

[症 例]

Neisseria elongata 菌血症の1例

室谷真紀子¹⁾・大塚喜人^{1,4)}・波多宏幸⁴⁾・津端貴子¹⁾・近江亜矢子¹⁾
 舩尾正俊²⁾・中野雅昭³⁾・河村好章⁴⁾・江崎孝行⁴⁾

¹⁾ 社会保険中央総合病院 臨床検査部

²⁾ 社会保険中央総合病院 循環器内科

³⁾ 社会保険中央総合病院 歯科

⁴⁾ 岐阜大学大学院医学研究科 微生物・バイオインフォマティクス部門

(平成15年10月15日受付, 平成16年2月9日受理)

われわれは、本邦では報告例のない *Neisseria elongata* による菌血症を経験したので報告する。患者は、52歳男性。2001年9月13日、39℃台の持続する発熱を認め、翌日に激しい頭痛を伴った。15日に当院を受診し、敗血症を疑い緊急入院となった。入院時検査所見は、WBC 11,600/ μ l、CRP 17.0mg/dlと強い炎症反応を認め、Plt 4.2×10^4 / μ lと血小板低下を認めた。その後、入院時の静脈血培養よりグラム陰性桿菌を検出し、同定の結果は *Eikenella corrodens* と判定された。しかし、血液寒天培地上のコロニーをグラム染色したところグラム陰性短桿菌であったため、再び球菌として判定したところ *N. elongata* と同定された。確認のため、16SrDNAのシーケンズ解析(1285bp)を行なった結果99.7% *N. elongata* と一致した。

Key words: *Neisseria elongata*, 感染性心内膜炎, 敗血症, グラム陰性短桿菌

Neisseria elongata は、*Neisseria* 属に含まれるグラム陰性短桿菌であるが、形態的には *Moraxella*, *Eikenella*, *Kingella* などのグラム陰性桿菌と類似する。本菌は、*a-Streptococcus*, *Haemophilus* などと同様、日常的に呼吸器材料から分離されるものであるが、本菌による血液培養からの分離報告例は、欧米では感染性心内膜炎^{1~7)}、敗血症⁸⁾が報告されている。しかし、我々の検索し得た範囲内では本邦で報告されておらず、本症例が初報告例となる。

I. 症 例

1. 患者：52歳，男性。
2. 主 訴：発熱，頭痛，悪寒，戦慄。
3. 既往歴：十二指腸潰瘍（22歳），人工弁置換術（45歳）。

著者連絡先：(〒169-0073) 東京都新宿区百人町3-22-1
 社会保険中央総合病院 臨床検査部
 室谷真紀子
 TEL 03-3364-0251 内線2257
 FAX 03-3364-5663

4. 家族歴：特記すべきことなし。
5. 現病歴：2001年9月13日、39℃台の持続する発熱を認め、翌14日には激しい頭痛を伴った。15日、当院救急外来を受診し、敗血症を疑い緊急入院となった。
6. 入院時現症：体温39.4℃，血圧120/74mmHg，脈拍102/min，後頭部から前頭部にかけて疼痛を認めた。
7. 入院時検査所見：WBC11,600/ μ l，CRP 17.0mg/dlと強い炎症反応とPlt 4.2×10^4 / μ lで血小板低下を認めたが，その他の肝機能，腎機能異常などは認められなかった。
8. 臨床経過：9月15日入院時に静脈血培養を施行した後に，sulbactam/ampicillin (SBT/ABPC) 3.0g/dayとceftazidime (CAZ) 2.0g/dayの抗菌薬療法を開始した。翌16日から解熱傾向を示したため，CAZは1.0g/dayに減量とし，17日には順調に回復し解熱が得られていた。血液培養は，培養開始から約48時間経過して陽転し，血液培養液のグラム染色よりグラム陰性桿菌を認めたため，分離培養を行なった。

