

[症 例 報 告]

16S rRNA 解析により同定した *Herbaspirillum seropedicae* 菌血症の 1 例

大吉かおり¹⁾・澤 朋香¹⁾・亀井亜希乃¹⁾・江島怜花¹⁾・岩永祐季¹⁾
森口美由紀¹⁾・丸塚洋基¹⁾・吉田賢太²⁾・保田祐子³⁾・川村宏大^{2) 3)}

¹⁾ 社会福祉法人恩賜財団済生会熊本病院中央検査部

²⁾ 社会福祉法人恩賜財団済生会熊本病院 TQM 部

³⁾ 社会福祉法人恩賜財団済生会熊本病院呼吸器内科

(令和 5 年 12 月 1 日受付, 令和 6 年 2 月 20 日受理)

我々は、稀な *Herbaspirillum seropedicae* による菌血症を経験した。症例は 80 歳代、女性。発熱、呼吸困難のため他院を受診し、間質性肺炎の急性増悪として当院紹介となった。入院時に採取された血液培養からグラム陰性の湾曲した桿菌を検出し、16S rRNA 遺伝子解析により *H. seropedicae* と同定された。*Herbaspirillum* 属は生化学的検査による同定では *Burkholderia cepacia* complex や *Ralstonia pickettii* と誤同定されるが、特徴的な湾曲した菌形態と β ラクタム薬に感受性で colistin に耐性である点、遺伝子解析の結果より同定が可能であった。癌や免疫抑制状態の患者から湾曲した感受性良好なブドウ糖非発酵菌が検出された場合は、*Herbaspirillum* 属の可能性があるので生化学的検査による同定には注意が必要である。

Key words: *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum* spp., グラム陰性らせん菌, 菌血症

序 文

Herbaspirillum 属はグラム陰性の湾曲した桿菌で、土壌や水などの環境に生息している。病原性の低い日和見菌とされているが、稀に人への感染を起こし、嚢胞性線維症患者や免疫抑制中の癌患者などへの感染が報告されている^{1)~3)}。今回我々は *Herbaspirillum seropedicae* による菌血症を経験したが、本邦での文献による報告例がないので、得られた細菌学的特徴と併せて報告する。

症 例

患者：80 歳代、女性

主訴：発熱、呼吸困難

患者背景：ADL は自立している。強皮症、強皮症関連間質性肺炎のためブレドニゾロン 10 mg 使用し、在宅酸素療法を受けていた。そのほか 2 型糖尿病や心不全がある。

来院時身体所見：体温 37.7℃、血圧 224/107 mmHg、心拍数 103 回/分、呼吸数 28 回、SpO₂ 96% (酸素 3 L)。意識レベル低下、チアノーゼあり。Table 1 に血液・生化学検査所見を示す。胸部 CT では既知の間質性肺炎像と新規の透過性低下を両側下葉優位に認めた。

臨床経過：入院 2 日前に誤嚥のエピソードがあり、入院当日朝から発熱、酸素化低下のため他院を受診した。誤嚥を契機とした間質性肺炎の急性増悪が疑われ、当院へ紹介され呼吸器科入院となった。入院当日から sulbactam/ampicillin

(SBT/ABPC) による治療が開始され、データは改善傾向であった。入院時の血液培養から *H. seropedicae* が検出されたが、抗菌薬の変更はなく継続された。入院 2 日目に再度提出された血液培養 2 セットは全て陰性で、入院 8 日目で抗菌薬終了し、その後再燃なく入院 19 日目に退院となった。

