

[症例報告]

Corynebacterium tuberculostearicum による難治性乳腺炎の1症例

北川大輔¹⁾・岡美也子¹⁾・枡尾和江¹⁾・吉村 豊¹⁾・中村文彦¹⁾・中村彰宏²⁾

¹⁾ 地方独立行政法人奈良県立病院機構奈良県総合医療センター中央臨床検査部

²⁾ 天理医療大学医療学部臨床検査学科

(平成29年8月28日受付, 平成29年12月11日受理)

症例は30代女性。1ヵ月前から右乳房腫脹および疼痛が出現したため、当院外科を受診した。乳腺炎の診断で、セフカペンピボキシルおよびドリペネムを投与されたが改善をせず、発熱と局所所見の悪化を認めたため入院となった。入院当日の膿瘍穿刺液のグラム染色において、多数の白血球と少数のグラム陽性桿菌を認め、培養8日目に僅かに5%ヒツジ血液寒天培地上に発育を認めた。生化学性状では菌種同定できず、脂質添加培地で発育増強を認めたため、*Corynebacterium kroppenstedtii* 16S rRNA 遺伝子を標的としたPCRを実施したが陰性であった。次にMALDI-TOF/MS (マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計)による質量分析を実施したところ *Corynebacterium tuberculostearicum* と同定され、更に16S rRNA broad-range PCR 解析でも同菌と同定された。ドレナージとレボフロキサシン投与により、症状は軽快した。脂質好性 *Corynebacterium* による乳腺炎は、水溶性のβラクタム系抗菌薬は無効である可能性が高く難治化することが多い。正確な菌種同定に至らなくとも脂質好性 *Corynebacterium* であることを迅速に報告し主治医とこの情報を共有することが重要と考えられた。

Key words: *Corynebacterium tuberculostearicum*, 脂質好性 *Corynebacterium*

序 文

乳腺炎を惹起する細菌としては *Staphylococcus aureus*, Coagulase negative staphylococci, Viridans streptococci などが一般的である¹⁾。近年、脂質好性 *Corynebacterium* による乳腺炎の報告がみられ、中でも本邦では *Corynebacterium kroppenstedtii* による報告^{2)~5)}が多い。*Corynebacterium tuberculostearicum* による報告は1例⁶⁾を認めるのみである。脂質好性 *Corynebacterium* による乳腺炎では、乳腺の脂肪組織の豊富さのために、β-ラクタム薬など水溶性抗菌薬の移行性が悪く難治化することが指摘

されている³⁾。早期に脂溶性抗菌薬への変更が必要であり脂質好性 *Corynebacterium* の検出は臨床的には非常に重要である。今回われわれは乳腺炎患者より稀な脂質好性 *Corynebacterium* である *C. tuberculostearicum* を分離同定したので報告する。

症 例

1. 臨床所見

患者：30代、女性

主訴：右乳房腫脹、疼痛

基礎疾患：なし

既往歴：3年前に出産後、1年前より子宮頸癌疑いで当院通院中。

現病歴：20XX年12月から右乳房に腫脹と疼痛が出現し、継続する疼痛のため翌年1月中旬に当院外科外来を受診した。乳腺炎の診断のもと、1月下旬よりセフカペンピボキシル (CFPN-PI) の内服を開始したが改善がなく、局所症状が進行したためドリペネム (DRPM) の点滴静注を開始した。しかし、局所症状

著者連絡先：(〒631-0846) 奈良県奈良市平松1丁目30-1
地方独立行政法人奈良県立病院機構奈良県総合医療センター中央臨床検査部
北川大輔
TEL: 0742-46-6001 内線 2359
FAX: 0742-46-6011
E-mail: d.kitagawa.med@gmail.com

