

[症 例]

Moraxella osloensis による敗血症の 1 例口広智¹⁾・坂田好史²⁾・大楠清文³⁾

1) 公立那賀病院 中央検査科

2) 公立那賀病院 外科

3) 岐阜大学大学院 医学系研究科 病原体制御学分野

(平成 22 年 11 月 7 日受付, 平成 23 年 1 月 26 日受理)

今回われわれは本邦で初めて *Moraxella osloensis* による敗血症を経験した。症例は 78 歳, 男性で食道がんであった。2009 年 7 月に腸閉塞にて当院外科に入院されたが, 治療中に成人呼吸促進症候群となり人口呼吸器管理, 抗菌薬治療が施行されていた。その後炎症反応の悪化が見られ血液培養を施行したところ, グラム染色性と形態が不定の短桿菌が認められた。培養同定検査を進めると *Moraxella* 属であることは判明したが, 菌種の同定に苦慮したため 16S rRNA 遺伝子解析を実施した。そこで塩基配列が *M. osloensis* の基準株と 99.3% 一致したことから本菌種と同定された。上気道などの常在菌の一種と考えられていた本菌でも敗血症が起こりうると証明される貴重な症例であった。本邦では初の報告となるが, 諸外国では免疫不全患者のほかに基礎疾患のない小児での感染症も報告されており, 注意が必要な菌種であると考えられた。

Key words: *Moraxella osloensis*, 敗血症, グラム染色, 16S rRNA

序 文

Moraxella osloensis はヒトの口腔内粘膜などの上気道の常在菌として知られている好気性グラム陰性球桿菌である¹⁾。これまでは病原性が低く感染症の起炎菌として扱われることの少なかった菌種ではあるが, 海外ではまれに菌血症, 髄膜炎などが報告されていた。しかし, われわれが検索し得た範囲内では本邦では感染症の報告はされていなかった。今回われわれは本邦における第一症例として *M. osloensis* による敗血症を経験したので報告する。

症 例

患 者: 78 歳, 男性。

既往歴: 食道がん, 肺気腫, 心不全。

現病歴: 食道がんにて当院内科に通院されていたが, 放射線治療や化学療法を拒否されていた。2009 年 7 月に腸閉塞にて当院外科に救急入院され加療中

であったが, *Candida tropicalis* による中心静脈カテーテル汚染に起因する真菌血症から敗血症を起こし, 成人呼吸促進症候群 (adult respiratory distress syndrome; ARDS) に陥ったため人工呼吸器管理を施行していた。Micafungin (MCFG) 150 mg×9 day, voriconazole (VRCZ) 400 mg×8 day が投与され状態は改善傾向であった。しかし再び 38.6°C の発熱, 白血球数 16,910/μl, CRP が 9.90 mg/dl と炎症反応の上昇を認めたため, 喀痰と中心静脈カテーテル先端の培養検査, そして血液培養 2 セットを施行して tazobactam/piperacillin (TAZ/PIPC) 4.5 g を 1 日 3 回で投与を開始したところ改善傾向を示していたが, 同年 9 月に状態が悪化して永眠された。

細菌学的検査

1. 培養検査

喀痰培養, カテーテル培養では起炎菌を疑う菌種の発育を認めなかった。血液培養 2 セットはレズン入り好気用ボトル BACTEC PLUS Aeobic/F と嫌気ボトル BACTEC PLUS Anaebic/F を使用し, 全自動血液培養装置 BACTEC9050 (日本ベクトン・ディッキンソン, 以下日本 BD) にて培養した結果, 50~60 時間で好気用ボトルの 2 本のみが陽性シグナルを示し

著者連絡先: (〒649-6414) 和歌山県紀の川市打田 1282
公立那賀病院 中央検査科
口広智一
TEL: 0736-77-2019 (内線 1264)
FAX: 0736-77-7171
E-mail: tk_kensa@nagahp.jp

