

[症例報告]

AML 化学療法中に発症した *Laribacter hongkongensis* 菌血症の 1 例

萩原繁広¹⁾・金田友香理¹⁾・田中悠一¹⁾・寄川紡実¹⁾・野村 葵¹⁾
木村由美子²⁾・古谷 匡³⁾・大楠清文⁴⁾・佐藤久長¹⁾・増田義洋⁵⁾

¹⁾ 栃木県済生会宇都宮病院医療技術部臨床検査技術科

²⁾ 自治医科大学附属病院臨床検査部細菌検査室

³⁾ 芳賀赤十字病院臨床検査部細菌検査室

⁴⁾ 東京医科大学微生物学講座

⁵⁾ 栃木県済生会宇都宮病院診療部血液リウマチ科

(令和 2 年 11 月 12 日受付, 令和 3 年 1 月 13 日受理)

症例は、66 歳男性、AML の再発で化学療法中であった。入院 13 日目、39.2°C の発熱があり、血液培養が採取された。培養 3 日目に好気ボトルが陽性となり、運動性のあるグラム陰性のらせん菌を認めた。5% 炭酸ガス 18 時間培養で血液寒天培地、チョコレート寒天培地、DHL 寒天培地に 1~2 mm 程度のコロニーが確認できた。同定では、血液培養液より直接抽出を行い、MALDI-TOF MS で測定を行った結果 *Laribacter hongkongensis* と同定された。16S rRNA 遺伝子解析の結果は、*L. hongkongensis* と 99.8% 相同性が得られた。薬剤感受性試験は、カルバペネム系、キノロン系、アミノグリコシド系薬で低い MIC 値であったことから侵襲性感染症治療時の抗菌薬選択の一助となりえると考えられた。しかし、Class C βラクタマーゼ、テトラサイクリン系耐性遺伝子を発現することや多剤耐性菌も存在するため感受性の確認が重要である。

Key words: *Laribacter hongkongensis*, 菌血症, らせん菌

序 文

Laribacter hongkongensis は、Yuen KY.らによって中国人の肝硬変患者の胸水および血液より分離され、2001 年に新種報告された菌種である¹⁾。本菌は、*Neisseria* 目、*Chromobacterium* 科に属する、グラム陰性のらせん菌、運動性陽性(初症例は陰性¹⁾)で極毛性鞭毛を有する菌である。性状は、オキシダーゼ陽性およびウレアーゼ陽性である^{1)~7)}。自然界での分布は、淡水、淡水魚および食用カエルより分離されている^{2)~5)}。人への病原性は、胃腸炎や下痢の原因菌として下痢便より分離され、市中感染性胃腸炎や旅行者下痢症に関連している²⁾⁶⁾⁷⁾。今回我々は、急性骨髄性白血病 acute myelogenous leukemia: AML 患者の化学療法施行中に発症した、発熱性好中球減少性患者の血液培養より本菌を検出したので報告する。

症 例

患者は、66 歳、男性、既往歴は高血圧と前立腺肥大症があった。現病歴は、2018 年 6 月 20 日に健診で貧血を指摘され近医を受診、汎血球減少を認め 9 月 3 日当院を紹介受診さ

れた。骨髓穿刺検査所見により AML の診断となり、(9 月 10 日より)化学療法が開始され、2018 年 10 月 10 日骨髓穿刺所見より寛解を確認した。10 月 17 日から地固め療法として計 4 コース化学療法を行った。2020 年 7 月 1 日の骨髓穿刺検査で再発を認め、2020 年 7 月 21 日 AML 再発に対して化学療法導入目的に入院となった。入院加療にて LDARC + ARC (ラモセトロン、シダラビン、アクラルピシン)が開始され、13 病日に 39.2°C の発熱を認め、生化学検査、血液検査、血液培養 2 セットが提出された。血液検査結果は、WBC 1,000 /μL, Neutrophils 31.0%, Lymphocyte 68.8%, CRP 20.41 mg/dL であった。発熱性好中球減少症に対して Cefepime (CFPM) が開始された。血液培養施行後 3 日目に、*L. hongkongensis* を検出した。薬剤感受性試験は、ペニシリン系、セフェム系薬は耐性傾向で、カルバペネム系、キノロン系薬などは感性傾向であった (Table 1, Microscan MN2J)。感受性結果報告後 Levofloxacin (LVFX) が追加投与され、4 日後 CFPM から Meropenem (MEPM) に変更され、その後菌血症は起こらず経過は良好である (Fig. 1)。なお、LDARC + ARC 化学療法は当院の予定通り 14 日間施行された。

