京都大田区大森西 6-11-1
東邦大学医療センター大森病院臨床検査部
微生物検査室
檀園恭子
TEL: 03-5763-6652
FAX: 03-5763-6569
E-mail: sarako@toho-u.ac.jp

症 例

患者: 50 歳, 男性
主訴: 発熱
基礎疾患: 短腸症候群
家族歴: 特になし。

既往歴：小腸全摘，十二指腸横行結腸吻合術による短腸症候群。常食摂取。皮下埋め込み式の在宅中心静脈栄養法 (home parenteral nutrition; HPN)⁶⁻⁹⁾ を施行していた。HV：右大腿静脈より下大静脈内に留置した 8Fr の皮下埋め込み式ポートを用い，1 日に

Three in One の高カロリー輸液製剤 2,000 ml と脂肪乳剤 200 ml を HPN により投与していた。元看護師の妻が輸液ラインの交換や穿刺部の消毒・処置などを行っていた。1 週間に 2 度入浴日にポート針を抜去していたが，血小板凝集抑制薬などの使用は行っていなかった。

現病歴：6 月末に 37.2°C の発熱を主訴に当院を受診した。全身状態は比較的良好であったため，外来でセフォチアム (CTM) の点滴静注を受けた。しかし，その後も発熱が持続し，来院 6 日目に 38°C を超える熱発を認めたため 7 月 4 日当院に入院となった。

1. 入院時検査所見

血液検査所見 (表 1)

入院時に白血球数 10,600/ μ l，CRP4.9 mg/dl と軽度の炎症反応の増加を認めたが，肝機能・腎機能において特筆すべき異常所見は認めなかった。

画像検査所見

心臓および腹部超音波検査を実施したが，心内膜炎，静脈血栓・静脈怒張などの所見は観察されなかった。

2. 臨床経過

入院直後に panipenem/betamipron (PAPM/BP) 0.25 g の投与が開始された。図 1 に臨床経過を示し

表 1. 入院時検査所見

Na (mM)	136	WBC (/ μ l)	10,600
K (mM)	3.9	RBC ($\times 10^6$ / μ l)	5.17
CL (mM)	99	Hb (g/dl)	16.5
TP (g/dl)	8.2	Ht (%)	50.2
ALB (g/dl)	4	MCV (μ l)	97.2
UN (mg/dl)	12	MCH (pg)	31.9
CRE (mg/dl)	0.87	MCHC (g/dl)	32.8
AST (IU/L)	67	PLT ($\times 10^3$ / μ l)	214
ALT (IU/L)	61		
LDH (IU/L)	511		
ALP (IU/L)	315		
γ GT (IU/L)	175		
AMY (IU/L)	128		
T-CHO (mg/dl)	97		
TG (mg/dl)	64		
T-BiL (mg/dl)	1.3		
D-BiL (mg/dl)	0.5		
CRP (mg/dl)	4.9		

