

褥瘡検体より *Clostridium tetani* が分離された破傷風の 1 症例

◎宮川 大輝¹⁾、林 美知子¹⁾、富永 峻太郎¹⁾、長野 司¹⁾、山本 民¹⁾
公益社団法人 京都保健会 京都民医連中央病院¹⁾

【はじめに】破傷風は創傷から感染した *Clostridium tetani* が産生する破傷風毒素によって引き起こされる感染症である。罹患すると急激な臨床経過を辿り、極めて致死率が高いため早期診断と治療が必要な重症感染症である。破傷風の診断で臨床材料から *C. tetani* が分離されることは極めて少なく、開口障害や全身性硬直性痙攣など特徴的な臨床症状から診断される例が多い。今回、褥瘡検体から分離された症例を経験したので報告する。【症例】70 歳代男性。既往歴は不明。自宅敷地内でテント生活をしており、テント内で体動困難となっていたところを発見され、当院に救急搬送となった。全身褥瘡、意識障害などを認め入院となり、第 5 病日に開口障害、全身性痙攣を認めたことから破傷風を疑い、緊急挿管のうえ重症病棟での管理、破傷風トキソイド(TTd)、抗破傷風ヒト免疫グロブリン(TIG)、ペニシリン G(PCG)が投与され、治療開始となった。第 7 病日にてデブリドマン処置が実施され、右臀部褥瘡と周囲膿汁スワブ検体の 2 検体が提出された。培養検体の塗抹検査及び培養検査から *C. tetani* が検出されたことで破傷風と確定診断され、

加療を継続し、第 70 病日には重症病棟を退室、第 120 病日に他院へ転院となった。【細菌学的検査】提出された右臀部褥瘡のデブリ検体及び周囲膿汁スワブ検体は速やかに Gram 染色と分離培養を実施した。どちらの検体も Gram 染色にて端在性芽胞を有する Gram 陽性桿菌が認められ、*C. tetani* 疑いとして担当医に報告となった。35℃、48 時間嫌気培養を実施したところ、デブリ検体では培地上に独立したコロニーと混在してフィルム状に遊走するコロニーを認めた。遊走コロニーは MALDI-TOF MS にて *C. tetani* と同定され、合わせて *Providencia rettgeri*, *Enterococcus faecalis* の計 3 菌種が検出された。一方、スワブ検体では *C. tetani* の発育は認められず、*P. rettgeri*, *E. faecalis* の 2 菌種のみ検出された。【まとめ】今回、褥瘡検体から *C. tetani* を分離した症例を経験した。同時に採取されたスワブ検体では Gram 染色で *C. tetani* を疑う菌体が認められたものの培養では検出されず、適切な検体が検査室へ提出される重要性を改めて認識する症例となった。

(連絡先：075-861-2220 内線：2169)

Clostridium tetani を分離した破傷風の 2 症例

◎中尾 歩美¹⁾、山崎 一馬¹⁾、林 季布¹⁾、井戸向 昌哉¹⁾、松岡 徳登¹⁾
日本赤十字社和歌山医療センター¹⁾

【背景】*Clostridium tetani* は破傷風の原因菌であり、偏性嫌気性のグラム陽性有芽胞桿菌である。今回我々は、症例として比較的まれであり、検出感度が低いとされている *C. tetani* を分離した症例を 2 例経験したので報告する。

【症例 1：80 歳代女性】

主訴：左上下肢脱力、喋りにくい

既往歴：高血圧、脂質異常症

現病歴：当院受診 11 日前に自宅の庭で転倒し、左前腕を受傷した。後日、喋りにくさおよび左手指の動かしづらさを感じ、症状が進行したため当院に紹介受診となった。

【症例 2：60 歳代男性】

主訴：口が開きにくい、物が二つに見える

既往歴：慢性腎不全、糖尿病

現病歴：当院受診 5 日前、農作業中に顔面より転落し右頬部を受傷した。その後、透析目的に他院を受診し、蜂窩織炎として抗生剤を処方されたが改善が見られず、口の開きにくさを自覚し、破傷風による開口障害が疑われ当院へ搬送された。

【微生物学的検査】症例 1 では、左前腕デブリドマン施行時に提出された検体より *S. aureus* と嫌気性グラム陽性桿菌が検出され、症例 2 では、右目創部及び切開された周囲膿瘍から *E. cloacae*、*C. freundii complex*、*S. marcescens* および嫌気性グラム陽性桿菌が検出された。症例 1、2 の嫌気性グラム陽性桿菌はともに質量分析にて *C. tetani* と同定された。