微生物学的検査

血液培養は、BACTEC FX (日本ベクトンデッキンソン)を用い、培養 3 日目に好気ボトル 2 セット (2/2 セット) が陽性となり、培養液より活発な運動性のあるらせん菌を確認した。グラム染色 (neo B&M 和光純薬)を行った結果、グラム陰性の大小不同のらせん菌を確認した (Fig. 2- (A))。

著者連絡先: (〒321-0974) 栃木県宇都宮市竹林町 911-1
栃木県済生会宇都宮病院医療技術部臨床検査技術科
検体検査課
萩原繁広
TEL: 028-626-5500
FAX: 028-626-5646
E-mail: hagishigehiro@gmail.com

Table 1. 各検査法による同定結果

同定法	同定確率	同定結果
16S rRNA sequence	Homology (similarity) : 1455/1458 (99.8%)	<i>Laribacter hongkongensis</i> DSM 14985 ^T (accession AUHR01000037)
MALDI-TOF MS (Rapid BACpro [®] II)	Score 2.09 A (+ + +)	<i>Laribacter hongkongensis</i> DSM 14985 ^T
MALDI-TOF MS (colony)	Score 2.51 A (+ + +)	<i>Laribacter hongkongensis</i> DSM 14985 ^T
Api NE	Bio type : 1310064 (91%)	<i>Comamonas teststeroni</i> / <i>Pseudomonas alcaligenes</i>
Neg Combo NF3J (Microscan)	Bio type : 000420006025 (97.3%)	<i>Roseomonas</i> spp.
GN card (VITEK)	Bio type : 0000000200400000 (98%)	<i>Methylobacterium</i> spp.

