

[症例報告]

Helicobacter cinaedi 菌血症の治療中に *Brachyspira pilosicoli* 菌血症を発症した 1 例

渡邊真子¹⁾・八木澤瞳¹⁾・大江知宏¹⁾・小橋澄子²⁾・吉田菜穂子³⁾・黄 英文⁴⁾

¹⁾ 国家公務員共済組合連合会立川病院中央検査科

²⁾ 国家公務員共済組合連合会立川病院血液内科

³⁾ 順天堂大学医学部熱帯医学・寄生虫学講座

⁴⁾ 国家公務員共済組合連合会立川病院呼吸器内科

(令和 5 年 4 月 24 日受付, 令和 5 年 7 月 31 日受理)

Brachyspira pilosicoli は偏性嫌気性グラム陰性らせん菌でヒトや動物の腸管スピロヘータ症の原因菌である。近年、血液培養からの検出報告も散見されるが国内での報告は稀である。今回、*Helicobacter cinaedi* 菌血症の治療中に *B. pilosicoli* 菌血症を発症した 1 例を経験した。患者は 40 代男性。びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫に対し化学療法中に *H. cinaedi* 菌血症を発症、cefepime で治療開始され、菌種同定後 amoxicillin に変更。第 32 病日に、血液培養陰性確認目的で採取した血液培養が 9 日目に嫌気ボトルのみ陽転、ブルセラ HK 培地に 5 日目でフィルム状集落が形成されらせん状のグラム陰性桿菌が観察された。検出菌は簡易キットで同定困難であり、質量分析にて *B. pilosicoli* と同定された。退院後に内視鏡検査が行われ病理検査で偽刷子縁を認められたため、総合的に腸管スピロヘータ症と診断された。*B. pilosicoli* は通常の血液培養期間では検出が困難であり、臨床背景や治療経過から培養期間の延長を考慮する事が重要と考えられた。

Key words: *Brachyspira pilosicoli* (ブラキスピラピロシコリ), *Helicobacter cinaedi* (ヘリコバクターシナジー), Blood culture (血液培養), 質量分析 (Mass Spectrometry)

序 文

Brachyspira pilosicoli は Spirochaetales, Brachyspiraceae に分類され 0.2~0.4 μm × 2~10 μm 程の偏性嫌気性グラム陰性らせん菌である。ヒトや動物の腸管スピロヘータ症(Intestinal spirochetosis)の原因菌で、さまざまな動物からの分離が報告され人畜共通感染症としてもその重要性や臨床的意義が注目されている¹⁾²⁾。*Brachyspira* 属菌の中で現在ヒトへの感染が報告されているのは *Brachyspira aalborgi* と *B. pilosicoli* の 2 菌種である。*B. pilosicoli* は下痢発症ブタから分離されたスピロヘータであり³⁾ヒト、サル、シカ、ウマ、イヌ、ネズミなどのさまざまな動物に、下痢、腸炎などを起こす報告もあり^{4)~6)}、近年、血液培養からの分離例も散見されている⁷⁾⁸⁾。

症 例

患者：40 代男性

主訴：発熱

基礎疾患：びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫

家族歴：特記事項なし

渡航歴：なし

生活歴：飲酒なし、喫煙 20 本/日

動物との接触歴：ペット飼育なし

現病歴：20XX 年 2 月下旬、来院日前夜より悪寒あり、朝から 38℃ 以上の発熱を認め、救急外来を受診した。びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫に対し化学療法中で、骨髄抑制期となる直前であったため、発熱性好中球減少症と診断され同日緊急入院となった。

入院時現症：体温 39.6℃、血圧 109/5 mmHg、脈拍 93 回/分、SpO₂ 100%、特記すべき明らかな異常所見なし。

臨床経過 (Figure 1)：入院時に血液生化学検査 (Table 1)、血液培養を 2 セット採取後、cefepime (CFPM) 1 g × 4/day が開始された。第 2 病日より顆粒球コロニー形成刺激因子 (G-CSF) が投与開始され、同日から解熱を維持していた。入院時に採取された血液培養が第 5 病日に 1 セット陽性となり *Helicobacter cinaedi* と同定され、第 8 病日から amoxicillin (AMPC) 1000 mg/day に変更した。第 30 病日に薬剤感受性結果を確認し、minocycline (MINO) 50 mg × 4/day に変更された。第 32 病日に *H. cinaedi* 陰性化を確認するため培養期間を延長した血液培養が培養 9 日目に陽性となり、*B. pilosicoli* が同定された。MINO 開始 7 日、14 日目に血液培養を 2 回実施し陰性を確認した。また、退院後から下痢症状が出現し、血液培養から *B. pilosicoli* が検出された経緯も考え便検査・内視鏡検査が行われた。病理検査で好塩基性の毛羽立ち (偽刷子縁) を認められ、総合的に腸管スピロヘータ症と診断された。

