

糸状菌の発育温度試験が有用であった2症例

◎兵頭 絢女¹⁾、村上 忍¹⁾、宮本 仁志¹⁾、伊豫田 都¹⁾、伊藤 優衣¹⁾、井上 英紀²⁾、高須賀 康宣¹⁾
愛媛大学医学部附属病院 検査部¹⁾、愛媛大学医学部附属病院 眼科²⁾

【はじめに】角膜真菌症は、様々な要因で発症する難治性の疾患である。主な誘因は、糸状菌では植物外傷、酵母菌では角膜移植術後のステロイド点眼の使用や糖尿病罹患などの宿主の免疫不全である。起炎菌として、*Candida* 属、*Fusarium* 属、*Aspergillus* 属、*Alternaria* 属等が重要であり、特に糸状菌による角膜真菌症では様々な病型を呈し、ときに重症化するため、角膜内での病巣の深達度は治療の上で重要である。今回我々は、当院の糸状菌による角膜真菌症2症例で、起炎菌の発育温度試験と角膜炎の病型の関連を検討したので報告する。

【症例1】50代男性、左眼異物感、視力低下のため、近医受診。左角膜に斑状の淡い細胞浸潤と上皮欠損が多発し、感染性角膜炎を疑われた。抗菌薬と抗真菌薬の頻回点眼で加療も角膜浸潤病巣悪化傾向であり、精査加療目的に当院紹介され、角膜擦過物のグラム染色より糸状菌を確認し、抗真菌薬の頻回点眼で加療したが、感染病巣は角膜深層に到達、角膜穿孔を併発し、治療的角膜移植術を要した。検出された糸状菌は *Fusarium solani* と同定され、28℃、

35℃、そして37℃の培養でいずれも発育が認められた。

【症例2】60代女性、左眼の植物外傷のため、近医を受診。左眼の感染性角膜炎を指摘され、精査加療目的に当院紹介となった。角膜中央部表層に限局する細胞浸潤を認め、病巣の角膜擦過物より糸状菌が確認された。抗真菌薬の頻回点眼と角膜病巣の擦過により、病巣は角膜深層に進行なく治癒した。検出された糸状菌は *Colletotrichum gloeosporioides* と同定され、28℃、35℃では発育したが、37℃では認められなかった。

【考察】角膜真菌症の病型は、病巣の角膜内の深達度により全層型と表層型に分類され、今回の検討では、37℃で発育可能な *F. solani* が全層型であり、発育しない *C. gloeosporioides* が表層型の病型を呈した。全層型は抗真菌薬の局所全身投与では治療困難で治療的角膜移植術を要することもある。表層型は抗真菌薬の頻回点眼と角膜擦過での治療が有効である。そのため、真菌の発育温度試験は角膜真菌症の予後と治療法の選択の指標になりうる。

愛媛大学医学部附属病院 細菌検査室 089-960-5621

Mycobacterium abscessus complex の亜種同定と当院での分離状況

◎広重 和哉¹⁾、敷地 恭子¹⁾、宮原 悠太¹⁾、嶋本 早希¹⁾、堤 庸晃¹⁾、窪田 直人¹⁾、丸田 陽裕¹⁾、西岡 光昭¹⁾
山口大学医学部附属病院¹⁾

【はじめに】*Mycobacterium abscessus complex* (MABC) は非結核性抗酸菌 (NTM) の 1 種であり, *M. abscessus*, *M. massiliense*, *M. bolletii* の 3 亜種に分類される。今回我々は MABC の亜種同定法を確立し, 当院における分離状況を調査したので報告する。

【対象と方法】2002 年 8 月～2021 年 7 月までに当院で分離され, DDH マイコバクテリア ‘極東’ または質量分析にて *M. abscessus* と同定された 14 株について, *hsp65*, *rpoB*, 16S-23S ITS 領域のシーケンス解析を行い, BLAST を用いて亜種を同定した。また, マクロライド誘導耐性に関わる *erm(41)* の欠失の有無を PCR 法にて確認した。

【結果】シーケンス解析の結果, *M. abscessus* 5 株 (平均相同率 99.52%), *M. massiliense* 9 株 (平均相同率 99.38%) *M. bolletii* 0 株と同定した。*M. abscessus* と同定された 5 株は *erm(41)* 全長 (約 670bp) を保持しており, *M. massiliense* と同定された 9 株は全て約 270bp の欠失を認めた。また, 過去に 5 日間培養での薬剤感受性を実施していた株のうち, *M. massiliense* と同定された株は全てクラリスロマイシンの

MIC が 0.12 μ g/mL 以下であったのに対し, *M. abscessus* と同定された株は全て MIC 0.5 μ g/mL 以上と軽度の MIC 上昇を認め, うち 1 株は >16 μ g/mL と高度耐性を示した。

【考察】MABC 感染症の治療には亜種の同定が重要であり, そのための検査法を確立できた。2022 年の報告によると, *M. abscessus* は約 51%, *M. massiliense* は約 48%とされているが, 当院では *M. massiliense* が 64.3%と多く分離されていたことがわかった。また, 亜種同定の結果と *erm(41)* 遺伝子の欠失の有無および薬剤感受性結果は一致しており, *erm(41)* 遺伝子の欠失を見ることで簡易的にマクロライド耐性の有無を予測できることが示唆された。今回分離された *M. abscessus* は CLSI による判定では S となったため, 今後は過去分離された株の薬剤感受性を 14 日間培養で実施し, 亜種同定と薬剤感受性結果に矛盾がないかを報告する。
<連絡先>山口大学医学部附属病院検査部 広重 和哉
0836-22-2592