【遺伝子学的検査】検出された *C. tetani* について、破傷風毒素遺伝子の検出を試みた。菌体から DNA を抽出し、2 組のプライマー（GAT1 と GAT2、GAT5 と GAT6）を用いてリアルタイム PCR を実施した。その結果、両菌株でそれぞれ増幅が認められた。

【結語】*C. tetani* の培養検査は、感度・特異度ともに低く、破傷風は臨床症状から診断されることが多いが、今回、本菌を分離できたことで、コロニー所見やグラム染色像などを実際に観察し、知見を深めることができた希少な症例であった。

（連絡先 073-422-4171）

質量分析法を用いて喀痰より *Mycobacterium shinjukuense* を同定した 1 症例

◎鈴木 遥¹⁾、藤原 佐美¹⁾、辰己 俊¹⁾、久保 友香¹⁾、小森 法子¹⁾、溝上 泰司¹⁾、新田 幸一¹⁾
独立行政法人 国立病院機構 京都医療センター¹⁾

【はじめに】*M.shinjukuense* は RunyonⅢ群に分類される非結核性抗酸菌(NTM)の一種で、本邦で 2011 年に新菌種として報告された稀少菌種である。2023 年時点で報告症例数は 25 例程度であり、他の稀少菌種と同様に病原性や治療必要性に関しては不明確である。今回、喀痰から *M.shinjukuense* を検出した症例を経験したので報告する。

【症例】70 代女性。呼吸器疾患の既往なし。就寝時に喀血を認め当院呼吸器内科を受診した。胸部 CT で両肺広範囲に粒状影を認め、抗酸菌等の慢性気道感染が疑われたため三連痰が提出された。NTM 症と診断され、無治療経過観察の方針となった。

【微生物学的検査】抗酸菌染色で三連痰すべてに抗酸菌を認めた。TRC Ready-80 (東ソー社)にて遺伝子検査を実施したが結核菌群 (MTB) および *Mycobacterium avium complex*(MAC)は共に陰性であった。MGIT による液体培養では各検体 2~4 週で培養陽性となった。継代培養したコロニーを用い、MALDI Biotyper (Bruker 社) により *M.shinjukuense* と同定した。薬剤感受性検査はブロスミッ

ク NTM(極東製薬)を用いて実施した。いずれの薬剤も低い MIC 値を示した。

【考察】*M.shinjukuense* は質量分析装置の普及に伴い同定症例が増えつつある菌である。しかし本菌は MTB と 16S rRNA 遺伝子塩基配列の相同性が高く、過去に販売されていた核酸増幅検査試薬では MTB に偽陽性を示すという報告もある。したがって必要に応じた検査法を組み合わせることで確認を行う慎重さが検査精度の向上に必要となる。本症例では質量分析法によって迅速に同定結果を報告でき、速やかな治療方針の決定に繋げることができたと考える。治療法としては既報の多くで肺結核症や肺 MAC 症の治療薬が使用されており、いずれの治療法においても良好な転帰である例が多い。本症例でも治療が必要となった場合に活用できる検査結果があることは有用である。NTM の稀少菌種の分離が増加する中、症例の蓄積により病原性や病態、治療法を解明していくことが重要であると考ええる。