Table 1. 入院時の血液生化学データ

| 血液検査 | | 生化学検査 | |
|--------|--------------------------|-------|------------|
| WBC | 10×10 ³ /μL | TP | 6.5 g/dL |
| Neu | 75.7 % | Alb | 3.4 g/dL |
| Lym | 16 % | AST | 12 U/L |
| Mon | 4.9 % | ALT | 13 U/L |
| Eosino | 1.9 % | LDH | 133 U/L |
| Baso | 0.3 % | CK | 45 U/L |
| RBC | 3.44×10 ⁶ /μL | ALP | 171 U/L |
| Hb | 10.4 g/dL | T-BIL | 0.74 mg/dL |
| Hct | 31.9 % | γGTP | 20 U/L |
| MCV | 92.7 fL | CRP | 9.58 mg/dL |
| MCH | 30.1 pg | BUN | 9.9 mg/dL |
| MCHC | 32.4 % | CRE | 0.66 mg/dL |
| Plt | 39.8×10 ⁴ /μL | Amy | 57 U/L |
| | | Na | 136 mEq/L |
| | | K | 3.9 mEq/L |
| | | Cl | 100 mEq/L |

の悪化と発熱を認めたため、2月初旬治療目的で入院となった。

血液検査 (Table 1) : 入院時血液データでは、WBC 10,000 /μl, CRP9.58 mg/dl と上昇を認めた。

造影CT およびマンモグラフィー検査 : 右乳房の腫脹と胸筋前および皮下に液貯留や壊死組織が認められた。特に右E領域からBD領域は、膿瘍形成がみられ、炎症による造影異常が強く、マンモグラフィーを含めて、乳癌を疑うような腫瘤の存在は確認できなかった (Figure 1)。

超音波検査 : 右A領域に直径22.9×短径10.6 mm大の炎症性病変と考えられる低エコー域を認め、また、CD領域のびらん下に炎症性血流を認めた (Figure 2)。

細胞診像 : 外観は膿瘍成分。少量の赤血球と多数の好中球中心の炎症細胞を認めるのみで、上皮成分の出現は見られず、検体内に悪性所見は認められなかった。以上の所見より化膿性乳腺炎と診断した。

2. 入院後経過

DRPMによる治療効果が得られなかったため入院当日よりセフトゾブラン (CZOP) およびクリンダマイシン (CLDM) に抗菌薬が変更された。入院当日に採取された乳腺膿瘍穿刺液から、細菌検査にて脂質好性 *Corynebacterium* を検出した。その後、切開排膿によりCRP低下を認め、退院となったが発熱は続き、2回目の切開排膿とレボフロキサシン (LVFX) の投与により解熱した。LVFXを17日間投与した後、他院において乳房形成術を施行された。以後、乳腺炎の

