

## [症 例]

急性骨髄性白血病の化学療法中における *Rothia mucilaginosa*  
(*Stomatococcus mucilaginosus*) による菌血症の 1 症例および  
本菌種における同定キットの同定性能の検討

福川陽子<sup>1), 2)</sup>・岡崎充宏<sup>1)</sup>・大楠清文<sup>3)</sup>・西山宏幸<sup>4)</sup>・日暮芳己<sup>5)</sup>  
田内絢子<sup>1)</sup>・奥山貴洋<sup>1)</sup>・米谷正太<sup>1)</sup>・牧野 博<sup>1)</sup>・澤田範子<sup>1)</sup>  
荒木光二<sup>1)</sup>・高山信之<sup>6)</sup>・江崎孝行<sup>3)</sup>・大西宏明<sup>7)</sup>・渡邊 卓<sup>1), 7)</sup>

<sup>1)</sup> 杏林大学医学部付属病院臨床検査部

<sup>2)</sup> 東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科生体防御検査学分野

<sup>3)</sup> 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

<sup>4)</sup> 駿河台日本大学病院臨床検査部

<sup>5)</sup> 東京大学医学部付属病院感染制御部

<sup>6)</sup> 杏林大学医学部第二内科

<sup>7)</sup> 杏林大学医学部臨床検査医学

(平成 21 年 10 月 9 日受付, 平成 21 年 12 月 14 日受理)

*Rothia mucilaginosa* は口腔内常在菌の 1 菌種であり, 易感染性宿主においてまれに菌血症, 髄膜炎および肺炎などの感染症の起原菌となる。われわれは, 本邦において報告例のない *R. mucilaginosa* による菌血症を経験した。症例は 68 歳, 男性。治療抵抗性急性骨髄性白血病に対して化学療法を施行し, 重篤な好中球減少および歯周炎・口腔内出血を合併していた。CPFX 投与中に菌血症を発症, 血液培養からグラム陽性球菌を検出し, 細菌学および遺伝学的検査により *R. mucilaginosa* と同定された。本菌は市販の同定キットに菌名コードが付与されていないものが多いことから, 各種同定キット (PMIC/ID-35, PC.6.1B, GPI カード, API STAPH, API Coryne, rapid ID 32 STREP および N-ID テスト SP-18) を用いて本菌に対する同定性能について検討した。PMIC/ID-35 および GPI カードでは菌名コードが付与されており, 正確に同定された。PC.6.1B では同定不能であり, 他 5 キットでは他のグラム陽性菌種名と誤同定された。以上のことから, 本菌は従来誤同定あるいは同定不能とされていた可能性があり, 口腔内粘膜障害を伴う易感染性患者においては感染症の起原菌の一つとして留意する必要があると考えられた。

**Key words:** *Rothia mucilaginosa*, *Stomatococcus*, 同定キット, 菌血症, 好中球減少症

## 序 文

*Rothia mucilaginosa* は従来 *Stomatococcus mucilaginosus* として知られ, ヒトの口腔内および上気道に常在する通性嫌気性グラム陽性球菌である<sup>1)</sup>。本菌

種による感染症として易感染性宿主における菌血症, 心内膜炎, 髄膜炎および肺炎などの報告が海外で散見されるなか<sup>2~5)</sup>, これまでに本邦における報告はない。このことは本菌種がグラム染色による鏡検所見およびコロニーの形態上類似する Coagulase-Negative Staphylococci (CNS) などの他のグラム陽性ブドウ球菌に誤同定されていたことが一因であると推定される<sup>4)</sup>。このように本菌は感染症の原因菌としての認識が低く, 検査室において用いられるいくつかの自動同定機器および市販の同定キットでは, 本菌種の同定菌種コードが付与されていないために同定が不可能であ

著者連絡先: (〒181-8611) 東京都三鷹市新川 6-20-2  
杏林大学医学部付属病院臨床検査部  
福川陽子  
TEL: 0422-47-5511 (内線 2824)  
FAX: 0422-47-5651  
E-mail: youkorinrin2000@yahoo.co.jp

る。

今回われわれは、急性骨髄性白血病の化学療法中に R. mucilaginosa による菌血症を発症した症例を経験した。本邦第一症例として、症例の詳細および分離菌の細菌学的な特徴を提示するとともに、本菌種に対する各種自動同定機器および同定キットの同定性能を検討したので報告する。

