

感染症四方山話(5):菌血症・敗血症-その1

Various Topics concerning Infectious Disease (5) bacteremia and sepsis - part 1 -

順天堂大学医学部 感染制御科学/細菌学/総合診療科学 准教授 菊池 賢

KEN KIKUCHI, MD, PhD.(Associate Professor)

Department of Infection Control Science, Department of Bacteriology, Department of General Medicine,
Faculty of Medicine, Juntendo University

従来、敗血症(sepsis)の概念は、septicemia、即ち、感染徴候を伴う菌血症(bacteremia: 菌が血液から証明されること)を指すことが多かった。しかし、血液培養の陽性率は概ね10-20%であり、septicemiaを疑っても菌血症が証明できないケースは多く、今日では、1992年にBoneらが提唱したsepsisの定義:「疑いも含んで感染症により引き起こされる全身炎症反応 systemic inflammatory response syndrome: SIRS」が広く受け入れられている¹⁾。菌血症による感染病態を「血流感染: blood stream infection」とする呼称もカテーテル関連血流感染: catheter-related blood stream infectionのように定着した。血液培養から検出された起炎菌に対してはもちろん、SIRSの原因特定は必須であり、血液培養の存在意義がゆらいでいる訳ではない。

近年は有り難いことに、感染症を目指す若い臨床医が増え、血液培養の実施件数が欧米並みになっている病院も見られるようになってきた。血液培養採取時の汚染の可能性を排除するための2セット施行も感染症医のいる臨床現場では大分、定着してきた。血液培養の手法自体に大きな変化はないが、MALDI-TOF MSやFISH, PCRなどの同定手法により、血液培養で陽性になった検体から、迅速に菌種の同定を行うばかりでなく、*mecA*, *vanA*, *vanB*などの特定の薬剤耐性遺伝子を検出する試みも実施されるようになってきている。まだまだ、血液培養に寄せる期待は大きい。

以前の四方山話にも書いたように、私が感染症に関わる最初のきっかけが「血液培養」だったこともあり、血液培養には様々な思い出、思い入れがある。

今回、及び次回は、私が今まで経験した菌血症、敗血症の中から、考えさせられた症例について取り上げてみたい。

症例1 59歳の男性

直腸がん及びその肝転移で低位前方切除術、肝区域切除術を受け、外来で抗がん剤を投与されていた。最初の手術から2年後に手術吻合部での直腸がんの再発、肺転移が発見され、吻合部の局所再発部位の切除術を施行された。再手術の3ヶ月後に40℃の発熱が出現し、20日以上39℃を越える発熱が続いていた。白血球16200/mm³, CRP 7.9 mg/dlと炎症所見も認められる。cefmetazoleを投与すると解熱するが、すぐに40℃の発熱を繰り返す。血液培養を採取したところ、グラム陽性桿菌が検出された。しかもこの菌はvancomycinを初め、多くの抗菌薬に耐性を示していた。ここで、検査室から相談があった。「グラム染色でとても染まりにくい、変な陽性桿菌が培養ボトルから生えています。迅速感受性試験ではほとんど効く抗菌薬がなく、vancomycinにも耐性です。何でしょうか?」。血液培養ボトルのグラム染色像を図1に示す。確かに桿菌といえばそうなのかも知れないが、グラム染色性自体がはっきりしない。通常、血液培養から検出されるグラム陽性桿菌で思い浮かべるのは*Bacillus*か*Corynebacterium*である。*Bacillus*なら汚染菌の可能性もある。末期がん患者に併発した菌血症とすると*Listeria*もある。しかしどうも眞面目に見ても*Listeria*はあり得ない。確かに*Listeria*は短い桿菌で、たまにグラム陽性球菌と間違われることがあるが、グラム染色で染まりにくいことはない。多くの抗菌薬に耐性を示すというのも変だ。3日程すると、血液寒天上に図2のようなコロニーが生えてきた。確かに*Corynebacterium*には発育が若干遅いものもある。*Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium jeikeium*のように多剤耐性の菌はカテーテル関連血流感染からはよく分離される。しかし、こ

