

## [症 例]

再発を繰り返した *Corynebacterium kroppenstedtii* による  
乳腺炎の1症例菅原芳秋<sup>1)</sup>・大楠清文<sup>2)</sup>・大塚喜人<sup>3)</sup>・坂田英子<sup>4)</sup>  
須田武保<sup>5)</sup>・中栄正隆<sup>1)</sup>・柴崎浩一<sup>6)</sup><sup>1)</sup>日本歯科大学医科病院中央検査科<sup>2)</sup>岐阜大学大学院医学系研究科病原体制御学分野<sup>3)</sup>医療法人鉄蕉会亀田総合病院臨床検査部<sup>4)</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科機能再建医学消化器一般外科学分野<sup>5)</sup>日本歯科大学新潟生命歯学部外科学講座<sup>6)</sup>日本歯科大学新潟生命歯学部内科学講座

(平成24年1月6日受付, 平成24年4月16日受理)

症例は36歳, 女性。右乳房痛と発熱を主訴に入院。超音波検査で膿瘍を認めたため, 局部麻酔下にて切開ドレナージが施行され, flomoxef, clindamycinが投与された。いったんは治癒したが, 再発を繰り返して治療に難渋した。閉鎖膿のグラム染色で多数の白血球とグラム陽性桿菌の白血球貪食像が観察された。培養検査ではコロンビア5%ヒツジ血液寒天培地(日本BD)に非溶血性の白色コロニーを認めた。同定キットや生化学的性状では菌種を確定できなかったが, 遺伝子学的検査法によって *Corynebacterium kroppenstedtii* と同定した。 *C. kroppenstedtii* は脂質好性であるため, 脂肪が豊富な乳腺で感染を起こすことが特徴である。水溶性の抗菌薬は乳腺への移行性が低いため, 本菌に対して感受性を示しても効果が得られにくいことが, 再発を繰り返した要因の一つと考えられた。再発を繰り返す乳腺炎や肉芽腫性乳腺炎を認めた場合には, *C. kroppenstedtii* による感染の可能性を念頭におき, 培養期間の延長や脂質を添加した培地を用いた検査が重要である。

**Key words:** *Corynebacterium kroppenstedtii*, mastitis, 再発, lipophilic corynebacteria

## 序 文

乳腺炎は初産婦に多く, 褥婦の約2%でうっ滞性乳腺炎が生じる。そのうち約10%が化膿性乳腺炎となり膿瘍を形成する。起炎菌は *Staphylococcus aureus* が多く, ほかに coagulase negative staphylococci や viridans streptococci である<sup>1)</sup>。近年, 欧米では *Corynebacterium kroppenstedtii* による感染が肉芽腫性乳腺炎の病態に関与しているとの報告<sup>2-5)</sup>が増加の傾向にあるが, 本邦における論文報告は1例<sup>6)</sup>を認めるのみである。今回われわれは, 再発を繰り返した乳腺炎患者の膿汁から *C. kroppenstedtii* を分離・同定することができた

ので, 文献学的な考察を加えて報告する。

## 症 例

患者: 36歳, 女性

主 訴: 右乳房痛, 発熱

既往歴: 男児出産(34歳), 左乳腺炎(35歳)

現病歴: 2006年12月下旬に右乳房痛が出現。2007年1月4日に右乳房痛が増強し, 発赤, 疼痛が認められたため, 近医受診。右乳腺炎と診断され, cefcapene pivoxil (CFPN-PI) が処方された。1月8日より38℃台の発熱があり, 1月10日に再度受診したところ, 膿瘍の増大を認めたため, ドレナージ目的で当院外科に入院となった。

臨床経過 (Fig. 1): 入院時検査所見より, 白血球数  $14.2 \times 10^3/\mu\text{l}$ , CRP 7.36 mg/dl と炎症所見を認め, 乳房超音波検査にて, 右乳腺に  $33 \text{ mm} \times 17 \text{ mm}$  の膿瘍を認めたため, 局部麻酔下にて切開ドレナージが施行され