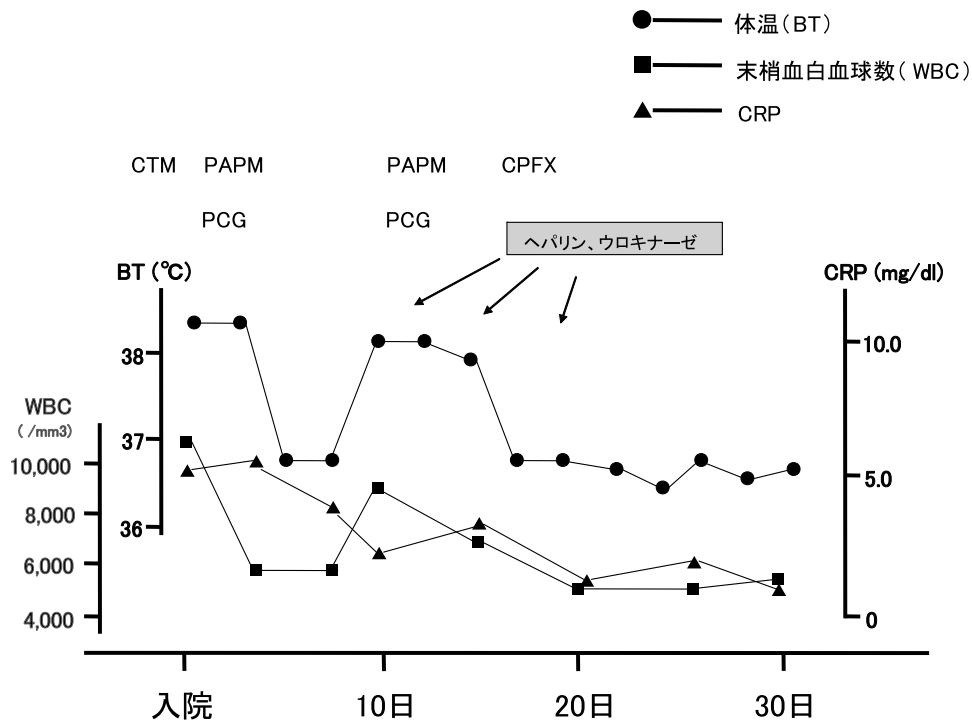


図 1. 臨床経過

表 2. 病原性放線菌の細菌学的性状と臨床分離菌比較

菌 種	菌糸(空中)	分岐	抗酸性	リゾチーム	カタラーゼ	ミコール酸
<i>Actinomadura</i>	V	V	—	—	+	—
<i>Corynebacterium</i>	—	—	—	—	+	+
<i>Gordonia</i>	—	—	W	V	+	+
<i>Mycobacterium</i>	—	—	+	—	+	+
<i>Nocardia</i>	+	V	W	+	+	+
<i>Rhodococcus</i>	—	—	W	V	+	—
<i>Streptomyces</i>	+	+	—	—	+	—
<i>Tsukamurella</i>	—	—	W	+	+	+
<i>Rothia</i>	—	+	—	—	V	—
<i>Actinomyces</i>	+	+	—	—	V	—
<i>Propionibacterium</i>	—	—	—	NT	+	—
分離菌	—	—	W	—	+	NT

Manual of Clinical Microbiology, 8th ed.¹⁾ 引用

た。入院時に採取した静脈血培養および皮下埋め込み式ポートから採取した血液のグラム染色でグラム陽性桿菌が検出されたため、7月6日よりPenicillin G (PCG) 1日60万単位3回の筋注との併用療法に変更された。その後、解熱傾向がみられ炎症反応も低下した。最終的には、皮下埋め込み式ポートを摘出することなく退院となった。

3. 細菌学的検査

血液培養検査

入院後直ちに血液培養検査を行った。血液培養検査は、レズン入り好気ボトル BACTEC PLUS Aerobic/F および嫌気ボトル BACTEC PLUS Anaerobic/F の2本をセットとして使用し、自動血液培養装置 BACTEC9240 (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にて好気ボトルのみ陽性シグナルを検知した。なお、嫌気ボトルは7日間培養を行ったが菌は検出されなかった。入院経過中、6回の血液培養から5回にわたって日常業務の細菌検査で同じ生化学的性状を示すグラム陽性桿菌が分離され臨床へはグラム陽性桿菌 *Corynebacterium* 様で報告した。入院2日目に採取された2回目の血液培養は陰性であった。

塗抹鏡検・分離培養検査

陽性シグナル検知後直ちにフェイバー G セット F ニススイ (日水製薬) でグラム染色を行ったところ *Corynebacterium* 様のグラム陽性桿菌が確認された

(図2)。サブカルチャーは、羊血液寒天培地 (日水製薬)、チョコレート II 寒天培地 (日本ベクトン・ディッキンソン)、コロンビア CNA5% ヒツジ血液寒天培地 (日本ベクトン・ディッキンソン) を使用し炭酸ガス培養 (35℃) で実施した。一昼夜培養後に、羊血液寒天培地、チョコレート II 寒天培地、コロンビア CNA5% ヒツジ血液寒天培地に微小コロニーの形成を認めた。培養3日目には、コロニー直径1 mm、*Nocardia* 属に類似した辺縁ラフな薄い黄色のコロニーとなった。図3に培養3日目の羊血液寒天培地に発育したコロニーを示す。

