

岐阜県臨床検査技師会誌

vol. 42 2号

ISSN1348-2203

通巻146号

vol.
42
2号

当院にて経験した <i>Blastocystis hominis</i> の3例	一柳 好江 ほか	1
SMBG 4機種・POCT 1機種と比較検討	一柳 好江 ほか	5
マイクロ TP-テストワコーとマイクロ TP-テストワコー(2)における尿・髄液蛋白の検討	一柳 好江 ほか	10
血液培養好気ボトルでのみ検出した <i>Clostridium perfringens</i> 菌血症の1例	塩澤 愛奈 ほか	13
当院の過去17年間における血液培養検査の動向と臨床疫学的な検討； 「2セットキャンペーン」の効果と分離菌の変遷	八島 繁子 ほか	16
<i>Cardiobacterium hominis</i> による感染性心内膜炎の1例	後藤 孝司 ほか	22
B群溶連菌 (GBS) による敗血症を反復した乳児例； GBSの垂直感染治癒後に母乳が感染源となった再発例	浅野 麻衣 ほか	26
“ <i>Mycobacterium ulcerans</i> subsp. <i>shinshuense</i> ”による 難治性の壊死性皮膚潰瘍の3症例	浅野 裕子 ほか	30
当院における新生児 (未熟児を含む) 脳波検査の現状	石郷 景子 ほか	37

通
巻
146
号

当院にて経験した *Blastocystis hominis* の3例

一柳 好江¹⁾ 宇野 納子¹⁾ 竹原 佳代¹⁾ 榊間 利政¹⁾ 山田 鉄也¹⁾
吉川 尚男²⁾

Key words

Blastocystis hominis 培養液 遺伝子解析 下痢症 難治性

I. 序文

ブラストシスチス・ホミニス (*Blastocystis hominis* 以下 *B. hominis*) は単細胞性の微生物であり、嫌気性にもかかわらずミトコンドリアを有しているなどの特異な生物学的特徴が明らかになってきた。国内でも潜在的な感染者の存在が示唆され、下痢、腹痛、嘔吐、体重減少などの症状を引き起こす場合もある。今回我々は、糞便中に *B. hominis* を認め、3症例を経験したので報告する。

II. 症例

【症例1】

患者：40歳代，男性。

既往歴：過去2回アメーバ性大腸炎を罹患している。海外渡航歴なし。

現病歴：腹痛，軟便にて，当院消化器内科を受診，大腸内視鏡検査にて盲腸に多発性の不整形潰瘍を認め，アメーバ性大腸炎の再燃と診断された。

糞便検査：直接薄層塗抹法により赤痢アメーバ栄養型 (*Entamoeba histolytica*) (図1) とランブル鞭毛虫嚢子 (*Giardia lamblia* 嚢子) (図2) を観察した。

B. hominis 様の原虫 (図3) を認めたため，*B. hominis* 用培地にて培養したところ，液胞型虫体を多数観察した。遺伝子解析ではサブタイプ3に分類された。メトロニダゾールと塩酸ミノサイクリン投与にて一旦は3者とも消失したが，1年後の便培養にて *B. hominis* が再度検出された。

【症例2】

患者：70歳代，男性。

既往歴：タイ，ネパール旅行中に下痢症状が出現し，抗菌剤内服にて改善した。



図1 赤痢アメーバ栄養型 (無染色)

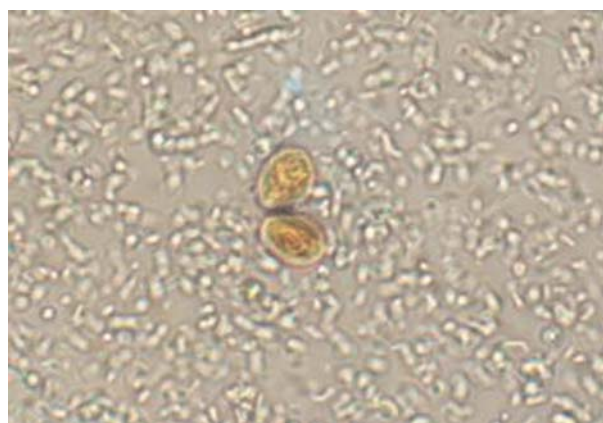


図2 ランブル鞭毛虫嚢子 (ヨード染色)

現病歴：帰国数ヶ月後より食欲低下，体重減少が出現したため，当院血液内科を受診，原因の一つとして寄生虫症が考えられた。

糞便検査：直接薄層塗抹法にてランブル鞭毛虫嚢子と *B. hominis* 様の原虫を観察した。*B. hominis* 用培地にて培養したところ液胞型虫体を多数観察し

1) 岐阜市民病院 中央検査部

2) 奈良女子大学理学部生物科学科

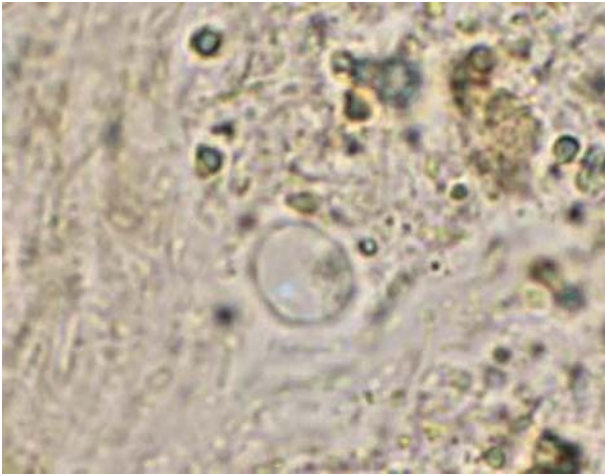


図3 ブラストシスチス・ホミニス (薄層塗抹)

た。遺伝子解析ではサブタイプ3に分類された。メトロニダゾール投与にて一旦は2者とも消失したが、1ヶ月半後の便培養にて *B. hominis* が再度検出され、以後陽性が持続した。

【症例3】

患者：60歳代，女性。

既往歴：エジプト旅行中に下痢が出現したが自然軽快した。

現病歴：帰国直後，歯石除去術を受けた後から発熱と歯肉出血が出現した。

糞便検査：直接薄層塗抹法では寄生虫は認めなかったが，軟便であった為，前症例の経験を踏まえ，*B. hominis* 用培地にて培養したところ液胞型虫体を多数観察した。遺伝子解析ではサブタイプ3に分類された。ピロリ除菌目的でアモキシシリンとクラリスロマイシンとプロトンポンプ阻害薬の三剤併用療法を行なったが，*B. hominis* 感染については経過観察となった。

Ⅲ. 考察

B. hominis は1912年に熱帯地域のヒトの糞便から見い出され，非病原性の酵母の一種として報告された。1950年代には電子顕微鏡による形態学的研究が始まり，嫌気性にもかかわらずミトコンドリアを有しているなどの特異な生物学的特徴が明らかとなり，原虫の一種であるとする報告がなされた。最近，小サブユニット rRNA (SSUrRNA) の全塩基配列が解読され，真核生物のデータと比較された結果，2本の鞭毛を有する鞭毛虫 *Proteromonas* に最も近縁であることが示され¹⁾，その後，哺乳類だけでなく鳥類・爬虫類・両生類からもヒト由来の *Blastocystis* と形態的に区別できない株が多数分離され，それらの SSUrRNA 遺伝子の配列比較から，ヒト由来株と近縁な *Blastocystis* 株が，様々な哺乳類や鳥類由来株に見られただけでなく爬虫類や両生類由

来株の一部にも見られたことから，*Blastocystis* の感染伝播は，ヒトと様々な動物間でも起こっていることが分子系統解析によっても示された²⁾。

B. hominis の形態については，光顕による観察から，液胞型 (vacuolar form)，顆粒型 (granular form)，アメーバ型 (amoeboid form) および嚢子型 (cyst form) の4種類が報告されている²⁾。糞便や培養材料では，細胞の中央にある中央液胞に無構造な物質が認められる液胞型と同様に顆粒状物質が認められる顆粒型が高頻度に観察される。アメーバ型は出現頻度が低く，嚢子型は直径3～5 μm の大きさであることから，光顕観察では検出困難である。今回の症例1は，赤痢アメーバの再燃ということもあり，光顕観察にかなりの注意を払ったため *B. hominis* 様の原虫を認めることができたが，直径3～5 μm の大きさであることから，糞便検査で一般的に行われている直接薄層塗抹法による光顕観察では検出困難である。症例2と3では，糞便の直接薄層塗抹法ではいずれも検出されず，吉川らが報告している培養液にて培養すると，培養翌日から増殖した *B. hominis* が観察され，その大きさも直径10～50 μm の丸い形状を示すことから容易に鑑別できた。1日目に液胞型 (図4) が多数観察され，3日後には大型の液胞型の虫体 (図5, 6, 7) と顆粒型の虫体 (図7) を認めた。培養虫体では直径10～50 μm の丸い形状を示し容易に鑑別できた。また，分裂像 (図8) も確認された³⁾。

生活史については十分に解明されておらず，多くの細胞は液胞型または顆粒型の二分裂によって増殖していることは認められているが，二分裂以外の増殖過程も存在すると思われる。

遺伝子解析については，*Blastocystis* の培養虫体からゲノム DNA を抽出し，遺伝子解析したところサブタイプ3の遺伝子型 (図9) と判明した。ヒトから見い出される *Blastocystis* は多様な遺伝子型を示し，一方各種動物からも *Blastocystis* が多数分離

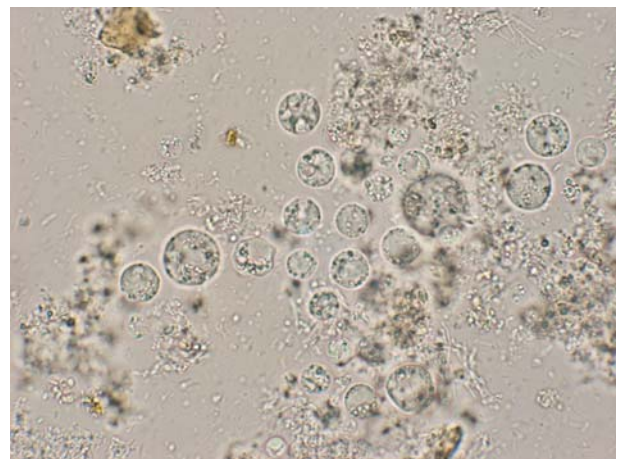


図4 ブラストシスチス・ホミニス (培養後)

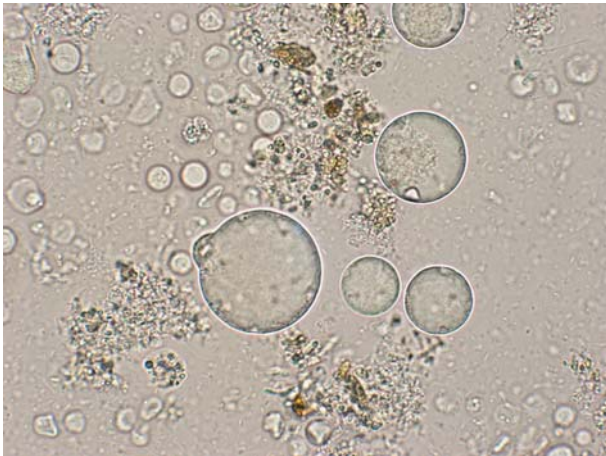


図5 ブラストシスチス・ホミニス（液胞型）



図8 ブラストシスチス・ホミニス（分裂像）

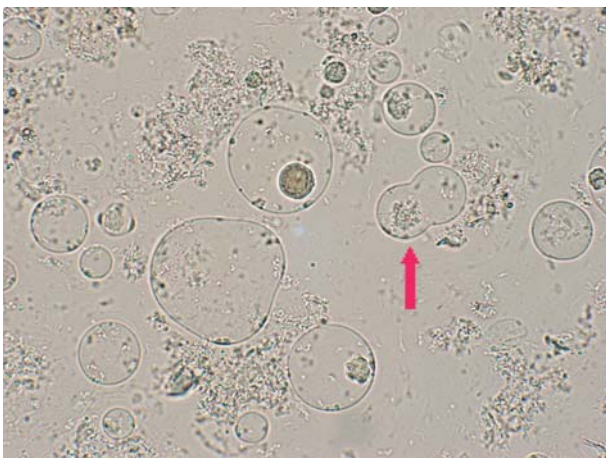


図6 ブラストシスチス・ホミニス（液胞型と分裂像↑）



図7 ブラストシスチス・ホミニス（顆粒型と分裂像）

されている。そしてこれら動物由来 *Blastocystis* の多くが、人畜共通性株であることが、近年の分子生物学的研究から明らかとなってきた^{4,5)}。今回の3症例とも患者から分離された株は、サブタイプ3に分類され、このサブタイプは、吉川らが多数のヒト由来株で調べたなかでも最も検出頻度の高い遺伝子型であるだけでなく、人畜共通性の遺伝子型でもあ

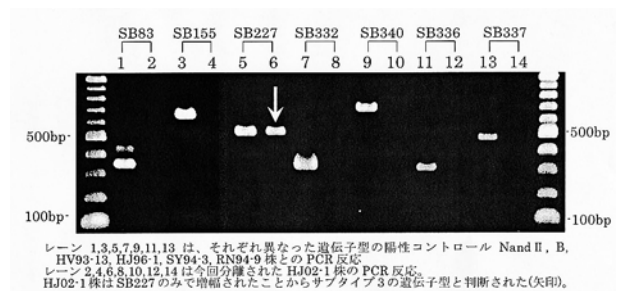


図9 ブラストシスチス感染患者から分離された HJ02-1 株の PCR 増幅による遺伝子型同定

る⁵⁾。

一方、病原性と遺伝子型との関連は、研究者によりその可能性が推定されているが、いまだに確証は得られておらず、吉川らの研究からも、図10で示される7種類のサブタイプの中で明らかに病原性と関係する遺伝子型は見つかっていない⁶⁾。

病原性についても、大量の感染により下痢、腹痛、嘔吐、体重減少などの症状を引き起こすという報告がある一方、病原性は疑わしいという報告⁷⁾もあり明確な結論はまだでない。当院においても、症例1では、患者はメトロニダゾールと塩酸ミノサイ

Subtypes	Primer set	Product size(bp)	Sequence of primers forward(F) and reverse(R)	References
1	SB83	351	F: GAAGGACTCTCTGACGATGA R: GTCCAAATGAAAGGCAGC	a
2	SB155	650	F: ATCAGCCTACAATCTCCTC R: ATCGCCACTTCTCCAAT	a
3	SB227	526	F: TAGGATTTGGTGTTTGGAGA R: TTAGAAGTGAAGGAGATGGAAG	b
4	SB332	338	F: GCATCCAGACTACTATCAACATT R: CCATTTTCAGACAACCACTTA	b
5	SB340	704	F: TGTTCTTGTGCTTCTCAGCTC R: TTCCTTCACACTCCCGTGAT	c
6	SB336	317	F: GTGGGTAGAGGAAGGAAAAACA R: AGAACCAAGTCGATGAAGTGAGAT	c
7	SB337	487	F: GTCTTTCCCTGTCTATTCTGCA R: AATCGGCTCTGCTTCTCTG	c

a: Yoshikawa *et al.* Molecular and Cellular Probes 12:153-159 (1998)
b: Yoshikawa *et al.* Journal of Clinical Microbiology 38:1324-1330 (2000)
c: Yoshikawa *et al.* Journal of Parasitology 89:585-594 (2003)

図10 *Blastocystis* の遺伝子型（サブタイプ）分類のための特異的プライマー

クリン服用にて潰瘍は治癒，治療後21日後の糞便検査では *Entamoeba histolytica*, *B.hominis*, *Giardia lamblia* 嚢子も陰性であった．1年後に，軟便のため受診した患者の薄層塗抹標本では *Entamoeba histolytica* は認められなかったが，*B.hominis* 用培養にて培養した結果，*B.hominis* が再度検出され，完治していないことが判明した．症状は重症ではないが，治療の難治性を示している．

近年，海外渡航歴のない原因不明の下痢患者から *B.hominis* が検出されている．下痢症患者の病原体検索に当たっては，細菌やウイルスの検査とともに，*B.hominis* を含む腸管寄生原虫の検査を実施することが大切である．

IV. まとめ

B. hominis については，国内でも潜在的な感染者の存在が示唆されているが，今回の症例の3例中2例は，外国旅行中に下痢を発症した症例であり，国外で感染したものと思われた．免疫力の低下した状態では，2種類以上の原虫の同時感染も認められることがあるため，*B. hominis* の存在も念頭に置き，*B. hominis* を疑う場合は専用培地での培養検査の併用も試みる必要があるものと考えられる．われわれ臨床検査技師はいつも，患者の生活背景を念頭におき，社会的背景なども考慮しながら日々の検査に取り組んでいくことが大切であると考ええる．

文 献

- 1) Silberman JD *et al.* : Human parasite finds taxonomic home. *Nature* 1996 ; 380 : 398
- 2) Yoshikawa H *et al.* : Problems in speciation in the genus *Blastocystis*. *Trends Parasitol* 2004 ; 20 : 251-255
- 3) 吉川尚男ほか：最近注目され始めた腸管寄生原虫 *Blastocystis hominis* の検査法と鑑別診断法. *臨床検査* 1997 ; 41 : 938-943
- 4) Yoshikawa H *et al.* : Genomic polymorphism among *Blastocystis hominis* strains and development of subtype-specific diagnostic primers. *Mol Cell Probes* 1998 ; 12 : 153-159
- 5) Yoshikawa H *et al.* : Genomic analysis of *Blastocystis hominis* strains isolated from two long-term health care facilities. *J Clin Microbiol* 2000 ; 4 : 1324-1330
- 6) Yoshikawa H *et al.* : Polymerase chain reaction-based genotype classification among human *Blastocystis hominis* populations isolated from different countries. *Parasitol Res* 2004 ; 92 : 22-29
- 7) 堀本紀行ほか：ブラストシスチス・ホミニス (*Blastocystis hominis*) による感染性腸炎が疑われた1例. *日消誌* 1996 ; 93 : 655-660

SMBG 4 機種・POCT 1 機種の比較検討

一柳 好江¹⁾ 法雲 智美¹⁾ 竹原 佳代¹⁾ 榊間 利政¹⁾ 川北富久美¹⁾
山田 鉄也¹⁾ 山田 浩司²⁾ 丸山 貴子²⁾

Key words

SMBG 血糖コントロール 血液量 干渉物質 ヘマトクリット

I. 序文

糖尿病患者が厳格な血糖管理を行なう事は、合併症の発症や進展予防のため重要である。血糖コントロール状態を判定するために血糖自己測定 (self-monitoring of blood glucose: SMBG) や医療従事者が行なう point-of-care-testing (POCT)¹⁾ の有用性は広く認められており²⁾、また SMBG は健保の適用によって、自宅において糖尿病患者が日常的に測定するまでに普及した。しかしながら、測定機器の多種多様化に伴い、機器の性能や操作方法は機種により異なるようになった。また、機種によっては検体量不足や干渉物質による影響、また測定環境温度の影響など、操作方法や環境要因などにより正しい血糖値を測定できない場合も報告されている³⁻⁶⁾。

今回、血液量0.3 μ lで測定可能なSMBG機器(フリースタイルフリーダムライト)が発売されたのを機に、各種血糖測定機器の基礎検討および、測定値の誤差因子に着目した比較検討を行ったので報告する。

II. 対象および方法

1. 使用機器

下記と表1に示すSMBG4機種とPOCT1機種を使用した。標準機としてグルコース測定専用機器GA08II(A&T社)を使用した。

1) SMBG 機器

- ① フリースタイルフリーダムライト (以下FS, アボットジャパン)
- ② グルテストエブリ (以下GT, 三和化学研究所)
- ③ メディセーフミニ (以下MS, テルモ)
- ④ ワンタッチウルトラビュー (以下OT, ジョンソン・エンド・ジョンソン)

表1 使用機器・試薬

機器	試薬	使用酵素	測定原理	必要血液量	測定時間
フリースタイルフリーダムライト	FS血糖測定電極ライト	GDH-FAD	電極法	0.3 μ l	約4秒
グルテストエブリ	グルテストセンサー	GOD-FAD	電極法	2.0 μ l	15秒
メディセーフミニ	メディセーフミニチップ	GOD-POD	比色法	1.2 μ l	15秒
ワンタッチウルトラビュー	LHSクイックセンサー	GOD-FAD	電極法	1.0 μ l	5秒
ケアシスト	ケアシストカートリッジ	GOD固定電極	電極法	10 μ l	約30秒

2) POCT 機器

ケアシスト(以下CS, ロシュ・ダイアグノスティックス)

3) 標準機: GA08II (A&T社)

2. 使用した干渉物質

- ① アスコルビン酸 (ビーシー注500:日医工)
- ② アセトアミノフェン (Acetaminophen:吉田製薬)
- ③ PAM: プラリドキシムヨウ化メチル (PAM注射液:住友大日本住友製薬)
- ④ ゲンチジン酸 (アスピリン代謝物) (Gentisic Acid:関東化学)

3. 使用した検体

1) 検討検体

- ① 健常人より採血したヘパリン加静脈血について、ヘマトクリット(以下Ht)%を測定したのち、30~37 $^{\circ}$ Cに一晩放置解糖し、次いでグルコースを添加した全血検体を調整した。この調整全血検体を同時再現性、血液量の影響、および、干渉物質・Ht値の影響の検討に使用した。
- ② 当日採血された患者EDTA加静脈血を用いて関連データを検討した。また、使用した検体のHt値を検索し関連データにおけるHt値の影響を確認した。

1) 岐阜市民病院 中央検査部
2) 岐阜市民病院 総合内科

4. 検討内容

1) 標準機との相関

患者検体（62検体）を、各測定機器にて全血グルコースを測定（2回測定）したのち、速やかに遠心分離を行いGA08IIにて血漿グルコースの測定を行った。また、使用検体のHt値を確認し、相関におけるHt値の影響を解析した。