著者連絡先: (〒951-8580) 新潟市中央区浜浦町1-8

日本歯科大学医科病院中央検査科

菅原芳秋

TEL: 025-267-1500 (内線713)

FAX: 025-267-1134

E-mail: sugayo@ngt.ndu.ac.jp

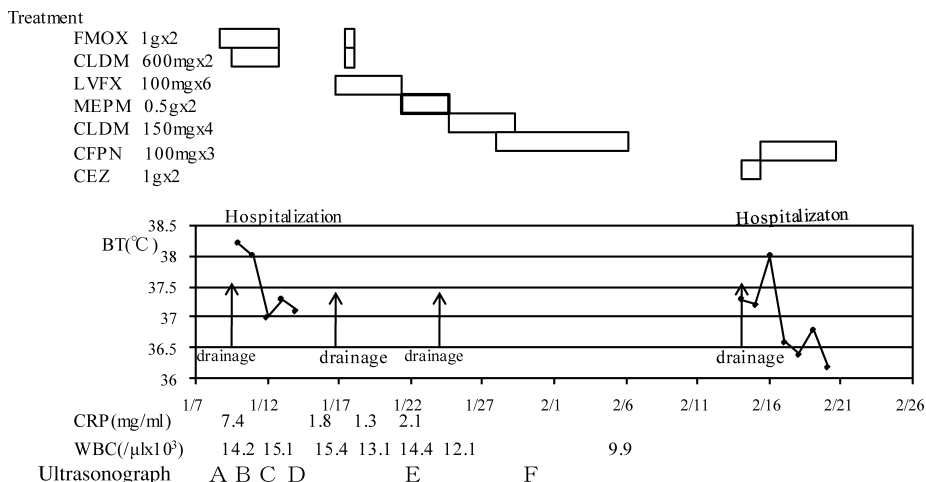


Fig. 1. Clinical course. CFPN-PI: cefcapene pivoxil, FMOX: flomoxef, CLDM: clindamycin, LVFX: levofloxacin, MEPM: meropenem, CEZ: cefazolin, BT: Body temperature, WBC: White blood cell count, CRP: C-reactive-protein