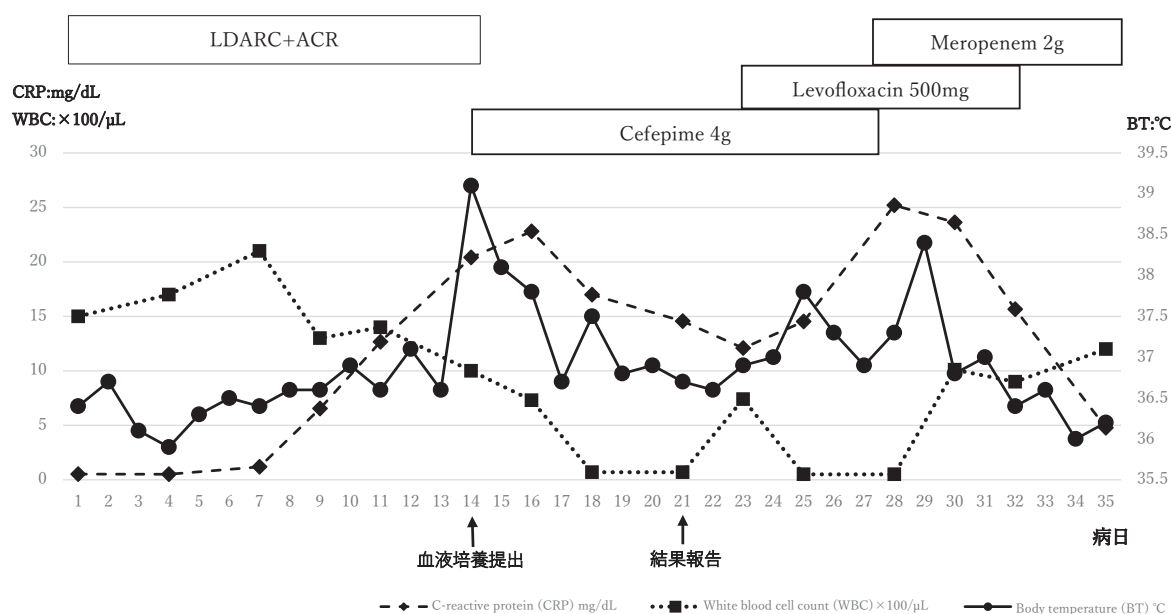


Fig. 1. 臨床経過

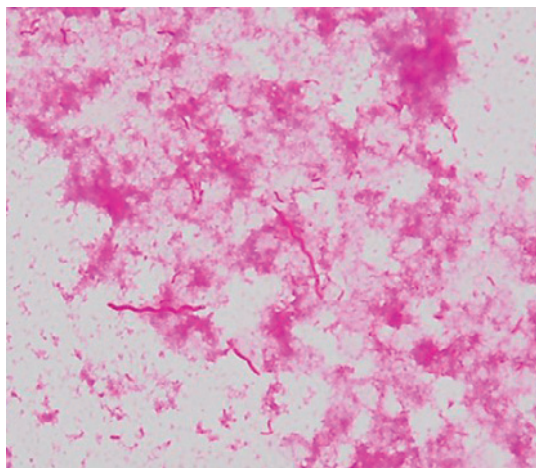
分離培養は、5% ヒツジ血液寒天培地（日水製薬）、チョコレート寒天培地（日本バクテック・デキソン：日本BD）、DHL寒天培地（日水製薬）を用い、らせん菌で血液培養が3日目に陽性になったことを考慮し、発育促進を目的として5%炭酸ガス培養を行った。また、*Helicobacter cinaedi* や *Campylobacter* spp. を考慮し、5%血液寒天培地を微好気培養（カンピロバクター用ガスバック（三菱ガス）を4～6日間培養を行った。5%炭酸ガス培養18時間後、各々の培地に約1～2 mm程度のコロニーが確認された（Fig. 2- (D, E, F)）。微好気培養は4日目に1～2 mm程度のコロニーを確認した。各々のコロニーをグラム染色した結果、短いらせん菌を確認した（Fig. 2- (B)）。また、運動性があり鞭毛の形態確認のため、鞭毛染色を行った結果、極毛性の鞭毛を確認した（Fig. 2- (C)）。

同定は、血液培養液より Rapid BACpro[®]II（ニッポー・メディカル）により直接抽出を行い、Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry : MALDI-TOF MS (Burker biotyper) コンパス Ver 4.1.80 を用いた同定結果は、*L. hongkongensis* スコア 2.09 であった。また、5%炭酸ガス培養にて発育したコロニーを用い MALDI-TOF MS で同定を行った結果、*L. hongkongensis*

スコア 2.51 であった。

一方、同定精査のため、16S rRNA 遺伝子解析を行った結果、*L. hongkongensis* (Accession number AUHR 01000037) に99.8% (1455/1458) の相同性が得られた。追加試験として生化学的同定を、NF3J コンボパネル、VITEK2-GN カードおよび ApiNE にて同定を行った。各キットにおいて *L. hongkongensis* は、同定菌種には含まれていないが、性状の確認とキットを使用した際の誤同定の確認のために行った。その同定結果は各々、*Roseomonas* spp. (97%)、*Methylobacterium* spp. (98%)、*Comamonas teststeroni*/*Pseudomonas alcaligenes* (91%) であった（Table 1）。また、共通性状として、オキシダーゼ陽性、ウレアーゼおよびアルギニンが陽性であった。

薬剤感受性試験は、MIC2J パネルを使用し、マイクロスクラン walk away96（ベックマン・コールター）にて判定した。ペニシリン系、セフェム系薬は耐性傾向で、カルバペネム系、キノロン系薬などは感受性傾向であった。追加試験として、VITEK2 AST-N228 および NF3J コンボパネルによる感受性試験を行った。VITEC-2 において、判定時間が18.72時間と長く、また PIPC/TAZ が判定不能であった。NF3J パネルでは、PIPC が低 MIC 値になっており、各々の測定



(A)血液培養液(倍率×1000)

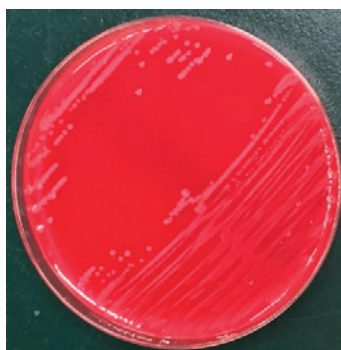


(B)コロニー(倍率×1000)

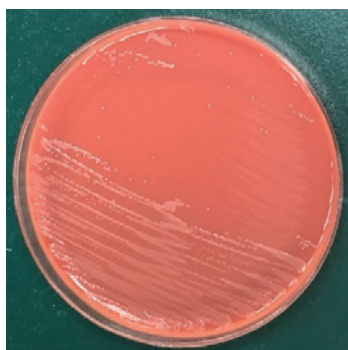
グラム染色 neo-B&M ワコー(和光純薬)