れらでさえ、vancomycin 耐性はほとんど知られていない。vancomycin 耐性 *Corynebacterium* なら大変なことだ。Etest で MIC を確認してみた(図3)。確かに vancomycin, teicoplanin いずれにも全く阻止円が形成されない。いったい何だろう。

ちょっと待て。ここで私の脳裏にあることが閃いた。「これって、迅速発育の非結核性抗酸菌では?」 それまでに、私は迅速発育の非結核性抗酸菌を見たことはなかったが、たまたま抄読会で *Mycobacterium fortuitum* の病院感染の論文を紹介していて、検査室の技師さんに「検査室で見ることがありますか?」と何気無しに聞いたことがあったのだ。「喀痰などで、たまに他の菌があまり出てこない場合に(他の発育旺盛な菌が生えてしまうと、培地がこれらで覆い尽くされて、確認できないのだ)、3日培養すると、血液寒天の隅に見られることがあります」と言われたことを思い出したのだ。すぐさま、検査室に「血液培養のボトルと、コロニーを抗酸染色してみてください!」と指示してみた。

結果は図4の通り。血液培養は既に数日経過しており、形態がはっきりしないものの、抗酸性を示すピンクの桿菌が観察できた。コロニーの染色像は一目瞭然で、はっきりと長めの桿菌であることが確認できる。遺伝子同定すると、*Mycobacterium abscessus*、まさに迅速発育群の非結核性抗酸菌だったのだ²⁾。患者は感受性のあった imipenem, clarithromycin, amikacin で治療を行い、感染は軽快した。迅速発育性非結核性抗酸菌はβ-ラクタマーゼを産生することが多い。治療には cephamicin 系の cefoxitin が以前から使用されており、cefmetazole で一時的に解熱したことも本症例の臨床経過が *M. abscessus* による敗血症であることを裏付けている。「グラム染色で染まりにくい」、これは以後も経験する様々な感染症で考えさせられる症例のキーワードとなった。血液培養は陰性であったが、次のような症例もあった。

症例2 22歳の女性

潰瘍性大腸炎で手術後20日以上、39℃を越える発熱が続いていた。白血球 9170/mm³, CRP 8.7 mg/dl と炎症所見も認められる。何回か採取した血液培養は全て陰性であった。cefmetazole, imipenem, vancomycin を使用したが、発熱は治まらない。そのうち、腹膜刺激症状が出現して腹膜炎と診断され、開腹、腹部洗浄、ドレナージを施

行した。手術部位の壊死ではなく、付属器炎(卵巣、卵管などの炎症)が疑われ、主治医からも診断・治療の相談を受けていた。腹部ドレナージで採取した膿から3日目に図5に示すような微細なコロニーが確認できた。ところが、コロニーをグラム染色すると、菌体が確認できないのである。図6のようにもやもやしたグラム陰性の不定形の物が見えるのみ。この時点で、検査室から連絡があった。「コロニーがある訳だから、16S rRNA 遺伝子のPCRをかけてしまえ」、いささか乱暴だが、ここが遺伝子同定の良い所である。細菌由来のDNAさえあれば、ほとんどの細菌に共通するプライマーを用いて、16S rRNA 遺伝子配列を読むことができ、菌種の同定は簡単に行える。16S rRNA 遺伝子配列は保存性が良く、細菌の中では最もデータベースが豊富であり、その進化速度は大概の菌種の同定に適しているため、汎用されている。「基準株との相同性が97%未満であれば、その菌種ではない」、ということは確立している。しかし、97%以上の相同性があった場合、その菌種と同定できるかと言えば、そうではない。例えば、肺炎球菌と *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis* は別菌種であるが、16S rRNA 遺伝子配列は99%以上一致する。また、一つの菌に複数個のコピーを持っていることが多く、それぞれの配列が微妙に異なることがあるなど、菌種同定の gold standard ではないことには注意しておく必要がある。話が横道に逸れた。閑話休題、検査としては落とし穴もあり、完璧ではないが、相手を絞込む手段としてはこんな便利なものはない。

