

当院で経験した *Nocardia vinacea* の 1 例

市立室蘭総合病院 臨床検査科
林 右 今 信一郎
市立室蘭総合病院 形成外科
石 崎 力 久

要 旨

稀な *Nocardia* 属細菌である *Nocardia vinacea* 感染症の 1 例を経験した。症例は 82 歳男性。前立腺癌にてデカドロン内服中。右母指の膿瘍から培養検査で *Nocardia* 属が疑われ、三上らの薬剤感受性試験法による菌種同定を行い *Nocardia asteroides* と同定した。 β -lactamase が陰性のため、後日、千葉大学真菌医学研究センターへ菌種同定を依頼した結果、*Nocardia vinacea* と同定された。*Nocardia* 属細菌の同定は主に形態学的性状・生理生化学的性状試験に基づき行われてきたため、*Nocardia asteroides* は種の定義が曖昧であるという問題を抱えていた。近年、遺伝子解析により *N. asteroides*-like 株とされた中から新種が多く提唱されている。今後、一般検査室で行える、より簡便な同定法の開発が望まれる。

キーワード

Nocardia vinacea、薬剤感受性試験、免疫抑制、日和見感染

緒 言

Nocardia 属細菌は自然環境、特に土壤中に広く存在する好気性の放線菌である。主に免疫抑制療法や化学療法時など免疫抑制状態の宿主に対し呼吸器・中枢神経・皮膚などに日和見感染を起こす重要な原因菌である。日常の培養検査で使用される培地に発育するが、その増殖は遅く、見逃されている症例も多数存在するものと考えられる。喀痰などの常在細菌の混入が見られる材料では、*Nocardia* 属細菌の分離はさらに困難となる。*Nocardia* 属細菌が培養されてきても一般検査室での菌種の正確な同定は困難であり、菌株を研究施設に送付し同定を依頼している状況である。今回我々は、化学療法中に母指の膿瘍から、国内でも数例の分離例しかない *Nocardia vinacea* を検出したので、細菌学的検査を中心に報告する。

症 例

患者：82 歳、男性

既往歴：前立腺癌、多発骨転移、肺転移、糖尿病、陈旧性心筋梗塞。

主訴：左右母指の疼痛。

現病歴：前立腺癌に対し副腎由来の男性ホルモン抑制を目的にデカドロン 2 mg/日の内服中。平成 21 年 4 月 29 日転倒し、左右母指に皮膚剥脱創受傷し、当院形成外

科を受診。プロスタンディン軟膏にて保存的治療し、6 月 4 日受診時に上皮化するも、6 月 18 日に右母指に膿瘍を認めたため切開排膿し、培養検査で *Nocardia* 属が疑われた。

臨床経過：培養依頼時血液検査データ (表 1) で、白血球数 $5,890/\mu\text{l}$ と炎症所見は認めなかったが、6 月 25 日創周囲にやや発赤と疼痛を認めたため ST 合剤 4 錠/日の内服を開始した。7 月 2 日診察時には発赤消失し、ST 合剤の内服を中止した。

細菌学的検討

1. 検査方法

グラム染色はバーミー法 (武藤化学)、抗酸性染色は Ziehl-Neelsen 法 (キシダ化学) で本例では 0.5% 硫酸水で脱色した。培養条件は、5% ヒツジ血液寒天培地 (日水製薬)、チョコレート寒天培地 (BD) は 35°C、7% 炭酸ガス下に 2 日間培養し、BTB 寒天培地 (極東製薬工業)、マンニト食塩培地 (極東製薬工業) は 35°C、通気下に 2 日間培養後、室温培養を 1 週間程度継続した。薬剤感受性試験は、日本化学療法学会標準法¹⁾ に準じたドライプレート '栄研' (栄研化学) の DP33 と DP34 を用いた。培地はミュラーヒントンブイヨン '栄研' (栄研化学) を添加したものを使用し、35°C、3 日間通気下にて培養し判定した。三上ら^{2),3)} の薬剤感受性試験法による *Nocardia* 属細菌の同定は、ミュラーヒントン II 寒天培地

