

[症例報告]

羊水より *Helicobacter cinaedi* を分離した妊婦の1症例

原 祐樹¹⁾・川島 誠¹⁾・城殿麻利子¹⁾・浅井幸江¹⁾

野村勇介¹⁾・山田直輝¹⁾・伊藤 守¹⁾・八木哲也²⁾

¹⁾名古屋第二赤十字病院医療技術部検査病理科

²⁾名古屋大学大学院医学系研究科臨床感染統御学

(平成 25 年 3 月 27 日受付, 平成 25 年 6 月 5 日受理)

我々は, *Helicobacter cinaedi* (*H. cinaedi*) による羊水感染を来した妊婦症例を経験したので報告する。34 歳女性, 生来健康で特筆すべき既往症はない。かかりつけの産婦人科クリニックで切迫早産の診断を受け, 当院へ転院搬送となった。来院時の検査所見で子宮内感染が疑われ, 羊水検査が施行された。羊水のグラム染色では, 非常に細いグラム陰性桿菌が観察された。培養 96 時間後に嫌気培養で発育が確認され, 菌種は 16S rRNA 塩基配列による系統解析によって *H. cinaedi* と同定された。治療は cefotiam 1 g×4/日で開始し, 第 5 病日には炎症反応の改善が認められたことから, cefdinir 内服に変更され, 第 9 病日に退院となった。妊婦の *H. cinaedi* による羊水感染例は, 我々が調べた範囲内では非常に稀であった。培養に特殊な条件が必要であり, 同定も困難であるため, グラム染色所見から本菌も想定して分離培養を行うことが重要である。

Key words: *Helicobacter cinaedi*, 羊水, 妊婦

序 文

Helicobacter cinaedi (*H. cinaedi*) は, ヒトをはじめとしてハムスター, ラット, 犬やネコの腸管内に棲息していることが知られている。また, 免疫不全患者をはじめとする易感染性宿主において, *H. cinaedi* 感染症が報告されている¹⁾²⁾。2003 年には本邦では初めてとなる *H. cinaedi* による菌血症例が報告された³⁾。近年, 本菌による感染症例や研究報告が増加しており, *H. cinaedi* のヒトに対する病原性が, 徐々に知られるようになってきた。しかし, 基礎疾患や既往歴のない患者における *H. cinaedi* 感染症についての報告は, 数が少ない。今回我々は, *H. cinaedi* による羊水感染を起こした妊婦症例を経験したので報告する。

1. 症例

34 歳, 女性。

既往歴: 生来健康であり特筆すべき既往症はない。

家族歴: 特になし。

主訴: 切迫早産

現病歴: 第 2 子を妊娠しており, 妊娠第 26 週であった。当院受診の約 2 週間前に下痢を起こし, 近医を受診したが, 原因不明との診断を受けた。子宮収縮の間隔が短くなってきたため, かかりつけの産婦人科クリニックを受診したところ, 切迫早産と診断され, 当院へ転院搬送となった。

来院時検査所見: 来院時の血液検査所見を表 1 に示した。白血球数 20,000/μl, CRP 6.6 mg/dl と炎症反応の亢進がみられたが, その他の血液生化学検査の結果に有意な所見は認めなかった。羊水の感染が疑われたため, 羊水穿刺検査が施行された。羊水中のグルコース値は 6 mg/dl, 羊水の感染兆候を示す羊水エラストーゼ検査は陰性であった。

臨床経過: 入院後の臨床経過を表 2 に示した。微生物検査室に提出された羊水のグラム染色鏡検で, グラム陰性桿菌が確認されたことから, 羊水の細菌感染に

著者連絡先: (〒466-8650) 愛知県名古屋市昭和区妙見町 2-9

名古屋第二赤十字病院医療技術部検査病理科
原 祐樹

TEL: 052-832-1121 (30815)

FAX: 052-832-6097

E-mail: skyward@nagoya2jrc.or.jp

よる切迫早産であると診断され、第2病日に緊急帝王切開が行われた。抗菌薬治療は、cefotiam 1 g×4/dayで開始した。第5病日の時点で起炎菌は判明していなかったが、炎症反応の改善を認めたため、cefdinir 内服治療へ変更とされ、2週間継続された。第7病日、羊水のグラム染色で確認されたグラム陰性桿菌が、*H. cinaedi* であることが判明したが、治療変更は行われなかった。第9病日には全身状態良好で退院となった。帝王切開で出産した男児についても出産から約3ヶ月後に軽快退院となった。