微生物学的検査：入院時に血液培養 2 セット、喀痰培養、尿培養が提出された。喀痰培養からは常在菌のみで *H. seropedicae* は検出されず、尿培養は陰性であった。鼻咽頭ぬぐい液で Film Array 呼吸器パネル 2.1 (バイオメリュージャパン) による検査も行われたが、いずれも検出しなかった。血液培養は 23F 好気用レズンボトルおよび 21F 溶血タイプ嫌気用ボトルを使用して、BACTEC FX (日本ベクトン・ディッキンソン) で培養を実施した。培養約 36 時間で好気ボトルのみ (2 セットのうち 2 本) 陽性となり、グラム染色でグラム陰性の湾曲した桿菌がみられた (Figure 1)。塗抹の形態から *Vibrio* 属も推定されたが、らせん状にも見える点や患者の病態と合わないことから他の菌の可能性も含めて主治医に報告した。分離培養は羊血液寒天/マッコンキー分画培地 (羊血寒/マッコンキー、島津ダイアグノスティクス)、ドリガルスキー改良寒天培地 (BTB、島津ダイアグノスティクス)、TCBS 寒天培地 (TCBS、栄研化学) を使用し、35℃ 好気条件下で行った。培養 24 時間で羊血寒と BTB に発育し、48 時間でコロニーの形成を認めた (Figure 2)。マッコンキーと TCBS には 48 時間後も発育を認めなかった。発育した菌株は乳糖非分解、オキシダーゼ陽性であった。培養 24 時間で TCBS に発育を認めず、この時点で *Vibrio* 属ではなく稀なブドウ糖非発酵菌の可能性を主治医に伝えた。追加試験としてマッコンキーでの発育の確認のため、他メーカーのマッコンキー (ポアメディアマッコンキー寒天培地 (栄研化学)) を使用し、24 時間でわずかに発育し、48 時間でコロニー

著者連絡先：(〒861-4193) 熊本県熊本市南区近見 5 丁目 3 番 1 号
社会福祉法人恩賜財団済生会熊本病院中央検査部
大吉かおり
TEL: 096-351-8000
E-mail: kaori-oyoshi@saiseikaikumamoto.jp

を形成することを確認した(Figure 3)。同定検査は DxM1096 マイクロスキャン WalkAway (WalkAway, ベックマン・コールター) および API20NE (バイオメリュージャパン) で行い, MALDI バイオタイパー (ブルカー) による質量分析も行った (Table 2)。今回得られた *H. seropedicae* の生化学的性状を過去の報告例と共に示す (Table 3)。最終的な菌種の確定は, 16S rRNA 遺伝子塩基配列の相同性により *H. seropedicae* (1475/1476, 99%) と同定された。薬剤感受性検査は添付文書に従い, ドライプレート '栄研' DP35 (栄研化学) で行った (Table 4)。

考 察

Herbaspirillum 属は植物の茎や根から分離される環境菌であり, 1986 年に初めて報告されたブドウ糖非発酵菌である⁴⁾。井戸水などの地下水からも発見されている⁵⁾。グラム陰性の湾曲またはらせん状の桿菌で, 偏性好気性, 極性鞭毛を

持ち運動性がある。乳糖を発酵せず, 窒素を含まない培地では発育しない⁵⁾⁶⁾。培養 24 時間で羊血寒と BTB に発育良好であったが, マッコンキーには発育不良であることが自験例で確認された。マッコンキー (ベクトン・ディッキンソン) に 24 時間培養で発育したとの報告もあり⁸⁾, メーカーによって発育に差がある可能性がある。病原性のない日和見菌とされてきたが, 海外では *Herbaspirillum* 属による肺炎に続発する敗血症などが報告されている^{7)~9)}。死亡率は低く, 症例の多くは良好な治療経過となっている¹⁰⁾。薬剤感受性結果も良好であり, 多剤耐性の報告例はない。Spilker らは嚢胞性線維症患者の喀痰から *Herbaspirillum* 属が検出されたが, その患者の多くは一時的な気道定着であったと報告しており²⁾, 喀痰のみからの検出時は原因菌かどうかの判断が必要であると考えられる。過去に報告された症例では癌が主な基礎疾患であり, 菌血症の主な感染源は呼吸器であった¹⁰⁾。免疫抑制状態の患者は感染のリスクが高いと考えられる。自験例もステロイド剤を使用しており, 免疫抑制状態であった。また, *H. seropedicae* は肺疾患がある場合に重度の肺炎を引き起こす可能性がある⁸⁾と報告されている。自験例も呼吸器症状がみられ, 肺炎に続発する菌血症が疑われたが, 喀痰検体から *H. seropedicae* は検出されなかった。*Herbaspirillum* 属の感染経路としては農場や池などの環境からの感染が報告されているが³⁾, 不明な点も多い。自験例でも患者が土などに触れる機会はなく, 入院約 1 週間前から泊まりに来ていた孫が猫を連れてきていたとのエピソードのみで感染経路については不明である。また, *Herbaspirillum* 属は生化学的検査による同定では *B. cepacia* complex や *R. pickettii* と誤同定されるが, 薬剤感受性が良好な点から *B. cepacia* complex などとの鑑別が可能と報告されている²⁾³⁾。今回使用した WalkAway および API20NE の同定可能菌種に *Herbaspirillum* 属は含まれていないため, WalkAway による同定では *R. pickettii* と同定されたが, 同定確率は低く, β ラクタム薬に感受性であった。グラム染色で湾曲し, *Campylobacter* 属よりも大型のらせん菌に見える点と感受性結果より, *R. pickettii* ではないことはこの時点で鑑別可能であった。Bloise らは *Herbaspirillum* 属が β ラクタム薬に感受性で

