症　例

# 免疫正常者で*Vibrio cholerae* non-O1, non-O139による菌血症を発症した2症例

[1)]藤沢市民病院臨床検査室，[2)]同　臨床検査科
今　井　智　子[1)]　清　水　博　之[2)]

（令和2年5月14日受付）
（令和2年8月26日受理）

Key words：*Vibrio cholerae* non-O1 non-O139, bacteremia, virulence factor

## 序　文

*Vibrio cholerae*（以下*V. cholerae*）は菌体表面のO抗原の違いにより200種類以上の血清型に分けられる[1)]．このうち，コレラ毒素を産生するO1およびO139血清型による胃腸炎をコレラと称し，主に衛生環境の整備されていない発展途上国など世界中で依然として公衆衛生上の問題となっている．一方で，*V. cholerae* non-O1，non-O139はほとんどがコレラ毒素を産生しない*V. cholerae*であり，下痢を伴う食中毒の原因菌として知られる[2)3)]．経口感染による胃腸炎として発症することが多いが，肝硬変や悪性腫瘍など基礎疾患を有する場合，敗血症などの腸管外感染症を発症し，致死的になり得る．今回我々は，免疫不全をきたす患者背景のない*V. cholerae* non-O1，non-O139による菌血症を2症例経験したので微生物学的検査を中心として文献的考察を含めて報告する．

## 症　例

症例1：59歳，男性

主訴：発熱，下痢

海外渡航歴：X月18日から23日まで仕事でタイへ渡航

喫食歴：サラダ・果物（ホテルで提供），焼き鳥（レストランで提供），氷入りのビール（レストランで提供）

既往歴：高血圧

内服薬：なし

現病歴：X月23日タイより帰国し，同日夜より発熱．X月24日より水様下痢と胸部絞扼感が出現しX月25日に当院救急外来を受診した．

来院時現症：意識障害なし，血圧127/86mmHg，脈拍数124回/分，呼吸数29回/分，体温39.4℃．腹部はやや緊満しており腸蠕動音は亢進しているが，圧痛や反跳痛なし．頭頸部，胸部，四肢，皮膚に異常所見なし．

入院時検査所見：血液検査ではWBC　$2.0\times10^9$/L（Myelo 5.0%，Meta 11.0%，Stab 50.0%，Seg 23.0%，Lym 7.0%），Hb 15.1g/dL，PLT $12.6\times10^9$/L，AST 34U/L，ALT 23U/L，LD 190U/L，T-bil 1.5mg/dL，D-bil 0.2mg/dL，Cre 1.22mg/dL，BUN 21mg/dL，CRP 34.8mg/dLであった．腹部造影CT（Fig. 1）では直腸壁のびまん性の肥厚と直腸周囲から腸間膜根部，大動脈周囲腔までの広範囲な脂肪織濃度の上昇を認めた．

微生物検査：入院時の血液培養2セットから，グラム染色でコンマ状のやや太めで弯曲したグラム陰性桿菌を認めた（Fig. 2a）．ヒツジ血液寒天培地に辺縁が黒緑色のオキシダーゼ試験陽性のコロニーを，Thiosulfate citrate bile Saccharose（以下TCBS）寒天培地に白糖分解性のややムコイド様の黄色のコロニーを認めたため(Fig. 2b)，グラム染色所見およびコロニーの外観より*V. cholerae*と推定した．同定感受性分析装置MicroScan WalkAway system（Beckman Coulter, Tokyo, Japan）による同定検査と，耐塩性確認試験にて0%，3%の低塩分濃度で発育し，8%，10%の高塩分濃度で発育を示さなかったことから*V. cholerae*と同定した[4)]．O1抗血清，O139抗血清いずれも陰性であり入院3日目に*V. cholerae*　non-O1，non-O139と確定した．後日，血液培養の菌株と糞便検体を国立感染症研究所に提出し，両検体から*V. cholerae* O24が検出された．毒素産生は，コレラ毒素陰性，エルトール型ヘモリジン陽性，repeat-in-toxin (RTX) 毒素陽性であった．薬剤感受性試験結果は，cefotaxime（CTX）≦1

別刷請求先：（〒251-8550）神奈川県藤沢市藤沢2―6―1
藤沢市民病院臨床検査室　　今井　智子

Fig. 1
Abdominal CT image on the day of hospitalization. (Case 1)
Contrast-enhanced abdominal CT image showing diffuse thickening of the rectal wall. The amount of fat tissue is relatively high, extending from the rectum to the mesentery. (arrow head)

