腎盂腎炎患者の尿より分離された *Leclercia adecarboxylata*

¹⁾ 岐阜大学医学部附属病院検査部

²⁾ 岐阜大学大学院医学研究科再生分子統御学講座病原体制御学分野

³⁾ 同 病態制御学講座泌尿器科学分野

澤村 治樹¹⁾ 河村 好章²⁾ 安田 満³⁾ 大楠 清文²⁾
高橋 義人³⁾ 石原 哲³⁾ 出口 隆³⁾ 江崎 孝行²⁾

(平成 17 年 6 月 1 日受付)

(平成 17 年 7 月 29 日受理)

Key words : *Leclercia adecarboxylata*, pyelonephritis

[感染症誌 79 : 831~835, 2005]

序 文

Leclercia adecarboxylata は当初 *Escherichia adecarboxylata* として記載されたが、腸内細菌科の他の菌種との DNA 相同性が低いことから、新属 *Leclercia* に移籍された菌種である¹⁾。ヒト臨床材料からの本菌の分離は世界的に見ても非常に稀であり、我が国においては臨床情報を伴った分離報告例は今まで無い。今回著者らは腎盂腎炎患者の尿路感染症から *L. adecarboxylata* を分離したので報告する。

材料と方法

菌株：2002 年 11 月に右慢性複雑性腎盂腎炎の急性増悪を発症した 59 歳男性の入院時尿培養検査から分離された *L. adecarboxylata* 1 株を対象とした。この症例は 2000 年 11 月に膀胱癌に対し膀胱全摘術および回腸導管造設術を施行後、左腎が無機能となり腎盂腎炎を繰り返したため 2001 年 11 月に左腎摘除術を施行した既往があり、今回の右腎盂腎炎に対しては IPM/CS を投与し治癒に至っている。

細菌学的検査：入院時尿培養検査はクロムア

ガーオリエンテーション寒天培地（ベクトンデイクンソン）を用いて実施した。菌数はウロメデイウム（日水製薬）にて測定した。分離株の同定検査には VITEK（バイオメリュー）を用いた。さらに RAISUS（日水製薬）にて同定の追確認を行った。薬剤感受性試験は IS60（長瀬産業）の微量液体希釈法により実施した。

分離株の系統解析：分離株の 16S rDNA 遺伝子の塩基配列を決定し、FASTA 相同性検索システム（国立遺伝学研究所）により類縁菌種の検索を行った。さらに clustalW²⁾ を使用し、本菌の系統発生位置の確認を行った。

結 果

入院時の尿培養検査の結果、チトクロームオキシダーゼ陰性のグラム陰性桿菌とカタラーゼ陰性のグラム陽性球菌が検出された。菌数は 10⁷ CFU/mL であった。同定検査の結果グラム陰性桿菌は *L. adecarboxylata*、グラム陽性球菌は *Enterococcus faecalis* と同定された。グラム陰性桿菌については RAISUS によっても *L. adecarboxylata* と同定された。本菌株の 16S rDNA 遺伝子の塩基配列（1441 bp）を決定し、類縁菌種の検索を行ったところ、*Leclercia* spp., *Enterobacter* spp., *Pantoea* spp. などが見出された。そこでこれらの属の各菌種データ

別刷請求先：(〒501-1194) 岐阜市柳ヶ下 1-1

岐阜大学大学院医学研究科再生分子統御学講座病原体制御学分野 河村 好章

平成17年10月20日

Fig. 1 Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences (1420bp). Distances were calculated by the neighbor-joining method. The numbers at the nodes are bootstrap values (based on 100 sampling). Our isolate (GTC1970) formed one cluster together with the type strain and another strain of *L. adecarboxylata*. *V. cholerae* was used as an out group.

Abbreviations, En, *Enterobacter* ; E, *Escherichia* ; S, *Salmonella* ; L, *Leclercia* ; K, *Klebsiella* ; P, *Pantoea* ; V, *Vibrio*.

Table 1 All case-report detecting *L. adecarboxylata* with some clinical information

Year of report	Country	Underlying medical condition	Source	Patient age/sex	co-detected contagium	Reference
1991	USA	total parenteral nutrition	blood	8.5months/M	none	6, 7
1992	China	diarrhea	stool	ND/ND (3 patients)	ND *	8
1993	Spain	hepatic cirrhosis	blood	45/M	none	6, 9
1997	USA	wound infection	wound culture	43/F	<i>Staphylococcus aureus</i>	6
1997	USA	wound infection	wound culture	35/M	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>Klebsiella pneumoniae</i> etc.	6
1997	USA	wound infection	wound culture	23/M	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i>	6
1997	USA	pneumonia	sputum	35/F	<i>Escherichia coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>	6
1997	USA	neutropenia	blood	54/M	none	6
1998	Spain	Chronic illness feet ulcers	feet ulcers	78/M	none	10
2000	USA	peritonitis	chronic peritoneal dialysate	5/M	none	11
2001	HongKong	renal transplant recipient	urine	67/F	none	5
2001	Belgium	chronically inflamed gallbladder	gallbladder tissue	78/F	<i>Enterococcus</i> spp.	12
2001	Belgium	sepsis	blood	80/F	<i>Escherichia hermannii</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	12
2001	USA	acute lymphoblastic leukemia	blood	11months/F	<i>S. aureus</i>	13
2001	Spain	peritoneal dialysis	peritoneal liquid	74/M	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	14
2003	Spain	iatrogenic infection	synovial liquid	60/M	none	15
2003	Italy	acute myeloid leukemia	blood	58/M	none	16
2005	Japan	pyelonephritis	urine	59/M	<i>Enterococcus faecalis</i>	this study