症 例

患者：68歳，男性。

既往歴：睡眠時無呼吸症候群，狭心症，胆嚢摘出。

現病歴：2005年2月に急性骨髄性白血病を発症し，化学療法を施行した。いったん完全寛解となったが，2006年2月に再発し，再度化学療法を施行。寛解に至らないため，2006年12月に化学療法目的で当院に入院となった。

表1. 入院時血液検査所見

血液検査	血算	生化学検査	
RBC	324×10 <sup>4</sup> /μl	TP	6.9 g/dl
Hb	10.3 g/dl	ALB	3.6 g/dl
Ht	29.2%	AST	41 IU/L
WBC	7,200/μl	ALT	47 IU/L
Blast	91.5%	ALP	354 IU/L
Seg	0%	LDH	200 IU/L
Lym	8.0%	UN	18.4 mg/dl
Mono	0.5%	Cr	0.7 mg/dl
Plt	4.4×10 <sup>4</sup> /μl	CRP	11.4 mg/dl

入院時所見：38.2度の発熱があり，重度の歯周炎および口腔内出血を併発していた。入院時の血液検査データを表1に示す。WBC7200/μl (Blast 91.5%)と正常な好中球が減少状態にあり，CRP 11.4 mg/dlと強い炎症反応が認められた。

臨床経過：入院時より cefepime (CFPM) 1g×2/dayの投与が行われた。2006年12月27日から Gemtuzumab ozogamicin による化学療法が開始され，その後さらに好中球減少が進行した。2007年1月5日には Staphylococcus haemolyticus による菌血症を発症し，vancomycin (VCM) 1g×2/day および meropenem (MEPM) 0.5g×2/dayの抗菌薬を用いた治療が行われた。解熱状態が続いたため2007年1月21日より ciprofloxacin (CPFX) 300mg×2/dayの点滴，28日より経口のCPFX 200mg×3/dayへと変更したところ同月31日に再び発熱を認めた。同日に採取された血液培養2セット4ボトルすべてから R. mucilaginosa が分離された。再度 VCM 1g×2/day および CFPM 2g×2/dayによる治療が開始され，菌血症の症状は軽快し2007年2月7日に退院となった(図1)。

材料および方法

1) 供試菌株

本症例の血液培養から分離された R. mucilaginosa 分離菌株は，同定検査(各種同定キットの同定性能の検討を含む)および薬剤感受性試験に供試した。

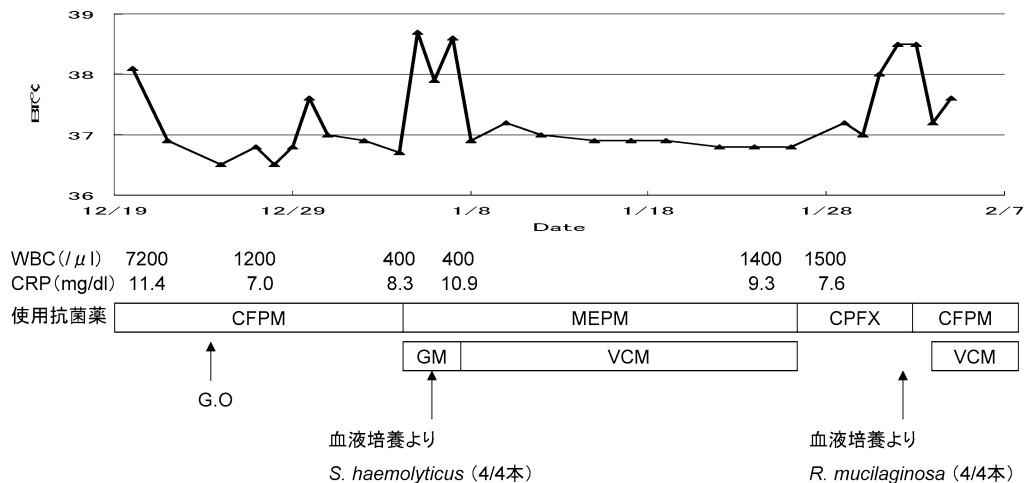


図1. 臨床経過

G.O: gemtuzumab ozogamicin, CFPM: cefepime, MEPM: meropenem, CPFX: ciprofloxacin, GM: gentamicin, VCM: vancomycin