II. 微生物学的検査

微生物検査室には陰分泌液、羊水および血液培養が提出された。

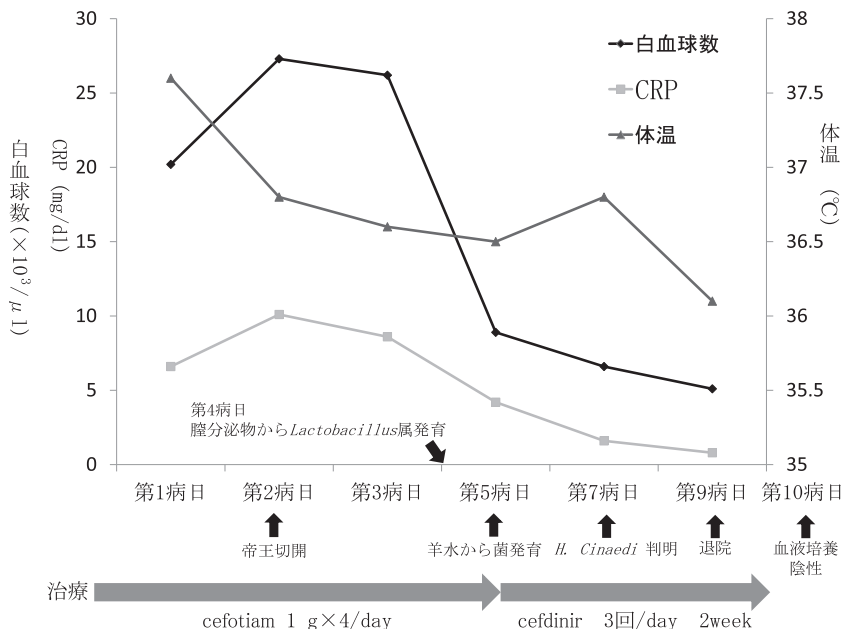
表1. 来院時の血液生化学検査データ

血算		生化学検査	
WBC	20.2×10 ³ /μl	TP	6.1 g/dl
RBC	371×10 ⁴ /μl	CK	25 IU/L
HGB	11.8 g/dl	AST	16 IU/L
PLT	17.4×10 ⁴ /μl	LD	150 IU/L
好中球数	17.4×10 ³ /μl	CRN	0.48 mg/dl
%好中球数	88.4 %	BUN	5.0 mg/dl
		Glu	123 mg/dl
		CRP	6.6 mg/dl

塗抹・鏡検検査：陰分泌液および羊水のグラム染色は、Bartholomew & Mittwer 変法（武藤化学）を用いて行った。陰分泌物のグラム染色では、*Lactobacillus*-formのグラム陽性桿菌が観察され、nugent scoreを「1」と報告した。一方、羊水のグラム染色では、少数の白血球と扁平上皮細胞に加えて、非常に細く染色性の悪いグラム陰性桿菌が観察された（図1）。

分離培養検査：羊水のグラム染色所見では、菌名を推定することができなかつたため、あらゆる菌の可能性を考慮し培養検査を開始した。37℃好気環境下で、チョコレート寒天培地（日本ベクトン・ディッキンソン、以下日本BD）、5%羊血液寒天培地（日本BD）およびDHL寒天培地（日水製薬）を使用して培養を行った。炭酸ガス培養は、チョコレート寒天培地および5%羊血液寒天培地を使用し、ダイアCO₂バックジャー用（三菱化学メディエンス）と角形標準ジャーを用いて、炭酸ガス培養環境にした後、37℃で培養した。嫌気培養は、CDC嫌気血液寒天培地（日本BD）を使用し、ダイア嫌気バックジャー用（三菱化学メディエンス）と角形標準ジャーを用いて嫌気状態にした後、37℃で培養した。微好気培養は、キャンピロバクター培地（日本BD）に塗抹後、ダイア微好気バックジャー用（三菱化学メディエンス）と角形標準ジャーを用いて、42℃微好気環境下で実施した。培養開始72

