

[症例報告]

ヒルシユスプルング病類縁疾患患者における *Rhodotorula mucilaginosa* による
カテーテル関連血流感染の1例

大柳忠智¹⁾・高木妙子¹⁾・青柳恵美子¹⁾・黒沢未希¹⁾
積田奈津希¹⁾・竹村 弘²⁾・秋田博伸³⁾

¹⁾ 聖マリアンナ医科大学病院臨床検査部

²⁾ 聖マリアンナ医科大学微生物学教室

³⁾ 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院小児科

(平成 25 年 7 月 17 日受付, 平成 25 年 11 月 18 日受理)

ヒルシユスプルング病類縁疾患のため中心静脈栄養 (Intravenous Hyperalimentation : IVH) カテーテルを導入している患者での *Rhodotorula mucilaginosa* によるカテーテル関連血流感染 (catheter related blood stream infection : CRBSI) を経験した。症例は 25 歳, 男性。生下後すぐにヒルシユスプルング病類縁疾患と診断され, 人工肛門造設手術が施行された。その後, 短腸症候群となり, 在宅での IVH カテーテル管理となった。2009 年 2 月に発熱, 発赤, 倦怠感を認めたため, 当院外来を受診し, 精査加療目的で入院となった。入院時に提出された血液培養が 2 日後に陽性となり, グラム染色にて酵母様真菌が認められ, 特徴的なサーモンピンク色の集落所見より *Rhodotorula* 属が疑われた。菌種は Rap ID Yeast Plus, rDNA の internal transcribed spacer (ITS) 領域の塩基配列による系統解析を実施したところ *R. mucilaginosa* と同定され, その後提出された IVH カテーテルからも同菌が検出されたため, 本菌による CRBSI と診断された。追加同定試験として質量分析による菌種同定を行い *R. mucilaginosa* と同定された。血中 β -D グルカン測定, 血中カンジダ抗原検査を行ったがともに陰性であった。治療薬剤として amphotericin B が静注され, IVH カテーテルの抜去により改善が認められた。諸外国では同様の報告はみられるが, 本邦での報告例は少ない。高度の免疫不全患者により酵母様真菌が検出された際は, 本菌が原因菌である可能性を考慮する必要がある。治療の際は菌種の同定と薬剤感受性検査による, 適切な抗真菌薬の選択が必要であると思われる。

Key words: *Rhodotorula mucilaginosa*, カテーテル関連血流感染, ヒルシユスプルング病類縁疾患, β -D グルカン

序 文

Rhodotorula 属は担子菌系の不完全酵母で, 細胞の形態および生化学的性状は *Cryptococcus* 属に類似している。菌体は球形から伸長形で, 莢膜を持ち, 仮性菌糸は見られないか未発達である。環境下では土壌,

空中, 水中に生息していて, カルチノイド色素を産生するため, 特徴的なサーモンピンク色を呈する集落となる¹⁾。*Rhodotorula* 属は 2010 年までに 49 菌種が報告されており²⁾, このうち臨床材料から分離される菌のほとんどは *Rhodotorula mucilaginosa* であり, ついで *Rhodotorula glutinis* が多い³⁾。ヒトへの感染は, 白血病⁴⁾, AIDS⁵⁾ などの免疫不全患者³⁾ に多く見られ, 敗血症, 腹膜炎⁵⁾, 心内膜炎⁶⁾, 脳膜炎, 眼内炎³⁾などを起こし, その多くは中心静脈カテーテルなどの医療機器関連感染である。今回我々は, ヒルシユスプルング病類縁疾患患者の血液培養, カテーテル培養より *R. mucilaginosa* を分離した症例を経験したので報告す

著者連絡先: (〒216-8511) 神奈川県川崎市宮前区菅生 2-16-1
聖マリアンナ医科大学病院臨床検査部
大柳忠智
TEL: 044-977-8111 (内線 3830)
FAX: 044-977-8333

