

第 44 回日本小児感染症学会教育講演

遺伝子解析技術を活用した感染症診断の実践*

大 楠 清 文** 江 崎 孝 行**

はじめに

近年、PCR 法や LAMP 法などの核酸増幅法を用いた感染症の迅速診断技術が急速な進歩を遂げている。感染症の原因微生物検索における遺伝子解析技術を用いた診断には、①臨床材料から直接、病原体に特徴的な遺伝子領域や病原因子にかかわる遺伝子を検出する、②培養にて分離された菌株の菌種同定、もしくは病原因子や耐性遺伝子を検索する、の 2 つに大別される。本稿では狭義の感染症診断としての前者、臨床検体から分離培養を経ることなく病原体を検出する系を中心として、現状の遺伝子検査の特徴とピットホールを整理しながら、実際に解析を経験した症例を交えて、遺伝子解析技術の活用のコツとノウハウについて紹介したい。

I. 感染症診療において遺伝子検査は追加テスト「Supplementary test」の位置づけ

遺伝子解析技術¹⁾は、検体から直接微量な病原体の遺伝子を増幅・検出して、感染症の迅速診断と治療に貢献しているのみならず、分離菌株の迅速な菌種同定²⁾、病原因子や薬剤耐性遺伝子の検出にも威力を発揮している。しかしながら、遺伝子解析技術は臨床感染症検査のツールの一つにすぎない。よって、遺伝子解析技術が今後どのように進歩しようとも、臨床情報の活用、塗抹鏡検所

見、簡便な迅速抗原検出法、培養法、そして薬剤感受性試験の日常検査が「主役」であることはいささかも変わらない。遺伝子検査が「主役」を引き立てる「名脇役」へと進化して患者診療へ貢献するには、遺伝子検査の利点のみならず欠点や限界を把握して、活用のコツとノウハウを熟知することが極めて重要である。

II. 遺伝子検査のピットホール

1. どんなに高感度な検出系でも、ないものからは何も検出できない

遺伝子検査は、塗抹鏡検や抗原検出法に比べて感度が高いのは事実である。しかしながら、感度が高いので検査材料の質が低下してもいいというわけではない。適切な時期に良質な材料の採取が何より重要であることは、遺伝子検査といえども何ら変わりはないことに留意すべきである。

2. 核酸増幅法の検出感度はそれほど高くない

遺伝子検査は高感度なので、血液から直接に病原体の DNA を増幅することができるように思うかもしれない。しかし、一般的な PCR 法では、検体 1 ml 中に 100 菌体 (コピー) の核酸がないと検出できないのである (図 1)。すなわち、重症敗血症でなければ、血液から直接に病原体の DNA を増幅することは困難である。したがって、積極的な血液培養検査の実施が極めて重要である。

* Practical approach to molecular diagnostics of infectious diseases

Key words : molecular diagnostics, conventional PCR, broad-range PCR, DNA sequencing

** 岐阜大学大学院医学系研究科病原体制御学分野 Kiyofumi Ohkusu and Takayuki Ezaki
〔〒 501-1194 岐阜市柳戸 1-1〕

3. 核酸増幅法は狙った一つの病原体しか検出できない；狙った病原体が陰性であったら，では何が原因なの？

通常の PCR (conventional PCR) では 1 対のプライマーのみで反応を行うため，検出するべき病原体をあらかじめ一つに絞り込む，あるいは具体的な複数の病原体を個別に指定する必要がある。これを培養法にたとえるならば，1 病原体しか発育しない選択培地のみを使用して検査を行うようなものである。

この欠点をカバーするべく，細菌全般，真菌全般を検出可能な broad-range PCR を活用でき

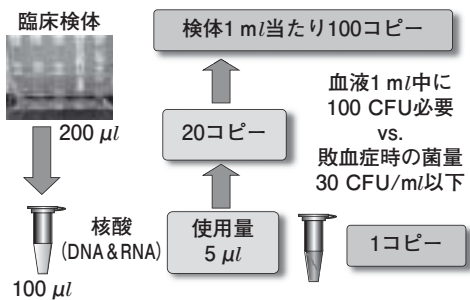


図 1 核酸増幅法の検出感度

る²⁾。すなわち，通常の PCR 法が菌種あるいは病原因子の特異的な塩基配列領域を増幅するのに対して，broad-range PCR では細菌に共通な 16S rRNA あるいは真菌の 18S rRNA 領域を増幅する(図 2)。1 組のプライマーで多種類の細菌，もしくは真菌をユニバーサルに検出できることが最大の利点である。増幅された rRNA には特定の細菌/真菌において特徴的な可変領域 DNA を含むため，その塩基配列を比較・解析することによって菌種を特定することができる。高速な自動 DNA シークエンサーの普及とあいまって，DNA 塩基配列解析による微生物の同定が約 6 時間で実施可能である。通常無菌的な検体(血液，髄液，関節液，胸水，腹水，リンパ節，他の組織や膿汁)からの微生物検出に broad-range PCR が活躍する余地は大きい。とりわけ，感染性心内膜炎，リンパ節炎のような起炎菌がバリエーションに富んだ感染症の診断において威力を発揮する。さらには，培養が困難あるいは培養できない病原体の検出，新菌種の検出・同定，未知の病原体発見においても極めて重要な役割を果たしている。具体的には，このシークエンスに基づいた手法により Whipple's disease の病原体である *Tropheryma*