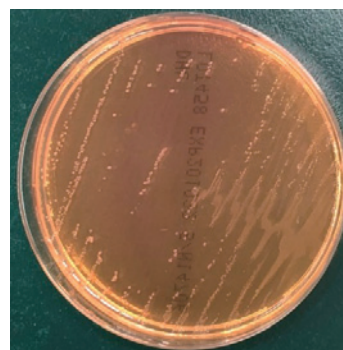
(C) 鞭毛染色 (鍍銀法) (倍率×1000)



(D) 5%ヒツジ血液寒天培地



(E) チョコレート寒天培地



(F) DHL 寒天培地

Fig. 2. グラム染色像, 鞭毛染色像および5%炭酸ガス18時間培養コロニー所見

法において, ABPC, PIPC, CEZ, CFPM, AZT で差が認められた (Table 2)。

考 察

L. hongkongensis 感染症は, 旅行者下痢症として知られており, 感染経路の多くは, 淡水および淡水魚に起因する感

染で, 喫食時の生食や加熱不十分である場合, 内臓内容物中の *L. hongkongensis* が感染原因とされている^{3)~5)}。中国, 香港および韓国では, 腎不全患者における腹膜透析液⁸⁾, ウイルソン病で肝硬変患者の腹膜炎からの菌血症例⁹⁾, 転移性肝がんにおける菌血症¹⁰⁾, アルコール性肝障害患者の菌血症¹¹⁾などの侵襲性感染があるが, 日本においては, 本症例以外に

Table 2. 抗菌薬感受性結果および他報告結果

Drug	Microscan MN2J	VITEK AST-N228	Microscan NF3J	Kim DS et al. ⁹⁾ (VITEK2)	Lau SK et al. ¹⁴⁾	
					MIC	E-test
ABPC	8	<=2	-	-	2-256	1, >256
PIPC	64	<=4	<=8	-	-	-
CEZ	>16	<=4	-	-	-	-
CAZ	>16	2	>16	8	16-1024	2, >256
CFPM	>16	<=1	-	8	-	-
IPM	<=1	<=0.25	<=1	0.06	0.016-0.06	0.06-0.125
MEPM	<=1	<=0.25	<=1	0.06	-	-
DRPM	<=1	-	<=1	0.06	-	-
AZT	>16	<=1	<=4	-	-	-
SBT/ABPC	<=4/2	<=2	-	4/2	1/0.5-16/8	0.25/0.125-2/1
AMPC/CVA	<=8/4	-	-	-	-	-
CPZ/SBT	<=16/8	-	<=16	8/4	-	-
PIPC/TAZ	<=8	測定不可	<=8	>256/4	-	-
AMK	<=4	-	<=8	8	-	-
LVFX	<=0.5	<=0.12	<0.5	-	-	-
CPFX	<=0.25	<=0.25	<=0.25	0.06	0.008-1	0.008-1

は見出されなかった。侵入経路に関して、腸管に定着する能力も確認されていることから⁹⁾、ヒトの腸管に不顕性感染していることを考慮し、本症例のように経路不明な感染症では、腸管からの内因性感染である可能性も考えられた。

同定に関して、Api20NE, VITEK および Microscan による同定では、各々 *Pseudomonas alcaligenes*, *Methylobacterium* sp., *Roseomonas* sp. と同定され、キットごとに様々な菌種であった (Table 1)。また、Yuen KY. et al. は、VITEK, API-20E, API 20NE で各々 *Comamonas acidovorans*, *Photobacterium damsela*, *Pseudomonas alcaligenes* であり¹⁾、Kim DS et al. は、VITEK で *Acinetobacter lowffii* と同定されており⁹⁾、キットによる同定は困難であった。本分離株は、血液寒天培地、チョコレート寒天培地、DHL 寒天培地およびマッコンキー寒天培地における通性嫌気性発育 (35°C, 18~24 時間培養)、グラム陰性のらせん菌で運動性陽性、オキシダーゼ陽性、ブドウ糖を発酵分解しない、ウレアーゼ陽性およびアルギニン陽性¹⁾であり、*L. hongkongensis* を疑う上で重要な性状であると考えられた¹⁹⁾。一方、*L. hongkongensis* の精度の高い同定として、16S rRNA 遺伝子解析が用いられている¹⁾⁻⁴⁾⁶⁾⁻¹²⁾。また、現在の多くの施設で使用されるようになった、MALDI-TOF MS による同定が遺伝子同定と同等の結果が得られており、その精度が良いことも知られている¹⁰⁾⁻¹³⁾。ブルカーバイオタイパーの解析ソフト、コンパス Ver 4.1.80 では、4 株登録されていることもあり、本菌株も非常に良いスコアで同定され、信頼性の高い同定結果が得られている。