2) 同時再現性

低・中・高の3濃度になるようグルコースを添加した調整全血検体を用いて、連続10回測定による変動係数（以下CV）を算出した。

3) 血液量の影響

高濃度グルコースの調整全血検体を用いて、6種類の血液量（0.50, 0.75, 1.00, 1.50, 2.00, 4.00 μl）を各機器の必要量に合わせて変動させ5回測定し、各血液量における測定値の変化を調べた。

4) Ht値の影響

低・高濃度グルコースの調整全血検体を血球沈渣と血漿に分離したのち、検体のHt値から血球沈渣と血漿を混合することにより、最終Ht値が15, 20, 25, 30, 40, 50, 55, 60, 65%となるように検診用全血サンプルを調整した。これらを各測定機器で2回測定するとともに、サンプルの血漿グルコース濃度を標準機で測定し、Ht%の変動による測定値の変化、および標準機との測定値の差異を確認した。

5) 干渉物質による影響

中濃度グルコースの調整全血検体を干渉物質無添加の基準検体とした。この基準検体に各々の干渉物質高濃度溶液を添加し、その後、添加濃度勾配検体を調製した。これらの基準検体と添加検体を各2回測定し、基準検体に対する添加検体の測定値の変動から添加物の影響を調べた。

なお、POCT機器（ケアシスト）については、入手した試薬数の関係で相関性（1回測定）、再現性、およびHt値の検討のみ実施した。

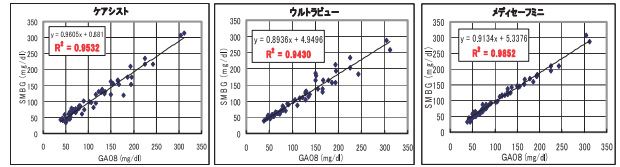
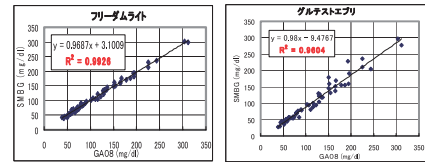


図1 標準機との相関 (n=62)

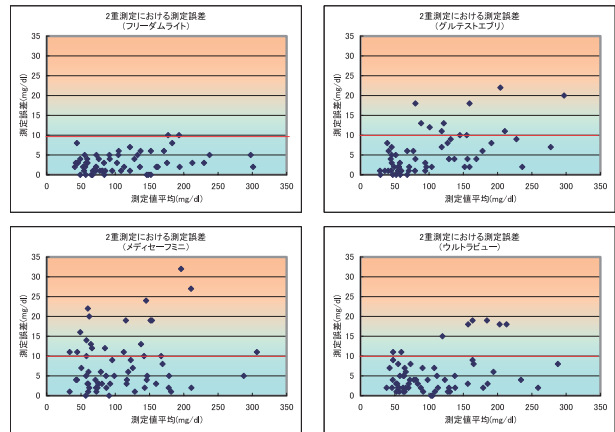


図2 2回測定でのばらつき (n=62)

表2 同時再現性 (n=10)

		フリーダム ライト	グルテスト エプリ	メディセー フミニ	ウルトラ ビュー	ケア シスト
低濃度 (57mg/dl)	Mean	61.7	51.2	61.3	63.3	64.6
	SD	0.9	1.8	3.4	2.1	2.7
	CV%	1.5	3.4	5.5	3.3	4.1
中濃度 (128mg/dl)	Mean	131.2	128.8	130.5	126.6	129.2
	SD	1.9	4.1	4.7	2.4	2.6
	CV%	1.5	3.2	3.6	1.9	2.0
高濃度 (340mg/dl)	Mean	325.1	338.5	349.0	326.9	317.5
	SD	7.5	9.0	7.1	4.4	5.9
	CV%	2.3	2.7	2.0	1.3	1.9

Ⅲ. 結果

1) 標準機との相関

図1に患者検体（n=62）による検討機種種の標準機との相関を示した。

FSの相関性は回帰式 $y = 0.969x + 3.10$ 相関係数 $r = 0.993$, GTは同様に $y = 0.980x - 9.48$, $r = 0.960$, MSは $y = 0.913x + 5.34$, $r = 0.985$, OTは $y = 0.894x + 4.95$, $r = 0.943$, CSは $y = 0.961x + 0.68$, $r = 0.953$ であった。

2) 同時再現性 (表2, 図2)

表2に低濃度（57mg/dl）、中濃度（128mg/dl）、高濃度（340mg/dl）の3種類の濃度の血液について各機種種の同時再現性を示した。

CVはFSが低濃度1.5%、中濃度1.5%、高濃度2.3%、GTが同様に3.4%、3.2%、2.7%、MSが5.5%、4.7%、2.0%、OTが3.3%、1.9%、1.3%、CSが4.1%、2.0%、1.9%であった。MSの低濃度以外についてはCV5%以内で良好な結果であった。

また、図2に相関データの検討時に行なった2重測定での誤差を示した。FSは測定値150~200mg/dlの間で測定誤差10mg/dlが2件あったが、一番誤差が少なく安定した値を示す結果であった。GTは測定値150~200mg/dlの間で測定誤差10mg/dl以上が11件あった。MSは測定値が低値から全域ではらつ

きが認められ、測定誤差10mg/dl以上は20件、そのなかでも20mg/dl以上を5件認めた。OTは測定値が中濃度領域において測定誤差10mg/dl以上は8件あった。

3) 検体量の影響 (表3)

血液量の変化により各機器の測定値にどのような影響がでるのかを検討した。各機種に必要な採血量は、FSが0.3μl、GTが2.0μl、MSが1.2μlとOTが1.0μlであるが、マイクロピペットの採取限界から0.5μlまでの評価としている。

GTについては1.00μlと1.50μl、とOTについては0.75μlと1.00μlが測定エラーとなり測定不能であった。MSについては1.2μlが測定量となっているが、0.75μlと1.00μlについても測定を開始し、測定値が十分量に対して67%、38%となる異常低値を表示した。

4) Ht値の影響 (図3, 4, 5)

標準機での測定結果を基準とした各機器の測定値の変化を図3, 4に示した。GTおよびOTは標準機に比較して、Ht15~40%の範囲において各々136%~110%、136%~111%の測定値を示し、低Ht検体で高値になる傾向が認められた。

相関性の検討における実検体のHt値の影響を確認したところ、GTとOTにおいてはHt値と測定

表3 検体量の影響① (n=5)

検体量(μl)		0.50	0.75	1.00	1.50	2.00	4.00
フリーダム ライト	Mean	328	327	332			
	SD	8.6	5.2	9.5			
	CV%	2.6	1.6	2.9			
グルテスト エブリ	Mean			エラー	エラー	340	344
	SD			-	-	5.7	7.7
	CV%			-	-	1.7	2.2
メディセーフ ミニ	Mean		136	240	354	360	
	SD		55.4	78.4	6.1	12.3	
	CV%		40.7	32.6	1.7	3.4	
ウルトラ ビュー	Mean		エラー	エラー	339	343	
	SD		-	-	9.5	26.1	
	CV%		-	-	2.8	7.6	

表4 検体量の影響② (n=5)

検体量(μl)		0.50	0.75	1.00	1.50	2.00	4.00
フリーダム ライト (0.3μl)	Mean (mg/dl)	328	327	332			
	vs十分量	101%	100%	102%			
グルテスト エブリ (2.0μl)	Mean (mg/dl)			エラー	エラー	340	344
	vs十分量			-	-	99%	100%
メディセーフ ミニ (1.2μl)	Mean (mg/dl)		136	240	354	360	
	vs十分量		38%	67%	98%	100%	
ウルトラ ビュー (1.0μl)	Mean (mg/dl)		エラー	エラー	339	343	
	vs十分量		-	-	99%	100%	

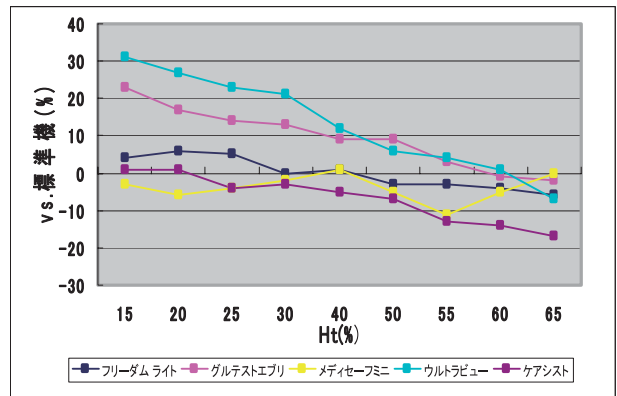


図3 Htの影響 (中濃度)

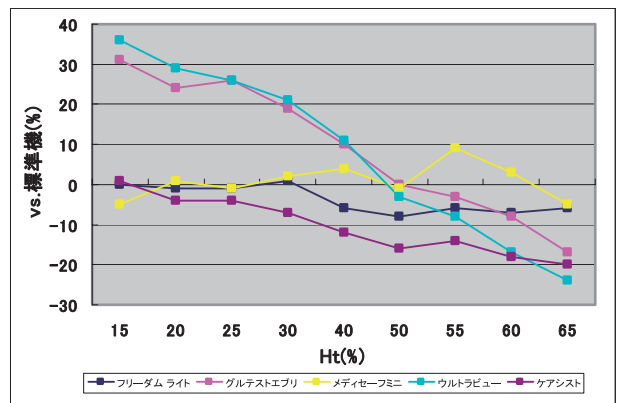


図4 Htの影響 (高濃度)

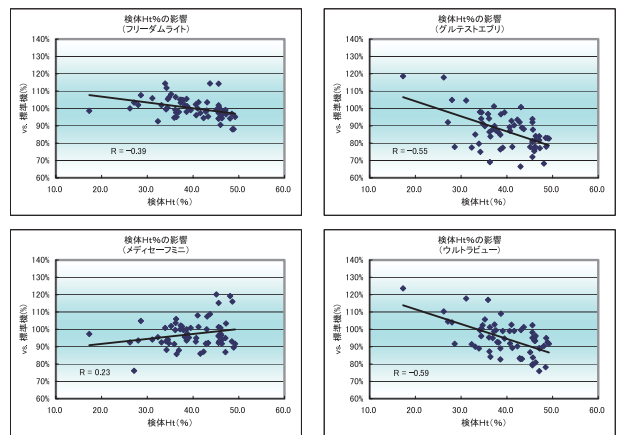


図5 Htの影響 (相関検体)

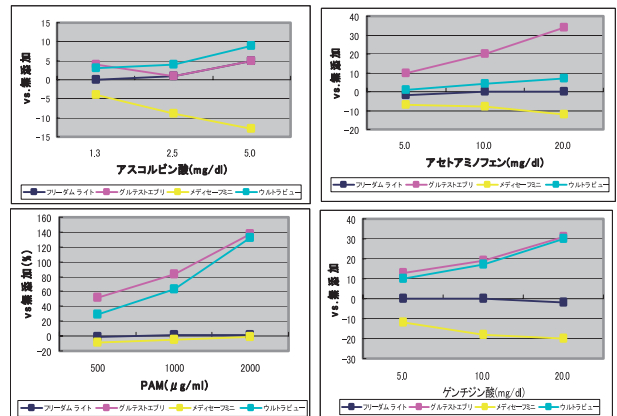


図6 干渉物質の影響

値に明らかな負の相関関係 ($r = -0.55$, および $r = -0.59$) が確認された (図5).

5) 干渉物質による影響 (図6)

アスコルビン酸の添加において、MSは濃度に比例し負の影響を認めた。

アセトアミノフェンの添加において、MSは10%ほどの負の影響を認めた。GTは濃度に比例し正の影響を認めた。

PAMの影響については、GTとOTでP濃度に比例した正の影響を認めた。FSとMSについての影響はみられなかった。

ゲンチジン酸の添加によりMSは負の影響を認めた。GTとOTは濃度に比例し正の影響を認めた。

IV. 考察

今回、SMBG機器4機種とPOCT機器1機種を用いて、基本的な評価として¹⁾、院内基準機器との相関²⁾、同時再現性を検討するとともに、測定誤差因子と考えられる³⁾検体量の影響⁴⁾、Ht値の影響⁵⁾、干渉物質の影響について確認した。

標準機との相関は、各種機器とも比較的良好な結果であり、特にFSは標準機に対して良好な相関性をもつことが確認された。

同時再現性については、MSのCV値が低濃度血糖領域で5.5%、中濃度領域で3.6%と他機種に比べやや高値であった。この原因として、GOD比色法が測定原理上長い反応時間を必要とされるのに対して、測定時間が10秒と短時間である事が起因しているのではないかと推測された。他の機種に関してはCV値が5%以内であり、簡易測定器としてはほぼ満足できる結果であると思われた。二重測定における測定誤差については、62検体の測定でFS以外では10件前後で10mg/dl以上の測定間誤差が確認された。測定誤差が大きな機種については改善を希望する。

血液検体量の影響については、血液量不足により異常低値を示すことが臨床上大きな問題となる。MSはメーカー推奨血液量1.2 μ lであるが、血液量1.0 μ l、0.75 μ lでも測定を開始し、測定値が実際値のそれぞれ67%、38%の異常低値を表示したことから指導時に注意が必要とされる。血液量が十分でないエラーになる機種 (GTやOT) ではエラーが表示された場合に再測定が必要となるが、エラーが頻繁に起こると患者の測定意欲がなくなるばかりでなく、経済的にも負担になってくる。OTのようにメーカーの表記血液量1.0 μ lでは実際に測定を開始せず、エラーとなることも確認されたことから十分な血液量で測定するよう患者に指導する事が重要である。今回は0.5 μ l以下の血液量の検討は出来なかったが、FSは0.3 μ lと微量にて測定可能であり血液

量が不足した場合、60秒以内なら追加点着が可能であるため、再測定の必要が少なくなると思われる。

Htの影響については、SMBG機器については多くの機種で影響を受ける事が知られており今回の検討においても、SMBG機器のうちGTおよびOTでは低Htにおいて測定値の高値傾向を示した。

これらの機器は拡散可能な血漿量の減少や粘性の上昇に伴う試薬層への透過性の減少などにより⁷⁾、Ht値の差異が血糖値に影響することが以前より指摘されている⁸⁾。各機器のHt値の適応範囲を確認し、測定に適した対象患者かどうかを確認する必要がある。POCT機器のCSとSMBG4機種のうちFSはHt値の影響が少ないことが確認された。CSでは試薬上で血球を分離していること、また、FSはクーロメトリー法 (電量測定法) を測定原理としているためHt値の影響を受けにくいのではと考えられた。

干渉物質の影響について、今回は4種の薬剤 (もしくはその代謝物) を用いて検討を行った。

アスコルビン酸についてMSは濃度に比例し負の影響を認め、逆に、電極法の3機種は正の影響を示した。今回検討した5mg/dlまでの影響は比較的軽微なものであったが、アスコルビン酸は通常のビタミンとしての摂取以外に火傷や癌の治療に高用量投与されることもある⁹⁻¹⁰⁾。これらの条件では血中濃度が数10mg/dl以上になる場合があるため¹¹⁾、注意が必要である。特に、腎不全の症例では、アスコルビン酸の尿への排泄が進まず、血糖偽高値を示したとの報告¹²⁾もあることから、高濃度アスコルビン酸療法の患者については、院内の精密分析装置での測定など影響を受けない機種を使用するなどの注意が必要とされる。

PAMの影響について、電極法のGTとOTは添加濃度に比例し正の影響を認めたが、比色法であるMS、および電極法のFSでは影響が見られなかった。PAMの影響についてはPAM分子中のヨードイオンが測定時の電圧によって電子的なノイズとなり、これが測定値の上昇を引き起こしているのではないかと推測されているが¹³⁾、FSについては低い電圧でも測定できる電子伝導体を採用していることが影響の回避に繋がっていると考えられる。一般的にPAMは、投与後速やかに代謝され、投与量における健常人の血中濃度は数10 μ g/ml以下であると考えられるが、投与量や患者の臨床状態によっては稀に1,000 μ g/ml程度のような高濃度になる事も危惧されるため¹³⁾、特殊なケースでは注意を要する。

アセトアミノフェンの添加によりMSは10%ほどの負の影響を認め、GTは添加濃度に比例し正の影響を認めた。アセトアミノフェンは解熱鎮痛剤として一般的に使用されるため、注意が必要である。ゲンチジン酸の添加によりMSは負の影響を認めた。

一方、GTとOTは添加濃度に比例し正の影響を認めた。

今回の検討から、SMBG機器の血糖値が種々の要因により影響され、また、機種によって影響の有無が異なる事が確認された。糖尿病患者がより良い血糖コントロールを行なうために血糖自己測定を活用することは重要であるが、各使用機器や試薬の添付文書を確認し特性を十分に理解した上で、適切な使用方法を患者に説明する事が重要である。われわれ臨床検査技師は、メーカーが開発した機器の性能をその都度検討し、院内医療スタッフに情報を提供することが望まれる。

今回検討した機種の中ではFS（フリースタイルフリーダムライト）が標準機と良好な相関を示し、干渉物質や検体Htの影響を受けにくいことが確認された。測定時間が約4秒にて測定可能であり、血液量は0.3 μ lと少量（60秒以内なら追加点着が可能）であることから、SMBG機器として有用であると思われた。

V. まとめ

糖尿病患者の増加に伴い様々な血糖自己測定機器が開発されているが、機器の特徴や性能を把握したうえで使用することが重要である。今回の検討においても、機種によっては血液量不足やHt・干渉物質の影響を受け測定値の信頼性に影響を及ぼす事が確認された。われわれ臨床検査技師は、院内医療スタッフの一員として、日常的に使用される機器の特性を充分把握した上で正確な測定値を得る為の患者指導を行なっていくことが需要である。

本研究に関して、関連企業との利益相反はありません。

本論文の要旨は、第49回中部医学検査学会にて発表した。

文 献

- 1) 中井利昭ほか：日本臨床検査自動化学会誌 POCT ガイドライン第2版，日本臨床検査自動化学会 2008；33：1-46
- 2) 佐野俊一ほか：最新の血糖測定用 POCT 機器と院内使用機器との比較検討. 糖尿病 2009；52：895-900
- 3) 佐野俊一ほか：血糖自己測定器10機種の比較検討—ヘマトクリットと溶存酸素—. 機器・試薬 2005；28：349-356
- 4) 池田義男ほか：血糖自己測定用の機材の種類と諸問題. 総合臨床 2007；56：114-122
- 5) 高橋英美ほか：血糖自己測定器の比較検討. 医学検査 2005；54：134-138
- 6) 広瀬佳子ほか：ヘマトクリット値が簡易血糖測定器に与える

影響. 機器・試薬 2009；32：423-430

- 7) Tang Z *et al.*: Effects of different hematocrit levels on glucose measurements with handheld meters for point-of-care testing. Arch Pathol Lab Med 2000；124：1135-1140
- 8) 薬師寺史厚ほか：臨床検査結果からみた貧血患者での簡易血糖測定器による血糖測定の危険性と適応範囲. 糖尿病 2008；51：837-843
- 9) Tanaka H *et al.*: Reduction of resuscitation fluid volumes in severely burned patients using ascorbic acid administration. Arch Surg 2000；135：326-331
- 10) Padayatty SJ *et al.*: Vitamin C pharmacokinetics: implications for oral and intravenous use. Ann Intern Med 2004；140：533-537
- 11) 村田晃ほか：健康成人男子にビタミンC製剤を経口投与した後のビタミンCの血漿濃度および尿中排泄. ビタミン 1989；63：133-139
- 12) 速水貴弘ほか：アスコルビン酸大量投与後に簡易血糖測定機にて血糖偽高値を示した一例. 日臨検自動化学会誌 2010；10：659
- 13) 吉川康弘ほか：簡易血糖測定装置における干渉物質・血液量不足の検討および院内使用における注意点について. 機器・試薬 2006；29：573-581

マイクロ TP-テストワコーとマイクロ TP-テストワコー(2) における尿・髄液蛋白の検討

一柳 好江¹⁾ 榎間 利政¹⁾ 竹原 佳代¹⁾ 宮前 里奈¹⁾ 山田 鉄也¹⁾

Key words

蛋白定量 尿 髄液 ピロガロールレッド・Mo 錯体法 マイクロ TP-テスト

I. 序文

現在、尿中総蛋白測定試薬は、主にピロガロールレッド・Mo 錯体法 (PR-Mo 法) を原理とする方法が主流であり、全国の検査室の86%を占めている¹⁾。しかし、PR-Mo 法は、アルブミンに対してグロブリンの反応性が低いなどの問題点があった。今回、その問題点を改良した新しい試薬・マイクロ TP-テストワコー(2) (以下 μ TP 2) が開発されたが、反応時間に加温を必要とするなど操作方法に違いがみられる。我々は、 μ TP 2 を使用し、尿や髄液の蛋白定量について比較検討したのでその結果を報告する。

II. 対象および方法

1. 対象

- 1) 当院における患者尿10例
糖尿病, ネフローゼ, 悪性リンパ腫, 肝癌, 多発性骨髄腫など
- 2) 髄液 8例
悪性リンパ腫, 細菌性髄膜炎, くも膜下出血など

2. 測定試薬

μ TP 2 (改良製品) と μ TP (現行品)

3. 方法

1) 同時再現性

μ TP 2 を使用し、標準法 (サンプル量50 μ l, 試薬量3.0ml), および別法 (サンプル量20 μ l, 試薬量1.5ml) について、サンプル濃度 (低濃度と中濃度) 2系列の検体を10回連続測定した。

2) 現行品との比較

- ① アルブミン希釈液を作成し、 μ TP 2 と μ TP 両者の検量線の比較をした。

- ② 対象とした18検体の反応性を比較した。
 - ③ 各種蛋白の反応性を評価する為、上記のうち7検体について電気泳動を行ない反応性を評価した。
- 3) 反応条件の検討
- μ TP 2 の反応温度と反応時間による影響をみるため、アルブミン主体の6検体とベンスージョーンズ蛋白 (以下 B-J 蛋白) に分け、室温にて反応時間10分, 20分, 30分と37 $^{\circ}$ Cにて反応時間10分, 20分, 30分との違いを標準法と別法についてそれぞれ検討した。