日常細菌検査としての同定検査

コロニー性状から表2に示す *Nocardia* 属およびその類縁菌を疑い、以下 *Nocardia* 標準株を対象に同定検査を実施した。

①臭気

Nocardia 属の特徴の一つとして土壌臭を有することが挙げられるが、被検菌は *Nocardia* 属様の土壌臭は認められなかった。

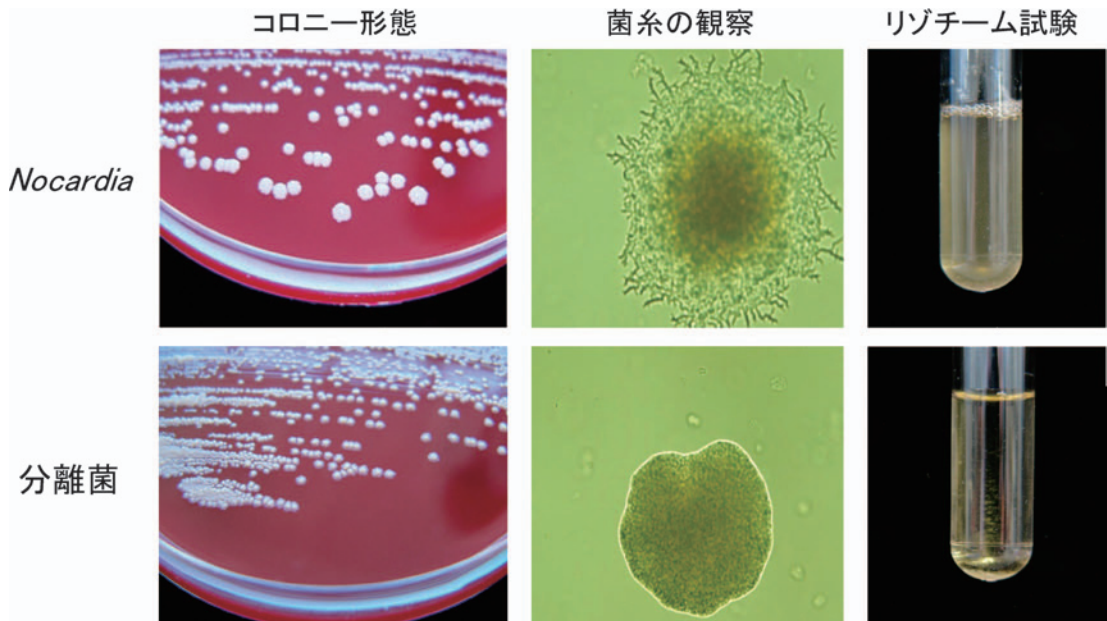
②グラム染色

コロニーからのグラム染色を行い形態および分岐の有無を観察した。血液培養において増殖してきた菌のグラム染色像にみられるように *Corynebacterium* 様のグラム陽性桿菌が確認されたが、菌体の分岐は認められなかった。

③抗酸性染色



図 2. 分離菌の塗抹染色像

図 3. *Nocardia* 属細菌と分離菌の細菌学的性状の比較

Ziehl-Neelsen 染色および Kinyoun 染色¹⁰⁾を行い、被検菌の抗酸性の有無を観察した。被検菌は図 2 のように、Ziehl-Neelsen 染色では青色（陰性）、Kinyoun 染色では薄い赤色に染まり弱陽性を示したことから、弱抗酸性を示す菌であると考えられた。

④ 同定キットを用いた生化学的性状検査

同定キットは BD BBLCRYSTAL GP (日本ベクトン・ディッキンソン) を使用した。本キットは *R. equi* など一部の弱抗酸性のグラム陽性桿菌の同定も可能であることが報告されている。その結果は、プロファイル番号 0464000545, *Corynebacterium* 属 (確率

95%) という結果であった。

⑤ 寒天平板での菌糸の観察

1% グルコース-1% グリセリン添加ミューラーヒントン寒天培地に被検菌を塗抹して、好気下 27°C で培養後にプレートの裏面から低倍率の顕微鏡下にて真性分岐した菌糸の有無を観察した¹¹⁾。4 日後に観察したところ、図 3 に示すように *Nocardia* 属ではコロニー周囲から分岐した菌糸が認められたが、被検菌ではこのような菌糸は観察されなかった。