Table 1. Laboratory findings on admission

Biochemistry		Hematology and Coagulation	
TP	6.1 g/dL	WBC	7.4×10^3 / μ L
ALB	3.3 g/dL	RBC	3.98×10^6 / μ L
BUN	13.3 mg/dL	Hb	13.2 g/dL
Cre	0.68 mg/dL	Hct	38.8 %
AST	55 IU/L	PLT	66×10^3 / μ L
ALT	29 IU/L		
LD	413 IU/L	Neut	83.9 %
T-Bil	1.7 mg/dL	Lymph	12.5 %
CPK	1200 IU/L	Mono	3.0 %
CRP	23.52 mg/dL	Eosino	0.3 %
Procalcitonin	0.35 ng/ mL	Baso	0.3 %
β -Dglucan	<5.0 pg/mL		
Na	136 mmol/L	PT	19.2 sec
K	4.25 mmol/L	APTT	51.7 sec
Cl	102 mmol/L	Fib	529 mg/dL
GLU	132 mg/dL	FDP	7.1 μ g/mL
γ -GTP	53 IU/L	D-dimer	2.7 μ g/mL

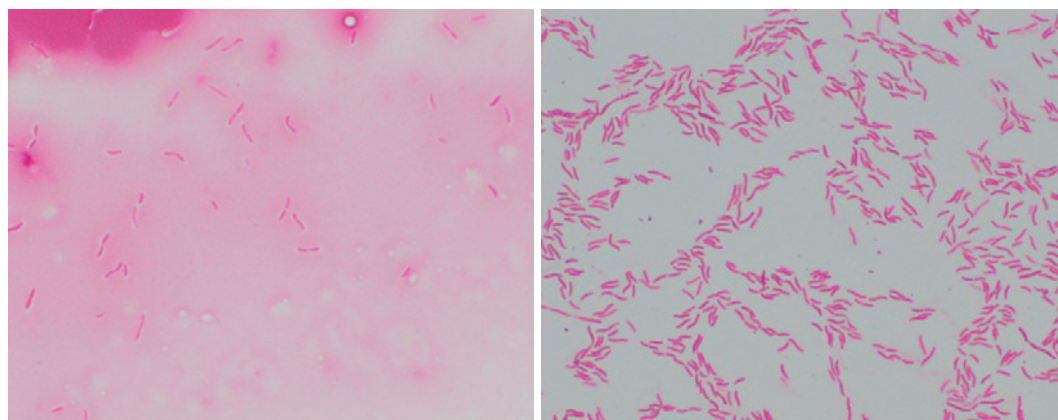


Figure 1. Gram stain of *Herbaspirillum seropedicae*
Left: Gram stain of blood culture $\times 1000$
Right: Gram stain of colony $\times 1000$ (24-hour incubation at 35°C)