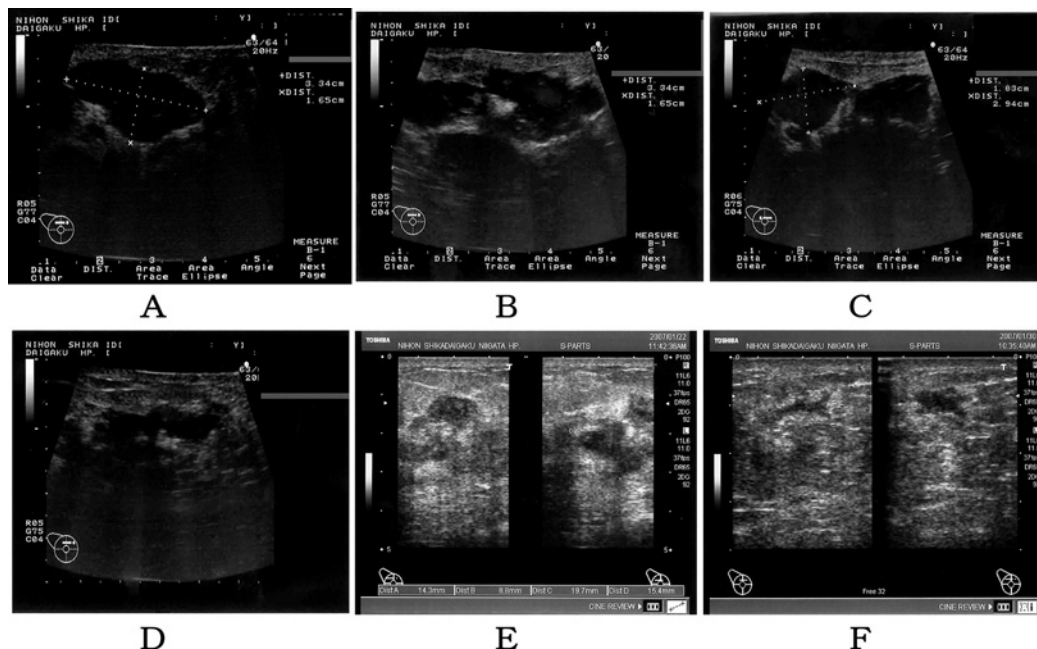


Fig. 2. Ultrasonograph. A: 1/11. A hypochoic lesion measuring 33 mm  $\times$  17 mm with abscess was observed in the right breast. B: 1/11. multifollicular abscess formation. C: 1/12. 36 mm  $\times$  20mm with abscess. D: 1/14. Reduction of abscess. E: 1/22. 10 mm  $\sim$  20 mm with abscess. F: 1/30. 10  $\times$  10 mm with abscess.

(Fig. 2A, B), 3カ所穿刺し合計12 ml くらいの黄緑色の膿を採取した。同日, flomoxef (FMOX) 1g  $\times$  2/dayの投与が開始された。翌日, グラム染色においてグラム陽性桿菌が認められたが, コロニーの発育が見られなかったため嫌気性菌の感染を考慮して, clindamycin (CLDM) 600 mg  $\times$  2/dayが追加投与された。Fig. 2に超

音波検査における経過を示す。1月14日に炎症反応, 症状ともに改善し退院となった。しかし, 1月16日に右乳房上部に発赤, 疼痛部が再出現し, 同部に膿瘍形成も認められたため, 外来にて再度, 局部麻酔下で切開ドレナージが施行され, 抗菌薬がlevofloxacin (LVFX) 100 mg  $\times$  6/dayに変更された。1月22日の乳房

超音波検査にて10～20 mmの多房性膿瘍が認められ (Fig. 2E), 症状の改善も乏しいため, 抗菌薬がmeropenem (MEPM) 0.5 g×2/dayに変更された。1月25日に再び局部麻酔下にて切開ドレナージが施行され, ドレーンが留置されたが, 翌日には抜去された。1月26日から経口でCLDM 150 mg×4/day, 翌日CFPN-PI 100 mg×3/dayが投与された。1月30日より, 再び右乳房の痛みが強くなり, 硬結が認められるようになった。2月14日には硬結範囲が広がり, 乳汁がうっ滞してきたため, 再度入院となった。翌日, 全身麻酔下にて右乳腺腫瘍の切開ドレナージが施行された。その後硬結範囲が縮小し, 膿が乳汁様から漿液性に変化し, 症状も改善したため, 2月20日に退院となった。

## 細菌学的検査

### 1. 培養検査

1月11, 16, 25日に行われた切開ドレナージで採取された閉鎖膿と26日のドレーン排液の培養検査を実施した。11日に採取された閉鎖膿は, グラム染色においてグラム陽性桿菌が2+認められ, 多数の白血球とグラム陽性桿菌の白血球貪食像が観察された。培養はコロンビア5%ヒツジ血液寒天培地 (日本BD), ドリガルスキー改良培地 (栄研化学) を用いて好气的条件下で実施した。また, 変法GAM寒天培地 (日水製薬) を用いて嫌気培養を実施した。48時間培養後に, コロンビア5%ヒツジ血液寒天培地のみに非溶血性の白色コロニーを2+認めた。16日に採取された閉鎖膿のグラム染色においても, 菌量の減少は認められたが, 11日と同様にグラム陽性桿菌を認めた。しかし, 培養は陰性であった。25日採取の閉鎖膿と26日のドレーン排液は, グラム染色では白血球が多数観察されたが, 菌体は確認できなかった。なお, 培養では集落の発育を少数認めた。

### 2. 同定検査

1月11, 25日の閉鎖膿と26日のドレーン排液から分離された3菌株の同定はApi Coryne (シスメックス・バイオメリュール) を用いて実施した結果, *Corynebacterium argentoratense* (プロファイルNo. 2100104) と判定された。しかしながら, 同定確率が79.2%であったこと, 分離された材料が気道系ではなかったこと<sup>7)</sup>から, 11, 25日の閉鎖膿から分離された2菌株について遺伝子学的な同定を実施した。分離菌株の16S rRNA 遺伝子の塩基配列を解析して系統解析を行ったところ, いずれもC. kroppenstedtiiの基準株 (DDBJ accession number; CP001620) と99.7% (1446/1451) の一致率であった。系統解析においても分菌株はC. kroppenstedtii

