

[症 例]

迅速発育性抗酸菌 *Mycobacterium farcinogenes* による骨髄炎の 1 症例磯崎将博¹⁾・金子 優¹⁾・松下久美子¹⁾・大楠清文²⁾¹⁾ 天草郡市医師会立天草地域医療センター 検査部²⁾ 岐阜大学大学院医学系研究科 病原体制御学分野

(平成 22 年 8 月 20 日受付, 平成 23 年 3 月 2 日受理)

患者は 66 歳の男性。平成 20 年 1 月 1 日自転車で転倒した際に、左下腿骨を開放骨折し骨接合術を受けていた。4 月 30 日頃より受傷部周囲に腫脹・疼痛が出現したため、感染症疑いにて当院整形外科を受診し、治療・手術目的のため入院した。腫脹部の切開排膿術後、培養目的で膿汁が提出された。培養 2 日目頃より *Corynebacterium* 属様の乳白色の集落を認めた。グラム染色では薄い陽性に染まる桿菌で、Kinyoun 染色では抗酸性に染まる菌と染まらない菌が混在していた。同定困難な菌種の可能性を考え、さらに骨髄炎という病態を考慮し、遺伝子学的解析による同定を選択した。16S rDNA と ITS 領域の塩基配列を解析した結果、*M. farcinogenes* であることが判明した。本菌種による感染症は本邦で初めての報告である。

Key words: 骨髄炎, *Mycobacterium farcinogenes*, 16S rDNA, ITS 領域

I. 序 文

Mycobacterium farcinogenes は、アフリカのウシ科の皮疽病の原因菌として、1973 年に Chamoiseau らによって提唱された菌種である。本菌のヒトからの分離報告はまれで、これまでに中国で 1 例が報告¹⁾されているのみである。今回筆者らは、左下腿骨開放骨折の骨接合術後に骨髄炎を発症した患者より *M. farcinogenes* を分離・同定したので報告する。

I. 症 例

患者: 66 歳, 男性。

主 訴: 左下腿骨骨折部の腫脹, 疼痛。

既往歴: 特記すべきことなし。

現病歴: 平成 20 年 1 月 1 日に自転車で坂道を下っている際に転倒し、左下腿骨を開放骨折し当院に救急搬送され、受傷部の洗浄、デブリドマンおよび骨接合術が施行された。退院後、自宅近くの整形外科に通院

していたが、4 月 30 日頃より受傷部周囲に腫脹・疼痛が出現。感染症が疑われ、5 月 14 日当院整形外科を紹介受診された。左下腿骨開放骨折後の骨髄炎と診断され、治療・手術目的のため入院となった。

II. 微生物学的検査

1. 塗抹検査: 5 月 14 日に腫脹部の切開排膿術が行われ、一般細菌培養検査目的にて膿汁が提出された。膿汁のグラム染色(フェイバー G 「ニッスイ」: 日水製薬)鏡検では細菌は認められなかった。
2. 分離培養: チョコレート寒天 EX (日水製薬), ヒツジ血液寒天 EX (日水製薬) およびドリガルスキー改良培地(日水製薬)を用いて、35°C, 好気条件下で培養を実施した。培養 2 日目頃より、チョコレート寒天 EX, ヒツジ血液寒天 EX およびドリガルスキー改良培地上に *Corynebacterium* 属様の乳白色の集落を認めた。
3. 同定検査: コロニーのグラム染色を実施したところ、グラム陽性に薄く染まった桿菌(図 1)であったため抗酸菌を疑った。追加実施した Kinyoun 染色(メルク)では、抗酸性に染まる菌体と染まらない菌体(図 2)が混在していた。以上の結果より抗酸菌が疑わしかったが、グラム陽性桿菌の可能性も否定できなかったため、

著者連絡先: 〒863-0046 熊本県天草市亀場町食場 854-1
社団法人天草郡市医師会立天草地域医療センター 検査部
磯崎将博
TEL: 0969-24-4111 (内線 164)
FAX: 0969-23-4496
E-mail: m.isozaiki@adagio.ocn.ne.jp