著者連絡先：(〒190-8531) 東京都立川市錦町 4-2-22
国家公務員共済組合連合会立川病院中央検査科
渡邊真子
TEL: 042-523-3131(内線 2375)
FAX: 042-523-0619
E-mail: m.mizuguchi@tachikawa-hosp.gr.jp

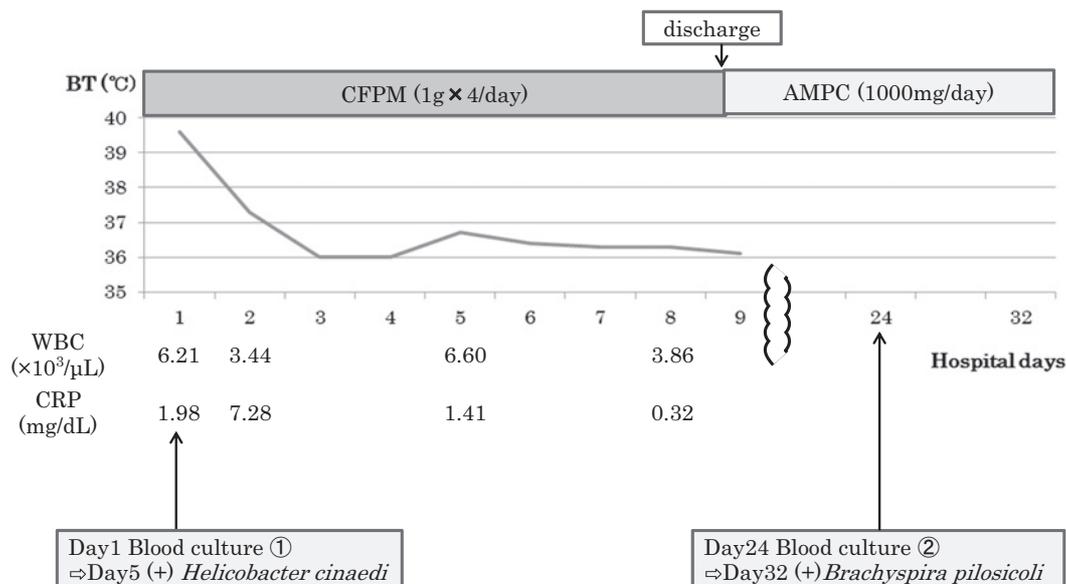


Figure 1. Clinical course

BT: Body Temperature, CRP: C-Reactive Protein, WBC: White Blood Cells, CFPM: Cefepime, AMPC: Amoxicillin

Table 1. Laboratory findings on admission

Peripheral blood test		Biochemical test	
WBC	6210 / μL	TP	6.0 g/dL
RBC	4.40×10^6 / μL	ALB	4.2 g/dL
Hb	12.9 g/dL	T-Bil	0.8 mg/dL
Ht	38.8 %	BUN	14.6 mg/dL
Plt	225×10^3 / μL	Cre	0.89 mg/dL
Neut	94.3 %	AST	13 IU/L
Lympho	5.0 %	ALT	23 IU/L
Mono	0.5 %	LDH	141 IU/L
Eosino	0.2 %	ALP	168 IU/L
Baso	0.0 %	CRP	1.98 mg/dL
		PCT	0.64 ng/mL

微生物学的検査

1. 血液培養検査

1) 入院時に血液培養 2 セット (22F 好気用レズンボトル, 23F 嫌気用レズンボトル (日本ベクトンデッキンソン: 日本 BD)) を採取, 血液培養装置 BD バクテック FX システム (日本 BD) にて培養を開始した。5 日目に好気ボトルが陽性となった。

