

[症例報告]

適切な培養検査の必要性を示唆した新生児淋菌性結膜炎の一例

亀山和明¹⁾・大竹正悟²⁾・志牟田健³⁾・高橋英之³⁾・森田昌知³⁾

大西 真³⁾・清水悠衣¹⁾・大上朋子¹⁾・笠井正志²⁾

¹⁾ 兵庫県立こども病院検査・放射線部

²⁾ 兵庫県立こども病院感染症内科

³⁾ 国立感染症研究所細菌第一部

(令和2年4月23日受付, 令和2年9月14日受理)

Neisseria gonorrhoeae は新生児結膜炎の原因菌の1つだが, 本邦をはじめ先進国での症例報告は非常に稀である。今回, *N. gonorrhoeae* による新生児結膜炎の症例を経験した。症例は日齢9の男児で左眼脂, 左眼瞼腫脹, 発熱を主訴に当院を紹介受診した。新生児淋菌性結膜炎疑いのため早急な検体処理の必要性があると連絡があり, 施行した眼脂のグラム染色でグラム陰性双球菌を認めた。Ceftriaxone で治療を開始し眼後遺症なく軽快し退院した。その後, 培養検査および Multi-locus sequence typing 法解析による分子型別の結果 *N. gonorrhoeae* ST13840 型を示した。新生児淋菌性結膜炎は稀だが無治療で失明する重要な疾患であり, 出生時の点眼抗菌薬の適正使用, 妊婦スクリーニング検査による感染予防の必要性, 医療従事者へ検体保存について教育することの必要性が示唆された。

Key words: *Neisseria gonorrhoeae*, 新生児結膜炎

序 文

新生児結膜炎は生後4週までに起きる結膜炎であり, 原因微生物として *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis*, *Corynebacterium* spp., 単純ヘルペスウイルス等の報告がある¹⁾。

N. gonorrhoeae は性感染症の一般的な原因菌であり, 尿道炎や子宮頸管炎をきたす。結膜炎については成人例の報告はある²⁾が, 新生児例は非常に稀である。本邦をはじめ先進国において, 新生児結膜炎の原因微生物のうち *N. gonorrhoeae* の頻度は1%未満とされる^{3)~5)}。また, *N. gonorrhoeae* による新生児結膜炎は適切な治療により通常24時間以内に改善を認めるが, 無治療では角膜穿孔を起こし, 失明につながる重大な疾患である⁶⁾。今回, 新生児結膜炎のため入院した生後9日の男児より提出された眼脂から *N. gonorrhoeae* を分離し, 適切に治療しえたので報告する。

症 例

患者: 日齢9男児

主訴: 左眼脂, 左眼瞼腫脹, 発熱

既往歴: なし

周産期歴: 在胎39週3日に経膈分娩で出生した。出生体重は3,186 g。Apgar scoreは1分値が8点, 5分値が9点で

あった。出生直後にレボフロキサシン点眼薬を使用した。母体感染症スクリーニング検査では陰培養で *Streptococcus agalactiae* 陰性, *C. trachomatis* のDNA-PCR検査は陰性であった。*N. gonorrhoeae* のスクリーニング検査は行われていなかった。日齢5に産院を退院した。

生活歴: 同胞なし, 周囲に同様の症状なし

家族歴: 母親は今回が初めての妊娠であった。両親とも妊娠前後に他者との性交渉はなかった。妊娠中の性交渉では避妊具を装着し, 性感染症を示唆する排尿時痛などの症状は両親ともに認めなかった。

現病歴: 日齢8の朝から眼脂が出現し, 夕方より開眼はできるものの眼瞼腫脹が出現した。翌日, さらに左眼瞼腫脹が増悪し左眼開眼困難となり, 前医受診後精査加療のため当院を紹介受診した。

入院時身体所見: 体重3,100 g, バイタルサインは心拍数146回/分, 呼吸数36回/分, 体温38.1℃であった。右眼は眼脂, 充血共に認めなかったが, 左眼は眼瞼腫脹のため開眼できず, 救急外来での診察では結膜の評価は困難であった。当院の眼科での診察で左眼瞼結膜充血を認めたが, 角膜および網膜には異常所見を認めなかった。

入院時の血液検査所見を Table 1 に示す。白血球数22,500/μL, CRP 0.51 mg/dL と炎症反応の上昇を認めたが, その他に異常所見は認めなかった。眼窩内膿瘍の有無を精査する目的で施行した造影CT検査では眼窩周囲の脂肪織濃度上昇および眼窩内の膿瘍形成は認めなかった。新生児結膜炎の診断, 母体スクリーニング検査での *C. trachomatis* のDNA-PCR検査陰性, 左眼脂のグラム染色所見でソラマメ型のグラム陰性双球菌が対称的に接する配列を示したことから原因微生物は *N. gonorrhoeae* を疑った。総ビリルビンは17.37 mg/dL