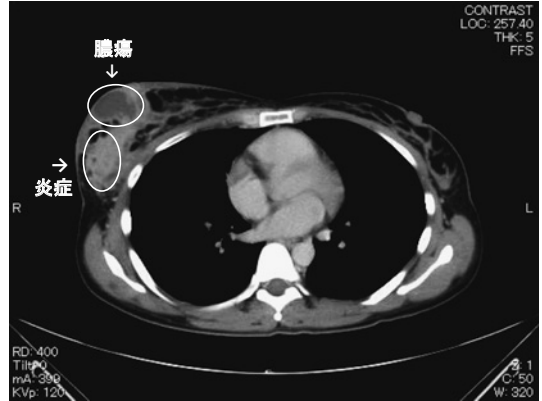


Figure 1. 入院時のCT画像検査 : 膿瘍形成が見られ、炎症による造影異常が強い

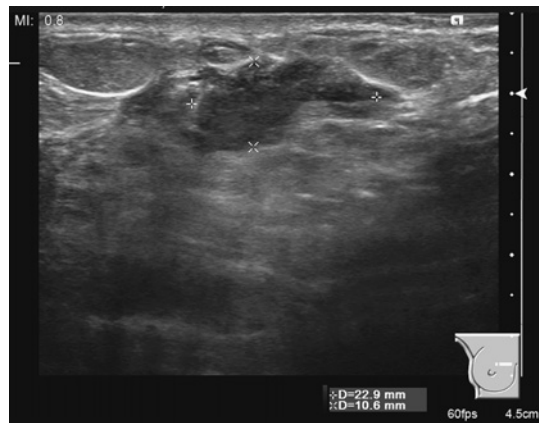


Figure 2. 入院時超音波検査 : 直径22.9×短径10.6 mm大の低エコー域を認める

再発は認めていない (Figure 3)。

3. 細菌学的検査所見

1) 顕微鏡学的検査

入院当日の乳腺膿瘍穿刺液のグラム染色において、多数の白血球と赤血球を背景に、染色液が入っていない白く抜けた脂質成分の多い部分に少数のグラム陽性桿菌を認めた。菌体の形状は、通常の *Corynebacterium* 属よりも小さく短めの短桿菌であり、*Corynebacterium* 属の特徴である柵状配列の見られる部分も認められた。貪食像は確認できないが脂質部分に集簇していることから脂質好性 *Corynebacterium* の検索を含めた培養が必要と考えられた (Figure 4)。

2) 培養検査

培養検査は、乳腺膿瘍検体であることから *C. krop-*

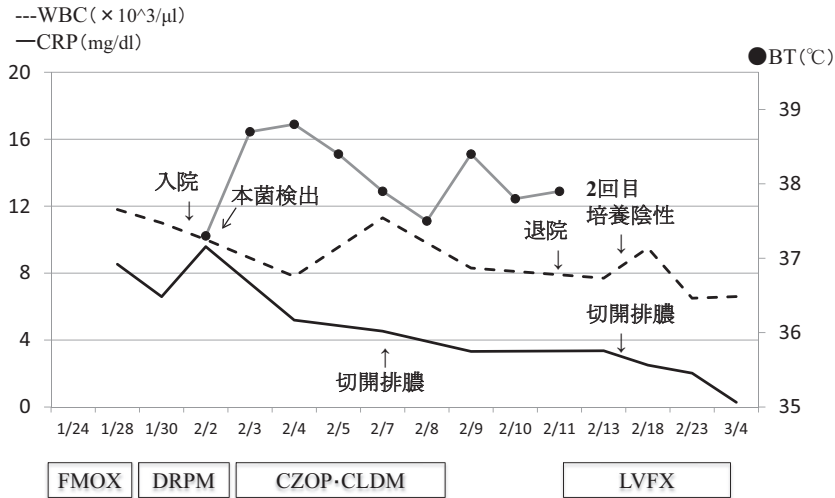


Figure 3. 入院後経過

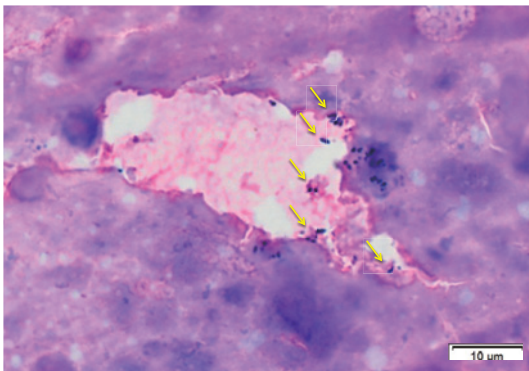


Figure 4. グラム染色：白く抜けた脂質部分に菌が集中しているのが認められた

penstedtii の可能性を考慮し、5% ヒツジ血液寒天培地およびチョコレート寒天培地、BTB 寒天培地（日本バクトン・ディッキンソン）を用いて 37°C・CO₂ 条件下にて長時間培養を実施した。また、プルセラ HKRS 寒天培地（極東製薬工業）にて 37°C・嫌気条件下にて培養を実施した。プルセラ HKRS 寒天培地には 5 日目に直径 1.0 mm までの非溶血で光沢のない灰白色な横平コロニーを 20 コロニー認め、5% ヒツジ血液寒天培地では 8 日目に直径 1.0 mm までの非溶血で光沢ある白色真珠コロニーを 5 コロニー認め、チョコレート寒天培地と BTB 寒天培地には発育を認めなかった。脂質好性 *Corynebacterium* の確認のため脂質（脂肪酸：Tween80）を 5% ヒツジ血液寒天培

