

[症 例 報 告]

Rodentibacter rattii による敗血症の1例

山路亜弓¹⁾・杵渕貴洋¹⁾・野呂忠孝²⁾・北野凌河¹⁾・増田拳汰¹⁾・荒井俊夫³⁾

¹⁾ 社会福祉法人北海道社会事業協会富良野病院臨床検査科

²⁾ 社会福祉法人北海道社会事業協会富良野病院循環器内科

(現 独立行政法人国立病院機構旭川医療センター循環器内科)

³⁾ 社会福祉法人北海道社会事業協会富良野病院内科

(令和5年2月7日受付, 令和5年8月22日受理)

Rodentibacter rattii は、パスツレラ科のグラム陰性短桿菌である。主にマウス・ラットなどの実験動物から高率に検出され、ヒトへの感染は稀である。症例は、大動脈弁置換術後で通院加療中の80歳代女性。発熱を主訴に当院救急外来を受診したが、改善が見られず入院加療となった。入院当日採取した血液培養が陽転し、グラム染色でグラム陰性小桿菌を認めた。ボトル培養液から直接行なった質量分析装置を用いた解析では *Rodentibacter pneumotropica* と判定され、その後の簡易同定キットを用いた生化学性状での菌種確定に至らなかった為、遺伝子解析により *R. rattii* と同定した。本菌のデータベースは少なく、同定には全ゲノム解析が有用であった。

Key words: *Rodentibacter rattii*, げっ歯類, 敗血症, 全ゲノム解析

序 文

Rodentibacter 属は通性嫌気性グラム陰性桿菌であり、2017年に、Christensen Hらによってパスツレラ属の大規模な再編が行われ、属名も種名も全く新しいものが提案された菌種の一つである¹⁾。また、実験用げっ歯類の微生物モニタリング対象菌種で、*R. pneumotropica* および *Rodentibacter heylii* の2菌種が対象となっているが、これらの対象菌種と非常に近い性状を持つのが主にラットを宿主とする *R. rattii* である。この種は、16SrDNA と *rpoB* 遺伝子配列の相同性を考慮して微生物モニタリングの対象菌種外となっている¹⁾²⁾。*R. rattii* がヒトの血液培養および尿から検出された症例は、我々が文献を検索した範囲では見当たらない。しかし、患者が日常的にネズミと接触していた背景があり原因菌になり得ると思われた。今回我々は、血液および尿から検出された *R. rattii* を原因菌とする敗血症症例を経験したので報告する。

症 例

1. 臨床所見

患者：80歳代女性

主訴：発熱

既往歴：大動脈弁置換術後、慢性腎臓病、認知症

現病歴：20XX年7月14日、夜間より発熱を認め、翌15日に当院救急外来を受診した。受診時の体温は39.8℃であっ

たが、発熱と咳嗽以外に明らかな随伴症状なく、身体所見でも特記すべき所見はなかった。胸部単純X線検査でも明らかな浸潤影を認めず補液と解熱剤が処方され帰宅となった。翌16日、発熱が改善されず再度救急外来を受診され、熱源精査のため各種検査を施行したところ、CRP、プロカルシトニン及び白血球数の上昇、腹部単純CT検査では左水腎症の所見を認めた。尿路感染症からの菌血症を疑い、尿培養と静脈血液培養(2セット)を採取し熱源の精査加療目的で入院した。

入院時身体所見および検査所見：身体所見は身長未測定、体重28.9kg、体温40.1℃、血圧151/89mmHg、脈拍110回/分・整、SpO₂87%(大気)、眼瞼結膜に充血なく、眼球結膜は黄染なし、肺野にラ音の聴取なし、心雑音の聴取はなし、腹部に異常所見なし、前胸部に擦過傷を認めるが、四肢体幹に皮疹や浮腫なし。入院時の検査データでは(表1)、WBC $10.62 \times 10^3/\mu\text{L}$ 、CRP 23.58 mg/dL、PCT 48.47 ng/mLと炎症反応は高値を示し、腎機能の低下も認められた。

