

急性リンパ性白血病患者の血液培養から検出された *Shewanella algae* について

知念 志依那, 上間 寛嗣, 曲瀬川 裕子

医療技術部 第一検査課

要 旨

Shewanella 属は、主に海洋などの自然環境に分布しているグラム陰性桿菌（GNR）である。今回、血液疾患患者の血液培養から *Shewanella algae* が分離された症例を経験した。症例は、80代男性で急性白血病疑いにて当院に入院となった。入院25日目に採取された血液培養より GNR が検出され、*Shewanella putrefaciens* と同定された。菌種検索を行い、ヒツジ血液寒天培地の溶血の有無に違いがみられたことから同定機器のデータベースの確認を行い、*Shewanella* 属は *S. putrefaciens* のみの登録であった。そのため *Shewanella* spp. と中間報告をし、菌種鑑別のため追加検査を行った。その結果は 42℃ で発育を認め、ヒツジ血液寒天培地 72 時間後の β 溶血、オキシダーゼ陽性、及び、TSI 寒天培地での硫化水素産生を認めた。以上の生化学性状から *S. algae* が推定され、最終的に質量分析法により *S. algae* と同定された。同定機器によっては、データベースが不十分である場合があり、今後も稀な菌が分離された場合は、生化学性状や分子生物学的方法の結果から起炎菌同定を行う必要がある。

Key Words : *Shewanella algae*, *Shewanella* 属

序文

Shewanella 属は、通性嫌気性のグラム陰性桿菌でオキシダーゼ陽性ブドウ糖非発酵菌において唯一硫化水素を産生する菌種である。主に海洋に存在し、淡水、土壌、油田などの自然環境中にも広く分布している¹⁾。*Shewanella* 属は現在までに約 50 種以上が登録²⁾されており、1931年に Derby と Hammer らによって腐ったバターから *Shewanella putrefaciens* が初めて分離された。当初は *Achromobacter putrefaciens* と名付けられ³⁾、その後 1941年に Long と Hammer らにより *Pseudomonas putrefaciens* とされ、次に *Alteromonas putrefaciens* と種名が変遷し、最終的に *Shewanella* 属とされた⁴⁾。*Shewanella* 属による感染症は、中耳炎⁵⁾、皮膚軟部組織感染症⁶⁾を始めとし、好中球減少症などを背景に発症した菌血症⁷⁾や骨髄炎⁸⁾、化膿性椎体椎間板炎⁹⁾などの重症感染症も報告

されている。

今回、入院中の血液疾患患者の血液培養から *S. algae* が分離された症例を経験したので報告する。

症例

患者：80歳代 男性

主訴：全身倦怠感

基礎疾患：糖尿病、てんかん

既往歴：陳旧性心筋梗塞、狭心症、胆嚢摘出

入院時身体所見：意識レベル I-1、体温 36.5℃、血圧 112/42mmHg、酸素飽和度 99% (room air)。その他に特記すべき所見はなかった。

臨床経過：約 2ヶ月前から全身倦怠感を主訴に他院を受診し、急性白血病疑いにて当院に紹介となった。入院 5日目に骨髄検査などの結果から急性リンパ性白血病と診断された。同日 38.7℃ の発熱のため血液培養 2セットが採取され、Ceftazidime (CAZ) 2g/day が開始された。入院 8日目に発熱の改善が認められなかったため更に 1セットが採取された。後日、採取された血液培養 3セット全てが 5日間の培養で陰

(令和元年 11月 2日 受理)

著者連絡先：知念志依那

(〒902-8588) 沖縄県那覇市与儀 1-3-1

沖縄赤十字病院 医療技術部 第一検査課

性となり、入院19日目で抗菌薬投与が終了となった。入院25日目に吐気と38.3℃の発熱が出現したことから、再度、血液培養2セットが採取された。後日、血液培養からGNRが検出されたことより Meropenem (MEPM) 1g/dayが開始されたが、入院29日目に意識レベルが低下し、入院30日目に死亡退院となった。

