

[症例報告]

血液培養好気ボトルより *Leptotrichia trevisanii* を分離した
多発性骨髄腫患者における菌血症の1例

米玉利準¹⁾・大瀧博文²⁾・中山麻美¹⁾・安藤航平¹⁾・宮崎 崇¹⁾
太田浩敏¹⁾・古田伸行¹⁾・渡邊珠代³⁾・兼村信宏⁴⁾・伊藤弘康⁵⁾
大楠清文⁶⁾・村上啓雄³⁾・清島 満⁵⁾

¹⁾ 岐阜大学医学部附属病院検査部

²⁾ 関西医療大学保健医療学部臨床検査学科

³⁾ 岐阜大学医学部附属病院生体支援センター

⁴⁾ 岐阜大学医学部附属病院輸血部

⁵⁾ 岐阜大学大学院医学系研究科病態情報解析医学分野

⁶⁾ 東京医科大学微生物学分野

(平成 26 年 6 月 17 日受付, 平成 26 年 8 月 5 日受理)

多発性骨髄腫患者の血液培養好気ボトルより *Leptotrichia trevisanii* を分離した菌血症例を経験したので報告する。症例は 64 歳, 女性。多発性骨髄腫の治療目的で入院となり, 自家末梢血幹細胞移植後に発熱を認めたため, 血液培養検査が 2 セット実施された。1 セット目は好気培養ボトルのみにて発育を認め, 2 セット目は嫌気培養ボトルのみにて発育を認めた。グラム染色所見は染色性が不均一の桿菌であった。サブカルチャーにて嫌気培養を実施したところ, 48 時間で集落の発育を認めたが, 生化学的性状を基にした各種同定キットでは, 同定不可であった。そして, 16S rRNA 塩基配列解析の結果 *L. trevisanii* と同定された。これまでに, 造血器腫瘍を基礎疾患に有する患者における本菌の血流感染が数例報告されているため, 菌血症を疑う場合の起炎菌同定に際しては本菌も鑑別に入れ, 微生物検査上の種々の特徴を考慮したアプローチが重要である。

Key words: *Leptotrichia trevisanii*, 酸素耐性嫌気性菌, 多発性骨髄腫

序 文

Leptotrichia 属は通常, 口腔および腸管内に常在する偏性嫌気性の紡錘状のグラム陰性桿菌であり, 免疫能低下患者において歯肉炎, 歯周病, 心内膜, 関節炎および菌血症を起こすことが知られている¹⁾。*Leptotrichia trevisanii* においては, 近年, 血流感染の報告が散見されているが, 健常者における発症はなく, 造血器腫瘍や著明な好中球減少を伴う易感染性宿主にお

ける発症がそのほとんどである^{2)~6)}。また, 生化学的性状を原理とした検査キットのみで本菌を同定することは困難であり, 遺伝学的手法を用いることが必要となるため, 日常検査においては, 特徴的な形態や発育所見を把握しておくことが同定へのアプローチに重要である。今回著者らは, 多発性骨髄腫患者の血液培養好気ボトルより *L. trevisanii* を分離したので報告する。

症 例

64 歳, 女性。他院にて多発性骨髄腫 (Durie-Salmon の病期分類: IIIA, International Staging System: stage III) と診断され, 治療目的で当院へ入院となった。1 ヶ月間の化学療法実施し一旦退院, 外来にて化学療法を継続し, その後, 自家末梢血幹細胞移植目的

著者連絡先: (〒501-1194) 岐阜県岐阜市柳戸 1-1
岐阜大学医学部附属病院検査部
米玉利準
TEL: 058-230-7259
FAX: 058-230-7257
E-mail: yone@gifu-u.ac.jp

のために再入院した。melphalan 大量療法を前処置として移植が行われたが、移植後7日目に発熱を認めた。血液培養を2セット採取した後、meropenem (MEPM) の投与が開始された。同日の血液検査は、白血球数 $50/\mu\text{l}$ (好中球 17.7%), 赤血球数 $2.65 \times 10^4/\mu\text{l}$, ヘモグロビン濃度 8.4 g/dl, 血小板数 $2.8 \times 10^4/\mu\text{l}$ であり、著明な好中球減少を認めた。さらに、CRP 2.67 mg/dl, プロカルシトニン 5.02 ng/dl と上昇を示したため (Table 1), 細菌感染症が疑われた。身体所見に