2. 臨床経過

補液及びceftriaxone(CTRX)で加療開始も解熱せず、入院翌日の血液検査にてプロカルシトニンの更なる上昇(122.22 ng/mL)、血小板数の低下($3.6 \times 10^4/\mu\text{L}$)、クレアチニン値の上昇(2.02 mg/dL)、凝固線溶異常の亢進がみられた。重症化が考えられたことから抗菌薬をMeropenem(MEPM)にescalationした。

7月16日の血液培養2セットから *R. rattii* を検出し、その後提出された尿検体からも同様の菌を検出した。同定された菌名から動物との接触を疑い身体の確認を行ったところ、耳朶に咬傷を確認した(図1)。また、自宅の生活環境を確認したところ、認知症により破綻しており、日常的にネズミが家の中で活動している状態であった。この事からネズミに

著者連絡先：(〒076-8765) 北海道富良野市住吉町1番30号
社会福祉法人北海道社会事業協会富良野病院臨床検査科
山路亜弓
TEL: 0167-23-2181
E-mail: furanobiseibutu@gmail.com

表 1. 入院時血液検査・尿一般検査結果

全血球計算 (CBC) 検査		生化学・免疫血清検査	
WBC	$1.06 \times 10^4 /\mu\text{L}$	TP	7.0 g/dL
RBC	$2.79 \times 10^6 /\mu\text{L}$	AST	44 U/L
Hb	9.2 g/dl	ALT	18 U/L
PLT	$70 \times 10^3 /\mu\text{L}$	LD	480 U/L
Neut	92.9 %	Total-Bil	1.4 mg/dL
Ly	2.9 %	BUN	37.7 mg/dL
Mono	3.1 %	Cr	1.7 mg/dL
Eo	0.1 %	Na	133 mEq/L
Baso	0.1 %	K	4.7 mEq/L
		Cl	101 mEq/L
		CRP	23.6 mg/dL
		プロカルシトニン	48.5 ng/mL
尿定性検査			
尿比重	1.105	尿潜血	2+
尿 pH	8.0	尿ウロビリノーゲン	1.0
尿蛋白定性	+/-	尿ビリルビン	-
尿糖定性	-	尿亜硝酸塩	-
尿ケトン体	-	尿白血球反応	1+
尿沈渣			
赤血球	20-29 /H	細菌	3+
白血球	10-19 /H		



図 1. 患者の耳葉に見られた咬傷

接触し咬まれたことが示唆された。なお、入院時 quick SOFA スコアは 1 点であり（呼吸数 22 回/分）、敗血症診断基準には満たなかったが、血小板数の低下 ($2.5 \times 10^4 /\mu\text{L}$)、凝固線溶異常、クレアチニン値の上昇 (2.02 mg/dL)、一時的な収縮期血圧の低下 (91 mmHg) が経過中に見られたことより、鼠咬症による敗血症と診断した。また、検出した *R. ratti* の薬剤感受性判明後に抗菌薬を CTRX に de-escalation し合計 15 日間の投与を行い、合併症なく退院した。

微生物学的検査

血液培養は BACTEC FX（日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）を用い、BACTEC Plus Aerobic/F culture Vials（好気用）と BACTEC Plus Anaerobic/F Culture Vials（嫌気用）（日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）ボトルを用いた。好気ボトルは 9 時間 21 分、嫌気ボトルは 9 時間 51 分で全ての培養ボトルが陽転した。尿検体は、尿道留置カテーテルから採取し、5% 羊血液寒天/DHL 分画（日水製薬株式会社）、変法ドリガルスキー寒天培地（日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）を用いて培養した。

(1) 塗抹検査

塗抹検査では、提出された血液培養検査で 4 本全て陽転したボトル内溶液と尿検体を Bartholomew & Mittwer 法（B & M 染色, Fujifilm Wako）を用いてグラム染色を実施したところ、グラム陰性小桿菌が多数確認された。尿検体も同様であった（図 2）。

(2) 分離培養検査

血液培養ボトル内容液は、羊血液寒天培地（日水製薬株式会社）とグラム染色形態から *Haemophilus* 属も否定出来なかったため、羊血液寒天/チョコレート分画 EX-II 培地（日水製薬株式会社）を使用した。培養条件は、血液寒天培地は 35℃ の好気環境下で、羊血液寒天/チョコレート分画 EX-II 培地は、ダイア CO₂ パックパウチ用（株式会社 LSI メディエンス）を用いて 35℃ で CO₂ 培養した。培養 24 時間後、血液寒天培地に、直径 1 mm 弱のやや光沢のある辺縁がスムーズなコロニーが発育した。35℃ 好気環境下で培養した分離培地にも、類似した培養コロニーを確認した（図 3）。

