

[症 例]

Shewanella haliotis による右下肢蜂窩織炎および敗血症の 1 症例田寺加代子¹⁾・下中秋子¹⁾・大楠清文²⁾・森井大一³⁾・下花純一¹⁾・道中智映¹⁾・谷山清己⁴⁾¹⁾ 独立行政法人国立病院機構呉医療センター・中国がんセンター臨床検査科²⁾ 岐阜大学大学院医学系研究科病原体制御学分野³⁾ 独立行政法人国立病院機構呉医療センター・中国がんセンター救命救急部⁴⁾ 独立行政法人国立病院機構呉医療センター・中国がんセンター臨床研究部

(平成 22 年 5 月 7 日受付, 平成 22 年 9 月 29 日受理)

症例は 82 歳男性。右下肢痛のため歩行困難となり近医を受診後、心不全の疑いにて当センターに救急搬送された。来院時の胸部 X 線と心臓超音波検査にて、軽度心拡大と大動脈弁閉鎖不全症および僧帽弁閉鎖不全症、また右下腿から大腿にかけて紫斑・熱感を伴う腫脹と把握痛を認め、心不全と蜂窩織炎疑いで入院となった。第 3 病日に血圧・意識レベルが低下し敗血症性ショックとなり、第 4 病日に右足背部に水疱形成と急速な壊死が認められた。血液培養より、やや湾曲したグラム陰性桿菌が観察され、TCBS 培地に発育した白糖非分解の集落を認めた。血液寒天培地上の集落で実施したオキシダーゼテストは陽性であり、当初は *Vibrio vulnificus* 感染症を疑った。その後 16S rRNA 遺伝子解析により、近年その存在が明らかとなった *Shewanella haliotis* と同定された。下肢水疱分泌物からも同菌が分離され、*S. haliotis* による蜂窩織炎および敗血症と診断された。敗血症は、抗菌薬投与により数日で改善が認められたが、下肢の壊死を伴う皮膚潰瘍は治癒までに 3 カ月近くを要した。

Key words: *Shewanella haliotis*, 蜂窩織炎, 敗血症, 16S rRNA 遺伝子

序 文

Shewanella 属は、主に海洋環境に分布する通性嫌気性グラム陰性桿菌で、グルコース非発酵菌において硫化水素を産生する唯一の菌種として知られている^{1,2)}。わが国における本属菌による感染症の報告例は増加傾向にあり、主に *Shewanella putrefaciens* や *Shewanella algae* が起因菌となり、皮膚軟部組織感染、中耳炎、骨髄炎、腹膜炎、敗血症など広範囲な感染症に関与している^{1,2)}。*Shewanella haliotis* は、2006 年にアワビの腸内より分離し新種として登録された菌種である³⁾が、本菌をヒトの臨床検体から分離し起因菌として報告された症例は、筆者らが検索しえた限りでは見られない。今回筆者らは、血液および創

部より本菌を分離し、16S rRNA 遺伝子解析により *S. haliotis* と同定した 1 例を経験したので報告する。

1. 症 例

症 例: 82 歳, 男性

主 訴: 右下肢痛

既往歴: 3 年前に他院にて心不全と診断されていたが、放置しており詳細は不明

家族歴: 特記すべきことなし

基礎疾患: 特記すべきことなし

生活歴: 喫煙なし

現病歴: 200X 年 Y 月、右下肢痛のため歩行困難となり近医を受診後、心不全の疑いにて当センターに救急搬送された。来院時、胸部 X 線にて軽度心拡大、心臓超音波検査にて大動脈弁閉鎖不全症および僧帽弁閉鎖不全症を認めた。また、右下腿から大腿にかけて紫斑・熱感を伴う腫脹と把握痛が認められ、心不全および蜂窩織炎の疑いにて入院となった。

入院時現症: 意識清明, 体温 37.3°C, 血圧 93/56 mmHg, 脈拍 130 回/分・不整。呼吸数 28 回/分, SpO₂

著者連絡先: (〒737-0023) 広島県呉市青山町 3-1
独立行政法人国立病院機構呉医療センター・中国がんセンター臨床検査科
田寺加代子
TEL: 0823-22-3111
FAX: 0823-21-0478
E-mail: saikin@kure-nh.go.jp

96% (室内気)