においては、咽頭痛, 下痢, 粘血便, 肛門痛などの粘膜障害に伴う症状を認めた。その後、血液培養ボトルから *L. trevisanii* が検出され、菌血症と診断し、初期治療期間を含め、meropenem (MEPM) の9日間投与 (0.5 g を1日3回投与) により軽快した。

微生物学的検査

血液培養は、血液培養自動分析装置 BD BACTEC FX システム (Becton Dickinson) にて 92F 好気用レズンボトルおよび 93F 嫌気用レズンボトルを用いて実施した。1セット目は好気培養ボトルのみにて100時間で発育を認め、2セット目は嫌気培養ボトルのみにて131時間で発育を認めた (Table 2)。培養液沈渣のグラム染色を実施した結果、不均一な染色性の細長い桿菌を認めた (Fig. 1-A)。そして、培養液沈渣をトリプチケースソイ 5% 羊血液寒天培地 (Becton Dickinson) およびチョコレート II 寒天培地 (Becton Dickinson) にて炭酸ガス培養を行い、ABHK 寒天培地 (日本製薬) にて嫌気培養を行った。炭酸ガス培養は、両培地ともに96時間で微細な集落を認めたが、発育は著しく不良であった。嫌気培養は、48時間で灰色のラフ型の集落を認め (Fig. 1-B), 集落のグラム染色において培養液沈渣と同様に特徴的な細長い不均一な染色性の桿菌を認めた (Fig. 1-C)。また、炭酸ガス培養および嫌気培養ともに、継代後は48時間の培養にて良好な発育を認めた。分離菌は、カタラーゼ試験陽性、オキシダーゼ試験陰性、スポットインドール試験陰性であり、培地上で vancomycin ディスクに耐性を示したことから、グラム陰性菌の可能性が高いと判断した。

同定検査を Api 20 A, Rapid ID 32 A (Sysmex-bioMérieux), RAID パネル (SIEMENS) にて実施したところ、Api 20 A および RAID パネルでは該当菌名が存在せず、Rapid ID 32A では96.8%の同定確率で *Leptotrichia buccalis* と判定された。しかし、*L.*

Table 1. Clinical laboratory data

Blood chemistry	
Total protein	5.0 g/dl
Albumin	2.8 g/dl
Creatine kinase	32 IU/ml
Aspartate aminotransferase	13 IU/ml
Alanine aminotransferase	12 IU/ml
Lactate dehydrogenase	120 IU/ml
Alkaline phosphatase	217 IU/ml
Amylase	50 IU/ml
Creatinine	0.35 mg/dl
Urea nitrogen	12.8 mg/dl
Total bilirubin	0.5 mg/dl
Sodium	131 mEq/l
Potassium	3.5 mEq/l
Chloride	101 mEq/l
Glucose	144 mg/dl
C-reactive protein	2.67 mg/dl
Procalcitonin	5.02 ng/dl
Peripheral blood	
Erythrocytes	$265 \times 10^4/\mu\text{l}$
Hemoglobin	8.4 g/dl
Hematocrit	23.3 %
Platelets	$2.8 \times 10^4/\mu\text{l}$
Leukocytes	50 μl
Neutrophil	17.7 %

Table 2. Comparison of instruments, culture condition and detection time with literature in blood culture

Author	Number of cases	Instruments	Culture condition	Detection time
Tee W et al. ²⁾	1	BacT/Alert	anaerobic	16 h
Cooreman S et al. ³⁾	1	BacT/Alert	aerobic	NR
Higurashi Y et al. ⁴⁾	2	BacT/Alert	anaerobic	38-42 h
Schrimsher J M et al. ⁵⁾	3	BacT/Alert	NR	28-58 h
Kumagai J et al. ⁶⁾	1	BacT/Alert	NR	NR
This case	1	BACTEC FX	aerobic, anaerobic	100 h, 131 h

NR: not reported.

