

[症例報告]

皮膚からの直接遺伝子同定が有用であった皮膚 *Mycobacterium haemophilum* 感染症の一例

古垣内美智子¹⁾²⁾・青野昭男³⁾・高木明子³⁾・御手洗聡³⁾・廣田菜々子⁴⁾
山村優人⁴⁾・志賀俊彦⁵⁾・甲斐田勇人⁶⁾・上裕俊法¹⁾⁷⁾・吉田耕一郎²⁾

¹⁾ 近畿大学病院中央臨床検査部

²⁾ 近畿大学病院安全管理センター感染対策部

³⁾ 公益財団法人結核予防会結核研究所抗酸菌部

⁴⁾ 近畿大学医学部皮膚科

⁵⁾ 近畿大学医学部血液膠原病内科

⁶⁾ 近畿大学医学部放射線医学教室放射線診断学部門

⁷⁾ 近畿大学医学部臨床検査医学

(令和7年4月24日受付, 令和7年7月1日受理)

近年, 非結核性抗酸菌による皮膚軟部組織感染症は増加傾向にある。今回, 高安動脈炎に対して免疫抑制剤, 生物学的製剤, プレドニゾロンにて治療中の28歳女性が重症の皮膚 *Mycobacterium haemophilum* 感染症を発症した。皮膚の抗酸菌培養は, 1回目は陰性であったが, 2回目は targeted next generation sequencing を原理とする Deeplex Myc-TB assay (GenoScreen) にて遺伝子解析を行い, 右手背結節から *M. haemophilum* が検出された。培養検査でも *M. haemophilum* が分離された。当初の *Mycobacterium avium* complex に準じた clarithromycin (CAM), rifampicin (RFP), ethambutol のレジメンから, *M. haemophilum* に有効な CAM, RFP, sitafloxacin に変更後, 症状は改善した。薬剤感受性は治療薬の MIC 値は低値であった。

M. haemophilum による皮膚軟部組織感染症は増加傾向のため, 皮膚などの抗酸菌培養時は本菌も疑い, 30°C での羊血液寒天培地やチョコレート寒天培地による培養を追加することが重要である。一方で発育が悪い株もあるため, 特に抗酸菌塗抹が陽性で培養に苦慮する場合は, 遺伝子検査を積極的に検討する必要がある。

Key words: *Mycobacterium haemophilum*, 非結核性抗酸菌, 皮膚軟部組織感染症, tNGS, 薬剤感受性検査

序 文

Mycobacterium haemophilum は 1978 年に Sompolinsky¹⁾ により提唱された非結核性抗酸菌である。*M. haemophilum* は成人免疫抑制患者に対して皮膚軟部組織感染症, 肺炎, 菌血症, 化膿性関節炎, 骨髄炎, 強膜炎²⁾などを, 小児では健常児にリンパ節炎を起こすことが報告されている³⁾⁴⁾。自然界での生息地や感染経路は明らかではないが, 貯水池などの水環境が感染源である可能性も示唆されている³⁾⁴⁾。

M. haemophilum の発育至適温度は 30~32°C, 発育にヘミンや鉄を要求する³⁾⁴⁾。通常, 抗酸菌培養は 36°C で BD ミジット分離培養剤 (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社, 以下 MGIT) を用いて培養するが, *M. haemophilum* の培養は 30°C 付近の低温で培養し, ヘミンや鉄を含む羊血液寒天培地やチョコレート寒天培地などによる培養が必要である。

今回, 高安動脈炎に対して免疫抑制剤, 生物学的製剤, プ

レドニゾロンにて治療中の患者が重症の皮膚 *M. haemophilum* 感染症を発症した。本症例を提示し, 比較的稀であったが近年増加傾向にある皮膚 *M. haemophilum* 感染症の微生物学的・遺伝子学的診断法の有用性について考察したい。

症 例

患者: 28 歳, 女性, 医師

主訴: 多発関節痛, 両手両足の皮下結節, 紅斑, 皮疹, 疼痛

既往歴: 202X-13 年に高安動脈炎に伴う腎血管性高血圧に対して経皮的腎動脈形成術を実施。202X-2 年 1 月に重症ニューモシスチス肺炎。

抗菌薬投与歴: 202X+1 年 1 月 16 日までニューモシスチス肺炎予防のために sulfamethoxazole-trimethoprim (ST 合剤) 1 錠 (sulfamethoxazole 400 mg, trimethoprim 80 mg) / day が処方されていた。

現病歴: 13 歳で高安動脈炎 (V 型) を発症。HLA-B52 陽性。高安動脈炎に対して免疫抑制剤 (methotrexate, cyclosporine), 生物学的製剤 (tocilizumab), prednisolone にて治療中の 202X-1 年 3 月より両手指を中心に多発関節痛がみられた。202X 年 8 月頃から両下肢に, 10 月頃から両上肢に多発性の皮疹が出現した。

入院時現症 (202X 年 11 月 13 日): 意識清明, 体温 35.8°C,

著者連絡先: (〒589-8511) 大阪府大阪狭山市大野東 377-2
近畿大学病院中央臨床検査部
古垣内美智子
TEL: 072-366-0221
FAX: 072-366-0201
E-mail: michiko-furugaito@med.kindai.ac.jp

