

研究

血液培養から *Granulicatella adiacens* を検出した 1 例

- Nutritionally Variant Streptococci 分離に関する 1 考察 -

曾木 広信, 阿保 一茂, 牧 俊一, 林 陽子, 澤田 満佐子
森田 淑子, 長瀬 義孝, 山崎 堅一郎, 森 律子

さいたま赤十字病院 検査部

**A Case of Detected *Granulicatella adiacens* from Blood Culture
- A Discussion about Nutritionally Variant Streptococci Isolation -**

要旨

われわれは, Nutritionally variant Streptococci (NVS) による感染性心内膜炎の 1 例を経験した. NVS は, 主に口腔内に常在する細菌であるが, なかでも今回検出した *Granulicatella adiacens* は, 感染性心内膜炎に深く関与していることが示唆された. 通常分離に用いられる血液寒天培地には発育がみられないため, 検出が困難な細菌とされている. その特徴から, いわゆる culture negative endocarditis として報告されているケースが多いと考えられている. NVS による感染性心内膜炎では, 抗菌薬に対する耐性などにより, 難治性で再発や合併症も多いといわれている. 適切な抗菌薬選択においても, より早い段階で NVS の可能性を報告できるか否かが重要である. 今回, 我々は, NVS の確認検査として実施した satellitism test が, 早い段階での推定検査としても重要であることを認識した.

Hironobu SOKI, et al: ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa 44: 17-21, 2011 (2011.1.21 受理)

KEYWORDS

Satellitism test, NVS, *Granulicatella adiacens*, 感染性心内膜炎, Culture Negative Endocarditis

はじめに

Nutritionally variant Streptococci (NVS) は, 主に口腔内に常在する細菌で, 現在, *Abiotrophia difectivus*, *Granulicatella elegans*, *Granulicatella adiacens*, *Granulicatella paraadiacens*, *Granulicatella balaenopterae* の 5 菌種に分類されている. 通常分離に用いられる血液寒天培地には発育がみられないため, 検出が困難な細菌とされている¹⁾. NVS による症例は国内外において報告されているが, NVS の検出手順や迅速的な報告の重要性を示したものは散見されるにすぎない. 今回, われわれは感染性心

内膜炎と診断された患者の血液培養から NVS である *Granulicatella adiacens* (以下: *G. adiacens*) を検出した経験から若干の知見を得たのでその概要について報告する.

【症例】

(患者) 51 歳, 男性
(主訴) 発熱, 両側肩甲部痛, 労作時呼吸困難
(既往歴) 高 TG 血症
(家族歴) 特記事項なし
(生活歴) 喫煙(-), 飲酒(-), アレルギー(-), 輸血(-), 最近 1 年以内の抜歯(-)

（現病歴）

2008年1月中旬頃から発熱（39-40℃台）を生じるようになり近医を受診，解熱剤・抗生剤（詳細不明）を処方された．内服中は解熱するが，内服中止による再燃を繰り返した．3月21日当院内科外来を受診，膠原病などの精査を行う方針となった．労作時呼吸困難も生じるようになり，4月1日内科入院となった．その後，心雑音を聴取したため心エコーを施行したところ，僧房弁に vegetation 様エコーを認め感染性心内膜炎の疑いで4月2日に当院循環器科に転科となった．尚，最近1年間は抜歯などの歯科処置や医療行為は受けておらず明らかな誘引は認められなかった．

（検査所見）

入院時の検査において白血球数やCRP上昇などの炎症所見が認められた（図1）．心エコーにおいて僧房弁後尖(P1-P2)に12mm大の可動性に富む vegetation 様エコーを確認した（図2）．4月1日，4月2日に採取した血液培養5セットすべてから *G. adiacens* を検出した．

【細菌学的検査】

血液培養自動分析装置 BACTEC 9120（日本ベクトン・ディッキンソン株式会社：BD）にて陽性を示したボトルから培養液を採取し，そのグラム染色性状を担当医に報告した．グラム染色では染色性に乏しく，陽性や陰性が混在する不定形な細菌が観察された（図3）．口腔内の常在菌や数種類の菌による混合感染も視野に入れ検査を進めた．サブカルチャーには，トリプチケース ソイ II 5%