著者連絡先: (〒656-0021) 兵庫県洲本市塩屋1丁目1-137
兵庫県立淡路医療センター
亀山和明
TEL: 0799-22-1200
FAX: 0799-24-5704
E-mail: uzsl8x_kazu@mx41.tiki.ne.jp

と日齢相応であることを確認し、救急外来で Ceftriaxone 125 mg (40 mg/kg/回) を 1 回静脈内投与した上で入院の方針とした。

入院 2 日目には眼脂が減少し、入院 3 日後には解熱、眼瞼腫脹も著明に改善した。眼科診察でも引き続き角膜穿孔などの眼後遺症は認めなかった。血液培養は陰性であり、播種性淋菌感染症や、発熱の原因としてその他の感染症を疑う所見を認めなかったため退院した。

後日、その他の性感染症の合併を除外するために施行した血液検査で HBs 抗原 (化学発光酵素免疫測定法; CLEIA 法)、HCV 抗体 (CLEIA 法)、HIV 抗原抗体 (CLEIA 法)、梅毒 RPR 定性 (ラテックス凝集比濁法; LA)、梅毒 TP 定性 (LA)、HSV IgM (酵素免疫測定法) はいずれも陰性であった。また、退院 2 週間後の当院眼科診察でも眼後遺症がないことを確認した。生後 4 か月時点で再発することなく経過している。新生児期における *N. gonorrhoeae* 感染症の大部分は母子感染であり出生時に感染した可能性が高い点と性行為で感染する点を説明した。父は尿検体を用いて核酸増幅検査法の 1 つである Strand displacement amplification 法で陰性を確認し、母は膈分泌体検体を用いて Real time PCR 法で陰性を確認した。ともに咽頭検体の検査は行われなかった。

細菌学的検査所見

1) 顕微鏡学的検査

入院当日、*N. gonorrhoeae* による新生児結膜炎の疑いがあり、眼分泌物のグラム染色と培養の実施依頼があった。提出された眼分泌物のグラム染色所見 (Bartholomew & Mittwer の変法) を Figure 1 に示す。白血球は 3+ であり、

Table 1. 入院時血液検査所見

T-BIL	17.37 mg/dL	WBC	22500 / μ L
AST	33 U/L	RBC	506 \times 10 ⁴ / μ L
ALT	12 U/L	Hb	16.3 g/dL
CRP	0.51 mg/dL	Ht	45.9 %
CRE	0.45 mg/dL	Plt	56.8 \times 10 ⁴ / μ L
血糖	83 mg/dL	MCV	90.7 fL
BUN	15.1 mg/dL	MCH	32.2 pg
IgG	1319 mg/dL	MCHC	35.5 g/dL
IgA	10 mg/dL		
IgM	52 mg/dL		

口腔内常在性 *Neisseria* spp. よりやや大きめのグラム陰性双球菌を少数認めた。

2) 培養検査

培養検査は、ヒツジ血液寒天培地 (日本ベクトン・ディッキンソン)、チョコレート寒天培地 (日本ベクトン・ディッキンソン)、MacConkey 寒天培地 (極東製薬)、MDRS-K 寒天培地 (極東製薬) を用いて行った。ヒツジ血液寒天培地とチョコレート寒天培地は 35 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 湿潤環境下で培養し、MacConkey 寒天培地、MDRS-K 寒天培地は 35 $^{\circ}$ C 好気条件下培養を実施した。

24 時間培養後にチョコレート寒天培地に 1+, 血液寒天培地に少数のコロニーが発育した。コロニーの様子はやや灰白色を帯びた透明から半透明であった (Figure 2)。MacConkey 寒天培地、MDRS-K 寒天培地にコロニーの発育は見られなかった。オキシダーゼ試験陽性、カタラーゼ試験陽性、 β ラクタマーゼ試験 (ニトロセフィン法) は陰性であった。これらのことより病原性 *Neisseria* 属を疑い同定検査を行った。菌種名は ID テスト HN-20 ラピット (日水) を用いて行った。結果は同定確率 99.9% で *N. gonorrhoeae* と同定された。国立感染症研究所に依頼し、菌株を QIAampDNA Mini Kit を用いてゲノム DNA を抽出し、MiSeq (イルミナ) にて全ゲ