表2. 本症例の臨床経過



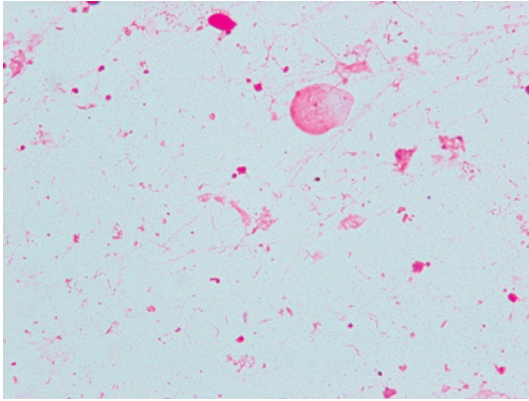


図1. 羊水のグラム染色像 (×1000)

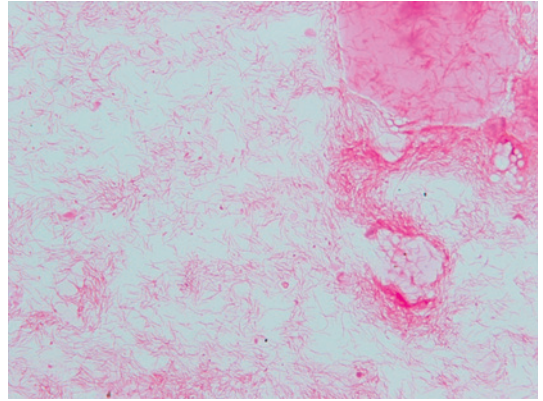


図3. CDC嫌気血液寒天培地上のコロニーのグラム染色像 (×1000)

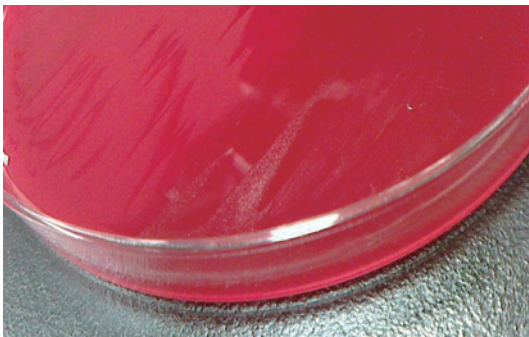


図2. 5日間培養後のCDC嫌気血液寒天培地上のコロニー

時間の時点では、すべての培地において発育が認められなかった。96時間培養後、CDC嫌気血液寒天培地上に非常に小さい灰白色コロニーの発育が認められた(図2)。発育したコロニーのグラム染色像を図3に示した。培地より釣菌したコロニーのグラム染色では、羊水中に認められた菌体と同様の形態を示すグラム陰性桿菌が確認できたが、らせん状形態は観察できなかった。その他の培地については、8日目まで培養を継続したが、菌の発育は認められなかった。膈分泌物の培養検査では、嫌気培養を行っていたCDC嫌気血液寒天培地に灰色の集落の発育を認めた。また提出された羊水を、血液培養用のSNボトルとSAボトル(シスメックス・ビオメリユー)に分注し、自動血液培養装置BACT/ALERT 3D(シスメックス・ビオメリユー)を用いて培養検査を行った。羊水を分注したSNボトルとSAボトルは、2週間培養を継続したが陽性化しなかった。血液培養は、自動血液培養装置BACT/ALERT 3Dで培養を10日間継続したが、陽

性化しなかった。

同定検査：膈分泌物の培養で発育したコロニーを、嫌気性菌生化学的同定キットRap ID ANA II(日本アムコ)を使用して同定を行った結果、*Lactobacillus acidophilus*と同定された。羊水の培養で発育したコロニーのカタラーゼ試験およびオキシダーゼ試験を実施したが、両試験とも陽性であった。同定検査は、Rap ID ANA IIを使用して実施したが、明確な同定結果を得られなかった。そこで、16S rRNA塩基配列による系統解析を、岐阜大学大学院医学系研究科再生分子統御学講座病原体制御分野の大楠清文先生に依頼した結果、*H. cinaedi*と同定された。

薬剤感受性検査：発育したコロニーがごく少数であったことから、継代培養・増菌培養を試みたが、増菌することができなかった。そのため、微量液体希釈法に使用する規定濃度の菌液を得られず、薬剤感受性検査は実施することができなかった。