2) 第 24 病日に血液培養 1 セットを採取, 同様の装置で最長 14 日間の設定で培養した。9 日目に嫌気用ボトルが陽性となった。

2. *B. pilosicoli* 分離培養検査

血液培養ボトルの培養液をフェイバー G (日水製薬) キットにてグラム染色した結果, 塗抹にて菌を確認することができなかった。分離培地はニッスイプレート羊血液寒天培地 (日水製薬), チョコレート II 寒天培地 (日本 BD), 卵黄加マンニット食塩培地 (日水製薬), BTB 寒天培地 (極東製薬) を用いて 35°C で炭酸ガス培養, プルセラ HK 寒天培地 RS (極東製薬) を用いて 35°C で嫌気培養を実施した。培養 4 日

に嫌気条件下のプルセラ HK 寒天培地のみでフィルム様集落が発育し, グラム染色で細長いらせん状グラム陰性桿菌を観察した (Figure 2, 3)。

3. *B. pilosicoli* 同定検査

弱い β 溶血, カタラーゼ試験陽性, オキシダーゼ試験陽性, 嫌気条件下のみで発育することから嫌気性スピロヘータを疑い, 嫌気性細菌同定用キットの RapID ANAII System (アムコ) を用いて同定を行ったが, 全項目陰性で同定不能であった。そこで質量分析 (MALDI Biotyper Ver.4.0.0.1) を依頼し, *B. pilosicoli* (Score Value 2.041) と同定された。

4. *B. pilosicoli* 薬剤感受性検査

薬剤感受性検査はオプトパネル MP (OP1) (極東製薬) を用いて行った。ウマ溶血液加プルセラプラスで McFarland 1 の濃度に菌液調整を行いオプトパネル MP に接種, 35°C で 4 日間嫌気培養を行った後, MIC を測定した。試験薬剤は penicillin (PCG), cefotiam (CTM), cefditoren-pivoxil (CDTR-PI), cefotaxime (CTX), ampicillin/sulbactam (A/S), ceftazidime (CAZ), ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC), gentamicin (GM), MINO, meropenem (MEPM), erythromycin (EM), clindamycin (CLDM), imipenem (IPM), levofloxacin (LVFX), cefoperazone/sulbactam (C/S) を用いた。薬剤感受性試験の結果は Table 2 に示した。PCG, PIPC, ABPC, ABPC/SBT, EM には高い MIC を示し CTX, MEPM, CLDM, MINO には低い MIC 値を示した。

考 察

Brachyspira 属菌は人獣共通感染菌である腸管スピロヘータ症の原因菌となる。腸管スピロヘータ症は, 発展途上国 (11%~64%) や欧米 (2~7%) では比較的多くみられるが⁹⁾¹⁰⁾, 本邦においての報告は非常に稀である。1967 年 Harland らが初めて報告し¹¹⁾, 本邦では 1998 年に中村ら¹²⁾が最初に報告して以降, 稀な感染症とされているが近年増加傾向にある⁷⁾⁸⁾。



Figure 2. Colonies on Brucella HK agar plates

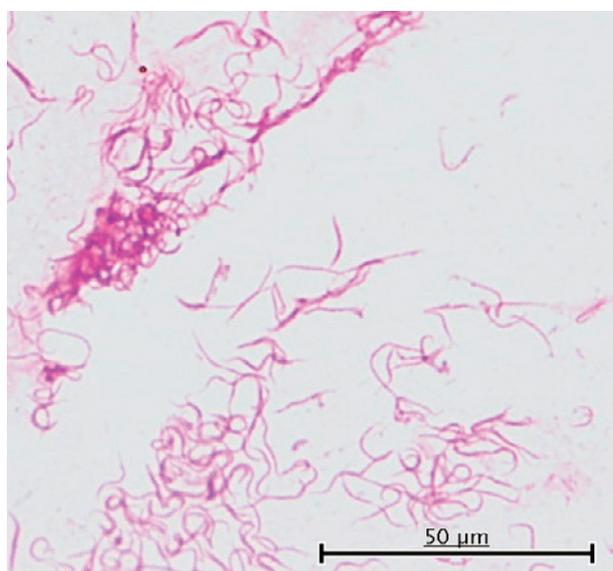


Figure 3. Gram staining images of colonies from Brucella HK agar plates (×1000)