さっそくやってみたら、意外な結果が出た。*Mycoplasma hominis* であった。ちなみに *Mycoplasma* は人工培地に発育できる最小ゲノムの細菌であり、*M. hominis* のゲノムサイズは0.66Mbとかなり小さいが、16S rRNA 遺伝子は2コピー存在している。*Mycoplasma pneumoniae* や *Mycoplasma genitalium* のようにシングルコピーではないことが、3日程度(*M. pneumoniae* なら2週間程度かかる)で肉眼観察可能なコロニーを形成することを可能にしているのかも知れない。早速、*Mycoplasma* 用の PPLO 寒天培地に生やしてみた。3日目には図7のような典型的な「目玉焼き状」コロニーが観察できた。ちなみに、*M. hominis* は *Mycoplasma* では例外的にマイコプラズマ肺炎の第一選択薬である macrolide 系抗菌薬に自然耐性を示す。このため、患者は ciprofloxacin で治療したところ、著効し、無事退院となった。*M. hominis* は主に女性生殖器に常在菌として分布す

るが、上行性に骨盤臓器感染を引き起こすことがあり、いわゆるpelvic inflammatory diseases (PID) の原因の一つとしても知られている。本症例の経験以後、年間1例程度の同様の相談を受けているが、なぜか出るのは*M. hominis*ばかりである。性行為感染 (STD)による男性尿道炎の起因为として、近年注目を浴びる*M. genitalium*の方は女性からは遺伝子診断でもお目にかかったことがない。男女で*Mycoplasma*の棲み分けをしているようで、大変、興味深い。

症例3 63歳男性

胃がんによる胃全摘術施行10日後に、突然の38.3℃の発熱が出現した。経口摂取が難しく、中心静脈カテーテルを挿入され、高カロリー輸液を投与されていた。白血球10040/mm³, CRP 17.4 mg/dlと炎症所見が認められた。他に有意の感染巣が見当たらず、カテーテル関連血流感染を疑い、カテーテルを抜去したところ、速やかに解熱し、炎症所見も消失し、無事退院となった。この時、残念ながら血液培養は採取されていなかったが、カテーテル先端が培養検査に提出されていた。先端の塗抹標本を作製し、顕微鏡で観察すると図8のような酵母様真菌が観察できた。だが、1週間経っても何も寒天培地にはコロニーを認めない。ようやく3週間後、カテーテル先端を入れたBrain Heart Infusion半流動培地に変化が観察された。カテーテル先端周囲に混濁が見られ、最初に観察されたような酵母様真菌が再び姿を現したのである。カテーテルを最初どころがした真菌の選択培地、サブロー寒天にもこの時になって、非常に微細なコロニーを認めるようになっていた。一般的に真菌の発育は遅い。例えば*Histoplasma*などは初代分離に3週間以上を要するが、臨床現場で、しかもカテーテル関連血流感染で検出されるような酵母はほとんどが1週間以内に生えてくる。この発育の悪さはいったい何だろう。この時、実はさる酵母を少し解析していた。対象としていた彼らは油好きで、通常の真菌培地には増殖しない。表面にオリーブオイルをかけるか(料理みたいだ)、脂質を加えた特殊な培地、例えばmodified Dixon培地などには大きなコロニーを形成する。読者の方に微生物検査技師の方がいらしたら、もう答えはわかったことだろう。そう、*Malassezia*である。手元にmodified Dixon培地があったので、これに塗ってみると、図9のようにいきなり、大きなコロニーが出現した。*Malassezia*の菌種同定は、

