

## [症例報告]

### *Mycolicibacterium wolinskyi* による人工膝関節置換術後膝関節炎の1例

徳田美香<sup>1)</sup>・曾木広信<sup>1)</sup>・吉田 敦<sup>2)</sup>・阿保一茂<sup>1)</sup>・松谷 暁<sup>3)</sup>・水島 遼<sup>2)</sup>  
鎌田啓佑<sup>2)</sup>・板倉泰朋<sup>2)</sup>・井口成一<sup>2)</sup>・鶴澤 豊<sup>2)</sup>・荒井裕子<sup>2)</sup>・菊池 賢<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> さいたま赤十字病院検査部

<sup>2)</sup> 東京女子医科大学感染症科

<sup>3)</sup> さいたま赤十字病院整形外科

(令和元年11月8日受付, 令和2年1月21日受理)

人工膝関節・股関節置換術の3か月後、膝関節創部の腫脹と疼痛を主訴とする *Mycolicibacterium wolinskyi*<sup>1)</sup>(旧属名, *Mycobacterium*) 人工膝関節感染例を経験した。*M. wolinskyi* による感染症は非常に稀であり、整形外科領域での分離例は国内で2例目(世界で5例目)である。創部のデブリードマン時の膿より染色性の乏しいグラム陽性桿菌が分離され、培養2日目に血液寒天、チョコレート寒天培地上にコロニー形成を認めたため、迅速発育性抗酸菌を疑い、*sodA*, *hsp65*, *rpoB* のシークエンスにより *M. wolinskyi* と同定した。CLSIに準拠した微量液体希釈法では amikacin, ciprofloxacin, moxifloxacin, minocycline, linezolid に感性を示した。2回のデブリードマンと抗菌薬変更の後、改善を認め退院となった。近年、迅速発育性抗酸菌感染症が増加しており、本症例のような稀な菌種についても、同定、薬剤感受性が治療方針や薬剤選択につながることから、臨床微生物検査室では注意が必要である。

**Key words:** *Mycolicibacterium wolinskyi*, *Mycobacterium wolinskyi*, Knee replacement arthroplasty (人工膝関節置換術), Non-tuberculous mycobacteria (非結核性抗酸菌), Rapidly growing mycobacteria (迅速発育抗酸菌)

#### はじめに

非結核性抗酸菌 (non-tuberculous mycobacteria: NTM) は発育速度の特性から迅速発育菌群 (rapidly growing mycobacteria: RGM) と遅発育菌群に大別され、RGMは7日以内に固形培地に発育する菌と定義される。RGMは主に *Mycobacterium fortuitum* group, *Mycobacterium chelonae-abscessus* group, *Mycolicibacterium smegmatis* group (旧属名, *Mycobacterium*) の3 groupに分類されるが、1988年、Wallaceらは *M. smegmatis* groupを薬剤感受性パターンから3 groupに分類した<sup>2)</sup>。その後1999年にBrownらは3 groupが異なる菌種であることを明らかにし、新たな独立菌種として *Mycobacterium smegmatis sensu stricto* (*M. smegmatis*), *Mycobacterium goodii*, *Mycobacterium wolinskyi* とすることを提案した<sup>3)</sup>。これら3 groupは tobramycin (TOB) に対する薬剤感受性結果から、耐性の *M. wolinskyi* と *M. smegmatis*, *M. goodii* との判別が可能である。

*M. wolinskyi* は主に外傷後あるいは手術後創傷部感染症(骨髄炎を含む)の起原菌として注目されているが、その報告は非常に稀である。今回我々は *M. wolinskyi* による人工膝関節置換術後の膝関節炎の症例を経験したので報告する。

#### 症 例

患者は70代、女性。45年前に子宮後屈手術、16年前に硬膜下血腫、3年前に左人工股関節置換術の既往がある。3か月前に両変形性膝関節症に対して当院で人工膝関節置換術を施行された。7日前、右膝関節創部の疼痛と腫脹が出現、持続するため近医を受診した。創部より排膿を認めたため創部感染の疑いで当院を紹介され、入院となった。