地（日水製薬）に滴下塗布し、乾燥後、本菌を塗抹し 37°C・CO₂ 条件下にて培養したところ 24 時間で直径 1~2 mm のコロニーを培地一面に認め、明らかな発育増強を確認した。

3) 同定検査

分離された菌株の同定は、VITEK2(シスメックス・バイオメリュー)にて ANC 同定カードを用い同定検査を実施した結果、*C. amycolayum* *C. minutissimum* *C. striatum*（プロファイル No：6363100400405）と同確率で 3 菌種に分かれて判定された。また、API Coryne（シスメックス・バイオメリュー）を用いた同定検査を実施した結果、ピラジナルポキサミド（PYZ）、β-ナフチルリン酸（PAL）、ブドウ糖（GLU）、白糖（SAC）、カタラーゼ（CAT）は陽性、硝酸カリウム（NIT）、L-ピログルタミン酸-β-ナフチルアミド（PyrA）、ナフトール ASBI-β-D-グルクロン酸（βGUR）、2-ナフチル-β-D-ガラクトピラノシド（βGAL）、β-ナフチル-O-D-グルコピラノシド（αGLU）、α-ナフチル-N-アセチル-β-D-グルコサミニド（βNAG）、エスクリン（ESC）、尿素（URE）、ゼラチン（GEL）、D-リボース（RIB）、D-キシロース（XYL）、D-マンニトール（MAN）、マルトース（MAL）、乳糖（LAC）、グリコーゲン（GLYG）は陰性を示し、*C. amycolayum* *C. striatum*（プロファイル No：2100105）と 2 菌種に分かれて判定され、菌種同定には至らなかった。

そこで、*C. kroppenstedtii* 16S rRNA gene⁷⁾をターゲットとした特異的プライマーを用いて PCR を実施

Table 2. *C. tuberculostearicum* における薬剤感受性検査結果 (48 時間判定)

| 抗菌薬 | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | 判定 (CLSI M45-A2) |
|------------------------------|--------------------------|------------------|
| Penicillin (PCG) | 0.12 | S |
| Ceftriaxone (CTRX) | 1 | S |
| Cefepime (CFPM) | 0.25 | S |
| Imipenem/cilastatin (IPM/CS) | $<=0.25$ | S |
| Gentamycin (GM) | $<=0.25$ | S |
| Erythromycin (EM) | >4 | R |
| Clindamycin (CLDM) | >2 | R |
| Minocycline (MINO) | $<=2$ | S |
| Levofloxacin (LVFX) | $<=0.25$ | S |
| Vancomycin (VCM) | $<=0.5$ | S |

したが結果は陰性であった。次に MALDI Biotyper (ブルカー・ダルトニクス) によって解析を行ったところ *C. tuberculostearicum* (Score : 2.157 [エタノールギ酸抽出法]) と同定され、更に BLAST を用いた 16S rRNA 遺伝子解析にて *C. tuberculostearicum* ATCC 35692 との相同性が 99% (776/779) と同定された。

4) 薬剤感受性検査

MIC 測定用ドライプレート '栄研' (栄研化学) を用いて、ミュラーヒントンプイヨン '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、CLSI M45-A2 に準拠した微量液体希釈法で測定した。24 時間では菌の発育は認められなかったが、48 時間で発育が認められたため 48 時間の MIC 値を報告した (Table 2)。

考 察

Corynebacterium 属は現在、list of prokaryotic names with standing in nomenclature (LPSN) には 80 数菌種が分類されているグラム陽性桿菌で、皮膚、粘膜、腸内の常在菌であり一般的に病原性は弱く、感染症を起因することは稀とされる⁸⁾。