表1 Laboratory data

Blood chemistry			Peripheral blood		
TP	5.5	g/dℓ	WBC	5.89	$\times 10^3/\mu\ell$
ALB	2.9	g/dℓ	RBC	4.38	$\times 10^6/\mu\ell$
AST	21	IU/ℓ	Hb	13.4	g/dℓ
ALT	26	IU/ℓ	Ht	41.7	%
LDH	336	IU/ℓ	MCV	95.2	fl
ALP	229	IU/ℓ	MCH	30.7	pg
γ -GTP	50	IU/ℓ	MCHC	32.2	g/dℓ
BUN	25.5	mg/dℓ	Plt	182	$\times 10^3/\mu\ell$
CRE	0.83	mg/dℓ			
Na	142	mEq/ℓ			
K	3.6	mEq/ℓ			
Cl	110	mEq/ℓ			
PSA	23.2	ng/ml			

(BD 粉末自家製)と5%ヒツジ血液寒天培地を35℃、3日間通気下にて培養し阻止円より判定した。IPM、TOB、KMはセンチディスク(BD)を使用し、制癌剤の5-FU(5-fluorouracil)は薬局提供の溶液を滅菌蒸留水で60 $\mu\text{g}/20\mu\ell$ に調整し、この20 $\mu\ell$ を滅菌ろ紙片に滴下し使用した。

2. 結果

膿瘍のグラム染色では好中球の集塊にグラム陽性の分枝した形態を認めた(図1a)。培養2日目より、5%ヒツジ血液寒天培地、チョコレート寒天培地に土臭のある白色粉状の微小コロニーを認め、1・2週間後には白色粗で乾燥したコロニーを形成した(図1b)。0.5%硫酸水

にて脱色したZiehl-Neelsen染色にて抗酸性を示し(図1c)、*Nocardia*属が疑われた。分離菌は、セフィナーゼ(BBL)による β -lactamaseは陰性であった。三上らの薬剤感受性試験法による*Nocardia*属細菌の同定を試み、阻止円よりIPM 55 mm、TOB 45 mmで感性、5-FU < 6 mm、KM < 6 mmで耐性と判定し、*Nocardia asteroides*と推測同定(図1d)した。薬剤感受性試験(表2)は、*Nocardia*感染症に対して第一選択剤として使用されることが多いST合剤に対しては感受性であった。 β -lactamaseが陰性を示したことから、後日、菌種同定を千葉大学真菌医学研究センターへ依頼し、生理生化学的性状試験から、hypoxanthine分解、adonitol、arabinose、galactose、glucose、inositol、sorbitol、mannitolから

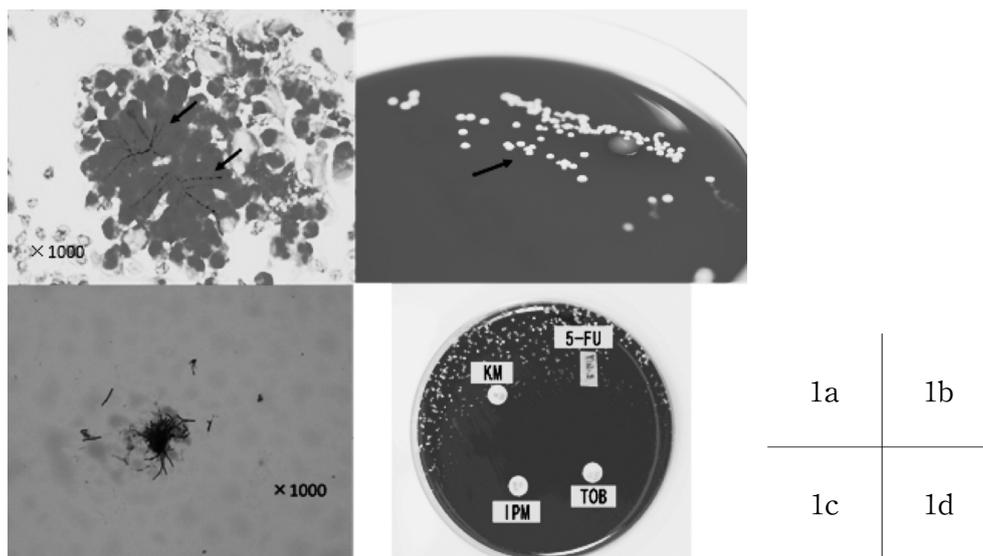


図1 染色と培養

- 1 a : 右母指の膿瘍のGram染色 好中球の集塊中に分枝したグラム陽性桿菌を認める。
- 1 b : 5%ヒツジ血液寒天培地(培養2週間) 白色粗の乾燥したコロニーの形成を認める。
- 1 c : Ziehl-Neelsen染色 0.5%硫酸水で脱色。弱抗酸性の分枝した桿菌を認める。
- 1 d : 薬剤感受性試験法による同定