⑥ β -Lactamase 産生能

β -Lactamase 産生能は Cefinase (ニトロセフィン

表 3. 薬剤感受性結果

抗菌薬	MIC (mg/ml)
Ampicillin	≤0.25
Ampicillin	≤0.25
Penicillin G	0.13
Imipenem	≤0.12
Meropenem	0.25
Cefotiam	1
Ceftizoxime	≤0.25
Cefpirome	≤0.5
Cefditoren	1
Minocycline	1
Clarithromycin	≤0.12
Clindamycin	1
Levofloxacin	≤0.5
Tosufloxacin	≤0.5
Vancomycin	1
Teicoplanin	4
Sulfamethoxazole-Trimethoprim	≤10
Rifampicin	≤0.063

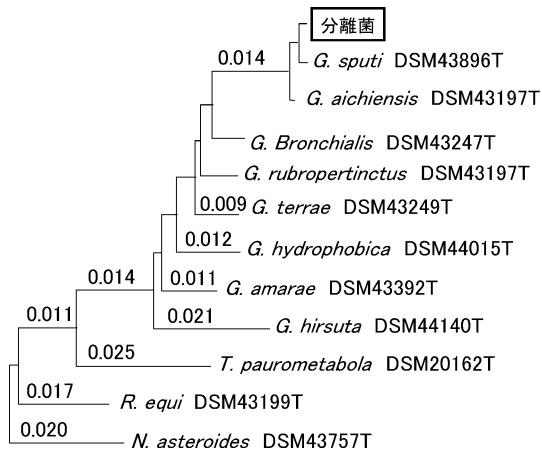


図 4. 16S rRNA 系統樹

法, BBL) を用いて行った^{11, 12)}。Nocardia 属細菌ではディスクが赤変し β -lactamase 陽性となったが, 被検菌ではディスクの赤変はみられず β -lactamase 産生陰性と判断された。

⑦リゾチームにおける発育性

リゾチーム存在下における発育能は Collins らの方法¹³⁾ を参考に行った。被検菌をリン酸緩衝液 1/15 mol/L, pH 6.8 (和光純薬工業) に McFarland 0.5 相当に調整した混濁液 20 μ l をリゾチーム (リゾチーム (20 mg/ml: SIGMA) 1 ml と 99.5% エタノール (和光純薬工業) 1 ml を混合し, これを 2 ml の nutrient broth (BD) に 50 μ l 加えたもの) に添加して攪拌後 30°C で 7 日間培養し, プロス内での発育の有無を観察した。図 3 に示すように, Nocardia 属細菌ではリゾチーム存在下での発育が確認されたが, 被検菌では増殖はみられなかった。

表 2 に Nocardia 属をはじめとする代表的な病原性放線菌の細菌学的性状と今回分離した菌の比較を示した。その結果, Gordonia 属, および Rhodococcus 属などとの性状が比較的類似しているものと考えられたが, 正確な属および菌種の決定には至らなかった。

4. 薬剤感受性試験

薬剤感受性プレートはフローズンプレート '栄研' BT24 (ミュラー-ヒントンプロス (MHB)) に Ca^{2+} , Mg^{2+} , 馬溶血球液, NAD, 酵母エキスを添加して実施した。ST 合剤は BT32 (MHB に Ca^{2+} , Mg^{2+} が添加) を, RFP は当院で作製しているフローズンプレ-

ト (MHB に Ca^{2+} , Mg^{2+} , 馬溶血球液, CALF SERUM, β -NAD が添加) の 3 種類のプレートを使用した。分離菌を羊寒天培地で 24 時間前培養後, 上記の感受性測定用培地に接種, 35°C 48 時間で培養したのち判定した。その結果を表 3 に示した。

5. 遺伝学的所見

上記の結果より, 生化学的性状による同定が困難であること, また血液培養検体から繰り返し分離された菌であることを考慮し, 16S rRNA 遺伝子の塩基配列による系統解析を岐阜大学大学院医学研究科病原体制御学で実施した。その結果, 血液から分離されたグラム陽性桿菌は G. sputi と最も近縁であり, その相同性は約 99% という結果が得られた (図 4)。

考 察

HPN を行っている患者はカテーテルの入れ替えを安易に行えない場合も多く, たびたびカテーテル関連感染症を発症することが知られている。本症例も HPN を施行している在宅患者で中心静脈カテーテルを使用しており, 1 週間に 2 度の入浴日にはポート針を抜去し, 輸液ライン交換, 穿刺部処置などは元看護師であった妻が実施していた。本菌は自然界に広く存在することからその感染ルートを特定することはできなかったが, これまでの報告から判断して本症例においてもこのデバイスが感染の侵入門戸となり, 菌血症に至った可能性が高いと考えられた。