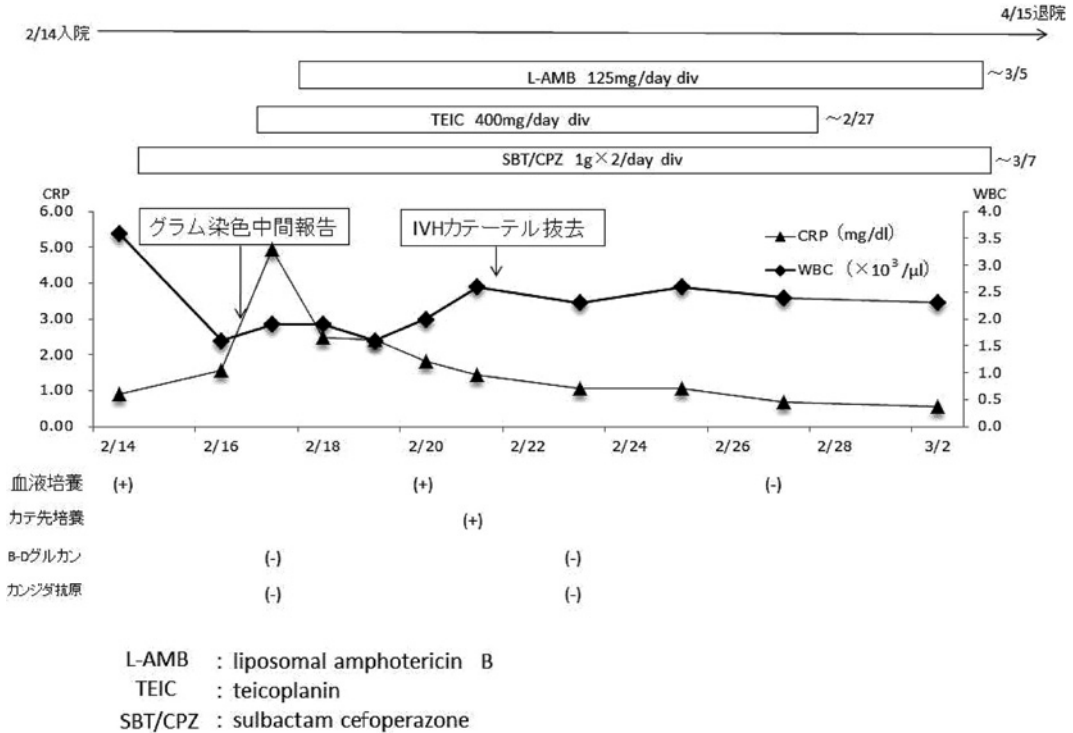


図1. 入院後経過

る。

1. 症例

患者：25歳，男性。

既往歴：C型肝炎，脾腫。

家族歴：特記すべきことなし。

主訴：発熱，カテーテル刺入部の発赤，倦怠感，関節痛。

現病歴：生下後すぐに腸管壁内神経細胞の先天的欠落が認められるヒルシュスプルング病類縁疾患と診断され，人工肛門が造設された。小腸に十分な長さがないため栄養不良におちいる短腸症候群となり，中心静脈栄養 (Intravenous Hyperalimentation：IVH) カテーテルが挿入された。以降，在宅にて管理を行っていたが，入れ替えや感染による状態の悪化のため入退院を繰り返していた。2009年2月14日に発熱，カテーテル刺入部の発赤，倦怠感を認め，当院の外来を受診，精査加療目的で入院となった。

入院時検査所見：白血球 3,600/μl (桿状核好中球 6%，分葉核好中球 52%，リンパ球 39%，単球 1%，好酸球 1%，異型リンパ球 1%)，Hb 10.6 g/dl，血小板

86,000/μl と汎血球減少が認められた。また，AST 32 IU/l，ALT 33 IU/l，γ-GTP 138 IU/l と軽度の肝機能障害と，CRP 0.91 mg/dl と軽度の炎症反応の上昇を認めた。