と同一のクラスターを形成していたことから2月23日に本菌種と同定された。菌種名がC. kroppenstedtiiと判明した後, トリプチケースソイ寒天培地に1%の割合でTween80 (和光純薬工業) を添加して, 好気環境下で培養したところ, 24時間後に集落の良好な発育を認めた。

### 3. 薬剤感受性試験

最初に, MIC測定用ドライプレート‘栄研’ (栄研化学) を用いて, ミュラーヒントンブイヨン‘栄研’ (栄研化学) にストレプトヘモサプリメント‘栄研’ (栄研化学) を添加後, Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) のdocument M45-A<sup>8)</sup>に準拠した微量液体希釈法で測定した。しかしながら, 菌が発育しなかったため, 判定不能であった。そこで, ブルセラブロス (栄研化学) を用いて再度, 好気培養条件下で薬剤感受性試験を実施したところ, 発育が認められたため, 24時間後と48時間後の1月31日にMIC値を判定した (Table 1)。

次に, C. kroppenstedtiiは脂質好性であることから薬剤感受性試験の改良を試みた。すなわち, ミュラーヒントンブイヨンにTween80を1滴加えた。Tween80を均一に溶解するために, 35℃で約1時間放置した。その後, 菌液を調整して上述のCLSI法に準拠して薬剤感受性試験を実施した (Table 1)。

### 4. 病理学的検査

3月28日に施行された乳腺の生検病理検査において, リンパ球, マクロファージを主体とした炎症細胞の高度な浸潤が認められたため, 乳腺炎と診断された (Fig. 3)。

## 考 察

C. kroppenstedtiiは1998年にCollinsら<sup>9)</sup>によって記載された菌種である。

C. kroppenstedtiiの全ゲノム解析はすでに完了しており, 類縁菌種との機能注釈 (annotation) が行われている。その解析結果<sup>10)</sup>によればC. kroppenstedtiiの最大の特徴は, 脂質好性である。この特性を反映しているかのように, 脂質が豊富な乳腺において, C. kroppenstedtiiの感染と肉芽腫性乳腺炎の発症と病態に関係していることが近年注目されている。肉芽腫性乳腺炎は, 組織球や好中球, リンパ球, 形質細胞などの炎症細胞の浸潤を特徴とする良性的炎症性疾患である。また, 局所は弾性硬の腫瘤として触知され, マンモグラフィーや超音波検査などの画像所見においても境界不明瞭であり, 乳がんが疑われることも少なくない。したがって, 乳がんの診断のために広範な乳房切

Table 1. Comparison of antibiotic susceptibility with Brucella broth and CAMHB added Tween80

Incubation time	Burucella broth		CAMHB added Tween80	
	24 h	48 h	24 h	48 h
	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )
MPIPC	$\leq 0.12$	1	2	2
ABPC	$\leq 0.12$	0.5	0.25	0.25
CEZ	$\leq 0.5$	$\leq 0.5$	$\leq 0.5$	$\leq 0.5$
FMOX	$\leq 0.5$	$\leq 0.5$	$\leq 0.5$	$\leq 0.5$
IPM	$\leq 0.25$	$\leq 0.25$	$\leq 0.25$	$\leq 0.25$
GM	$\leq 0.25$	$\leq 0.25$	$\leq 0.25$	$\leq 0.25$
MINO	$\leq 2$	$\leq 2$	$\leq 2$	$\leq 2$
EM	$\leq 0.12$	$\leq 0.12$	$\leq 0.12$	$\leq 0.12$
CLDM	0.12	0.25	0.25	0.25
VCM	1	1	$\leq 0.5$	1
TEIC	1	1	2	4
FOM	$>128$	$>128$	$>128$	$>128$
LVFX	$\leq 0.25$	$\leq 0.25$	$\leq 0.25$	$\leq 0.25$