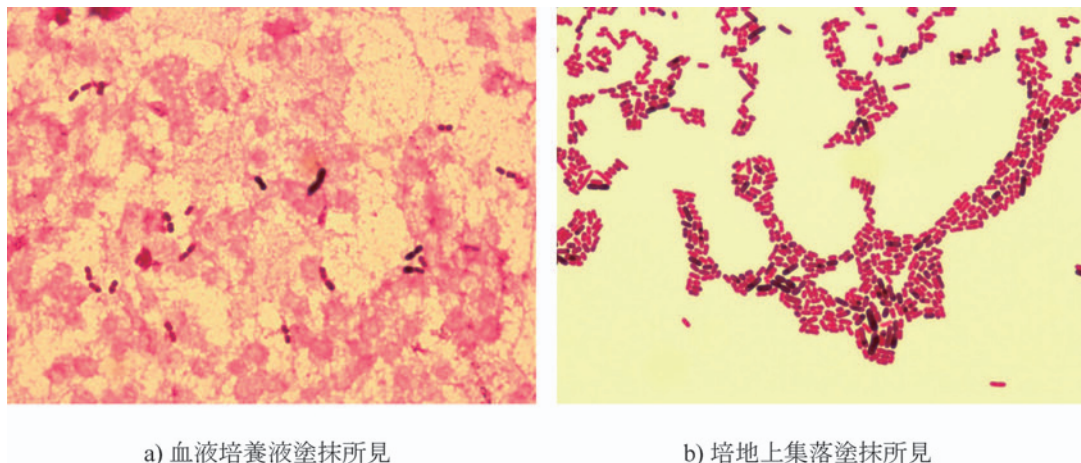


図1. グラム染色像 (B&M 法×1,000)

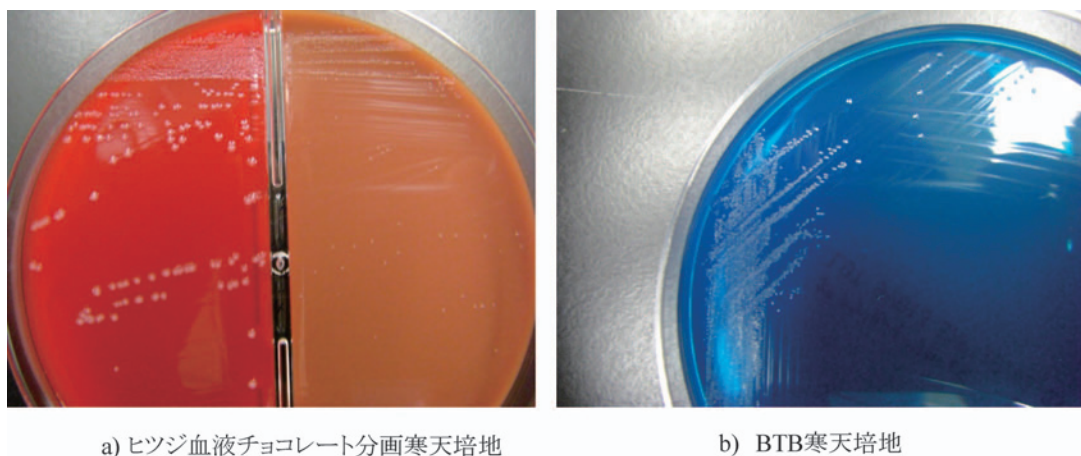


図2. 24 時間培養後の培地上のコロニー

た。培養液のグラム染色は neo-B&M ワコー (和光純薬工業) を用いて実施したが、グラム陰性球桿菌の中にグラム陽性桿菌が混在しているかのような像を認めため、鏡検による菌種の推定は困難であった (図 1a)。サブカルチャーはヒツジ血液チョコレート分画培地 (日水製薬) にて 35°C で好気培養、ドリガルスキー改良培地 (BTB 寒天培地, 栄研化学), クロモアガーカンジダ培地 (関東化学) にて 35°C 好気培養を行った結果、24 時間でヒツジ血液寒天, チョコレート寒天, BTB 寒天に非溶血の白色スムーズ型コロニーが発育した (図 2a, b)。このコロニーのグラム染色像は培養液のグラム染色で見られた像と同様のグラム陽