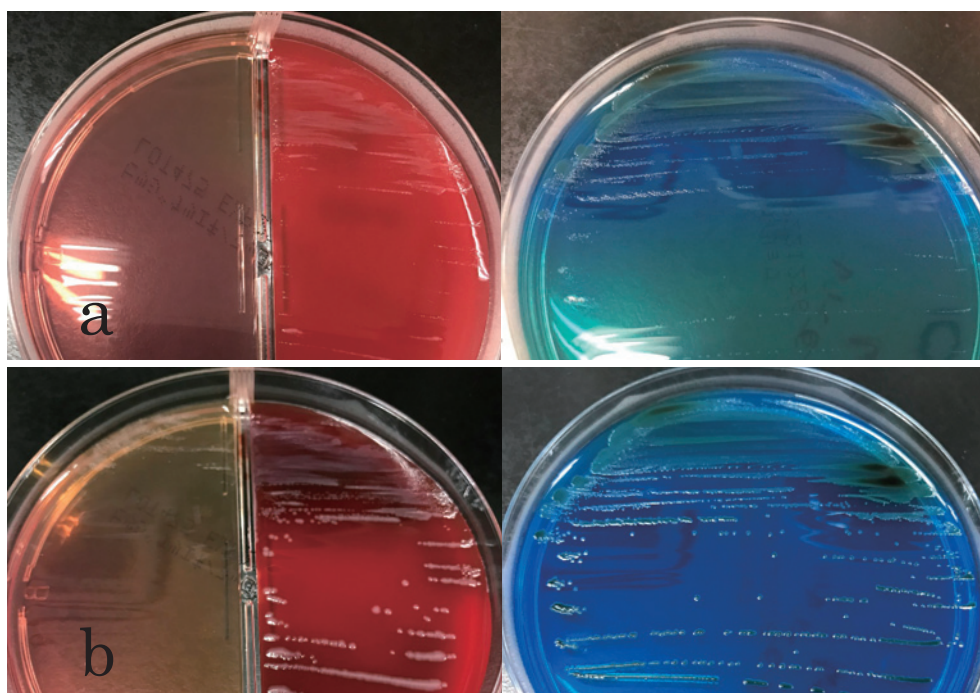


Figure 2. Differences in colonies according to incubation time

- a: Colonies on MacConkey agar medium, 5% sheep blood agar medium and BTB agar medium after 24-hour incubation at 35°C
 b: Colonies on MacConkey agar medium, 5% sheep blood agar medium and BTB agar medium after 48-hour incubation at 35°C

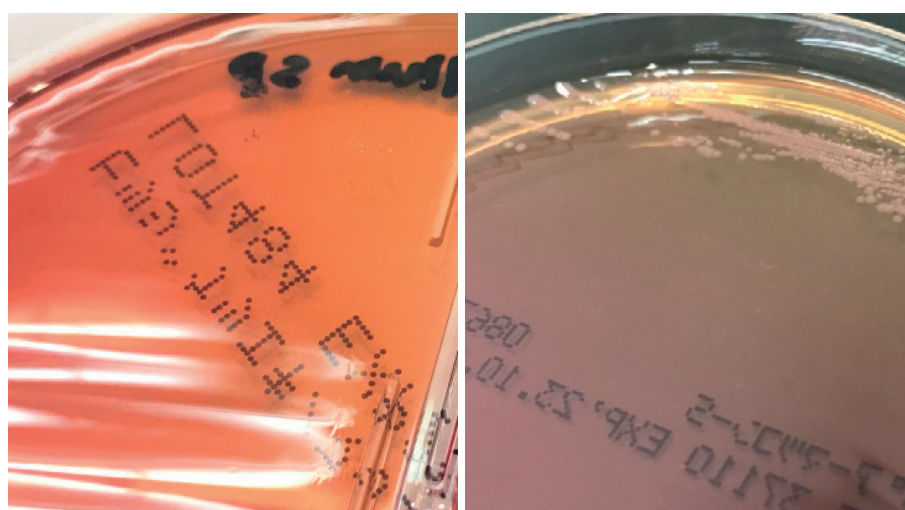


Figure 3. Differences in development on MacConkey by manufacturer (48-hour incubation at 35°C)