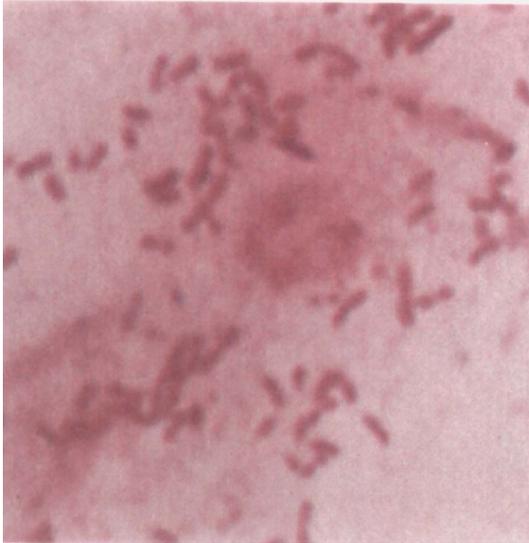


図1 血液培養陽性時の静脈血培養液塗沫所見 (Gram染色 ×1000)

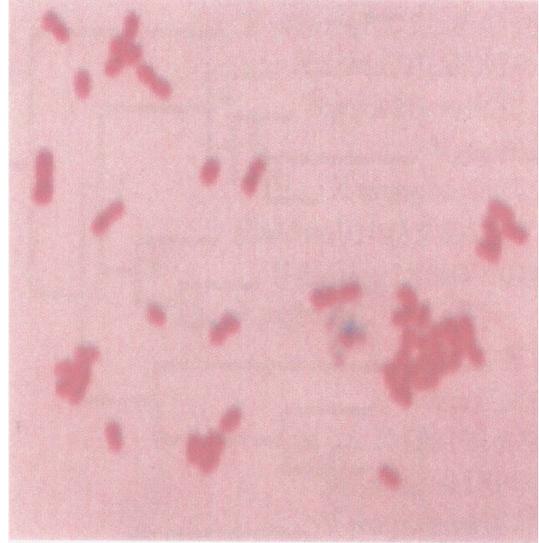
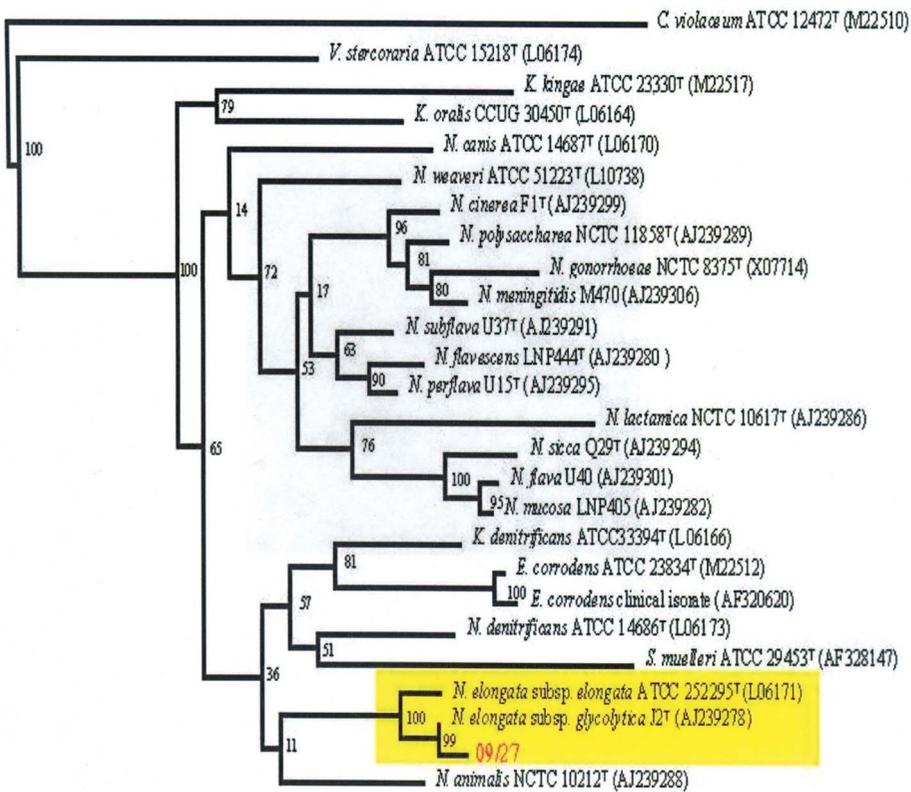


図2 血液寒天培地上のコロニー塗沫所見 (Gram染色 ×1000)