臨床経過 (図1)：入院時，腹腔内感染を考慮して sulbactam/cefoperazone 1 g x 2 回/day の点滴静脈投与が開始された。入院時に採取した血液培養が第3病日に陽性となり，グラム染色結果より酵母様真菌が疑われたため，liposomal amphotericin B 125 mg/day の点滴静脈投与が開始された。以前から繰り返す表皮ブドウ球菌による感染を考慮して teicoplanin 400 mg/day も追加投与された。第7病日に再度，血液培養検査を2セット施行し，第9病日に両セットからも同一菌が検出された。第8病日には IVH カテーテルの抜去を行い，カテーテルからも同一菌が検出された。入院時の血液培養と，その後抜去されたカテーテル培養より *R. mucilaginosa* が検出されたため，本菌による CRBSI と診断した。その後，炎症反応の改善が認められ，第14病日に行った血液培養も陰性となり，抗菌薬終了後も再燃が見られなかったため，基礎疾患の治療とカテーテルの再挿入を行い，退院となった。

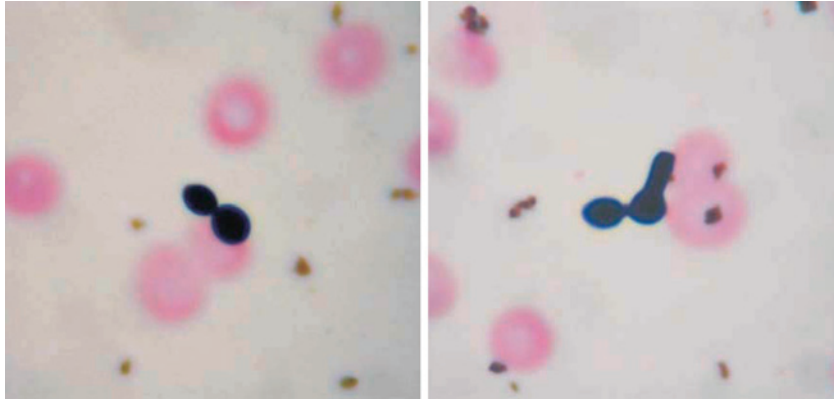


図 2. 血液培養ボトルからのグラム染色像 (×1,000)

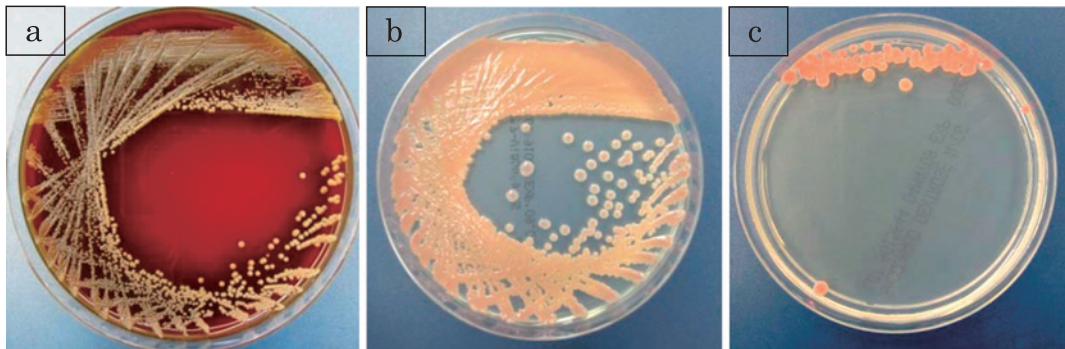


図 3. 血液寒天培地：25℃ 1 週間培養 (a)

ポアメディア Vi カンジダ寒天培地：25℃ 48 時間培養 (b)

サブローデキストロース CG 寒天培地：25℃ 1 週間培養 (c)

II. 微生物学検査

1. 培養検査

血液培養は好気用 FA 培養ボトル (シスメックスバイオメリュー) と嫌気用 FN 培養ボトル (シスメックスバイオメリュー) を使用し、全自動血液培養装置バクテアラート 3D (シスメックスバイオメリュー) にて培養を行った。入院時に採取した血液培養ボトルのうち、好気用 FA 培養ボトルのみが約 48 時間後に陽性シグナルを示した。培養液のグラム染色は、Bartholomew & Mittewer (B&M) 変法を用いて行った。仮性菌糸のない、やや楕円形のグラム陽性酵母様真菌が観察された (図 2)。莢膜らしき所見は観察されなかったため、*Candida* 属を主とした酵母様真菌として検査を行った。