Left: Shimadzu Diagnostics Co., Ltd

Right: Eiken Chemical Co., Ltd

colistin (CL) に耐性であり, tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC) または ceftazidime (CAZ) が第一選択薬となる可能性を報告している¹⁰⁾。自験例も β ラクタム薬に感受性かつ CL に耐性であった。SBT/ABPC で良好な治療経過であり, Blois ら¹⁰⁾ の報告より, SBT/ABPC の MIC 値は $\leq 4/2$, $\leq 8/4$ と低いことから効果があった可能性が考えられる。しかし, 今回は SBT/ABPC の測定を行っていない点や, SBT/ABPC

は誤嚥性肺炎に対する治療としては妥当であったことから軽快傾向となり, 菌血症に関しては全身状態の改善に伴って自然経過で改善した可能性も考えられ, 詳細は不明である。質量分析装置による同定でも種の特特定までは出来なかったが, 特徴的な菌形態と感受性結果より *Herbaspirillum* 属であることは推定可能であった。Suwantararat⁵⁾ らは質量分析により *H. seropedicae* を *Herbaspirillum huttiense* と誤同定したこ

Table 2. Results of microbiological identification

WalkAway DxM1096	
<i>Ralstonia pickettii</i>	86.3%
<i>Ochrobactum anthropi</i>	8.4%
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	4.4%
API20NE	
<i>Ralstonia pickettii</i>	47.3%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	21.3%
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	19.4%
<i>Ochrobactum anthropi</i>	4.9%
MALDI biotyper	
<i>Herbaspirillum huttiense</i>	score1.99
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	score1.94
<i>Herbaspirillum aquaticum</i>	score1.93
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	score1.86

Table 3. Biochemical characteristics of *Herbaspirillum seropedicae*

	This case's isolate	Johns Hopkins's isolate ⁸⁾	Tan reference's isolate ⁸⁾
Indole	—	—	—
Motility	N/A ^{*2}	+	+
Maltose	N/A ^{*2}	—	—
Xylose	N/A ^{*2}	+	N/A ^{*2}
Arginine	—	+	N/A ^{*2}
Esculin	—	—	N/A ^{*2}
42°C	N/A ^{*2}	+	+
Oxidase	+	+	+
Urease	+	+	+
Nitrate	+	—	—
Sucrose	—	—	—
Glucose	—	—	—
Fructose	N/A ^{*2}	+	N/A ^{*2}
Lysine	—	—	N/A ^{*2}
ONPG ^{*1}	+	+	N/A ^{*2}
Citrate	+	+	N/A ^{*2}

*1 ortho-Nitrophenyl-β-galactoside

*2 not applicable

とを報告しており、質量分析での種の特定は難しく、種の特定には 16S rRNA 遺伝子解析が必要であると思われる。癌患者や免疫抑制状態の患者から湾曲したブドウ糖非発酵菌が検出され、生化学的検査で β ラクタム薬に感受性かつ CL 耐性の *B. cepacia* complex や *R. pickettii* と同定された場合、*Herbaspirillum* 属の可能性があるので注意が必要である。

謝辞：本菌の遺伝子同定の実施および分析にあたり、BCKK マルディミックスの会代表世話人 大楠清文先生（東京医科大学 微生物学分野 教授）に感謝の意を表します。

利益相反：申告すべき利益相反なし

Table 4. Results of antimicrobial susceptibility test

Antimicrobials	MIC (μg/mL)
PIPC	< = 1
TAZ/PIPC	< = 4
CAZ	< = 0.5
CFPM	< = 0.5
CZOP	< = 0.5
AZT	8
IPM	< = 0.25
MEPM	< = 0.25
DRPM	< = 0.25
GM	2
AMK	8
TOB	1
MINO	< = 0.25
ST	< = 19/1
CPFX	1
LVFX	2
CL	> 8
FOM	> 128

