

[症例報告]

Actinotignum schaalii (旧 *Actinobaculum schaalii*) が血液培養から検出された4例

米谷正太¹⁾・荒木光二¹⁾・井田陽子¹⁾・広井愛美¹⁾・奥山貴洋¹⁾

平尾千尋¹⁾・本間慎太郎¹⁾・高城靖志¹⁾・大西宏明¹⁾²⁾

¹⁾ 杏林大学医学部付属病院臨床検査部

²⁾ 杏林大学医学部臨床検査医学教室

(平成 29 年 3 月 14 日受付, 平成 29 年 7 月 20 日受理)

Actinotignum schaalii は、コリネフォームを呈する通性嫌気性グラム陽性桿菌であり、尿路感染症の起因菌としての報告が散見される。今回我々は血液培養から *A. schaalii* を検出した4症例を経験した。4症例とも入院時に採取した血液、尿培養検体から本菌が検出され、尿路感染を契機とした菌血症と考えられた。いずれも MALDI-TOF MS による解析と 16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析の両者の結果が一致し、本菌と同定された。従来、本菌の同定には遺伝子検査を必要としたため報告例は少なかったが、質量分析を用いた菌種同定の普及により検出例が増加している。本菌には嫌気培養や5%炭酸ガス培養が必要であるが、尿検体では通常はこれらの培養を実施していない施設もあり、見落とされていた可能性もある。尿路感染を疑う症例において血液培養でコリネフォームのグラム陽性桿菌が観察された場合には、本菌の可能性も念頭に置く必要がある。

Key words: *Actinotignum schaalii*, MALDI-TOF MS, 尿路感染症, 血液培養

序 文

Actinotignum schaalii (以下 *A. schaalii*) は、無芽胞、非抗酸性、通性嫌気性グラム陽性桿菌である。昨今、尿路感染症の起因菌として注目されている。本菌の菌種同定には従来、遺伝子検査が必要とされており報告例は少なかったが、質量分析を用いた菌種同定の普及により検出例が増加している。今回我々は、*A. schaalii* が血液培養から検出された4症例を経験したので文献的考察を加えて報告する。

症 例

症例1: 81歳, 男性。

主訴: 発熱, 背中と足の疼痛。

既往歴: 2年前から無症候性血尿で当院通院中。

現病歴: 主訴により近医へ入院した翌朝、低酸素血症および留置されていた尿路カテーテルからの膿尿が認められたため、tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC) 4.5g×3/dayによる抗菌化学療法が開始された。しかし、呼吸状態が安定しないため精査加療目的のため当院に入院となった。当院来院時、心筋梗塞、多臓器不全状態であり、血液培養、尿培養が実施された。救命処置にもかかわらず同日、呼吸不全のため死亡退院した。

症例2: 84歳, 女性。

主訴: 発熱, 左腰背部痛。

既往歴: 右腎結石。

現病歴: 発熱と左腰背部痛により当院救急外来を受診した。CT画像検査にて尿管結石と水腎症の所見があり、左結石性腎盂腎炎の診断で入院し尿管ステント留置術が施行された。血液培養、尿培養実施後、ceftriaxone (CTRX) 1g/dayによる抗菌化学療法が開始された。入院6日後、発熱、腎部症状が軽快し退院した。

症例3: 41歳, 女性。

主訴: 発熱, 血尿, 不正性器出血。

著者連絡先: (〒181-8611) 東京都三鷹市新川6-20-2

杏林大学医学部付属病院臨床検査部

米谷正太

TEL: 0422-47-5511(内線2805)

FAX: 0422-47-5651

E-mail: yonetani@ks.kyorin-u.ac.jp

表1. 培養結果

検査税量	症例1		症例2		症例3		症例4	
血液培養	<i>Actinotignum schaalii</i>	2/4本 嫌気ボトル のみ	<i>Actinotignum schaalii</i>	1/2本 嫌気ボトル のみ	<i>Actinotignum schaalii</i>	2/4本 嫌気ボトル のみ	<i>Actinotignum schaalii</i>	2/4本 嫌気ボトル のみ
尿培養	<i>Actinotignum schaalii</i>	2+	<i>Actinotignum schaalii</i>	2+	<i>Actinotignum schaalii</i>	2+	<i>Actinotignum schaalii</i>	3+
	<i>Enterococcus raffinosis</i>	2+			<i>Peptostrepto- coccus anaerobius</i>	1+	<i>Peptoniphilus harei</i>	1+