薬剤感受性試験について、Microscan と VITEK においてペニシリン系やセフェム系薬で MIC 値が一致しなかった。両検査法は測定法が異なっており、Microscan では、18 時間培養後各ウエルの濁度にて判定する。一方、VITEK は、Kinetic 法を用いており、増殖曲線を得ることにより薬剤感受性の判定を行う。そのため、発育が良好であれば、9 時間程度で結果が得られる方法である。Kinetic 法は、測定時間が

早いことで、耐性菌を逃す可能性があることが示唆されており、本菌の薬剤感受性試験においてもペニシリン系やセフェム系薬の MIC 値が低めに測定された可能性が考えられた¹⁴⁾。本症例を含む多くの症例では、SBT/ABPC, LVFX, CPFX, MEPM および AMK は、低い MIC 値を示しており⁸⁾¹⁵⁾¹⁶⁾、侵襲性感染症における抗菌薬選択の参考となる MIC 値であった (Table 2)。しかしながら、*L. hongkongensis* は、クラス Cβ ラクタマーゼ産生¹⁶⁾、基質拡張型 β ラクタマーゼ産生¹⁷⁾、テトラサイクリン系耐性¹⁸⁾、およびキノロン耐性も加えた多剤耐性菌が報告されており¹⁹⁾、抗菌薬選択には注意が必要である。本症例では、癌化学療法中の好中球減少時であることから、LVFX および MEPM が投与され、その後再燃はなく患者の状態は良好であった。

今回 AML 化学療法の発熱時の血液培養より、*L. hongkongensis* を検出した。日本では、*L. hongkongensis* による感染症は報告されておらず、稀な症例と考えられ報告した。

利益相反：なし

文 献

- 1) Yuen, K.Y., P.C.Y. Woo, J.L.L. Teng, et al. 2001. *Laribacter hongkongensis* gen. nov., sp. nov., a novel gram-negative bacterium isolated from a cirrhotic patient with bacteremia and empyema. J Clin Microbiol. 39 (12): 4227-4232.
- 2) Raja, M.K., A.R. Ghosh. 2014. *Laribacter hongkongensis*: an emerging pathogen of infectious diarrhea. Folia Microbiol 59 (4): 341-347.
- 3) Lau, S.K.P., P.C.Y. Woo, R.Y.Y. Fan, et al. 2007. Seasonal and tissue distribution of *Laribacter hongkongensis*, a novel bacterium associated with gastroenteritis, in retail fishwater fish in Hong Kong. Int J Food Microbiol. 113 (1): 62-66.
- 4) Lau, S.K.P., P.C.Y. Woo, R.Y.Y. Fan, et al. 2007. Isolation of *Laribacter hongkongensis*, a novel bacterium associated