III. 結果

1. 同時再現性 (表1)

標準法低濃度サンプル量の CV 値0.63%, 中濃度サンプル量の CV 値1.58%と良好であった。別法低濃度サンプル量の CV 値4.40%, 中濃度サンプル量の CV 値3.66%であった。

2. 検量線の比較 (図1)

アルブミン希釈液を作成し、 μ TP 2 と μ TP 両者の検量線を比較すると、100mg/dl, 200mg/dl の濃

表1 同時再現性

方法	標準法		別法	
	3.0ml		1.5ml	
試薬量				
検体量	50 μ		20 μ	
	低濃度	中濃度	低濃度	中濃度
1	38	162	38	157
2	39	166	37	163
3	39	167	43	163
4	39	167	42	156
5	38	164	41	171
6	40	169	40	170
7	39	171	41	172
8	39	167	41	170
9	39	169	40	171
10	38	169	41	162
Mean	38.8	167.1	40.4	165.5
SD	0.63	2.64	1.78	6.06
cv%	1.63%	1.58%	4.40%	3.66%

1) 岐阜市民病院 中央検査部

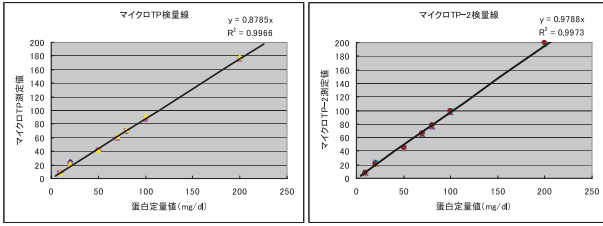


図1 検量線の比較

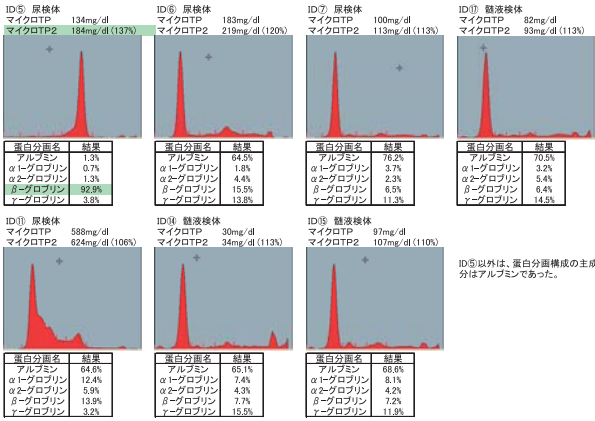


図2 電気泳動

度でμTP 2の方が反応性がより良好な結果であった。

4. 反応性の比較 (表2)

μTPを基準として、μTP 2の反応性を比較したところ、標準法では、表のように髄液ではID⑬、尿ではID②と①の検体が多少低値傾向であった。別法では同様に、髄液ではID⑬と⑯、尿ではID②と⑯の検体が多少低値傾向であったが、μTPよりμTP 2の方が概ね反応性が良好になっていた。そのうち反応性が120%以上だった検体は標準法では髄液検体のID⑩、尿検体ではID④⑤⑥、別法では髄液検体のID⑩、尿検体ID③⑤であった。

5. 電気泳動による蛋白の反応性の評価

ID⑤の多発性骨髄腫の尿検体はβ-グロブリンが82%の主成分であり、μTPに対してμTP 2では137%の測定値の増加が見られた。それ以外の検体はアルブミンが主体であった。

表2 マイクロTPとの比較

検体種	ID	マイクろTP		マイクろTP2	
		測定値(mg/dL)	基準値(mg/dL)	測定値(mg/dL)	基準値(mg/dL)
髄液	⑬	17	100%	16	94%
髄液	⑯	19	100%	19	100%
髄液	⑨	27	100%	32	119%
髄液	⑫	27	100%	30	111%
髄液	⑭	30	100%	34	113%
髄液	⑮	41	100%	50	122%
髄液	⑦	82	100%	93	113%
髄液	⑱	97	100%	107	110%
尿	②	7	100%	6	86%
尿	①	33	100%	33	100%
尿	④	61	100%	79	130%
尿	⑧	71	100%	79	111%
尿	③	76	100%	89	105%
尿	⑦	100	100%	113	113%
尿	⑤	134	100%	184	137%
尿	⑥	183	100%	219	120%
尿	①	320	100%	293	92%
尿	⑩	588	100%	624	106%
		全体平均		110%	100%
		SD		13.0%	12.0%
		p		0.002	0.030

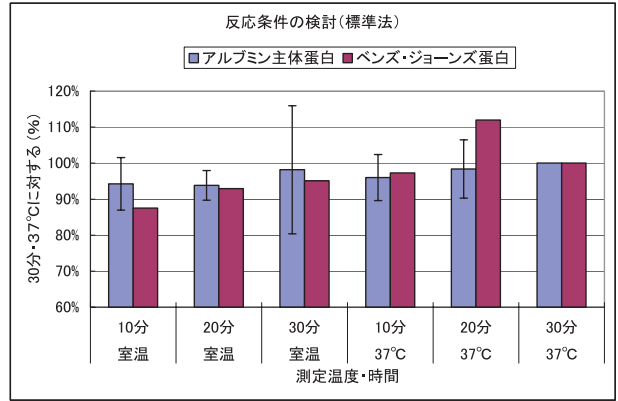


図3 反応条件の検討

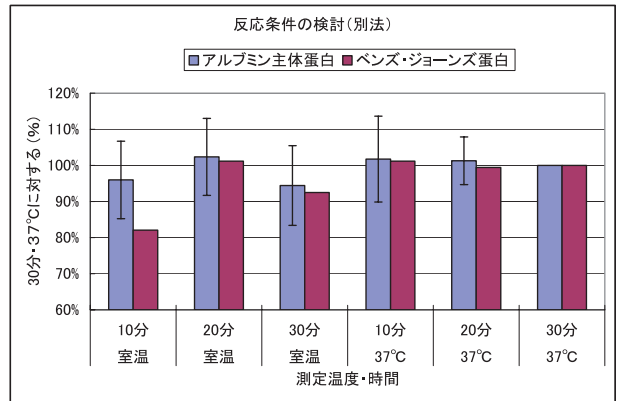


図4 反応条件の検討

5. 反応条件の検討 (図3, 4)

μTP 2の添付指示通りの37°Cの条件にて反応時間30分による測定値を基準として比較すると、標準法、別法とも37°Cにおいては、アルブミンもB-J蛋白もほとんど差がなく、10分経過すれば反応が進んでいた。室温の条件下では、標準法、別法ともB-J蛋白については、反応時間での影響が認められた。

IV. 考察

各種腎・尿路系疾患において、尿中の蛋白を定量することは、患者の病態や治療効果を把握するため重要である。同様に、髄液の蛋白測定も中枢神経系疾患の病態把握のため臨床的意義は大きい。現在、当院ではPR-Mo法を原理とするμTPにて尿中と髄液中の蛋白を測定していたが、今回、アルブミンに対してグロブリンの反応性が低いなどの問題点を改良した新しい試薬μTP 2が開発された。操作方法において、μTPとの違いは反応時間に加温を必要とすることが明記されているので、基礎的性能評価に加え、反応温度による違いも評価した。μTP 2の同時再現性は良好であり、アルブミン希釈液による検量線の比較においても、μTP 2の方が反応性がより良好な結果であった。尿や髄液の検体について

も、 μ TP に対して、 μ TP 2 の測定値は92~137% (平均110%) とより良好な結果であり、 μ TP 2 の反応性の方が向上していると思われた。今回は、各種蛋白については検体数が少なかったが、B-J 蛋白などの反応性が μ TP と比較し良好であったことから、今までの報告²⁻⁶⁾と同様に μ TP 2 は蛋白種間差の反応性が従来法に比べ向上しており、尿や髄液の蛋白定量測定試薬として有用であると思われた。 μ TP 2 の反応条件を検討した結果、標準法・別法ともに反応時間による影響は比較的軽微であったが、B-J 蛋白では反応温度・時間の影響が認められた。確実に蛋白量を測定するには、添付指示通りの37°Cの条件にて反応時間30分による測定が必要と考えられた。

外園や伊瀬らは、 μ TP 2 の各種蛋白に対する反応特異性について検討し、 γ -グロブリンおよび α 、 β -グロブリンに対する反応性が大きく向上していることを確認しているが、低分子蛋白である β_2 -ミクログロブリンに対しては、 μ TP と比べ、反応性が大きく低下していると報告している^{3, 5)}。PR-Mo 法は、本来、酸性溶液中でプラスにチャージしている蛋白のアミノ残基にPR-Mo 錯体のスルホン基が結合する事で発色するが、今回、改良された μ TP 2 の試薬組成において陰イオン界面活性剤の種類、量が増えたことにより、蛋白のアミノ残基錯体と蛋白質の結合が阻害された為、低分子蛋白において低値となったものと思われた³⁾。改良試薬組成の違いについて、その詳細は明らかではないが、Orsonneau⁷⁾によると界面活性剤である Sodium dodecyl sulfate の添加量を増やすことにより、 γ -グロブリンに対する反応性がその添加量に応じて上昇し、逆にアルブミンへの反応性が減少すると報告している。今後、各種の蛋白の反応特異性の検討も踏まえ、各種疾患患者検体を用いた更なる検討が望まれる。

V. まとめ

今回は、各種蛋白については検体数が少なかったが、 μ TP 2 の同時再現性は良好であり、B-J 蛋白などの反応性が μ TP と比較し良好であったことから、 μ TP 2 は蛋白種間差の反応性が従来法に比べ向上しており、尿や髄液の蛋白定量測定試薬として有用であると思われた。

本研究に関して、関連企業との利益相反はありません。

本論文の要旨は、第50回中部医学検査学会にて発表した。

文献

- 1) 日本臨床衛生検査技師会. 臨床化学検査サーベイ報告, 平成20年度日臨技臨床検査精度管理調査報告書. 日本臨床衛生検査技師会: 東京, 2010
- 2) 外園栄作: 尿蛋白測定法-ピロガロールレッド Mo 法の問題点と改良試薬の評価. 検査と技術 2010; 38: 662-664.
- 3) 外園栄作ほか: 「マイクロ TP-AR (2)」による尿中総蛋白測定試薬の基礎的性能評価. JJCLA 2010; 35: 920-926.
- 4) 伊瀬恵子ほか: 尿・髄液蛋白測定におけるマイクロ TP-AR (2) の評価. 医学検査 2010; 59: 518.
- 5) 伊瀬恵子ほか: 尿蛋白測定試薬マイクロ TP-AR (2) の反応性の評価. JJCLA 2012; 37: 111-116.
- 6) 石澤毅士ほか: 尿蛋白測定試薬「マイクロ TP-AR (2)」の基礎的検討. 医学検査 2011; 60: 323.
- 7) Orsonneau JL *et al.*: An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. Clin Chem 1989; 35: 2233-2236.

血液培養好気ボトルでのみ検出した *Clostridium perfringens* 菌血症の1例

塩澤 愛奈¹⁾ 武藤 敏弘¹⁾ 深川 富法¹⁾ 下條 千枝¹⁾ 法雲 智美¹⁾
山田 鉄也¹⁾ 後藤 英子²⁾ 笠原 千嗣²⁾ 高橋 健²⁾

Key words

C. perfringens 菌血症 血液培養 好気培養 急性骨髄性白血病

要 旨

患者は30歳代女性，2011年1月下旬より持続する全身倦怠感を自覚していた。2月初旬に近医を受診し，白血球数異常のため当院紹介，血液検査所見から急性骨髄性白血病（acute myeloid leukemia: AML）が疑われ，発熱，全身状態不良のため緊急入院となった。入院時に採取した血液培養好気ボトルでのみ *C. perfringens* を検出し，適切な治療実施につながった。偏性嫌気性菌である本菌が，好気ボトルで検出可能であった要因として，白血病細胞著増状態であったことが関与したと推察された。血液疾患患者の菌血症・敗血症例では，早急に適切な治療を行う必要がある。それゆえに，様々な可能性を考慮し検査を進める必要性を再認識した。

I. はじめに

C. perfringens は偏性嫌気性グラム陽性桿菌で，河川や海水，土壌など自然界に広く分布している。本菌はヒトや動物の腸管内に常在しており，感染症としては食中毒の他に，ガス壊疽，化膿性感染症，敗血症などを引き起こすことが知られている¹⁾。

今回我々は，血液培養好気ボトルでのみ *C. perfringens* を分離した菌血症例を経験したので報告する。

II. 症例

患者：30歳代，女性。

主訴：持続する全身倦怠感，発熱。

既往歴：特記すべきことなし。

現病歴：2011年1月下旬より，持続する全身倦怠感を自覚していた。2月初旬に近医を受診したところ白血球数異常を指摘され，翌日，精査目的で当院紹介受診となった。

臨床経過：初診時血液検査データ（表1）より，WBC $297.8 \times 10^3/\mu\text{l}$ ，Hb 6.9g/dl，Plt $2.3 \times 10^4/\mu\text{l}$ と著明な白血球数増加と貧血，血小板数減少を認

表1 初診時血液検査データ

LDH	1872	IU/l
TP	5.7	g/dl
Alb	3.9	g/dl
Na	144	mEq/l
K	2.1	mEq/l
Cl	107	mEq/l
CRP	1.33	mg/dl
WBC	297.8×10^3	μl
RBC	189×10^4	μl
Hb	6.9	g/dl
Plt	2.3×10^4	μl
BLAST	82.0	%
PROMYELO	1.0	%
NEUTRO	2.0	%
LYMPHO	2.0	%
MONO	13.0	%

め，血液像では Blast82%で急性骨髄性白血病（acute myeloid leukemia: AML）が強く疑われ，同日緊急入院となった。さらに，体温38.3℃で発熱を伴っており，感染症が疑われたため，血液培養1セット（肘正中静脈採血）施行後，sulfamethoxazole-

1) 岐阜市民病院中央検査部

2) 岐阜市民病院血液内科

trimethoprim (ST), cefepime (CFPM), itraconazole (ITCZ) が投与された。その後、血液培養から *C.perfringens* が分離され、薬剤感受性試験を実施し、主治医への報告を行った。

第3病日から、AMLの診断のもと idamycin, cyclocide による寛解導入療法が開始され、経過中、腫瘍崩壊症候群の合併など状態の悪化をみたが、寛解に到達した。引き続き、地固め療法3コース施行され、2011年8月に退院した。

Ⅲ. 細菌学的所見

全自動血液培養装置 BacT / ALERT 3D (シスメックス・バイオメリユ) で血液培養を行い、開始3日目に SA 好気ボトルが陽転化した。培養液の直接グラム染色を行ったところグラム陽性桿菌が観察された(図1)。グラム染色結果から、*Bacillus* 属菌などの好気性菌を推定し、ヒツジ血液寒天培地(栄研化学)、BTB 乳糖加寒天培地(日水製薬)を用いて35℃で好気培養、チョコレート寒天培地(日本ベクトンディッキンソン)を用いて35℃で炭酸ガス培養を行ったが集落の発育がみられなかった。このため、好気培養および炭酸ガス培養を継続すると同時に、嫌気性菌の可能性を考慮し ABHK/BBE 寒天培地(日水製薬)を用いて35℃で嫌気培養を追加したところ、集落の発育がみられた(図2)。発育集落を用い、ラピッド ID32A アピ(シスメックス・バイオメリユ)で同定を行ったところ、*C. perfringens* と同定された。薬剤感受性試験はオプトパネル OP1 (極東製薬)を用いて嫌気条件下で実施した(表2)。CFPM については、KB ディスク「栄研」を用い Kirby-Bauer 法で薬剤感受性試験を行い、主治医には参考値である旨を加えて報告した(阻止円直径26mm)。なお、血液培養 SN 嫌気ボトルでは培養7日後も菌の発育は認めなかった。

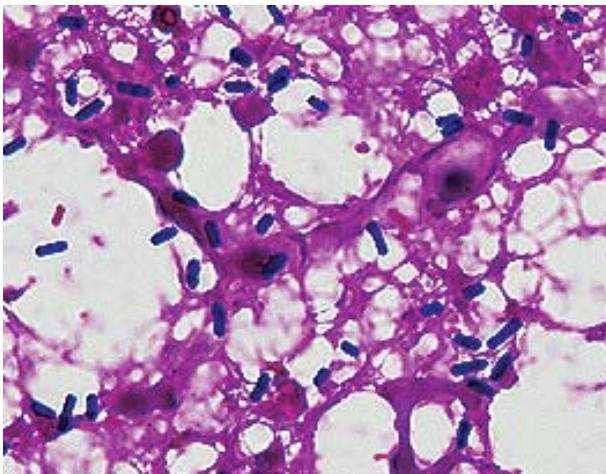


図1 血液培養好気ボトルの培養液の直接グラム染色像(対物×100)

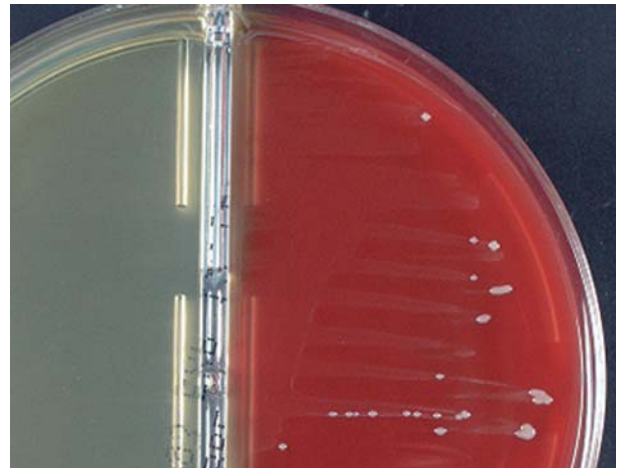


図2 発育集落 嫌気培養24時間 (ABHK/BBE 寒天培地)

表2 薬剤感受性試験結果

薬剤	MIC (μg/ml)
benzylpenicillin	>4
ampicillin	≤0.25
piperacillin	64
ampicillin/sulbactam	≤0.25
imipenem/cilastatin	0.5
meropenem	1
cefotiam	4
cefditoren pivoxil	>4
cefotaxime	≤0.5
ceftazidime	2
sulbactam/cefoperazone	4
gentamicin	>32
erythromycin	>2
clindamycin	1
minocycline	0.5
levofloxacin	≤0.5

Ⅳ. 考察

C. perfringens は特に糖尿病、血液疾患、悪性腫瘍などの基礎疾患を有する易感染性宿主において、常在する腸管からの bacterial translocation によって非外傷性に血管内に進入し菌血症・敗血症をひき起こす^{2), 5)}。本菌の産生する毒素は種類により A 型から E 型に分類され、敗血症例では、本菌の産生する毒素により血管内溶血が起こり重篤になることが知られており^{3), 4)}、早急な治療が不可欠である。

今回、我々が経験した *C. perfringens* 菌血症例では、SA 好気ボトルでのみ菌の検出が可能であった。その理由として、二つのことが挙げられる。第一に、患者は AML を発症しており、血液培養ボトルに接種された血液中に、異常に多数の白血球が含まれている状態であったことに起因すると考えられた。白血球の代謝により、血液培養好気ボトル内の

酸素が消費され二酸化炭素が放出された結果、本菌の発育に適した低酸素環境にあったと推測された。第二に、*C. perfringens* は比較的嫌気度が低い状態であっても生存可能であり、この性質も検出が可能であった一因であると考えられた。さらに、SN 嫌気ボトルで菌の検出が不可能であった要因として、血流中の菌量が少数であったこと、さらに、血液培養が1セットしか採取されなかったことが考えられた。とくに、本例のような緊急時において、血液培養の2セット採血を実施することは、検出率を上げるため重要であり、検査室サイドから臨床に働きかける必要性を感じた。

当院ではこれまで、白血球数が異常高値の状態にある血液疾患患者において、血液培養ボトルが偽陽性を示す事例がしばしば確認されているが、好気ボトルからの偏性嫌気性菌の検出は初めての経験であった。また、これまでに BacT/ALERT 3D での本菌の検出報告は少数で、かつ好気ボトルからの分離報告例はなく、まれなケースであったと考えられた。通常、好気ボトルから分離される直線状のグラム陽性桿菌では、好気培養で発育する *Bacillus* 属菌などが容易に推測されるが、他に *Lactobacillus* 属菌や、まれではあるが *Clostridium tertium* のように炭酸ガス培養で発育する菌も念頭に置くことが重要である。

今回、患者は入院時から易感染状態にあり、さらに、強力な化学療法を施行する必要がある病態であった。ゆえに、治療の安全な遂行には、適切な抗菌薬の投与が重要であった。本例では、まず CFPM による empiric therapy が開始されたが、*C. perfringens* 判明後も、臨床経過と同系統薬剤の感受性結果から CFPM の有効性が推定されたため、継続され感染症の悪化を防ぎ得た。原因菌の特定は、適切な治療の継続に大きな意義を持つことから、先入観にとらわれることなく検査を進める重要性を再認識した症例であった。

V. 結語

今回我々は、血液培養好気ボトルでのみ *C. perfringens* の検出が可能であった菌血症例を経験した。早急な分離同定および臨床への報告が適切な治療継続につながった。

なお、本症例は第51回中部医学検査学会（2012年11月3日、多治見市）にて発表した。

VI. 文献

- 1) 品川邦汎ほか：ウェルシュ菌，食中毒予防必携第2版，p. 105-112，社団法人日本食品衛生協会，東京，2007

- 2) 橋本雅一ほか：クロストリジウム属，新編臨床検査講座22微生物学臨床微生物学，p198-203，医師薬出版，東京，1987
- 3) 平石光ほか：日産婦関東連会誌 2008；45：371-375.
- 4) 福原淳子ほか：感染症学雑誌 2002；76：562-565.
- 5) 大谷聡ほか：急性胆嚢炎に合併した高度溶血を伴う *Clostridium perfringens* 敗血症の1例，日腹部救急医学会誌 24：669-672，2004