性桿菌またはグラム陰性球桿菌様であった (図 1b)。

2. 同定検査

発育コロニーは 3% KOH 液を用いた RYU の試験は陰性であったが、カタラーゼテストが陽性、オキシダーゼテストが陽性、vancomycin (VCM) ディスクに阻止円を形成しなかったことからグラム陰性菌であると判断した。そして VITEK2C (シスメックス) の GN カードで同定した結果、94% の確率で *Moraxella* group であると同定された。これ以上詳細な同定は困難であったため 16S rRNA による遺伝子解析を実施した。血液寒天培地上に発育したコロニーを DNA フリーの水に懸濁し、95°C で 5 分加熱した。8,000 回転

4分遠心後、その上清をDNA抽出液として以下の解析に用いた。16S rRNA 遺伝子は、細菌全般を増幅できる8UA (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'), 1485B (5'-TACCGTTACCTTGTTACGAC-3')のプライマーを用いてPCR法で増幅した。PCR反応液はTaKaRa EX-Taq (タカラバイオ)にて調整し、98°C 60秒の変性、98°C 30秒、55°C 30秒、72°C 60秒の条件にて36サイクル、72°C 7分の加熱で行った。増幅産物はアガロースゲル電気泳動にて確認した後、精製した。BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)にてシーケンス反応を行い、ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems)を用いて16S rRNA 遺伝子の塩基配列決定を行った。得られた塩基配列(1,443 bp)についてDNA Date Bank of Japan (DDBJ, http://blast.ddbj.nigac.jp/blast/blast_top-j.jsp)にてBLAST解析を行った。その結果 *M. osloensis* の基準株と99.3%一致したため、本菌種と同定された。

3. 薬剤感受性検査

薬剤感受性試験は同定結果が出る前にヒツジ血液加ミューラーヒントン寒天培地とセンシディスク (日本BD)を用いてディスク拡散法にてスクリーニング的に阻止円を測定したが、菌種判明後に栄研ドライブプレート (栄研化学)の当院オーダーパネルを用いてClinical Laboratory Standards Institute (CLSI)の *Moraxella catarrhalis* の勧告法に準拠してMICを測定した(表1)。本菌は多くの薬剤に感受性を示したが、sulfamethoxazole/trimethoprimには耐性であった。またセフィナーゼディスク (日本BD)が陽性であり、 β -ラクタマーゼの産生が示唆された。

考 察

Moraxella 属は鼻腔や口腔粘膜などの上気道の常在菌の一種であり、現在7菌種に分類されている¹⁾。病原菌としては呼吸器感染症の原因となる *M. catarrhalis* や、ときに結膜炎を起こす *Moraxella lacunata* などが知られている。しかし今回分離された *M. osloensis* をはじめその他の菌種は、感染症の起炎菌となることは極めてまれであり、常在菌の一つとして取り扱われてきた。

M. osloensis は好気性グラム陰性短桿菌または球桿菌であり、非運動性のブドウ糖非発酵菌の一種である。今症例でのグラム染色像はグラム陽性桿菌とグラム陰性桿菌の2菌種混在しているかのような像を示し、大きさも長短さまざまであった。脱色不足によるクリスタルバイオレットの残留も考えられたため脱色時間を2倍に延長してみたが、染色像に変化は認めなかった。そこでグラム染色性の分類を目的としてVCMディスクでの感受性スクリーニング検査を実施してみたところ、阻止円を全く形成しなかったためグラム陰性菌であると判断できた。VCMはグラム陽性菌にのみ抗菌活性を示すため、阻止円を形成せず耐性であればグラム陰性菌であることが推定できる。もちろん例外であるバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)や *Leuconostoc* 属などのVCM耐性グラム陽性菌を考慮する必要はあるが、本菌種のような染色性が不定な場合の判定には有用な方法であると考えられる。グラム染色性の判定を誤ると誤同定に陥る可能性があるため、染色性の判定時には注意が必要である。本症例と同様に本菌のグラム染色による形態と染色性が不均一であった²⁾との報告がされており、鏡検での菌種判定には注意が必要な菌種であると考えられた。