III. 考察

今回我々は、*H. cinaedi*による羊水感染の一症例を経験した。*H. cinaedi*は、1984年にホモセクシャル男性の糞便からの分離例が初めて報告された菌である⁴⁾。*H. cinaedi*感染に関する報告は、HIV患者や腎移植後といった易感染患者におけるものが多くみられるが¹⁾³⁾、免疫抑制剤の投与歴のない非免疫不全状態の整形外科の手術後の患者において、院内感染を引き起こしたとの報告もある⁵⁾。妊婦が*H. cinaedi*菌血症を起こし帝王切開を行った例は、松本ら⁶⁾が2007年に報告したmulti-center studyにおいて1例記載されているが、本症例のように羊水感染を起こした症例は非常

に稀である。*H. cinaedi* による感染兆候としては、発熱および皮疹が2大兆候としてあげられる⁷⁾。その他の兆候としては下痢などが多いが、感染の決め手となる特徴的な兆候はないとされる。本菌は、ハムスターなどのペットの腸管内に棲息しており、*H. cinaedi* による感染を起こした患者の多くは、ペットとの接触歴があったとする報告もある⁸⁾。本菌による感染を疑う場合は、ペットとの接触歴を聴取することが重要であると考えられた。本症例では、ペットとの接触歴を診察時に聴取しておらず、退院後の経過観察期間後は当院を受診していなかったため、確認することができなかった。

一般的な子宮内感染の感染経路には、次にあげる4つが考えられている⁹⁾。卵管を通じた腹腔内からの侵入、経胎盤の血行性伝播、膈からの上行感染、絨毛膜標本採取時や羊水採取時の穿刺による汚染である。来院前には穿刺検査を行っておらず、当院で行った羊水穿刺検査で細菌が確認されていることから、穿刺時の汚染は考えにくい。入院時に提出された膈分泌物の培養検査では、*Lactobacillus acidophilus* のみが検出されており、グラム染色でも *H. cinaedi* を疑う像は観察できなかった。しかし、*H. cinaedi* は培養が難しい細菌であり、菌量が少ない場合にはグラム染色でも検出できないため、今回の結果のみで膈からの上行性感染を否定することはできない。入院時に血液培養が2セット採取されていたが、10日間の培養後も陽転化せず、菌を検出することができなかった。菌が検出できなかった原因の1つに培養システムが考えられることに加え、培養終了後の血液培養ボトルの培養液のグラム染色およびサブカルチャーを実施しなかったため、今回の症例については、入院時の菌血症を検出できなかった可能性がある。このことから経胎盤の血行性伝播による感染も否定できない。*H. cinaedi* 感染の兆候の1つである下痢症状が当院受診の14日前にあったが、下痢は非特異的的症状であり、その際に便培養も採取されていないことから、今回の *H. cinaedi* 感染と下痢症状との関連は不明である。今回の感染が菌血症由来であるとすれば、侵入門戸として、腸管からの bacterial translocation や他の感染巣からの侵入が考えられるが、今回オーダーされた検査の結果からは突き止めることはできなかった。以上より今回の症例に関して明確な侵入門戸を決定することはできなかった。侵入門戸を同定することは、適切な治療選択をする上で重要であるため、検索が不十分と考えられる場合には、臨床側へ培養検査の採取を依頼することも必要であると思われる。