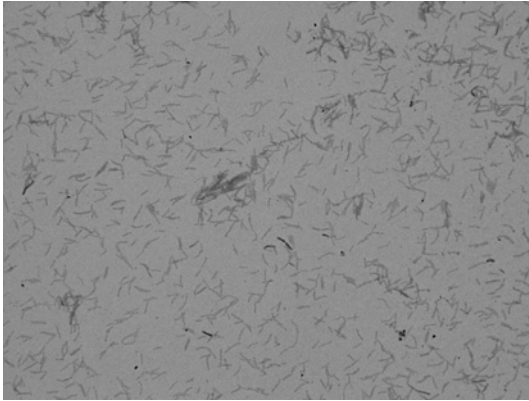


図1. 分離菌のグラム染色像(×1,000)

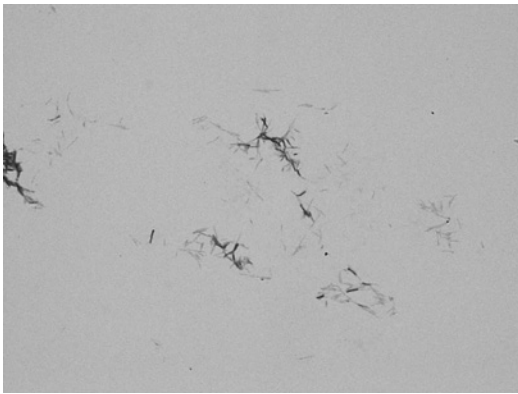


図2. 分離菌のKinyoun染色像(×1,000)

念のため BBL CRYSTAL GP (日本 BD) にて同定を試みたが、菌種の確定には至らなかった。次に、抗酸菌か否か鑑別するため、寒天培地上よりかき採ったコロニーをスプータメントゾル (極東製薬) を用いて酸処理した後、小川 K 培地 (極東製薬) および 2% ビット培地 (極東製薬) に接種し培養を試みた。すると培養 2 日目頃より小川 K 培地と 2% ビット培地の両方に菌の発育が認められたため、抗酸菌の可能性が高いと判断し主治医へ報告した。その後、主治医より 5 月 14 日の排膿検体に TB-PCR と MAC-PCR、分離菌株に TB-PCR の追加検査依頼があり、冷蔵保存しておいた排膿検体と分離菌株を用いて PCR 検査を実施したが、結果はすべて陰性であった。5 月 14 日の排膿術後の臨床症状に改善が見られず、5 月 22 日に再手術が施行された。再手術時に提出された骨髄組織の TB-PCR の結果も陰性であった。こ

表 1. 薬剤感受性検査結果

抗菌薬	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
SM	64
EB	>128
KM	32
INH	>32
RFP	32
LVFX	0.5
CAM	32
TH	>16
AMK	8

の時点で、同定困難な菌種の可能性を考え、さらに骨髄炎という病態も考慮し、遺伝子学的解析による同定を試みた。菌株の 16S rDNA の塩基配列を決定して基準株との相同性を検討した結果、*M. farcinogenes* および *Mycobacterium senegalense* と各々 99.4%、99.7% の相同性であった。さらに両者を鑑別するべく、両菌種間で配列が異なる ITS 領域の塩基配列を解析した。その結果、本菌は *M. farcinogenes* と 99.4% (156/157) の相同性であった。

4. 薬剤感受性検査: 薬剤感受性検査は薬剤感受性キットプロスマック NTM (極東製薬) を用いて streptomycin sulfate (SM), ethambutol hydrochloride (EB), kanamycin (KM), isoniazid (INH), rifampicin (RFP), levofloxacin (LVFX), clarithromycin (CAM), ethionamide (TH), amikacin (AMK) の 9 薬剤について最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。結果を表 1 に示す。6 月 11 日から LVFX の投与を開始したところ、徐々に症状も改善し、7 月 11 日に無事退院した。現在は外来通院にて経過観察中である。