図2 入院時のエコー：僧房弁に vegetation 様エコーを認める

生化学		末梢血		胸部レントゲン	
TP	7.0g/dl	WBC	14930/μl	・異常所見なし	
Alb	3.4g/dl	Stab	0%	・両側CPA sharp	
BUN	4mg/dl	Seg	79%	・肺野 異常陰影なし	
Cr	0.7mg/dl	Ly	14.9%		
UA	3.4mg/dl	Mo	5.8%	心電図	
Na	138mEq/l	Eo	0%	・sinus rhythm	
K	4.0mEq/l	Ba	0.3%	・左房負荷なし	
Cl	100mEq/l	RBC	486 × 10 ⁶ /μl	心エコー	
LDH	217IU/l	Hb	13.5/dl	(M弁)	
AST	24IU/l	Ht	40.6%	・ severe MR	
ALT	19IU/l	凝固		・ M弁後尖(P1-P2)に12mm大の可動性に富むvegetation様echo(+)	
γ-GTP	161IU/l	APTT	30.7sec	その他	
ALP	366IU/l	Fib	722mg/dl	ESR	52mm(1hr)
CK	58IU/l	FDP	5μg/ml	CRP	7.6mg/dl
T-Bil	0.5mg/dl	D-dimer	1.7μg/ml	抗核抗体	40倍未満
Amy	53IU/l	血液培養		PR3-ANCA	(-)
T-cho	125mg/dl	4/1 2set から		MPO-ANCA	(-)
TG	340mg/dl	Granulicatella adiacens		抗ミトコンドリア抗体	(-)
Glu	126mg/dl	を検出		IC	(-)
TTT	24.4U	4/2 3set から		MMP-3	165
ZTT	18.9U	Granulicatella adiacens		sIL-2R	2450
フェリチン	142ng/ml	を検出			
IgG	1221g/dl				
IgM	308g/dl				
IgA	174g/dl				
BNP	14.4pg/ml				

図1 入院時検査所見

ヒツジ血液寒天培地 (BD), BTB 乳糖加寒天培地 (BD), チョコレート寒天培地 (極東製薬工業株式会社: 極東), ブルセラ HK 寒天培地 (極東) を用い、トリプチケースソイ II 5% ヒツジ血液寒天培地とチョコレート寒天培地は炭酸ガス培養をおこなった。48 時間嫌気培養後のブルセラ HK 寒天培地には小集落が, チョコレート寒天培地には極微小の集落がそれぞれ観察されたが, 血液寒天培地, BTB 乳糖加寒天培地には発育が認められなかった。発育した単一集落のグラム染色では, 培養液からの直接塗抹に比べ染色性の良好なグラム陽性の連鎖状球菌および桿菌が観察された(図 4)。おそらく不定形の形態を示す嫌気性菌あるいは発育の極めて悪い *Streptococcus* 属と考え, ラピッド ID32 ストレップ アピ および ラピッド ID32 A アピ (シスメックス・ビオメリユー) を用いて同定検査を実施した。ラピッド ID32 A アピでは同定不能であったが, ラピッド ID32 ストレップ アピで *G. adiacens* (旧菌名: *Abiotrophia adiacens*) との同定結果を得たため, 追加試験として Satellitism test を実施し衛星現象を確認した¹⁾²⁾³⁾ (図 5)。本菌の最終同定は順天堂大学感染制御科学・細菌学菊池賢先生に依頼し *rpoB* - PCR - direct sequence による遺伝子解析から *G. adiacens* であることを確認した。薬剤感受性試験は, 薬剤感受性パネル MICro FAST シリーズ ストレプト MICro FAST 3J(シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社: シーメンス)において実施したが発育不良であった。

【考察】

NVS は, 1961年 Frenkel らによって感染性心内膜炎患者の血液培養から特殊な栄養要求を示し, 他の菌の周囲に衛星現象として発育する栄養要求性連鎖球菌として最初に報告された⁴⁾。NVS は, 1989年に Bouvet らによって *Streptococcus adjacens* と *Streptococcus difectivus* の 2 菌種とすることが提唱された⁵⁾。その後, Kawamura ら, Roggenkamp ら, Matthew らによってそれぞれ追加改定され⁶⁾⁷⁾⁸⁾。現在は, *Abiotrophia difectivus*, *Granulicatella elegans*, *Granulicatella adiacens*, *Granulicatella paraadiacens*,