入院時検査所見：生化学，血液，凝固検査の結果において炎症所見と腎機能障害，さらにCKとBNPの著明な上昇を認めた (Table 1)。

臨床経過：第6病日までの臨床経過を Fig. 1 に示す。入院日より下肢腫脹および炎症所見に対し，cefazolin (CEZ) 1 g 12 時間ごとの投与が開始された。第2病日に，膝周囲から下腿にかけて紫斑が散在，CK 2625 IU/L, CRP 21.46 mg/dl と著しく上昇した。第3病日に下肢の発赤と腫脹が下腹部まで拡大したため下肢 CT を施行した。両側臀部から大腿にかけて広範な皮下腫脹や，皮下脂肪組織濃度の上昇 (右下肢 > 左下肢) が認められ，蜂窩織炎が示唆された (Fig. 2)。同日，血圧 70/41 mmHg および意識レベルの低下を認め敗血症性ショックとなり，noradrenalin 0.24 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, dopamin 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の投与が開始

された。抗菌薬は CEZ 2 g 12 時間ごとに増量，さらに clindamycin (CLDM) 0.9 g 12 時間ごと追加投与された。その際に血液培養 1 セットが施行された。第4病日に右足背部に胡桃大の水疱が形成，悪臭を伴う分泌物を排出し培養に提出された。同日，血液培養よりやや湾曲したグラム陰性桿菌が認められ，臨床所見より *Vibrio vulnificus* を想定し，抗菌薬は ceftazidime (CAZ) 1 g 12 時間ごとと minocycline (MINO) 100 mg 12 時間ごとに変更された。第5病日より右足背部の急速な壊死が認められ壊死性筋膜炎の可能性も示唆されたが，同日 *V. vulnificus* 感染症が否定されたため MINO の投与は中止された。足背部の分泌物からも同菌が分離された。37°C 以上の発熱の持続と炎症マーカーである CRP 値が陰性化せず感染の持続が示唆されたため，CAZ 1 g 12 時間ごとの投与は第26病日まで継続された。その後提出された血

Table 1. Laboratory data

WBC	2,300 / μl	PT	92.7%	LDH	395 IU/L
Neu	74.0%	PT-INR	1.05	ALP	641 IU/L
Eo	0.4%	D-dimer	5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$	CK	1,422 IU/L
Baso	0.0%	Na	137 mEq/L	BUN	23 mg/dl
Ly	20.8%	K	2.8 mEq/L	Cre	1.6 mg/dl
Mo	4.8%	Cl	98 mEq/L	TP	4.9 g/dl
RBC	$275 \times 10^4 /\mu\text{l}$	AST	176 IU/L	ALB	2.1 g/dl
Hb	9.7 g/dl	ALT	64 IU/L	CRP	10.93 mg/dl
Plt	$9.9 \times 10^4 /\mu\text{l}$			BNP	5,506.1 pg/dl

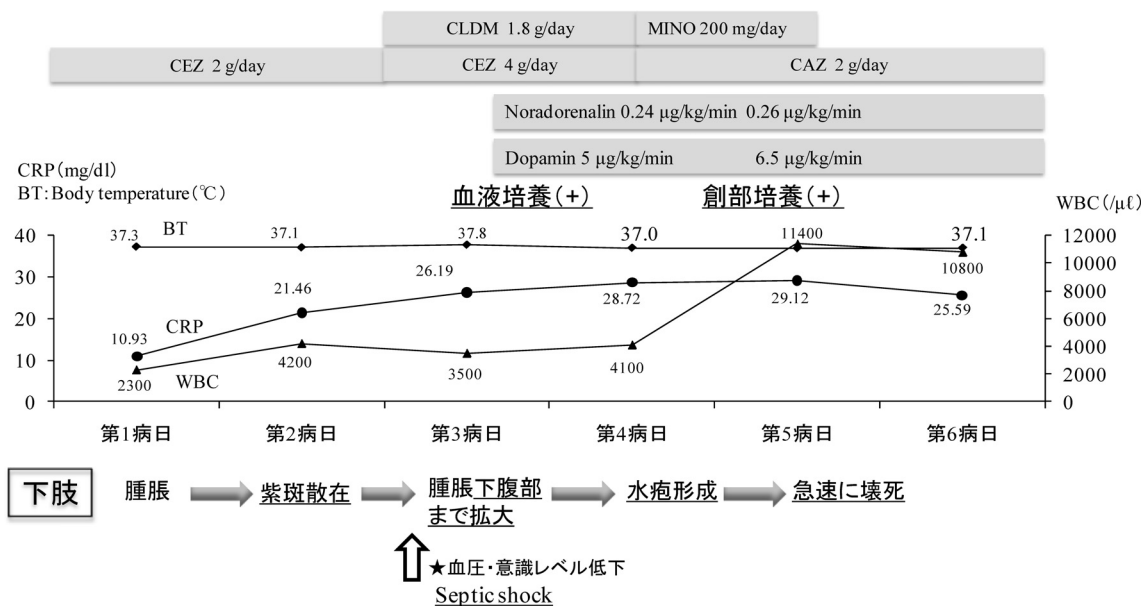


Fig. 1. Clinical course of the patient until the admission day 6.