当院の過去17年間に於ける血液培養検査の動向と 臨床疫学的な検討；「2セットキャンペーン」の効果と 分離菌の変遷

八島 繁子¹⁾ 小森 康宇¹⁾ 美濃輪 縁¹⁾ 佐伯 浩和¹⁾ 関谷 怜子¹⁾
松川 洋子¹⁾

Key words

血液培養 陽性率 分離菌 耐性菌

要 旨

1996年から2012年の17年間に当院検査室に提出された血液培養29,615件について分離菌の状況と疫学的な解析を行った。年間の検体数は、1996年は814件であったが順次増加し、2012年には3,767件となった。培養陽性率の平均は11.8%であった。また、この期間中の分離菌は3,023件であり、コアグラゼ陰性ブドウ球菌657件、*Staphylococcus aureus* 385件、*Escherichia coli* 287件の順に多かった。グループ別の分離頻度では、1996年から2011年まではブドウ球菌群が首位を占めていたが、2012年には腸内細菌科が逆転した。この要因として、ICT活動の一環で2008年から推奨してきた「2セットキャンペーン」が奏功したことによって、適切なタイミングでの血液採取と検体数の増加によるものと推察された。なお、嫌気性菌群の分離頻度は2002年までは2%前後であったが、2003年からは5%前後で推移していた。また、真菌の分離頻度は1996年の23.2%から漸次減少して2006年からは7%前後であった。耐性菌の分離動向の特徴としては、2012年に血液培養から分離された*E. coli*の22.2%をESBL産生菌が占めていた。

血液培養は感染の原因を明らかにし、最適な治療が実施されるために不可欠な検査である。近年では、陽性率アップや起因菌か汚染菌かの鑑別のための複数セット採取の推奨や、採血時の皮膚常在菌混入防止のために様々な努力がされている。当院においても2008年5月下旬より、ICT活動の一環で、採血のタイミング、採血方法や2セット採取等を盛り込んだ「血液培養マニュアル」を作成し、適切なタイミングでの検体採取の推奨と啓蒙を遂行してきた（通称「2セットキャンペーン」）。今回、我々は当院における過去17年間の血液培養からの分離菌の動向を解析することによって、「2セットキャンペーン」の効果を臨床疫学的に検討したので報告する。

I. 方法

1996年から2012年の間に当院検査室に提出された血液培養29,615件の結果を疫学的に解析した。血液培養装置は2002年8月までは「バクテックNR（日

本バクトン・ディッキンソン）」を、2002年9月からは「バクテアラート3D（シスメックス・ビオメリュー）」を使用した。培養ボトルは同一社製の好気ボトル、嫌気ボトル、小児ボトルを使用した。培養条件は35℃で7日間とした。

1. 検体数と陽性率の算出

血液培養検体は好気ボトル1本と嫌気ボトル1本の同時採取を1セットとして1件と数えた。小児用小児用ボトル1本を1件とした。陽性率の算出は、1セット中、ボトル1本でも菌の発育を認めた場合を陽性として1件と数えた。なお、1セットから複数菌が発育した場合も1件とした。

2. 分離株数の算定

1セットから複数菌が発育した場合は、それぞれの菌を1株と数えた。同日中に複数セット採取された検体から同一菌が発育した場合は1株とした。

3. 耐性菌の判定

2003年から2012年に分離された菌を対象とした。薬剤感受性試験はCLSIに準拠した微量液体希釈法

1) 岐阜県立多治見病院 臨床検査科

で実施し、*Streptococcus pneumoniae* のペニシリン耐性は CLSI M100-S17 の基準で判定した。*Escherichia coli* と *Klebsiella* spp. の基質拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌はダブルディスクシナジーテスト法で確認した。*Haemophilus influenzae* のアンピシリン耐性は CLSI M100-S22 の基準で判定した。

II. 結果

1. 年間の検体数と培養陽性率 (図 1)

年間の検体数は1996年には814件だったが、順次増加して2008年には2,000件を超え、さらに2012年には3,767件となった。培養陽性率は年次9.1~13.7%で推移した。17年間の平均陽性率は11.8%であった。

2. 分離菌の種類と動向

期間中に分離された菌は3,023株であった。その内訳は、コアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) 657件、*Staphylococcus aureus* 385件、*E. coli* 287件、*Candida* spp. 249件、“その他の *Streptococcus* spp. (*S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae* 以外)” 176件の順に多かった。すべての菌をグループに分

け、これらの各年の総菌株数に対する割合を図2に示した。1996年から2011年まではブドウ球菌群が最も多く分離されたが、2012年は腸内細菌科がブドウ球菌群を上まわった。2000年以降の上位3グループは、ブドウ球菌属、腸内細菌科、連鎖球菌群 (*Streptococcus* 属、*Enterococcus* 属等) であった。これらトップ3が全体の約70%を占めていた。なお、2002年はブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌群が3位、腸内細菌科が4位であった。

その他の菌群の分離頻度の傾向として、嫌気性菌群は2002年までは2%前後であったが、2003年からは5%前後を推移していた。一方、真菌は1996年から1999年までは上位3位以内を占めていた。その分離頻度は1996年の23.2%から漸次減少し、2006年以降は7%前後で推移していた。

検出された菌を9つのグループにわけて、その分離頻度の割合や耐性菌の特徴を以下にまとめた。

1) ブドウ球菌属 (図 3)

1,047株のうち、*S. aureus* の占める割合は最小が1996年の8.3%、最大は2005年の52.8%、平均値は36.8%であった。*S. aureus* のうち MRSA の占める割合は2000、2003、2007、2008年で70%以上となったが、17年間の平均値は56.4%であった。



図1 血液培養の検体数と陽性率の推移

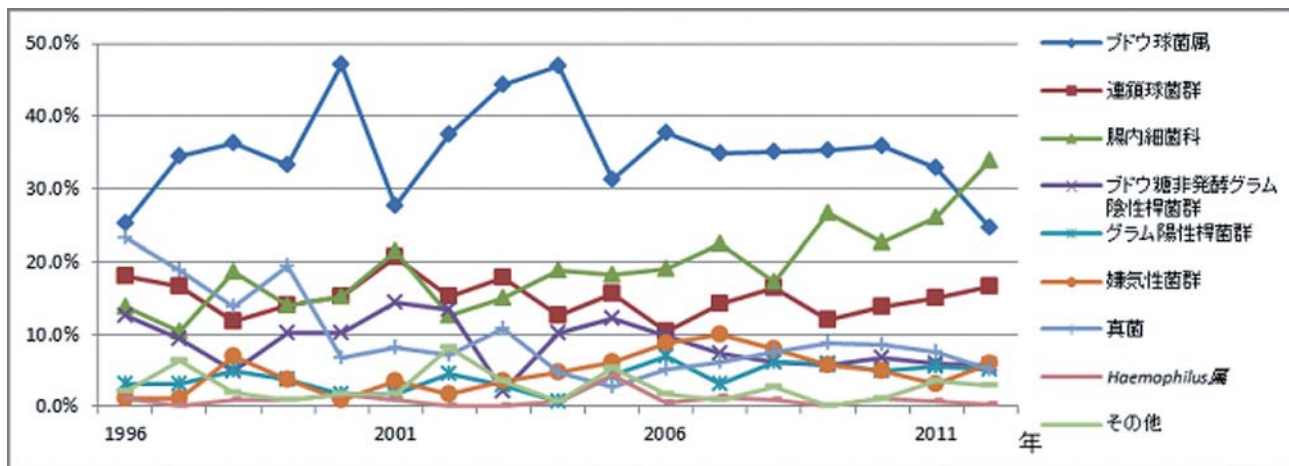


図2 各年におけるグループ別分離率の推移

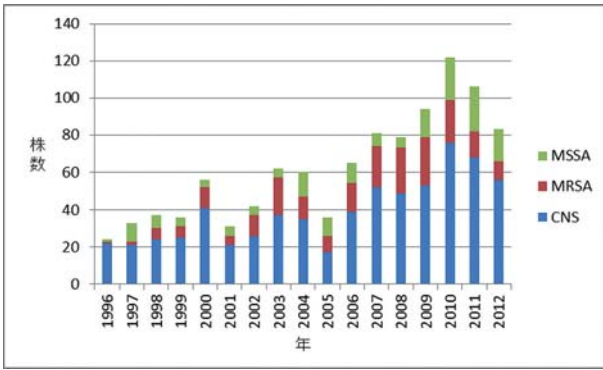


図3 ブドウ球菌属の分離状況

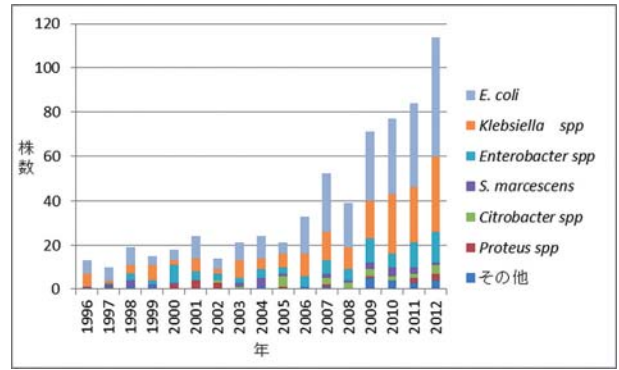


図5 腸内細菌科の分離状況

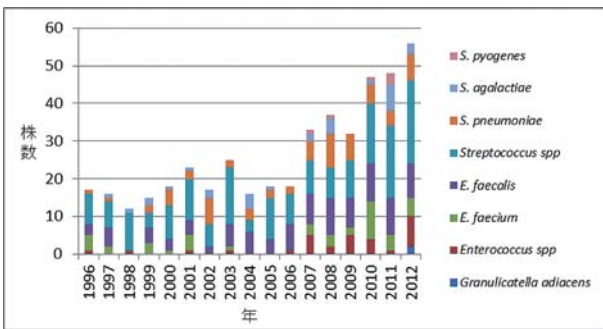


図4 連鎖球菌群の分離状況

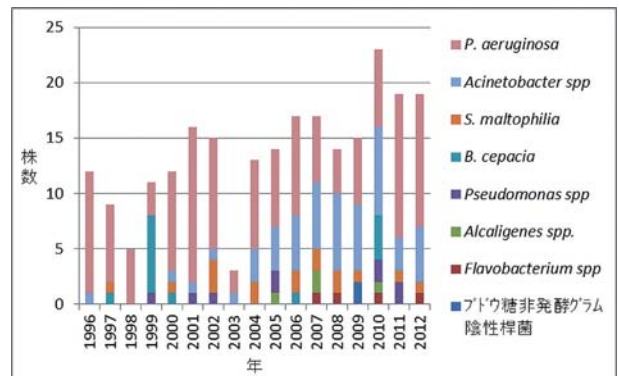


図6 ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌群の分離状況

2) 連鎖球菌群 (図4)

448株の内訳は, “その他の *Streptococcus* spp.” 39.3%, *E. faecalis* 22.1%, *S. pneumoniae* 14.1%, *S. agalactiae* 6.7%, *S. pyogenes* 1.3%, であった。

3) 腸内細菌科 (図5)

649株の上位3菌種は, *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. であり, 腸内細菌科の86.0%を占めていた。

4) ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌群 (図6)

234株のうち, *Pseudomonas aeruginosa* と *Acinetobacter* spp. の2菌種で79.7%を占めていた。なお, 多剤耐性緑膿菌 (MDRP) は2006年に1株のみ分離された。

5) グラム陽性桿菌群 (図7)

135株の内訳は, *Bacillus* spp. 79.9%, *Corynebacterium* spp. 20.1%であった。*Listeria monocytogenes* は1件のみ分離された。

6) 嫌気性菌群 (図8)

156株のうち, *Propionibacterium* spp. 36.5%, *Bacteroides* spp. 29.5%, *Clostridium* spp. 14.7%であった。

7) 真菌 (図9)

257株のうち, *Candida* spp. が96.9%を占めた。その他に, *Trichosporon asahii* 4株, *Cryptococcus* spp. 2株, *Aspergillus* 1株, *Malassezia furfur* 1株が分離された。

8) *Haemophilus* 属

25株のうち, *H. influenzae* が23株, *H. parainfluen-*

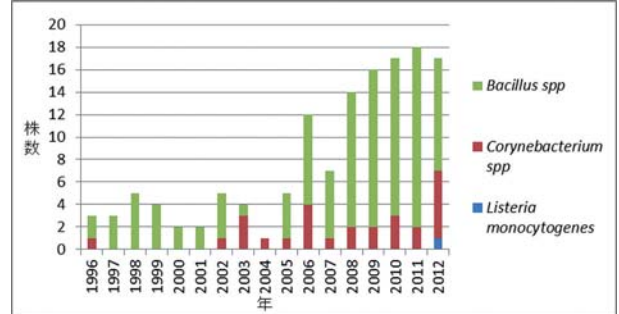


図7 グラム陽性桿菌群の分離状況

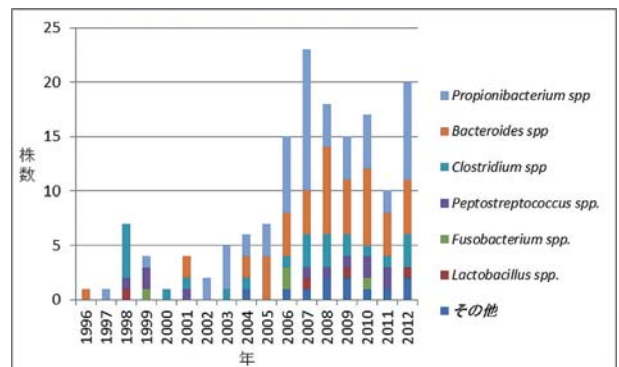


図8 嫌気性菌群の分離状況

zae が2株であった。2003年以降に分離された *H. influenzae* 18株の患者年齢は, 8歳以下と74歳以上に二極化していた。莢膜b型の *H. influenzae* (Hib) の分離率は77.8%を占めており, 全て4歳以下から

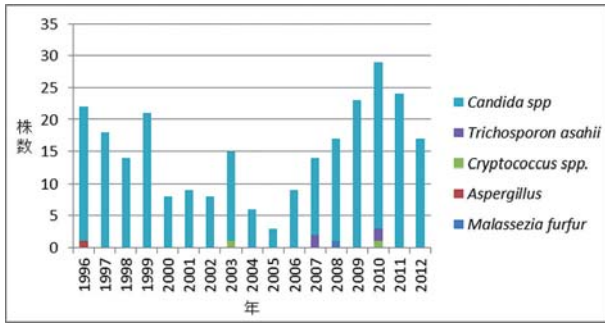


図9 真菌の分離状況

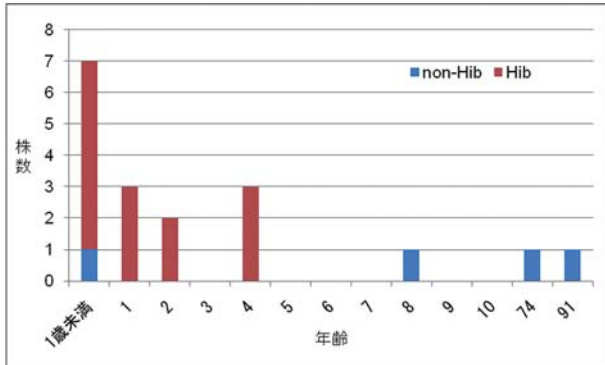


図10 *H. influenzae* の年齢別分離状況

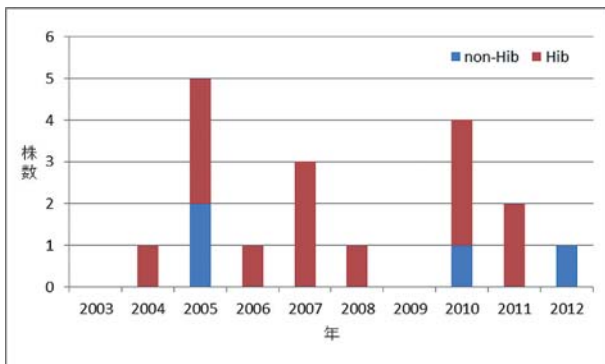


図11 Hib の分離状況

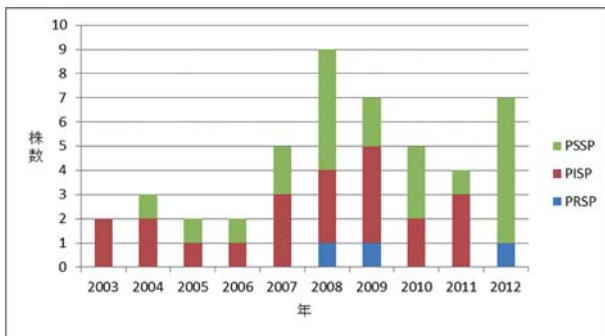


図12 *S. pneumoniae* のペニシリン感受性の推移

分離された(図10). なお, Hibは2003, 2009, 2012年には分離されなかった(図11).

9) その他

Aeromonas spp. 10株, *Mycobacterium fortuitum* 6株, *Campylobacter* spp. 4株, *Pasteurella multo-*

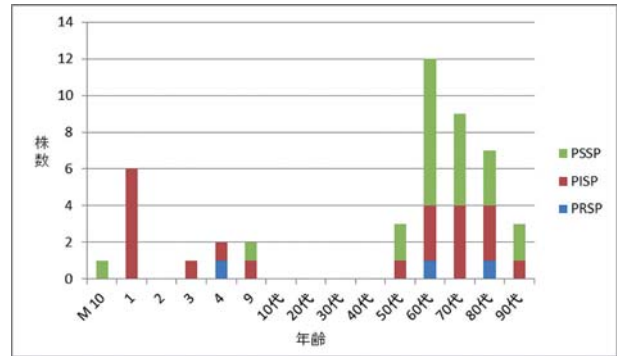


図13 *S. pneumoniae* の年齢別分離状況

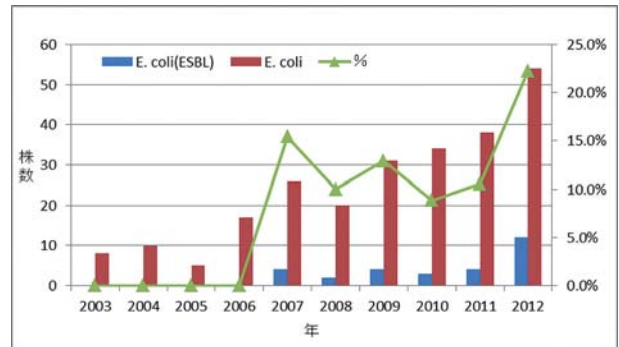


図14 ESBL 産生 *E. coli* の分離状況

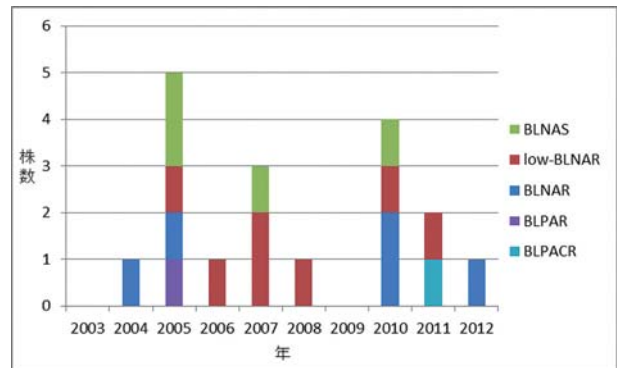


図15 *H. influenzae* のアンピシリン感受性の推移

cida 2株などがあつた。

3. 耐性菌の分離状況

1) ペニシリン耐性肺炎球菌

S. pneumoniae 46株のペニシリン感受性を年毎(図12)と年齢別(図13)で示した. ペニシリン耐性 *S. pneumoniae* (PRSP) 6.5%, ペニシリン低感受性 *S. pneumoniae* (PISP) 45.7%, ペニシリン感受性 *S. pneumoniae* (PSSP) 47.8%であつた. 年齢別で見ると, 50歳以上では PSSP の割合が高かつた.