- with gastroenteritis from drinking water reservoirs in Hong Kong. *J App Microbiol.* 103 (3): 507-515.
- 5) Woo, P.C.Y., S.K.P. Lau, H. Tse, et al. 2009. The complete genome and proteome of *Laribacter hongkongensis* reveal potential mechanisms for adaptations to different temperatures and habitats. *PLOS genet.* 5 (3): e1000416.
 - 6) Woo, P.C.Y., P. Kuhnert, A.P. Burnens, et al. 2003. *Laribacter hongkongensis*: a potential cause of infectious diarrhea. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 47 (4): 551-556.
 - 7) Woo, P.C.Y., S.K.P. Lau, J.L.L. Teng, et al. 2004. Association of *Laribacter hongkongensis* in community-acquired gastroenteritis with travel and eating fish: a multicenter case-control study. *Lancet.* 363 (9425): 1941-1947.
 - 8) Woo, P.C.Y., R.W.S. Poon, C.H. Foo, et al. 2016. First report of *Laribacter hongkongensis* peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 36 (1): 105-107.
 - 9) Kim, D.S., Y.M. Wi, J.Y. Choi, et al. 2011. Bacteremia caused by *Laribacter hongkongensis* misidentified as *Acinetobacter Iwoffii*: Report of first case in Korea. *J Korean Med Sci.* 26 (5): 679-681.
 - 10) Tse, C.W.S., S.O.T. Curreem, I. Cheung, et al. 2014. A novel MLST sequence type discovered in the first fatal case of *Laribacter hongkongensis* bacteremia cultures with the sequence types of other human isolates. *Emerging microbes and infections* 3: e41.
 - 11) Hung, D.L.L., J.L.L. Teng, J.Y.H. Fong, et al. 2020. Severe underlying liver disease and high mortality associated with *Laribacter hongkongensis* bacteremia. *Diagnostic microbiology and infectious disease.* 96 (2): 114948.
 - 12) Beilfuss, H.A., D. Quig, M.A. Block, et al. 2015. Definitive identification of *Laribacter hongkongensis* acquired in the United States. *J Clin Microbiol.* 53 (7): 2385-2388.
 - 13) Thongkoom, P., P. Intalaphaporn. 2019. *Laribacter hongkongensis*: The first identification at Rajavithi Hospital. *J Med Assoc Thai.* 102 (5): 132.
 - 14) 三澤成毅. 2009. 薬剤感受性測定法と耐性菌, 薬剤感受性測定法の種類 自動機器. *臨床と微生物* 36 (増刊号): 544-553.
 - 15) Lau, S.K.P., G.K.M. Wong, R.W.S. Poon, et al. 2009. Susceptibility patterns of clinical and fish isolates of *Laribacter hongkongensis*: comparison of the Etest, disk diffusion and broth microdilution methods. *J Antimicrob Chemother.* 63 (4): 704-708.
 - 16) Lau, S.K.P., P.L. Ho, M.W.S. Li, et al. 2005. Cloning and characterization of a chromosomal class C β -lactamase and its regulatory gene in *Laribacter hongkongensis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 49 (5): 1957-1964.
 - 17) Raja, K.M., A.R. Ghosh. 2014. Molecular insight of putative pathogenicity markers with ESBL gene and Lipopolysaccharide in *Laribacter hongkongensis*. *Appl biochem biotechnol.* 174: 1935-1944.
 - 18) Lau, S.K.P., G.K.M. Wong, M.W.S. Li, et al. 2008. Distribution and molecular characterization of tetracycline resistance in *Laribacter hongkongensis*. *Journal of antimicrobial chemotherapy.* 61: 488-497.
 - 19) Wu, H.K., J.H. Chen, L. Yang, et al. 2018. Emergence and genomic analysis of MDR *Laribacter hongkongensis* strain HLGZ1 from Guangzhou, China. *J Antimicrob Chemother.* 73 (3): 643-647.

A case of *Laribacter hongkongensis* bacteremia during AML chemotherapy

Shigehiro Hagiwara¹⁾, Yukari Kaneda¹⁾, Yuichi Tanaka¹⁾, Tsugumi Yorikawa¹⁾, Aoi Nomura¹⁾, Yumiko Kimura²⁾, Masashi Furuya³⁾, Kiyofumi Ohkusu⁴⁾, Hisanaga Sato¹⁾, Yoshihiro Masuda⁵⁾

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Saiseikai Utsunomiya Hospital

²⁾Department of Clinical Laboratory, Jichi Medical University Hospital

³⁾Department of Clinical Laboratory, Haga Red Cross Hospital

⁴⁾Department of Microbiology, Tokyo Medical University

⁵⁾Department of Hematology, Saiseikai Utsunomiya Hospital

A 66-year-old man had a fever of 39.2°C during chemotherapy for recurrent AML. Therefore, blood cultures were collected in consideration of the possibility of bloodstream disease. Blood culture using aerobic bottles became positive on day 3, and a gram-negative spiral bacillus with a polar flagellum was confirmed. The bacterium was extracted directly from the blood culture fluid and identified as *Laribacter hongkongensis* via MALDI-TOF MS. In addition, molecular identification analysis revealed that the specimen had 99.8% homology with *L. hongkongensis*. In antimicrobial susceptibility testing, the MICs were low for carbapenems and quinolones. Therefore, carbapenems and quinolones are considered effective for invasive *L. hongkongensis* infections.