入院時、右膝関節前面縦切開の尾側から3 cm程度の範囲に発赤、腫脹、熱感を認め、血液検査では白血球数8000/μL、CRP0.7 mg/dLの軽度上昇を認めた。第3病日に実施したデブリードマン術時の所見では一部に瘻孔形成と排膿があり、その際に採取された創部検体より抗酸菌と思われるグラム陽性桿菌が分離された。入院直後から cefazolin (CEZ) 3 g/day を投与していたが、本症例の起原菌がRGMと推定同定されたことにより、第14病日より sulfamethoxazole-trimethoprim (ST) 320/1600 mg/day と rifampicin (RFP) 450 mg/day の併用療法へ変更した。しかし、薬剤変更後も臨床病態の改善がみられなかったため、第28病日に2回目のデブリードマンを行った。関節内外ともに膿瘍形成を認めたが、その際に提出された膿瘍、関節液は塗抹鏡検、細菌培養ともに陰性であった。第32病日 clarithromycin (CAM) 800 mg/day を追加し、ST, RFP, CAMの3剤併用療法とした。第43病日から levofloxacin (LVFX) 500 mg/day と CAM 800 mg/day の2剤併用療法に変更したところ、症状の改善が見られたため第46病日に退院となった。

著者連絡先: (〒330-8553) 埼玉県さいたま市中央区新都心1-5  
さいたま赤十字病院検査部  
徳田美香  
TEL: 048-852-1111  
E-mail: tokuda.m@saitama-med.jrc.or.jp

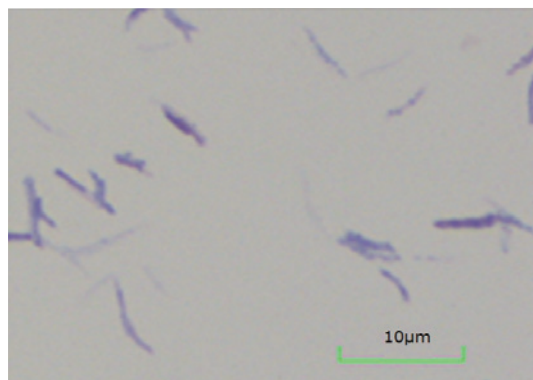


図 1-1. コロニーのグラム染色像 (×1000)

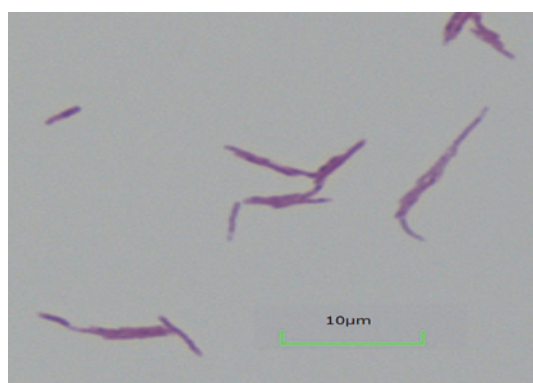


図 1-2. コロニーの Ziehl-Neelsen 染色像 (×1000)

#### 微生物学的所見

1 回目のデブリードマンの際に採取した縫合糸のグラム染色では細菌、白血球は認められなかった。培養は 5% 羊血液寒天培地、BTB 乳糖加寒天培地、チオグリコロート液体培地 (日本 BD)、チオコレート寒天培地 (極東製薬) を好氣的に、プルセラ HK 寒天培地 (極東製薬) を嫌氣的に 35°C の条件下で行った。培養 2 日後に 5% 羊血液寒天培地、チオコレート寒天培地に微小な集落を確認した。その他の細菌の発育は認められなかった。5% 羊血液寒天培地に発育した微小集落はグラム染色性に乏しく、分岐が見られないグラム陽性桿菌であった (図 1-1)。グラム染色像から抗酸菌の可能性も考慮し実施した Ziehl-Neelsen 染色では、抗酸性でコード様の形態を示した (図 1-2)。平板培地を継続して培養したところ、4 日後には 5% 羊血液寒天培地上で白色、スムーズ型の集落を形成した (図 2)。集落の染色性から抗酸菌であることを再確認し、3% 小川培地 (日水製薬) を用いて、35°C の条件下で集落形態、色素産生性について検討した。本菌は 2 日後に微小集落の発育を確認し、4 日後には乳白色、スムーズ型で色素非産生の集落を形成したことから本菌を RGM と推定同定した。菌種の同定は DDH マイコバクテリア「極東」(極東製薬) を用いて実施したが、同定不能となった。このため *hsp65*, *rpoB*, *sodA* 遺伝子の PCR-direct sequencing<sup>4)</sup> を行い、*M. wolinskyi* ATCC7000100<sup>T</sup> との相同性は *hsp65* 419/424 bp : 98.8%, *rpoB* 730/738 bp : 98.9%, *sodA* 436/442 bp : 98.6% であった。以上の結果から本菌を *My-*