ND : Not described

* : Firstly, *E. coli* like organism was selected by SS medium

を取得し、詳細な系統発生位置の確認を行った。その結果、本菌株は *L. adecarboxylata* の基準株と 99.4% と最も高い相同性を示した。系統樹においても *L. adecarboxylata* 基準株と同一のクラスターを形成していた (Fig. 1)。以上のことから遺伝学的に見ても本菌株は *L. adecarboxylata* と同定されるべきと結論した。

本菌株の薬剤感受性を調べたところ、ABPC, PIPC, AMPC, IPM/CS, PAPM, MEPM, FRPM, LVFX, CEZ, CTM, CAZ, CTRX, CMZ, CCI の全ての薬剤に対し感受性であった。

考 察

Leclercia 属には *L. adecarboxylata* 1 菌種のみが存在する。同じ腸内細菌科に属する *Enterobacter agglomerans* と鑑別できないからという理由で、*E. agglomerans* に含めるべきであると指摘する論文も発表された³⁾が、その後 *E. agglomerans* の菌種としての定義がより明確なものとなり、*E. agglomerans* と本菌との鑑別は容易できるようになった¹⁾。現在日本で市販されている細菌検査の自動機器などでは、同定可能菌種として収載されている。同定に難渋したとの報告もある⁵⁾が、我々の経験例では高い同定精度を持って正確に同定するこ

とが可能であった。

本菌のヒト臨床材料からの分離報告は世界的に見ても非常に稀であり、現在までに12報19例しかない^{5)~16)}。Table 1には、その報告の全てをまとめた。これら文献によれば患者年齢は8.5カ月から80歳までと幅広く、男女別では男性にやや多い(男10例、女6例、不明3例)ものの、特段の偏りは見られない。肝硬変患者血液、下肢創傷部、肺炎患者喀痰、腹膜透析液、腎移植患者尿、敗血症、白血病患者血液など多様な臨床材料からの分離例が報告されている。本菌の検出パターンについては、免疫能を減弱させるような基礎疾患を有する患者の血液培養からは本菌が単独で見出されるが、免疫学的に特段の記載のない患者からは複合菌感染の1構成菌として検出されている、と指摘している文献が複数ある¹³⁾¹⁶⁾。しかし、そのような検出の特徴と感染症の関連については全く不明のままである。

ヒトの臨床分離報告は非常に稀であるが、食品や環境からは多数株の分離例が報告されている。食品やまな板などの大腸菌群検査の結果、約3.3%(95/2,842株)は本菌であったとの報告がある¹⁷⁾。また近年では土壌からの本菌の分離報告がなされている¹⁸⁾¹⁹⁾。本菌は牛の肥やしを撒いた畑土壌からは分離されたが、豚の肥やしや尿素を撒いた畑土壌からは分離されなかったとの報告¹⁹⁾もあり、牛の糞便から自然界に放出され、食品や環境中のフローラとして生息している可能性をうかがわせる。

今回我々は本菌感染症に対し、IPM/CSを使用することにより良好な治療経過をたどることができた。本菌株はいずれの系統の抗菌薬に対しても優れた感受性を示していた。しかしイタリアでは既に基質拡張型βラクタマーゼ(ESBL)を産生する*L. adedecarboxylata*が急性骨髄性白血病患者より見出されている¹⁶⁾。本菌はESBLの報告例が多い*Escherichia coli*、*Serratia marcescens*などと遺伝的に類縁であるため、プラスミドの伝達が容易に起こりうると推定でき、今後本菌の耐性化が懸念される。

本邦において本菌とヒトの臨床材料との関係に

ついて言及しているのは、我々の知る限り、田村ら(1986年)の報告があるだけである¹⁾。そこでは血液由来18株、喀痰由来27株、尿由来5株、便由来2株、創傷由来2株を使用したと記載されているが、それらの臨床情報・背景については言及されておらず詳細は不明である。田村らの報告以来約20年間本邦において本菌の分離報告は無く、臨床情報を加えた報告は、おそらく本邦初であると考えられる。

総じて、我が国においても*L. adedecarboxylata*がヒトの臨床材料から分離されたこと、および外国の例とは言え既にESBL産生株の報告があることから、今後は腸内細菌科の菌種の同定および感受性について本菌も慎重に考慮する必要があると思われる。

謝辞：中国語文献およびスペイン語文献の翻訳をしてくれた Xiaosong Sun (岐阜大・院・医・病原体制御) および Patricia Romero Fernandes (CSIC, Spain) に感謝いたします。