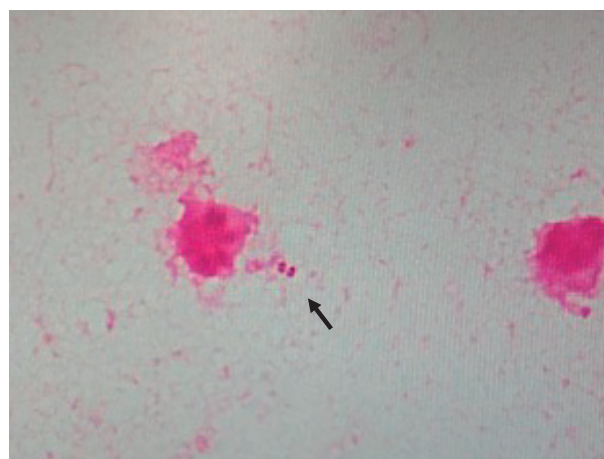


Figure 1. 入院当日の眼分泌物のグラム染色所見 (Bartholomew & Mittwer 法, B & M 法)

白血球は 3+ であり、口腔内常在性 *Neisseria* spp. よりやや大きめのグラム陰性双球菌を少数認めた。



Figure 2. 発育したコロニーを 5%CO₂ 湿潤環境下で純培養したコロニーの様子
やや灰白色を帯びた透明から半透明のコロニーが血液寒天培地に比べチョコレート寒天培地に多く発育した。

Table 2. *Neisseria gonorrhoeae* の薬剤感受性結果

薬剤	MIC (mg/L)	感受性結果
Penicillin G	0.5	低感受性
Cefixime	0.016	感受性
Ceftriaxone	0.016	感受性
Ciprofloxacin	8	耐性
Azithromycin	0.125	感受性
Spectinomycin	0.16	感受性
Tetracycline	1	低感受性

ノムの解読と薬剤感受性試験を行なった。Average Nucleotide Identity 解析⁷⁾の結果でも *N. gonorrhoeae* >98% であり、矛盾はなかった。Multi-locus sequence typing 法解析では *N. gonorrhoeae* ST13840 型を示し、2015 年本邦分離株の調査⁸⁾では同系統に属する株が含まれていた。薬剤感受性結果を、Table 2 に示す。breakpoint は Clinical And Laboratory Standards Institute M100-S30⁹⁾に準拠し、Tetracycline のみ EUCAST¹⁰⁾の breakpoint に準拠した。また、Penicillin G (0.125-1 mg/L), Cefixime (0.125-0.25 mg/L), Ceftriaxone (0.125-0.25 mg/L), Ciprofloxacin (0.125-0.5 mg/L), Azithromycin (0.5 mg/L), Spectinomycin (64 mg/L) の値を示す株を低感受性株とした¹¹⁾。今回分離された株の PBP2 をコードしている *pen A* 遺伝子型は 5.002type であり、近年、問題となっている第 3 世代セファロスポリン系薬に低感受性を示す *pen A10.001*type, *pen A34.001*type は保有していなかった¹²⁾。一方で、DNA ジャイレースとキノロン系薬の結合を減少させる変異の一つである S91F 変異、D95G 変異が確認された。以上から、分離株がシプロフロキサシンに対して耐性を示す¹³⁾ことに矛盾はなかった。

考 察

適切な検体保存、培養検査及び遺伝子検査により眼脂から *N. gonorrhoeae* を検出し、迅速かつ適切な治療で眼後遺症に至らなかった新生児結膜炎の男児例を報告した。本症例より以下の 3 点が示唆された。

1 点目は本邦で検出される *N. gonorrhoeae* はニューキノロン薬に耐性であることを念頭に入れて予防及び治療が必要である点である。Penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae* (PPNG) が蔓延して以降、ニューキノロン薬はペニシリン系薬と交差反応を示さないことより PPNG, non-PPNG を問わず使用頻度が増加していった。その結果、現在では *N. gonorrhoeae* の 90% 近くがニューキノロン薬に耐性を示す状態となっている¹⁴⁾。今回の症例でも、出生直後にレボフロキサシン点眼薬が使用されていたが Ciprofloxacin 耐性の *N. gonorrhoeae* が検出されたため、点眼薬の適正使用を検討する必要があると考えられた。米国では新生児結膜炎予防目的の点眼薬に Erythromycin または Tetracycline の選択を推奨している¹⁵⁾が、本邦では 2015 年に Erythromycin 点眼薬が製造中止となっているため Erythromycin 眼軟膏などの使用が推奨される。一方で、近年 Ceftriaxone 耐性の *N. gonorrhoeae* 感染症が問題となっている²⁾¹⁶⁾。本症例は Ceftriaxone の感受性が良好であったが、今後の症例数