Brachyspira 属でヒトへの感染が報告されているのは *B. aalborgi* と *B. pilosicoli* の2菌種である。*B. aalborgi* はヒトと霊長類のみに感染が認められ、*B. pilosicoli* はヒト、鳥類、哺乳類など多くの動物に感染することが知られている。欧米や本邦では *B. aalborgi*、発展途上国では *B. pilosicoli* の感染報告が多く、*B. pilosicoli* はインドネシア、バリ島など農村地区に住む人の10~50%の頻度で腸管に保菌していることが報告され¹³⁾ 危険因子として井戸水との接触頻度があげられている¹⁴⁾。また *B. pilosicoli* は、欧米では同性愛者やHIV患者など免疫不全患者の報告が¹⁵⁾¹⁶⁾、本邦では無症状で検診にて発見されるなど不顕性感染例の報告が目立ち¹⁷⁾、中年男性に多く、若年者は少ない傾向にある¹⁸⁾。また、特徴的な症状、内視鏡所見などは報告されておらず、本症例では入院時に消化器症状はなかったが、退院後から下痢が出現し持続していたため病理学的検査を行った。腸管スピロヘータ症の病理所

Table 2. Antimicrobial susceptibility results of *Brachyspira pilosicoli*

Antimicrobial agent	MIC (μg/mL)
Penicillin	>4
Piperacillin	>64
Ampicillin	>8
Cefotiam	4
Cefditoren pivoxil	0.5
Cefotaxime	≤0.5
Ceftazidime	16
Ampicillin/sulbactam	>8/4
Cefoperazone/sulbactam	4/2
Imipenem	1
Meropenem	0.25
Erythromycin	>2
Gentamicin	4
Clindamycin	0.25
Minocycline	≤0.25
Levofloxacin	4

見は腸管上皮細胞の刷子縁膜に好塩基性の毛羽立ち（偽刷子縁）が特徴とされる。本症例は回腸、虫垂、大腸に付着した好塩基性の毛羽立ちが観察され、偽刷子縁の長さや血液培養の同定結果から総合的に *B. pilosicoli* の感染と考えられた。

本邦でこれまで *B. pilosicoli* による菌血症報告例が少ない理由として、血液培養期間が短いことが考えられる。一般的な血液培養期間は5日間が多いが *B. pilosicoli* が検出されるためには5.6~14.9日を要することが報告されており¹⁹⁾、通常の培養期間では *B. pilosicoli* が発育する前に培養が終了することになる。本症例は *H. cinaedi* 菌血症治療中の血液培養検体であったため培養期間を延長したことにより *B. pilosicoli* の検出・同定につながった。すべての血液培養期間を5日間以上延長することは培養機器の容量や費用面において困難であると推察され、Cumitech血液培養検査ガイドラインにおいても99%以上の菌は検出可能な5日間培養を推奨している²⁰⁾。しかし、5日間培養では発育困難な菌種も存在するため臨床背景や目的菌に応じ血液培養期間の延長を考慮する必要がある。また *B. pilosicoli* が検出困難な要因として、培養液グラム染色で菌体確認が難しいこと、発育したコロニーがフィルム状集落であり集落かどうか鑑別が難しいことなどがあげられる。本症例においても、培養陽性時のグラム染色では菌体確認はできず、培養開始4日目に嫌気培養条件下のブルセラHK培地に弱いβ溶血を示すフィルム様コロニーが認められ、グラム染色したところ毛髪様の細長いらせん状のグラム陰性桿菌を観察することができた。培養陽性時、グラム染色する際の改善策として①培養液からの生標本作成による菌体の運動性確認、②遠心分離後の沈渣をグラム染色することや後染色の時間を延長することは有効な方法である。*B. pilosicoli* は嫌気性発育、ヒツジ血液寒天培地で弱いβ溶血、フィルム様コロニーを形成、カタラーゼ試験陽性で馬尿酸加水分解試験が強陽性であり、*Brachyspira* 属以外のグラム陰性らせん状桿菌との鑑別のポイントである (Table 3)²¹⁾。嫌気性細菌同定キットRAPIDANAIISystemには *Brachy-*

Table 3. Biochemical properties of *Brachyspira pilosicoli* and other spiral bacteria²¹⁾

	<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Helicobacter cinaedi</i>	<i>Brachyspira pilosicoli</i>	<i>Brachyspira aalborgi</i>	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>
Anaerobic condition	–	–	+	+	+
Bottle Positive number of days	2 ~ 4	3 ~ 10	6 ~ 15		5 day approximately
Colony morphology	2 ~ 3 mm Flat-colony	Film-like	Film-like	Film-like	Minute
β-Hemolysis	–	–	+	Weak	–
Size (μm)	0.2 ~ 0.4 × 0.5 ~ 5.0	1.5 ~ 10	4 ~ 12	2 ~ 6.0	3 × 0.5
Oxidase	+	+	+	+	–
Catalase	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	–	+	–		+
Hippurate hydrolysis	+	–	+	Weak	–