Helicobacter 属は、生息する場所によって胃粘膜下に生息している gastric *Helicobacter* と腸管や肝臓・胆嚢から分離される enterohepatic *Helicobacter* に大別され、*H. cinaedi* は後者に分類されている。グラム染色では、グラム陰性らせん桿菌として染色されるが、染色性が悪く菌体が細いため、注意深く鏡検をする必要がある。グラム染色に不慣れた初学者は、見落とす可能性がある。また、ハッカーの変法で後染色にサフラニンを使用している場合には、フクシンに比べて染色性が悪いため、より注意深く観察する必要がある。*H. cinaedi* は、チョコレート寒天培地、羊血液寒天培地に発育するが、発育には5-10%の高濃度水素ガスが必要であるとされている¹⁰⁾。しかし、水素ガスを発生するガスパックは現在市販されておらず、市中病院の検査室において発育させることは非常に困難である。多くの文献では、微好気環境下での培養が試みられているが、我々が選択した42℃の微好気環境下での培養では、発育をさせることができなかった。この点については2つの理由が考えられる。一点目は、*H. cinaedi* は水素ガスが無い状態では発育困難であるだけでなく、42℃の環境下に比べて37℃の環境下で発育しやすい菌であったことが考えられる。二点目は、本菌が選択培地であるキャンピロバクター培地よりもチョコレート寒天培地、羊血液寒天培地といった非選択培地に発育しやすいことが挙げられる。今回、*H. cinaedi* のコロニーがみられたCDC嫌気血液寒天培地は非選択培地であったこと、培養を37℃で行ったことが本菌の発育に寄与したと考えられた。37℃の嫌気培養96時間後に発育したコロニーは、非常に微細であり、*H. cinaedi* のコロニーの特徴である thin spread colony と呼ばれる、培地上に薄く膜を張ったようなコロニーとは全く異なっていた。この点については、*Helicobacter* 属や *Campylobacter* 属は、酸素濃度が3-15%の状態では発育しやすい微好気性菌であり、酸素濃度が低い場合にはコロニーが小さくなるため、酸素濃度が0.1%以下になる嫌気環境下での培養が、コロニー形成に影響を与えたと考えられる。また、*H. cinadi* の発育には湿潤状態が重要であるが、今回の培養では、水分を加えるなどの処置を行わなかったため、水分が少なかったことも影響を与えた可能性がある。一般の検査室において、市販の同定キットを用いて同定することは難しく、菌名を確定できないことが多い。そのため、遺伝子検査が実施可能な施設において、16S rRNA塩基配列解析をはじめとする遺伝子検査による同定を行うことが有用である⁶⁾¹¹⁾。羊水を血液培養ボトルに分注し、培養を行ったが、我々

が使用している BACT/ALERT 3D 血液培養ボトルでは、本菌を検出することができなかった。*H. cinaedi* による血流感染に関する報告⁵⁾¹²⁾では、検出に BACTEC システム (日本 BD) を用いている報告が多いが、当院の BACT/ARERT 3D システムでは本菌を検出することが難しかったと考えられた。両社の血液培養装置は、血液培養ボトル内の微生物の検出方法としてボトル内の二酸化炭素の量の変化を捉える方法を用いており、検出原理に大きな違いはない。日本 BD 社製の好気用血液培養ボトルでの発育報告が多く見られることから、*H. cinaedi* の発育にとって比較的良い環境を与えていると考えられた。血液培養ボトル内の培養液組成、酸素分圧や二酸化炭素分圧の違いといった要因が、発育の有無に影響を与えていると考えられたが、明確な答えを得ることはできなかった。BACT/ARERT 3D システムを採用する施設では、*H. cinaedi* による菌血症例が見逃されている可能性が考えられるが、全ての血液培養検体のグラム染色を行うことは非常に困難である。本菌の感染を強く疑う症例や、臨床医から依頼のあった症例については、通常の培養期間終了時に陰性であっても血液培養検体のグラム染色を実施したり、サブカルチャーを行うことも1つの手段である。菌が発育してこない場合に、血液培養ボトルの培養液を用いて遺伝子検査を行う方法が試みられており¹³⁾、*H. cinaedi* 感染例においても有用な手段になり得ると考えられた。*H. cinaedi* は、培養条件が非常に厳しく、発育まで時間を要するため、グラム染色で見逃した場合に培養で本菌を見つけることが極めて難しくなる。本菌のように培養同定が困難な菌に遭遇した際には、患者背景、グラム染色像から本菌を疑うことが重要であり、培養にはその条件や日数に注意を払う必要があると考えられた。

(本論文の要旨については、第24回日本臨床微生物学会総会において発表を行った。)