2. 分離培養検査 (図 3)

5% 羊血液寒天培地 (日本ベクトン・ディッキンソ

ン)、サブローデキストロース CG 寒天培地 (日本ベクトン・ディッキンソン)、ポアメディア Vi カンジダ寒天培地 (栄研) を使用し、35℃ 好気環境下で培養を行ったが、菌の発育が悪かったため、25℃ 好気環境下の培養に変更した。血液寒天培地では 48 時間で微小なコロニーが発育し、1 週間培養を続けると直径約 1 mm、淡いピンク色、S 型、乾いた質感のコロニーとなった。サブローデキストロース CG 寒天培地では 48 時間で直径約 1 mm の明るいサーモンピンク色、艶々した質感のコロニーが発育し、1 週間培養を続けるとさらに鮮やかなピンク色で、厚みのあまりない S 型のコロニーとなった。ポアメディア Vi カンジダ寒天培地では 48 時間で直径約 2 mm、明るいサーモンピンク色を呈し、S 型、艶々した質感のコロニーとなった。分離培養検査結果より *Rhodotorula* 属が推定された。

表 1. 薬剤感受性結果

Antifungal agent	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
amphotericin B	0.25
flucytosine	≤ 0.125
fluconazole	> 64
miconazole	> 16
micalfungin	> 16
itraconazole	2
voriconazole	2

3. 血清学的検査

第4病日に行った血中(1→3)- β -D グルカン測定(和光純薬)の結果は検出限度以下であり、血中カンジダ抗原検査(極東)も陰性だった。IVH 抜去後の第10病日に再度、血中 β -D グルカン測定と血中カンジダ抗原検査を行ったがいずれも陰性であった。

4. 同定検査

生化学的性状は酵母様真菌用同定キットである Rap ID Yeast Plus (Remel: version 1.0.76) を使用し行った。キットの判定結果は *Rhodotorula rubra* (Microcode: 042047, Probability: $> 99.9\%$, Bioscore: 1/20) と同定された。キットに含まれるすべての糖の分解能は陰性であり、担子菌系に特徴である尿素分解能が陽性であった。rDNA の internal transcribed spacer (ITS) 領域の塩基配列による系統解析を行った結果、*R. mucilaginosa* と同定された。質量分析での結果は、MALDI Biotyper (BRUKER) では *R. mucilaginosa* (SCOREVALUE 1.788), VITEK MS (シスツメックスバイオメリュール) では *R. mucilaginosa* (信頼値 99.9%) と同定された。

5. 薬剤感受性検査(表1)

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) で検査方法が記載されていない菌属のため、酵母様真菌薬剤感受性キット ASTY (極東) にて添付文書に従って、微量液体希釈法にて MIC を測定した。MIC は amphotericin B が $0.25 \mu\text{g/ml}$, flucytosine が $\leq 0.125 \mu\text{g/ml}$ と低値、fluconazole が $> 64 \mu\text{g/ml}$, miconazole が $> 16 \mu\text{g/ml}$, micafungin が $> 16 \mu\text{g/ml}$ と高値であった。薬剤感受性検査の標準方法、判定基準がないため、48時間後に判定した MIC を参考値として臨床へ報告した。