Table 4. Biochemical characteristics of *Brachyspira pilosicoli* and *Brachyspira aalborgi*

	<i>B. pilosicoli</i>	<i>B. aalborgi</i>
β-lactamase	+	–
Urease (URE)	–	–
β-disaccharidase (BLTS)	–	–
α-arabinosidase (α-ARA)	+	+
β-galactosidase (ONPG)	+	+
α-glucosidase (α-GLU)	※	–
β-glucosidase (β-GLU)	–	–
α-galactosidase (α-GAL)	※	–
α-fucosidase (α-FUC)	–	–
N-acetyl-β-glucosaminidase (NAG)	–	–
Phosphatase (PO4)	–	–

※*B. pilosicoli* shows positive results for α-GAL α-GLU either alone or both

spira 属のデータベースがなく菌種同定は出来ないが、キットの生化学的性状の一次判定を見ることで *Brachyspira* 属の *B. aalborgi* と *B. pilosicoli* の簡易的な鑑別が可能とされる²²⁾ (Table 4)。しかし、現在確立された同定方法はないため、可能であれば質量分析や 16S rRNA 遺伝子解析による正確な同定が望ましい。本菌の薬剤感受性試験は、ニトロセフィン法の β ラクタマーゼ試験は陽性であり、ペニシリン系、EM に高い MIC を示し、CTX、MEPM、MINO に低い MIC を示した。Brooke らは本菌の約 50% が β ラクタマーゼ陽性であり、ceftriaxone (CTRX)、chloramphenicol (CP)、MEPM、metronidazole (MNZ)、tetracycline (TC) に感受性であったと報告している²³⁾。血液培養から *B. pilosicoli* が検出された場合、大腸粘膜を侵入門戸とする Bacterial translocation が最も考えられ、症例は *H. cinaedi* 菌血症のため AMPC 投与中、保菌していたペニシリン系耐性の *B. pilosicoli* による菌血症を新たに発症したと考えられた。臨床背景や治療経過から *B. pilosicoli* のように長期培養が必要な菌の感染を想起し、柔軟に血液培養期間の延長を考慮する事が重要と考えられた。

本論文の要旨は第 30 回日本臨床微生物学会・学術集会 (2019 年 2 月東京都) にて発表した。

本症例報告は当院の倫理委員会の承認を得ている (承認番号 No2017-15)

利益相反：申告すべき利益相反なし

文 献

- Hampson, D.J., S.L. Oxberry, T. La. 2006. Potential for zoonotic transmission of *Brachyspira pilosicoli*. *Emerg. Infect. Dis.* 12: 869-870.
- 足立吉数. 1999. 腸管スピロヘータ症 人畜共通感染症として. *モダンメディア* 45: 201-206.
- Taylor, D.J., J.R. Simmons, H.M. Laird. 1980. Production of diarrhea and dysentery in pigs by feeding pure cultures of a spirochaete differing from *Treponema Hyodysenteriae*. *Vet Rec* 106: 326-332.
- Calderaro, A., S. Bommezzadri, C. Gorrini, et al. 2007. Infective colitis associated with human intestinal spirochetosis. *J Gastroenterol Hepatol.* 22: 1772-1779.
- Peghini, P.L., J.G. Guccion, A. Sharma. 2000. Improvement for chronic diarrhea after treatment for intestinal spirochetosis. *Dig Dis Sci.* 45: 1006-1010.
- Gad, A., R. Willen, K. Furugard, et al. 1977. Intestinal spirochaetosis as a cause of longstanding diarrhea. *Ups. J Med Sci* 82: 49-54.
- Bait-Merabet, L., T. Arnaud, L. Patrick, et al. 2008. *Brachyspira pilosicoli* bloodstream infections: Casereport and review of the literature. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 25: 7-19.
- 千田澄江, 明壁 均, 大楠清文, 他. 2010. 嫌気性スピロヘータ *Brachyspira pilosicoli* による菌血症の 1 例. *日臨微誌* 20: 44-49.
- Koerner, M., J.O. Gebbers. 2003. Clinical significance of human intestinal spirochetosis - a morphologic approach. *Infection* 3: 1341-1349.
- Koteish, A., R. Kannangai, S.C. Abraham, et al. 2003. Colonic spirochetosis in children and adults. *Am J Clin Pathol.* 120: 828-832.
- Harland, W.A., F.D. Lee. 1967. Intestinal spirochaetosis. *BMJ.* 3: 718-719.
- Nakamura, S., T. Kuroda, T. Sugai, et al. 1998. The first reported case of intestinal spirochaetosis in Japan. *Pathol Int.*