μg/mL，ciprofloxacin（CPFX）≦0.25μg/mL，piperacillin-tazobactam（PIPC/TAZ）≦8μg/mL であり，すべての薬剤が感性であった．判定は，Clinical and Laboratory Standards Institute（CLSI）の M45-A2 を参照した．

入院後経過（Fig. 3）：身体所見，画像所見から急性腸炎および直腸周囲炎と診断した．下痢を主訴とする輸入感染症として，腸チフス，パラチフスなどを考えて ceftriaxone（CTRX）で経験的治療を開始した．血液培養は採取から４時間後に陽性となり，グラム陰性桿菌を検出した．翌日培地の発育状況から *V. cholerae* の可能性が高いと考え，入院３日目に CPFX に変更し，炎症反応は速やかに改善した．同日，腹部膨満の増強を認め，腸炎に伴う麻痺性イレウスを発症したため，絶食として胃管を留置した．入院３日目に血液培養は *V. cholerae* で確定し，CPFX に感性であったため，継続した．入院４日目に飲水開始，入院５日目から経口摂取を開始したが，腹痛の出現や下痢の再発は認めなかった．しかし入院 10 日目に炎症反応の再上昇，下痢の悪化を認めた．同日の便培養および血液培養は陰性であり，*Clostridioides difficile* 抗原およびトキシン A/B も陰性であった．腹部造影 CT を再検したところ，腹腔内膿瘍などの消化管外病変は認めず，直腸周囲炎が入院時より悪化した所見であったため，腸内細菌科や偏性嫌気性菌へ抗菌薬スペクトラムを拡大して ampicillin/sulbactam（ABPC/SBT）を追加した．その後速やかに腹部所見，炎症反応は改善し，最終的にコレラ菌血症に対して 14 日間 CPFX を投与し，入院 24 日目に退院された．

症例２：52 歳，女性
主訴：発熱，倦怠感
海外渡航歴：なし
喫食歴：生しらす
既往歴：脳梗塞，高血圧，心筋梗塞，胆石（胆嚢摘出後）
内服薬：バイアスピリン，ニフェジピン，クロピドグレル，ネキシウム
現病歴：X 月 14 日に発熱，全身倦怠感が出現し同日に当院救急外来を受診した．血液検査で肝胆道系酵素上昇認め，熱源精査目的に入院した．
来院時現症：意識障害なし，血圧 109/79mmHg，脈拍数　117 回/分，呼吸数 20 回/分，体温 37.4℃．頭頸部，胸部，腹部，四肢，皮膚に異常所見なし．
入院時検査所見：血液検査では WBC　$8.2\times10^9$/L（Neut 83.8%，Mono 6.8%，Baso 0.4%，Eosin 0.0%，Lym 9.0%），Hb 15.3g/dL，PLT $14.5\times10^9$/L，AST 232U/L，ALT 131U/L，LD 446U/L，ALP 373U/L，GGT 204U/L，T-bil 1.9mg/dL，D-bil 0.7mg/dL，Cre 0.78mg/dL，BUN 11mg/dL，CRP 34.7mg/dL であった．腹部造影 CT（Fig. 4）で総胆管は 13mm まで拡張し，肝内胆管の軽度拡張も認めた．
微生物検査：入院時の血液培養２セットから，グラム染色でコンマ状のやや太めで弯曲したグラム陰性桿菌を認めた（Fig. 2c）．ヒツジ血液寒天培地にβ溶血を示す黒緑色のオキシダーゼ試験陽性のコロニーを，TCBS 寒天培地に白糖分解の黄色のコロニーを認めたため（Fig. 2d），グラム染色所見およびコロニーの外観より *V. cholerae* と推定した．症例１と同様に同定検査を行った結果 *V. cholerae* と同定し，O1 抗血清，O139 抗血清いずれも陰性であったため，入院３日目に *V. cholerae* non-O1，non-O139 と確定した．後日，血液培養と胆汁培養の菌株を国立感染症研究所に提出し，両検体から *V. cholerae* O37 が検出された. 毒素産生は，コレラ毒素陰性，エルトール型ヘモリジン陽性，RTX 毒素陽性であった．薬剤感受性試験結果は，CTX≦1 μg/mL，CPFX≦0.25μg/mL，PIPC/TAZ≦8μg/mL であり，すべての薬剤が感性であった．
入院後経過：血液検査所見，画像所見から急性胆管炎と診断し，腸内細菌や嫌気性菌を考慮して PIPC/TAZ で経験的治療を開始した．入院２日目に血液培養が陽性となりグラム陰性桿菌を検出し，その後 *V. cholerae* と確定した．入院３日目に内視鏡的逆行性胆管膵管造影（Endoscopic Retrograde Cholangio-Pancreatography；ERCP）を実施した際の胆汁培養からは *V. cholerae* に加えて *Enterococcus faecalis*，*Citrobacter freundii* を検出した．ERCP で明らかな胆管閉塞は指摘できなかったが，ステント留置後は，速やか