近年、乳腺炎の膿瘍穿刺液から分離される *Corynebacterium* 属の中でも *C. kroppenstedtii* が起因菌として多く報告されている。肉芽腫性乳腺炎との関連を指摘する報告²⁴⁾も多い。*Corynebacterium* 属は一般的に細胞壁にミコール酸を持ち結核菌とは近縁であるが、*C. kroppenstedtii* はそれらとは違い細胞壁にミコール酸ではなくツベルクロスステアリン酸を含有しているという特徴がある⁷⁹⁾。本菌は脂質好性 *Corynebacterium* であり 5% ヒツジ血液寒天培地での培養は発育に数日を要することが多い。

今回検出された *C. tuberculostearicum* も、2004 年に正式に命名された脂質好性 *Corynebacterium* であ

り、国内での報告は 1 例⁶⁾だが、海外では乳腺以外にも数件報告されている¹⁰⁾¹¹⁾。本症例の乳房腫脹、発赤、疼痛、発熱などの臨床症状および脂質を要した菌株発育状況は *C. kroppenstedtii* による乳腺炎と類似していたが、画像所見においては大きな膿瘍形成を認めるのみで、*C. kroppenstedtii* 感染時に多く見られる肉芽腫性乳腺炎の原因となるような粗大な腫瘍は指摘されなかった。

脂質好性 *Corynebacterium* の分離培養においては、その脂質要求性を考慮することが重要である。脂質好性 *Corynebacterium* は通常コロニー形成までに 2~5 日を要することが多いが、1% 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されている¹²⁾。本症例の菌株においても 1% Tween80 添加ヒツジ血液寒天培地には、24 時間でコロニーを形成し、大きな集落を認めた。また、薬剤感受性検査は、CLSI M45-A2²³⁾ に準拠した方法で行うことにより、48 時間で発育が認められ、判定が可能であった。

抗菌薬治療においては、脂質好性 *Corynebacterium* は、 β -ラクタム系薬やアミノグリコシド系薬など多くの抗菌薬に感性を示すものの、これらは水溶性抗菌薬であるため、脂質が豊富な乳腺への移行性は低く、難治化することが多い¹¹⁾。したがって、脂溶性の高いマクロライド系、リンコマイシン系、テトラサイクリン系およびフルオロキノロン系での治療が望ましい。今回の症例は菌検索を行う前の治療に β -ラクタム系薬とカルバペネム系薬を投与、さらに培養提出後も感受性検査の結果判定と菌種同定に長期間経過していたため、治療には β -ラクタム系薬とリンコマイシン系薬が投与されていた。菌種が判明し、感受性検査の結果報告後、フルオロキノロン系薬が投与された。脂溶性の高い抗菌薬が早期に使用されなかったことが治療に難渋した原因となった可能性がある。よって、今後

は早期に菌種と薬剤感受性結果を報告する,あるいは乳房の腫脹や疼痛・熱発などの乳腺炎症状のある感染症が疑われた場合,菌種同定に至らない場合でも検出菌が脂質好性 *Corynebacterium* であることを迅速に報告し,主治医とこの情報を共有することが重要である。さらに脂溶性の高い抗菌薬選択の必要性を臨床へ伝えるべきである。

難治性乳腺炎においては,非常に稀な *C. tuberculostearicum* による難治性乳腺炎症例を経験した。脂質好性 *Corynebacterium* による感染を念頭において検査を行うことが重要である。