2) ESBL 産生菌

*E. coli*は2007年から, *Klebsiella* spp. は2005年から分離されはじめていた. *E. coli*は243株中29株(11.9%)が, *Klebsiella* spp. では133株中7株(5.3%)が ESBL 産生菌であつた. 2012年に血液培養から分離された *E. coli* 54株のうち ESBL 産生

菌は12株 (22.2%) を占めていた。(図14)

3) アンピシリン耐性インフルエンザ菌

H. influenzae 18株のうち、アンピシリン耐性株は14株 (77.8%) であった (図15)。

III. 考察

当院における血液培養の検体数は1996年から順次増加していた。とりわけ、2008年からは「2セットキャンペーン」を実施したことによって、大幅に増加した。さらに、複数セット採取率は2007年が約4%であったが、2008年は45.7%、2009年は62.6%と大幅に上昇した。これと並行して、検体数は前年よりそれぞれ532件、633件増加していた。

培養陽性率は17年間において9.1~13.7%の間を維持していた。この陽性率は、国立感染症研究所：院内感染対策サーベイランス (JANIS)¹⁾の各年毎の陽性率 (14~17.5%) よりも低いが、CUMITECHで適切な血液培養オーダーが行われているとされる陽性率「5~15%」²⁾の間を推移していた。したがって、血液培養の実施件数が増加しても血液培養が適切に採取されていたことが示唆された。なお、国立がんセンター (10.8%)³⁾や新潟がんセンター (10.9%)⁴⁾から報告された陽性率に比して高く、島根大学 (13.9~19.1%)⁵⁾や名古屋大学 (12~15%)⁶⁾のデータより低かったのは、各施設の特性・患者背景の違いによるものと推察された。

分離菌種の頻度の解析にあたって、JANISのデータでは2000年から毎年、その分離頻度に変化がなかったため、JANIS2011年報のデータと当院の1996年からの17年間のデータとを比較した。その結果、上位3菌種はCNS、*S. aureus*、*E. coli*とJANISと同様であった。しかしながら、4位以下はJANISでは*K. pneumoniae*、*P. aeruginosa*、*E. faecalis*であったが、当院は*Candida* spp.、 “その他の *Streptococcus* spp.”、*K. pneumoniae*と、その様相が異なった。とりわけ、*Candida* spp. に関しては、当院では*C. albicans*の分離頻度が3.4%とJANIS (2.0%)の約2倍の高値であった。なお、当院ではnon-*albicans*が*C. albicans*より多く分離されていたことが特徴であった。*Candida* spp. は全て入院患者から分離されており、消化器内科・消化器外科・血液内科の3科で61%を占めていた。

H. influenzae は、1歳未満児からの分離数が1歳児からの分離数を上回っていた。これは生方らの報告⁷⁾と同様であった。Hibワクチンが2008年12月から日本においても接種可能になり、Hibの分離状況が注目される場所である。当院で2009年以降に分離が確認された患者 (2010年4歳3名、2011年1歳1名・1歳未満1名) のHibワクチン接種の有無は確認できなかったが、今後はHibが血液から

分離された場合には、Hibワクチンが未接種なのか、接種したものの抗体価の上昇が見られなかったのかを臨床疫学的に監視することも大切である。

耐性菌について、MRSAの分離率を血液培養分離菌の薬剤感受性情報があるJANIS2006年報と比較してみたところ、17年間の*S. aureus*に占めるMRSAの比率 (56.4%) はJANISより低い値で推移していた。また、血液培養から分離された*E. coli*のうちESBL産生*E. coli*が2007年からは毎年10%前後と増加傾向にあった。したがって、*E. coli*の薬剤感受性の動向を今後も注視しながら、より迅速な臨床への報告体制が重要と考える。

グループ別の年次推移では、2012年に腸内細菌科の分離率が最も高くなったことが大きな特徴である。その要因として、外来診察時に採取された血液培養検体の割合が2008年の13.1%から徐々に増加して、2012年には34.2%までに上昇したことが考えられる。実際、*E. coli*は市中感染症の起因菌として多く分離されるとの報告⁸⁾がある。また、2010年以降の外来での採取検体の陽性率は入院患者検体の陽性率を上回っていたため、適切なタイミングで検体採取がされたことが推察される。前述のとおり、複数セット採取率が2008年に約46%、2009年には約63%と大幅に上昇したことを勘案すれば、コンタミネーションの割合も高くなることが懸念された。しかしながら、CNSの分離頻度は2011年までは分離菌全体の21%前後であったが、2012年には16.3%と減少してきた。すなわち、複数セット採取することにより手技が煩雑になり、汚染菌の比率増加が懸念されるなかで、汚染菌として代表的なCNSが減少傾向にあったことは、ICTの活動が奏功して医師や看護師への啓蒙がなされたことによるものと考えられた。

IV. 結語

当院における1996年から2012年までの17年間に依頼された血液培養検査について疫学的な解析を実施した。1996年以降、分離率が最も多かったのはブドウ球菌属であったが、2012年は腸内細菌科が最も多くなったことが大きな変化であった。これは「2セットキャンペーン」によって、より良いタイミングでの検体採取や抗菌薬投与前の検体採取、複数セット採取実施が行われるようになったことによるものと考えられた。血液培養のベストプラクティスの啓蒙が重要であることを確認できた。一方、ESBL産生*E. coli*が2007年から毎年分離され増加傾向であることから、同定検査結果のみならず薬剤感受性結果の迅速な報告をすることや、定期的にアンチバイオグラムの更新を行い、臨床側へフィードバックしていくことが今後も大切である。

謝辞 本論文のご校閲を賜りました岐阜大学大学院 医学系研究科 大楠清文准教授に深謝いたします。

V. 文献

- 1) 国立感染症研究所：院内感染対策サーベイランス
- 2) Ellen Jo Boron *et al.*：(著)松本哲哉, 満田年宏(訳)：Cumitech 血液培養ガイドライン, 医歯薬出版, 東京, 2007
- 3) 伊東ひろ子ほか：国立がんセンター中央病院における5年間の血液培養検査成績の検討, 日本臨床微生物学雑誌 Vol.17 No. 4 2007
- 4) 高橋直子ほか：最近5年間の血液培養検査状況, 新潟がんセンター病院医誌 49(1)：35-40 2010
- 5) 野津泰子ほか：過去6年間における血液培養分離菌の推移, 島根医学検査 38(2) 44-47 2010
- 6) 奈田 俊ほか：名古屋大学病院における26年間の血液培養成績の推移, 医学検査 59(2)：146-151 2010
- 7) 生方公子ほか：第19回臨床微生物学会総会アナライザー・ワークショップ 侵襲性感染症とその検査に関する制度の検証
- 8) 青木泰子ほか：血液培養陽性例をtargetとした感染症サーベイランスー1年間の成績, および, 市中感染症と病院感染症の比較, 感染症学雑誌 第77巻 第4号

Cardiobacterium hominis による感染性心内膜炎の 1 例

後藤 孝司¹⁾ 浅野 裕子¹⁾ 森永 朝美¹⁾ 浅野 麻衣¹⁾ 大楠 清文²⁾

Key words

Cardiobacterium hominis 感染性心内膜炎 HACEK グループ

要 旨

症例は33才の男性。不整脈にて、当院循環器内科を受診された。初診時には発熱は無く、聴診にて心雑音が聴取された。心臓超音波検査で、僧帽弁前尖に可動性のある疣贅が認められたため感染性心内膜炎と診断された。Ceftorioxion と Gentamicin が投与されたが腱策は断裂し高度の僧帽弁逆流を認めたため、入院7日目に僧帽弁置換術が施行された。入院時の血液培養検査で、好気ボトルは3日目に陽性、嫌気ボトルは5日目に陽性となり、16S rRNA 塩基配列解析にて、*Cardiobacterium hominis* と同定された。

C. hominis は、鼻腔、口腔、咽頭や消化管粘膜に存在する通性嫌気性のグラム陰性桿菌で、増殖が緩徐であり、培養時には注意深い観察が必要である。今回、我々は *C. hominis* による感染性心内膜炎を経験したので文献的考察を加えて報告する。

はじめに

Cardiobacterium hominis は、鼻腔、口腔、咽頭や消化管粘膜に存在する通性嫌気性のグラム陰性桿菌であり、時に、感染性心内膜炎 (infective endocarditis; IE) を起こすことが知られている¹⁾。今回、我々は僧帽弁に疣贅を認めた *C. hominis* による IE を経験したので報告する。

I. 症例：33才，男性

既往歴：特記すべきものなし

現病歴：2011年11月末より不整脈を自覚し、近医でホルター心電図を施行され上室性頻拍を指摘されたため、2012年1月上旬に当院循環器内科受診となった。

現 症：血圧116/67mmHg、脈拍105/分整、体温36.4℃、聴診上、背部全面に逆流性収縮期雑音、胸骨左縁に駆出性収縮期雑音を認めた。

1. 入院時検査所見

血液検査所見は、ALT、ALP、CRP の軽度上昇と軽度の貧血を認めた (表 1)。

表 1 血液検査所見

AST	29 IU/l	PCT	0.08 ng/ml
ALT	41 IU/l	BNP	45.1 pg/ml
T-Bil	0.6 mg/dl	Na	140 mEq/l
ALP	405 IU/l	K	4.4 mEq/l
LDH	222 IU/l	Cl	101 mEq/l
CK	59 IU/l		
BUN	10.3 mg/dl		
CRE	0.6 mg/dl	WBC	7010 / μ l
TP	7.7 g/dl	RBC	406×10^4 / μ l
ALB	3.9 g/dl	Hb	12.2 g/dl
T.Cho	151 mg/dl	Ht	36 %
Glu	94 mg/dl	Plt	26×10^4 / μ l
CRP	1.32 mg/dl		

心電図は正常洞調律、V1に陰性T波、V3・4にT波増高を認めた。胸部レントゲンでは心胸郭比51%とやや拡大、うっ血像は認めなかった。同日施行された心臓超音波検査では、壁運動は良好であったが、左心系の拡張を認めた。僧帽弁前尖に22×11mmと10×10mmの可動性のある疣贅が見られた (図1)。腱策は断裂し高度の僧帽弁逆流を認めた。

2. 臨床経過

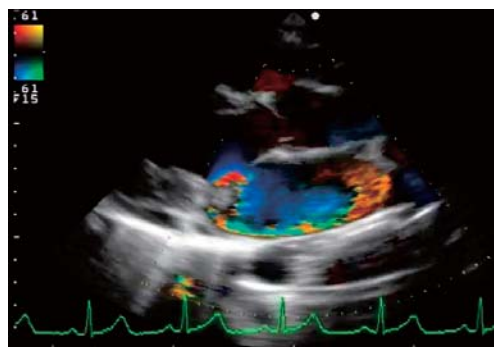
心臓超音波検査によりIEと診断され、当院入

1) 大垣市民病院 診療検査科 細菌検査室

2) 岐阜大学大学院医学系研究科 病原体制御学分野



(a) 傍胸骨長軸像



(b) カラー Doppler 像

図1 心臓超音波検査

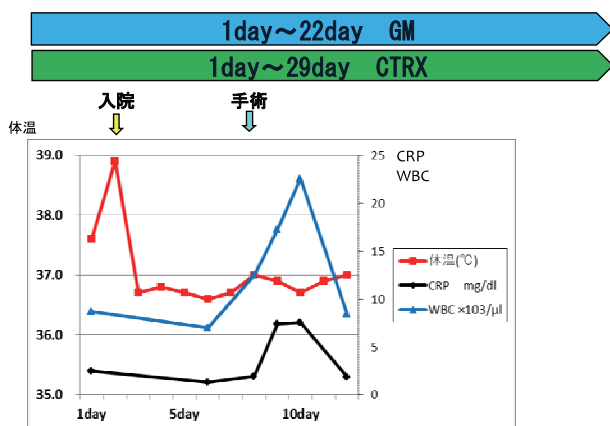


図2 臨床経過

図2 臨床経過

院。入院2日目に38.9℃の発熱を認め、Ceftriaxon (CTRX) 1g×2/日とGentamicin (GM) 60mg×2/日による治療を開始したが、逆流が高度であったため、7日目に僧帽弁置換術となった。その後の発熱は認めず、血液培養も陰性であった。術後経過は良好で、37日目に退院となった。臨床経過を図2に示す。

II. 細菌学的検査

血液培養検査は、日本ベクトン・ディキソン社 (BD) のバクテック FX にて、92F 好気用レズンボトルと溶血タイプ嫌気用ボトルを用いて行った。

入院時の血液培養検査 (2セット採血) で、好気ボトル2本は3日目に陽性、嫌気ボトル2本は5日目に陽性となった。グラム染色では、染まりがやや不均一な多形性のグラム陰性桿菌を認めた (図3)。

血液培養液を35℃、5%炭酸ガス環境下にて培養を行ったところ、2日目にポアメディア® 羊血液寒天培地 M58 (栄研化学) に、4日目に BTB 乳糖加寒天培地 (BD) に1mm以下の微小コロニーの発育を認めた。コロニー形態は通常と異なり、若干の遊走様の所見を示した (図4)。

分離菌株は、オキシダーゼ試験陽性、カタラーゼ試験陰性、インドール試験陽性であった。菌の同定を RapID NH ナイセリア・ヘモフィルス菌同定キット (アムコ) にて実施した結果、*C. hominis* と同定され、さらに、分離菌株を岐阜大学大学院医学系研究科病原体制御学分野に依頼し16S rRNA 塩基配列解析による同定を行った結果、*C. hominis* と同定された。

薬剤感受性試験はドライプレート '栄研' (栄研化学) を用いた微量液体希釈法にて最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。結果を表3に示す。一般的

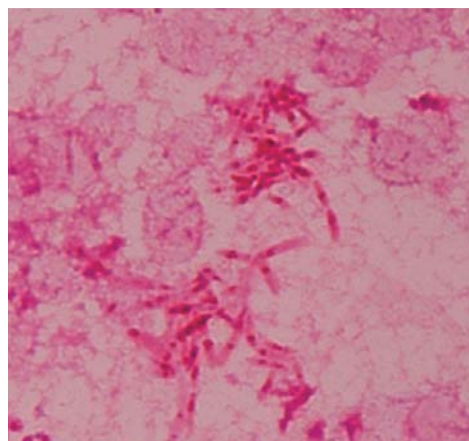


図3 好気ボトルのグラム染色像 (×1000)



図4 羊血液寒天培地 M58における2日間培養 (35℃, 5%CO₂条件下) でのコロニー形態

表2 RapID NH System における性状

Reactive ingredient	Result	Reactive ingredient	Result
PRO	+	RES	+
GGT	+	PO4	-
ONPG	-	ORN	-
GLU	+	URE	-
SUC	+	NO3	-
EST	-	IND	+

表3 薬剤感受性試験結果

Ampicillin(ABPC)	≤0.13	Flomoxef(FMOX)	≤0.13
Sultamicillin(SBTPC)	≤0.13	Panipenem(PAPM)	≤0.13
Cefotiam(CTM)	≤0.13	Amikacin(AMK)	≤8
Ceftazidime(CAZ)	≤0.13	Clarithromycin(CAM)	>1
Ceftriaxon(CTRX)	≤0.13	Clindamycin(CLDM)	>1
Cefaclor(CCL)	≤1	Minocycline(MINO)	≤0.13
Cefteram(CFTM)	≤0.13	Vancomycin(VCM)	>2
Cefditoren(CDTR)	≤0.13	Fosfomycin(FOM)	≤8
Cefcapene(CFPN)	≤0.13	Tosufloxacin(TFLX)	≤0.13

にグラム陰性桿菌に有効とされる薬剤の MIC はすべて低値を示した。

また、摘出された僧帽弁のスタンプ標本からも同様の菌がグラム染色で確認された(図5)。当サンプルを用いた培養検査では菌の発育を認めなかったが、遺伝子検査では菌の検出を認め、16S rRNA 塩基配列解析により、血液培養の分離菌と同様に *C. hominis* と同定された。

病理組織診断では、慢性炎症性細胞浸潤を伴う構造物の付着があり、疣贅と考えられた。僧帽弁は高度の粘液腫状の変性を伴っていた。

また、Vitec 2 (シスメックス) の NH 同定カードでは、バイオナンバー 3612610003 で同定可能であった。ID テスト HN-20 ラピッド (日水製薬) では、コード 3447352 で同定可能であった。しかし、Walkaway (シーメンス) の NH ID プレートには *C. hominis* のデータベースが無く、同定は不能であった。

Ⅲ. 考察

IE の起炎菌としては一般的に viridans group streptococci や *Staphylococcus aureus* が多いが、*C. hominis* による IE もこれまでに報告されている。本例は、手術前の歯科診察において口腔内感染症を認めなかった。Dimitrios ら²⁾によると、*C. hominis* による IE の潜伏期間は、平均 138 ± 128 日と長く、自覚症状に乏しいことが特徴であるとされる。今回の症例では、4ヶ月前に消化器症状と共に発熱を認めており、これを初感染と見なした場合、長い潜伏

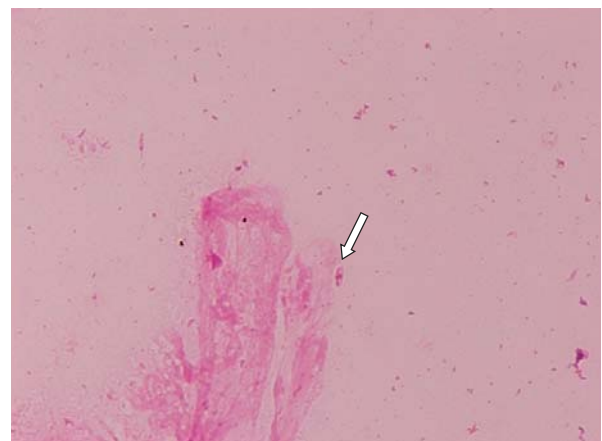


図5 摘出された僧帽弁のスタンプのグラム染色

期間であることが推測された。

Malan らによる61例の *C. hominis* による IE の報告¹⁾では、感染の起きた弁は、大動脈弁が24例(39%)、僧帽弁が19例(31%)とやや大動脈弁の方が多い傾向であった。また、Dimitrios らによる81例の *C. hominis* による IE の報告²⁾では、15例が人工弁の感染に起因するものと報告されている。*Cardiobacterium* 属は、*C. hominis* と *C. valvarum* の2菌種のみが確認されており、チョコレート寒天培地よりヒツジ血液寒天培地の方が発育良好であるとされる。また、発育には3~5%の炭酸ガスが要求される⁵⁾。この2菌種は、*C. hominis* がインドール試験が弱陽性であること、マルトース、マンニトール及びスクロース分解能を有することで区別される(表4)。実際、今回の分離菌は、スポットインドール試験は陽性であったが、RapID NH System のイ

表4 *C. hominis* と *C. valvarum* の生化学的性状

	<i>C. hominis</i>	<i>C. valvarum</i>
嫌気培地での発育	(-)	(-)
形態、染色性	グラム陰性桿菌(短い)	グラム陰性桿菌(やや長い)
インドール試験	(+)弱い	(+)強い
オキシダーゼ試験	(+)	(+)
カタラーゼ試験	(-)	(-)
硝酸塩還元能	(-)	(-)
尿素分解能	(-)	(-)
フルクトース	(+)	(+)
ラクトース	(-)	(-)
マルトース	(+)	(-)
マンニトール	(+)	(-)
マンノース	(+)	(+)
スクロース	(+)	(-)
キシロース	(-)	(-)

インドール試験では陰性であり、これまでの報告を示唆する結果であった。

C. hominis が IE の起炎菌であった症例は、文献上81例であり、稀な起炎菌であると考えられる。一般的に、*C. hominis* の薬剤感受性は良好で、治療においては、CTR_X や CTM の4～6週間投与が推奨されている。また Sulbactam/Ampicillin と GM の併用投与も行われる場合がある。本例においてもセフェム系薬剤に対して良好な感受性を示した。IE の診断に用いられる Duke 診断基準では血液培養陽性が大基準に含まれているが、IE であっても血液培養で菌の発育を認めない場合があることは、文献上からも示唆されている³⁾。その原因の多くは血液培養を行った時点で既に抗菌薬投与が行われていたためであるが、*C. hominis* も含まれる HACEK グループ (*Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Kingella*) と呼ばれる発育の遅いグラム陰性菌や真菌等では、培養日数や培養条件が検出可否の重要な因子になるため、慎重に培養を行う必要がある⁴⁾。*C. hominis* による IE 発症時の血液培養検査は平均6.3日(2～21日)で陽性を示すと報告されているが、本例では、好気ボトル2本は3日目に陽性、嫌気ボトル2本は5日目に陽性となったため、採血時の菌量や培養ボトルの培地成分が早期の発育に効果的に作用した可能性が考えられた。

C. hominis は、一般的に増殖が緩徐なことが多く、通常の培養検査では検出されない可能性も考えられる。以上のことより、IE を疑う場合は、複数セット採血の血液培養検査や心臓超音波検査の精査を積極的に実施する必要がある。また、培養条件においても、培養期間の延長や増菌培地によるサブカルチャーの実施も有用であると考えられ、臨床的に緊急性や難治性の所見を示す場合及び起炎菌の同定に苦慮する場合は、今回の事例のように、疣贅から

直接的に病原体の遺伝子検出を行うことも有意義であると考えられた。

IV. まとめ

原因菌の同定に苦慮し、治療に難渋する症例も多く見られる IE において、原因菌の同定は、適切な抗菌薬選択及び治療を可能とする非常に重要な検査である。IE の原因菌は *C. hominis* を含め培養困難な菌種も多いため、培養条件の工夫や遺伝子検索を念頭に置き、様々な視点から検査を進めていくことが必要である。

謝辞：菌の同定にご協力下さった、県立多治見病院臨床検査部の八島繁子技師と岐阜赤十字病院検査部の森田恵理技師に深謝致します。

V. 文献

- 1) Malan A *et al.* : *Cardiobacterium hominis* endocarditis: two cases and a review of the literature, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2006 ; 25 (9) : 587-595.
- 2) Dimitrios P *et al.* : *Cardiobacterium hominis* prosthetic valve endocarditis: an infrequent infection, *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2012 ; 20 : 327-329
- 3) Habib G *et al.* : Value and limitations of the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *J Am Coll Cardiol* 1999 ; 33 : 2023-2029
- 4) Guidelines for the Prevention and Treatment of Infective Endocarditis (JCS 2008)
- 5) Han XY, Falsen E.: Characterization of oral strains of *Cardiobacterium valvarum* and emended description of the organism, *J Clin Microbiol.* 2005 43 (5) : 2370-2374

B群溶連菌（GBS）による敗血症を反復した乳児例：

GBSの垂直感染治癒後に母乳が感染源となった再発例

浅野 麻衣¹⁾ 浅野 裕子¹⁾ 後藤 孝司¹⁾ 森永 朝美¹⁾ 棚橋 義浩²⁾

Key words

B群溶連菌 垂直感染 水平感染

要 旨

症例は女児。他院にて母親の膣スクリーニング検査は培養陰性であった。日齢3に呻吟、鼻翼呼吸あり、体温38.5℃と発熱があり当院へ搬送された。B群溶連菌（*Streptococcus agalactiae*; 以下GBS）による敗血症を疑い、Amikacin（AMK）、Ampicillin（ABPC）の投与が行われ、血液培養からGBSが分離・同定された。日齢15、32に再度発熱を認め、静脈血からGBSが検出された。同じ患児より繰り返しGBS敗血症を起こしたため、患児の環境検査を行った結果、母乳と両親の咽頭より同一の血清型のGBSが検出された。以上より、本症例は産道感染による垂直感染後に母乳を介して感染したと考えられた。