表2 Antimicrobial susceptibility test of *Nocardia vinacea*

	MIC 値 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	センシディスク法 (mm)
benzylpenicillin (PCG)	> 4	< 6
ampicillin (ABPC)	> 4	< 6
amoxicillin/clavulanic acid (AMPC/CVA)	8	
ampicillin/sulbactam (ABPC/ST)	8	
cefazolin (CEZ)	> 2	
cefotiam (CTM)	2	
cefmetazole (CMZ)	\leq 1	
flomoxef (FMOX)	\leq 1	60
cefotaxime (CTX)	\leq 0.5	
ceftizoxime (CZX)	\leq 2	
ceftazidime (CAZ)	> 32	
cefepime (CFPM)	1	55
imipenem/cilastatin (IPM/CS)	0.5	55
meropenem (MEPM)	0.5	
clarithromycin (CAM)	8	
erythromycin (EM)	> 2	< 6
clindamycin (CLDM)	> 4	< 6
minocycline (MINO)	1	36
sulfamethoxazole/trimethoprim (ST)	1	47
levofloxacin (LVFX)	4	21
sparfloxacin (SPFX)	1	
gentamicin (GM)	4	36
tobramycin (TOB)		45
kanamycin (KM)		< 6
chloramphenicol (CP)	16	
5-fluorouracil (5-FU)		< 6

酸産生が観察され、クエン酸の利用能の観察されたことから、*Nocardia vinacea* と同定された (表3)。また、 β -lactamase の反応は遅いが陽性との結果であった。

考 察

Nocardia 属細菌の同定は細胞壁成分の分析など一般の検査室では実施は不可能である。また、糖からの酸産生試験や有機物の分解も3~4週間を要するため迅速性の点で臨床細菌検査として採用できない。三上らの開発した薬剤感受性による *Nocardia* 属細菌の同定法は簡便であり、我々はこの方法によりステロイド療法中に皮下結節の膿瘍から *N. farcinica* を同定した経験がある^{4),5)}。今回、薬剤感受性による同定法により *N. asteroides* と同定したが、精査の結果 *N. vinacea* と同定された稀な症例を経験した。従来、*Nocardia* 属細菌の種の同定には主に形態的性状・生化学的性状に基づき行われてきたため、*N. asteroides* は種の定義が曖昧であるという問題を抱えていた^{6),7)}。2005年、矢沢ら⁸⁾、景山ら⁹⁾は1992年~2001年の間に千葉大学真菌医学センターに菌株同定の依頼株として送られてきた日本の医療機関で分離された臨床由来 *Nocardia* 属菌株303株のうち、*N.*

asteroids-like 株とされた中から *N. vinacea* の本邦最初の報告をしている。その後、2007年に高橋ら¹⁰⁾が、2011年に岩澤ら¹¹⁾が多発筋炎患者からの分離を報告しているのみである。*Nocardia* 症の原因菌は *N. asteroides* が殆どであるが、実際には *N. asteroides* と思われていた菌株のなかには多くの新種が存在していることが明らかになっている。近年、*Nocardia* 属細菌の分類は、2000年までに確立された種が10種であったが¹²⁾、遺伝子解析により2006年11月現在、60種以上に上っている¹³⁾。遺伝子解析は *Nocardia* 属細菌の同定には迅速な方法であるが、一般検査室で行える状況にはなく、より簡便な同定法の開発が望まれる。

Nocardia 症は、一般にはステロイド剤等の免疫抑制剤の使用により免疫能の減弱したヒトへ感染する例が多い。景山ら⁹⁾は、*Nocardia* 感染の303症例について調査し、61歳から80歳代での症例が多いとしている。本例は、82歳と高齢で、前立腺癌の加療のためデカドロンを内服中であり、糖尿病を有するなど易感染の状態であった。