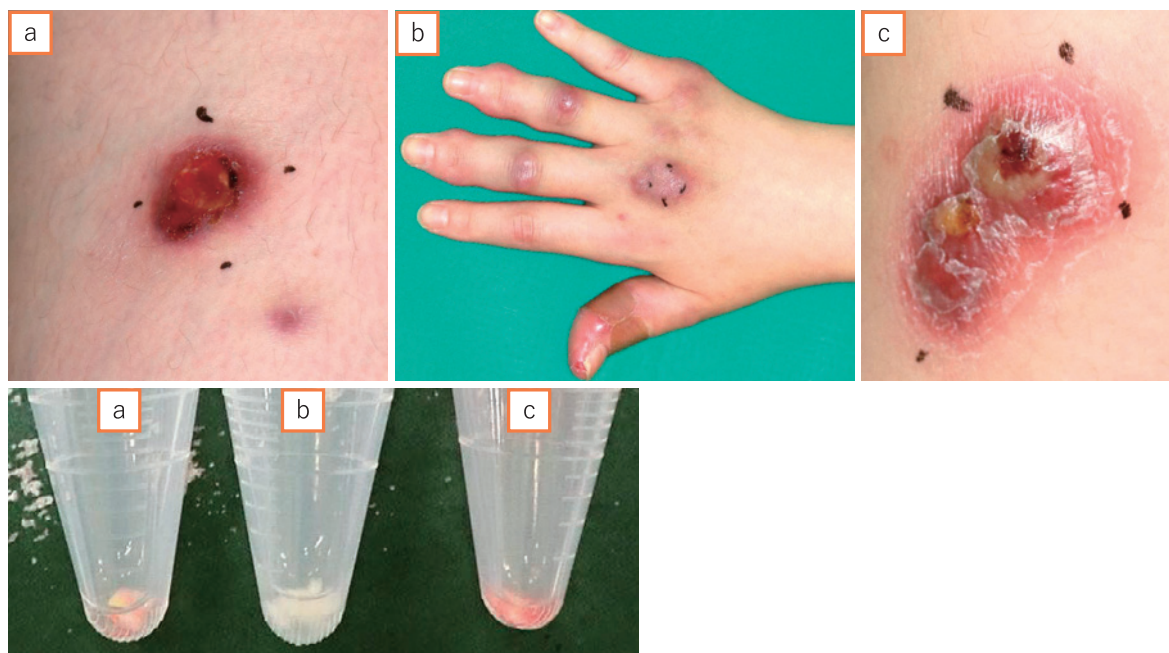


Figure 1. Skin lesion sites submitted for acid-fast bacterial culture (January 16, 202X + 1).

- a: Right thigh ulcer
- b: Dorsal tubercle of the right hand
- c: Crusted lesion on the left forearm

The upper figure illustrates the lesion site, while the lower figure presents the skin findings submitted for laboratory testing.

血圧 166/74 mmHg, 脈拍 104 回/分。両手, 両足にびまん性に皮下結節が多発, 結節性紅斑 (膿を伴う) や膿疱性皮疹も混在しており, 左足関節の熱感, 腫脹, 疼痛が自制不可となったため, 原因精査と治療強化目的で入院となった。

入院後経過: 202X 年 11 月 14 日に 1 回目の左大腿部結節から抗酸菌培養検査と病理検査が提出され, 抗酸染色陽性であった。皮膚非結核性抗酸菌症疑い例と診断し, 202X 年 11 月 16 日から cyclosporine, methotrexate, tocilizumab は中止し, prednisolone 単剤に変更された。202X 年 11 月 19 日から *Mycobacterium avium* complex に準じた治療として, clarithromycin (CAM) (800 mg/day), rifampicin (RFP) (600 mg/day) が投与開始され, 202X 年 11 月 21 日から CAM, RFP に加えて ethambutol (EB) (450 mg/day) が追加された。202X 年 11 月 25 日には軽快退院となった。病理診断は肉芽腫を伴う類上皮皮下脂肪織炎であった。

外来フォロー中の 202X+1 年 1 月 16 日の診察で, 2~3 週間前から皮膚病変が多発し, 患部に触れると痛みがあると訴えがあり, 再燃の可能性が考えられた。皮膚症状から重症の皮膚非結核性抗酸菌症が疑われ, 1 回目の皮膚培養が陽性となっていないことを鑑みて, 菌種同定と薬剤感受性の確認を目的として, 再度採取された検体の解析を結核予防会結核研究所抗酸菌部 (以下, 結核研究所) に依頼した。皮膚検体は右大腿部潰瘍, 右手背皮下結節, 左前腕痲癩の 3 か所から採取されていた (Figure 1)。そのうち右大腿部潰瘍と右手背皮下結節を結核研究所に送付し, 202X+1 年 1 月 19 日に受付され検査開始となった。202X+1 年 1 月 27 日に右手背皮下結節からの直接遺伝子同定検査で *M. haemophilum* が検

出されたことを主治医に報告した。この結果を受けて, 外来受診の 202X+1 年 1 月 31 日に EB を中止し, CAM (800 mg/day), RFP (600 mg/day), sitafloxacin (STFX) (200 mg/day) に処方変更した。202X+1 年 2 月 14 日から CAM, RFP, STFX に加えて minocycline (MINO) を追加した。後日培養が陽性になり, 薬剤感受性の結果は 202X+1 年 3 月 7 日に主治医に報告した。治療薬として使用中の CAM ($\leq 0.06 \mu\text{g/mL}$), RFP ($\leq 0.125 \mu\text{g/mL}$), STFX ($\leq 0.25, \leq 0.125 \mu\text{g/mL}$) に対する MIC 値が低いことを確認した。MINO の MIC 値は 1~2 $\mu\text{g/mL}$ と CAM, RFP, STFX の MIC 値よりも高めであったため, 202X+1 年 3 月 9 日に中止した。202X+1 年 5 月 8 日に症状は改善傾向であるが新たな病変部も認めるため, 治療強化目的で CAM, RFP, STFX に加えて faropenem (FRPM) を追加した。202X+1 年 9 月 4 日には軽快のため FRPM は中止し, CAM, RFP, STFX とした。