Fig. 2

(a) Gram staining of blood culture specimens revealed distorted gram-negative rods. (b) Yellow mucoid colonies were observed in a blood culture grown on thiosulfate citrate bile saccharose (TCBS) Agar at 35℃ for 24 hours. (Case1) (c) As in the previous case, gram staining of the blood cultures revealed gram-negative rods, and (d) yellow mucoid colonies were seen in a blood culture grown on TCBS Agar at 35℃ for 24 hours. (Case2)

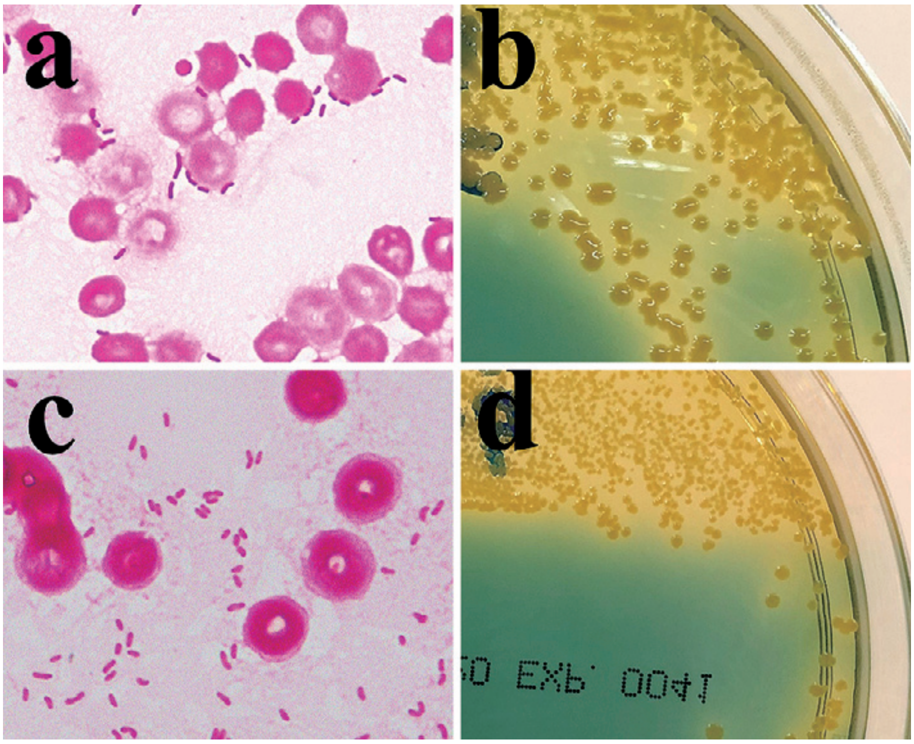
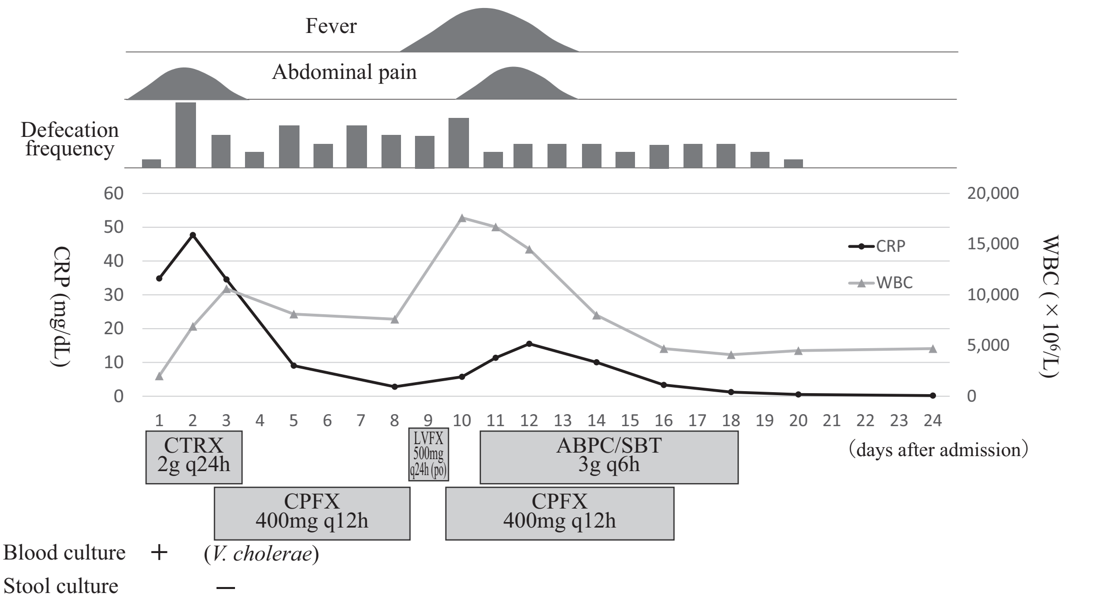