はじめに

GBS（*Streptococcus agalactiae*）は膣や直腸に常在しており、産道感染による新生児や生後4カ月までの乳幼児の敗血症、肺炎、新生児化膿性髄膜炎を惹起して重篤な後遺症を残すことがある¹⁾。GBS敗血症は、分娩時に産道を通ってくる際に感染し、生後数時間から7日間までに発症する「早発型」と生後1週間以降に発症する「遅発型」の2つの病型に分けられる^{1), 2)}。今回我々は、GBS敗血症を3回くりかえしたことにより、結果的にこれら2つの病型をとるに至った1例を経験したので文献的な考察を加えて報告する。

I. 症例

1. 患者：日齢3，女児。
2. 妊娠分娩歴：他院にて自然分娩で出生，分娩は極めてsmoothであった。在胎40週2日，出生体重3650g。アプガースコアは，1分9点，5分10点であった。母親は他院で行われた産前の膣スクリーニング検査にてGBS培養の結果は陰性であった。
3. 現病歴：日齢3に呻吟，鼻翼呼吸あり，体温38.5℃と発熱があり当院へ搬送された。

II. 検査所見及び、臨床経過

1. 入院時検査所見（表1）

血液検査：CRP 0.28mg/dl，WBC $9.48 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ，PLT $249 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ，血糖 88mg/dl

髄液検査：タンパク 54mg/dl，糖 54mg/dl，クロール 116mEq/l，細胞数 31/3（好中球26）

血液検査では、CRPの経度上昇を認め、髄液検査では、明らかな異常を認めなかった。

2. 細菌学的検査と臨床経過（表2）：夜遅くに

表1 入院時検査所見

血液検査		WBC	$9.48 \times 10^3 / \mu\text{l}$
AST	35 IU/l	RBC	$506 \times 10^4 / \mu\text{l}$
ALT	17 IU/l	PLT	$24.9 \times 10^4 / \mu\text{l}$
LDH	416 IU/l	髄液検査	
T-Bil	15.6 IU/l	タンパク	54mg/dl
GUL	88 mg/dl	糖	54mg/dl
BUN	9.7 mg/dl	クロール	116mEq/l
CRE	0.47 mg/dl	細胞数	31/3
TP	6.1 g/dl		
Na	137 mEq/l		
K	4.4 mEq/l		
Cl	105 mEq/l		
CRP	0.28 mg/dl		

1) 大垣市民病院 細菌検査室

2) 大垣市民病院 第2小児科

表 2

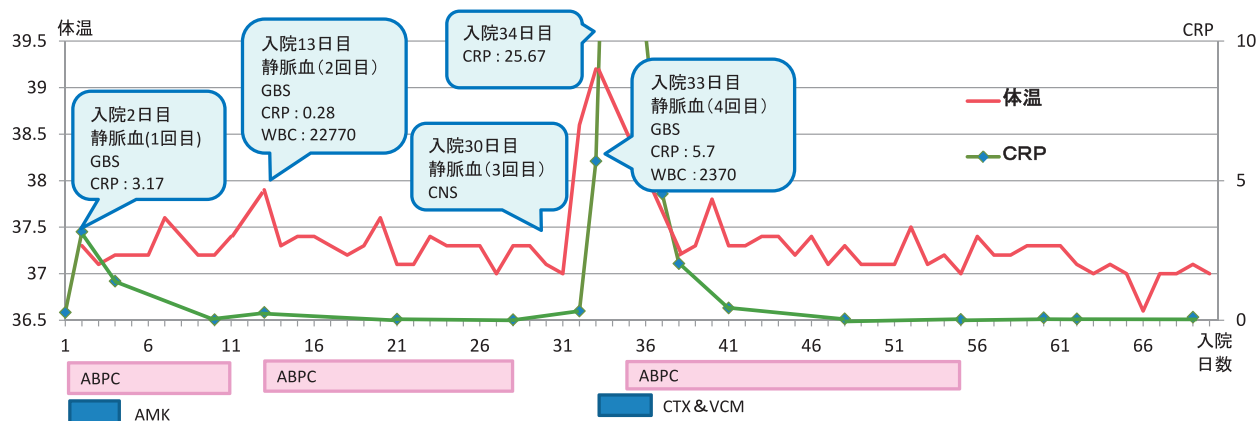


表 3 GBS (*Streptococcus agalactiae*) 感受性結果

薬剤名	静脈血 MIC(μg/ml)			乳房膿
	1回目	2回目	3回目	
Ampicillin (ABPC)	≤0.13	≤0.13	≤0.13	≤0.13
PenicillinG (PCG)	≤0.06	≤0.06	≤0.06	≤0.06
Sultamicillin (SBTPC)	≤0.25	≤0.13	≤0.25	0.25
Ceftriaxone (CTRX)	≤0.13	≤0.13	≤0.13	≤0.13
Panipenem (PAPM)	≤0.13	≤0.13	≤0.13	≤0.13
Tosufloxacin (TFLX)	≤0.13	≤0.13	0.5	0.25
Cefteram (CFTM)	≤0.13	≤0.13	≤0.13	≤0.13
Cefcapene (CFPN)	≤0.13	≤0.13	≤0.13	≤0.13
Cefditren (CDTR)	≤0.13	≤0.13	≤0.13	≤0.13
Clindamycin (CLDM)	0.5	≤0.13	0.5	≤0.13
Flomoxef (FMOX)	0.5	0.5	0.5	0.5
Amikacin (AMK)	>32	>32	>32	>32
Minocycline (MINO)	8	>8	8	>8
Vancomycin (VCM)	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5
Ceftazidime (CAZ)	0.5	0.5	0.5	0.5

NICUに入院されたため、入院2日目に入院時に採取された静脈血（1回目）、髄液、皮膚検体の培養が細菌検査室に提出された。培養2日目に血液培養が陽性となり、塗抹にてグラム陽性連鎖球菌を認めた。サブカルチャーのヒツジ血液寒天培地（栄研化学）にβ溶血を伴った正円形の集落が発育した。本菌株はGBSと同定された。髄液と皮膚検体の培養は陰性であった。薬剤感受性試験はドライプレート栄研を用い、CLSI基準（Clinical and Laboratory Standards Institute）に従って測定を行った。感受性結果は、ABPC（Ampicillin）≤0.13μg/ml、PenicillinG（PCG）≤0.06μg/mlと感受性は低い値であった。（表3）

入院当初GBS感染症を疑いAMK4日間、ABPC12日間投与しCRP≤0.02mg/dlと正常範囲内となった。しかし、抗菌薬の終了3日後（入院13日目、日齢15）、哺乳不良・腹部膨満感・機嫌悪く泣き、発熱も認めた。その際行われた血液検査でCRP0.28mg/dl、WBC22.7×10³/μlと再度炎症反応を

認めたため感染を疑い、静脈血（2回目）、皮膚、便検体の培養が提出され、同時にABPC投与が再開された。培養2日目に血液培養が陽性となり、GBSと同定された。また、皮膚からもGBSが検出された。便からはGBSの発育は確認できなかった。ABPCを前回より量を増やし11日間投与し終了した。その後、発熱は認めなかった。

入院30日目（日齢32）の血液培養（3回目）では、CNS（Coagrase-negative-staphylococci）が検出された。血液検査にて炎症反応を認めなかったため、コンタミネーションを疑い投薬を行わず経過観察となった。

入院32日目（日齢34）、体温39.0℃、CRP0.33mg/dl、WBC10.1×10³/μl、と3度目の炎症反応上昇を認めたため、直近の血液培養から検出されたCNSの敗血症を疑いCefotaxime（CTX）とVancomycin（VCM）の投与が開始された。しかし、血液培養（4回目）からGBSが検出されたため、ABPCのみの投与に変更した。

以後の聞き取り調査で母親は入院14日目（日齢16）に乳腺炎を発症していたことがわかった。さらに、GBS敗血症を3度繰り返したため、母乳の培養検査を行った。その結果、GBSが検出されたため、母乳が感染源の敗血症が考えられ、母乳を中止した。母親、父親の咽頭培養を行ったところ、ともにGBSが検出された。除菌目的のためにAmoxicillin（AMPC）の経口投与を7日間行った。投与後、再度咽頭培養を採取し、培養が陰性となったことを確認した。また、手洗いと搾乳方法の衛生指導も行った。

患児から検出されたGBSと母乳から検出されたGBSをアピストレップ20（Biomérieux社）で同定した。どちらもコードNo.3463014で同じであった。血清型の決定は北里大学病原微生物生物分子疫学研究室にて精査依頼した結果、双方の菌株ともにⅢ型であることが判明した。

その後の治療経過は良好であった。静脈血の培養陰性を確認し、入院から70日目（日齢72）に退院した。現在も外来通院治療中であるが、再感染、後遺症は認められていない。

III. 考察

新生児のGBS感染症は、発症すると死亡率や後遺症の発生率が高いため、新生児医療のなかで予後の悪い病態の1つである。本症例は、生後6日以内に発症する早発型感染と7日以降3カ月までの間に発症する遅発型感染の2つに分けられる。早発型は出生時における産道感染が主因となり、遅発型は産道感染と患児に関わる周囲の人達からの水平感染が主体になる³⁾。当院で過去6年間に血液培養からGBSを検出された3か月未満の児8人では、4人が1週間以内に発症した早発型で、残る4人が水平型感染であった。今回の症例は、産道感染により日齢3日に発症し、垂直感染を起こし、さらに入院中の日齢15、34に母乳による敗血症を繰り返したことによる早発型と遅発型の合併例であった。

GBSによる敗血症を繰り返したため、感染症の感染源、感染経路の検索が極めて重要であった。すなわち、母乳、両親の咽頭、手指の細菌検査を行った結果、母乳と両親の咽頭からGBSが検出されたため、感染経路が把握できた。そこで、推察された感染経路を遮断すべく、母乳を中止して徹底した手洗いを指導できた。これらの措置を施行後は敗血症を再発することはなく、治療経過も順調で退院となった。したがって、GBS敗血症を繰り返し発症したケースでは家族を感染源とした水平感染を念頭に置いて、家族の保菌調査を積極的に行うことや手洗いと清潔な授乳方法の徹底を指導することが肝要である。

GBSの莢膜型には10種類が知られている。本症例の患児と母乳から検出されたGBSは莢膜型Ⅲ型であった。日本人臍内から分離されたGBSの血清型はⅥ型とⅧ型で約50%を占めており、Ⅲ型は10%前後と報告されている²⁾。一方、新生児感染症の起炎菌として問題になっているGBSの血清型はⅢ型とⅠa型である⁴⁾。GBSのⅢ型には、病原因子のひとつであるneuraminidaseを大量に産生する菌があり重症化するといわれている⁵⁾。実際、髄膜炎の乳児から分離された菌株ではⅢ型が多く認められており、Ⅲ型の病原性が高いことが示唆される。とりわけ、臍スクリーニング検査でⅢ型のGBSが検出された際には注意が必要である。臍スクリーニング検査は、CDCガイドライン⁶⁾では妊娠35～37週の時期に、婦人科診療ガイドライン⁷⁾では33～37週に実施することが推奨されている。また、臍スクリーニング検査でGBSが陽性であった場合、分娩時に抗菌

薬を投与することが推奨されている。今回のケースでは、臍スクリーニング検査にてGBS培養陰性であったことから分娩時の抗菌薬の予防投与は行われていなかった。GBS保菌妊婦の全てが妊娠期間中に常に培養で陽性となる持続保菌者とは限らず、一時的な保菌や間欠的保菌の妊婦も存在するといわれている。本症例の母体、再度臍培養を行ったわけではないが児の発症時期が早期であることから垂直感染が考えられた。すなわち、母親は間欠的保菌者もしくは一時保菌者であった可能性がある。そのため、妊娠中の培養が一度陰性であった場合、分娩時も陰性とは限らず、分娩時に近い妊娠後期にもGBSスクリーニング培養検査を行うことが望ましいと考えられる。一方、検査を行う立場としては、臍の他の常在菌でマスクされて、GBSを見落とさないようにするためにも、選択培地や増菌培地を用いて培養を行うことが重要である。ひいてはGBS感染症に侵される児を少しでも減らせるように努力するべきと考える。また、薬剤感受性の動向にも注視する必要がある。現在、成人の血液あるいは髄液等から分離された株にはペニシリン軽度耐性GBS (PRGBS) が1%出現している。生方らの平成24年度の疫学解析によれば、新生児由来株にはペニシリン軽度耐性GBS (PRGBS) は検出されていなかった³⁾。当院の過去6年間に3か月未満の児の血液培養から検出したGBSにおいても、すべてペニシリンに感受性を示すものであった。しかしながら、成人由来のGBSにPRGBSが分離されていることを勧告すれば、今後は新生児からもPRGBSが検出される可能性がある。婦人科材料から検出されるGBSも含めて、感受性試験結果のモニタリングの継続と他施設のサーベイランス等から情報の収集にも勤めていきたい。

IV. 結語

今回我々は、産道感染による垂直感染と母乳による水平感染によって、短期間にGBS敗血症を繰り返した症例を経験した。再感染の要因として、家族の保菌や母乳によって繰り返してGBSに暴露されたことやその感染源の把握と対策が遅れたことがあげられる。同じ菌種で敗血症を繰り返した場合には、家族の保菌や環境要因を積極的に確認すべきと考えられた。

謝辞 ご指導頂いた病原微生物分子疫学研究室 生方公子教授に深謝いたします

V. 文献

- 1) 坂田宏 小児B群溶連菌感染症の臨床的検討
感染症誌 82: 633～637. 2008

- 2) 三嶋 廣繁 GBS 感染症・性感染症研究の新しい展開
THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS 481~488.
2004
- 3) 生方 公子
重症型のレンサ球菌・肺炎球菌感染症に対するサーベイランスの構築と病因解析, その診断治療に関する解析 速報平成24年度:疫学解析20~26
- 4) 滝沢慶彦 他 札幌市におけるβ溶血レンサ球菌臨床分離株の菌型分布に関する長期的観察 II.B 群溶血レンサ球菌の15年間の菌型分布について 感染症誌 75:174~180. 2001
- 5) 寺久保繁美 他 妊婦由来B群レンサ球菌の血清型と抗体保有状況 感染症誌 77:121~126. 2003.
- 6) CDC:MMWR, 59:RR-10, 2010
- 7) 日本産科婦人科学会, 日本産婦人科医会:産婦人科診療ガイドライン産科編 2011. 239~241. 2011
秋場伴晴 他 B 群連鎖球菌感染症を再発した1乳児例
山形市立病院済生館医学雑誌巻 29:58~62. 2004

“*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*”による 難治性の壊死性皮膚潰瘍の3症例

浅野 裕子¹⁾ 森永 朝美¹⁾ 鳥居 知美¹⁾ 浅野 麻衣¹⁾ 後藤 孝司¹⁾
高木 肇²⁾ 清島真理子³⁾ 大楠 清文⁴⁾

Key words

“*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*” *Mycobacterium ulcerans* ブルーリ潰瘍
難治性皮膚潰瘍

要 旨

ブルーリ潰瘍は *Mycobacterium ulcerans* が引き起こす壊死性の皮膚疾患である。本邦では、1982年に第1例目が報告¹⁾されて以降、約30症が報告されている。これら国内の分離菌株は *M. ulcerans* とは生化学的性状が一部異なっていたため、類縁亜種 “*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*” とよばれている。我々も、2007年、75歳男性の耳介と耳後に潰瘍性病変から本菌の分離・培養に成功した経験を踏まえて、さらに2011年、ブルーリ潰瘍を新たに2例診断できた。“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*” を分離するには27～30℃で約4週間の培養が必要である。また、抗酸菌の同定に類用されている DDH 法で *M. marinum* と判定されるため、マイコラクトンほか本菌が特異的に保持する遺伝子の検索が必要である。とりわけ、基礎疾患がない患者の難治性の壊死性潰瘍では、原因菌の1つとして“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*” を念頭におくことが大切である。

はじめに

Mycobacterium ulcerans は、難治性潰瘍を伴う壊死性の皮膚疾患であるブルーリ潰瘍 (Buruli ulcer) の原因菌である。この疾患は、西アフリカ諸国、アジア諸国、オーストラリアなど熱帯、亜熱帯地域で多発していることから、世界保健機構 (WHO) では「顧みられない熱帯病: neglected tropical diseases: NTD」の1つとして位置付けをしている。ブルーリ潰瘍の経過は、初期は虫刺され様、次いで皮下結節、硬結、浮腫、その後、数日から数カ月で中央部に潰瘍が出現する。この潰瘍形成は、*M. ulcerans* が産生する毒性脂質のマイコラクトンが、皮膚や皮下組織を壊死させることによる。同じく、本邦で分離されている“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*” もマイコラクトンを産生して潰瘍を形成することが報告²⁾されている。しかも抗酸菌であるがゆえに治療には、著効する化学療法が確立されておらず、治

療は、病変の切除や切断などの外科的治療が行われることが多い。好発部位は、洋服から露出している四肢が大部分であり、癬痕、拘縮の後遺症を最小限にするために、ブルーリ潰瘍の早期発見、早期治療は重要である。今回、我々は、“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*” による壊死性皮膚潰瘍の3症例を経験したので文献的考察を加えて報告する。

I. 症 例

[症例1]

患者: 75歳・男性
主 訴: 耳介と耳後に結節と痂皮を伴う潰瘍
既往歴: 2003年より塵肺、混合性換気障害にて当院、呼吸器科に通院中。
特記事項: 熱帯魚、ペットの飼育経験なし、海外渡航歴なし、釣りの趣味もなく、園芸や農作業はしていなかった。

1) 大垣市民病院 診療検査科 細菌検査室

2) 大垣市民病院 皮膚科

3) 岐阜大学大学院医学系研究科 皮膚病態学講座

4) 岐阜大学大学院医学系研究科 病原体制御学分野



図1-1



図1-2



図1-3

症例1
耳介

症例2
左下肢

症例3
手背

図1 臨床像。周囲に硬結と痂皮を伴う潰瘍

現病歴：2007年5月に、10日程前よりの耳介と耳後の疼痛を伴う結節の形成及びその後の潰瘍化を訴え、当院皮膚科を受診した。初診時、右耳介には直径6mm、耳後に直径5-10mmの痂皮を伴う結節があり、中央は潰瘍化していた（図1-1）。診察時に、皮膚組織のスタンプ標本の染色依頼が出され、細菌検査室からは、Ziehl-Neelsen染色にて不定形な抗酸菌が丸い集塊形成をしつつ、それが散在している形態から、非結核性抗酸菌（non tuberculous mycobacterium:NTM）が推察されることを報告した（図2-1）。

1. 血液検査所見：WBC 6,860/ μ l, RBC 4.51 \times 10⁶/ μ l, Hb 14.3g/dl, Plt 20 \times 10⁴/ μ l, AST 14IU/l, ALT 6IU/l, LDH 309IU/l, BUN 13.8mg/dl, CRE 0.65mg/dl, CRP 1.98mg/dlであった。

2. 治療と経過：初診時より clarithromycin (CAM) 400mg/day の内服を開始し、後日にデブリドマンが施行された。3週間後に症状の改善が見られなかったことから800mg/dayに増量したところ潰瘍は顕著に縮小し、皮下膿瘍と潰瘍は消失した。投与終了予定前の1週間は、moxifloxacin (MFLX) 400mg/dayを併用し、3か月間の抗菌薬投与は終了し、略治となった。その後の再発は認められていない。

[症例2]

患者：8歳・児童

主訴：潰瘍、皮下硬結と下腿全体の腫脹

既往歴：無し

特記事項：海外渡航歴なし、イヌを屋内で飼育。

現病歴：2010年9月下腿外側の刺虫症・痒疹で、他院に通院し、minocycline (MINO) による加療を

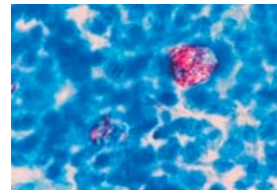


図2-1

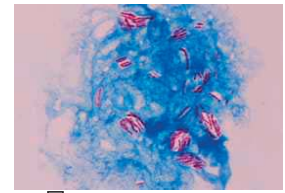


図2-2

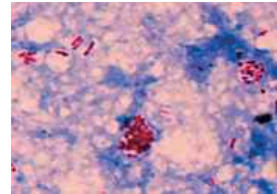


図2-3

症例1
耳介

症例2
左下肢

症例3
手背

図2 組織スタンプ標本の Ziehl-Neelsen 染色にて集塊を示す

受けていたが軽快せず、11月には潰瘍を形成、12月末には下腿全体が腫脹したことにより当院皮膚科に紹介、受診となった。初診時、直径0.8cmの潰瘍と周囲に3cmの皮下硬結、遠位に圧痛を伴う変色した皮下硬結が数ヶ所と下腿浮腫があった（図1-2）。体表超音波検査では、潰瘍は深さ0.5cm、炎症は、近位は表層側まで、遠位になるにしたがって皮下のみに認められ、20cm \times 1.3cmの広範囲に及ぶものであった。全身状態は良好であり、対側には皮疹は無かった。細菌検査は、初診時スワブにて潰瘍部の拭い液が採取され、一般細菌と真菌培養は陰性であった。翌2011年1月の再診時もスワブにて提出され、MSSAを検出した。この時の病理組織診断が、抗酸菌を疑う所見であったことから、スワブを増菌していたチオグリコレート培地（BD）を再検し、極わずかに抗酸菌を認めた。1週間後の来院時に組織の Ziehl-Neelsen 染色を行ない、症例1と同様の集塊形成をした抗酸菌を認めたため、*M. ulcerans* が推察された（図2-2）。直ちに検体から抗酸菌 DNA の検出と遺伝子解析を試み、“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”と同定した。

1. 血液検査所見：WBC 7,900/ μ l, RBC 4.38 \times 10⁶/ μ l, Hb 12.3g/dl, Plt 37.3 \times 10⁴/ μ l, AST 25IU/l, ALT 12IU/l, LDH 243IU/l, BUN 16.2mg/dl, CRE 0.36mg/dl, CRP 0.19mg/dl, IgG 862mg/dl, IgA 79mg/dl, IgM 165mg/dlであった。