HPN 症例のような易感染患者に感染をもたらす菌は非常に多様であり, 原因菌の同定には時間がかかることが多いに判明しないことも多い。しかし, 血液培養をはじめとする無菌的な検体の場合には, たとえ最終的な同定結果が得られなくても, グラム染色性

と形態、推定レベルでの疑わしい菌種の候補、および分離菌の薬剤感受性結果を報告することは、臨床における対応および抗菌薬の選択において極めて有用情報となる。今回の症例においても血液培養で“*Corynebacterium* 様のグラム陽性桿菌”が検出されたという情報からペニシリン系抗菌薬が早期に選択されたことが、最終的には皮下埋め込み式ポートを抜去せずに治療することができたことに貢献しているものと考えられた。

抗菌薬の薬剤感受性に関しては、旧 NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) M24-T Vol. 15, No. 16¹⁴⁾ によると *Nocardia* 属および好気性放線菌の第一選択薬として Amikacin (AMK), Amoxicillin/Clavulanic acid (AMPC/CVA), Ceftriaxone (CTRX), Ciprofloxacin (CPFX), CAM, IPM, MINO, ST, Tobramycin (TOB) の9薬剤が、第二選択薬として ABPC, Cefepime (CFPM), Cefotaxime (CTX), Doxycycline (DOXY), Gentamicin (GM) の5薬剤が掲載されている。上記14薬剤中、当検査室で測定した抗菌薬は ABPC, IPM, MINO, CAM, ST の5薬剤であるが、いずれの薬剤においても感性的なカテゴリーに相当していた。その他ブレイクポイントが示されていない抗菌薬についても TEIC の MIC が $4 \mu\text{g/ml}$ を示したことを除き、抗菌薬の MIC は ≤ 1 であったことから本分離菌はこれらの抗菌薬に対して感性を示していた。

Gordonia 属細菌による感染症は非常に珍しく中心静脈栄養カテーテル使用患者の菌血症と心内膜炎の症例などを含めて今までに3例しか報告されていない。今回、血液培養から *Corynebacterium* 様グラム陽性桿菌を認め、サブカルチャーのコロニー形態および抗酸性染色の結果から *Nocardia* 属およびその類縁菌を疑い同定を進めた。しかし *Nocardia* 属をはじめとするその類縁菌と推定することはできたが、最終的な属および菌種までの同定には至らなかった。*Gordonia* 属と *Corynebacterium* 属の性状が似ていること、当院でグラム陽性桿菌の同定は BD BBL CRYSTAL GP のみで行っている。BD BBL CRYSTAL GP には、*G. sputi* はプロファイルされていないので同定できなかった。検査室レベルでは *Gordonia* 属を同定するのは難しく、最終的には 16S rRNA 遺伝子の塩基配列による系統解析から *G. sputi* と同定することができた。このことから血液培養をはじめとする無菌的な検体から検査室レベルで同定が困難な菌が分離された場合はグラム染色の形態や鑑別検査を行った結果を臨床に速やかに報告する必要があると考えられた。必要に

応じて 16S rRNA 遺伝子の塩基配列による系統解析などの遺伝子検査法を用いることも考慮し同定検査を進めていく必要があると考えられた。

Gordonia 属細菌の病原性は弱く、その感染症は免疫不全宿主におけるカテーテル感染症として発症してることが多い。問題点はその同定法の特殊性と困難さであり、通常の細菌検査室で菌種までこれを正確に同定することは難しい。この点を考慮すると、同定不能のグラム陽性桿菌の中に本菌群が含まれている可能性も否定はできない。今後、カテーテル関連敗血症の原因菌としてグラム陽性桿菌が分離された場合には、*Gordonia* 属細菌の可能性も考えて対応することが重要であると思われる。