III. 考察

今回、ヒルシスプルング類縁疾患患者における *R. mucilaginosa* による CRBSI の症例を経験した。ヒル

シュプルング病は出生 5,000 人に 1 人の割合で発生する先天性疾患で、腸管内神経節細胞の欠如により無神経節腸管での蠕動運動が障害され、便秘や腸閉塞症状を呈する。ヒルシスプルング病類縁疾患は腸管神経系が存在するにもかかわらず機能性腸閉塞症状を呈する疾患の総称であり、ヒルシスプルング病よりも発生頻度はかなり低い⁶⁾。診断には腸全体の検査が必要であり、多くの場合は外科的な手術による小腸瘻や人工肛門の造設が必要となる⁷⁾。また短腸症候群のため、栄養管理に中心静脈カテーテルを必要とする場合が多い。一般に在宅中心静脈栄養法 (Home Parenteral Nutrition: HPN) の管理は負担が大きく、長期カテーテルの留置が必要になるため、トラブルや敗血症の回数が増えることが報告されている⁸⁾。当院での HPN における感染対策として、患者ごとにルートの準備から接続、交換方法、消毒、異常時の対応等のマニュアルを作成し、指導を行っている。挿入部位の汚染、感染兆候の確認を毎日行うことは極めて重要であるが、カテーテル感染を完全に防ぐことは困難である⁹⁾。*R. mucilaginosa* の症例の多くは IVH カテーテルなどの人工物が挿入されている患者で³⁾、IVH 管理はきわめて重要な危険因子であると考えられる。また今回検出された *Rhodotolula* 属は環境に生息する菌であり¹⁾、風呂場などの身近な生活環境に多く存在している¹⁰⁾。環境からの感染を防ぐためには、一般の生活環境に多くの微生物が存在することを患者に認識してもらうことが重要である。

Rhodotorula 属はグラム染色での鑑別は不可能であるが、多くの培地での発育が可能で、特に真菌用培地では発育が良く、カルチノイド色素による特徴的なサーモンピンクの発色が容易に観察できる。担子菌系に特徴的なウレアーゼの産生が見られるが、*Cryptococcus* 属と違い、糖分解を行わず、硝酸塩または亜硝酸塩の還元を行わない点で区別される¹¹⁾。また、キットでの同定が可能であり、今回使用した Rap ID Yeast Plus だけでなく、他のキットでの同定も可能である⁵⁾。Rap ID Yeast Plus での菌名は *R. rubra* であり、キットでの菌名と遺伝子検査、質量分析と菌名に相違が認められたが、これはキットのデータベースに記載されている菌名の変更が行われていないためであり、*R. rubra* は *R. mucilaginosa* となる以前の菌名である。質量分析による菌種同定の技術が進み、機器を導入する施設も見られてきた。Florian ら¹²⁾は酵母様真菌において、質量分析は遺伝子解析とほぼ同等の種識別の性能を有すると報告しているが、*Rhodotorula* 属においてはサンプル数が少なく、属レベルの不十分な

同定結果しか得ることができていなかった。今回の症例では、2つの質量分析装置を使用し検査を行ったが、MALDI Biotyper では SCOREVALUE が 1.788 と少し低く、属レベルでの一致にとどまり、VITEK MS では信頼度の高い同定結果となった。同定結果の信頼性の違いの理由として、保存株での測定であったためや、菌株の新鮮度や処理などの条件の差によるものなどが考えられる。今回の症例では血液培養陽性から菌種推定までに約 1 週間の時間を要した。一般的な細菌に比べ真菌の同定には時間がかかり、実際の検査の現場において、コロニーの分離培養後すぐに質量分析が行えれば、菌種同定にかかる時間はとても短くなる。さらには血液培養ボトルからの菌種同定の技術と精度が進歩していけば、血液培養陽性後すぐに菌種同定が可能になり、臨床側での治療薬の選択などにとっても有用な検査になる。

真菌細胞壁成分である (1→3)-β-D グルカンの検査は、深在性真菌症の補助診断として有用である。主要細胞壁成分は真菌によって異なり、すべての真菌が β-D グルカンを保有しているわけではなく、接合菌の細胞壁には β-D グルカンは存在しない¹³⁾。Cryptococcus 属には細胞壁成分に β-D グルカンが存在するが、主要成分は(1→6)-β-D グルカンである。また、Cryptococcus 属は厚い莢膜多糖の影響により血液中の (1→3)-β-D グルカンの測定値はあまり上昇しないことが報告されている¹⁴⁾。R. mucilaginosa は Cryptococcus 属と同様に担子菌系であるため、血中の (1→3)-β-D グルカンの上昇が起らなかったのではないと思われる。Obayashi ら¹⁵⁾の報告では今回の症例と同じく、β-D グルカンの上昇はほとんど見られていない。したがって、血液培養のグラム染色にて酵母様真菌が観察され、β-D グルカンの上昇が見られない場合は、R. mucilaginosa の可能性を考える必要があると考えられる。