(3) 同定検査

陽転したボトル内容液を rapid BACpro II（ニッポーボーメディカル株式会社）を用いて検体処理を行い、質量分析装

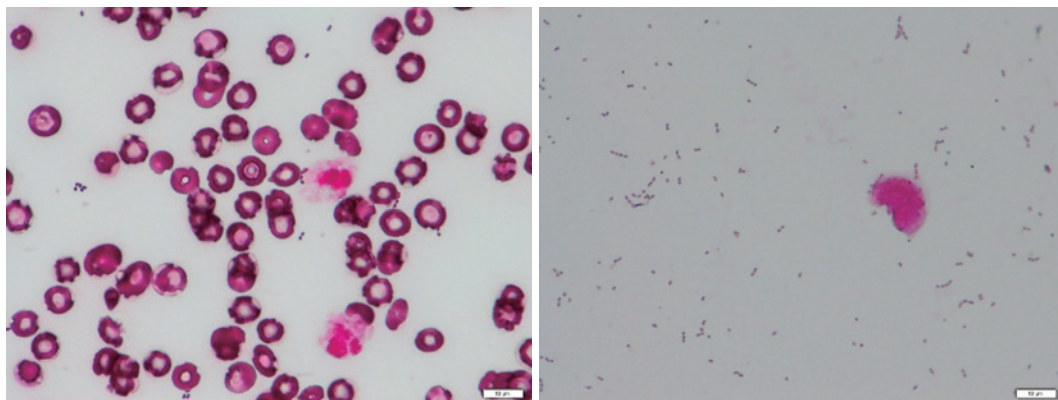


図2. 左：血液培養液のグラム染色像（パーミー法，×1000）
右：中間尿のグラム染色像（パーミー法，×1000）

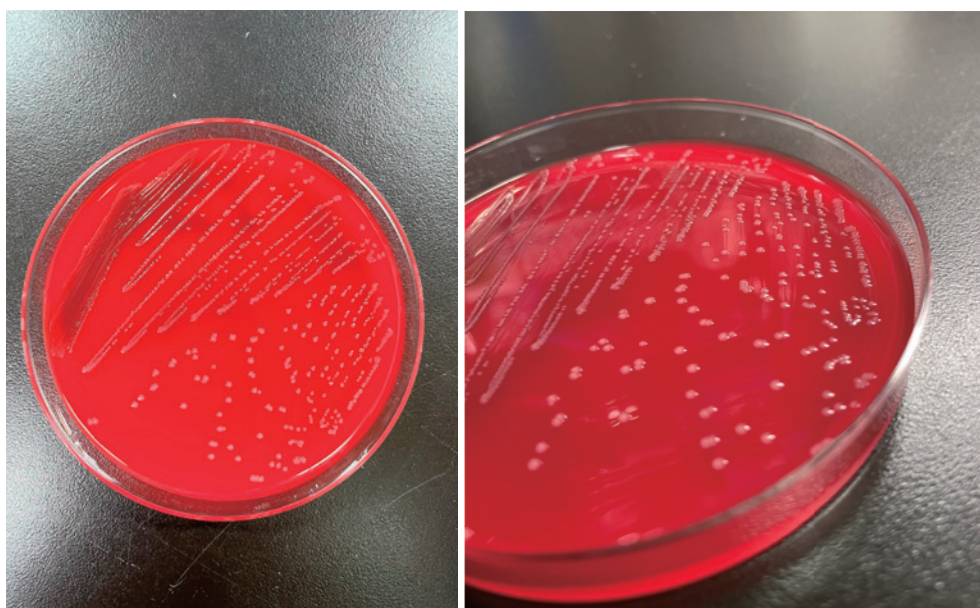


図3. *Rodentibacter ratti* のコロニー

左：35℃ 24時間好気環境下培養後（羊血液寒天培地；日水製薬株式会社）
右：35℃ 24時間好気環境下培養後のコロニー拡大写真（羊血液寒天培地；日水製薬株式会社）