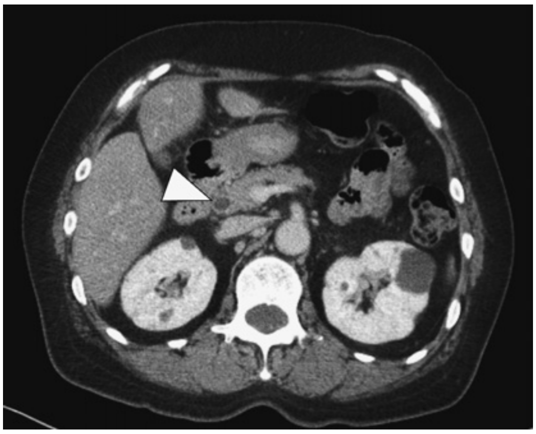

Fig. 3　Clinical course of Case 1.




CTRX: ceftriaxone; LVFX: levofloxacin; CPFX: ciprofloxacin; ABPC/SBT: ampicillin/sulbactam

に解熱を得られ，肝胆道系酵素も改善に転じた．入院4日目から経口摂取を開始したが腹部症状の出現は認めず，胆汁培養の検出菌の薬剤感受性も考慮してPIPC/TAZを15日間投与し入院22日目に退院され

Fig. 4 Abdominal CT image on the day of hospitalization. (Case 2)
Contrast-enhanced abdominal CT shows bile duct dilatation. (arrow head)



た．

## 考　察

免疫正常者の *V. cholerae* non-O1，non-O139 による菌血症の２症例を報告した．症例１はタイへの渡航歴があり，現地で氷入りのビールを摂取しており，氷の製造過程で混入したと考えられた．一方で症例２は渡航歴がなく，国内産生シラス以外の生鮮魚介類は食べていないため，同食材が感染経路と考えられた．*V. cholerae* は球菌様に形態を変化させることで酸性や低温状況下でもある程度生存することができ，氷が関係した感染や輸入生シラスの喫食での食中毒の発生例も報告されている[5][6]．両症例とも菌血症に至ったが，速やかな菌同定および抗菌薬治療により，経過は良好であった．

本邦では *V. cholerae* による感染症は減少傾向にあり，報告の半数以上が輸入感染事例とされる．しかし神奈川県内の河川の 23.3% に *V. cholerae* non-O1, non-O139 を認めたとされる調査結果もあり，日本国内の河川にも常在すると考えられる[7]．*V. cholerae* は食中毒の主要な原因菌である腸炎ビブリオと異なり，塩分濃度が低い条件でも発育することができ，そのため沿岸部の海水だけでなく，日常生活排水が流入する汽水域で多く分離される．症例２のように海外渡航歴がなくても，加熱不十分な海産物の喫食により国内で *V. cholerae* 感染症は起こし得る．