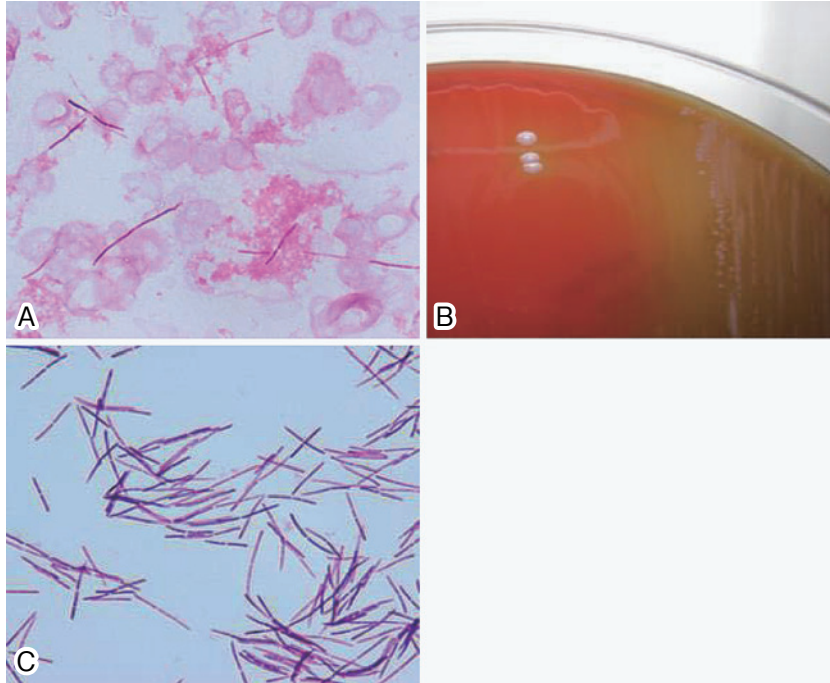


Fig. 1. Morphology of Gram stain and colony of isolated bacterium

(A) Gram-variable bacillus from blood culture bottle was observed (magnification, $\times 1000$). (B) Gray and rough colonies on ABHK agar after 48 h culture at 35°C in anaerobic condition. (C) Gram-variable bacillus from colony was observed (magnification, $\times 1000$).

buccalis の典型的な生化学的性状と比較すると、カタラーゼ試験, α -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase の性状において異なっており, *L. trevisanii* の典型的な生化学的性状と一致していた (Table 3)。そして, 16SrRNA 塩基配列解析による精査を実施したところ, 最終的に *L. trevisanii* と同定された。

薬剤感受性検査は, ドライプレート栄研 DP23 (栄研化学) を用いて実施した。一般的に嫌気性菌全般に対して効果が低いとされている levofloxacin (LVFX) には耐性を示したものの, 他の薬剤では低い MIC 値を示した (Table 4)。また, Cefinase Disk (Becton Dickinson) を用いて β -lactamase 産生の有無を調査したところ, 産生は認められなかった。

考 察

今回著者らは, 多発性骨髄腫患者の血液から *L. trevisanii* を分離した症例を経験した。*Leptotrichia* 属は *Fusobacteriaceae* に分類されている偏性嫌気性グラム陰性桿菌である。本属の一般的な特徴として, 培養初期の株においてグラム染色の染色性が不均一とな

ることや¹⁾, 運動性, 色素産生試験, 硝酸還元試験, インドール試験, オキシダーゼ試験および 20% 胆汁耐性試験が陰性となり, カタラーゼ試験は陽性となることが上げられる⁷⁾。また, 本属は偏性嫌気性菌であるものの, 微好気および炭酸ガス培養でも発育を認める場合がある。本症例においては, 血液培養の好気ボトルおよび嫌気ボトルともに発育を認めたが, 好気ボトルの方が発育陽性までに要した時間が短かったため, 判断に苦慮した。生化学的手法を用いた同定検査においては, Rapid ID 32 A において *L. buccalis* と判定されたものの, 同パネルにおける *Leptotrichia* 属の同定可能菌種は *L. buccalis* のみであり, 得られた生化学的性状を文献と比較すると *L. trevisanii* と合致していた。また, α -glucosidase, β -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase および alkaline phosphatase のすべてにおいて陽性を示すものは, *Leptotrichia* 属の中でも *L. trevisanii* のみであることから (Table 3), これらの生化学的性状の所見は同定に重要であると考えられた。すなわち, 各々の生化学的性状を文献と比較することで *L. trevisanii* の推定同定が可能であった

Table 3. Comparison of isolated bacterium with literature in bacterial biochemical property

Species	β -hemolysis	Catalase	α -Gal	β -Gal	α -Glu	β -Glu	β -NAG	PAL
<i>L. amnionii</i>	ND	-	-	-	-	-	-	+
<i>L. buccalis</i>	-	-	+	-	+	+	-	+
<i>L. goodfellowii</i>	+	+	-	+	-	+	+	+
<i>L. hofstadii</i>	+	+	-	-	+	+	-	+
<i>L. shahii</i>	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>L. wadei</i>	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>L. trevisanii</i>	ND	+	-	-	+	+	+	+
This case	-	+	-	-	+	+	+	+

Data were compiled from reference No. 7.