Tween 要求性試験などで大まかな区分はできる。今ではCHROMagar *Malassezia*(関東化学)といくつかの簡便な手法を組み合わせることで、比較的簡便にヒトから分離される菌種同定が行なえるようになったが、当時はやはり、遺伝子同定以外の手法はなかった。ITS1領域のPCR-direct sequenceを行うと、菌種は*Malassezia sympodialis*となった。図10のようにTween 要求試験の結果もこれを裏付けている。本症例は*M. sympodialis*によるカテーテル関連血流感染としては本邦初報告例だった³⁾。さて、*Malassezia*は脂質要求性酵母としてよく知られており、ヒトでは癬癩、脂漏性皮膚炎、毛囊炎、フケ症などの原因として知られ、アトピー性皮膚炎との関連性も注目されている。近年、脂肪製剤を用いた中心静脈栄養療法中に*Malassezia*カテーテル関連血流感染をきたす報告が増えており、新たなカテーテル関連血流感染症の起因为として今ではよく報告されている。ここで疑問が生じた。*Malassezia*の中で脂質がなくても増殖可能なのは主に動物から分離される*M. pachydermatis*のみである。増殖が遅いにしても、本来、脂質要求性の*M. sympodialis*がなぜ、サブロー寒天に生えたのだろうか。本菌はサブロー寒天による継代も可能であった。原因を突き止めることもせず、記憶のゴミ箱に入っていたのだが、最近、興味深い論文を読む機会を得た。脂質代謝に変化が起きて、同様の現象を起こした*Malassezia*が報告されていたのである⁴⁾。10年を経過して、あの時の疑問が蘇り、一つの解答が得られたことに、思いを新たにした。

おわりに

感染症医に限ったことではないが、臨床医は誰でも、「心に残る一例」を抱えている。それが、診療・教育・研究などへのmotivationとなっていると思う。日常に忙殺されながらも、心の片隅にひっかかっていたことが症例3のように10年してから明らかになることもある。「自分でつきつめていれば」と思うこともしばしば。これも一種の「縁」である。誰にも無限の時間がある訳ではない。臨床にせよ研究にせよ、実働時間はごく限られているのだ。今は過去に積み残した、こうした「宿題」のうち、「何をどこまで」追求するか、課せられた取捨選択が年々、細くなって行くのを感じながら、その一方で、常に前を向きたいと、自分にハッパをかける今日この頃である。

参考文献

- 1) Bone, R. C.; Balk, R. A.; Cerra, F. B.; Dellinger, R. P.; Fein, A. M.; Knaus, W. A.; Schein, R. M.; Sibbald, W. J. *Chest*. 1992,101 (6),1644-1655.
- 2) 坂本靖, 的場由佳子, 菊池賢, 戸塚恭一, 羽鳥隆, 高崎健. *日本臨床微生物学雑誌*. 2000,10, 97-103.
- 3) 菊池賢, 藤代佳子, 戸塚恭一, 瀬下明良, 亀岡信吾, 横村浩一, 山口英世. *日本医真菌学会雑誌*. 2001,42 (4), 220-222.
- 4) Cafarchia, C.; Latrofa, M. S.; Figueredo, L. A.; da Silva Machado, M. L.; Ferreiro, L.; Guillot, J.; Boekhout, T.; Otranto, D. *Med. Mycol.* 2011,49 (4), 365-374.

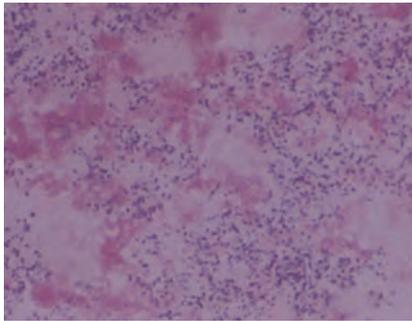


図1 血液培養ボトル陽性検体のグラム染色像

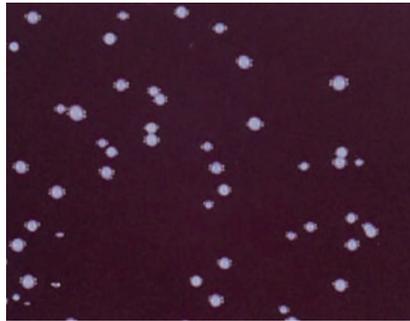


図2 血液寒天上に形成されたコロニー(3日間培養)