2. 治療と経過：治療は、clarithromycin (CAM) ドライシロップ10%小児用330mg/dayを開始した。44日目からは、tosufloxacin (TFLX) 細粒小児用260mg/dayとMINO顆粒2%を90mg/dayの2剤併用に変更し、94日目からは、TFLXとCAMドライシロップの2剤併用に変更、100日目からは、TFLXとCAMさらにrifampicin (RFP) 150mg/dayを追加して、3剤併用療法を開始した。130日目以降に、4回にわたるデブリドマンが実施

された。潰瘍は消失，壊死は縮小して癬痕化してきているが，20ヶ月目に癬痕部から浸出液が認められた。この塗抹及び培養検査は陰性であった。治療期間は，24か月間におよび，現在は，経過観察中である。

〔症例3〕

患者：69歳・女性

主訴：手背の潰瘍を伴う結節

特記事項：熱帯魚，ペットの飼育経験なし，海外渡航歴なし

既往歴：慢性膝炎にて近医内科に通院中。

現病歴：2011年3月初旬，畑仕事と草むしりをした翌日に手背の刺し傷に気が付き，その後，痛みと腫れが出現した。近医にて cefdinir (CFDN) と MINO の投与による加療を受けていたが，痛みは軽減されず，結節は徐々に大きくなり，1か月後には，眠れないほどの強い痛みを感じたことから，4月中旬，当院受診となった。来院時には左手背の第5指付け根に潰瘍を伴う直径2cmの結節があった（図1-3）。体表超音波検査では，1.3cm×0.8cm，深さは，0.9cmに及ぶ炎症所見があった。細菌検査室には，初診時に皮膚組織のスタンプ標本が提出され，症例1と同様に集塊形成をした抗酸菌が認められたことから，*M. ulcerans* が疑われることを臨床に報告した。

病理組織診断は，真皮の浅層から皮下脂肪組織に至る広範囲な凝固壊死が認められ，Ziehl-Neelsen染色を施行し抗酸菌感染症と診断された。

1. 血液検査所見は，WBC 6,300/ μ l，RBC 3.96

$\times 10^6$ / μ l，Hb 12.3g/dl，Plt 24.7×10^4 / μ l，AST 18IU/l，ALT 11IU/l，LDH 187IU/l，BUN 12.2 mg/dl，CRE 0.79mg/dl，CRP 0.02mg/dl 以下であった。

2. 治療と経過：CAM 400g/day と MINO 50mg $\times 2$ /day の内服を開始し，初診日より25日目の5月中旬に入院のうえ，筋膜直上まで潰瘍切除手術が施行された。1週間後に退院となり，その2か月後に切除箇所に分層植皮術が行われた。手術後は，CAM 400g/day と LVFX 500mg/day の併用投与が開始され，治療終了予定前の1ヶ月間は，さらにRFPを追加して12月末で投与は終了した。治療・投薬期間は8ヶ月間であった。その後の再発は認められていない。

II. 細菌学的検査

2007年，症例1の初診時，耳介と耳後の潰瘍性病変のスタンプ標本の Ziehl-Neelsen 染色にて不定形な抗酸菌が丸い集塊形成をして散在している像を認めた（図2-1）。NTMが疑われつつも35℃のみで培養を開始し2週間経過観察したが，集落形成は認められなかった。そこで凍結保存の膿汁から直接に16S rRNA 遺伝子のシーケンス解析とその他の遺伝子領域をPCR解析した結果，“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”であることが判明した（図5）。直ちに培養温度を27℃に変更し，再び培養を行なった結果，8週間培養後に数コロニーの発育を認めた。つづく2症例も初期の組織検体の Ziehl-Neelsen 染色において，集塊形成をしている特徴的な様子が観察

表1 “*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*” の細菌学的特徴

		症例1.	症例2.	症例3.
発育温度とコロニー形成期間	27℃	8週間	25日間	30日間
	30℃	8週間	25日間	30日間
	35℃	一部*1	陰性	一部*2
集落の形状		R型	R型	R型
着色暗所	暗所	黄色	黄色	黄色
	光照射	黄色	黄色	黄色
16S rRNA Sequence	<i>M. ulcerans</i>	一致	一致	一致
マイコラクトン産生遺伝子 (pMUM001) <i>M. ulcerans</i> subsp. <i>shinshuense</i>		有り	有り	有り

・使用培地は，血液寒天培地，7H11寒天培地，3%小川培地

・検体の前処理は無し

*1：5%炭酸ガス下，35℃，7H11寒天培地にのみ発育

*2：5%炭酸ガス下，35℃，血液寒天培地にのみ発育

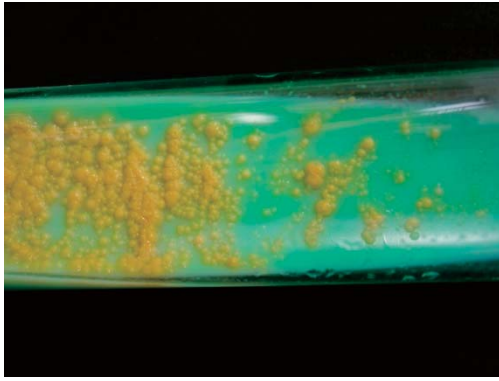


図3 3%小川培地, 30°C, 2か月間培養



図4 血液寒天培地, 30°C, 30日間培養



図5 Middlebrook 7 H11寒天培地, 30°C, 30日間培養

されたことにより (図2-2, 2-3), “*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*” を疑い, 1例目と同様に検体から直接に遺伝子解析を行ない本菌であることを確定した。

検体は, グラム染色にて一般細菌が認められなかったことから前処理をすること無く直接, Middlebrook 7 H11寒天培地 (BD), 3%小川培地 (日水製薬) とヒツジ血液寒天培地 (BD) に塗布し, 27°C, 30°C, 35°C で培養を開始し, 約1ヶ月でコロニーが形成された。27°C と30°C では, コロニーの発育状態に差は無く, 良好に発育した。35°C の通常培養ではコロニーは形成されなかったが, 35°C の5%炭酸ガス培養下にて, 症例1はMiddlebrook 7 H11寒天培地, 症例3は血液寒天培地上にコロニーを形成した (表1)。“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*” の至適発育温度は, 25°C (室温) から32°C の低温状態であり, 検体からの初代分離培養期間は1ヶ月から2ヶ月を必要とした。また, 鏡検にて多量の菌体が確認できるものの, コロニー形成数は, 少量であった。一方, コロニーからの再分離は, 容易であり2週間前後でコロニー形成が確認できた。小川培地上でのコロニーの形状は, ラフ型の黄色コロニー (暗発色菌) であり (図3), 血液寒天培地とMiddlebrook 7 H11培地上では, 平坦な膜状の白色コロニーであった (図4, 5)。発育したコロニーをDNA-DNA hybridization (DDH法: 極東製薬) を用いて同定

した結果は, *M. marinum* と判定された。

Ⅲ. 遺伝子解析

3症例は, 組織から直接的に16S rRNA シークエンス解析を試みた結果, ヒトに病原性を示す抗酸菌のうち *M. ulcerans* と “*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*” のみが保有する遺伝子である *IS2404*, *IS2606*, *esxA gene* を認めた。さらに本菌に特異的な遺伝子である *uhp-men* も検出された。一方, *uhp-1* と *uhp-2* は検出されなかった。以上の解析結果から3症例は “*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*” によるブルーリ潰瘍と診断された^{3), 4)} (図5)。

Ⅳ. マイコラクトン産生性

免疫抑制型の毒性脂質マイコラクトンの産生性は, 3症例のいずれの菌株からもマイコラクトン産生遺伝子を保持するプラスミド pMUM001が検出された。またプラスミド上の遺伝子8種類 (repA, parA, STPK, mis(load), misA(II), Tell, KSIII, P450) の内, STPK (セリン/スレオニンプロテインキナーゼ遺伝子) 以外は検出された。このパターンは, 本邦で報告されている “*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*” の特徴と一致する性状であった。なお, アフリカやオーストラリアの *M. ulcerans* 株はこれら遺伝子の全てが検出されるのが特徴である⁵⁾ (図6)。

Ⅴ. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は, ブロスミック NTM (極東製薬) を用いて, 添付の説明書に従って実施した。また, キノロン系薬剤はドライプレート “栄研” を用い, ブロスは Bact Middlebrook ADC enrichment (BD) を加えた Middlebrook 7 H 9 broth (BD) を使用した。30°C, 1週間培養を行なった後に MIC

Conventional PCR for *Mycobacterium ulcerans* (*IS2404*, *IS2606*, *uhp-1*, *uhp-2*, *uhp-mem*, *esxA* gene)

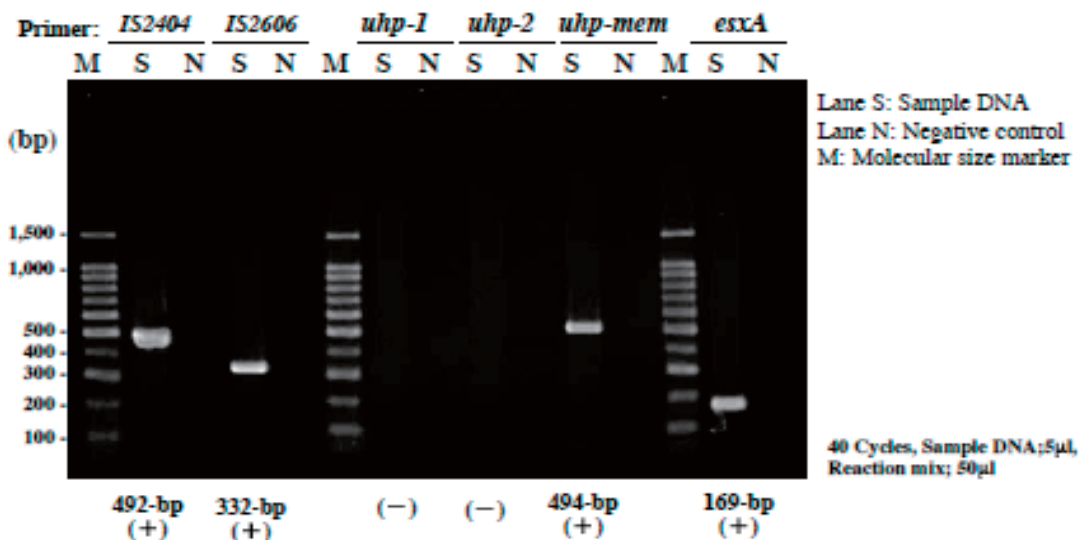


図6 PCR法による“*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*”の同定

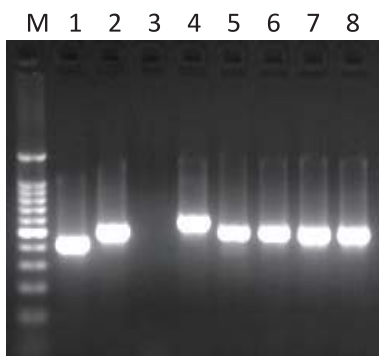
表2 “*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*” 3株の薬剤感受性試験結果

抗菌薬	MIC μ g/ml	抗菌薬	MIC μ g/ml
streptomycin (SM)	0.25 — 0.5	levofloxacin (LVFX)	0.5
ethambutol (EB)	0.25 — 1	moxifloxacin (MFLX)	0.12 — 0.25
isoniazid (INH)	8 — 16	ciprofloxacin (CPFX)	0.25 — 0.5
rifampicin (RFP)	≤ 0.03	tosufloxacin (TFLX)	0.12 — 0.5
ethionamide (TH)	4 — 8	pazufloxacin (PZFX)	0.5 — 1
clarithromycin (CAM)	≤ 0.06	garenoxacin (GRNX)	0.25 — 0.5
amikacin (AMK)	0.5 — 2	prulifloxacin (PUFX)	0.5 — 1
minocycline (MINO)	2	sitarfloxacin (STFX)	≤ 0.06

値を測定した(表2)。CAMのMIC値は3菌株共に $\leq 0.06\mu\text{g/ml}$ 、RFPは $\leq 0.03\mu\text{g/ml}$ であった。また、LVFXやTFLXなどのキノロン系薬剤のMIC値は、それぞれ $0.5\mu\text{g/ml}$ と $0.12\sim 0.5\mu\text{g/ml}$ であった。

VI. 考察

本邦における *M. ulcerans* の分離は1982年に御子柴ら¹⁾が初めて報告した。その後、この分離菌は東村ら⁶⁾により詳細な検討がなされた結果、遺伝子学的には *M. ulcerans* と極めて類似しているが、生化学的性状が一部異なっていたことから亜種 “*M. ul-*



1.repA 2.parA 3.STPK
4.mls (load) 5.mlsAT (II)
6.TEII 7.KSIII 8.P450

図7 マイコラクトン産生遺伝子
を保持する pMUM001 上の
遺伝子検出

cerans subsp. *shinshuense*”とよばれている。2例目は、20年を経て2003年に安藤ら^{7, 8)}が、37歳女性の左下腿部の難治性潰瘍症例について、同定が困難であったことを報告している。2007年の当院の症例1は石井ら⁹⁾の集積データによると、本邦5例目であったが、以降は、遺伝子学的解析の充実により約30症例のブルーリ潰瘍が報告されるに至っている。本邦の報告症例には、海外渡航歴は無く、マイコラクトン産生遺伝子を保持するプラスミド上の遺伝子の違いから全て“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”であったと報告されている^{5, 6)}。

しかしながら、本邦の集積データ^{9, 10)}は、*M. ulcerans*としてWHOの集計に報告されており、諸外国の発症状況と対比して見ることが可能である¹¹⁾。アフリカでは、15歳以下の年齢の発症割合が半数近くを占め、日本やオーストラリアでは中高年に多く、15歳以下はそれぞれ19%と10%と子供が占める割合は少ない。また、発症部位はアフリカやオーストラリアでは下肢が60%弱を占めているが、日本では半数が上肢に発症している。いずれも洋服から露出している四肢が90%を占めており、稀に当院の症例1¹²⁾の様に顔から首にかけて発症した報告¹³⁾もある。水中生物の媒介や土壌にいる抗酸菌の皮膚の小外傷等を経由した感染が考えられるが、詳細な感染経路は解明されていない。

今回、我々は2007年に1症例と2011年に新たな2症例の計3例の難治性皮膚潰瘍において“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”を検出し、早期に診断できた。この早期の診断と菌の分離・培養が可能となった要因は、治療開始前の組織スタンプ標本の抗酸菌染色と組織からの遺伝子学的な検出・同定を行なったことである。通常、細菌検査室への培養の依頼の際は、症例2のようにスワブで採取されることが多

く、表面の汚染菌や2次感染の菌を原因菌として報告する恐れがある。当院の病理組織診断では福西ら¹⁴⁾のペナンのブルーリ潰瘍の報告と同様に、上皮、真皮、皮下組織などに広範囲に凝固壊死を起し、皮下組織深部に局限して増殖しているとされている。したがって、本症の診断のための検体は、病変部組織や深部組織であることが必要である。さらに、本菌は発育が緩慢であることから培養に長期間を要する。また、有効な抗菌薬投与が開始されると、速やかに特徴的な染色像は見られなくなり、培養での発育が困難となる。以上のことから、組織の遺伝子学的検査を実施することは、早期の診断と治療開始が可能になるだけでなく、培養条件の変更にも有効である。すなわち、“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”の至適発育温度である27～30℃での培養に変更することができ、菌株の分離が可能となり、ひいては薬剤感受性試験を実施して、治療抗菌薬の選択に寄与できる。

3症例から分離された菌株は本邦の検査室で抗酸菌の同定に頻用されているDDH法で*M. marinum*と判定された。東村らも、*M. marinum*と“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”は、塩基配列が極めて類似しているためDNA homology分析だけでは、両者を鑑別することができないとしている^{8, 10)}。しかし、組織の検鏡で*M. marinum*は、“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”と比較して菌体は明らかに大きく、単在している。また、培養では、発育速度は*M. marinum*では約2週間で“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”の約4週間と比較して早い。さらに、コロニーの性状にも両者には違いがある。すなわち、*M. marinum*は光発色性であるため、フラン器から出した直後は、乳白色のスムーズ型であるが、光照射後には黄色となり、光沢と粘調性のあるコロニーである。一方、“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”では暗発色性で光沢の無い黄色のラフ型コロニーであるため、*M. marinum*との鑑別が可能である。

症例1と3は、患部に自発痛を感じたことから、発症から当院への受診までの期間が約1か月であり、潰瘍は限局的であった。一方、症例2は、自発痛が無いためか、受診するまでに4ヶ月を要しており、初診時には、下腿に1箇所の潰瘍、数か所の皮下硬結など炎症が広範囲に広がっていた。中永らによる本邦のブルーリ潰瘍19症例の報告^{9, 15)}では、ほぼ半数が無痛性であった。これは“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”の産生する菌体外毒素・毒性脂質のマイコラクトンが、皮膚や皮下組織の慢性の壊死性潰瘍を悪化させ、さらに末梢神経に作用し痛みを麻痺させるためとされている。さらに、治療が長期化した原因として、マイコラクトンの毒性による広範囲な凝固壊死の形成とこの壊死性病変に伴って抗菌薬の移行が不良になることが推測される。

よって、痛みを伴わない潰瘍の場合は皮下での壊死が広範囲に悪化し重症化する恐れがある。

ブルーリ潰瘍の治療抗菌薬について、WHO^{(11), (16)}ではRFPとSMの併用4週間、次いでRFPとCAMの併用を4週間投与することを推奨している。薬剤感受性試験結果の報告^{(17), (18)}でも、各々の薬剤のMIC値は低いが、治療が長期にわたるため、複数抗菌薬の併用が勧められている。当院においても、CAMを中心にキノロン剤やRFPを併用したことによって、良好な治療経過をたどっている。

当院でこれまでに経験した*M. fortuitum*, *M. avium*, *M. chelonae*等の皮膚抗酸菌症⁽¹⁹⁾は、免疫能の低下を伴う基礎疾患を有していたが、今回の“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”による3症例においては、免疫能の低下を伴う基礎疾患を有していなかった。したがって、基礎疾患がない場合において、難治性の壊死性潰瘍では、“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”を原因菌の1つとして考慮する必要がある。

結語

ブルーリ潰瘍はWHOが対策を掲げるNTDであるが、日本にも存在するということが、あまり知られていない。予防に繋がる感染源、感染経路は未だに解明されていないため、患者背景を考慮した適切な検査による*M. ulcerans*の検出は、その後の疫学的解析に大いに役立つと思われる。

謝辞

今回、ご指導頂きました国立感染症研究所ハンセン病センター 石井則久先生、中永和枝先生に深謝いたします。

文献

- 1) 御子柴 甫ら：*Mycobacterium ulcerans* 類似菌による非定形抗酸菌症の1例。日本皮膚科学会雑誌。92。557-565。1982
- 2) 團 純一郎ら：ブルーリ潰瘍 *Mycobacterium ulcerans* 感染症)の神経障害における Mycolactone の役割。Jpn J Lepr80。5-10。2011
- 3) Brian S.Ranger *et al.* : Globally distributed Mycobacterial fish pathogens produce a novel plasmid-encoded toxin Macrolide, mycolactone F. Infection and Immunity. 11. 6037-6045. 2006
- 4) Nakagawa K *et al.* : “*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*” Isolated from a skin Ulcer Lesion *J. clin. Microbiol*45 : 3840-3843. 2007
- 5) 大楠 清文：臨床微生物検査実践ガイド。医歯薬出版 2013
- 6) 東村 道雄ら：日本人女性に皮膚潰瘍を作った *Mycobacterium ulcerans* 類似菌。結核。64。691-697。1989
- 7) 安藤 昭子ら：分子生物学的に同定が困難であった *Mycobac-*

- terium shinshuense*. 新潟臨技会誌 Vol45 No4 143-150 2003
- 8) 鹿住 祐子ら：皮膚から分離された *Mycobacterium shinshuense* の細菌学的解析。結核79。7。437-441。2004
- 9) 石井 則久ら：ブルーリ潰瘍。日本臨床皮膚科医会雑誌 Vol 29. No3 376-383. 2012
- 10) Nakagawa K *et al.* : Laboratory procedures for the detection and identification of cutaneous non-tuberculous mycobacterial infections. *J.Dermatology* 401-92012
- 11) WHO: Media center Fact sheet N199 August 2012
- 12) 蓮見 純平ら：*Mycobacterium shinshuense* による頸部皮膚潰瘍の一例。小児感染免疫。Vol. 23 No. 4363-367
- 13) 鈴木智子ら：“*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*”による皮膚潰瘍。皮膚病診療30 2 145-148
- 14) 副西 征子：ブルーリ潰瘍の病理組織学的所見—西アフリカ・ベナンの症例。Jpn.J.Leprosy 71. 179-186 2002
- 15) Nakagawa K *et al.* : Nineteen cases of Buruli ulcer diagnosed in Japan from 1980 to 2010. *J Clin. Microbiol.* 11. 3829-3836 2011
- 16) WHO: Provisional guidance (Buruli ulcer). WHO. Geneva. 2004
- 17) H.S.Thangaraj HS, *et al.* : In vitro activity of CPIX, SPFX, OFLX, AMK. RFP against Ghanaian isolates of *Mycobacterium ulcerans* JAC45. 231-233 2000
- 19) Baohong Ji *et al.* : In vitro and in vivo activities of PFP, SM, AMK, MFLX, R207910, LZD, PA-824 against *Mycobacterium ulcerans* ACC Vol. 50, No 6 1291-1926
- 20) 川合さなえら：非結核性抗酸菌による皮膚感染症の3例。皮膚科の臨床。49。479-483。2007

当院における新生児（未熟児を含む）脳波検査の現状

石郷 景子¹⁾ 中島 直美¹⁾ 澤村 聖子¹⁾ 大橋 依子¹⁾ 樋口 修¹⁾
伊藤 真隆²⁾ 鈴木 俊彦²⁾ 兵藤 玲奈²⁾ 棚橋 義浩²⁾

Key words

動睡眠 静睡眠 低振幅不規則パターン (LVI) 混合パターン (M) 高振幅徐波 (HVS)
交代性パターン (TA)