利益相反: 申告すべき利益相反なし

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) 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.
- 3) 菅原芳秋, 大楠清文, 大塚喜人, 他. 2012. 再発を繰り返した *Corynebacterium kroppenstedtii* による乳腺炎の1症例. 日臨微誌 22: 161-166.
- 4) 後藤正和, 森本忠興, 三浦連人, 他. 2012. 肉芽腫性乳腺炎の4症例. 日臨外会誌 73: 1331-1336.
- 5) 森光華澄, 二村 学, 名和正人, 他. 2013. *Corynebacterium kroppenstedtii* 感染が確認された肉芽腫性乳腺炎の1例. 日臨外会誌 74: 2679-2684.
- 6) 金沢 亮, 田村 元, 渋谷一陽, 他. 2015. *Corynebacterium tuberculostearicum* 感染による肉芽腫性乳腺炎の1例. 日臨外会誌 76: 2095-2099.
- 7) 大楠清文. 2013. 臨床微生物検査実践ガイド. 各論 4. *Corynebacterium kroppenstedtii*. MEDICAL TECHNOLOGY (別冊): 31-38, 149-151.
- 8) 大塚喜人. 2012. 医学細菌学上重要な *Corynebacterium* 属菌の検査法. 日臨微誌 22: 207-213.
- 9) Collins, M. D., et al. 1998. *Corynebacterium kroppenstedtii* sp. nov., a novel *Corynebacterium* that does not contain mycolic acids. Int. J. Syst. Bacteriol. 48: 1449-1454.
- 10) Hinic, V., C. Lang, M. Weisser, et al. 2012. *Corynebacterium tuberculostearicum*: a potentially misidentified and multiresistant *Corynebacterium* species isolated from clinical specimens. Journal of Clinical Microbiology 50: 2561-2567.
- 11) Paviour, S, S Musaad, S Roberts, et al. 2002. *Corynebacterium* species isolated from patients with mastitis. Clin Infect Dis 35: 1434-1440.
- 12) Otsuka, Y, Y Kawamura, T Koyama, et al. 2005. *Corynebacterium resistens* sp. nov., a new multidrug-resistant coryneform bacterium isolated from human infections. J Clin Microbiol 43: 3713-3717.
- 13) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria, approved guideline Second Edition. CLSI document M45-2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa.

A case of refractory mastitis caused by *Corynebacterium tuberculostearicum* infection in a parous young woman

Daisuke Kitagawa¹⁾, Miyako Oka¹⁾, Kazue Masuo¹⁾, Yutaka Yoshimura¹⁾,
Fumihiko Nakamura¹⁾, Akihiro Nakamura²⁾

¹⁾Department of Central Clinical Laboratory, Nara Prefecture General Medical Center

²⁾Department of Clinical Laboratory Science, Tenri Health Care University

Here, we report a case of mastitis where we isolated a lipophilic *Corynebacterium tuberculostearicum*. The patient was female and in her thirties. The right mammary gland of the patient had continued swelling and pain for one month prior to examination. After various inspections, breast cancer was not detected. Administration of antibiotics was started. However, the patient deteriorated and developed a fever; therefore, she was hospitalized. After mammary gland puncture, lipophilic *Corynebacterium* was detected from aspirated pus by bacteriological examination. A Gram stain of aspirated pus indicated many neutrophils and a few gram-positive bacilli, which grew slightly after 8 days' culture. Next, we used an ApiCoryne identification kit (Bionumber: 2100105) and VITEK2 ANC (Bionumber: 6363100400405) but could not identify the bacterial species. The specimens' growth was encouraged using lipid-supplemented medium. PCR targeting the *Corynebacterium kroppenstedtii* 16S rRNA gene was negative. Finally, *C. tuberculostearicum* was identified by mass spectrometry and 16S rRNA broad-range PCR analysis. The patient's symptoms were improved through drainage and treatment with antibiotic levofloxacin. *C. tuberculostearicum* is likely to be a pathogenic bacterium in this case. As *C. tuberculostearicum* is not included in the database of ApiCoryne or VITEK2, these tests cannot identify this species accurately; we consider that PCR and mass spectrometry are necessary for this. Mastitis caused by lipophilic *Corynebacterium* is frequently resistant to β -lactam antibacterial agents owing to their water-soluble nature. Therefore, reporting as lipophilic *Corynebacterium* has high clinical significance, although this species is not commonly identified using standard tests.