文 献

- 1) Coenye, T., J. Goris, T. Spilker, et al. 2002. Characterization of unusual bacteria isolated from respiratory secretions of cystic fibrosis patients and description of *Inquilinus limosus* gen. nov., sp. nov. *Journal of Clinical Microbiology* 40 (6): 2062-2069.
- 2) Spilker, T., A. Z. Uluer, F. M. Marty, et al. 2008. Recovery of *Herbaspirillum* species from persons with cystic fibrosis. *Journal of Clinical Microbiology* 46 (8): 2774-2777.
- 3) Ziga, E. D., T. Druley, C.-A. D. Burnham. 2010. *Herbaspirillum* species bacteremia in a pediatric oncology patient. *Journal of Clinical Microbiology* 48 (11): 4320-4321.
- 4) Baldani, J. I., Baldini V. L., Seldin L., et al. 1986. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. *International Journal of Systematic. Bacteriology* 36: 86-93.
- 5) Baldani, JI, B Pot, G Kirchhof, et al. 1996. Emended description of *Herbaspirillum*; inclusion of [*Pseudomonas*] *rubrisubalbicans*, a milk plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. nov.; and classification of a group of clinical isolates (EF group 1) as *Herbaspirillum* species 3. *International Journal of Systematic. Bacteriology* 46: 802-810.
- 6) Dobritsa, A.P., M. Reddy, M. Samadpour. 2010. Reclassification of *Herbaspirillum putei* as a later heterotypic synonym of *Herbaspirillum huttiense*, with the description of *H. huttiense* subsp. *huttiense* subsp. nov. and *H. huttiense* subsp. *putei* subsp. nov., comb. nov., and description of *Herbaspirillum aquaticum* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 60: 1418-1426.
- 7) Dhital, R., P. Anish, B. Nidrit, et al. 2020. *Herbaspirillum* In-

- fection in Humans: A Case Report and Review of Literature. Case Reports in Infectious Diseases 2020: 9545243. Published online 2020 Feb 19.
- 8) Suwantararat, N., L. T. L. Adams, M. Romagnoli, et al. 2015. Fatal case of *Herbaspirillum seropedicae* bacteremia secondary to pneumonia in an end-stage renal disease patient with multiple myeloma. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 82 (4): 331-333.
- 9) Regunath, H., J. Kimball, L. P. Smith, et al. 2015. Severe community-acquired pneumonia with bacteremia caused by *Herbaspirillum aquaticum* or *Herbaspirillum huttiense* in an immune-competent adult. Journal of Clinical Microbiology 53 (9): 3086-3088.
- 10) Bloise, I, G V Guedez-López, M Tejedor-Rodríguez, et al. 2021. Bloodstream infection due to *Herbaspirillum* sp.: case series and review of literature. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 40 (4): 779-785.

A case of *Herbaspirillum seropedicae* bacteremia diagnosed by 16S rRNA gene analysis

Kaori Oyoshi¹⁾, Tomoka Sawa¹⁾, Akino Kamei¹⁾, Reika Ejima¹⁾, Yuki Iwanaga¹⁾, Miyuki Moriguchi¹⁾, Hiroki Marutsuka¹⁾, Kenta Yoshida²⁾, Yuko Yasuda³⁾, Kodai Kawamura^{2) 3)}

¹⁾Department of Laboratory, Saiseikaikumamoto Hospital

²⁾Department of Total Quality Management, Saiseikaikumamoto Hospital

³⁾Division of Respiratory Medicine, Saiseikaikumamoto Hospital

Herein we describe a rare case of sepsis in Japan caused by *Herbaspirillum seropedicae*. The patient was a Japanese woman in her 80s. She was referred to our hospital for evaluation of an acute exacerbation of interstitial pneumonia. Blood cultures obtained on admission revealed Gram-negative curved bacilli, which were identified as *H. seropedicae* based on 16S rRNA gene analysis. *Herbaspirillum* spp. can be misidentified as *Burkholderia cepacia* complex or *Ralstonia pickettii* using biochemical tests. However, the characteristic curved body morphology, susceptibility to β -lactams and resistance to colistin, and genetic analysis allowed identification. If a glucose non-fermentative bacterium which is curved body morphology and susceptible to most antimicrobial agents is detected in a cancer or immunosuppressed patient, it may belong to *Herbaspirillum* spp., so care should be taken in identifying it using biochemical tests.