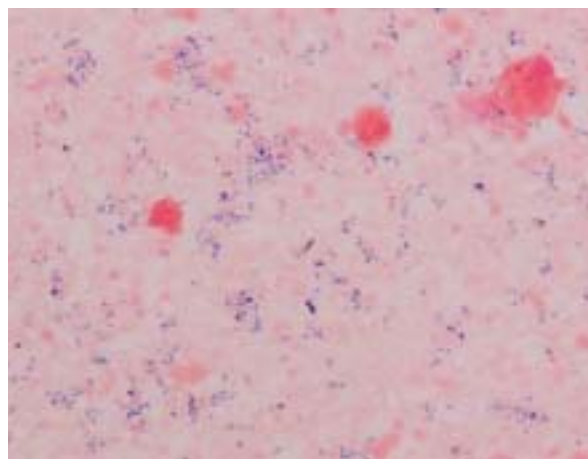


図3 血液培養ボトルからのグラム染色像 (×1,000)

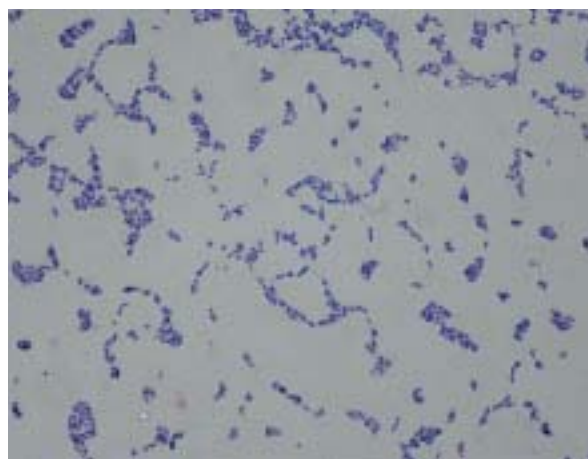


図4 継体培養後のグラム染色像 (×1,000)



図5 Satellitism test : ブドウ球菌の周囲に本菌の発育を認める

Granulicatella balaenopterae の 5 菌種に分類されている。

欧米では, 感染性心内膜炎から分離された *viridans* 型連鎖球菌のおよそ 5~10% が *G. adiacens* を含む NVS によるものであった

との報告がある⁹⁾¹⁰⁾. 国内においては、検出が稀な細菌とされており、いわゆる culture negative endocarditis として報告されているケースが多いと考えられている.

岡田は、*G. adiacens* がフィブロネクチンに対する親和性から心損傷部に定着する能力が高いことを実験的に明らかにしている¹¹⁾. 今回の症例においても、僧房弁後尖 (P1-P2) に 12 mm 大の非常に大きな可動性に富む vegetation 様エコーが確認されており、*G. adiacens* が感染性心内膜炎に深く関与していることが示唆された.

NVS に対する治療薬は様々検討されているが、菊池らは、NVS の中には benzylpenicillin に tolerance 耐性株があることを報告している¹²⁾. また、この tolerance 耐性株は in vitro 殺菌曲線による benzylpenicillin と gentamicin の相乗効果はなかったと示している. 現在、NVS に対する治療の第一選択薬は benzylpenicillin + gentamicin, 第二選択薬は vancomycin が推奨されているが¹³⁾, 前者の 2 薬剤併用においては、治療効果が期待できないこともあると考えられる. 日常検査に用いている薬剤感受性パネルでは発育不良となることもあり、症例によっては抗菌薬の選択には難渋することも考えられ、より早い段階で NVS の可能性を報告できるか否かは大変重要であると考えられる.

NVS は、特殊な栄養要求をするため一般的に分離培地として用いられている血液寒天培地には発育が認められない. そのため、嫌気性菌として報告されたり、発育不可とされることがしばしばあると考えられる. したがって、感染性心内膜炎が疑われる患者の血液培養において、直接塗沫からグラム染色性に乏しく、陽性や陰性が混在する不定形な細菌が確認された場合には、まず NVS を疑うべきである. その時点で Satellitism test により衛星現象の有無を確認することが重要である. NVS における感染性心内膜炎では、早期における適切な抗菌薬の選択が臨床上良好な回復率と相関すると考えられ、NVS であるか否かは治療方針を左右する重要な情報となることを認識しておく必要がある. したがって、より早い段階で NVS の可能性を報告できるか否かが鍵となる.