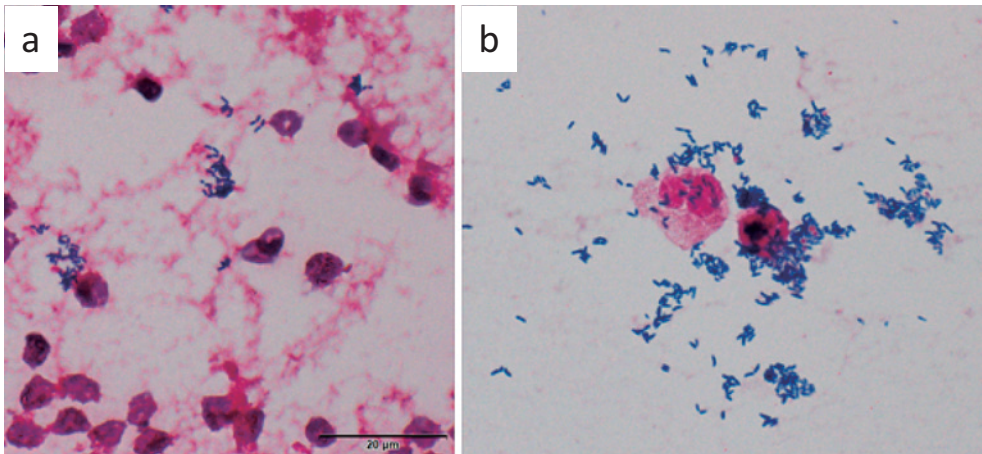


図1.

- a, グラム染色所見（血液培養検体：症例2）（×1000）
 b, グラム染色所見（尿検体：症例2）（×1000）
 コリネフォームを示すグラム陽性桿菌が観察された。

既往歴：子宮頸部腺癌，両側水腎症。

現病歴：抗癌化学療法中の両側水腎症に対して3ヵ月間尿管ステント留置中に，自宅で発熱，血尿，不正性器出血が認められたため外来受診し，尿路感染症疑いで入院した。血液培養，尿培養を実施後，cefepime (CFPM) 2 g/day による抗菌化学療法が開始された。入院4日目，炎症反応遷延のため，doripenem (DRPM) 1.5 g/day へ抗菌薬が変更され，入院5日目に両側の尿管ステント交換を行った。その後炎症反応の改善が認められたため，入院12日目に退院した。

症例4：87歳，女性。

主訴：発熱。

既往歴：アルツハイマー型認知症，左被殻出血にて在宅治療中（尿路カテーテル留置）。

現病歴：発熱と食欲不振を主訴に当院救急外来を受診した。診察所見，血液検査から敗血症性ショックが

疑われ入院となった。血液培養，尿培養を実施後，TAZ/PIPC 4.5 g×3/day 投与が開始された。抗菌薬投与2日後に解熱し，治療開始14日後に炎症反応の改善が見られたため抗菌薬が中止となり，入院40日後に軽快退院した。

微生物学的検査：4症例とも入院時に採取された尿培養，血液培養の両方から *A. schaalii* が検出された。培養結果のまとめを表1に示す。

グラム染色：フェーバーGキット「ニッスイ」（日水製薬）を用いて，陽転化した血液培養ボトル培養液，尿検体のグラム染色を実施したところ，コリネフォームグラム陽性桿菌が観察された（図1a, b）。

分離培養：分離培養には，ポアメディア羊血液寒天培地 M58（血寒：栄研化学）を用いて35℃，好気条件下，5%炭酸ガス条件下で培養を実施し，バイタルメディア プルセラ HK 寒天培地 (RS)（プルセラ

RS: 極東製薬) を用いて 35°C 嫌気培養 (アネロパウチ・ケンキ (スギヤマゲン) を使用) を実施した。血液培養のサブカルチャー及び尿検体共に培養 48 時間後に 5% 炭酸ガス培養で微小コロニー、嫌気培養で 1 mm 程度の灰白色コロニーの発育が認められた (図 2)。好気培養では 72 時間培養を行ったがコロニーの発育は認められなかった。

同定検査: カタラーゼ試験は陰性。アピ 20A (シスメックス・ビオメリユー) を用いた生化学性状を用いた数値分類では、同定不能 (コード: 44764036) であった。

質量分析法として MALDI バイオタイパー (データベース: Bruker MALDI Biotyper v3.1 software) (Bruker Daltonics) を用いた菌種同定結果では、4 例ともスコア 2.000 以上で *A. schaalii* と同定された。