液培養および創部の培養からは、菌の発育は認められなかった。第12病日の足病変を示した (Fig. 3)。足背部の壊死を伴う皮膚潰瘍においては、第16病日にデブリードマンを施行、その後は生理食塩水にて洗浄後スルファジアジン銀クリームを塗布を継続し、治癒までに3カ月近くを要し退院となった。

2. 微生物学的検査

塗抹・培養検査: 第3病日に、血液培養1セット (FN ボトル, FA ボトル: シスメックス・ピオメリュー) が提出された。培養は, BacT/ALERT 3D (シスメックス・ピオメリュー) を用いて行った。第4病日に両ボトルが陽性となり、フェイバーGセットFニッスイ (日水製薬) を用いてグラム染色を行った。やや湾曲したグラム陰性桿菌を認めたことから (Fig. 4), 臨床所見より *V. vulnificus* を想定しサブカル

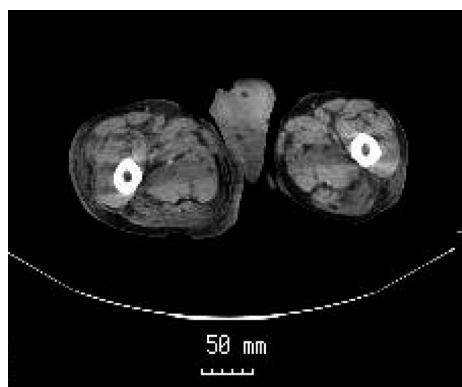


Fig. 2. CT scan showing swelling of right lower leg, suggesting a phlegmonous inflammation.



Fig. 3. Macroscopic findings of right foot ulcer on the admission day 12.

チャーを実施した。TCBS 培地 (極東製薬) と DHL 培地 (栄研化学) は 37°C 好気培養を、ヒツジ血液寒天培地 (極東製薬) は 37°C にて微好気培養を開始した。*V. vulnificus* を想定したため嫌気培養は実施しなかった。数時間後、TCBS 培地に発育した白糖非分解の微小集落を認めた。血液寒天培地の集落を用いたオキシダーゼテストが陽性であったことから、主治医に *V. vulnificus* が疑われることを報告した。培養18時間後の TCBS 培地に発育した白糖非分解の集落とヒツジ血液寒天培地上の pink~orange 色の集落を示した (Fig. 5)。また、第4病日に提出された足背部の分泌物からも、やや湾曲したグラム陰性桿菌が観察された。

同定検査: 同定検査には、血液培養ボトルよりヒツジ血液寒天培地にサブカルチャーした菌株を用いた。*V. vulnificus* を想定したため、サブカルチャー実施後数時間で発育した集落を用い、自動細菌検査装置パイテック120 (シスメックス・ピオメリュー) にて同定を開始した。4時間後、途中経過として *S. putrefaciens* と同定菌名が得られた。性状を確認するため、シモンズクエン酸培地, TSI 培地, SIM 培地 (日研生物医学研究所) に接種した。接種後1時間で、TSI 培地と SIM 培地に硫化水素の産生を確認したため、主治医に *V. vulnificus* が否定されたことを報告した。第5病日には、最終的に自動細菌検査装置にて *S. putrefaciens* と同定された。さらに、同定キット API 20 NE (シスメックス・ピオメリュー) により性状を確認した結果、*S. putrefaciens* の同定成績を得た。同定キットによる生化学性状と追加試験の結果を示した (Table 2)。一部、polymixin B (300) の薬剤感受性試験において、報告論文³⁾と異なる結果を得た。まれな菌種であったことから、遺伝子学的な解析を岐阜大学

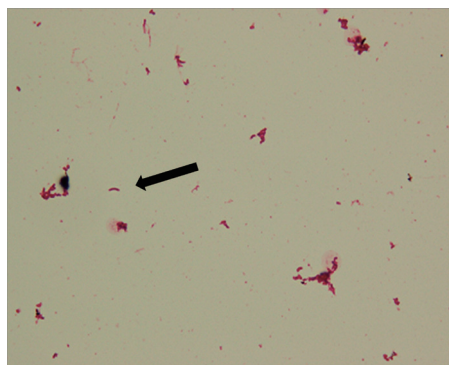


Fig. 4. Microscopic findings of blood culture, showing Gram-negative rods (Gram stain ×1,000).