カネカ迅速発育抗酸菌同定キットの有用性と薬剤感受性についての検討

◎村上 忍¹⁾、宮本 仁志¹⁾、伊豫田 都¹⁾、兵頭 絢女¹⁾、伊藤 優衣¹⁾、高須賀 康宣¹⁾
愛媛大学医学部附属病院 検査部¹⁾

【はじめに】迅速発育性抗酸菌 (Rapid Growing *Mycobacterium*: RGM) による感染症の起炎菌は *Mycobacteroides abscessus* complex (MABC)、*Mycobacteroides fortuitum*、*Mycobacteroides chelonae* が80%以上を占める。治療にはクラリスロマイシン (CAM) が用いられるが、MABCの亜種により薬剤感受性結果や耐性遺伝子の保有状況が異なるが、亜種の鑑別は困難である。今回我々は、マルチプレックスPCR法と核酸クロマト法に基づき、菌懸濁液からの迅速発育抗酸菌の同定と耐性遺伝子を同時に検出可能なカネカ核酸クロマト迅速発育抗酸菌同定キット (カネカキット) および KANEKA DNA Chromatography MABC/*erm*(41) (K-DNA-Kit) の有用性について検討したので報告する。

【対象および方法】2017年4月から2023年3月の間に、当院細菌検査室に提出された臨床材料から検出され、質量分析装置 MALDI Biotyper にて RGM と同定された10株を対象とした。方法は、カネカキットおよび K-DNA-Kit を用い添付文書に従って操作した。薬剤感受性試験は、ブロスミ

ック RGM (極東製薬) にて14日間培養を行った。

【結果】質量分析装置で *M. abscessus* と同定された4株はカネカキットにて *M. abscessus/bolletii*、*M. massiliense* と同定された4株は *M. massiliense*、*M. chelonae* と同定された2株は *M. chelonae* と判定された。また K-DNA-Kit では、*M. abscessus/bolletii* と判定された4株すべて *M. abscessus* と判定され *erm*(41) を保有していたが、3株は感受性試験の結果 CAM 耐性、T28C 変異を認めた1株は CAM 感性であった。*M. massiliense*、*M. chelonae* と判定された株は *erm*(41) を保有しておらず、CAM に感性を示した。

【考察】カネカキットおよび K-DNA-Kit の有用性を検討した結果、RGM はすべて同定結果と一致しており、迅速性に優れていた。*erm*(41) 遺伝子保有結果と CAM の薬剤感受性試験の結果は一致していたが、T28C 変異を認める *M. abscessus* や *M. massiliense* でもマクロライド系薬が高度耐性株の報告があるため、薬剤感受性試験との併用が必要であると考えられた。

愛媛県で分離されたレジオネラ属菌株の分子疫学解析

©浅野 由紀子¹⁾、矢儀田 優佳¹⁾、青木 紀子²⁾
愛媛県立衛生環境研究所¹⁾、宇和島保健所²⁾

【はじめに】レジオネラ症は、*Legionella pneumophila* 等のレジオネラ属菌による呼吸器感染症で、県内の患者報告数は年々増加しているが、事例の多くは感染源が不明である。そこで、当所保存菌株の Sequence Based Typing (以下、SBT 解析) を実施し、感染源、感染経路の推定を行った。

【材料と方法】愛媛県内の患者報告数は 2006～2022 年に感染症発生動向調査事業で報告のあった 184 例を解析に用いた。菌株は、当所保存の *L. pneumophila* 株のうち、環境由来 61 株及び臨床由来 2 株の計 63 株を対象とし、ハウスキープング遺伝子 7 領域 (*flaA*, *pilE*, *asd*, *mip*, *momps*, *proA*, *nueA*) の SBT 解析を実施し、病原微生物遺伝子情報系統解析システム (BioNumerics) を用いて解析を行った。

【結果】愛媛県のレジオネラ患者報告数は、2006～2013 年は毎年 5 例程度で推移していたが、2014 年以降は 15 例程度に増加し、2022 年は過去最高の 21 例となった。報告のあった 184 例のうち感染源が確定していたのは 2 例

(1.1%) で、ほとんどの事例は感染源不明であった。当所保存 *L. pneumophila* 63 株の SBT 解析の結果、ST (Sequence

Type) が決定したのは入浴施設由来 42 株、冷却塔由来 1 株、臨床由来 2 株の計 45 株であり、17 種類の ST が検出された。検出された ST の内訳は、ST1 の 14 株 (31.1%) が全て血清群 (Sero Group : 以下、SG) 1、ST1994 の 5 株 (11.1%) が SG6、ST153 の 3 株 (6.7%) が SG6 で ST と SG の間に関連性が認められた。SBT 解析で 7 領域のアリルが確定した 47 株について、Maekawa らの参照株 544 株を加えて Minimum Spanning Tree 解析を行った結果、県内の入浴施設由来 44 株は 27 株 (61.4%) が入浴施設グループに、2 株 (4.5%) が土壌グループに、冷却塔由来 1 株は冷却塔グループに属し、臨床由来株は入浴施設グループと土壌等グループに分類された。

【結語】SBT 解析によるデータベースを蓄積することで、レジオネラ患者発生時の感染経路の推定に基づく感染予防対策を講じることが可能となり、レジオネラ症発生リスクの低減に寄与する可能性が示唆された。