Rhodotorula 属の薬剤感受性方法は確立されていない。ASTY による感受性結果を参考値として臨床に報告したが、多くの症例では今回の結果と同じく、amphotericin B と flucytosine に感受性があるとの報告がされていた³⁾。Samonis ら¹⁶⁾はカテーテルの抜去のみで血液培養の陰性化が見られた患者の症例を報告している。また患者の基礎疾患の治療が免疫機能の回復につながり、抗真菌薬による治療を必要としないケースも見られる¹⁶⁾。Rhodotorula 属による AIDS 患者や急性リンパ球性白血病患者における髄膜炎の報告はあるが、中枢神経感染症は一般的ではないとされている¹⁷⁾。この Cryptococcus 属との中枢神経系親和性の

違いについては不明であり、今後の研究の成果が待たれる。免疫不全患者や重症感染を疑う症例では、カテーテル抜去とともに適正な抗菌薬の投与が最も効果のある治療であると考えられる。

一般的に、Cryptococcus 属は fluconazole に対して感受性であるが、Rhodotorula 属は fluconazole に対して高い MIC を示す¹⁸⁾¹⁹⁾。Mori ら²⁰⁾は同種造血幹細胞移植で fluconazole や echinocandin 系薬を予防投与薬として使用している患者から本菌が検出されたと報告している。fluconazole などのazole系薬剤は、細胞膜のエルゴステロールの合成を阻害することによって効果を示す。Rhodotorula 属は Cryptococcus 属と違い、細胞膜の排出ポンプの過剰発現や、azole系薬剤の標的分子の欠損・変異など、何らかの耐性機構を持つ可能性が考えられる。また Rhodotorula 属には fluconazole の同系薬である itraconazole, voriconazole などのazole系薬に対して高い MIC を有する株もあるため¹⁸⁾¹⁹⁾、治療の際には注意が必要である。

IV. 結語

R. mucilaginosa によるカテーテル関連血流感染を経験したので報告する。R. mucilaginosa が検出された症例は海外では多く見られるものの、本邦からの報告は少ない。患者の臨床背景を念頭に置き、本菌を含め生活環境に生息する菌を考慮し、適切な抗真菌薬選択が必要であると考えられる。

文 献

- 1) 篠田孝子, 池田玲子, 西川朱實. 1994. 主要病原真菌の検査法. 臨床と微生物 21: 527-531.
- 2) Kurzman, C.P., J.W. Fell, T. Boekhout. 2010. p. 1873-1928, The Yeasts A Taxonomic Study fifth Edition.
- 3) Tuon, F.F., S.F. Costa. 2008. Rhodotorula infection. A systematic review of 128 cases from literature. Rev. Iberoam. Micol. 25: 135-140.
- 4) Chun, J.W., B.N. Kim, Y.S. Kim. 2002. Central venous catheter-related Rhodotorula rubra fungemia. J. Infect. Chemther. 8: 109-110.
- 5) Savini, V., F. Sozio, C. Catavittello, et al. 2008. Femoral Prosthesis Infection by Rhodotorula mucilaginosa. J. clin. Microbiol. 46: 3544-3545.
- 6) 羽鳥麗子. 2011. Hirschsprung 病および Hirschsprung 病類縁疾患. 小児内科 43: 2024-2027.
- 7) 飯田則利, 上村哲郎, 甲斐祐樹, 他. 2006. 在宅栄養管理に移行した Hirschsprung 病類縁疾患患児の問題点. 小児外科 38: 751-758.