本症例は, CAM, RFP, STFX をベースとした抗菌薬治療に加えて定期的に切開排膿を行うことで, 皮膚病変や疼痛の症状は改善した。高安動脈炎における血管炎活動性の画像的評価のために行った ^{18}F -フルオロデオキシグルコース (FDG)-PET の画像所見から, 全身の皮膚病変の変化を確認することができた (Figure 2)。*M. haemophilum* の活動性が高かった 202X 年 12 月 13 日 (Figure 2-a) と比較して, CAM, RFP, STFX のレジメンに変更して約 4 か月後の 202X+1 年 6 月 5 日 (Figure 2-b) の所見では, 皮下の FDG 集積が著しく減少していることが確認できた。CAM, RFP, STFX のレジメンに変更して 1 年経過し, 皮膚の結節は瘢痕化し経過は良好であるものの, 202X+2 年 1 月 25 日 (Fig-

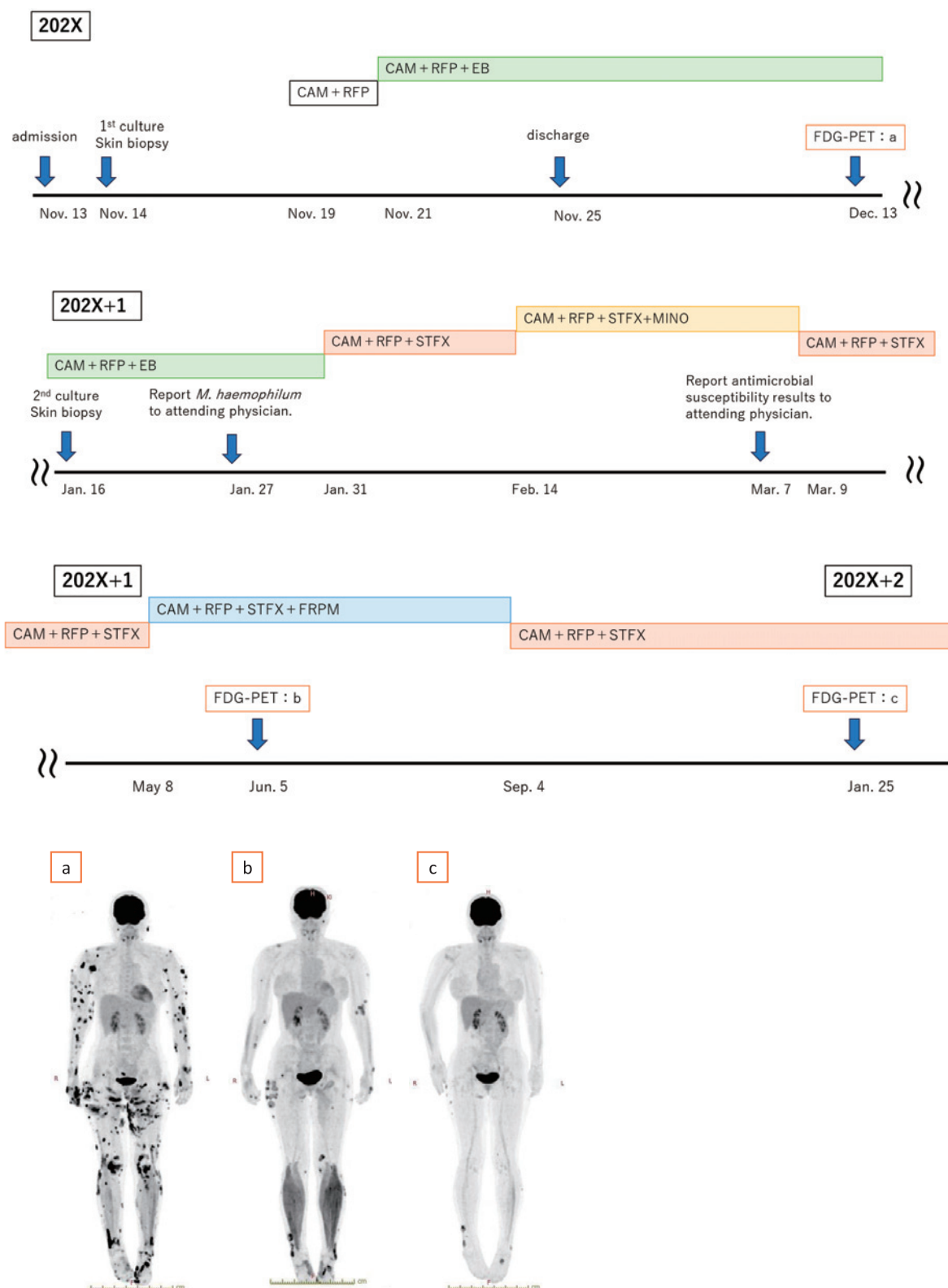


Figure 2. Trends in antimicrobial therapy of *Mycobacterium haemophilum* infection and time-series evaluation by FDG-PET. Whole-body FDG-PET imaging demonstrated multiple subcutaneous areas with increased FDG uptake. Image a (December 13, 202X) showed the highest FDG uptake, indicating high *M. haemophilum* activity. Images b (June 5, 202X + 1) and c (January 25, 202X + 2) showed a dramatic decrease in FDG uptake after the initiation of appropriate antimicrobial therapy compared to image a. Abbreviations: CAM: clarithromycin, RFP: rifampicin, EB: ethambutol, STFX: sitafloxacin, MINO: minocycline, FRPM: faropenem