## 2) 血液培養検査

血液培養は自動血液培養装置 BacT/ALERT 3D (シスメックス) にて, BacT/ALERT SN ボトルおよび BacT/ALERT SA ボトル (シスメックス) を用いて検査を行った。血液培養ボトルの培養中に陽性を示したボトル内の液体培地を抜き取り, 継代培養およびグラム染色による菌の性状確認を行った。BacT/ALERT SN ボトルからの継代培地はヒツジ血液寒天培地 M58 (血液寒天; 栄研化学), チョコレート II 寒天培地 (チョコレート寒天; 日本 BD) および BCP 不含 MS-CFX/変法卵黄加マンニット食塩 EX 寒天培地 (MS-CFX/マンニット; 日水製薬) を用いた。また, BacT/ALERT SA ボトルからの継代培地は上記の培地に加え, HK ブルセラ RS 寒天培地 (RS 寒天; 極東製薬) を使用した。培養条件は血液寒天およびチョコレート寒天では 35°C 5% 炭酸ガス培養, MF-CFX/マンニットでは 35°C 好気培養, RS 寒天では嫌気パックパウチ用 (三菱化学ヤトロン) を用いて 35°C 嫌気培養を行った。

## 3) 同定検査

供試菌株の同定は BD Phoenix (日本 BD) の PMIC/ID-35 パネル (日本 BD) を用いた。追加検査としてカタラーゼテスト (オキシドール; シオエ製薬), チトクローム・オキシダーゼテスト (オキシダーゼテスト; 日水製薬) および 5% NaCl 加ブレインハートインフュージョンブロス培地 (BHI; DIFCO) による菌の発育能検査を実施した。さらに, 供試菌株の 16S rRNA を PCR 法で増幅, シークエンス解析により塩基配列を決定した。

## 4) 供試薬剤および薬剤感受性試験

供試薬剤は penicillin G (PCG), oxacillin (MIPIC), VCM, CFPM, MEPM, CPFY および gentamicin (GM) を用いた。薬剤感受性試験は血液加ミューラーヒントン寒天培地 (日水製薬) を用いて, Kirby-

Bauer 法に準拠した SN ディスク (日水製薬) および E テスト (シスメックス) により各供試薬剤の阻止円径および MIC を測定した。

## 5) 各種同定キットの同定性能の検討

供試菌株を対象に PMIC/ID-35 パネル, PC.6.1B パネル (シーメンス), 各 GPI カード (VITEK 1 および VITEK 2), API STAPH, API Coryne, rapid ID 32 STREP (以上シスメックス) および N-ID テスト SP-18 (日水製薬) の 8 キットを用いた。操作は各キットの添付文書に準じて行った。

## 結 果

### 1) 顕微鏡検査

4 本の血液培養陽性ボトルからのグラム染色では, すべてのボトルにおいてグラム陽性ブドウ球菌を確認した。

### 2) 寒天培地上でのコロニーの性状

24 時間炭酸ガス培養下での血液寒天およびチョコレート寒天培地上におけるコロニーの性状は約 1.5 mm 大の灰白色の無色透明スムーズ型を示し, コロニーの釣菌を行った際に, 培地上で強い粘着性を示した (図 2)。72 時間嫌気培養下での RS 寒天培地上のコロニーの性状は血液寒天およびチョコレート寒天培地上と同様であった。また, MS-CFX/マンニット寒天培地では菌の発育を認めなかった。

### 3) 同定検査

BD Phoenix を用いた同定では *R. mucilaginosa* (同定確率 99%) と判定された。追加検査の結果はカタラーゼテスト陰性, オキシダーゼテスト陰性および 5% NaCl 加 BHI ブロスでの発育能陰性であった。また, 16S rRNA 遺伝子塩基配列解析は *R. mucilaginosa* の塩基配列と一致した。

### 4) 薬剤感受性試験

本菌の薬剤感受性試験の結果を表 2 に示す。SN

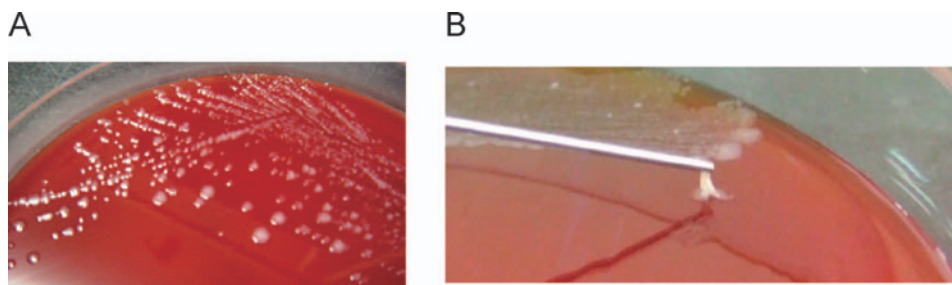


図 2. (A) *Rothia mucilaginosa* のコロニー (ヒツジ血液寒天培地, 炭酸ガス培養, 24 時間), (B) ヒツジ血液寒天培地上で強い粘着性を認めた。