Symbols: +, positive reaction; -, negative reaction; ND, no data.

α -Gal: α -galactosidase, β -Gal: β -galactosidase, α -Glu: α -glucosidase, β -Glu: β -glucosidase, β -NAG: N-acetyl- β -glucosaminidase, PAL: alkaline phosphatase.

Table 4. MICs of antimicrobial agents for isolated bacterium

Antimicrobial agents	MIC (μ g/ml)
Penicillin	0.25
Ampicillin	0.25
Sulbactam/Ampicillin	≤ 4
Tazobactam/Piperacillin	≤ 16
Sulbactam/Cefoperazone	≤ 8
Clavulanate/Amoxicillin	≤ 2
Ceftizoxime	≤ 2
Ceftazidime	≤ 1
Cefepime	≤ 1
Cefmetazole	≤ 1
Flomoxef	≤ 1
Imipenem	0.5
Meropenem	≤ 0.25
Minocycline	≤ 0.25
Clindamycin	≤ 0.12
Chloramphenicol	4
Levofloxacin	> 2

め、同定コードだけで判定を行うのではなく、生化学的性状の詳細な確認をする必要性が改めて示唆された。

造血器腫瘍患者では移植前の化学療法や放射線治療によって粘膜障害をきたすことが多い。本症例においても、粘膜毒性の強い melphalan が大量に投与されており、咽頭痛や肛門痛、下痢といった粘膜障害を示唆する所見が認められた。この粘膜障害が原因となり、口腔や腸管の常在菌である本菌が bacterial translocation によって血流感染を起こしたと考えられた。これまでの報告において、嫌気性菌による血流感

染のうち *Leptotrichia* 属の占める割合は 7.3% であるというデータがあり⁸⁾、*L. trevisanii* による菌血症に関しては、造血器腫瘍に対する化学療法や骨髄移植後、消化器系腫瘍の手術後などの易感染性宿主における発症が多い^{2)~6)}。このような患者背景において今回の症例のようなグラム染色不均一の桿菌を認めた場合は、*Leptotrichia* 属を感染症の起炎菌として考慮する必要がある。

本症例では、BD BACTEC FX システムを使用し、1セット目は好気ボトルのみ、2セット目は嫌気ボトルのみ陽性となった。本菌による血流感染症は、文献上 8 症例報告されており、すべての症例において BacT/Alert (Sysmex-bioMérieux) にて培養開始後 16~58 時間で発育を認めている。そして、そのうち 1 症例で好気ボトルから検出されている³⁾。これまでに、BD BACTEC FX システムにおける検出例がないことや陽性検出時間が文献と比較し遅いことから (Table 2)、血液培養機器およびボトルの種類における検出感度の違いが推察された。また、今回は、好気ボトルにおける発育を嫌気ボトルより先に認めたが、一般的な好気性菌では認められない形態であったことから嫌気性菌を念頭に置くことができた。よって、本菌を同定する場合は、特徴的なグラム染色像、酸素耐性の性質、血液培養の陽性検出時間および患者背景などを十分考慮して注意深く検査を進めていくことが極めて重要であると考えられた。

造血器腫瘍患者における移植後の細菌感染症の治療には、第 4 世代セファロsporin 系抗菌薬や広域スペクトラムを有するカルバペネム系抗菌薬が多くの症例で使用されている。本症例でも MEPM が初期治療として使用された。そして、早期の同定が困難であった

ことから、抗菌薬の変更が行われることなく治療が継続され、軽快に至った。今回の薬剤感受性結果ではLVFXを除く抗菌薬は低いMIC値を示した。これまでの報告においても、一般的に嫌気性菌の治療に使用されるpenicillinやcarbapenem, metronidazole, clindamycin等の抗菌薬に対する耐性は確認されていない³⁾。また、ニトロセフィン法による β -lactamase産生を確認したところ陰性であった。しかし、偏性嫌気性のグラム陰性桿菌においては*Bacteroides*属や*Prevotella*属、*Fusobacterium*属の β -lactamase産生が報告されているため⁹⁾¹⁰⁾、今後の動向を注視する必要があると思われる。