I. はじめに

新生児集中治療室 (NICU) に入院する新生児 (未熟児を含む) は、さまざまな病気や病態によって中枢神経系に侵襲を受ける可能性がある。脳の器質的な状態はCT検査やMRI検査によって診断することは可能だが、新生児の中枢神経の発達を把握するためには脳波検査は、大脳機能を忠実にかつリアルタイムに反映し敏感ですぐれた検査法である。当院では新生児の脳波検査のフォローを10年以上前から実施しているのでその現状を報告する。

II. 新生児の脳波検査の目的・意義¹⁾

早産出生や仮死出生においては、新生児脳症をはじめ、児の将来に重要な影響を及ぼす状態をしばしば経験する。新生児では将来寝たきりになるような脳障害があっても、新生児期には元気に手足を動かすことができる。したがって治療を早く開始するた

めにも脳波検査は重要である。主な疾患は、低酸素性虚血性脳障害や新生児けいれんや発作などの鑑別に用いられる。

III. 新生児の睡眠脳波

新生児とは満期産 (40週以上) とそれよりも早期の出産児をふくんでいる。新生児の中枢神経系の発達は、生後の日数よりも受胎後の期間によって定まってくるので、受胎後期間を考慮する必要がある。例えば生後2ヶ月の場合、受胎期間が40週であれば新生児の睡眠判定で行い、受胎期間が48週であれば小児の睡眠判定で行なう。また、受胎週数によってかなりの変化をもたらす。満期産の脳波像について解説する。

1. 新生児の睡眠段階

新生児の睡眠段階は大きく分けて7つに分類される²⁾ (表1)。新生児の睡眠は成人と異なりREM睡眠から出現する。

表1 睡眠・覚醒状態の定義

	開閉眼	体動	眼球運動	呼吸	頤筋筋電図	脳波
動睡眠	閉眼	+	+	不規則	-	L, M, C
静睡眠	閉眼	-	-	規則的	+	A, H, D
不定睡眠	閉眼	動・静両睡眠の定義に当てはまらない睡眠				
覚醒	開眼					
入眠	開閉眼/半開眼					
啼泣						

L: 低振幅不規則パターン, M: 混合パターン, C: 連続脳波,
A: 交代性脳波, H: 高振幅徐波パターン, D: 非連続脳波

1) 大垣市民病院 医療技術部 診療検査科 生理機能室
2) 大垣市民病院 小児循環器・新生児科

1) 動・REM睡眠 (active-REM sleep)

成人のREM睡眠に相当し、閉眼して安静にしているが大きな体動、笑い顔、しかめ顔、吸啜運動、ゆっくりと体をねじる運動などが挿間性に出現する。急速眼球運動、発声、心拍・呼吸の不規則などがみられ、脳波は低振幅不規則パターン(LVI)、混合パターン(M)、まれに高振幅徐波が出現し筋電図は低振幅である。

LVIパターン…10~30 μ Vの不規則な徐波に20~50 μ V、4~7Hzの半律動的な θ 波や10~20 μ V、8~13Hzの α 波を含み全領域で同様の活動を示す(図1)。

Mパターン…低振幅な不規則波に30~50 μ Vの中~高振幅徐波の混入がみられ、前頭部に優位であるが、周期性はない(図2)。

2) 静睡眠 (quiet sleep)

成人のNREM睡眠に相当し、閉眼して静かに眠っている。体動はないが、筋電図は比較的高振幅で、呼吸は規則的である。脳波は高振幅徐波パターン(HVS)、交代性脳波(trace alternant:TA)、あるいはMが出現するが、TAパターンが特徴である。

HVSパターン…100~150 μ V、0.5~3Hzの高振

幅な多形徐波と50~80 μ V、3~5Hzの不規則な波が持続的に出現する(図3)。

TAパターン…100~150 μ V、1~3Hzの高振幅な多形徐波に4~7Hzの θ 波を主体とした持続時間3~8秒の高振幅部分と、10~30 μ Vの不規則な波に、20~50 μ V、3~6Hzの θ 波と20~50 μ V、8~13Hzの α 波を含む持続時間4~8秒の低振幅部分が交代して繰り返す(図4)。

3) 中間睡眠 (intermediate sleep)

動睡眠、静睡眠のどちらにも判定できない状態で、不定睡眠(indeterminate sleep)あるいは移行睡眠とも呼ばれる。

4) 啼泣

5) 動覚醒 (active awake)

6) 静覚醒 (quiet awake)

7) 入眠 (drowsiness)

新生児では各パラメータが不揃いで覚醒、睡眠などの状態を決定しにくいことが少なくないが、Parmeleeら³⁾は眼球運動、呼吸、体動の3パラメータがそろって条件を満たすものを各睡眠状態とし、その他を不定睡眠としている。正常産児の睡眠サイクルと脳波パターンを図5に示す⁴⁾。

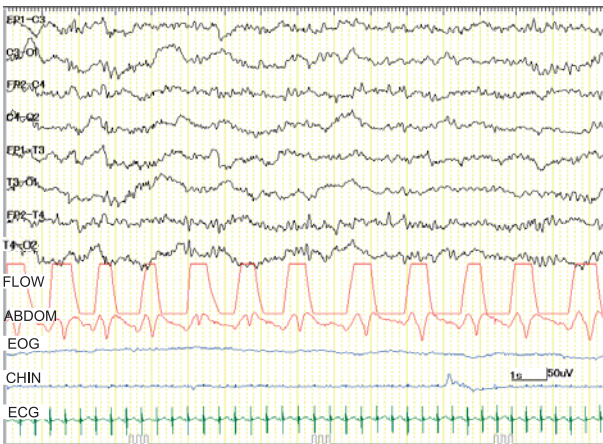


図1 LVI (40週2日)

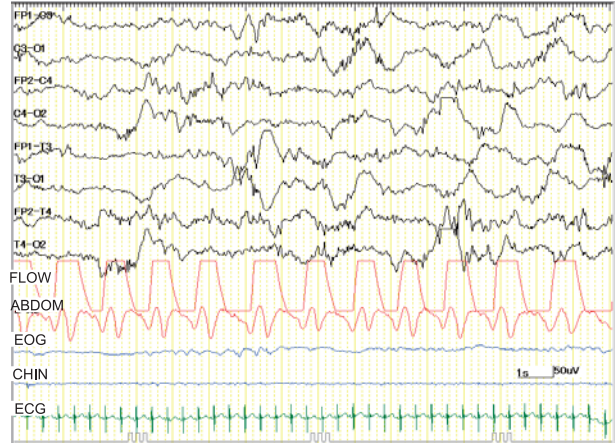


図3 HVS (40週2日)

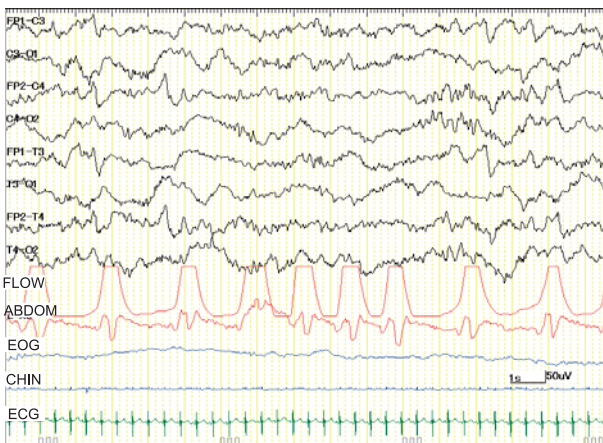


図2 M (40週2日)

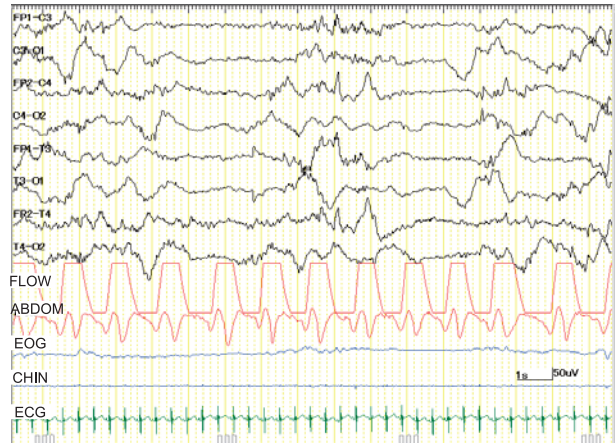


図4 TA (40週2日)

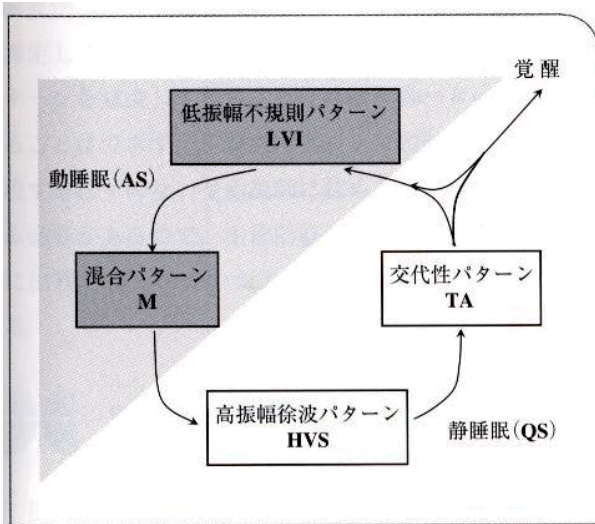


図5 正常産児の睡眠サイクルと脳波パターン⁴⁾

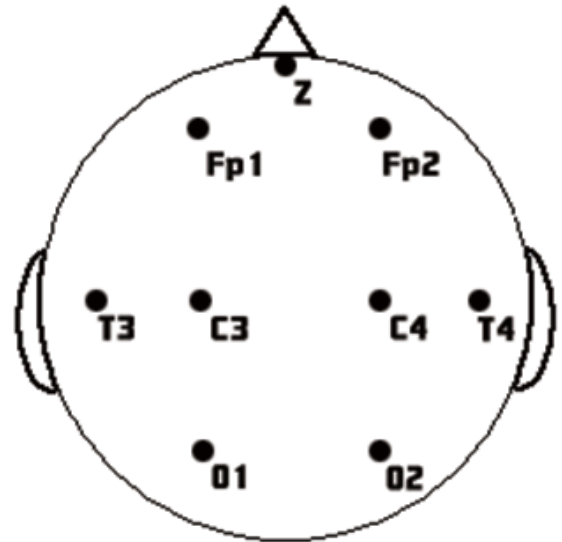


図6 電極位置

IV. 対象および方法

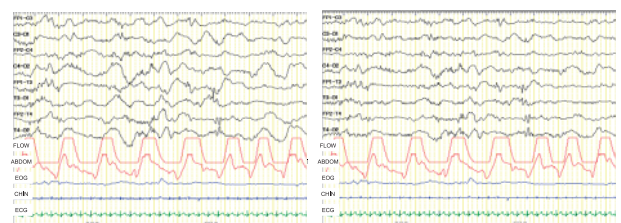
対象は2004年7月から2011年4月までに当院NICUに入院した77名(男児37名, 女児40名). 受胎後齢(以下GA)23週0日から31週4日(平均GA26週1日±2週1日). 体重342から1288g(平均739±188g). 方法は出生後2, 3日中に1回目の脳波依頼があり, 特記事項に「脳波フォロー」と記載があったら, GA32週までは偶数週2週間毎, GA40週までは4週間毎に検査を実施する.

V. 検査条件および注意点

検査条件としては, ①自然睡眠が絶対条件である. 検査前に授乳(お腹をいっぱい)を済ませてもらうことが重要である(睡眠脳波での判定になるからである). ②装着電極はFp(前頭極部), C(中心部), T(側頭中央部), O(後頭部)の双極誘導(図6)に眼球運動, 頤筋電図, 心電図が原則である. 32週以降でレスピレータを使用していないければ鼻呼吸センサを装着する. またコットに移動していれば腹呼吸センサを追加装着する(図7). ③記録条件は時定数0.3Hzで時定数を下げると徐波に歪みをもたらす判定ができなくなるためである(図8). Hi cutは30HzまではOKとした(表2). 記録時間は30分以上とし, 新生児期での睡眠周期を考慮しているためである. 検査時の注意点としては, ①接触抵抗をおとすのにアルコールは禁止とし, 微粒の研磨剤を使用する. ②ペーストは柔らかいものを使用する. ③電極は滅菌したものを使用する(図9). ④高頻度振動換気人工呼吸器の振動をとめてもらう.



図7 鼻呼吸と腹呼吸センサ(日本光電社製)



左: 時定数0.3 右: 時定数0.1
図8 時定数の違いによる脳波波形の変化



電極は, 右半球, 左半球, とその他の部位に分けて, ガス滅菌をかけて使用している.

図9 電極位置

表2 ポリグラフの記録条件

指標	時定数	高周波フィルター	GAIN(μ V/m)
脳波	0.30	120, 60, 30	10
心電図	1.00	60	75
呼吸センサ	2.00	30	20
眼球運動	2.00	30	20
頤筋筋電図	0.03	120	10

VI. 検査結果

脳波の実施回数は、3から7回（平均 5.01 ± 1.16 回）。脳波上正常と判定された児は33名（42.9%）、異常と判定された児は44名（57.1%）。異常と判定された児の内訳は、すべての脳波で異常と判定された児1名、異常があったが最終的に正常と判定された児3名、途中から異常のままの判定された児13名、途中より異常があったが最終的に正常と判定された児27名であった（図10）。異常を認めた判読結果の内容は、① δ 波の振幅の低下、週数の割に高振幅や波形の変形。②高振幅 θ 波の残存。③ δ brushの残存。④連続性パターンの減少。⑤HVS（high voltage slow）の不明瞭。⑥交代性パターン（TA）の低振幅部分の長さ、など。ほとんどが週数相当に見合わない未熟な脳波であった。

VII. 考察

周期性脳障害では、背景脳波は予後と密接な関係にあり、それぞれの脳波所見の持つ意味は脳波の記録時期によって異なる。また、脳波は侵襲を受けた時から時間の経過とともに回復するので、回復の速度によって予後は異なり、同じ程度の活動低下を示していても後になるほど脳障害の程度は大きくな

る。早川らも急性脳侵襲を受けた場合脳波活動は鋭敏に脳機能抑制の影響を受け、侵襲が除去されると速やかに活動は回復すると言っている。新生児は侵襲と回復が週単位で脳波に反映されるとも言っている⁵⁾。今回の結果を見てもフォローしている間にも判定が変化しているため1回の脳波では不十分であることがわかる。

VIII. 結語

当院の新生児の脳波検査の現状を報告した。受胎後週数が少なければ頭部も小さく柔らかいため電極装着をはじめ大変なことが多いが、脳波をフォローすることでより児の発達や成長が記録されることは大きい。また、脳波検査の結果だけでは判定できない分を今後の児の成長を追跡しながら見ていきたい。

参考文献

- 1) 奥村彰久, 新島新一他: 総論 なぜ新生児脳波を記録するのか, 誰でも読める新生児脳波 新生児脳波の読みかた&考えかた, 3-4, 診断と治療社 東京 2008年
- 2) 渡辺一功: 第1章 新生児の状態, 新生児脳波入門, 3-33, 新興医学出版社 東京 2002年
- 3) Parmelee, A.H., Jr., Wenner, W.H., Akiyama *et al.*: Sleep states in premature infants, 70-77. *Develop. Med. Child Neurol.*, 9, 1967
- 4) 奥村彰久, 新島新一 他: 総論 睡眠段階と脳波パターン, 誰でも読める新生児脳波 新生児脳波の読みかた&考えかた, 8-16, 診断と治療社 東京 2008年
- 5) 奥村彰久, 新島新一他: 総論 新生児脳波の特徴, 誰でも読める新生児脳波 新生児脳波の読みかた&考えかた, 5-7, 診断と治療社 東京 2008年

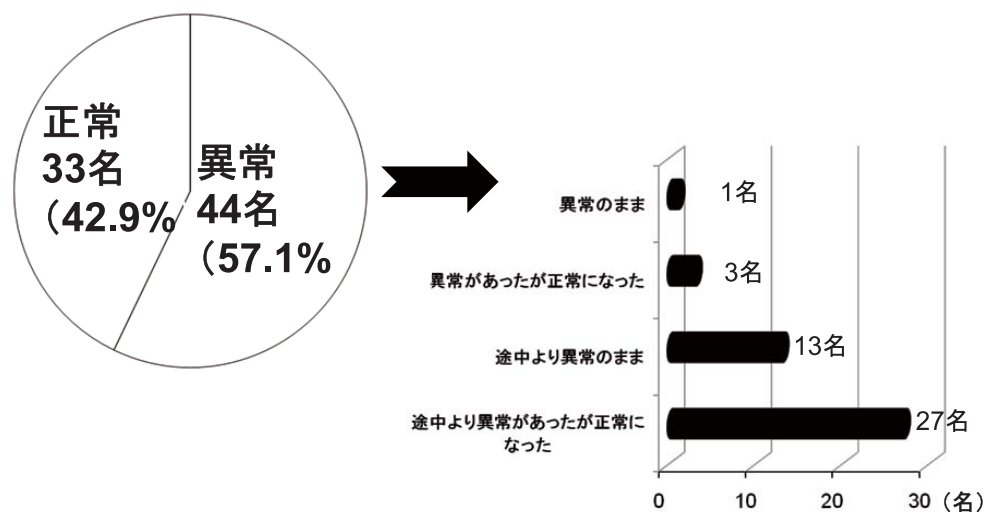
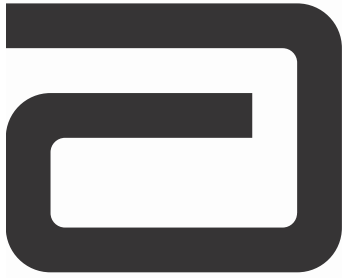


図10 脳波の判読結果

廣告協贊



ARCHITECT®

インテグレーションー先進のハイブリットシステムー

“迅速・簡単・効率 = 生化学検査+免疫検査”

ARCHITECT®
アナライザー i1000SR
(生化学測定オプション
c4000)

ARCHITECT®
アナライザー i2000SR
(生化学測定オプション
c8000)

ARCHITECT®
アナライザー i2000SR
(生化学測定オプション
c16000)



ARCHITECT®アナライザー i1000SR 医療機器製造販売届出番号:12B1X00001000005
ARCHITECT®アナライザー i2000SR 医療機器製造販売届出番号:12B1X00001000004

アボット ジャパン株式会社
診断薬・機器事業部
〒106-8535 東京都港区六本木1-9-9 六本木ファーストビル
電話 (03) 3589-9441 (大代)
<http://www.abbott.co.jp>

 **Abbott**
A Promise for Life

1933年創業以来、医療と共に!



SINCE1933

MEDICALINSTRUMENTS SCIENTIFICINSTRUMENTS



医 療 機 器

病医院諸設備

研 究 機 器

福祉介護機器

井上精機株式会社

本 社 〒500-8687 岐阜市玉宮町1-11
TEL(058)265-4501(代) FAX(058)262-7858
高山(営) 〒506-0058 高山市山田町290-1
TEL(0577)32-6277(代) FAX(0577)32-5689
大垣(営) 〒503-0852 大垣市禾森町4-2019-13
TEL(0584)82-4384 FAX(0584)82-4386

見つける。見わける。見つづける。



全自動免疫測定装置

HISCL[®]-2000*i*

医療機器製造販売届出番号:28B2X10007000089



迅速測定

液相での初期抗原抗体反応とアビジン-ビオチン反応による磁性粒子への迅速なトラップ反応により、反応時間17分を実現しました。



コンティニアスアッセイ

試薬交換による測定中断のないコンティニアスローディングシステムを搭載。さらに、各種共通試薬を2個設置可能なリザーブシステムの採用により、連続測定を可能にしました。



微量検体

圧力センサによる吸引異常検知などの各種監視機能により、微量でも信頼性の高い検体分注システムの構築に成功しました。(検体量:10~30 μ L/テスト)



高感度

酵素にアルカリホスファターゼ、化学発光基質に強い発光強度を示すCDP-Star[®]を採用。高い感度を有する測定系を実現しました。

●パンフレット、資料は下記にご請求ください。

We Believe the Possibilities.

製造販売元

シスメックス株式会社

本社 神戸市中央区脇浜海岸通1-5-1 〒651-0073

国内事業推進本部 Tel 078-992-6124

支店 仙台 022-722-1710 北関東 048-600-3888 東京 03-5434-8550 名古屋 052-775-8101 大阪 06-6337-8300 広島 082-248-9070 福岡 092-411-4314
営業所 札幌 011-700-1090 盛岡 019-654-3331 長野 0263-31-8180 新潟 025-243-6266 千葉 043-297-2701 静岡 054-237-4815 金沢 076-221-9363
京都 075-801-3196 神戸 078-251-5331 高松 087-823-5801 岡山 086-224-2605 鹿児島 099-222-2788

www.sysmex.co.jp



マネジメントシステム認証取得
Certified Management System
・ISO 9001, JIS Q 9001
・ISO 14001, JIS Q 14001
・ISO 13485

注: 活動及びサイトの運営範囲は規格により異なります。
詳細は www.tuv.com の ID 0910589004 を参照。
Note: Scopes of sites and activities vary depending on the standard.
For details, refer to the ID 0910589004 at www.tuv.com

平成24年度 岐阜県臨床検査技師会誌

発行者 社団法人 岐阜県臨床検査技師会 代表者 北村 顕

編集 社団法人 岐阜県臨床検査技師会 代表者 石郷 潮美
近藤 眞一

発行元 社団法人 岐阜県臨床検査技師会
〒500-8384 岐阜市藪田南3丁目5番地10
コスタ岐阜県庁前ビル6階603号室
TEL 058-275-5596 FAX 058-213-0220

印刷 西濃印刷株式会社
〒500-8074 岐阜市七軒町15番地
TEL 058-263-4101 FAX 058-263-4104