検査所見：陽性となった血液培養を採取した日の血液・生化学検査の結果を示す (Table.1)。CRPの検査依頼はなく、白血球数も異常高値だが、血液像目視で90%以上が芽球様細胞となっていた。この結果は急性リンパ性白血病によるものであり、血液データから細菌感染を疑うことは困難であった。

Table.1

<血液一般>		<生化学>	
WBC	999 × 10 ³ /μL	T-Bil	0.5 mg/dL
RBC	220 × 10 ⁶ /μL	AST	33 U/L
Hb	6.8 g/dL	ALT	27 U/L
Ht	20.2 %	LD	545 U/L
MCV	91.8 fL	ALP	170 U/L
Plt	3.4 × 10 ³ /μL	Glu	187 mg/dL
NRBC	0.2 %	BUN	9.7 mg/dL
<血液像目視>		Cre	0.54 mg/dL
St	0.5 %	Na	135 mEq/L
Seg	1.0 %	K	3.6 mEq/L
Lym	6.5 %	Cl	107 mEq/L
Mo	0.5 %	Ca	7.5 mg/dL
Eo	0.0 %	Mg	1.9 mg/dL
Baso	0.0 %	IP	2.8 mg/dL
芽球様細胞	91.5 %		

細菌学的検査

入院25日目に血液培養をBDバクテック23F好気用レンズボトルPとBDバクテック22F嫌気用レンズボトルPに2セット採取し、血液培養自動分析装置BACTEC FX (日本BD)で培養を行い、約16時間後に好気ボトル1本が陽性化した。血液培養液の生標本で直線的な運動性を認め、グラム染色の塗抹検査でやや湾曲したGNRが確認された。血液培養液をヒツジ血液寒天培地 (日本BD)、チョコレート寒天培地 (日本BD)に塗布し35℃の5%CO₂環境で培養し、BTB乳糖加寒天培地 (日本BD)を35℃の好気環境で培養した。ヒツジ血液寒天培地上では24時間で非溶血性の灰色コロニーが発育し、72時間後にはβ溶血を伴うムコイド状の褐色コロニーとなった (Fig.1)。生化学

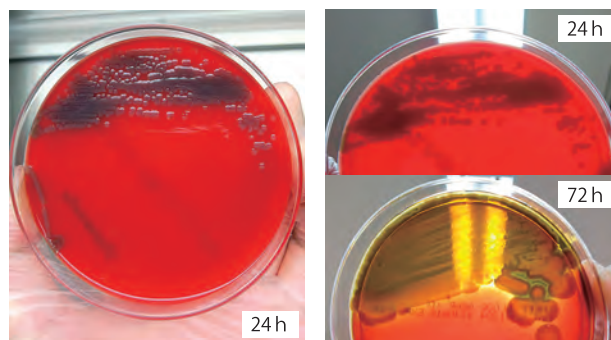


Fig.1 コロニー性状

学性状は、オキシダーゼテスト陽性、TSI寒天培地 (栄研化学)で斜面：赤色、高層部：赤色、硫化水素産生を示した。生化学性状から非発酵菌のグラム陰性桿菌が疑われ、Microscan Walk Away 96SI (ベックマン・コールター)の同定パネル Neg NF Combo 1Jにて *Shewanella putrefaciens* (同定確率99.9%)と同定された。当院では初めて同定された菌名であることから、文献検索を行った。*Shewanella*属は50菌種以上存在²⁾しており、ヒトへの感染が報告されているものは、主に *S. algae*と *S. putrefaciens*であった¹⁰⁾。Microscan Walk Away 96SIのデータベースの確認を行い、2016年時点でのデータベースには *Shewanella*属が *S. putrefaciens*の1菌種しか登録されておらず、菌種名までは確定できない事から *Shewanella species.*と中間報告を行った。*S. algae*が *S. putrefaciens*と誤同定されていた可能性があること報告¹¹⁾されていることから、*S. algae*と *S. putrefaciens*の鑑別のためにTable.2に基づいて追加試験を行った。結果は、42℃で発育を認め、ヒツジ血液寒天培地上での72時間後のβ溶血を示し、SS寒天培地での発育を認めた。これらの生化学性状から *S. algae*が推測された。その後、質量分析装置VITEK MS (シスメックス)にて *S. algae* (99%)と同定され、*S. algae*と最終報告をした。薬剤感受性測定は、Microscan Walk Away 96SIのNeg NF Combo 1Jを使用し、判定は米国のClinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)のM100-S22に従い、最小発育濃度 (MIC)を測定した (Table.2)。結果はAztreonam (AZT)、Piperacillin (PIPC)、Fosfomycin (FOM)に対するMICが高値を示し、カルバペネム系抗菌薬など、その他の抗菌薬はMICが低値であった。