Table 1. Results of anti-acid bacteria culture

Acid-fast bacilli culture	Inspection date	Inspection organization	Specimens	Acid-fast bacilli smear	Deeplex Myc-TB assay	Acid-fast bacilli culture			16S rRNA and <i>hsp65</i> gene analysis from colonies	Identification by VITEK MS
						30°C sheep blood agar/chocolate agar	30°C MGIT Add 1 mL of streptohemo supplement	30°C 2% Ogawa medium		
1st	November 14, 202X	Kindai University Hospital	Left thigh tubercle	positive	—	negative	—	negative	—	—
			Right thigh ulcer	negative	negative	negative	negative	negative	—	—
2nd	January 16, 202X+1	Research Institute of Tuberculosis	Dorsal tubercle of the right hand	positive	<i>M. haemophilum</i>	positive* (A few colonies were observed on day 38 of culture.)	positive (Culture results were determined to be positive on day 20 at 30°C incubation.)	negative	<i>M. haemophilum</i>	—
			Right thigh ulcer	positive	—	negative	—	negative	—	—
		Kindai University Hospital	Dorsal tubercle of the right hand	positive	—	positive** (One colony was observed on day 34 of culture.)	—	negative	—	<i>M. haemophilum</i>
			Crusted fatigue on the left forearm	positive	—	negative	—	negative	—	—

—: untested

MALDI-TOF MS: matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry

*: TSA II 5% Sheep blood agar M (Nippon Becton Dickinson Company, Ltd.)

** : AccuRate separated sheep blood agar/chocolate agar EX II (Shimadzu Diagnostics Corporation)

ure 2-c) の FDG-PET では FDG 集積が部分的に残存しているため、同レジメンにて継続治療中である。

当院の方針として、医療の質の向上を目的とした研究等に利用させていただく場合があることについて受診者に周知しており、症例報告の場合は包括同意として承諾を得ているものとしている。報告の際は個人を識別可能な情報を削除することにより個人情報保護に配慮している。

抗酸菌培養検査

1. 202X年11月14日 1回目の抗酸菌培養検査(左大腿部結節) : 近畿大学病院にて実施 (Table 1)

皮膚はホモジナイズ後、直接塗抹標本を作製した。抗酸染色は、蛍光染色(ローダミン・オーラミン染色)、チールネールゼン染色(武藤化学)を行い、陽性(2+)であった。抗酸菌培養はN-アセチル-L-システイン・水酸化ナトリウム(NALC-NaOH)法による前処理後、MGITと極東2%小川培地(以下2%小川培地; 極東製薬工業株式会社)に接種し、MGITはBDバクテックMGIT960(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)、2%小川培地は30°Cふ卵器にて6週間培養した。培養開始2週間後に、*M. haemophilum*を考慮し

て凍結保存していたNALC-NaOH法後の検体を30°Cアキュレート分画羊血液寒天/チョコレートEX II(島津ダイアグノスティックス)に塗布して30°Cふ卵器にて6週間培養したが、202X+1年1月25日に培養陰性を報告した。

PCRはNALC-NaOH法処理後の検体で実施した。コバスタqMan MTB・MAI(ロシユ・ダイアグノスティックス株式会社)は結核菌群と*Mycobacterium avium*は陰性、*Mycobacterium intracellulare*は39.2サイクルで陽性であった(Figure 3)。一方、μTAS WAKO g1 MTB/MAI(富士フィルム和光純薬株式会社)はすべて陰性であった。

2. 202X+1年1月16日 2回目の抗酸菌培養検査 (Table 1)

2回目の抗酸菌培養は、右大腿部潰瘍、右手背皮下結節、左前腕痲痺が提出された。すべて近畿大学病院で抗酸菌培養を行った。右大腿部潰瘍、右手背皮下結節については近畿大学病院で使用した後の検体を結核研究所に送り解析した。

2.1 近畿大学病院で行った抗酸菌培養検査 (Table 1)

提出された右大腿部潰瘍、右手背皮下結節、左前腕痲痺の抗酸菌塗抹は陽性(2+)であった(Figure 4)。培養は1回目と同様の方法で実施した。PCRはμTAS WAKO g1 MTB/

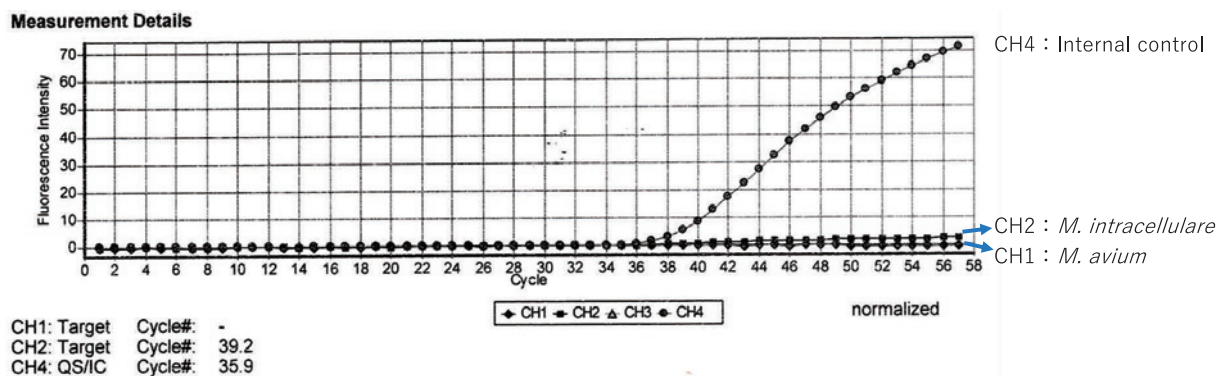


Figure 3. False-positive signals on polymerase chain reaction amplification curves for *Mycobacterium intracellulare* (COBAS TaqMan MAI).