表1. *Moraxella osloensis* の薬剤感受性結果

Antimicrobial agent	MIC (μ g/ml)	Disk diffusion method (mm)
Ampicillin (ABPC)	1	19
Ampicillin/sulbactam (ABPC/SBT)	1/0.5	23
Piperacillin/tazobactam (PIPC/TAZ)	\leq 8/4	33
Cefazolin (CEZ)	$>$ 2	6
Cefotiam (CTM)	$>$ 2	6
Cefotaxime (CTX)	0.5	23
Cefditoren pivoxil (CDTR-PI)	0.25	13
Azithromycin (AZM)	\leq 0.25	31
Clindamycin (CLDM)	$>$ 4	13
Meropenem (MEPM)	\leq 0.06	20
Levofloxacin (LVFX)	\leq 0.12	26
Minocycline (MINO)	\leq 0.25	23
Sulfamethoxazole/trimethoprim (ST)	$>$ 38/2	6

表 2. *Moraxella* 属の生化学性状

Test	<i>Moraxella atlantae</i>	<i>Moraxella canis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Moraxella lincolni</i>	<i>Moraxella nonliquefaciens</i>	<i>Moraxella osloensis</i>
Growth on MacConkey	80	100	5	2	0	8	70
Simmons citrate	0	0	0	0	0	0	0
Urea, Christensen's	0	0	68	0	0	0	0
Nitrate reduction	0	100	92	98	0	95	24
Nitrite reduction	3	ND	86	0	0	0	0
H ₂ S (lead acetate paper)	61	100	73	34	0	83	74
Gelatin hydrolysis	0	0	0	42	0	0	0
Sodium acetate alkalization	ND	ND	ND	0	0	0	100
Dnase	0	100	100	0	0	0	0

注 1: 文献 1 より一部引用

注 2: 表中の数字は陽性率を示す。

表 3. *Moraxella osloensis* による感染症報告の詳細

Reference	Year	Age/Sex	Underling disease	Specimen	Diagnosis	Treatment
7	1974	4/M	None	CSF	Meningitis	Penicillin + chloramphenicol
8	1976	4/F	None	CSF	Meningitis	Penicillin
9	1982	66/M	Porcine aortic valve	Blood	Endocarditis	Penicillin + oxacillin + tobramycin
10	1982	34/M	Paraplegia, decubitus ulcers	Bone	Osteomyelitis	Ampicillin
11	1993	71/F	Chronic parenteral nutrition, central venous catheter	Blood	Bacteremia	Gentamycin
12	2000	2/M	Reactive airway disease	Blood	Bacteremia	Cefuroxime + trimethoprim-sulfamethoxazole
13	2001	6/F	None	Lung tap	Pneumonia	Penicillin
2 ^{a)}	2004	23/M	Large cell lymphoma	Blood, CVC	Bacteremia CVC infection	Ciprofloxacin + Vancomycin
2 ^{a)}	2004	59/M	Lymphoma, stem cell transplant with skin GVHD	Blood	Bacteremia CVC infection	Ampicillin + Ceftriaxone
4	2010	4/F	None	CSF	Meningitis	Cefotaxime + ampicillin
4	2010	15/M	None	CSF	Meningitis	Ceftazidime + netilmicin
4	2010	81/M	Pancreatic cancer, liver cirrhosis	CSF	Meningitis	Cefotaxime
14	2010	3/M	Reactive airway disease	Blood	Bacteremia	Piperacillin/tazobactam

CSF: Cerebrospinal fluid, CVC: Central venous catheter, GVHD: Graft-vs.-host disease