文 献

- 1) Brown, J. M., M. M. McNeil. 0000. *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Gordonia*, *Actinomadura*, *Streptomyces*, and Other Aerobic Actinomycetes. p. 502-524, In: Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. (P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, et al. eds.), American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 2) Holt, J. G. N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Williams, et al. 0000. Nocardioform Actinomycetes. p. 625-636, In: Bergey's Manual[®] of Determinative Bacteriology, 9th ed.
- 3) Olivier, L., H. Yves, R. Philippe, et al. 2000. Bacteremia and endocarditis caused by a *Gordonia* species in patient with a central venous catheter. Emerg. Infect. Dis. 6: 382-385.
- 4) Iida, S. H. Taniguchi, A. Kageyama, et al. 2005. *Gordonia otitidis* sp. nov., isolated from a patient with external otitis. Int. J. Syst. Microbiol. 55: 1871-1876.
- 5) Riegel, P., R. Ruimy, D. Briel, et al. 1996. Bacteremia due to *Gordonia sputi* in an immunocompromised patient. J. Clin. Microbiol. 34: 2045-2047.
- 6) 小越章平. 1982. 細菌感染に起因する合併症. p. 162-166, 図解 高カロリー輸液: 安全な中心静脈栄養法 (第2版), 医学書院, 東京.
- 7) 勝又伴栄, 他. 1995. 腸疾患. 静脈栄養・経腸栄養ガイド: その実際・知識のすべて一増補版 (第1版), 文光堂, 東京.
- 8) 高木洋治, 他. 1995. 在宅静脈栄養の実際. 静脈栄養・経腸栄養ガイド: その実際・知識のすべて一増補版一 (第1版), 文光堂, 東京.
- 9) (財)総合健康推進財団. 1995. カテーテル感染症. 医療者用在宅中心静脈栄養法ガイドライン (第1版), 文光堂, 東京.
- 10) 吉田幸雄. 2002. Kinyoun 抗酸性染色法. p. 271,

- 図解 人体寄生虫学 (第6版), 南山堂, 東京.
- 11) 矢沢勝清, 他. 2002. 第13回日本臨床微生物学会
総会ワークショップ, 62-63.
- 12) Collins, C. H., M. D. Yaters, A. H. C. Uttley.
1988. Presumptive identification of nocardias
in a clinical laboratory. J. Appl. Bacteriol. 65:
55-59.
- 13) Clinical and Laboratory Standards Institute.
0000. Performance Standards for Antimi-
crobial Susceptibility Testing; 17th Informa-
tional Supplement CLSI M100-S17. Clinical
and Laboratory Standards Institute, Wayne,
Pa, USA.
- 14) National Committee for Clinical Laboratory
Standards. 2002. Susceptibility Testing of
Mycobacteria, *Nocardia*, and Other Aerobic
Actinomycetes; Tentative Standard Edition.
NCCLS comment M24-T Vol. 15, No. 16, p. 37.
National Committee for Clinical Laboratory
Standards, Wayne, Pa, USA.

A Case of *Gordonia sputi* Sepsis in a Patient with a Central Venous Catheter

Kyoko Enokizono,¹⁾ Hinako Murakami,¹⁾ Kiyofumi Ohkusu,²⁾ Ayumi Hikosaka,¹⁾
Shigeru Fukuzawa,¹⁾ Chikako Maehara,¹⁾ Kumiko Yasui,¹⁾ Shigeo Yumoto,¹⁾
Morihiro Iwata,¹⁾ Kazuhiro Tateda,^{1, 3)} Naohiro Washizawa,⁴⁾
Takayuki Ezaki,²⁾ Keizo Yamaguchi,^{1, 3)}

¹⁾ Laboratory of Microbiology in Ohmori Hospital, Toho Medical Center

²⁾ Department of Microbiology, Gifu University Graduate School of Medicine

³⁾ Department of Microbiology and Infectious Diseases, Toho University
School of Medicine

⁴⁾ Nutritional Therapy Center in Ohmori Hospital, Toho Medical Center

We have experienced a case of *Gordonia sputi* sepsis in home parenteral nutrition (HPN) patient. He was 50 years-old and managed as a short bowel syndrome after resection of small intestine. He admitted to the hospital because of fever unresponsive to antibiotic. Blood culture examination demonstrated several isolation of Gram-positive rod. Although this organism was suggested to be *Gordonia*, *Mycobacterium* or *Rhodococcus* spp., a definitive identification result was not obtained. The patient gradually responded to administration of penicillin-G and panipenem without removal of subcutaneous portal device. Later, 16S rRNA analysis demonstrated this organism as *G. sputi*. This case alerts *G. sputi* in line sepsis of immunocompromised patients if undefined Gram-positive rod was isolated as a causative organism.