従来、*Nocardia* 症に対して第一選択薬としてST合剤が多く使用されてきた。本例も1週間ST合剤が使用さ

表3 Phenotypic property of *N. vinacea*

Decomposition of		Sensitivity to	
adenine	-	IPM	+++
casein	-	TOB	+++
hypoxanthine	+	5-FU	-
tyrosine	-	KM	-
urea	+	PC-G	-
xanthine	-	CPFX	++
		GM	+++
Acid from		Production of	
adonitol	+	β -lactamase	+
arabinose	+		
erythritol	-	Utilization of	
galactos	+	ctrate	+
glucose	+	adipic acid	-
inositol	+	gluconate	-
maltose	-		
mannose	-	Mycolic acid	+
rhamnose	-		
sorbitol	+	Growth at 45°C	-
mannitol	+		

れ発赤の消失を認めた。*Nocardia* 症に対する抗菌療法は、通常3～6カ月、ときには1年以上にわたって実施されることもある。本剤の副作用発現の問題や菌種による抗菌薬の感受性に差があることから¹⁴⁾ 薬剤感受性試験は重要であり、今後菌種ごとのMIC分布についても集積が必要である。

結 語

今回我々は、稀な *N. vinacea* 感染症の一例を経験した。*Nocardia* 属細菌は免疫抑制剤や化学療法の易感染状態における日和見感染症の原因菌として今後注意していくことが重要である。

謝辞：菌株を精査していただいた千葉大学真菌医学研究センターの三上襄先生、矢沢勝清先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 日本化学療法学会 MIC 測定法改訂委員会：微量液体希釈法による MIC 測定（微量液体希釈法）—日本化学療法学会標準法—Chemotherapy 38: 102-105, 1990.
- 2) Mikami Y, Yazawa K: Susceptibility patterns of pathogenic *Nocardia* to some selected antimicrobial agents and their usefulness in the identification work in a clinical laboratory. Bull JFCC 5: 89-95, 1989.
- 3) 矢沢勝清, 三上 襄：ノカルジアの検査法. 検と技 29: 111-119, 2001.
- 4) 鎌田麻子, 本多佐保, 中島一貴, 松田啓子, 林

右：多発性皮下膿瘍を形成した続発性皮膚ノカルジア症の1例. 日皮会誌 114: 616, 2004.

- 5) 林 右, 松田啓子：当院で経験した *Nocardia farcinica* の1例. 北臨技会誌 3: 22-25, 2005.
- 6) Brown-Elliott B A, Brown J M, Conville P S, Wallace R J: Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy. Clin Microbiol Rev 19: 259-282, 2006.
- 7) 景山亜紀子, 三上 襄：臨床由来病原性 *Nocardia* 属菌の分類と系統解析. 日医真菌会誌 48: 73-78, 2007.
- 8) 矢沢勝清, 景山亜紀子, 西村和子, 三上 襄：*Nocardia vinacea* の本邦における初めての報告例と本菌に近縁な新種について. 日医真菌会誌 45: (Suppl. 1) 77, 2004.
- 9) Kageyama A, Yazawa K, Nishimura K, Mikami Y: *Nocardia anaemiae* sp. nov. isolated from an immunocompromised patient and the first isolation report of *Nocardia vinacea* from humans. 日医真菌会誌 46: 21-26, 2005.
- 10) 高橋真理, 外川八英, 鎌田憲明, 小林孝志, 鈴木淳宙, 渡邊正治, 三上 襄：多発筋炎患者にみられた *Nocardia vinacea* による皮膚リンパ管型ノカルジア症の1例. 日皮会誌 117: 702, 2007.
- 11) Iwasawa MT, Togawa Y, Kamada N, Kambe N, Matsue H, Yazawa K, Yaguthi T, Mikami Y: Lymphocutaneous type of nocardiosis caused by *Nocardia vinacea* in a patient with polymyositis. Mycopathologia 25 Jan 2011. [Epub ahead of

print]

12) Yassin A F, Rainey F A, Mendrock U, Brzezinka H, Schaal K P: *Nocardia abscessus* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 50: 1487-1493, 2000.

13) 三上 襄：ノカルジア症，放線菌症．日医真菌会誌 48: 186-188, 2007.

14) 渋谷理恵，館田一博，木村総一郎，石井良和，村上日奈子，島津玲子，榎谷総子，岩田守弘，松本哲也，木村一博，内田 耕，中田紘一郎，久保勢津子，三上 襄，山口恵三：ノカルジア属細菌の分子生物学的同定法と抗菌薬感受性に関する検討．日臨微生物誌 16: 81-88, 2006.