- 8) 佐藤百合子, 北川博昭, 脇坂宗親, 他. 2006. Hirschsprung 病類縁疾患の2症例における長期管理上の問題. 小児外科 43: 759-763.
- 9) 奥川 周. 2006. 輸液治療と栄養, ライン管理, ICTからの提言. 内科 98: 104-106.
- 10) 濱田信夫. 1999. 浴室のカビ汚染の現状とその対策. 生活衛生 43: 89-96.
- 11) Villar, J.M., C.G. Velasco, J.D.J. Delgado. 2012. Fungemia due to *Rhodotorula mucilaginosa* in an immunocompetent, critically ill patient. J. Infect. Chemother. 18: 581-583.
- 12) Seyfarth, F., C. Wiegand, M. Erhard, et al. 2012. Identification of yeast isolated from dermatological patients by MALDI-TOF mass spectrometry. Mycoses. 55: 276-280.
- 13) 森 健. 2002. 非ウイルス感染症の検査 β -D グルカン. 臨床医 28 (増刊号): 1263-1265.
- 14) 川上小夜子. 2012. 教科書には載ってない臨床検査 Q&A. 臨床検査 56 (11 増刊号): 1238-1239.
- 15) Obayashi, T., K. Negishi, T. Suzuki, et al. 2008. Reappraisal of the Serum (1 \rightarrow 3)- β -D-Glucan Assay for the Diagnosis of Invasive Fungal Infections A Study Based on Autopsy Case from 6 Years. CID. 46: 1864-1870.
- 16) Samonis, G., M. Anatoliotaki, H. Apostolakou, et al. 2001. Transient Fungemia Due to *Rhodotorula rubra* in a Cancer Patient: Case Report and Review of the Literature. Infection 29: 173-176.
- 17) Baradkar, V.P., S. Kumar. 2008. Meningitis caused by *Rhodotorula mucilaginosa* in human immunodeficiency virus seropositive patient. Ann Indian Acad Neurol. 11: 245-247.
- 18) Zaas, A.K., M. Boyce, W. Schell, et al. 2003. Risk of Fungemia Due to *Rhodotorula* and Antifungal Susceptibility Testing of *Rhodotorula* Isolates. J. clin. Microbiol. 46: 5233-5235.
- 19) Krzyściak, P., A.B. Macura. 2010. Drug susceptibility of 64 strains of *Rhodotorula* sp. Wiadomości Parazytologiczne 56: 167-170.
- 20) Mori, T., Y. Nakamura, J. Kato, et al. 2012. Fungemia due to *Rhodotorula mucilaginosa* after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Transpl. Infect. Dis. 14: 91-94.

A case report of catheter-related bloodstream infection by *Rhodotorula mucilaginosa* in a patient with a Hirschsprung's disease-related disorder

Tadatomo Ohyanagi¹⁾, Taeko Takagi¹⁾, Emiko Aoyagi¹⁾, Miki Kurosawa¹⁾,
Natsuki Tsumita¹⁾, Hiromu Takemura²⁾, Hironobu Akita³⁾

¹⁾Department of Clinical Laboratory, St. Marianna University School of Medicine

²⁾Department of Microbiology, St. Marianna University

³⁾Department of Pediatrics, St. Marianna University School of Medicine Yokohama City Seibu Hospital

A 25-year-old male, diagnosed with a Hirschsprung's disease-related disorder, had been treated with an inserted IVH catheter at home. He developed a fever, redness on the skin, and general fatigue. Blood culture isolate from a salmon pink colony was identified as *Rhodotorula mucilaginosa* by a test with an identification kit, Internal Transcribed Spacer domain of ribosomal DNA gene sequence analysis, and mass spectrometry. The tests for blood β -D glucan and *Candida* antigen with the patient were negative. His clinical conditions were ameliorated by intravenous administration of amphotericin B and removal of the IVH catheter. When yeast-like fungus is detected in immunodeficient patients, it is necessary to take into account fungi living in the regular environments, including the fungus observed in the present case, and suitable antimicrobial drug medical treatment is required.