III. 考 察

整形外科領域における感染症の起原因菌としては、*Staphylococcus aureus* の頻度が高いとされている²⁾が、*M. tuberculosis* のほか *M. marinum*, *M. avium-intracellulare* complex, *M. arosiense* sp. nov. などの非結核性抗酸菌も報告^{3)~7)}されている。実際、当院においても過去に整形外科領域の臨床材料から *M. avium* あるいは *M. intracellulare* の分離例を経験しており、整形外科から依頼される培養検査については、日頃から *Mycobacterium* 属菌の可能性も念頭において検査を実施している。本症例においても当初、

コロニーのグラム染色所見より抗酸菌を疑ったが、Kinyoun 染色では抗酸性に染まるものと染まらない菌体が混在していたこと、2日間の培養で *Corynebacterium* 属様のコロニーを形成するという発育の速さから、抗酸菌と判断するのに苦慮した。抗酸菌の染色性については、グラム染色では標本の温度がその染色性に影響を与えるとされている⁸⁾が、Kinyoun 染色ではこの影響はないと考えられる。そこで、染色手技によるものなのか、Kinyoun 染色を数回、実施者を変えて試みたが、そのほとんどが斑のある染め上がりとなった。さらにこの染色斑の原因が染色法によるものなのか確認するために蛍光染色と Ziehl-Neelsen 染色を実施した。蛍光染色では菌体に沿ってきれいに蛍光発色するものと部分的に発色するものが混在していた。一方、加温を必要とする Ziehl-Neelsen 染色では抗酸性にきれいに染まった菌体を確認することができた。したがって、抗酸性に染まったり染まらなかったりする現象は、染色法と染色時の温度の違いに起因しているものと推察された。

当院においては、抗酸菌培養では日常的に平板培地を用いることがないため、コロニー性状からは抗酸菌と判断することができなかった。しかし、抗酸菌か否かを鑑別するため、筆者らは分離菌を抗酸菌用の喀痰前処理に使用するスプーアメントゾルで酸処理を行った後、培地に接種し菌の発育の有無を確認している。今回分離した菌株は、培養2日間程度で肉眼的にコロニーの発育を確認できるほど発育速度が速かったため、発育を確認後、遺伝子学的解析を実施するに至り、同定結果を迅速に報告することが可能であった。さらに、遅発育菌の場合を考慮すれば、検体の塗抹鏡検所見から抗酸菌が疑われた場合には、検体から直接、遺伝子解析を行って起炎菌の同定を行うことも選択肢の一つとして重要である。

結核検査指針2007⁹⁾によれば、本菌種はヒトに対する起病性はないとされている。しかしながら、本症例では、起炎菌と考えられる細菌が他に分離されなかったことや抗菌薬による治療に速やかに反応して臨床症状も軽快したことなど総合的に判断すれば、*M. farcinogenes* が骨髄炎の起炎菌であった可能性が高いと考えられた。

感染経路については、開放骨折部以外に感染巣が認められなかったことから、受傷部以外の部位から血行性に感染したものではないと推察された。開放骨折時に *M. farcinogenes* が侵入した後、潜伏して、術後5カ月経って骨髄炎を発症したものと考えられた。患者本人に転倒骨折時の現場状況を確認したが、転倒場所

でウシやその他の家畜がとりわけ多く飼育されていたという事実はなかった。土壤中に生息していた *M. farcinogenes* が侵入したものと思われた。Wong らの報告¹⁾では、人工股関節置換術後6カ月経ってから感染症を発症し、本菌を分離したとしている。今回筆者らが経験した症例と同様に、術後に長期間、潜伏していた可能性が考えられる。また、上原ら¹⁰⁾は本菌と同じ迅速発育菌に属する *M. fortuitum* による人工膝関節置換術後感染を報告しているが、その症例でも術後1カ月経ってから感染症を発症している。整形外科領域における非結核性抗酸菌感染症はまれであるが、術後、長期間を経た後に感染症を発症する可能性があるということも念頭に入れておく必要がある。