Table.2 薬剤感受性試験

薬剤	MIC	薬剤	MIC
Amikacin(AMK)	<=8	Levofloxacin(LVFX)	<=0.5
Aztreonam(AZT)	>16	Meropenem(MEPM)	<=1
Ceftazidime(CAZ)	8	Minocycline(MINO)	<=2
Cefepime(CFPM)	8	Piperacillin(PIPC)	>64
Ciprofloxacin(CPFX)	<=0.25	SBT/CPZ	32
Cefozopran(CZOP)	<=4	ST	<=2
Fosfomycin(FOM)	>16	TAZ/PIPC	<=8
Gentamycin(GM)	<=2	Tobramycin(TOB)	<=2
Imipenem(IPM)	2		

考察

Shewanella 属は、グラム陰性のフィラメント状の桿菌で極単鞭毛を有しており¹²⁾、オキシダーゼテスト陽性、ブドウ糖非発酵菌において硫化水素を産生する菌種として知られている¹⁾。過去には *Pseudomonas* 属と誤同定されていたとの報告¹³⁾ もあり、今回の症例でも、血液培養液からのグラム染色像と直線的な運動性から *Pseudomonas* 属を疑った。グラム染色にて湾曲した GNR を認め、海産物の摂取歴や、海水暴露した可能性がある場合には、患者背景を考慮し *Shewanella* 属を疑う必要がある。その際は、TSI 寒天培地に接種し、硫化水素産生の有無などの生化学性状を確認することで、迅速かつ容易に *Shewanella* 属とそれ以外の非発酵菌との鑑別ができると考える。

Nozue らによると、臨床検体から分離される *Shewanella* 属は主に *S. algae*、*S. putrefaciens* の 2 菌種で、その中でも *S. putrefaciens* による感染症が多く報告されてきたが、ヒトの臨床検体より分離される *Shewanella* 属の大部分が *S. algae* と報告している¹⁰⁾。また、Khashe と Jonda らによると、ヒトから分離される *Shewanella* 属の主な菌種は *S. algae* (77%) であり、*S. putrefaciens* においては 89% がヒト以外から分離されたと報告されている¹⁴⁾。これらの理由としては、2 菌種の鑑別が困難であったことや、同定キットや自動同定機器のデータベースに *S. algae* が含まれていないことで、*S. putrefaciens* と誤同定された可能性が考えられる。今回の症例でも、Microscan Walk Away 96SI において *S. putrefaciens* (同定確率 99.9%) と同定されたが、コロニーの溶血の有無に違いがみられたことからデータベースを確認したところ、*S. algae* は登録されていなかった。また、*S. algae* が *S. putrefaciens* と同定されていた可能性があるとの報告¹¹⁾ があることから、菌種の鑑別のため追加検査を行った。2 菌種の鑑別としては、42℃ 発育、ヒツ

Table.3 菌種の鑑別点

	<i>S.putrefaciens</i>	<i>S.algae</i>		<i>S.putrefaciens</i>	<i>S.algae</i>
Motility	+	+	Indol production	-	-
Oxidase	+	+	Nitrate reduction	+	+
Catalase	+	+	H ₂ S (TSI)	+	+
Acidification of :			Growth at :		
Glucose	V	-	42°C	-	+
mannitol	-	-	0%NaCl	+	-
Growth on :			6 %NaCl	V	+
MacConkey	+	+	Haemolysis (sheep blood, 48h)	-	+
SS	-	+			
Citrate	-	-	DNase	+	+