CAMHB: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth

MPIPC: oxacillin, ABPC: ampicillin, CEZ: cefazolin, FMOX: flomoxef,

IPM: imipenem, GM: gentamicin, MINO: minocycline, EM: erythromycin,

CLDM: clindamycin, VCM: vancomycin, TEIC: teicoplanin, FOM: fosfomycin, LVFX: levofloxacin

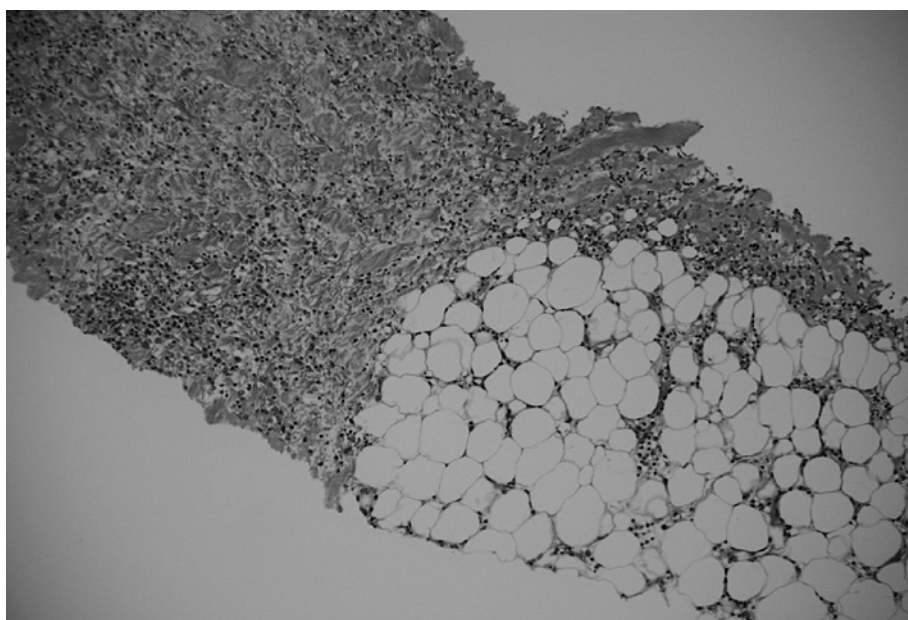


Fig. 3. Histopathology biopsy revealed inflammation with a major presence of lymphocytes and macrophages (hematoxylin eosin stain; original magnification,  $\times 100$ ).

除術が行われることもある。また、肉芽腫性乳腺炎は一般的にステロイド投与による治療が行われ、不応例においては外科的な切除が実施されているのが現状である。これらの症例の中には *C. kroppenstedtii* の感染による乳腺炎が少なからず存在していた可能性が指

摘<sup>2-6)</sup>されている。実際に、*C. kroppenstedtii* による乳腺炎の特徴を把握するために、本症例を含めて、これまでに報告されている21症例をまとめた (Table 2)。肉芽腫性乳腺炎の好発年齢は20代から40代で、とくに妊娠後2~3年以内に発症することが多い。病変部



Table 2. References of cases of mastitis isolated *Corynebacterium kroppenstedtii*

Year	Age	Specimen	Histological findings	Reference
1	2002	abscess		12)
2	2002	pus swab	no granulomas	2)
3	2002	33	granulomas	2)
4	2002	28	GLM	2)
5	2002	29	no granulomas	2)
6	2002	30		2)
7	2002	22		2)
8	2002	41	lipogranulomas	2)
9	2002	31	GLM with suppurative lipogranulomas	2)
10	2002	28		2)
11	2002	34		2)
12	2002	26	suppurative lipogranulomas	2)
13	2002	24	no granulomas	2)
14	2002	36	GLM with suppurative lipogranulomas	2)
15	2003	36	granuloma	3)
16	2003	27	no granulomas	3)
17	2004	38	mass	4)
18	2006	26	granulomatous mastitis	5)
19	2008	41	granulomatous mastitis	6)
20	2009	47	granulomatous mastitis	11)
21	2012	36	abscess no granulomas	Present case