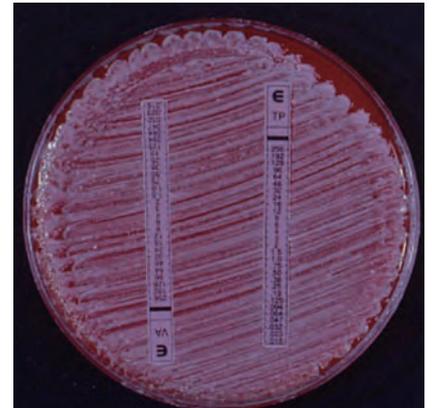


図3 Etestによる vancomycin, teicoplanin MIC 測定結果

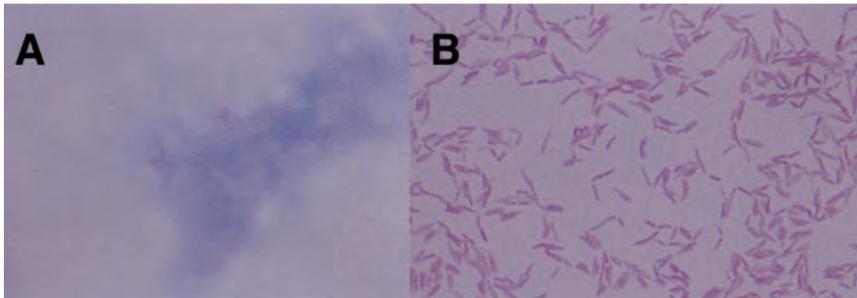


図4 血液培養ボトル検体(A)と血液寒天上コロニー(B)の抗酸染色(Ziehl-Neelsen法)

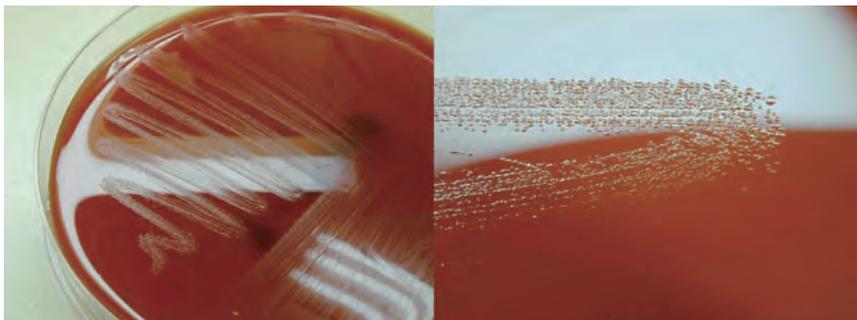


図5 血液寒天培地上のコロニー

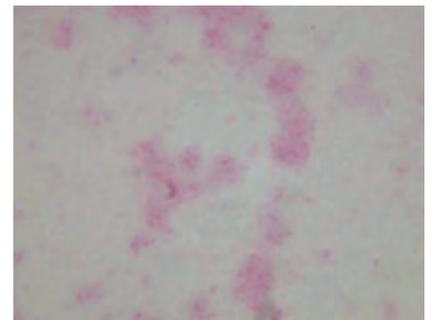


図6 血液寒天培地上のコロニーのグラム染色像

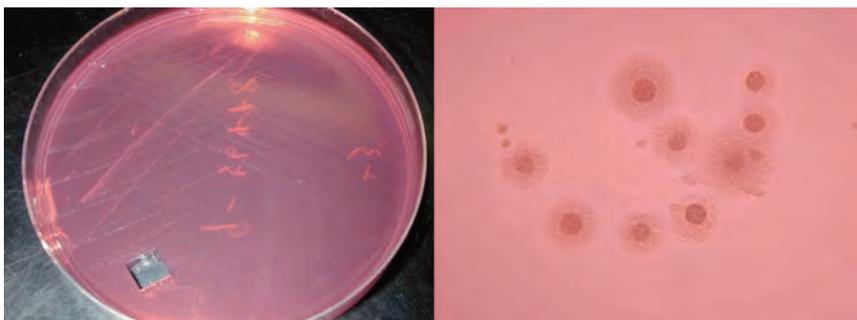


図7 PPLO 培地上のコロニー(3日間培養)