The sample tested positive at 39.2 cycles; however, the reaction curve was insufficiently amplified.

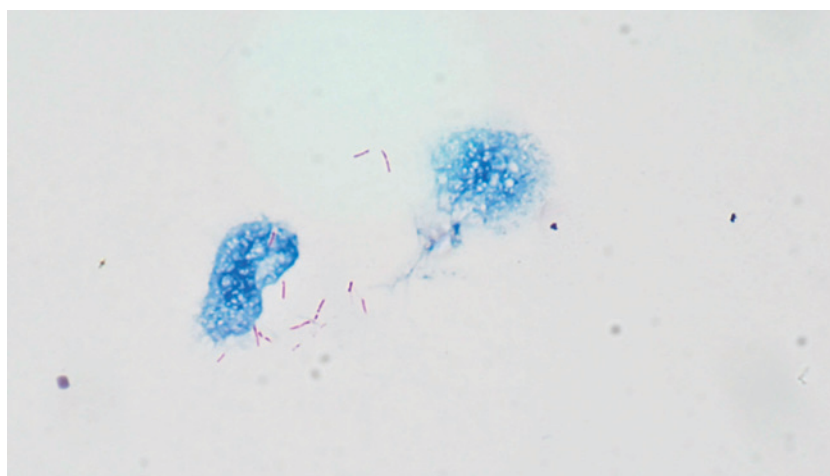


Figure 4. Ziehl-Neelsen staining of the ulcer on the right thigh ($\times 1,000$).

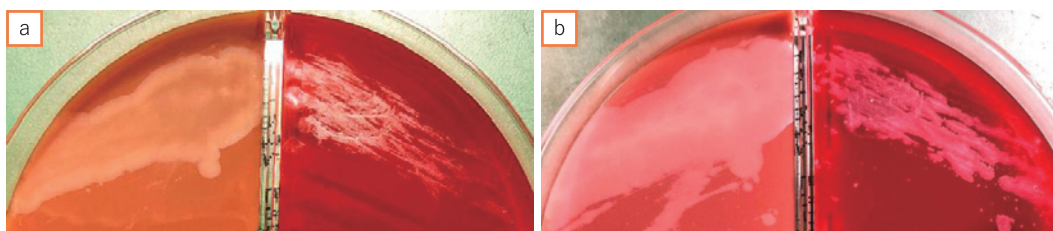


Figure 5. Colony findings of *Mycobacterium haemophilum* colonies incubated at 30°C in air on AccuRate separated sheep blood/chocolate agar EX II (Shimadzu Diagnostics Corporation).

a) 8 days, b) 15 days

MAIで実施し、結核菌群、*M. avium*、*M. intracellulare*は陰性であった。右手背皮下結節は、培養34日目に30°Cアキュレート分画羊血液寒天/チョコレートEX II (島津ダイアグノスティックス)上に1コロニー抗酸菌が発育した。Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)を原理とするバイテックMS (ピオメリュージャパン社、ライブラリV3.2)にてオンプレートギ酸抽出法で測定したところ、同定確率99.9%で*M. haemophilum*と同定された。分離した集落を30°Cアキュレ

ート分画羊血液寒天/チョコレートEX IIに画線培養した所見をFigure 5に示した。右大腿部潰瘍、右手背皮下結節は培養陰性であった。

2.2 結核研究所で行った抗酸菌培養

抗酸菌塗抹検査は、右大腿部潰瘍は陰性、右手背皮下結節は陽性であった。

皮膚検体から直接遺伝子解析による同定はtargeted next-generation sequencing (tNGS)を原理としたDeeplex Myc-TB assay (GenoScreen, <https://www.genoscreen.fr/fr/>

Table 2. Antimicrobial susceptibility of *Mycobacterium haemophilum*

Antimicrobial agents	BrothMIC RGM		BrothMIC SGM		Interpretive breakpoint ^a
	MIC (μg/mL) of <i>M. haemophilum</i> in this case	MIC (μg/mL) of <i>M. haemophilum</i> ATCC 29548 ^T	MIC (μg/mL) of <i>M. haemophilum</i> in this case	MIC (μg/mL) of <i>M. haemophilum</i> ATCC 29548 ^T	
Clarithromycin	≤0.06	0.125	≤0.06	≤0.06	S
Azithromycin	0.5	2	0.25	0.25	
Rifabutin	—	—	≤0.25	≤0.25	S
Rifampicin	—	—	≤0.125	≤0.125	S
Sitafloxacin	≤0.25	≤0.25	≤0.125	≤0.125	
Levofloxacin	≤1	≤1	—	—	
Moxifloxacin	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25	S
Ethambutol	—	—	>16	>16	
Ethionamide	—	—	8	8	
Isoniazid	—	—	4	>4	
Doxycycline	1	1	1	2	S
Minocycline	—	—	1	2	S
Faropenem	≤2	≤2	—	—	
Imipenem	≤2	≤2	—	—	
Clofazimine	≤0.06	≤0.06	—	—	
Linezolid	≤1	≤1	≤2	≤2	S
Meropenem	≤2	≤2	—	—	
Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤0.25/4.8	1/19	—	—	S
Amikacin	≤4	≤4	≤8	≤8	S
Kanamycin	—	—	≤2	4	
Tobramycin	16	16	—	—	

a: CLSI M24S 2nd Edition; antimicrobial agents and breakpoints for testing slowly growing nontuberculous *Mycobacteria* other than MAC and *Mycobacterium kansasii*.