文 献

- 1) Tamura K, Sakazaki R, Kosako Y, Yoshizaki E : *Leclercia adedecarboxylata* gen. nov., formerly known as *Escherichia adedecarboxylata*. Curr Microbiol 1986 ; 13 : 179—84.
- 2) Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ : CLUSTAL W : improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res 1994 ; 22 : 4673—80.
- 3) Ewing WH, Fife MA : *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck) comb. nov. (the *Herbicola-Lathyr* Bacteria). Int J Sys Bacteriol 1972 ; 22 : 4—11.
- 4) Sakazaki R, Kuramochi S, Kosako Y, Tamura K : Independency of *Escherichia adedecarboxylata* from *Enterobacter agglomerans*. Les Colloques de l'INSERM 1983 ; 114 : 157—66.
- 5) Woo PC, Cheung EY, Leung K, Yuen K : Identification by 16S ribosomal RNA gene sequencing of an *Enterobacteriaceae* species with ambiguous biochemical profile from a renal transplant recipient. Diagn Microbiol Infect Dis 2001 ; 39 : 85—93.
- 6) Temesgen Z, Toal DR, Cockerill FR III : *Leclercia adedecarboxylata* infections : case report and review. Clin Infect Dis 1997 ; 25 : 79—81.
- 7) Otani E, Bruckner DA : *Leclercia decarboxylata* iso-

- lated from a blood culture. Clin Microbiol Newslett 1991 ; 13 : 157—8.
- 8) Cai M, Dong X, Wei J, Yang F, Xu D, Zhang H, *et al.* : Isolation and identification of *Leclercia adecarboxylata* in clinical isolates in China. Wei Sheng Wu Xue Bao 1992 ; 32 : 119—23.
 - 9) Daza RM, Iborra J, Alonso N, Vera I, Portero F, Mendaza P : Isolation of *Leclercia adecarboxylata* in a cirrhotic patient. Enferm Infecc Microbiol Clin 1993 ; 11 : 53—4.
 - 10) Martinez MM, Sanchez G, Gomez J, Mendaza P, Daza RM : Isolation of *Leclercia adecarboxylata* in ulcer exudates. Enferm Infecc Microbiol Clin 1998 ; 16 : 345.
 - 11) Fattal O, Deville JG : *Leclercia adecarboxylata* peritonitis in a child receiving chronic peritoneal dialysis : Pediatr Nephrol 2000 ; 15 : 186—7.
 - 12) DeBaere T, Wauters G, Huylensbroeck A, Claeys G, Peleman R, Verschraegen G, *et al.* : Isolation *Leclercia adecarboxylata* from patient with a chronically inflamed gallbladder and from a patient with sepsis without focus. J Clin Microbiol 2001 ; 39 : 1674—5.
 - 13) Longhurst CA, West DC : Isolation of *Leclercia adecarboxylata* from an infant with acute lymphoblastic leukemia. Clin Infect Dis 2001 ; 32 : 1659.
 - 14) Rodriguez JA, Sanchez FJ, Gutierrez N, Garcia JE, Garcia-Rodriguez JA : Bacterial peritonitis due to *Leclercia adecarboxylata* in a patient undergoing peritoneal dialysis. Enferm Infecc Microbiol Clin 2001 ; 19 : 237—8.
 - 15) Perez-Moreno MO, Anguera J, Carulla M, Perez-Moreno M : Septic arthritis due to *Leclercia adecarboxylata* of probable iatrogenic origin. Enferm Infecc Microbiol Clin 2003 ; 21 : 167—8.
 - 16) Mazzariol A, Zuliani J, Fontana R, Cornaglia G : Isolation from blood culture of a *Leclercia adecarboxylata* strain producing an SHV-12 extended-spectrum beta-lactamase. J Clin Microbiol 2003 ; 41 : 1738—9.
 - 17) 寺本忠司, 坂崎利一 : 食品及び環境材料から分離されたいわゆる大腸菌群の分類学的解析. 食衛誌 1984 ; 25 : 322—8.
 - 18) Sarma PM, Bhattacharya D, Krishnan S, Lal B : Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a newly discovered enteric bacterium, *Leclercia adecarboxylata*. Appl Environ Microbiol 2004 ; 70 (5) : 3163—6.
 - 19) De Freitas JR, Schoenau JJ, Boyetchko SM, Cyrenne SA : Soil microbial populations, community composition, and activity as affected by repeated applications of hog and cattle manure in eastern Saskatchewan. Can J Microbiol 2003 ; 49 (9) : 538—48.

A Clinical Isolate of *Leclercia adecarboxylata* from a Patient of Pyelonephritis

Haruki SAWAMURA¹⁾, Yoshiaki KAWAMURA²⁾, Mitsuru YASUDA³⁾,
Kiyofumi OHKUSU²⁾, Yoshito TAKAHASHI³⁾, Satoshi ISHIHARA³⁾,
Takashi DEGUCHI³⁾ & Takayuki EZAKI²⁾

¹⁾Clinical laboratory, Gifu University Hospital

²⁾Department of Microbiology, Regeneration and Advanced Medical Science,
Gifu University School of Medicine.

³⁾Department of Urology, Gifu University Graduate School of Medicine