ディスクによる結果はMIPICおよびCPFVでは発育阻止円を認めなかったが、その他の薬剤では15～28 mmの発育阻止円を認めた。Eテストによる結果はCPFVのMIC値が $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ と最も高く、次いでCFPM, MIPICおよびGMの $4 \mu\text{g/ml}$ であり、PCGのMICは $0.25 \mu\text{g/ml}$ と最も低い値であった。

#### 5) 各種同定キットの同定性能の評価

PMIC/ID-35およびGPIカード(VITEK 2)はR. mucilaginosaに対応した菌名コードが付与されており同定が可能であった。一方、菌名コードの付与されていない6キット中5キットでは他のグラム陽性菌種名と判定され、1キットでは同定不能であった(表3)。

表2. *Rothia mucilaginosa* (供試菌株)の薬剤感受性

抗菌薬	SN ディスク	E テスト
	発育阻止円 (mm)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )
Penicillin G	28	0.25
Oxacillin	0	4
Cefepime	19	4
Meropenem	22	1
Gentamicin	15	4
Ciprofloxacin	0	$\geq 32$
Vancomycin	20	0.5

表3. *Rothia mucilaginosa* (供試菌株)に対する各同定キットを用いた同定結果および生化学的性状

キット	使用機器	判定コード	同定コードの有無	同定菌名	同定確率 (%)	PYR*	LAP*	ESC*
PMIC/ID-35	BD Phoenix	表記なし	○	<i>Rothia mucilaginosa</i>	99	+	+	+
PC.6.1B	Walk Away96	102202000	×	非常にまれなバイオタイプ		+	N	-
GPI カード	VITEK 1	50200000000	×	<i>Streptococcus acidominimus</i>	97	-	N	+
GPI カード	VITEK 2	表記なし	○	<i>Rothia mucilaginosa</i>	99	+	+	N
API STAPH	用手	2302130	×	<i>Kocuria kristinae</i>	99	N	N	N
API Coryne	用手	7450121	×	<i>Cellulomonas</i> spp./ <i>Microbacterium</i> spp. および <i>Rothia dentocariosa</i>	56 および 44	+	N	+
rapid ID 32	用手	20023101100	×	<i>Streptococcus pneumoniae</i> / <i>Streptococcus oralis</i>	99	+	N	N
STREP								
N-ID テスト	用手	532464	×	<i>Staphylococcus warneri</i> B	99	N	N	N
SP-18								

○: あり, ×: なし

+: 陽性, -: 陰性, N: 検査項目なし

\*: 本菌種を同定する際に必要な生化学的検査項目

PYR: pyrrolidonyl arylamidase activity, LAP: leucine aminopeptidase, ESC: esculin hydrolysis

#### 考 察

R. mucilaginosa はグラム陽性、無芽胞、莢膜あり、非運動性、コアグラージェテスト陰性およびテトラまたは双球状の球菌である<sup>1)</sup>。本菌による感染症の報告は、造血管腫瘍を伴う患者に多いことが知られており<sup>3,4,9-13)</sup>、治療の過程における化学療法の副作用には高度の好中球減少症や口腔内粘膜障害を発症することが挙げられる。特に口腔内粘膜障害はR. mucilaginosaの血流へのトランスロケーションを起こす原因として高いリスクファクターであると考えられている<sup>3,10)</sup>。2002年に改定された米国の癌を伴う好中球減少症患者における抗菌薬使用ガイドラインには、R. mucilaginosaが好中球減少症における感染症の起原菌の一つとして掲載されており、その重要性が認識されている<sup>14)</sup>。本症例においても感染発症前に好中球数の顕著な減少および重度の歯周炎および口腔内出血が認められており、口腔内の培養検査が未実施であったため断定はできないものの、本菌が口腔内から血流へ進入した可能性が示唆された。また本ガイドラインには2002年以降、感染症の低リスク群における初回予防薬として経口薬のCPFVおよびamoxicillin-clavulanate(成人のみ)の併用投与が推奨されている<sup>14)</sup>。しかしながら、Eiffらの報告では好中球減少症患者由来のR. mucilaginosa分離菌株に対するCPFV, ofloxacinおよびlevofloxacinのフルオロキノロン系抗菌薬のMIC値は健常者由来の分離菌株に