【結語】

NVS における感染性心内膜炎の 1 例を経験した. NVS は感染性心内膜炎に深く関与していることが示唆されたが、その特徴からいわゆる culture negative endocarditis として報告されているケースが多いと考えられ、Satellitism test が NVS の確認検査としてだけでなく、早期推定検査としても重要であることを認識した. また、NVS による感染性心内膜炎では抗菌薬に対する耐性などにより、難治性で再発や合併症も多いといわれており、適切な抗菌薬選択においてもより早い段階で NVS の可能性を報告できるか否かが鍵となる.

謝辞 本菌の PCR による同定に御協力いただいた、順天堂大学感染制御科学・細菌学 菊池賢先生に深謝いたします. また、本患者に関する情報を提供していただいた、さいたま赤十字病院循環器科根木謙医師、呼吸器内科小田智三医師、生理機能検査室磯山公一技師に深謝いたします.

本稿の要旨は第 38 回 埼玉県医学検査学会 (2008 年 11 月:さいたま市)にて発表した.

【文献】

- 1) 佐藤智明 : 私が出会った微生物検査症例 *Abiotrophia* sp. の分離経験, *Modarn Media*, 51(6) : 145-148, 2005.
- 2) Richard R Facklam, John A Washington II : *Streptococcus* and Related Catalase-Negative Gram-Positive Cocci, *Manual of Clinical Microbiology FIFTH EDITION*, 249-250, Albart Balows *et al.* ed. American Society for microbiology, Washington DC, 1991
- 3) Kathryn L Ruoff : *Streptococcus*, *Manual of Clinical Microbiology SIXTH EDITION*, 303-304, Patrick R Murray *et al.* ed. American Society for microbiology, Washington DC, 1995
- 4) Frenkel A, Hirsh W : Spontaneous development of L-forms of streptococci requiring secretions of other bacteria or sulphhydryl compound for normal

- growth, *Nature (London)* . , 191 : 728-730, 1961.
- 5) Bouvet A et al. : *Streptococcus defectivas* sp. nov. and *Streptococcus ajacens* sp. nov., nutritionally variant streptococci from human clinical specimens, *Int J Syst Bacteriol.* , 39 : 290-294, 1989.
- 6) Kawamura Y et al. : Transfer of *Streptococcus adjacens* and *Streptococcus defectivas* to *Abiotrophia* gen. nov. as *Abiotrophia adjacens* comb. nov. and *Abiotrophia defectivas* comb. nov. , respectively, *Int J Syst Bacteriol.* , 45 : 798-803, 1995.
- 7) Roggenkamp A et al. : *Abiotrophia elegans* sp. nov. , a possible pathogen in patients with culture-negative endocarditis, *J Clin Microbiol.* , 36 : 100-104, 1998.
- 8) Matthew D Collins, Paul A Lawson : The genus *Abiotrophia* (Kawamura et al.) is not monophyletic : proposal of *Granulicatella* gen. nov. , *Granulicatella adiacens* comb. nov. , *Granulicatella elegans* comb. nov. and *Granulicatella balaenopterae* comb. nov. , *International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology* , 50 : 365-369, 2000.
- 9) Peterson D E et al. : Media-dependent subculture of nutritionally variant streptococci, *Am. J. Med.* , 4 : 634-636, 1981.
- 10) Wilson W R , J E Geraci : Treatment of streptococcal infective endocarditis, *Am. J. Med.* , 78 : 128-137, 1985.
- 11) 岡田康子 : *Abiotrophia* 属の実験心内膜炎誘発能とフィブロネクチン結合能, *口腔衛生学雑誌*, 49(1) : 79-92, 1999.
- 12) 菊池賢ほか : Nutritionally variant streptococci による感染性心内膜炎の細胞学および臨床的検討, *感染症学誌*, 68(7) : 830-836, 1994.
- 13) David N Gilbert, et al : 日本語版サンフォード感染症治療ガイド 2009, 第 39 版, 46-47, ライフサイエンス出版株式会社, 東京, 2009.
-