—: untested

genoscreen-services/products/deeplex)⁵⁾を行った。DNA抽出は、プロテイナーゼKとsodium dodecyl sulfateで処理後にフェノール・クロロホルム抽出を行った。右手背皮下結節の解析はheat shock protein 65 (*hsp65*) 遺伝子 (394 bp) の解析の結果、*M. haemophilum* ATCC 29548^T (accession No. AY299185) と100%一致した。Average coverage depthは×47.6であった。右大腿部潰瘍からは検出されなかった。

抗酸菌培養は、NALC-NaOH法による前処理後、MGITをBDバクテックMGIT960にて、2%小川培地とTSA II 5%ヒツジ血液寒天培地 (日本バクトン・ディッキンソン株式会社) は30℃ふ卵器にて6週間培養した。培養開始7日目にDeeplex Myc-TB assayで*M. haemophilum*と同定された後、MGITを装置から取り出し、ストレプト・ヘモサプリメント‘栄研’ (栄研化学株式会社) を1 mL添加し、30℃ふ卵器にて培養を継続した。その結果、右手背皮下結節から培養開始38日目にTSA II 5%ヒツジ血液寒天培地上に数コロニー集落を形成した。MGITはストレプト・ヘモサプリメントを添加して30℃培養に切り替えてから20日目に陽性となったが、2%小川培地は培養陰性であった。右大腿部潰瘍は培養陰性であった。

集落からの同定は16S rRNA遺伝子、*hsp65*遺伝子を解析し、16S rRNA遺伝子 (920 bp) は*M. haemophilum* ATCC 29548^T (accession No. NR_104888) と99.89%、*hsp65*遺伝子 (368 bp) は*M. haemophilum* ATCC 29548^T (accession No. AY299185) と100%一致したため、*M. haemophilum*

と同定した。

薬剤感受性検査は、プロスミックRGMとプロスミックSGM (ともに極東製薬工業株式会社) を用いた。基本的にはキットの添付文書に従ったが、発育支持のために、各キットの接種液12 mLに対して1 mL (=8%) のストレプト・ヘモサプリメント‘栄研’を添加した。添加量はストレプト・ヘモサプリメント‘栄研’の添付書に従った。培養条件は30℃大気培養で十分な発育を認めた8日目にMICを判定した。また参考値として*M. haemophilum* ATCC 29548^Tを同時に測定した。判定はClinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) M24S 2nd Edition⁶⁾の*M. avium* complex, *Mycobacterium kansasii* 以外の遅発菌の判定基準を参考に判定した。分離株に対する治療薬のMIC値は、CAM ≤0.06 μg/mL, RFP ≤0.125 μg/mL, STFX (≤0.25, ≤0.125 μg/mL) と低値であった (Table 2)。一方、MICが高めを示した薬剤は、EB >16 μg/mL, ethionamide (ETH) 8 μg/mL, isoniazid (INH) 4 μg/mL, tobramycin (TOB) 16 μg/mLであった (Table 2)。

考 察

近年、国内外において皮膚非結核性抗酸菌症は増加傾向にある⁷⁻⁹⁾。その中で、これまで稀とされてきた国内の*M. haemophilum* 感染症の報告数は増加傾向であり⁸⁾、この背景には、遺伝子解析技術の進歩¹⁰⁻¹²⁾による*M. haemophilum* 感染症の診断精度の向上が一因として考えられる。したがって、

皮膚非結核性抗酸菌症を疑う場合は *M. haemophilum* も原因菌として考慮するべきである。

非結核性抗酸菌は土壌や水域に生息するが³³⁾, *M. haemophilum* の環境中での生息地や感染源は不明とされている³⁴⁾。しかし, *M. haemophilum* は海水や珊瑚が感染源になる可能性¹⁴⁾, 魚類などへの病原性¹⁾の報告や, 給水システム¹⁵⁾, ゼブラフィッシュの水槽のバイオフィーム¹⁶⁾, ゴキブリの表面¹⁷⁾などの環境からの分離報告があり, 様々な環境要因が関与している可能性がある。本菌による感染症の背景には, このような外因に加えて免疫抑制剤状態といった宿主因子の関与も示唆される。本症例でも何らかの環境要因に加えて免疫抑制剤状態であったことが発症に関与したと考えられた。

本症例は, 高安静脈炎に対して免疫抑制剤, 生物学的製剤, prednisolone による治療中に, 重症の皮膚 *M. haemophilum* 感染症を発症した。初回の抗酸菌塗抹検査は陽性であったが, 培養陰性であったため, 2 回目の皮膚検体は結核研究所に解析を依頼し, 皮膚検体から直接 tNGS を原理とした Deeplex Myc-TB assay によって *M. haemophilum* が迅速に同定された。この結果を受けて, 同菌を標的とした抗菌薬治療へと変更され, 臨床症状は著明に改善した。本症例は遺伝子検査による診断が治療に直結したことを示す有用な事例であった。