比し、16 倍も高く低感受性であり、これらの抗菌薬に耐性を獲得することを示唆した<sup>15)</sup>。本症例においても本菌による感染発症前に CPFIX が投与されており、かつ薬剤感受性試験の結果において CPFIX に対して低感受性であったことは、これらの報告を支持するものと考えられた。したがって、口腔粘膜障害の強い症例においてフルオロキノロン系抗菌薬投与後に実施された血液培養陽性ボトルからグラム陽性球菌が確認された場合には、本菌である可能性に留意し、詳細な細菌学的検査を行うとともに、適切な抗菌薬の選択を行う必要があると思われる。

本菌は CNS に類似の細菌学的な特徴に加え、カタラーゼ活性が弱いかあるいは認められないために従来 *Staphylococcus*, *Micrococcus* および *Streptococcus* として属レベルで誤同定されている可能性が高いと考えられている<sup>3,4,6)</sup>。今回検討した 8 種類の同定キットのうち、本菌種の同定コードが付与されていたのは PMIC/ID-35 および GPI カード (VITEK 2) の 2 キットのみであった。したがって、同定コードが付与されていないキットを使用している検査室では、*R. mucilaginosa* を誤同定あるいは同定不能とされる可能性が危惧された。それらの同定キットを使用している検査室においては、菌の特徴として①グラム陽性球菌、②血液寒天およびチョコレート寒天培地上に強く附着するコロニーを形成、③カタラーゼテスト弱陽性、④コアグラゼテスト陰性、⑤5% NaCl 発育能陰性に注目することが必要である。これらの特徴から本菌は *Staphylococcus* 属および *Micrococcus* 属と容易に区別することが可能であり<sup>7)</sup>、確認検査として①オキシダーゼテスト (陰性)、②ピリドニルアシルアミダーゼ試験 (陽性)、③ロイシンアミノペプチダーゼ試験 (陽性)、④エスクリン加水分解 (陽性) の追加検査を行う必要がある<sup>8)</sup>。本菌の同定コードが付与されていない同定キットにおいても、これらの検査項目を含むキットがあり (表 3)、それらの結果を加味することにより本菌種を同定することが可能である。しかしながら、検査室の日常業務において本菌種の正確な同定を行うためには、すべての同定キットに本菌種の同定コードが付与されることが望ましいと考えられた。

今後、本邦において *R. mucilaginosa* の検出体制を確立するとともに、口腔内における *R. mucilaginosa* の生息状況、血液培養からの検出動向およびフルオロキノロン系抗菌薬の投与との関連などについて積極的な調査が必要であると思われる。

## 文 献

- 1) Bergan, T., M. Kocur. 1982. *Stomatococcus mucilaginosa* gen. nov., sp. Nov., ep. Rev., a member of the family Micrococcaceae. Int. J. Syst. Bacteriol. 32: 374-377.
- 2) Abraham, J., S. Bilgrami, D. Dorsky, R. L. Edwards, et al. 1997. *Stomatococcus mucilaginosa* meningitis in a patient with multiple myeloma following autologous stem cell transplantation. Bone Marrow Transplantation 19: 639-641.
- 3) Treviño, M., A. García-Zabarte, A. Quintás, et al. 1998. *Stomatococcus mucilaginosa* septicemia in a patient with acute lymphoblastic leukaemia. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 17: 505-507.
- 4) Fanourgiakis, P., A. Georgala, M. Vekemans, et al. 2003. Bacteremia due to *Stomatococcus mucilaginosa* in neutropenic patients in the setting of a cancer institute. Clin. Microbiol. Infect. 9: 1068-1072.
- 5) Korsholm, T. L., V. Kaakr, J. Prag. 2007. Eight cases of lower respiratory tract infection caused by *Stomatococcus mucilaginosa*. Scand. J. Infect. Dis. 39: 913-917.
- 6) Rizvi, M., N. Fatima, I. Shukla, et al. 2008. *Stomatococcus mucilaginosa* meningitis in a healthy 2-month-old child. J. Med. Microbiol. 57: 382-383.
- 7) Michels, F., J. Colaert, F. Gheysen, et al. 2007. Late prosthetic joint infection due to *Rothia mucilaginosa*. Acta Orthop. Belg. 73: 263-267.
- 8) Ruoff, K. L. 2007. Aerococcus, abiotrophia, and other aerobic catalase-negative, Gram-positive cocci. p. 443-454. In: Manual of clinical microbiology, 9th ed. (P. R. Murray, E. J. Baron, M. L. Landry, et al. eds.), American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 9) Granlund, M., M. Linderholm, M. Norgren, et al. 1996. *Stomatococcus mucilaginosa* septicemia in leukemic patients. Clin. Microbiol. Infect. 2: 179-185.
- 10) Gruson, D., G. Hilbert, A. Pigneux, et al. 1998. Severe infection caused by *Stomatococcus mucilaginosa* in a neutropenic patient: Case report and review of the literature. Hematol. Cell Ther. 40: 167-169.
- 11) Goldman, M., U. B. Chaudhary, A. Greist, et al. 1998. Central nervous system infections due to *Stomatococcus mucilaginosa* in immunocompromised hosts. Clin. Infect. Dis. 27: 1241-1246.
- 12) Paci, C., R. Franci, C. Casini, et al. 2000. Treatment of *Stomatococcus mucilaginosa* bloodstream infection in two acute leukemia patients, first reported at our cancer center. J. Chemother. 12: 536-537.