置（MALDI Biotyper BRUKER 社）にて直接同定を行なったところ、*R. pneumotropica* と同定され（スコア：2.34）、ライブラリ（7854/Ver8）には2つしかなかった。血液培養のサブカルチャーも同様に *R. pneumotropica* と同定された（スコア：2.12）。生化学性状は、カタラーゼテスト及びオキシダーゼテストは陽性であった。IDテスト・HN-20 ラピッド（日水製薬株式会社）でプロファイルコードが7707153、同定確率>99%，API ID32Eでプロファイルコード11045700002、同定確率99.9%で *R. pneumotropica* と同定された。その他の同定キットでは *R. pneumotropica* と菌名が出ていたが、API 20 NE（バイオメリュー・ジャパン株式会社）で24時間後判定ではプロファイルコード1020004、同定確率3.2%，48時間後判定ではプロファイルコード3020004、同定確率32.5%と低く、信頼性が低かった。rapid ID 32Eは同定不能であった。これらの結果から総合的に判断して菌

種の決定には至らなかったため、遺伝子検査による菌種同定を選択した。分離株の16S rRNA 遺伝子の塩基配列から、いくつかの種の *Rodentibacter* 属が見られ、中でも *R. ratti* が Rank1 であり、同定キットで同定された *R. pneumotropica* は Rank3 であった。そこで、もう一度同定キットの項目の反応性から、両菌種の違いを比較した。*R. pneumotropica* と *R. ratti* の生化学性状の比較を表に示す（表2³⁾。使用した5種類の同定キットの検査項目から見ていくと、L-Arabinose, α -Glucosidase については、同定キット間で結果の乖離が見られた。また Lactose については *R. pneumotropica* の生化学性状と一致し、Raffinose については、*R. pneumotropica* と *R. ratti* どちらも生化学性状は一致しなかった。その他の項目については、*R. ratti* の生化学性状と一致した。これらの結果を踏まえても菌種の確定には至らなかったため、細菌のドラフト全ゲノム解析を外部検査機関に

表2. *Rodentibacter* 属 3 菌種の生化学性状の違い²⁾
 + : 90% 以上陽性, (+) : 遅延陽性, - : 10% 以下が陽性, D : 11-89% が陽性, V 因子 : ニコチンアミドジヌクレオチド (NAD), [] は基準株のデータを示す。

	<i>Rdentibacter pneumotropica</i>	<i>Rodentibacter heylii</i>	<i>Rodentibacter ratti</i>
V 因子要求性	-	-	D [-]
リジンデカルボキシラーゼ	-	D [+]	D [-]
オルニチンデカルボキシラーゼ	D [+]	-	D [+]
インドール	D [+]	D [-]	-
アラビノース	-	-	-
リボース	-	-	-
キシロース	-	-	-
イノシトール	D [(+)]	D [-]	D [-]
マンニトール	-	-	-
ラクトース	-	D [(+)]	D [(+)]

表3. 分離された *Rodentibacter ratti* の薬剤感受性試験結果

Antimicrobial agent	MIC (μg/mL)
Piperacillin	≤4
Ceftazidime	≤1
Cefozopran	≤1
Cefepime	≤1
Imipenem	≤0.5
Meropenem	≤0.5
Aztreonam	≤1
Ampicillin/Sulbactam	≤4
Cefoperazone/Sulbactam	≤8
Piperacillin/Tazobactam	≤4
Gentamicin	≤1
Tobramycin	≤1
Amikacin	≤4
Minocycline	≤1
Levofloxacin	≤0.5
Ciprofloxacin	≤0.25
Sulfamethoxazole/Trimethoprim	≤1
Fosfomycin	≤4
Chloramphenicol	≤8

て行った。Average nucleotide identity (ANI) 解析にはドラフト全ゲノム解析によって得たコンティグを用いた。コンティグは菌株 DNA を Miseq (イルミナ株式会社) によって 300 bp×2 のシーケンシングし、リードを SPAdes⁴⁾ を用いて de novo assembly することにより得た。MiSeq に供した DNA ライブラリは、QIAseq FX DNA Library Kit (QIAGEN) を用いて作成した。なお ANI 値の菌種同定の閾値は >95% とした⁵⁾。結果、ANI>95% を示す菌株ゲノムは *R. ratti* のみであったことから本菌と確定した。