図 2. コロニー形態 : 5% 羊血液寒天培地, 35°C, 4 日間

*colicibacterium wolinskyi* と確定した。

RGM に対する薬剤感受性試験は、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M24-A3<sup>5)</sup> に準拠した微量液体希釈法で行った。実施した 24 薬剤の中でブレイクポイントが設定されている 9 薬剤のうち、amikacin (AMK), ciprofloxacin (CPFX), moxifloxacin (MFLX), linezolid (LZD) および doxycycline (DOXY) と代用可能とされている minocycline (MINO) に感性、imipenem (IPM) に中間、ST, TOB, CAM に耐性を示した (表 1)。

#### 考 察

*M. smegmatis* group は長年非病原性と考えられてきたが、菌種レベルの同定が可能になり症例報告も散見されるようになった<sup>2)</sup>。

*M. smegmatis* group は発育速度、集落形態、薬剤感受性の違いからおおよその菌種推定が可能で、7 日以内に血液含有に関わらず固形培地に発育し、スムーズでムコイド、乳白色の集落を形成する。*M. wolinskyi* は色素非産生であるのに対して、*M. smegmatis*, *M. goodii* の多くは黄色から橙色色素を産生することも特徴の一つである<sup>3)</sup>。さらに TOB に対する MIC は、*M. wolinskyi* >8 μg/mL, *M. goodii* 2~8 μg/mL, *M. smegmatis* ≤1 μg/mL に分布するため、これら 3 菌種の鑑別に有用であるとされ<sup>3)6)</sup>、本症例の菌も TOB の MIC は 64 とこれを支持する結果であった。

2006 年 Rahav らは乳房移植後の患者の創傷から分離した *M. wolinskyi* と、環境中の *M. wolinskyi* 類縁株について、16 S rRNA, *recA*, *hsp65*, *rpoB*, *sodA* 遺伝子を決定し、各遺伝子による分別能の違いについて述べた<sup>7)</sup>。これは *M. smegmatis* group の最終的な菌種決定には遺伝子解析を行うことが最善であることを支持するものであり、中でも *M. wolinskyi* の同定には *rpoB* が重要であること<sup>8)9)</sup>、16S rRNA に *rpoB* 遺伝子を加えることでより正確に同定できることが報告された<sup>10)</sup>。このため今回我々は *sodA*, *hsp65*, *rpoB* の 3 遺伝子の塩基配列を決定し、*M. wolinskyi* と確定した。

*M. wolinskyi* の整形外科領域での感染は膝・股関節炎<sup>10)~12)</sup>の起原因菌として報告されている。一方、わが国における *M. wolinskyi* 症は非常に稀であり、腹膜炎<sup>13)</sup>、慢性骨髄性白血病患者の敗血症<sup>14)</sup>が報告されている。整形外科領域では人工膝関節置換術後の関節炎<sup>15)</sup>のみであり、本症例は 2 例

表 1. 薬剤感受性検査結果

Antimicrobial	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )	Interpretation
clarithromycin	>32 (day3)>32 (day14)	
azithromycin	>32 (day3)>32 (day14)	
arbekacin	8	
amikacin	8	S
gentamicin	16	
tobramycin	64	R
imipenem	64	R
faropenem	64	
doripenem	16	
levofloxacin	0.5	S
sitafloxacin	0.12	
ciprofloxacin	1	S
moxifloxacin	0.5	S
cefmetazole	64	
cefoxitin	64	I
ceftriaxone	>64	
cefepime	>32	
rifabutin	4	
ethambutol	4	
minocycline	1	S
amoxicillin/clavulanic acid	>128/64	
sulfamethoxazole-trimethoprim	76/4	R
linezolid	4	S
tigecycline	0.25	

目と考えられた。

*M. wolinskyi* の感染経路については不明な点も多く病院内の環境調査<sup>16)</sup>が行われている。しかし、*M. wolinskyi* を分離できた報告は見当たらず、感染経路に関する疫学的解明は得られていない。本症例において環境調査は実施していないが環境からの感染も十分に考えられる。

一方、Narang らは AIDS 患者の便から *M. wolinskyi* と *M. avium* の混合感染を報告している<sup>17)</sup>。細胞内寄生菌である抗酸菌に対する細胞性免疫が低下した患者や、腸管免疫バリア障害のある患者では腸管を通過した *M. wolinskyi* が、リンパ管から血液に移行し、食細胞が少なく host defense mechanism が弱いとされる骨組織に一定期間潜伏した後に膝関節炎を発症したとも考えられる。本症例は免疫抑制薬、生物学的製剤ともに投与歴がなく、手術から3か月後に発症している。術中感染なのか、術後3か月以内に自然環境の中で直接暴露されたのか、あるいは経口感染によって腸管が侵入門戸となったのか、感染経路は明らかではない。