利益相反：申告すべき利益相反なし

謝辞：16S rRNA 塩基配列解析による本菌の同定にご協力いただきました岐阜大学大学院医学系研究科再生分子統御学講座病原体制御分野の大楠清文先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Kiehlbauch, J.A., R.V. Tauxe, C.N. Baker, et al. 1994. *Helicobacter cinaedi*-associated bacteremia and cellulitis in immunocompromised patients. *Ann. Intern. Med.* 121: 90-93.
- 2) Burman, W.J., D.L. Cohn, R.R. Reves, et al. 1995. Multifocal cellulitis and monoarticular arthritis as manifestations of *Helicobacter cinaedi* bacteremia. *Clin. Infect. Dis.* 20: 564-570.
- 3) Murakami, H., M. Goto, E. Ono, et al. 2003. Isolation of *Helicobacter cinaedi* from blood of an immunocompromised patient in Japan. *J. Infect. Chemother.* 9: 344-347.
- 4) Patricia, A.T., C.L. Fennell, F.C. Tenover, et al. 1985. *Campylobacter cinaedi* and *Campylobacter fennelliae*: two new *Campylobacter* species associated with enteric disease in homosexual men. *J. Infect. Dis.* 151: 131-139.
- 5) Kitamura, T., Y. Kawamura, K. Ohkusu, et al. 2007. *Helicobacter cinaedi* cellulitis and bacteremia in immunocompetent hosts after orthopedic surgery. *J. Clin. Microbiol.* 45: 31-38.
- 6) Matsumoto, T., M. Goto, H. Murakami, et al. 2007. Multicenter study to evaluate blood stream infection by *Helicobacter cinaedi* in Japan. *J. Clin. Microbiol.* 45: 2853-2857.
- 7) Julia, A.K., R.V. Tauxe, C.N. Baker, et al. 1994. *Helicobacter cinaedi*-associated bacteremia and cellulitis in immunocompromised patients. *Ann. Intern. Med.* 121: 90-93.
- 8) Lasry, S., J. Simon, A. Marais, et al. 2000. *Helicobacter cinaedi* septic arthritis and bacteremia in an immunocompetent patient. *Clin. Infect. Dis.* 31: 201-202.
- 9) Robert, L.G., J.C. Hauth, W.W. Andrews. 2000. Intrauterine infection and preterm delivery. *N. Engl. J. Med.* 342 (20): 1500-1507.
- 10) 大楠清文. 2013. いま知りたい臨床微生物検査実践ガイド 珍しい細菌の同定・遺伝子検査・質量分析. Medical Technology 別冊. 医歯薬出版, 東京.
- 11) Ohkusu, K., T. Ezaki. 2007. *Helicobacter cinaedi* in fection. *Kansen Ensho Meneki* 37: 336-339.
- 12) Minauchi, K., S. Takahashi, T. Sakai, et al. 2010. The nosocomial transmission of *Helicobacter cinaedi* infections in immunocompromised patients. *Intern. Med.* 49: 1733-1739.
- 13) 古谷明子, 吉田里美, 久保 綾, 他. 2010. 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. *日臨雑誌* 20: 182-187.

Amniotic Fluid Infection of *Helicobacter cinaedi* in a Pregnant Woman

Yuki Hara¹⁾, Makoto Kawashima¹⁾, Mariko Kidono¹⁾, Sachie Asai¹⁾,

Yusuke Nomura¹⁾, Naoki Yamada¹⁾, Mamoru Ito¹⁾, Tetsuya Yagi²⁾

¹⁾Department of Medical Laboratory, Nagoya Daini Red Cross Hospital

²⁾Department of Infectious Diseases, Nagoya University Graduate School of Medicine

We reported a case of amniotic fluid infection caused by *Helicobacter cinaedi* (*H. cinaedi*) in a pregnant woman. The patient was transferred to our hospital since she presented symptoms of threatened preterm delivery. Gram stain of the amniotic fluid revealed the presence of gram-negative rod. Culture was performed under aerobic and anaerobic condition at 37°C and microaerobic condition at 42°C. All subcultures remained negative after 3 days. Bacteria were grown on anaerobe blood agar plates under anaerobic condition at 37°C after 96 h. This bacteria was identified as *H. cinaedi* by 16S rRNA gene sequence analysis. Although the route of infection was not able to be identified, the patient was diagnosed as preterm delivery because of amniotic fluid infection caused by *H. cinaedi*. The patient was administered empiric antibiotic therapy of intravenous cefotiam 1 g q.i.d. for 5 days, and then switched into oral cefdinir 100 mg t.i.d. for 2 weeks, and fully recovered. It is highly likely that *H. cinaedi* infection have been overlooked due to the difficulties in culturing this organism. So it is important to provide appropriate conditions to isolate and culture this organism after finding it out by gram stain and suspecting from patient's clinical background.