増加に留意が必要である。

2 点目は本邦でも妊婦健診における *N. gonorrhoeae* のスクリーニング検査導入を検討する必要がある点である。上述した通り *N. gonorrhoeae* による新生児結膜炎は非常に稀であり^{3)~5)}、症例報告も少ないが、角膜穿孔や失明の後遺症を起こす重篤な疾患である。感染経路の大部分は母子感染であり³⁾、入院施設における新生児結膜炎の水平感染に関する報告¹⁷⁾はあるが、本症例では同時期に眼脂などの同症状を認めた患者の報告がなかったため産院での水平感染の可能性は低いと考えた。本邦では現在、*C. trachomatis* と異なり妊婦健診で検索する病原体の項目に含まれていない¹⁸⁾。本邦の産婦人科学会による調査では、*N. gonorrhoeae* を妊娠スクリーニング検査で行なっている施設は 14% であったと報告している¹⁸⁾。国内での淋菌感染症の件数はここ数年横ばいである¹⁹⁾が、上記の報告で妊娠スクリーニング検査を行っていない施設では妊娠中に淋菌感染症を起こす頻度は 0.2% であった一方、スクリーニングを行っている施設では 1.3% と有意に高かったことから¹⁸⁾見逃されている可能性がある。また、20 代以上の妊婦の淋菌感染症罹患率が約 1% であったのに対し、10 代の妊婦では 3% と有意に高値であり¹⁸⁾、近年梅毒感染症患者が増加している点¹⁹⁾からも今後、淋菌感染症の件数が増加する可能性が考えられる。US Preventive Services Task Force では女性の年齢別の *N. gonorrhoeae* 感染症と新生児の *N. gonorrhoeae* 結膜炎の発症率は直接関連しており、24 歳未満の全ての女性と感染のリスクの高い女性及び妊婦は *N. gonorrhoeae* のスクリーニング検査を推奨している⁴⁾。また、母親が *N. gonorrhoeae* に感染している場合の新生児への伝播率は 30% から 50% とする文献⁶⁾もあることから無治療で見逃されている可能性があり、妊婦健診において *N. gonorrhoeae* の検索を追加する必要があると考えた。一方、本症例では母親の淋菌検査が陰性であったため、スクリーニング検査を実施していても予防できなかった可能性があり、費用対効果を考慮した検査導入の検討が必要と考えた。

3 点目は、*N. gonorrhoeae* を疑う検体の扱い方を院内で周知する必要がある点である。先述の通り不適切な細菌検査室内での保存方法により菌検出が困難となる場合がある。今回は医師より *N. gonorrhoeae* による新生児結膜炎の可能性があると連絡があったため冷蔵保存することなく即座に培養検査を実施し発育させることができた。*N. gonorrhoeae* は低温に弱いため冷蔵保存は行わず直ちに培養を開始するか 37°C に保存する必要がある²⁰⁾。そのため、*N. gonorrhoeae* を疑って提出する検体は冷蔵保存不可であることを検査技師だけでなく医師や看護師にも教育する必要があると再認識した。

N. gonorrhoeae による新生児結膜炎の男児例を経験した。本症例は出生時の点眼抗菌薬の適正使用、妊婦スクリーニング検査による *N. gonorrhoeae* 感染予防の必要性、そして医療従事者へ検体保存について教育することの必要性を認識できた貴重な症例であった。