RGM 感染症の初期治療は、薬剤感受性試験が煩雑であるため経験的治療に基づく薬剤選択をせざるを得ない。しかし、経験的治療に基づく薬剤選択は難しく、本症例では RGM と推定された時点で ST と RFP の2剤併用療法が実施されたが、臨床病態の改善がみられなかった。さらに、2剤併用に CAM を追加した後、第43病日に CAM と LVFX の2剤併用療法に変更したところ、症状の改善がみられ退院となった。本菌は後日実施した CLSI に準拠した薬剤感受性試験から CAM 耐性であることが判明したが、感受性である CPFx, MFLX と同系統の LVFX によって改善がみられ、デブリー

ドマンによる外科的処置が奏功したことも考えられる。

RGM 感染症の治療は一般的に複数の薬剤による併用療法が推奨されている<sup>18)</sup>。*M. wolinskyi* 感染症でも AMK にキノロン系の CPFx または MFLX, テトラサイクリン系 DOXY または MINO を加えた3剤併用療法が行われ、改善した症例<sup>10)11)</sup>が見受けられる。RGM は菌種により薬剤感受性が異なるため、早期に薬剤感受性結果が得られれば併用すべき最良の薬剤選択が可能となり、より効果的な治療が可能となる。

RGM に対する薬剤感受性試験について、CLSI では、ミューラーヒントンプロスをを用いた微量液体希釈法による MIC の決定を推奨している。実施した24薬剤の中でブレイクポイントが設定されている9薬剤の結果は、*M. wolinskyi* に特徴的な薬剤感受性とほぼ同様であったが、ST には耐性(MIC 152/8  $\mu\text{g/mL}$ )であった。Wallace, Brown らが調査した *M. smegmatis* group の中には sulfamethoxazole に対する耐性は確認されていないが、その後の *M. wolinskyi* 症の症例報告では、単剤の sulfamethoxazole<sup>10)11)</sup>のみならず合剤の ST<sup>8)</sup>についても耐性菌が報告されている。一般的に薬剤感受性試験では誤差が生じることも考えられるが、CLSI M24-A3 でも ST のウェル内でのコロニーと濁度の判定には注意を要することが強調されており、本剤の判定の煩雑さが反映されているのかもしれない。

近年まで一般の検査室における RGM に対する薬剤感受性試験は、対象となる薬剤の準備、ミューラーヒントンプロスのカチオン濃度の調整など、煩雑かつ手間がかかり CLSI に準拠した方法で行うことは困難であった。2019年、CLSI に準拠の微量液体希釈法、プロミック RGM (極東製薬)が発



売され、一般の検査室でも RGM の MIC 測定が実施可能となり治療薬剤の選択が容易になった。現在、菌種の確定には遺伝子のシーケンス解析に頼らざるを得ないが、菌種と薬剤感受性を集積することで本邦における RGM に対するアンチバイオグラムを作成することが可能となり、今後の診断、治療の迅速化が期待される。