V:Variable

ジ血液寒天培地の 48 時間後 β 溶血、SS 寒天培地の発育、塩濃度での発育の違いが挙げられる (Table.3)。本菌は、42℃ における発育があり、ヒツジ血液寒天培地上で 72 時間後の β 溶血、SS 寒天培地での発育があった。β 溶血するまでの時間に差があったが、それ以外の鑑別点は文献による *S. algae* と一致する結果であった。また、*S. algae* のデータベースが登録されている VITEK MS (シスメックス) での同定検査を行い、*S. algae* (同定確率 99.9%) と同定された。これらの結果から、*S. algae* と最終報告を行った。その後、質量分析装置 MALDI Biotyper (ブルカー) でも同定検査を行った。測定方法は、ターゲットプレートにコロニーを直接塗布した後、70%ギ酸を 1 μL 添加し乾燥させ、さらにマトリックス液を 1 μL 添加し乾燥させて測定した。MALDI Biotyper では Score Value が高い順に Matched Pattern により最大 10 の菌候補が挙げられる。今回の測定では、上位 3 種が *S. putrefaciens* CCM 2600 CCM (Score : 2.11)、*S. putrefaciens* CCM 2601 CCM (Score : 2.08)、*S. algae* DSM 9167T HAM (Score : 2.08) となった (Table.4)。Score Value も 2.0 以上のため信頼できる結果であったが、*S. putrefaciens* と *S. algae* の両方が挙げられているため、2 菌種の鑑別を MALDI Biotyper だけで行うのは困難だと考えら

Table.4

Rank(Quality)	Matched Pattern	Score Value
1 (+++)	<i>Shewanella putrefaciens</i> CCM 2600 CCM	2.11
2 (+++)	<i>Shewanella putrefaciens</i> CCM 2601 CCM	2.08
3 (+++)	<i>Shewanella algae</i> DSM 9167T HAM	2.08
4 (-)	<i>Aeromonas schubertii</i> CECT 4240T DSM	1.46
5 (-)	<i>Cryptococcus neoformans</i> 29 PSB	1.28
6 (-)	<i>Lactobacillus fermentum</i> DSM 20391 DSM	1.27
7 (-)	<i>Paenibacillus stellifer</i> DSM 14472T DSM	1.25
8 (-)	<i>Lactobacillus alimentarius</i> DSM 20181 DSM	1.24
9 (-)	<i>Staphylococcus cohnii</i> ssp <i>cohnii</i> DSM 20261 DSM	1.23
10 (-)	<i>Lactobacillus amylovorus</i> DSM 20532 DSM	1.23

れた。4～10種に挙げられたものは、Score Valueが1.5以下と低く信頼性に欠け、菌種名にバラつきがある結果となった。そのことから、遺伝子解析などの分子生物学的方法の結果だけでなく、生化学性状を確認することが鑑別において重要だったと考えられる。

薬剤感受性検査では、ペニシリン系や第一世代セファロsporin系抗菌薬に対し耐性があると報告されており¹⁾、今回の分離株は、ペニシリン系であるPIPCのMICが高値を示し、Cefazolin (CEZ) は高値を示さなかった。その他ではAZT, FOMに耐性を示した。カルバペネム系抗菌薬は感性であり、血液培養陽性後の抗菌薬治療にも問題はなかったと考えられる。しかし治療中にカルバペネム耐性株となり、治療に苦慮した症例も報告されている¹⁵⁾。このことから治療中も患者状態の変化に留意し、改善が認められない場合は血液培養を採取し、同菌が検出された際には薬剤感受性の経時的变化を確認する必要があると考えられる。

*S. algae*による感染症は中耳炎⁵⁾ や、皮膚軟部組織感染症⁶⁾ などがあり、菌血症などの重症感染症は稀とされている¹⁶⁾。感染経路としては、生魚の喫食により発症した症例⁹⁾ や、海水暴露⁶⁾ もしくは海に關係した職業に携わっていた背景をもつ患者が発症したとの報告¹⁶⁾ が多くみられるが、本症例の感染経路については不明であり、死亡原因は原疾患によるものであると診断された。しかし、*Shewanella* 属のように患者背景に特徴がある菌もいるため、それらを考慮することも起炎菌の推定に役立つと考えられる。日本には生魚を食べる食文化があり、沖縄のように暖かく、海に囲まれた地域では海水暴露の機会も多いので、今後も臨床検体から*Shewanella* 属が分離される可能性がある。