^{a)} 文献 2 からはカテーテル感染 10 例のうち、血液培養から菌が分離された 2 症例のみを引用した。

培養では血液寒天, チョコレート寒天, BTB 寒天などに発育したが, 血液寒天での発育が最も良好であった。培養は容易であったものの同定は困難であり, 現在の自動同定機器や同定キットを使用しても菌種の同定までは難しいと思われた。1980 年代から細菌分類は 16S rRNA の塩基配列に基づき系統的に分類体系が再構築されており³⁾, 1990 年代から PCR などの遺伝子技術は急速な進歩を遂げてきた。そして現在では菌種同定に 16S rRNA や *dnaJ* などのハウスキーピング遺伝子の解析が用いられるようになってきた。この

技術の進歩と普及によりこれまで同定が困難であった菌種でも同定ができるようになってきている。2004 年の Han ら²⁾ による 10 例のカテーテル感染症の報告では, 同定はすべて 16S rRNA 解析を用いている。2010 年の Kyoung ら⁴⁾ は同定に苦慮した症例として報告しているが, ここでも 16S rRNA による遺伝子解析による同定を使用していた。これらのことから 16S rRNA 遺伝子解析は, 本菌種を含め同定困難な菌種の同定には非常に有用な方法であると言える。この生化学性状による同定が困難であることが本菌種の感

染症報告が少ない一因と思われるため、今後症例報告が同定技術の進歩により増加してくることも推測される。

後日 *M. osloensis* が生化学性状として酢酸アルカリ化試験が陽性となる特徴をもつ (表2) ことが判明したため、この試験を酢酸ナトリウム培地 (日本BD) を用いて実施したところ、本菌も陽性を示した。本来酢酸アルカリ化試験は酢酸塩培地を用いて大腸菌と赤痢菌の鑑別に使用される⁵⁾ が、他の *Moraxella* 属にこの試験で陽性を示す菌種は少ないため本菌の同定にも有用な性状試験であると思われる。

薬剤感受性試験では本菌は多くの薬剤に感受性を示したため、抗菌薬選択にあまり苦渋することはないものと思われる。今回当院ではTAZ/PIPCによる治療から境域抗菌薬への変更 (de-escalation) を実施しなかった。*M. osloensis* はペニシリン感受性菌であると報告されている⁶⁾ が、今回本菌においてはβ-ラクタマーゼの産生が示唆されたためである。今回の感受性試験でもampicilinのMICは1.0 μg/mlを示したため抗菌薬治療効果は期待できたものの、β-ラクタマーゼの存在が示唆されたため単剤ペニシリン系抗菌薬の使用には注意が必要であると考えられた。

本菌による感染症の報告は少ないが、文献を検索すると髄膜炎、肺炎、骨髄炎、菌血症などが報告されていた^{2, 4, 7~14)} (表3)。これらの報告によると、腫瘍などの基礎疾患を有する低免疫患者の日和見感染と思われる菌血症が4例あり、うちカテーテル菌血症が3例、感染性心内膜炎が1例であった。ほかにも骨髄炎が1例報告されていた。しかし、免疫低下を伴わない小児においても髄膜炎が4例、敗血症が2例、肺炎が1例報告されており、症例の半数以上を占めていた。免疫低下による日和見感染以外でも小児において感染症を起こす可能性があるため注意が必要であると思われる。本症例では中心静脈カテーテル、人工呼吸器、膀胱留置カテーテルと複数のデバイスが使用されていたが、尿路感染の兆候はなく、喀痰や中心静脈カテーテル先端の培養から有意な菌は検出されなかった。そのことから本症例は、進行した腫瘍付近での粘膜バリア機能低下が侵入門戸となり、敗血症に至った日和見感染であったと推測された。