患者は 1 回目の抗酸菌塗抹検査が陽性と判明後, 皮膚非結核性抗酸菌症と診断され, MAC に準じた抗菌薬治療 (EB, CAM, RFP) が開始された。一時は軽快したものの数週間後には再燃した。2 回目の培養で *M. haemophilum* と判明後に CAM, RFP, STFX に変更後は, 皮膚所見や FDG-PET から皮下膿瘍の所見は著効した (Figure 2)。FDG-PET による経過観察は, 全身の病変範囲や活動性を把握する上で有用であった (Figure 2)。*M. haemophilum* 感染症の治療に関する標準的なガイドラインはないため, 治療レジメンや期間は確立されていないが, CAM, rifamycin 系薬, ciprofloxacin のレジメン³⁴⁾¹⁸⁾で 12~24 か月投与することが専門家の一般的な意見とされている⁴⁾¹⁸⁾。本症例も同レジメンで治療が行われており有効であった。

抗酸菌培養検査は 2 回提出され, いずれも塗抹陽性であった。*M. haemophilum* を考慮した培養を行ったが, 1 回目は培養陰性であった。2 回目は結核研究所で皮膚検体からの直接遺伝子同定により *M. haemophilum* と同定した。培養 38 日目には数コロニー集落の発育を認めた。集落からの同定は, 16S rRNA 遺伝子, *hsp65* 遺伝子解析や, MALDI-TOF MS (バイテック MS) により *M. haemophilum* と同定され, Deeplex Myc-TB assay の結果と一致した。同定は比較的容易であったが, 集落形成に時間を要するため, 適切な条件による培養が重要である。今回の発育不良の原因は, 先行する ST 合剤の投与や EB, CAM, RFP の治療の影響が考えられた。

コバス TaqMan MTB・MAI にて *M. intracellulare* 陽性と判定されたが, 反応曲線の増幅をほとんど認めなかった (Figure 3)。 μ TAS WAKO g1 MTB/MAI は陰性であり, 偽陽性が考えられたため判定不能と報告した。既報¹⁰⁾¹¹⁾でも我々と同様な報告があり, この原因として, コバス TaqMan MTB・MAI の検出プローブ領域において, *M. haemophilum* の遺伝子に 1 塩基が挿入されることにより, 標的遺伝子配列がループ構造を形成し, *M. intracellulare* の結合プローブ領

域が完全に一致したことで交差反応が生じた可能性が報告されている¹¹⁾。

Deeplex Myc-TB assay の結果, NGS データの信頼性の指標の 1 つである average coverage depth は通常 $\times 1000$ を超えることが多いが, 本症例では average coverage depth が $\times 47.6$ と低値であり, 抽出された *M. haemophilum* の DNA 量が限られていたことが示唆された。また, PCR 阻害物質などの影響も重なった可能性があり, 通常の PCR による同定は困難であったと考えられた。こうした状況においては, Deeplex Myc-TB assay による同定が有用であった。同検査は通常の検査室では行えないため, 結核研究所などの外部の研究機関に依頼する必要がある。

M. haemophilum に対する薬剤感受性の方法は標準化されておらず, CLSI M24S 2nd Edition⁶⁾や European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing のドキュメントに記載はない。今回, 発育支持のためにストレプト・ヘモサブリメント '栄研' を添加して行った結果, 治療薬として用いられる CAM, RFP, STFX の MIC は低値, EB, ETH, TOB, INH の MIC は高めを示し, 同時に測定した *M. haemophilum* ATCC 29548^T (Table 2) や, 既報³⁾⁴⁾¹⁸⁾¹⁹⁾と同傾向であった。*M. haemophilum* 感染症は, 治療が数年に及ぶことや, リファマイシン系薬を含む複数の抗結核薬で治療後の分離株が RFP に耐性化した報告¹⁸⁾¹⁹⁾があるため, 可能な限り薬剤感受性検査を行うべきであろう。標準化されていない現状では, *M. haemophilum* ATCC 29548^T を参考値として同時に測定し, 文献の考察との整合性を取ることも重要である。

本症例では, 皮膚検体から直接実施した Deeplex Myc-TB assay によって *M. haemophilum* を迅速に同定でき, 適切な治療薬の変更に繋がった。近年, *M. haemophilum* による皮膚軟部組織感染症の報告が増加していることから^{7)~9)}, 抗酸菌培養時には本菌も念頭に置き, 30°C での血液寒天培地やチョコレート寒天培地による培養を追加することが推奨される。一方で, 発育不良株もあるため, 特に塗抹陽性で培養に苦慮する場合には, 遺伝子検査を積極的に考慮する必要がある。

利益相反: 御手洗 聡は, 大塚製薬株式会社, 東洋紡株式会社, 富士フィルム株式会社から研究費を受けている。

文 献

- 1) Sompolinsky, D., A. Lagziel, D. Naveh, et al. 1978. *Mycobacterium haemophilum* sp. nov., a new pathogen of humans. Int J Syst Bacteriol 28: 67-75.
- 2) Pisitpayat, P, T. Sirikul, P. Hongmanee, et al. 2020. *Mycobacterium haemophilum* scleritis: two case reports and review of literature. BMC Ophthalmol 20: 378.
- 3) Saubolle, M.A., T.E. Kiehn, M.H. White, et al. 1996. *Mycobacterium haemophilum*: Microbiology and expanding clinical and geographic spectra of disease in humans. Clin Microbiol Rev 9: 435-447.
- 4) Lindeboom, J.A., L.E. Bruijnesteijn van Coppenraet, D. van Soolingen, et al. 2011. Clinical manifestations, diagnosis, and treatment of *Mycobacterium haemophilum* infections. Clin Microbiol Rev 24: 701-717.
- 5) Feuerriegel, S., T.A. Kohl, C. Utpatel, et al. 2021. Rapid genomic first- and second-line drug resistance prediction