通常，*V. cholerae* non-O1，non-O139 は細菌性腸炎，耳感染症，創部感染症の原因菌となる[8]．一方で，肝硬変，悪性腫瘍，糖尿病などを基礎疾患に有する場合，胆管炎，腹膜炎，尿路感染症，敗血症などを起こすことが知られている[9][10]．Deshayes らは *V. cholerae* non-O1，non-O139 による菌血症 350 症例を解析した結果，96% の症例が基礎疾患を有し，肝硬変が最多であった（54%）[11]．肝硬変では補体合成能や T/B リンパ球機能が低下しやすく，さらに好中球，単球，マクロファージなどの自然免疫系の機能も低下している．また，腸管から Bacterial Translocation も起こりやすいとされる[12][13]．*V. cholerae* 菌血症は，経口的に摂取され消化管に到達した *V. cholerae* が，腸管内から門脈あるいはリンパ管から血液中に侵入することで生じると考えられる[14]．今回症例１は急性腸炎，症例２は急性胆管炎であり，両症例とも免疫不全をきたす肝硬変，糖尿病，悪性腫瘍などの既往歴やステロイドや免疫抑制剤などの内服薬はなかったが，菌血症に至った．診断されていない基礎疾患が存在する可能性は否定できないが，身体診察，画像検査，問診などから，両症例とも明らかな免疫不全を示唆する所見は認めなかった．

*V. cholerae* における主な病原因子は *V. cholerae* O1，O139 が産生するコレラ毒素，TCP（toxin-coregulated pilus）であるが，その他にもヘモリジンや RTX 毒素などがある[15]．ヘモリジンは *V. cholerae* O1，O139 と *V. cholerae* non-O1，non-O139 ともに検出されうる溶血性毒素であり細胞の空胞化により菌血症を惹起する[16]．RTX 毒素は *V. cholerae* non-O1，non-O139 において炎症性下痢症との関連が示唆される病原性因子である[17][18]．腸管外感染を引き起こす *V. cholerae* non-O1，non-O139 感染症では多くがこれらの毒素を産生するとされる．Ceccarelli らは，395 株の *cholerae* non-O1，non-O139 の病原遺伝子を解析した結果，ヘモリジンは 83.0%，RTX 毒素は 77.7% で認めたと報告している[19]．今回菌血症に至った２症例ともヘモリジン，RTX 毒素いずれの毒素産生も認められ，一方で，コレラ毒素の産生は認められなかった．コレラ毒素は侵襲性の低い腸管毒素であり，激しい下痢はきたすが，コレラ毒素産生菌による菌血症は起こりにくい．これはコレラ毒素が炎症性サイトカインの産生を阻止することで炎症の誘導を抑制するためと考えられる[20]．*V. cholerae* がヘモリジンや RTX 毒素を産生し，コレラ毒素を産生しないことは，結果的に炎症性サイトカイン産生による組織損傷や炎症の促進に寄与することで，免疫正常者にも *V. cholerae* non-O1，non-O139 菌血症を起こすことに関与している可能性が考えられた．

今回，血液培養のグラム染色で認められた弯曲した菌体や，TCBS 培地に発育した白糖分解の黄色いコロニーなどの特徴的な所見をとらえることによって，早期に *V. cholerae* を推定することができた．海外渡航歴や明らかな免疫不全をきたす患者背景がない症例でも *V. cholerae* non-O1，non-O139 菌血症は起こり得るため，微生物学的検査での特徴的所見を見落とさず本菌

を念頭において同定検査を進めていくことが，早期診断，早期治療において重要であると考えられた．

本症例の発表に関して，患者本人から同意を得た．

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文　献

1）Harris JB, LaRocque RC, Qadri F, Ryan ET, Calderwood SB：Cholera. Lancet. 2012；379：2466–76.

2）堤　英明，甫立八洲，大高道也，島田敏雄：入国下痢患者由来の *Vibrio cholerae* non-O1 について．感染症誌 1995；69：637–41.

3）山井志朗，沖津忠行，島田俊雄，勝部泰次：*Vibrio cholerae* non-O1 non-O139 の血清型分布，その毒素産生性および新血清型の追加について．感染症誌 1995；71：1037–45.

4）中村竜也：第 2 章臨床微生物学　A 細菌学各論．最新臨床医学講座 臨床微生物学．松本哲哉編．医歯薬出版株式会社，2017；p. 107–249.

5）Shibata Y, Nomoto R, Osawa R：Enhanced Resistance to Several Abiotic Stresses in Vibrio cholerae during Starvation. Jpn J Infect Dis. 2015；68：415–9.

6）Forssman B, Mannes T, Musto J, Gottlieb T, Robertson G, Natoli JD, *et al.*：Vibrio cholerae O 1 El Tor cluster in Sydney linked to imported whitebait. Med J Aust. 2007；187：345–7.