- 48: 58-62.
- 13) Bait-Merabet, L., T. Arnaud, L. Patrick, et al. 2008. Brachyspira pilosicoli bloodstream infections: Case report and review of the literature. Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. 25: 7-19.
 - 14) Margawani, KR, ID Robertson, CJ Brooke, et al. 2004. Prevalence, risk factors and molecular epidemiology of Brachyspira pilosicoli in humans on the island of Bali, Indonesia. J Med Microbiol. 53: 325-332.
 - 15) Ena, J, A Simón-Aylón, F Pasquau. 2009. Intestinal spirochetosis as a cause of chronic diarrhoea in patients with HIV infection: case report and review of the literature. Int J STD AIDS. 20: 803-805.
 - 16) Tsinganou, E, JO Gebbers. 2010. Human intestinal spirochetosis-a review. Ger Med Sci. 8: Doc01.
 - 17) 塩沢朋子, 野呂瀬朋子, 矢持淑子, 他. 2012. 腸管スピロヘータ症 Intestinal spirochetosis の臨床病理学的検討. 昭和医学会雑誌 72: 229-237.
 - 18) 三浦洋輔, 小川勝洋. 2014. 若年女性に生じた腸管スピロヘータ症の1例. Gastroenterological Endoscopy 2014 56: 3347-3351.
 - 19) Brooke, CJ, KR Margawani, AK Pearson, et al. 2010. Evaluation of blood culture systems for detection of the intestinal spirochaete Brachyspira (Serpulina) pilosicoli in human blood. J Med Microbiol 49: 1031-1036.
 - 20) 松本哲哉, 満田年宏訳. 2007. Cumitech 血液培養検査ガイドライン, 医歯薬出版.
 - 21) 馬場 勝, 荒岡秀樹, 米山真彰子. 2013. Helicobacter cinaedi. 臨床と微生物 40: 568-574.
 - 22) 田中洋輔, 松本裕子, 島田直樹, 他. 2016. ヒトから分離される Brachyspira 属菌の同定と微生物学的特徴. 日臨微誌 26: 30-40.
 - 23) Brooke, C. J., D. J. Hampson, T. V. Riley. 2003. In vitro antimicrobial susceptibility of Brachyspira pilosicoli isolates from humans. Antimicrob. Agents Chemother 47: 2354-2357.

A case of *Brachyspira pilosicoli* bacteremia during the treatment of *Helicobacter cinaedi* bacteremia

Mako Watanabe¹⁾, Hitomi Yagisawa¹⁾, Tomohiro Ooe¹⁾, Sumiko Kohashi²⁾, Naoko Yoshida³⁾, Hidefumi Koh⁴⁾

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Tachikawa Hospital

²⁾Department of Hematology, Tachikawa Hospital

³⁾Department of Parasitology, Juntendo University School of Medicine

⁴⁾Division of Pulmonary Medicine, Department of Internal Medicine, Tachikawa Hospital

Brachyspira pilosicoli is an obligately anaerobic gram-negative spirochete that is known to be the causative agent of intestinal spirochetosis in humans and animals. While recent reports have occasionally described its detection from blood cultures, such reports are rare in Japan. In this case, we encountered a patient who developed *B. pilosicoli* bacteremia during the treatment of *Helicobacter cinaedi* bacteremia. The patient was a male in his 40s who developed *H. cinaedi* bacteremia while undergoing chemotherapy for diffuse large B-cell lymphoma. Treatment was initiated with cefepime and later switched to amoxicillin after the identification of the causative organism. On the 32nd day of hospitalization, a blood culture taken for the purpose of confirming negativity yielded growth only in the anaerobic bottle on the 9th day, where film-like colonies were observed on Brucella HK agar on the 5th day. The organism detected was difficult to identify with a simple kit and was identified as *B. pilosicoli* by mass spectrometry. *B. pilosicoli* was difficult to detect in normal blood culture, and it was considered important to consider extending the culture period based on the clinical background and course of treatment.