09/27 : 自験株

図3 16SrDNAのシーケンス解析 (1285bp) による類似細菌の系統樹

19日にはCAZの投与を中止し、20日SBT/ABPCも中止となった。経過中に歯痛を訴え、上顎に認められた齶蝕が進行していたため、歯科にて治療を開始した。その後、齶蝕治療は外来通院とし、9月26日には軽快退院となった。

II. 微生物学的検査

1. 塗抹・鏡検検査：9月15日に提出された静脈血培養は17日に陽転し、その時点でフェイバー・GセットFニッスイ（日水製薬）を用いてグラム染色を行った。塗抹所見は図1に示したように明らかなグラム陰性桿菌であった。

2. 分離培養：静脈血培養液は、5%羊血液寒天培地（BBL）を好気性培養、チョコレート寒天培地（BBL）を炭酸ガス培養で行ない、培養18時間後に5%羊血液寒天培地には微小のコロニーを数個認め、チョコレート寒天培地では灰白色で、表面が平滑のやや光沢のある直径1~2mmのコロニーが多数発育していた。そのコロニーをグラム染色したところ、図2に示したようにグラム陰性短桿菌で、静脈血培養液を染色したものとはまったく異なっていた。

培養条件の確認のため、5%羊血液寒天培地、チョコレート寒天培地をそれぞれ好気性培養、炭酸ガス培養にて培養した結果、炭酸ガス培養を行なった5%羊血液寒天培地、チョコレート寒天培地上に純培養状に1~2mmのコロニーの発育を認め、好気性培養を行なった5%羊血液寒天培地、チョコレート寒天培地上には微小のコロニーを数個認めるのみで、炭酸ガス環境下での発育が良好であった。

3. 同定検査：簡易同定キットのCRYSTAL N/H（BBL）：4時間判定を用い、添付文書にしたがって試験した結果、グラム陰性桿菌として判定すると、Profile No. 1002000001で*Eikenella corrodens* Biotype varidity 4, Confidence value 0.98489と同定された。しかし、コロニーのグラム染色では、グラム陰性短桿菌ということもあり、再びグラム陰性球菌と

して判定したところ、*N. elongata* Biotype varidity 3, Confidence value 0.99777と同定された。確定できる結果が得られなかったため、16SrDNAをPCR法で増幅、シーケンス解析（1285bp）⁹⁾を行い、塩基配列を決定し、類似塩基配列を持つ細菌の系統樹を作成した。結果99.7%*N. elongata*と一致し、図3の系統樹に示したように*E. corrodens*とは異なるものであり、最終的に本菌は*N. elongata*と報告した。

4. 薬剤感受性試験：日本化学療法学会標準法に準じたドライプレート‘栄研’（栄研化学）を用いて最小発育阻止濃度（MIC）を測定した。培地はミューラーヒントンプイオン‘栄研’にストレプト・ヘモサブリメント‘栄研’を添加したものを使用し、37℃、18時間好気性培養を行なった。試験薬剤は、ampicillin（ABPC）、piperacillin（PIPC）、cefazolin（CEZ）、cefotiam（CTM）、cefmetazole（CMZ）、cefminox（CMNX）、flomoxef（FMOX）、panipenem（PAPM）、minocycline（MINO）、levofloxacin（LVFX）、fosfomycin（FOM）、sulbactam/ampicillin（S/A）、sulbactam/cefoperazone（S/C）、amikacin（AMK）、clarithromycin（CAM）、clindamycin（CLDM）を用いた。薬剤感受性試験の結果は表1に示したが、投与されたSBT/ABPCは1.5 μg/ml以下の感受性を示し、その他の抗菌薬についても良好な感受性を示していた。唯一耐性傾向を示したのはFOMのみであった。

III. 考察

健常人の口腔内には、*α-Streptococcus*や*Neisseria*属、*Haemophilus*属、嫌気性菌など多種多様の菌が常在している。これら常在菌によって、抜歯や齶蝕の進行などで一過性の菌血症、また人口弁置換術などを行なった患者ではハイリスクに感染性心内膜炎を引き起こすことはよく知られている。本症例の感染経路についても同様に考えられ、経過中に歯痛を訴えたことから歯科受診したところ、上顎には進行している齶蝕が