追加検査として行った 16S rRNA 遺伝子塩基配列解析では、*A. schaalii* (CCUG 27420^T) 以外に 99% 以上の相同性を認めた菌種がなかったため、本菌を *A. schaalii* と判定した (表 2)。

薬剤感受性試験: Etest (シスメックス・ビオメリユー) を用い MIC 値を測定した。菌液調整にはブ

レインハートインフュージョンブイオン (シスメックス・ビオメリユー) にて McFarland 1.0 に濃度調整し、ブルセラ RS を用い 35°C 嫌気条件下で 48 時間培養後判定した。4 症例における penicillin G の MIC 値は ≤ 0.25 $\mu\text{g/ml}$ 、ceftriaxone の MIC 値は 0.032 $\mu\text{g/ml}$ 、imipenem の MIC 値は 0.032 $\mu\text{g/ml}$ 、clindamycin (TEIC) ≤ 0.064 $\mu\text{g/ml}$ 、vancomycin (VCM) の MIC 値は 0.125 $\mu\text{g/ml}$ 、ciprofloxacin (CPFX) の MIC 値は ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$ 、trimethoprim/sulfamethoxazole (ST) の MIC 値は ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$ であった。levofloxacin (LVFX) では、症例 1 において、MIC 値 ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$ であり、症例 2, 3, 4 においては 1 $\mu\text{g/ml}$ であった (表 3)。

考 察

本菌は、1997 年に Lawson らによって、ドイツの微生物学者 Klaus P. Schaalii に因んで *Actinobaculum schaalii* と命名された無芽胞、非抗酸性の通性嫌気性グラム陽性桿菌である。2015 年に *Actinobaculum* 属は、*Actinobaculum* 属と *Actinotignum* 属の 2 つに分割され、Yassin らにより本菌は *Actinotignum schaalii* と再分類された¹⁾。嫌気培養での発育が良好であることから、偏性嫌気生菌と分類されることもあるが、血液寒天培地、チョコレート寒天培地を用いた 48 時間 5% 炭酸ガス培養及び嫌気培養で灰白色の小さなコロニーを形成する。グラム染色所見は、コリネフォームのまっすぐな桿菌や湾曲型及び球桿菌型と多型性を示す^{2,3)}。*A. schaalii* による感染症報告は、尿路感染症を主とし、菌血症、皮膚軟部組織感染症、感染性心内膜炎、関節炎などが見られる^{2~11)}。

Lotte らの報告では、過去の *A. schaalii* による感染症症例 172 件の文献検討において尿路感染症の 121 件 (70%) が最も多く、次いで菌血症 33 件 (19%) であった²⁾。*A. schaalii* を検出した Tschudin-Sutter らは、バーゼル大学病院で *A. schaalii* が分離された 27 例を検討し、感染部位別では泌尿生殖器感染が 13 例 (48.1%) と最も多く、そのうち 10 例 (76.9%) においてステント留置や結石など尿路系の基礎疾患が認められたと報告している¹²⁾。今回の 4 症例も、ステント

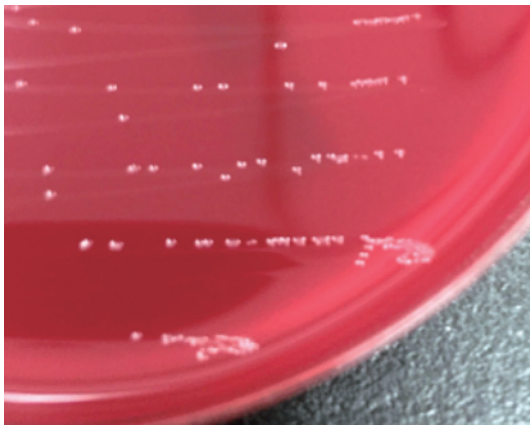


図 2. 35°C バイタルメディア プルセラ HK 寒天培地 (RS) を用いた嫌気培養 48 時間後コロニー像 (症例 2: 尿検体)
1 mm 程度の灰白色のコロニーの発育が認められた。

表 2. MALDI-TOF MS および 16S rRNA 遺伝子塩基配列一致結果

	症例 1	症例 2	症例 3	症例 4
MALDI-TOF MS* Score Value	2.123	2.192	2.003	2.098
16S r RNA 遺伝子塩基配列一致率	99.9% (689/690)	100% (654/654)	99.9% (673/674)	99.8% (643/644)