以上のことから、*Shewanella* 属などの稀な菌が分離された際は患者背景を考慮し、自施設で使用している自動同定機器および同定キットのデータベースを確認した上で、生化学性状や分子生物学的方法による同定を行うことが重要であると考えられた。また、文献などから得られる情報をもとに正しい鑑別、起炎菌同定へと繋げることが望ましいと考える。

文献

1) Holt HM, Gahrn-Hansen B, Bruun B : *shewanella algae* and *shewanella putrefaciens* : clinical

and microbiological and characteristics. Clin Microbiol Infect 2005 ; 11 : 347-52.

- 2) 木村浩, 水富一秋, 大田栄一, 他 : *shewanella haliotis* による壊死性軟部組織感染症, 敗血症の1例. 感染症学雑誌2019 ; 92 : 380-385.
- 3) Derby H, Hammer B : Bacteriology of butter. Part IV. Bacteriological studies on surface tainted butter. Iowa AgricExp Stn Res Bull. 1931 ; 145 : 389-416.
- 4) 山本浩二, 稲垣健二, 宮澤法子, 他 : *shewanella putrefaciens* による肺炎の一例. 医学検査2012 ; 61 : 49-53.
- 5) Holt HM, Sogaard P, Gahrn-Hansen B : Ear infection with *Shewanella algae* : a bacteriologic, clinical and epidemiologic study of 67 cases. Clin Microbiol Infect 1997 ; 3 : 329-334.
- 6) Dominguez H, Vogel BF, Gram L, et al. : *Shewanella algae* bacteremia in two patients with lower leg ulcers. Clin Infect Dis 1996 ; 22 : 1036-9.
- 7) Brink AJ, van Straten A, van Rensburg AJ : *Shewanella* (*Pseudomonas*) *putrefaciens* bacteremia. Clin Infect Dis 1995 ; 20 : 1327-32.
- 8) Botelho-Nevers E, Gouriet F, Rovey C, et al. : First case of osteomyelitis due to *Shewanella algae*. J Clin Microbiol 2005 ; 43 : 5388-5390.
- 9) 清水恒広, 松村康史 : 生魚の喫食後に発症した *Shewanella algae* 菌血症 / 化膿性椎体椎間板炎の1例. 感染症学雑誌2009 ; 83 : 553-556.
- 10) Nozue H, Hayashi T, Hashimoto Y, et al. : Isolation and characterization of *Shewanella algae* from human clinical specimens and emendation of the description of *S. algae* Simidu *et al.* 1990, 335. Int J Syst Bacteriol 1992 ; 42 : 628-34.
- 11) Dominguez H, Vogel BF, Gram L, et al. : *Shewanella algae* bacteremia in two patients with lower leg ulcers. Clin Infect Dis. 1996 ; 22 : 1036-1039.
- 12) 温井正博. 白金耳 *Shewanella* spp. 大阪府臨床検査技師会微生物研究班. <http://www.osaka-amt.or.jp/bukai/saikin/hakinji/hakkinjipdf/201007.pdf> 2020年10月1日現在.
- 13) Sharma KK, Kalawat U : Emerging infections : *Shewanella*-A Series of five cases, J Lab Physicians. 2010 ; 2 : 61-65.

- 14) Khashe, S, JM Janda. Biochemical and pathogenic properties of *Shewanella algae* and *Shewanella putrefaciens*. J Clin Microbiol 1998 ; 36 : 783-787.
- 15) Kim DM, Kang CI, Lee CS, Kim HB, et al. : Treatment failure due to emergence of resistance to carbapenem during therapy for *Shewanella algae* bacteremia. J Clin Microbiol 2006 ; 44 : 1172-4.
- 16) 金城正樹, 古謝幸恵, 知花淳梨, 他 : *Shewanella algae* による敗血症, 膿胸症例と分離株の性状について. 日本臨床微生物学雑誌 2017 ; 27 : 45-9.