表1 薬剤感受性試験結果

抗菌薬名	MIC (μg/ml)	抗菌薬名	MIC (μg/ml)
ampicillin (ABPC)	≤ 1.5	minocycline (MINO)	0.5
piperacillin (PIPC)	1	levofloxacin (LVFX)	≤ 0.25
cefazolin (CEZ)	0.25	fosfomycin (FOM)	16
cefotiam (CTM)	≤ 0.13	sulbactam/ampicillin (S/A)	≤ 1.5
cefmetazole (CMZ)	≤ 0.25	sulbactam/cefoperazone (S/C)	2
cefminox (CMNX)	0.25	amikacin (AMK)	4
flomoxef (FMOX)	≤ 0.13	clarithromycin (CAM)	0.5
panipenem (PAPM)	≤ 0.13	clindamycin (CLDM)	4

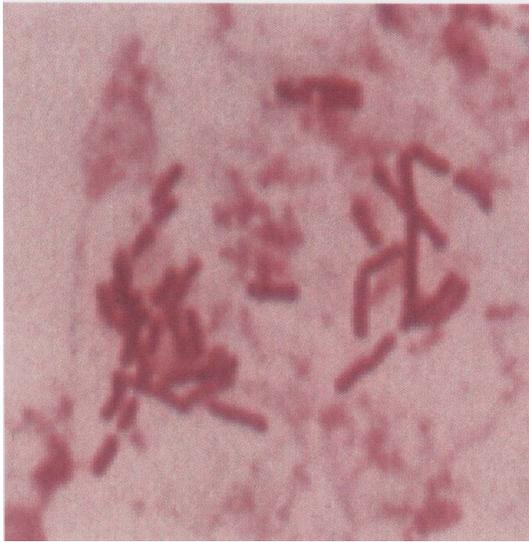


図4 振盪培養後の塗沫所見
(Gram染色 ×1000)

認められた。感染経路を確認する目的で、齶蝕部位からの本菌の検出を試みたが、一般的に口腔内にみられる多種多様の菌が検出されたことと、すでに治療が開始されていたということもあり、感染経路の確定には至らなかった。

本症例の血液培養陽転時に行なったグラム染色は、明らかにグラム陰性桿菌であったため、同定検査は *Haemophilus* 様のグラム陰性桿菌として進めた。しかし、血液寒天培地上に発育したコロニーはグラム陰性短桿菌であり、形態に大きな差を認めた。CRYSTAL N/H (BBL) を用いて、桿菌として判定すると *E. corrodens* とされ、短桿菌に着目して再び球菌として判定したところ、*N. elongata* となった。「*elongata*」という名は「長く伸びる」という特徴から付いた名¹⁰⁾で、他の *Neisseria* 属とは異なり培養環境の違いにより桿菌または短桿菌に観察されるため、塗抹鏡検による鑑別が困難であると考えられる。当院の自動血液培養装置 BACTEC 9120 (BBL) は振盪状態で培養していたため、菌体が長く伸びていたと考えられる。確認のために平板培地からのコロニーを取り、液体培地で振盪培養を行ったところ、図4に示したとおり菌体は伸長し、明らかにグラム陰性桿菌と判断できる形態を示した。簡易同定キットは、容易に菌種名を出すことができる。しかし、本菌と *E. corrodens* との鑑別点は、一般的な病院検査室で行なえるものではなく、*E. corrodens* は寒天平板にめり込んだ特徴あるコロニー性状を示すという違いに注意することが最も重要と考

えられた。したがって、血液培養などの本来無菌的な材料から、簡易同定キットによって本菌もしくは *E. corrodens* と判定された場合は、コロニーの観察や性状、培養状態などをふまえて判定する必要がある。

細菌検査を実施するうえで、グラム染色は検査工程の方向を左右する重要な検査であるが、常に臨床検体や培地コロニーの染色結果が一致するとは限らず、本症例を経験し、再度確認することが重要であると考えられた。

IV. 結 語

本菌は、培養条件の違いにより菌体が伸長するという特徴をもつため、形態の特定や同定に困難を要した。本症例を経験し、同定は同定キットのみに頼るのではなく、菌自身の特徴を再確認することによって迅速な診断へと結びつくと考えられた。