GLM: granulomatous mastitis

の検査所見において、肉芽形成をしていたのは11症例、膿瘍のみの形成は5症例であった。したがって、肉芽腫性病変の有無にかかわらず、乳腺炎の患者では *C. kroppenstedtii* の感染を念頭において検査を進めていくことが重要である。今回の症例は、閉鎖膿からグラム染色において多数の白血球とグラム陽性桿菌の白血球貪食像が観察され、2週間後の閉鎖膿とドレーンから同一菌が分離されていることやこれらの文献から、*C. kroppenstedtii* が乳腺炎の起炎菌と考えられた。

*C. kroppenstedtii* の分離培養と薬剤感受性試験において考慮すべきことは、本菌の特徴である脂質好性である。この特徴を利用して、Riegelら<sup>4)</sup>は、通常本菌は集落形成までに2~3日を要するが、Trypticase Soy 寒天培地に1%の割合でTween80を添加した培地では24時間でコロニーを形成したと報告している。事実、本症例においてもTween80を添加後のほうが集落形成を認める培養期間も短く、集落も大きかった。また、薬剤感受性試験は、CLSIのdocument M45-A<sup>8)</sup>に準拠した方法では、発育が認められず判定不可能であった。そこで、ブルセラブrossを使用して実施したところ、48時間後にMIC値の判定が可能となった。さらには、培養と同様に、Tween80を添加して実施したところ、24時間後にMIC値を判定できた。しかしながら、Tween80が各種抗菌薬に及ぼす影響は今回検討しなかったため、あくまでも参考値として治療薬選

択に活用してもらうように臨床側には報告した。

乳腺炎の膿瘍に対しての治療は、切開ドレナージが重要であり計4回施行され有効であった。抗菌薬治療において、今回の症例は感受性試験の結果判明まで検体提出から3週間、菌種の同定に1か月以上経過していたため、 $\beta$ -ラクタム系薬、フルオロキノロン系薬のみの投与であった。今後は早期に菌種名と薬剤感受性を報告するとともに、*C. kroppenstedtii* の脂質好性を臨床へ伝えることが大切である。すなわち、*C. kroppenstedtii* は、 $\beta$ -ラクタム系薬、アミノグリコシド系薬など多くの抗菌薬に感受性を示すものの、これらは水溶性の抗菌薬であるため、脂質が豊富な乳腺への移行性は低い。実際に、ペニシリン系抗菌薬では治療効果が得られず、脂溶性の高いドキシサイクリンの投与が有効であった症例報告<sup>2)</sup>がある。さらに、抗菌薬の投与量について、MEPMは0.5 g $\times$ 2/dayの投与であったが、3 g/dayまで増量することができる。われわれの症例においても、脂溶性の高い抗菌薬が使用されなかったことや投与量を考慮しなかったことが再発を繰り返す要因となったことは否定できない。また、再発を繰り返したもう一つの要因もやはり本菌が脂質を好むからである。つまり、*C. kroppenstedtii* は脂肪が豊富な乳腺で感染を起し、脂肪が障害となり好中球の菌体への接近が困難となる。よって好中球は貪食能を発揮できないため、生体の免疫機構から免れている可

能性が指摘されている<sup>11)</sup>。さらには、肉芽腫性乳腺炎は一般的に使用されるステロイド投与も宿主の免疫状態を低下させることとなり、再発を繰り返す要因となっていることが考えられる。

以上のことから、繰り返し乳腺炎を発症するケースや乳がんが疑われて外科的生検術を受け、膿汁を伴う炎症性腫瘍を認めた場合には、*C. kroppenstedtii*による感染の可能性を念頭におき、培養期間の延長や脂質を添加した培地を用いた検査を進めていくことが肝要である。