結 語

M. osloensis は上気道などの常在菌の一種と考えられていたが、敗血症などを起こすことがある。グラム染色性と形態が不定であり同定も困難であるため、鏡検時の菌種の推定や誤同定に注意する必要がある菌種

である。本邦初の感染症の報告であるため、貴重な症例であると考え報告した。

なお、本論文の要旨は第21回日本臨床微生物学会総会 (東京、2010年1月) において発表した。

文 献

- 1) Schreckenberger, P. C., M. I. Daneshavar, R. S. Weyant, et al. 2003. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella* and other non-fermentative Gram-negative rods. In: Manual of Clinical Microbiology. p. 754-757, (P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, et al. ed.), American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 2) Han, X. Y., J. J. Tarrand. 2004. *Moraxella osloensis* blood and catheter infections during anti-cancer chemotherapy: Clinical and microbiologic studies of 10 cases. *Am. J. Clin. Pathol.* 121: 581-587.
- 3) Woese, C. R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiol., Rev.* 51(2): 221-271.
- 4) Kyoung, H. R., K. K. Chang, K. Eunmi, et al. 2010. Three cases of *Moraxella osloensis* meningitis: A difficult experience in species identification and determination of clinical significance. *J. Korean Med. Sci.* 25: 501-504.
- 5) 岡田 淳, 橋本雅一, 坂井千三, 他. 1997. 微生物学基本操作. 微生物学臨床微生物学: 151, 医歯薬出版, 東京.
- 6) Rosenthal, S. L., L. F. Freundlich, G. L. Gilardi, et al. 1978. *In vitro* antibiotic sensitivity of *Moraxella* species: Chemotherapy 24: 360-363.
- 7) Berger, U., M. Kreissel. 1974. Meningitis due to *Moraxella osloensis*. *Infection* 2: 166-168.
- 8) Fritsche, D., H. Karte, E. der Solar. 1976. *Moraxella osloensis* as pathogen in septicemia. *Infection* 4: 53-54.
- 9) Stryker, T. D., W. J. Stone, A. M. Savage. 1982. Renal failure secondary to *Moraxella osloensis* endocarditis. *Johns Hopkins Med. J.* 150: 217-219.
- 10) Sugarman, B., J. Clarridge. 1982. Osteomyelitis caused by *Moraxella osloensis*. *J. Clin. Microbiol.* 15: 1148-1149.
- 11) Buchman, A. L., M. J. Pickett, L. Mann, et al. 1993. Central venous catheter infection caused by *Moraxella osloensis* in a patient receiving home parenteral nutrition. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 17: 163-166.
- 12) Shah, S. S., A. Ruth, S. E. Coffin. 2000. Infection due to *Moraxella osloensis*: Case report and review of the literature. *Clin. Infect. Dis.* 30: 179-181.
- 13) Vuori-Holopainen, E., E. Salo, H. Saxon, et al.

2001. Clinical pneumococcal pneumonia due to *Moraxella osloensis*: Case report and a review. Scand. J. Infect. Dis. 33: 625-627.
- 14) Dien Bard, J., M. Lewinski, P. H. Summanen, et al. 2010. Sepsis with prolonged hypotension due to *Moraxella osloensis* in a non-immunocompromised child. J. Med. Microbiol.

A Case of Sepsis Caused by *Moraxella osloensis*

Tomokazu Kuchibiro,¹⁾ Yoshifumi Sakata,²⁾ Kiyofumi Ohkusu³⁾

¹⁾ Department of Clinical Laboratory, Naga Municipal Hospital

²⁾ Department of Surgery, Naga Municipal Hospital

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

Moraxella osloensis is a part of the normal flora of the human respiratory tract, rarely caused infection. We report the first case of sepsis caused by *M. osloensis* in Japan. The patient is a 78-year-old man, who was clinically diagnosed with esophageal cancer. He was hospitalized with ileus in the surgery section in July, 2009. He became adult respiratory distress syndrome during treatment, and antimicrobial treatment was given. Gram-variable coccobacilli and large bacilli were detected on smear of a blood culture. The biochemical profile of the isolate produced by a Vitek2 compact identification system disclosed *Moraxella* species. The organism is difficult to identify because of presence of several other species with similar phenotypic characteristics. However, the isolate was identified as *M. osloensis* by means of nucleotide sequencing analysis of bacterial 16S rRNA gene.