利益相反：申告すべき利益相反なし

文 献

- 1) Eribe, E.R., I. Olsen. 2008. *Leptotrichia* species in human infections. *Anaerobe*. 14: 131-137.
- 2) Tee, W., P. Midolo, P.H. Janssen, et al. 2001. Bacteremia due to *Leptotrichia trevisanii* sp. nov. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 20: 765-769.
- 3) Cooreman, S., C. Schuermans, J. Van Schaeren, et al. 2011. Bacteremia caused by *Leptotrichia trevisanii* in a neutropenic patient. *Anaerobe*. 17: 1-3.
- 4) Higurashi, Y., K. Tatsuno, F. Fujimoto, et al. 2013. Two cases of bacteremia caused by *Leptotrichia trevisanii* in patients with febrile neutropenia. *J. Infect. Chemother.* 19: 1181-1184.
- 5) Schrimsher, J.M., J.P. McGuirk, D.R. Hinthorn. 2013. *Leptotrichia trevisanii* sepsis after bone marrow transplantation. *Emerg. Infect. Dis.* 19: 1690-1691.
- 6) Kumagai, J., Y. Takiguchi, K. Shono, et al. 2013. Acute myelogenous leukemia with *Leptotrichia trevisanii* bacteremia. *Intern. Med.* 52: 2573-2576.
- 7) Könönen, E., W.G. Wade, D.M. Citron. 2011. *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, and other anaerobic Gram-negative rods. p. 872, In: *Manual of clinical microbiology*, 10th ed. (J. Versalovic, K.C. Carroll, G. Funke, et al. ed.), American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 8) Blairon, L., Y. De Gheldre, B. Delaere, et al. 2006. A 62-month retrospective epidemiological survey of anaerobic bacteraemia in a university hospital. *Clin. Microbiol. Infect.* 12: 527-532.
- 9) Appelbaum, P.C., S.K. Spangler, M.R. Jacobs. 1991. Susceptibilities of 394 *Bacteroides fragilis*, non-*B. fragilis* group *Bacteroides* species, and *Fusobacterium* species to newer antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 35: 1214-1218.
- 10) Van Winkelhoff, A.J., E.G. Winkel, D. Barendregt, et al. 1997. β -Lactamase producing bacteria in adult periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 24: 538-543.

A case of bacteremia caused by *Leptotrichia trevisanii* in a patient with multiple myeloma

Jun Yonetamari¹⁾, Hirofumi Ohtaki²⁾, Asami Nakayama¹⁾, Kohei Ando¹⁾, Takashi Miyazaki¹⁾,
Hirotooshi Ohta¹⁾, Nobuyuki Furuta¹⁾, Tamayo Watanabe³⁾, Nobuhiro Kanemura⁴⁾,
Hiroyasu Ito⁵⁾, Kiyofumi Ohkusu⁶⁾, Nobuo Murakami³⁾, Mitsuru Seishima⁵⁾

¹⁾Division of Clinical Laboratory, Gifu University Hospital

²⁾Department of Medical Technology, Kansai University of Health Sciences

³⁾Center for Nutrition Support & Infection Control, Gifu University Hospital

⁴⁾Department of Transfusion Medicine, Gifu University Hospital

⁵⁾Department of Informative Clinical Medicine, Gifu University Graduate School of Medicine

⁶⁾Department of Microbiology, Tokyo Medical University

We here report on a case of *Leptotrichia trevisanii* bacteremia in a patient with hematologic malignancy. A 64-year-old woman with multiple myeloma was admitted to our hospital for transplantation therapy. On the seventh day after autologous peripheral blood stem cell transplantation, she developed a fever and a blood culture test was performed. Bacterial growth in 2 independent blood culture sets was observed 4-5 days after the culture, but the Gram stain results for the culture media were unclear. The media from the blood culture-positive samples were immediately cultured, and bacterial growth was observed after 48 h in an anaerobic condition. Although the isolated bacterium was not identified using commercial biochemical test kits, 16S rRNA sequencing analyses finally revealed it as *L. trevisanii*. Previous studies have reported on blood stream infections caused by *L. trevisanii* in patients with hematologic malignancies; hence, bacterial laboratory findings and patient medical history are very important to ensure the accurate and timely diagnosis of *L. trevisanii* bacteremia in these patients.