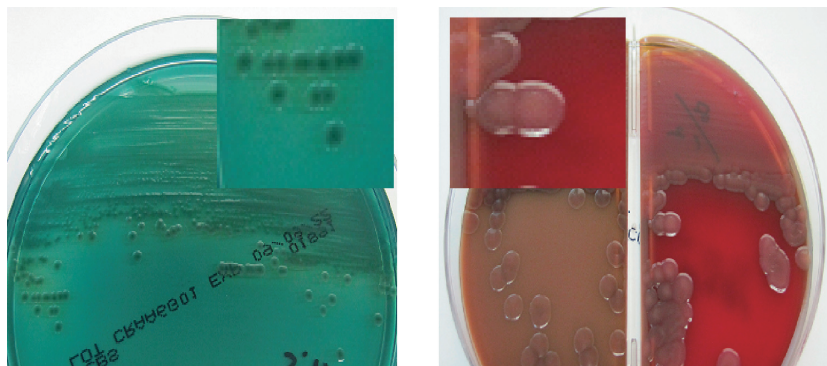


Fig. 5. Pictures of colonies cultured on the TCBS agar (left) and the seep blood agar (right) after 18 h.

Table 2. Biochemical properties of *S. haliotis*

Tryptophan deaminase	(-)	<i>N</i> -Acetylglucosamine	(+)	Oxidase	(+)
Arginine dihydrolase	(-)	Maltose	(-)	H ₂ S production	(+)
Aesculin	(-)	Caprate	(+)	Growth at 4°C	(-)
D-Glucose	(-)	Malate	(+)	Growth at 42°C	(+)
Arabinose	(-)	Citrate utilization	(-)	Tolerance to 6% NaCl	(+)
Mannose	(-)			Polymyxin B (300)	S

S: Susceptibility

Table 3. Susceptibility of *S. haliotis* against antimicrobial agents

Antibiotic	MIC	Antibiotic	MIC	Antibiotic	MIC
Ampicillin	>16	Ceftazidime	≤1	Minocyclin	≤ 1
Piperacillin	4	Imipenem	≤1	Ciprofloxacin	≤ 0.25
Cefazolin	>16	Amikacin	≤4	Levofloxacin	≤ 0.5
Cefotaxime	≤ 1	Gentamicin	≤1	Fosfomycin	>16

S: Susceptibility, R: Resistant

へ依頼した。分離菌株より DNA を抽出後、PCR 法にて 16S rRNA 塩基配列を決定した⁴⁾結果、*S. haliotis* (EF178282) の基準株と 100% (1,419/1,419) 一致したため、本菌種と確定した。

薬剤感受性試験：ドライプレート栄研（栄研化学）を用いて最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。MIC 測定では、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) に準拠した方法を用いた。判定は、グルコース非発酵菌のブレイクポイントを使用した。ampicillin (ABPC), CEZ, fosfomycin (FOM) を除く薬剤に対して良好な感受性を示した (Table 3)。

考 察

今回、筆者らは血液および右足背部の水疱分泌物より *S. haliotis* を分離した症例を経験した。近年 *Shewanella* 属による感染症の報告例が増加してい

る^{1,2)}。その多くは、*S. putrefaciens* や *S. algae* が起病菌として関与するもので、海水との接触や魚類の生食後に蜂窩織炎や軟部組織感染、敗血症を発症したという報告である^{1,2)}。また、基礎疾患に肝疾患の存在や免疫不全がある場合は、致命的な経過をたどることも予想され、*V. vulnificus* と同様に *Shewanella* 属の病原性を意識する必要があるという報告²⁾もある。今回筆者らが経験した症例は、*S. haliotis* による蜂窩織炎および敗血症と診断された。本菌は、2006 年にアワビの腸内より分離され新種として登録された³⁾。本症例は、第 3 病日に血圧と意識レベルが低下し敗血症性ショックとなり、第 4 病日に足背部の水疱形成と急速な壊死が認められた。その際に採取された血液培養と水疱分泌物より、やや湾曲したグラム陰性桿菌を認めたことから、当初筆者らは病態とグラム染色所見より *V. vulnificus* を想定し検査を進めた。*V. vulnificus* 感