- from clinical *Mycobacterium tuberculosis* specimens using Deeplex-MycTB. Eur Respir J 57: 2001796.
- 6) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2023. Performance Standards for Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardia spp., and Other Aerobic Actinomycetes, 2nd ed. CLSI supplement M24S, Wayne PA.
 - 7) Wentworth, A.B., L.A. Drage, N.L. Wengenack, et al. 2013. Increased incidence of cutaneous nontuberculous mycobacterial infection, 1980 to 2009: a population-based study. Mayo Clin Proc 88: 38-45.
 - 8) 山口さやか. 2022. 【まずはここから！皮膚科における抗菌薬の正しい使い方】感染症 皮膚非結核性抗酸菌症. Derma 325: 34-40.
 - 9) Fujishima, C., J. Tahara, S. Munemoto, et al. 2022. Cutaneous nontuberculous mycobacterial infections in Japan: Review of the Japanese literature. J Dermatol 49: 1075-1084.
 - 10) Kitaura, S., K. Okamoto, Y. Wakabayashi, et al. 2022. A Cold-Blooded Tiptoe: Nonresolving cellulitis in an immunocompromised patient. Open Forum Infect Dis 11; 9 (4): ofac 074.
 - 11) Nishikawa, R., Y. Yamada, H. Kanki, et al. 2018. Case of *Mycobacterium haemophilum* misdiagnosed as *Mycobacterium intracellulare* due to one base insertion in the bacterial genome. J Dermatol 45: 64-66.
 - 12) Takehara, Y., Y. Imanaka, Y. Eda, et al. 2024. Successful treatment of cellulitis-like *Mycobacterium haemophilum* infection using oral medication and surgery. J Dermatol 51: e386-e387.
 - 13) Joseph, F.O. 2022. Nontuberculous mycobacteria in the environment. Tuberculosis 137: 102267.
 - 14) Smith, S., G.D. Taylor, E.A. Fanning. 2003. Chronic cutaneous *Mycobacterium haemophilum* infection acquired from coral injury. Clin Infect Dis 37: e100-e101.
 - 15) Pryor, M., S. Springthorpe, S. Riffard, et al. 2004. Investigation of opportunistic pathogens in municipal drinking water under different supply and treatment regimes. Water Sci Technol 50: 83-90.
 - 16) Whipps, C.M., S.T. Dougan, M.L. Kent. 2007. *Mycobacterium haemophilum* infections of zebrafish (*Danio rerio*) in research facilities. FEMS Microbiol Lett 270: 21-26.
 - 17) Pai, H.H., W.C. Chen, C.F. Peng. 2003. Isolation of nontuberculous mycobacteria from hospital cockroaches (*Periplaneta americana*). J Hosp Infect 53: 224-228.
 - 18) Shah, M.K., A. Sebti, T.E. Kiehn, et al. 2001. *Mycobacterium haemophilum* in immunocompromised patients. Clin Infect Dis 33: 330-337.
 - 19) Bernard, E.M., F.F. Edwards, T.E. Kiehn, et al. 1993. Activities of antimicrobial agents against clinical isolates of *Mycobacterium haemophilum*. Antimicrob Agents Chemother 37: 2323-2326.

Cutaneous *Mycobacterium haemophilum* infection diagnosed via direct molecular identification from skin tissue: A case report

Michiko Furugaito^{1) 2)}, Akio Aono³⁾, Akiko Takaki³⁾, Satoshi Mitarai³⁾, Nanako Hirota⁴⁾, Yuto Yamamura⁴⁾, Toshihiko Shiga⁵⁾, Hayato Kaida⁶⁾, Toshinori Kamisako^{1) 7)}, Koichiro Yoshida²⁾

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Kindai University Hospital

²⁾Division of Infection Control and Prevention, Department of Medical Safety Management, Kindai University Hospital

³⁾Department of Mycobacterium Reference and Research, the Research Institute of Tuberculosis, Japan-Anti-Tuberculosis Association

⁴⁾Department of Dermatology, Kindai University Faculty of Medicine

⁵⁾Department of Hematology and Rheumatology, Kindai University Faculty of Medicine

⁶⁾Department of Radiology, Kindai University Faculty of Medicine

⁷⁾Department of Clinical Laboratory Medicine, Kindai University Faculty of Medicine

In recent years, skin and soft tissue infections caused by nontuberculous *Mycobacterium haemophilum* have increased. In this case, a 28-year-old female patient with Takayasu's arteritis, receiving immunosuppressive drugs, including biologic agents, and prednisolone, developed a severe cutaneous *M. haemophilum* infection. Two skin specimens were submitted for acid-fast bacterial culture; the first yielded negative results, whereas the second was analyzed genetically using the Deeplex Myc-TB assay (GenoScreen), a targeted next-generation sequencing method, which identified *M. haemophilum* in a dorsal nodule on the right hand. Several colonies were isolated in culture and identified as *M. haemophilum*. The initial regimen—clarithromycin (CAM), rifampicin (RFP), and ethambutol—based on treatment for *Mycobacterium avium* complex, was modified to CAM, RFP, and sitafloxacin, which was effective against *M. haemophilum*. The symptoms of the patients subsequently improved. Antimicrobial susceptibility testing revealed low minimum inhibitory concentration values for the administered drugs. The incidence of skin and soft tissue infections caused by *M. haemophilum* is increasing. Culturing *M. haemophilum* at 30°C on sheep blood or chocolate agar, in addition to MGIT, is essential, especially when culturing skin and other tissues with *M. haemophilum*. However, because some strains grow poorly, genetic testing should be actively considered, especially when culture is challenging to obtain despite a positive smear for the organism.