7）山井志朗，沖津忠行，勝部泰次：河川水における *Vibrio cholerae* の検出状況．感染症誌 1996；70：1234–41.

8）Bonner JR, Coker AS, Berryman CR, Pollock HM：Spectrum of Vibrio infections in a Gulf Coast community. Ann Intern Med. 1983；99：464–9.

9）Safrin S, Morris JG Jr, Adams M, Pons V, Jacobs R, Conte JE Jr：Non-O：1 Vibrio cholerae bacteremia：case report and review. Rev Infect Dis. 1988；10：1012–7.

10）Chen YT, Tang HJ, Chao CM, Lai CC：Clinical manifestations of non-O1 Vibrio cholerae infections. PLoS One. 2015；10：e0116904.

11）Deshayes S, Daurel C, Cattoir V, Parienti JJ, Quilici ML, de La Blanchardiere A：Non-O1, non-O139 Vibrio cholerae bacteraemia：case report and literature review. Springerplus. 2015；4：575.

12）Mohd TN, Piyush M：Immune Dysfunction in Cirrhosis. J Clin Transl Hepatol. 2017；5：50–8.

13）Albillos A, Lario M, Álvarez-Mon M：Cirrhosis-associated immune dysfunction：Distinctive features and clinical relevance. J Hepatol. 2014；61：1385–96.

14）Restrepo D, Huprikar SS, VanHorn K, Bottone EJ：O1 and non-O1 Vibrio cholerae bacteremia produced by hemolytic strains. Diagn Microbiol Infect Dis. 2006；54：145–8.

15）山城　哲：コレラ菌．化学療法の領域 2016；32：29–36.

16）Figueroa-Arredondo P, Heuser JE, Akopyants NS, Morisaki JH, Giono-Cerezo S, Enríquez-Rincón F, *et al.*：Cell vacuolation caused by Vibrio cholerae hemolysin. Infect Immun. 2001；69：1613–24.

17）Chow KH, Ng TK, Yuen KY, Yam WC：Detection of RTX toxin gene in Vibrio cholerae by PCR. J Clin Microbiol. 2001；39：2594–7.

18）Lin W, Fullner KJ, Clayton R, Sexton JA, Rogers MB, Calia KE, *et al.*：Identification of a vibrio cholerae RTX toxin gene cluster that is tightly linked to the cholera toxin prophage. Proc Natl Acad Sci USA. 1999；96：1071–6.

19）Ceccarelli D, Chen A, Hasan NA, Rashed SM, Huq A, Colwell RR：Non-O1/non-O139 Vibrio cholerae carrying multiple virulence factors and V. cholerae O1 in the Chesapeake Bay, Maryland. Appl Environ Microbiol. 2015；81：1909–18.

20）Fullner KJ, Boucher JC, Hanes MA, Haines GK 3rd, Meehan BM, Walchle C, *et al.*：The contribution of accessory toxins of Vibrio cholerae O1 El Tor to the proinflammatory response in a murine pulmonary cholera model. J Exp Med. 2002；195：1455–62.

Two Cases of Bacteremia Caused by non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* in Immunocompetent Patients

Tomoko IMAI[1] & Hiroyuki SHIMIZU[2]
[1]Department of Clinical Laboratory and [2]Department of Clinical Laboratory Medicine, Fujisawa City Hospital

We report two cases of bacteremia caused by non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* in immunocompetent patients. The first patient presented with fever and watery diarrhea and had traveled recently to Thailand. *V. cholerae* O24 was detected in the blood and stool. The route of infection was thought to be ingestion of ice containing *V. cholerae*. The second patient presented with only fever and gave no history of overseas travel. *V. cholerae* O37 was detected in the blood and bile. Although many cases of *V. cholerae* infection are imported, *V. cholerae* is also present in Japanese rivers and can be transmitted domestically. In general, non-O1, non-O 139 *V. cholerae* causes extraintestinal infections in patients with underlying diseases, and is rarely identified as a cause of bacteremia in immunocompetent patients. Both patients were cholera toxin-negative, El Tor hemolysin-positive, and RTX toxin-positive, suggesting that the latter toxins may be involved in the bacteremia caused by non-O1, non-O139 V. cholerae infection. In both cases, *V. cholerae* could be identified from the characteristic morphological findings, and it is important to proceed with the identification tests without overlooking the characteristic microbiological findings, regardless of the patient's background.

〔J.J.A. Inf. D. 94：844～849, 2020〕