文 献

- 1) Apisarnthanarak A, Dunagan WC, Dunne WM. 2001. *Neisseria elongata* subsp. *elongata*, as a cause of human endocarditis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 39: 265-266.
- 2) Dominguez EA, Smith TL. 1998. Endocarditis due to *Neisseria elongata* subspecies *nitroreducens*: case report and review. *Clin Infect Dis.* 26: 1471-1473.
- 3) Meuleman P, Erard K, Herregods MC, et al. 1996. Bioprosthetic valve endocarditis caused by *Neisseria elongata* subspecies *nitroreducens*. *Infection.* 24: 258-260.
- 4) Nawaz T, Hardy DJ, Bonnez W. 1996. *Neisseria elongata* subsp. *elongata*, a case of human endocarditis complicated by pseudoaneurysm. *J Clin Microbiol.* 34: 756-758.
- 5) Imperial HL, Joho KL, Alcid DV. 1995. Endocarditis due to *Neisseria elongata* subspecies *nitroreducens*. *Clin Infect Dis.* 20: 1431-1432.
- 6) Struillou L, Raffi F, Barrier JH. 1993. Endocarditis caused by *Neisseria elongata* subspecies *nitroreducens*: case report and literature review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 12: 625-627.
- 7) Grant PE, Brenner DJ, Steigerwalt AG, et al. 1990. *Neisseria elongata* subsp. *nitroreducens* subsp. nov., formerly CDC group M-6, a gram-negative bacterium associated with endocarditis. *J Clin Microbiol.* 28: 2591-2596.

- 8) Hofstad T, Hope O, Falsen E. 1998. Septicaemia with *Neisseria elongata* ssp. *nitroreducens* in a patient with hypertrophic obstructive cardiomyopathy. Scand J Infect Dis. 30: 200-201.
- 9) 河村好章. 2000. 第18回日本細菌学会技術講習会テキスト—細菌の系統分類と同定方法. 日本細菌学雑誌. 55 : 545-584.
- 10) Bovre K, Holten E. 1970. *Neisseria elongata* sp.nov., a rod-shaped member of the genus *Neisseria*. Re-evaluation of cell shape as a criterion in classification. J Gen Microbiol. 60: 67-75.
- 11) Alexander von Graevenitz. Reinhard Zbinden. Reinier Mutter. 2003. Manual of clinical microbiology 8th edition. 615.

A case of *Neisseria elongata* septicemia

Makiko Murotani¹⁾, Yoshihito Otsuka^{1,4)}, Hiroyuki Hata³⁾, Takako Tsubata¹⁾, Ayako Oomi¹⁾
Masatoshi Masuo²⁾, Masaaki Nakano³⁾, Yoshiaki Kawamura⁴⁾, Takayuki Ezaki⁴⁾

¹⁾Department of Laboratory Medicine, Social Insurance Central General Hospital

²⁾Department of cardiology, Social Insurance Central General Hospital

³⁾Department of dentology, Social Insurance Central General Hospital

⁴⁾Gifu University Graduate School of Medicine, Regeneration and Advanced Medical Science,
Department of Microbiology and Bioinformatics

In Japan, we report the first of septicemia caused by *Neisseria elongata*. A 52-year-old male initially presented to the clinic with a fever of 39°C on September 13, 2001. The next day, the fever was accompanied by an intense headache. Since symptoms were not resolved with supportive medical care, the patient was admitted to the emergency unit with suspected septicemia on September 15. Laboratory findings were as follows: a white blood count of 15,900 cells/ μ l, a CRP of 18.1mg/dl which was consistent with an inflammatory process; and a decreased platelet count of $2.9 \times 10^4 / \mu$ l. The blood culture was positive for a Gram-negative bacilli which was identified as *Eikenella corrodens* using Crystal N/H (Becton Dickinson). However repeated Gram stain of very small colonies isolated on 5% sheep-blood agar medium demonstrated a coccobacillary morphology which led to a consideration of *N. elongata*. Furthermore, by nucleotide sequencing analysis of bacterial 16S rDNA, the isolate was identified as *N. elongata* (% consistense, 99.7).