(4) 薬剤感受性試験

基準濁度法で菌液調整し、MicroScan NM-NF1J (ベックマン・コールター株式会社) パネルを用いて MIC の測定を行った (表3)。CLSI 判定基準がないため MIC 値の報告のみとなったが、全ての薬剤に対して MIC 値は低値を示した。

考 察

今回、耳朶の鼠咬傷による *R. ratti* による敗血症を経験した。本症例では静脈血液培養、尿培養よりそれぞれ *R. ratti* が分離された。*Rodentibacter* 属は宿主外での環境では脆弱であることから³⁾コンタミネーションではなく、咬傷部から尿路へ血行性に播種した可能性が考えられた。また、最終的に 16S rRNA 遺伝子解析を行い *R. ratti* の相溶性が 100% であったが、次のような理由でこの菌種での報告を見送った。1 つは、API 以外の同定キットで菌種の同定に至らなかった事である。すなわち同定キットを用いて *Rodentibacter* 属や、*Pasuteuralla* 属の類縁の菌種を鑑別する際は、同一菌種内の菌株間で生化学性状に差が生じることや、「+」の表示が必ずしも 100% 陽性ではなく、反応性が弱いなど誤判定を招いてしまう可能性がある。さら *R.pneumotropica* ならびに *R. heylii* と非常に近い生化学性状をもつ *R. ratti* は表3の脚注にある「D」で示される反応がある。これは、11~89% の株が陽性になることを意味している。さらに、「D」で示されていても基準株の性状 ([] 内に表記) が「-」であることもあり、同一菌種内の菌株間で生化学性状に差が生じている³⁾。表3にある生化学性状の差を比較すると、リジンデカルボキシラーゼ、オルニチンデカルボキシラーゼ、ラクトースの利用能を調べれば、この3菌種から1菌種を特定できる可能性があるように見えたが、必ずしも「+」の表示が 100% 陽性ではないため、生化学性状での結果の判断が難しい。このことから同定キットのみでの判断には限界があると考えられた。2 つ目は 16S rRNA 遺伝子解析で *R. ratti* の相溶性が 100% で Rank1 ではあったが、その他に4菌種 100% の相溶性が見られた。全て *Rodentibacter* 属で、その中には質量分析や同定キットで同定されていた *R. pneumotropica* も含まれていたため、菌種の確定には至らなかった。16S rRNA 遺伝子解析では、500~600 bp の塩基配列の相溶性を見ても一致率を出しているが、それでも確定できなかったため、対象菌種の全ゲノム塩基配列に基づき、遺伝子解析を行い菌種の同定を行うべき症例であると判断した。その結果 95% 以上を示す菌株ゲノムは *R. ratti* のみであったことから、菌種の確定に至った。

Rdentibacter 属の同定には、98% の相溶性で設定しても同一菌種判定に不十分という報告もある⁶⁾。実際、再編論文¹⁾

と遺伝子配列データの公開後に複数のPCR法で確認されている12株の菌を簡易的に調べているが、そのうち2株が判定できず、*Rodentibacter* sp.の判定に留まった³⁾。同様にPCRの結果が一致しなかった事例として、J Am Assoc Lab Anim Sci. 2019 Mar 1; 58 (2) : 201-207に記載している⁷⁾。菌種同定にあたり、16S rDNA全長解析の基準株とBLAST解析で99%以上の相同性があれば、菌種によってマルチコピーrDNA全長の変異で同一菌種でも1%を超える差が生じる菌種も存在するが、判断できる可能性は高いと報告している⁸⁾。しかし、基準株の16S rDNA全長配列との相同性が95~98%の場合には判断できないとも述べている²⁾。

薬剤感受性試験では、全ての薬剤に対しMIC値が低値を示した。*Rdentibacter* 属は脆弱な細菌で、宿主の体外では長期間生存することが出来ないとされている為、薬剤耐性傾向を示す可能性は低いと思われた。*Rdentibacter* 属が人に感染することは稀であるが、今回の症例のように不衛生な生活環境で宿主の鼠との濃厚な接触機会があれば、脆弱な細菌であっても感染リスクが高く、原因菌になり得ると考えられた。