染症は、敗血症を発症した場合の致死率が50%を超えられている⁵⁾ことから、救命には早期に適切な診断と治療が重要となる。当センターでは、血液培養が陽性となった検体については、サブカルチャー実施後数時間で血液寒天培地に発育した集落を用い、オキシダーゼテストと自動細菌検査装置バイテック120による同定検査を実施している。本症例では同定開始後4時間で*S. putrefaciens*と菌名が得られたため、*V. vulnificus*との鑑別になる硫化水素産生の有無を迅速に確認することが可能であった。その結果、同日中に*V. vulnificus* 染症を否定することができた。現在、当センターではグラム陰性桿菌を同定する際、性状確認培地であるTSI培地へも同時に接種し検査を進めている。同定検査において、*S. haliotis*はバイテック120および同定キットのデータベースに含まれていないため菌種レベルの同定は困難であり、今回の症例のように遺伝子学的検査を追加実施することが有用であった。サンフォード感染症治療ガイド2008において、*Shewanella*属による感染症の有効選択薬についての記載はない。本症例では入院当初、CEZとCLDMによる治療が開始されたが、*V. vulnificus*を想定しCAZとMINOへ変更となった。治療開始後に判明した本菌の薬剤感受性試験結果では、CEZ>16 µg/ml, CAZ≤1(S), MINO≤1(S)と判定された。抗菌薬変更後に提出された血液および創部の培養検査において菌の発育が認められなかったため、早期に抗菌薬が変更されたことが本菌に対し有効であったと考えられる。しかし、発熱の持続と炎症マーカーであるCRP値が陰性化せず、下肢の壊死を伴う皮膚潰瘍は治癒までに3カ月近くを要した。また本症例において、発症

までの間に魚介類を生食した経緯や海水の接触歴もなく、その後の検査において各種肝炎ウイルス抗原、抗体およびHIV抗体についても陰性であり、その他基礎疾患もなかったことから感染経路の特定までは至らなかった。蜂窩織炎が疑われる症例において、やや湾曲したグラム陰性桿菌を認めた際は、本菌も念頭において検査を進めていく必要がある。

なお、本論文の要旨は第21回日本臨床微生物学会(東京, 2010年1月)において発表した。

文 献

- 1) Schreckenberger, P. L., M. I. Daneshvar, D. G. Hollis. 2007. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and nonfermentative Gram-negative rods. p. 770-802. In: Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. (P. R. Murray, E. J. Baron, M. L. Landry, et al. eds.), American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 2) Otsuka, T., T. Noda, A. Noguchi, et al. 2007. *Shewanella* infection in decompensated liver disease: A septic case. *J. Gastroenterol.* 42: 87-90.
- 3) Kim, D., K. S. Baik, M. S. Kim et al. 2007. *Shewanella haliotis* sp. nov., isolated from the gut microflora of abalone, *Haliotis discus hannai*. *Int. J. Syst. and Evol. Microbiol.* 57: 2926-2931.
- 4) 大楠清文, 江崎孝行. 2007. 遺伝子およびシグナル増幅法. *臨床と微生物* 34 (増刊号): 459-478.
- 5) 戸塚恭一, 橋本正良監修. 2008. 日本語版サンフォード感染症治療ガイド (第38版): p. 33, 86, 112.

A Case Report of *Shewanella haliotis* Showing a Phlegmonous Inflammation of Right Lower Leg with Sepsis

Kayoko Tadera,¹⁾ Akiko Shimonaka,¹⁾ Kiyofumi Ohkusu,²⁾ Daiichi Morii,³⁾
Junichi Shimohana,¹⁾ Toshie Michinaka,¹⁾ Kiyomi Taniyama⁴⁾

¹⁾ Department of Clinical Laboratory, National Hospital Organization Kure Medical Center and Chugoku Cancer Center

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

³⁾ Department of Intensive Care, National Hospital Organization Kure Medical Center and Chugoku Cancer Center

⁴⁾ Institute for Clinical Research, National Hospital Organization Kure Medical Center and Chugoku Cancer Center

A 82-year-old man was presented to a local clinic with a chief complaint of difficulty in standing. He was diagnosed having a heart failure and transferred to our hospital. On the admission, chest X-ray and echocardiogram revealed mild enlargement of his heart, aortic regurgitation and mitral regurgitation. Physical examination showed purpura and swelling of his right lower leg with grasp tenderness and heat sensation. He was hospitalized with diagnosis of heart failure and right lower leg cellulitis. On the day 3, he became hypotensive with decreased level of consciousness and a septic shock. On the day 4, bulla formation and necrosis on the dorsum of the right foot appeared. Then, blood culture revealed Gram-negative curved rods. Colonies grown on the Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose medium, were sucrose-non-fermenting and oxidase-positive. *Vibrio vulnificus* was suspected at first, but later, 16S rRNA genetic analysis revealed them as *Shewanella haliotis*, which were recently recognized *Shewanella* species. They were also isolated from bulla and considered as causative organisms of the septic cellulitis. The patient recovered from septic shock with antibiotic chemotherapy, but the right foot ulcer needed three months to heal.