連絡先 075-641-9161

融解曲線解析結果の確認が早期同定に寄与した *Mycobacterium haemophilum* 感染症の一例

◎池本 真哉¹⁾、三代 勇樹¹⁾、中通 由美¹⁾、荒木 悠香²⁾、藤川 康則²⁾、青野 昭男³⁾

大阪市立十三市民病院 中央臨床検査部¹⁾、大阪市立総合医療センター 医療技術部 臨床検査部門²⁾、財団法人 結核予防会 結核研究所³⁾

【はじめに】*Mycobacterium haemophilum* は非結核性抗酸菌であり、易感染宿主における皮膚軟部組織感染症、敗血症、関節炎などが報告されている。また、発育にヘミンや鉄を必要とし 25～30℃が発育の至適温度であるといった特徴がある。菌の検出には特殊な培養条件で行わなくてはならず、培養条件追加のタイミングで結果報告までに時間を要す可能性がある。今回、融解曲線解析結果の確認が早期の同定に寄与した *M. haemophilum* の症例を経験したため報告する。【症例】後天性免疫不全症候群およびバーキットリンパ腫を背景に有し、右環指に化膿性腱鞘滑膜炎を発症した 32 歳男性。【微生物学的検査】右環指の開放性膿より抗酸性染色（蛍光染色法）で 2+、GENECUBE®（東洋紡）を用いた PCR 検査は、ジーンキューブ®MTB およびジーンキューブ®MAI のいずれも陰性であった。しかし MTB の融解曲線で 56℃付近を頂点とした反応を認めたことから、*M. haemophilum* を疑い、通常の抗酸菌培養検査に加え、チョコレート寒天培地（極東製薬）を 30℃、5%CO₂環境下で培養を実施した。通常の抗酸菌培養検査では発育は認めなかつ

たが、チョコレート寒天培地で培養 28 日目にコロニーの形成を確認し、質量分析（Bruker）にて *M. haemophilum* と同定した。薬剤感受性検査はブロスミック SGM（極東製薬）を用いたが、接種菌液にストレプト・ヘモサプリメント（栄研化学）を加え調整した。30℃で培養し、7 日目に判定した。MIC 値（μg/mL）は、AMK ≤8, AZM 0.25, CAM ≤0.06, DOXY 1, EB >16, TH 8, INH >4, KM 4, LZD ≤2, MINO 4, MFLX ≤0.25, STFX ≤0.125, RBT ≤0.25, RFP ≤0.125 であった。【まとめ】今回、融解曲線解析結果を確認することにより *M. haemophilum* を早期に同定できた症例を経験した。本菌は国内での報告例は少ないが、世界的には増加傾向である。そのため、早期の診断や適切な治療につなげるため、検査機器・試薬の特性や細菌学的特徴を十分理解し、必要に応じて培地の追加や培養条件を変更することが重要である。

（連絡先）06-6150-8000

会員外研究者：白野 倫徳、森田 諒

Loopamp 法によるレジオネラ属菌検出における前処理法の比較検討

◎金岡 舞¹⁾、田代 健一朗¹⁾、川島 史也¹⁾、大住 祥太¹⁾、深野 未来¹⁾、阪上 唯¹⁾、國領 真帆¹⁾、山中 良之¹⁾
医療法人 徳洲会 岸和田徳洲会病院¹⁾

【目的】

Loopamp レジオネラ検出試薬キット C は、Loopamp 法（以下 LAMP 法）を利用したレジオネラ属菌遺伝子検出試薬である。本試薬での検査には喀痰検体からの核酸抽出が必要であり、従来から用手法の QIAGEN キットを用いた抽出法（以下 QIAGEN 法）が用いられているが、操作の煩雑さが課題となっている。そこで本検討では、QIAGEN 法と全自動抽出装置 magLEAD を用いた自動抽出法（以下 magLEAD 法）の 2 法について、LAMP 法による検出性能比較を行った。また、magLEAD 法については核酸抽出後の加温操作の有無による影響についても併せて評価した。

【方法】

当院で確定診断されたレジオネラ症患者の喀痰検体 11 件、非レジオネラ症患者の喀痰検体 11 件を対象とした。前処理法は①QIAGEN 法、②magLEAD 法+95℃加温、③magLEAD 法（加温なし）の 3 通りとした。各前処理法で抽出した DNA 検体で LAMP 法を実施し、陽性・陰性結果、および Tt 値を比較した。

【結果】

レジオネラ症患者の喀痰検体の結果は、①～③いずれの方法で全て陽性判定となり、非レジオネラ症患者の喀痰検体の結果は全て陰性判定となった。陽性判定であった検体の Tt 値平均（分：秒）はそれぞれ、①QIAGEN 法 21:28、②magLEAD 法+95℃加温 21:19、③magLEAD 法（加温なし）21:59 であり、Tt 値に大きな差は認められなかった。

【まとめ】

本検討から、magLEAD 法の抽出性能は QIAGEN 法と同等以上であり、magLEAD 法による核酸抽出後の加熱処理は必須ではないと結論付けられた。レジオネラ肺炎の診断は尿中抗原検査が主流であるが、抗原検査のみでは検出できない症例もあり、遺伝子検査を併用する意義は高い。magLEAD と LAMP 法を組み合わせた遺伝子検査は簡便、迅速かつ高感度にレジオネラを検出することが可能になり、検査現場において有用な手法であると考えられる。

医療法人徳洲会 岸和田徳洲会病院
連絡先：072-445-9796（直通）