## 文 献

- 1) 福島和子, 池ノ上克. 2005. 乳腺炎. 産婦人科治療90: 708-710.
- 2) Paviour, S., S. Musaad, S. Roberts, et al. 2002. *Corynebacterium* species isolated from patients with mastitis. Clin. Infectious Diseases 35: 1434-1440.
- 3) Taylor, G. B., S. D. Paviour, S. Musaad, et al. 2003. A clinicopathological review of 34 cases of inflammatory breast disease showing an association between corynebacteria infection and granulomatous mastitis. Pathology 35: 109-119.
- 4) Riegel, P., P. Liegeois, M. P. Chenard, et al. 2004. Isolations of *Corynebacterium kroppenstedtii* from a breast abscess. Int. J. Med. Microbiol. 294: 413-416.
- 5) Kieffer, P., R. Dukic, M. Hueber, et al. 2006. A young woman with granulomatous mastitis: A corynebacteria may be involved in the pathogenesis of these disease. Rev. Med. Interne. 27: 550-554.
- 6) 重松英朗, 中村吉昭, 古閑知奈美, 他. 2008. *Corynebacterium kroppenstedtii*感染にて発症した肉芽腫性乳腺炎の1例. 日臨外会誌 69: 3069-3073.
- 7) Riegel, P., R. Ruimy, D. D. Briel, et al. 1995. *Corynebacterium argenteratense* sp. nov., from the human throat. Int. J. Syst. Bacteriol. 45: 533-537.
- 8) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria, approved guideline CLSI document M45-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa.
- 9) Collins, M. D., E. Falsen, E. Akervall, et al. 1998. *Corynebacterium kroppenstedtii* sp. nov., a novel corynebacterium that does not contain mycolic acids. Int. J. Syst. Bacteriol. 48: 1449-1454.
- 10) Tauch, A., J. Schneider, R. Szczepanowski, et al. 2008. Ultrafast pyrosequencing of *Corynebacterium kroppenstedtii* DSM44385 revealed insights into the physiology of a lipophilic corynebacterium that lacks mycolic acids. J. Biotechnol. 136: 22-30.
- 11) Beatrice, B., K. Caroline, O. Claire, et al. 2009. First description of NOD2 variant associated with defective neutrophil responses in a woman with granulomatous mastitis related to corynebacteria. J. Clin. Microbiol. 47: 3034-3037.
- 12) Bernard, K. A., C. Munro, D. Wiebe, et al. 2002. Characteristics of rare or recently described corynebacterium species recovered from human clinical material in Canada. J. Clin. Microbiol. 40: 4375-4381.

## A Case of Recurrent Mastitis Caused by *Corynebacterium kroppenstedtii*

Yoshiaki Sugahara<sup>1)</sup>, Kiyofumi Ohkusu<sup>2)</sup>, Yoshihito Ohtsuka<sup>3)</sup>, Eiko Sakata<sup>4)</sup>,  
Takeyasu Suda<sup>5)</sup>, Masataka Nakae<sup>1)</sup>, Koichi Sibasaki<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Clinical Laboratory Medical Hospital, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

<sup>2)</sup>Department of Microbiology Regeneration and Advanced Medical Science, Gifu University Graduate School of Medicine

<sup>3)</sup>Devison of Clinical Laboratory, Kameda General Hospital

<sup>4)</sup>Devison of Digestive and General Surgery, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

<sup>5)</sup>Department of Surgery Medical Hospital, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

<sup>6)</sup>Department of Internal Medicine Medical Hospital, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

We report a 36-year-old woman with an abscess of her right breast whose primary complains were breast pain and fever. Gram staining revealed Gram-positive rods eated polymorphonuclear leukocytes. The specimen of abscess was cultured at 35°C, on the second day colonies formed which appeared white, nonhemolytic in the blood agar. The biochemical profile of the isolate was determined by the API Coryne system, but was not recognized by the database. Comparative 16S rRNA gene sequence analysis demonstrated the strains represent within the species *Corynebacterium kroppenstedtii*. *C. kroppenstedtii* is characterized by lipophilic corynebacteria. They grew well on Trypticase Soy agar which contains 1% Tween80 in aerobic condition. We would propose that Gram staining and culture by Trypticase Soy agar added Tween80 is important in the clinical specimen with granulomatous mastitis and persistent mastitis.