表 3. Etest 法による薬剤感受性試験結果

抗菌薬	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			
	症例 1	症例 2	症例 3	症例 4
penicillin G (PCG)	0.25	0.125	0.125	0.125
ceftriaxone (CTRX)	0.125	0.064	0.064	0.064
imipenem (IPM)	0.032	0.032	0.032	0.032
clindamycin (CLDM)	0.064	0.032	0.064	0.064
gentamicin (GM)	2	2	2	2
teicoplanin (TEIC)	0.032	0.064	0.064	0.064
penicillin G (VCM)	0.125	0.125	0.125	0.125
ciprofloxacin (CPFX)	≥ 32	≥ 32	≥ 32	≥ 32
levofloxacin (LVFX)	≥ 32	1	1	1
trimethoprim/sulfamethoxazole (ST)	≥ 32	≥ 32	≥ 32	≥ 32

留置, カテーテル留置や結石があり, 血液培養, 尿培養検体両者から本菌が検出されていることから, 尿路感染を契機とした菌血症であったと考えられた。

入院患者の尿検体をランダムに選択した 252 件を対象に, 定量的リアルタイム PCR を用いて *A. schaalii* を検出した Bank らの報告では, 41 件 (16%) から 10^4 CFU/mL 以上の *A. schaalii* が検出され, 特に 60 歳以上の患者からは 22% と高率に検出された¹³⁾。同じく検出に定量的リアルタイム PCR を使用した他の研究では, 3 歳未満の子供からも高い確率 (36%) で *A. schaalii* が検出された¹⁴⁾。保菌と感染の明確な区分は困難だが, 3 歳未満, 60 歳以上の患者では, 本菌による尿路感染症のリスクが高いと考えられる。

当検査室では, *A. schaalii* による尿路感染症の経験があったため, 日常業務において尿路感染を疑いかつグラム染色においてコリネフォームの陽性桿菌が観察された場合には, 5% 炭酸ガス培養及び嫌気培養を実施しているため, 今回の 4 例に関して尿検体でも早期の段階で本菌の検出が可能であった。しかし, 日常検査で本菌が検出されることは少ない。一般的に尿検体の培養では, 5% 炭酸ガス培養や嫌気培養が行われていないことも多い。本菌は好気培養ではほとんど発育を認めないため, 好気条件のみで培養を実施している施設では本菌の検出は難しい。また, 複数菌が検出された検体では, 通常の培養で発育する菌が優先的に検出され, 発育の遅い本菌は見逃されているおそれがあり, 本菌の検出率および有病率は, 過小評価されている可能性がある¹⁵⁾。本菌による感染症例の蓄積により更なる検討が必要である。

本菌の生化学性状を表 4 に示した²⁾。生化学性状を用いた市販キットではデータベース上に同定コードが存在しないために, 本菌の同定は出来ない。また, 本

菌は形態上の特徴により *Corynebacterium* spp. と誤報告される可能性がある。しかし, カタラーゼ試験が陰性であることで, *Corynebacterium* spp. との鑑別点となり, 好気培養でコロニーの発育が見られないことに加え, 市販キットの一部の結果を利用することで本菌を推定する一助となり得ると考える。

従来, 本菌の菌種同定には遺伝子検査が必要とされていたが, 近年, 微生物検査における質量分析装置の普及により本菌の検出報告が増加している¹⁴⁾¹⁶⁾。

今回の症例に関しても, 血液培養検査では嫌気ボトルのみで発育し, 当初, 形態上の特徴より *Corynebacterium* spp. と考え血液培養検体採取時のコンタミネーションの可能性が疑われた。しかし, MALDI-TOF MS を用いた質量分析法による菌種同定が有効であった。今後 MALDI-TOF MS の導入施設の増加に伴い本菌の検出例が増えることが予測される。

本菌に対して Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) および The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) における各抗菌薬のブレイクポイントは設定されていない。Cattoir らの報告では, 2010 年の EUCAST における Non-related species のブレイクポイント (ST は *Staphylococcus* spp. のブレイクポイント) を使用した感性率の報告では, β -ラクタム系抗菌薬 100%, rifampicin 100%, linezolid (LZD) 100%, VCM 100%, ST 33% であった。フルオロキノロン系抗菌薬では LVFX 98% であるが, CPFX 0% であり, 今回の菌株でも 4 症例とも β -ラクタム系抗菌薬, TEIC, VCM には低い MIC 値を示したが, ST, CPFX では高い MIC 値を示した。