- 13) Lee, A. B., P. Harker-Murray, P. Ferrieri, et al. 2008. Bacterial meningitis from *Rothia mucilaginosa* in patients with malignancy or undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr. Blood Cancer* 50: 673–676.
- 14) Hughes, W., D. Armstrong, G. P. Bodey, et al. 2002. 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin. Infect. Dis.* 34: 730–751.
- 15) Eiff, C., G. Peters. 1998. *In vitro* activity of ciprofloxacin, ofloxacin, and levofloxacin against *Micrococcus* species and *Stomatococcus mucilaginosus* isolated from healthy subjects and neutropenic patients. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 17: 890–892.

A Case of *Rothia mucilaginosa* (*Stomatococcus mucilaginosus*)  
Bacteremia in a Patient with Acute Myelocytic Leukemia and Evaluation  
of the Ability to Identify for This Organism Used Identification Kits

Yoko Fukugawa,<sup>1,2)</sup> Mitsuhiro Okazaki,<sup>1)</sup> Kiyofumi Ohkusu,<sup>3)</sup> Hiroyuki Nishiyama,<sup>4)</sup>  
Yoshimi Higurashi,<sup>5)</sup> Ayako Tanouchi,<sup>1)</sup> Takahiro Okuyama,<sup>1)</sup> Shota Yonetani,<sup>1)</sup>  
Hiroshi Makino,<sup>1)</sup> Noriko Sawada,<sup>1)</sup> Koji Araki,<sup>1)</sup> Nobuyuki Takayama,<sup>6)</sup>  
Takayuki Ezaki,<sup>3)</sup> Hiroaki Ohnishi,<sup>7)</sup> Takashi Watanabe<sup>1),7)</sup>

<sup>1)</sup> Laboratory of Medicine, Kyorin University School of Medicine

<sup>2)</sup> Department of Microbiology and Immunology, Graduate School of Health Care Sciences, Tokyo Medical and Dental University

<sup>3)</sup> Department of Microbiology, Regeneration and Advanced Medical Science, Gifu University Graduate School of Medicine

<sup>4)</sup> Central Clinical Laboratories, Surugadai Nihon University Hospital

<sup>5)</sup> Department of Infection Control and Prevention, University of Tokyo Hospital

<sup>6)</sup> Second Department of Internal Medicine, Kyorin University School of Medicine

<sup>7)</sup> Department of Laboratory Medicine, Kyorin University School of Medicine

*Rothia mucilaginosa* is found in the oral cavity and pharynx of man where it forms part of the normal microflora. This organism is also recognized as an opportunistic pathogen causing bacteremia, meningitis and pneumoniae. We report the first case of bacteremia caused by *R. mucilaginosa* in Japan. A 68-year-old male with acute myeloid leukemia received gemtuzumab ozogamicin therapy. The patient had signs of oral mucositis, and *R. mucilaginosa* was isolated from blood cultures during prophylactic ciprofloxacin. We also evaluated the ability of the following kits to identify *R. mucilaginosa*: PMIC/ID-35, PC.6.1B, GPI card, API STAPH, API Coryne, rapid ID 32 STREP and N-IDtestSP-18. PMIC/ID-35 and GPI card could identify this organism, because they had its bacterial code. PC.6.1B could not identify it, and another kit misidentified it as other gram positive organisms. This study illustrates the possible virulence of *R. mucilaginosa* in immunocompromised host with oral mucositis, and indicates that this organism may be misidentified in the currently used commercial kits.