以上のように、本症例では、分離当初からグラム陽性桿菌と抗酸菌との鑑別が困難であったが、病態が骨髄炎であることを考慮して、遺伝子学的解析による同定が適切だと判断したことが、迅速かつ適切な患者診療につながった。*M. farcinogenes* は市販されている同定キットでは同定できない菌種であったことから、迅速な診断が要求されるケースにおいては、遺伝子学的解析を適応することが大切である。

なお、本論文の要旨は第43回九州医学検査学会(鹿児島市、2008年10月)において発表した。

文 献

- 1) Wong, T. C., W. F. Chan, W. L. Tsang, et al. 2005. *Mycobacterium farcinogenes* infection after total hip arthroplasty. J. Arthroplasty 20: 684-687.
- 2) 大野義幸, 糸数万正. 1995. 整形外科領域の感染症ならびにその起炎菌の変遷. MB Orthop. 8(3): 9-18.
- 3) Prechtel, N. V., J. T. Marcoux. 2008. Tuberculous osteomyelitis of the midfoot in the absence of a pulmonary lesion. Foot Ankle Surg. 14: 225-228.
- 4) Sivan, M., D. Bose, N. Athanasou, et al. 2008. *Mycobacterium marinum* osteomyelitis of a long bone. Joint Bone Spine 75: 600-602.
- 5) Adhikesavan, L. G., T. M. Harrington. 2008. Local and disseminated infections caused by *Mycobacterium marinum*: An unusual cause of subcutaneous nodules. J. Clin. Rheumatol. 14: 156-160.
- 6) Kahlon, S. S., J. W. East, J. C. Sarria. 2008. *Mycobacterium avium-intracellulare* complex immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV/AIDS presenting as osteomyelitis. AIDS Read. 18: 515-518.
- 7) Bang, D., T. Herlin, M. Stegger, et al. 2008.

- Mycobacterium arosiense* sp. nov., a slowly growing, scotochromogenic species causing osteomyelitis in an immunocompromised child. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 58(Pt 10): 2398–2402.
- 8) 永田邦昭. 2006. 感染症診断に役立つグラム染色, p. 73–76, 日水製薬株式会社, 東京.
- 9) 斎藤 肇. 2007. 抗酸菌の同定. 結核菌検査指針 2007, p. 52 (日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会編), 財団法人結核予防会, 東京.
- 10) 上原悠輔, 他. 2009. *Mycobacterium fortuitum* による人工膝関節置換術後感染の 1 例. 整形外科と災害外科 58: 183–187.

A Case of Osteomyelitis Caused by *Mycobacterium farcinogenes*

Masahiro Isozaki,¹⁾ Yu Kaneko,¹⁾ Kumiko Matsushita,¹⁾ Kiyofumi Ohkusu²⁾

¹⁾ Department of Clinical Laboratory, Amakusa Medical Center

²⁾ Department of Microbiology, Gifu University Graduate School of Medicine

The patient was a 66-year-old male who had fallen off a bicycle while cycling down a hill on January 1st, 2008. He underwent osteosynthesis for a compound fracture in the left lower thigh. Since swelling and pain occurred in the vicinity of the lesion around April 30th and infection was suspected, he visited the Orthopedic Department of our hospital and was hospitalized for treatment, including surgery. Pus was collected for culturing during incisional purulent drainage of the swelling lesion. On the second day of culturing, *Corynebacterium*-like opaque white colonies were observed. Weak Gram-positive bacillus was found and was suspected to be an acid-fast bacterium. However, a mixture of acid-fast and non-acid-fast bacteria was observed by Kinyoun staining, which made it difficult to identify the colonies as acid-fast bacterium or Gram-positive bacillus. Based on the difficulty of identifying the bacteria and the pathology of osteomyelitis, a genetic analysis was conducted. This analysis of the base sequences of the 16S rDNA and ITS regions confirmed the presence of *M. farcinogenes*. This is the first case report of an infectious disease involving *M. farcinogenes* in Japan.