本菌種は論文も含め非常に情報が少なく、人に感染した際の文献については調べた限りなかった。また、知り得る限りで血液培養などから検出された報告はない。今回使用した同定キットのデータベースに本菌種は記載がなく、同定することは極めて難しかった。最終的な菌種同定の手段としてドラフト全ゲノム解析があるが診療報酬で算定できず、検査に時間もかかる。しかし、血液から検出された細菌については重要性が高く、迅速かつ正確な結果報告が求められる。そのため、グラム染色や生化学性状検査、質量分析装置の菌種同定を併せることが、ある程度の菌種を絞り込むための目安になり、重要な補助手段になると考えられる。

利益相反：申告すべき利益相反なし

文 献

- 1) Adhikary, S, W Nicklas, M Bisgaard, et al. 2017. *Rodentibacter* gen. nov. including *Rodentibacter pneumotropicus* comb. nov., *Rodentibacter heylii* sp. nov., *Rodentibacter myodis* sp. nov., *Rodentibacter rattii* sp. nov., *Rodentibacter heidelbergensis* sp. nov., *Rodentibacter trehalosifermentans* sp. nov., *Rodentibacter rarus* sp. nov., *Rodentibacter mrazii* and two genomospecies. Int J Syst Evol Microbiol 67 (6): 1793-1806.
- 2) Boot, R, W Nicklas, H Christensen. 2018. Revised taxonomy and nomenclature of rodent Pasteurellaceae: Implications for monitoring. Lab Anim 52 (3): 300-303.
- 3) 佐々木啓. 2019. 実験動物感染症の現状 肺パスツレラの細菌分類再編と微生物モニタリング. 実験動物ニュース 68: 26-30.
- 4) Bankevich, A, S Nurk, D Antipov, et al. 2012. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. J Comput Biol 19 (5): 455-477.
- 5) Kim, M, HS Oh, SC Park, et al. 2014. Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes. Int J Syst Evol Microbiol 64: 346-351.
- 6) Sackebrandt, E, J Ebers. 2006. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. Microbiol. Today 33: 152-155.
- 7) Dafni, H, L Greenfeld, R Oren, et al. 2019. The Likelihood of Misidentifying Rodent Pasteurellaceae by Using Results from a Single PCR Assay. J Am Assoc Lab Anim Sci 58 (2): 201-207.
- 8) Onyenwoke, RU, YJ Lee, S Dabrowski, et al. 2006. Reclassification of *Thermoanaerobium acetigenum* as *Caldicellulosiruptor acetigenus* comb. nov. and emendation of the genus description. Int J Syst Evol Microbiol 56: 1391-1395.

A case of sepsis caused by *Rodentibacter rattii*

Ayumi Yamaji¹⁾, Takahiro Kinebuchi¹⁾, Tadanori Noro²⁾, Ryouga Kitano¹⁾, Kenta Masuda¹⁾, Toshio Arai³⁾

¹⁾Department of Laboratory Medicine, Social Welfare Corporation Hokkaido Social Work Association Furano Hospital

²⁾Department of Cardiology, Social Welfare Corporation Hokkaido Social Work Association Furano Hospital
(Current address: Department of Cardiology, National Hospital Organization Asahikawa Medical Center)

³⁾Department of Internal Medicine, Social Welfare Corporation Hokkaido Social Work Association Furano Hospital

Rodentibacter rattii is a Gram-negative short rod of the Pasteurellaceae family. It is mainly detected at high rates in laboratory animals such as mice and rats, and infection in humans is rare. The patient is a woman in her 80s undergoing outpatient treatment after aortic valve replacement surgery. Since the fever did not improve, the patient visited our emergency department and was admitted to the hospital for further investigation and treatment. A blood culture taken on the same day was positive and a Gram stain showed Gram-negative small rods. Mass spectrometry analysis performed directly from the bottle culture was determined to be *Rodentibacter pneumotropica*, the species could not be confirmed by biochemical characterization using a simplified identification kit. It was identified as *R. rattii* by genetic analysis. There are few databases for this organism, and whole genome analysis was useful for identification.