図9 Modified Dixon培地上のコロニー

図8 カテーテル先端で観察された酵母様真菌(無染色像)

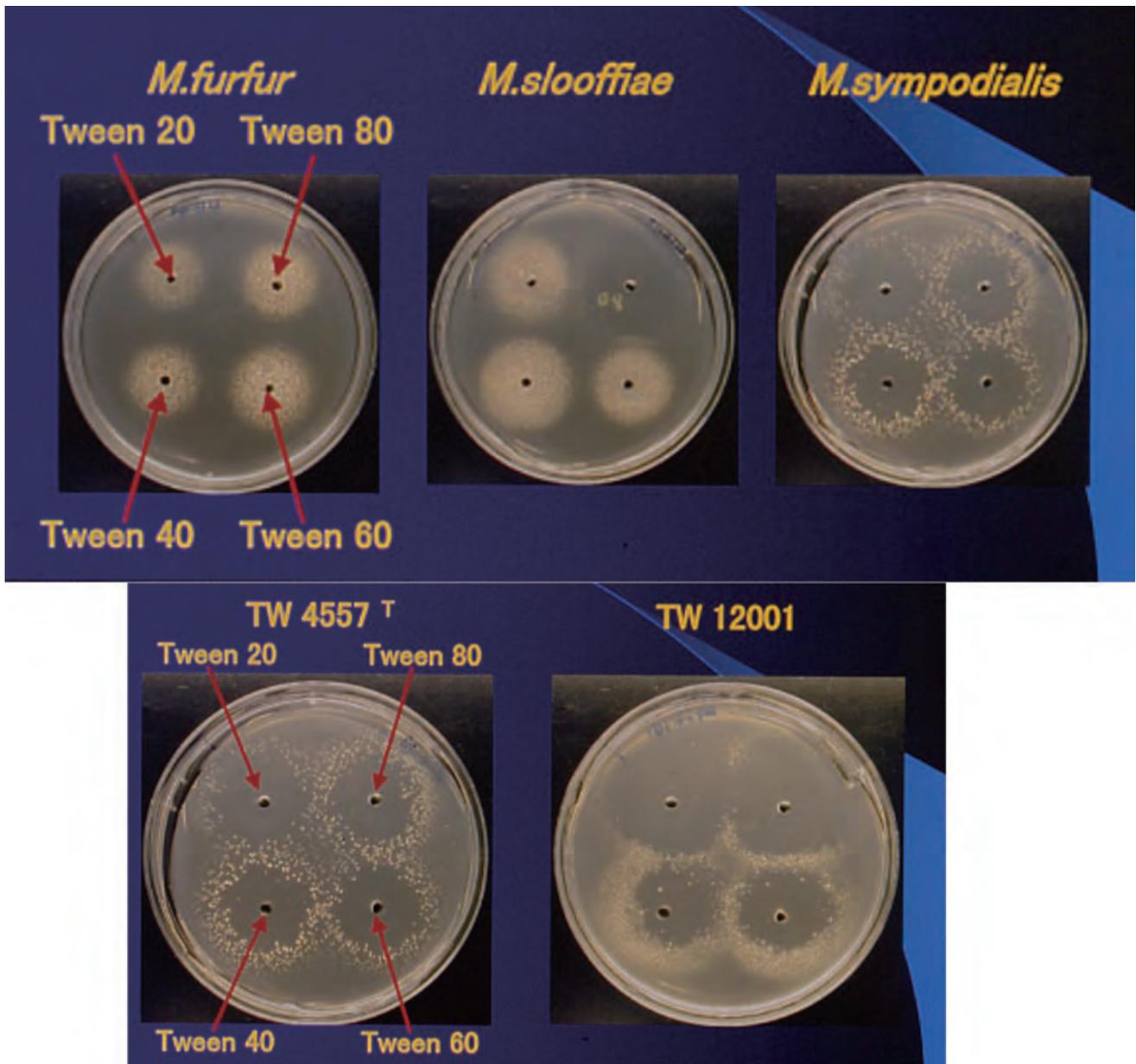


図10 Tween要求性試験