#### 文 献

- 1) Gupta, R.S, B Lo, J Son. 2018. Phylogenomics and Comparative Genomic Studies Robustly Support Division of the Genus *Mycobacterium* into an Emended Genus *Mycobacterium* and Four Novel Genera. *Front Microbiol* 9: 67.
- 2) Wallace, R.J. Jr, D.R. Nash, M. Tsukamura, et al. 1988. Human disease due to *Mycobacterium smegmatis*. *J. Infect. Dis* 158: 52-59.
- 3) Brown, B.A., B. Springer, V.A. Steingrube. 1999. *Mycobacterium wolinskyi* sp. nov. and *Mycobacterium goodii* sp. nov., two new rapidly growing species related to *Mycobacterium smegmatis* and associated with human wound infections: a cooperative study from the international Working Group on Mycobacterial Taxonomy. *Int. J. Syst. Bacteriol* 49: 1493-1511.
- 4) Adékambi, T., M. Drancourt. 2004. Dissection of phylogenetic relationships among 19 rapidly growing *Mycobacterium* species by 16S rRNA, *hsp65*, *sodA*, *recA* and *rpoB* gene sequencing. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* 54: 2095-2105.
- 5) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). PA2018. Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardiae, and other aerobic Actinomycetes. M24-A3, CLSI, Wayne, PA.
- 6) Brown-Elliott, B.A., R.J. Wallace Jr. 2002. Clinical and taxonomic status of pathogenic nonpigmented or late-pigmenting rapidly growing mycobacteria. *Clin. Microbiol. Rev* 15: 716-746.
- 7) Rahav, G., S. Pitlik, Z. Amitai. 2006. An outbreak of *Mycobacterium jacuzzii* infection following insertion of breast implants. *Clin. Infect. Dis* 43: 823-830.
- 8) Yoo, S.J., K.H. Lee, S.N. Jung, et al. 2013. Facial skin and tissue infection caused by *Mycobacterium wolinskyi* associated with cosmetic procedures. *BMC Infect. Dis* 13: 479.
- 9) Lima, A.S, M.M.C. Neves, K.M. Gomes, et al. 2013. First case report of infection by *Mycobacterium wolinskyi* after mammoplasty in Brazil. *Infect. Dis. Rep* 5: e12.
- 10) Jeong, J.H., Y.H. Seo, K.H. Kim, et al. 2012. *Mycobacterium wolinskyi* infection confirmed *rpoB* gene sequencing. *J. Clin. Lab. Anal* 26: 325-327.
- 11) Lee, Y.S., S.W. Nam, Y.S. Park, et al. 2015. *Mycobacterium wolinskyi* infection after total knee arthroplasty in a healthy woman. *J. Orthop. Sci* 20: 229-231.
- 12) Pulcini, C., E. Vandebussche, I. Podglajen, et al. 2006. Hip prosthesis infection due to *Mycobacterium wolinskyi*. *J. Clin. Microbiol* 44: 3463-3464.
- 13) Fujikura, H., K. Kasahara, Y. Ogawa, et al. 2017. *Mycobacterium wolinskyi* Peritonitis after Peritoneal Catheter Embedment Surgery. *Intern. Med* 56: 3097-3101.
- 14) Ohno, T., W. Kishimoto, D. Chihara, et al. 2008. First case report of sepsis caused by *Mycobacterium wolinskyi* in chronic myelogenous leukemia. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis* 62: 433-436.
- 15) Watanabe, H., K. Imada, Y. Kazumi, et al. 2014. *Mycobacterium wolinskyi* infection after total knee arthroplasty. *東海関節* 6: 111-115.
- 16) Dupont, C., D. Terru, S. Aguilhon, et al. 2016. Source-case investigation of *Mycobacterium wolinskyi* cardiac surgical site infection. *J. Hosp. Infect* 93: 235-239.
- 17) Narang, R, P Narang, AP Jain, et al. 2010. *Mycobacterium avium* bacteremia and dual infection with *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium wolinskyi* in the gut of an AIDS patient-first case report. *Indian. J. Tuberc* 57: 148-151.
- 18) De Groote, M.A., G. Huitt. 2006. Infection due to rapidly growing Mycobacteria. *Clin. Infect. Dis* 42: 1756-1763.

A case of knee arthritis caused by *Mycolicibacterium wolinskyi* after total knee arthroplasty

Mika Tokuda<sup>1)</sup>, Hironobu Soki<sup>1)</sup>, Atsushi Yoshida<sup>2)</sup>, Kazushige Abo<sup>1)</sup>, Satoru Matsutani<sup>3)</sup>, Ryo Mizushima<sup>2)</sup>, Keisuke Kamada<sup>2)</sup>, Yasutomo Itakura<sup>2)</sup>, Shigekazu Iguchi<sup>2)</sup>, Yutaka Uzawa<sup>2)</sup>, Yuko Arai<sup>2)</sup>, Ken Kikuchi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Clinical Laboratory, Saitama Red Cross Hospital

<sup>2)</sup>Department of Infection Diseases, Tokyo Women's Medical University

<sup>3)</sup>Department of Orthopedic Surgery, Saitama Red Cross Hospital

We report the second case of *Mycolicibacterium wolinskyi* arthritis in Japan. Artificial knee joint infection occurred 3 month after total knee arthroplasty and hip arthroplasty. Gram-positive bacilli difficult to stain and with positive acid-fast staining were isolated from the pus. The colony could appear on blood agar and chocolate agar for 2 days, suggested this strain as rapid grower *Mycobacterium*. This strain showed sensitivity to amikacin, ciprofloxacin, moxifloxacin, minocycline, and linezolid. After debridement twice and two changes of antimicrobial agents, improvement was seen and the patient was discharged from hospital.

Clinical microbiological laboratories should be aware of rare rapid growing mycobacteria because species identification and drug sensitivity are directly linked to treatment for such cases.