過去の報告において CPFX だけではなく LVFX に対して高い MIC 値を示した株は, *gyrA* の変異が認

表4. *Actinotignum schaalii* 及び類縁菌種の生化学性状

Characteristic	<i>Actinotignum schaalii</i>	<i>Actinotignum sanguinis</i>	<i>Actinotignum urinale</i>	<i>Actinobaculum suis</i>
Acid production from :				
L-Arabinose	+	-	-	+
D-Glucose	+	-	+	-
Glycogen	-	-	-	+
Maltose	+	-	-	+
D-Ribose	+	-	+	+
Starch	-	-	-	+
Sucrose	+	-	-	-
D-Xylose	+	-	-	+
Production of :				
Alkaline phosphatase	-	-	-	+
Acid phosphatase	-	-	-	+
Esterase C4	-	-	-	+
Esterase lipase C8	-	-	-	+
α -Glucosidase	+	+	-	+
β -glucuronidase	-	-	+	+
N-Acetyl- β -glucosaminidase	-	-	-	+
Leucine arylamidase	+	+	-	+
Pyrrolidonyl arylamidase	-	-	-	+
Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase	-	+	-	+
α -Mannosidase	-	-	-	+
Urease	-	-	+	+
Colony morphology (after 48 hours)				
Size of colony	<1 mm	1- 2 mm	<1 mm	0.5 to 3 mm
Color of colony	Grey	Yellowish white	Grey or white	White
Hemolysis	None or weak α -hemolysis	No	Weak β -hemolysis	No

められており、尿路感染症治療に対するフルオロキノロン系抗菌薬の投与による変異の可能性を示唆している⁷⁾。症例1から検出された菌株もLVFXに高いMIC値を示しているため、同様の変異が起こっている可能性があり、今後フルオロキノロン系抗菌薬に高度耐性を持つ株の増加に留意する必要がある。ST、フルオロキノロン系抗菌薬は、尿路感染症に対して経験的治療として広く使用されるが、本菌が関連する感染症に関しては、 β -ラクタム系抗菌薬またはVCMなどの抗MRSA薬の使用を考慮する必要がある。さらに、治療期間が短いと再発が見られることがあるため、通常2週間程度の治療が必要となる²⁾¹⁷⁾。

今回、血液培養から*A. schaalii*を検出した4症例を経験した。本菌の感染症報告は尿路感染症が多いため、特に尿路性菌血症を疑う症例において、血液培養検査及び尿のグラム染色でコリネフォームのグラム陽性桿菌が観察された場合には、5%炭酸ガス条件下

または嫌気条件下で48時間以上培養を実施し、本菌を念頭に置き検査をする必要がある。

利益相反：申告すべき利益相反なし。

文 献

- 1) Yassin, A. F., C. Spröer, R. Pukall, et al. 2015. Dissection of the genus *Actinobaculum*: Reclassification of *Actinobaculum schaalii* Lawson et al. 1997 and *Actinobaculum urinale* Hall et al. 2003 as *Actinotignum schaalii* gen. nov., comb. nov. and *Actinotignum urinale* comb. nov., description of *Actinotignum sanguinis* sp. nov. and emended descriptions of the genus *Actinobaculum* and *Actinobaculum suis*; and re-examination of the culture deposited as *Actinobaculum massiliense* CCUG 47753T (= DSM 19118T), revealing that it does not represent a strain of this spe-