本論文の投稿に関して患者の保護者より同意を得た。

利益相反：申告すべき利益相反なし。

文 献

- 1) Honkila, M, M Renko, I Ikäheimo, et al. 2018. Aetiology of Neonatal Conjunctivitis Evaluated in a Population-Based Setting. *Acta Paediatr* 107: 774-779.
- 2) Iwata, A, K Shimuta, O Ohnishi. 2017. Conjunctivitis Caused by a Strain of *Neisseria gonorrhoeae* That Was Less Susceptible to Ceftriaxone. *Intern Med* 56: 1443-1445.
- 3) Kreisel, K, E Weston, J Braxton, et al. 2017. Keeping an eye on chlamydia and gonorrhoea conjunctivitis in the United States, 2010-2015. *Sex Transm Dis* 44: 356-358.
- 4) Curry, SJ, AH Krist, DK Owens, et al. 2019. Ocular Prophylaxis for Gonococcal Ophthalmia Neonatorum: US Preventive Services Task Force Reaffirmation Recommendation Statement. *JAMA* 321: 394-398.
- 5) Pak, KY, SI Kim, JS Lee. 2017. Neonatal Bacterial Conjunctivitis in Korea in the 21st Century. *Cornea* 36: 415-418.
- 6) Laga, M, A Meheus, P Piot. 1989. Epidemiology and control of gonococcal ophthalmia neonatorum. *Bull World Health Organ* 67: 471-477.
- 7) Johan, G, TK Konstantios, AK Joel, et al. 2007. DNA-DNA hybridization values and their relationship to whole-genome sequence similarities. *Int J Syst Evol Microbiol* 57: 81-91.
- 8) Yahara, K, S Nakayama, K Shimuta, et al. 2018. Genomic surveillance of *Neisseria gonorrhoeae* to investigate the distribution and evolution of antimicrobial resistance determinants and lineages. *Microb Genom* 4: e000205.
- 9) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition. <http://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI%20M100%20ED30:2020%20Page%2095&format=SPDF> 2020年4月4日現在.
- 10) European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 10.0. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAS_T_files/Breakpoint_tables/v_10.0_Breakpoint_Tables.pdf 2020年4月4日現在.
- 11) 田中正利, 霜島正浩, 雑賀 誠, 他. 2011. 日本全国から分離された淋菌の抗菌薬感受性に関する調査. *感染症学雑誌* 85: 360-365.
- 12) Shimuta, K, M Unemo, S Nakayama, et al. 2013. Antimicrobial resistance and molecular typing of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Kyoto and Osaka, Japan, 2010 to 2012: Intensified surveillance after identification of the first strain (H041) with high-level ceftriaxone resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 57: 5225-5232.
- 13) Unemo, M, W Shafer. 2014. Antimicrobial Resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the 21st Century: Past, Evolution, and Future. *Clin Microbiol Rev* 27: 587-613.
- 14) 大神田敬, 眞野容子, 後藤美江子, 他. 2012. 関東地方で分離された *Neisseria gonorrhoeae* の抗菌薬感受性とセファロスポリン感受性の低下. *文京学院大学保健医療技術学部紀要* 6: 1-6.
- 15) Jin, J. 2019. Prevention of Gonococcal Eye Infection in Newborns. *JAMA* 321: 414.
- 16) Yuan, Q, Y Li, L Xiu. 2019. Identification of multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates with combined resistance to both ceftriaxone and azithromycin, China, 2017-2018. *Emerg Microbes Infect* 8: 1546-1549.
- 17) Goel, K, V Randhawa, A Saili, et al. 2016. Incidence, etiology and risk factors associated with neonatal healthcare-associated conjunctivitis: A Prospective Study from a Tertiary Care Hospital in India. *J Trop Pediatr* 62: 10-18.
- 18) 母子保健部. わが国における妊娠中の淋菌頸管炎に関する実態調査結果. <http://www.jaog.or.jp/wp/wp-content/uploads/2018/10/20181018.pdf> 2020年4月4日現在.
- 19) 厚生労働省. 性感染症報告数. <https://www.mhlw.go.jp/topics/2005/04/tp0411-1.html> 2020年7月25日現在.
- 20) 高木 康. 2008. 検体の採取と結果の解釈の注意点. *日本内科学会雑誌* 97: 2892-2896.

A case of neonatal gonococcal conjunctivitis suggesting the need for appropriate culture tests

Kazuaki Kameyama¹⁾, Shogo Otake²⁾, Ken Shimuta³⁾, Hideyuki Takahashi³⁾, Masatomo Morita³⁾,
Makoto Ohnishi³⁾, Yui Shimizu¹⁾, Tomoko Oue¹⁾, Masashi Kasai²⁾

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Hyogo Prefectural Kobe Children's Hospital

²⁾Department of Infectious diseases, Hyogo Prefectural Kobe Children's Hospital

³⁾Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases

Neisseria gonorrhoeae is one of the causative agents of neonatal conjunctivitis, but its incidence rate is very low in developed countries, including Japan. We report a case of neonatal conjunctivitis caused by *N. gonorrhoeae*. A 9-day-old male infant was presented to our emergency department with left eye discharge, left eyelid swelling, and fever. We suspected neonatal gonococcal conjunctivitis and performed rapid gram staining of his eye discharge. Because gram-negative diplococci were observed, we prescribed ceftriaxone. His symptoms then improved, and he was discharged without any prognostic symptoms. Eventually, *N. gonorrhoeae* ST13840 was detected as a result of culture examination and molecular typing by multi-locus sequence typing. Neonatal gonococcal conjunctivitis is a very rare but serious disease that causes blindness without appropriate treatment. We suggest the proper use of ophthalmic antibiotics at birth, need for a screening test in pregnancy to prevent *N. gonorrhoeae* infection, and need to educate healthcare workers about appropriate specimen storage and culture tests.