- cies. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 65: 615-624.
- 2) Lotte, R., L. Lotte, R. Ruimy. 2016. *Actinotignum schaalii* (formerly *Actinobaculum schaalii*): a newly recognized pathogen-review of the literature. Clin. Microbiol. Infect. 22: 28-36.
 - 3) Cattoir, V. 2012. *Actinobaculum schaalii*: review of an emerging uropathogen. J. Infect. 64: 260-267.
 - 4) Jacquier, H., H. Benmansour, F. Zadegan, et al. 2016. *Actinobaculum schaalii*, a new cause of knee prosthetic joint infection in elderly. Infection 44: 547-549.
 - 5) Lotte, L., R. Lotte, M. Durand, et al. 2016. Infections related to *Actinotignum schaalii* (formerly *Actinobaculum schaalii*): a 3-year prospective observational study on 50 cases. Clin. Microbiol. Infect. 22: 388-390.
 - 6) Maraki, S., G. Evangelou, D. Stafylaki, et al. 2016. *Actinotignum schaalii* subcutaneous abscesses in a patient with hidradenitis suppurativa: Case report and literature review. Anaerobe 43: 43-46.
 - 7) Nielsen, H., K. Søby, J. Christensen, et al. 2010. *Actinobaculum schaalii*: a common cause of urinary tract infection in the elderly population. Bacteriological and clinical characteristics. Scand. J. Infect. Dis. 42: 43-47.
 - 8) Pedersen, H., E. Senneby, M. Rasmussen. 2017. Clinical and microbiological features of *Actinotignum* bacteremia: a retrospective observational study of 57 cases. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 36: 791-796.
 - 9) Siller Ruiz, M, S Hernández Egido, N Calvo Sánchez, et al. 2017. Unusual clinical presentations of *Actinotignum (Actinobaculum) schaalii* infection. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 35: 197-198.
 - 10) Hoenigl, M., E. Leitner, T. Valentin, et al. 2010. Endocarditis caused by *Actinobaculum schaalii*, Austria. Emerging Infect. Dis. 16: 1171-1173.
 - 11) Tena, D., C. Fernández, M. Lago, et al. 2014. Skin and soft-tissue infections caused by *Actinobaculum schaalii*: report of two cases and literature review. Anaerobe 28: 95-97.
 - 12) Tschudin-Sutter, S., R. Frei, M. Weisser, et al. 2011. *Actinobaculum schaalii* - invasive pathogen or innocent bystander? A retrospective observational study. BMC Infect. Dis. 11: 289-289.
 - 13) Bank, S., A. Jensen, T. Hansen, et al. 2010. *Actinobaculum schaalii*, a common uropathogen in elderly patients, Denmark. Emerging Infect. Dis. 16: 76-80.
 - 14) Bank, S., T. Hansen, K. Søby, et al. 2011. *Actinobaculum schaalii* in urological patients, screened with real-time polymerase chain reaction. Scand. J. Urol. Nephrol. 45: 406-410.
 - 15) Kline, K., A. Lewis. 2016. Gram-Positive Uropathogens, Polymicrobial Urinary Tract Infection, and the Emerging Microbiota of the Urinary Tract. Microbiol Spectr 4: doi: 10.1128/microbiolspec. UTI-0012-2012.
 - 16) Stevens, R., P Taylor. 2016. *Actinotignum* (formerly *Actinobaculum*) *schaalii*: a review of MALDI-TOF for identification of clinical isolates, and a proposed method for presumptive phenotypic identification. Pathology 48: 367-371.
 - 17) Cattoir, V., A. Varca, G. Greub, et al. 2010. In vitro susceptibility of *Actinobaculum schaalii* to 12 antimicrobial agents and molecular analysis of fluoroquinolone resistance. J. Antimicrob. Chemother. 65: 2514-2517.

Four cases of *Actinotignum schaalii* (formerly *Actinobaculum schaalii*)
detected from blood culture

Shota Yonetani¹⁾, Koji Araki¹⁾, Yoko Ida¹⁾, Megumi Hiroi¹⁾, Takahiro Okuyama¹⁾,
Chihiro Hirao¹⁾, Shintaro Honma¹⁾, Yasushi Takagi¹⁾, Hiroaki Ohnishi^{1) 2)}

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Kyorin University School of Medicine

²⁾Department of Laboratory Medicine, Kyorin University School of Medicine

Actinotignum schaalii is a coryneform, facultative anaerobic, gram-positive bacillus that is reported to be a causative agent of urinary tract infections. Here we report 4 cases of *A. schaalii* detected from blood culture. *A. schaalii* was detected from both blood and urine specimens collected at the time of admission; therefore, bacteremia was considered to have been triggered by a urinary tract infection. In the present cases, *A. schaalii* were identified by performing MALDI-TOF MS in addition to the 16S rRNA gene sequencing. Previously, *A. schaalii* infection was not frequently documented because genetic testing was required for identification. However, the number of case reports on *A. schaalii* infection has recently increased due to the availability of mass spectrometry in clinical laboratories. *A. schaalii* infection might have been underdiagnosed because of a lack of anaerobic culture carbon dioxide supplemented cultures, which are not performed in routine examination, are required for the growth of this bacterium. When coryneform gram-positive bacillus is detected from blood cultures in cases suspected of urinary tract infection, *A. schaalii* infection should be considered.