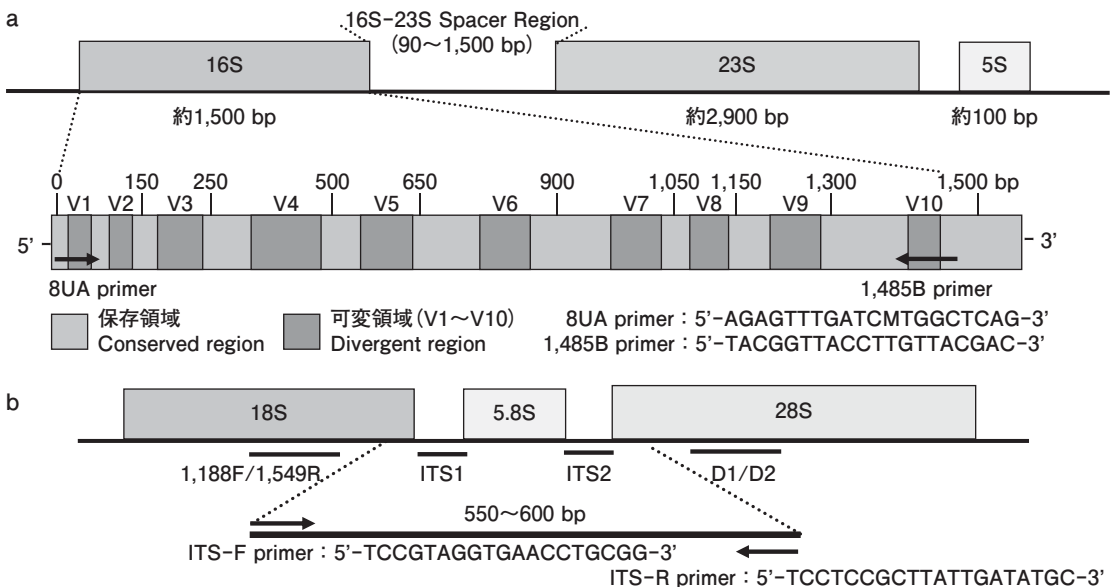


図 2 細菌/真菌の rRNA と broad-range PCR

a: 細菌のリボソーム RNA の構成と 16S rRNA の配列。b: 真菌のリボソーム RNA の構成と真菌同定に有用な領域

whipplei や猫ひっかき病(CSD)の *Bartonella henselae* が発見されたことなどがあげられる。ただし、2 菌種以上が混在する場合にはシークエンスの波形が重複するために解析が困難となる。したがって、常在菌が混入するような検体では broad-range PCR は有効ではない。

なお、ウイルス感染症の診断では、細菌や真菌のように broad-range PCR は存在しないため、臨床所見から疑われるウイルスを個別にねらった PCR 法を実施する必要がある。

III. 感染症診断における遺伝子検査の適応と実践

筆者らは、全国の医療施設にて日常検査法で同定できなかった菌株や診断に苦慮した症例の検体解析を行っている。2012 年 12 月末までの約 9 年間で、900 症例以上の臨床検体について遺伝子検査を実施した。解析結果の報告は、大半の症例で検体到着日か翌日には行っている。これらの多くの症例は、原因微生物を特定できており、診断と治療に少なからず寄与できたとの実感がある。ここでは、感染症の遺伝子検査の適応を探るうえで、実際にどのようなケースで診断に結びついたかについて提示してみたい。遺伝子診断を依頼してきた背景を 5 つのカテゴリーに分類して、小児科領域の代表的な症例を中心として、その病態や診断名と原因微生物を紹介する。

1. 抗菌薬投与後あるいは投与中で培養陰性

1) 細菌性髄膜炎

解析依頼があった 900 検体中 150 件 (17%) は塗抹、培養検査、迅速抗原検出にて診断がつかなかった細菌性髄膜炎疑いの症例であった。前医にて抗菌薬が先行投与されたため、培養で病因診断できないケースが大半であった。細菌性髄膜炎疑いのケースでは、発症年齢や臨床経過も考慮しながら解析にあたるが、基本的には、インフルエンザ菌 b 型 (Hib)、肺炎球菌、GBS、大腸菌、リステリア菌、そして髄膜炎菌の 6 菌種に特異的な遺伝子の検出を考慮する。さらに、臨床経過によっては、これら想定される菌種以外の細菌全般をカバーするために、前述の broad-range PCR も同時に実施する場合がある。細菌性髄膜炎では Hib が多く、次いで肺炎球菌、GBS、大腸菌、髄膜炎菌

Y 型、緑膿菌、*Campylobacter fetus* などが検出されて病因診断に至った。

解析手法の面から特筆すべきは、2 症例は *Streptococcus constellatus*、*Bacteroides fragilis* がおのおの起炎菌であったが、これらは、broad-range PCR の実施で菌種を特定できたことである。さらには、起炎菌が判明したことによって、後に前者では中耳腔と髄腔との交通が示唆され、後者には腰仙部に先天性皮膚洞が存在したことが明らかになった。髄膜炎を惹起する主要な 6 菌種以外の細菌が検出された場合には、器質的な疾患が隠れていないかを検討することも重要である。

2) 感染性心内膜炎

本病態においても同じく抗菌薬が先行投与されており、培養法では起炎菌を特定できないことが多い。弁置換術後の疣贅組織から直接、細菌の DNA を検出・同定できたケースは 50 例を超えた。なお、血液培養で起炎菌が検出されていた症例は約半数のみであった。したがって、疣贅の遺伝子解析で起炎菌が確定したことによって、弁置換術後に確信をもちながら抗菌薬治療を実施できたとのコメントを各症例の主治医から頂戴した。例えば、20 歳男性。検体として僧帽弁の疣贅が送付されてきた。アトピー性皮膚炎および歯科処置歴のある症例であったことから、細菌全般をとらえる broad-range PCR を実施した。増幅 DNA のシークエンス解析にて黄色ブドウ球菌と判明。確認のためにコアグラウゼ産生性と相関の高い遺伝子の検出を試みた結果、陽性。さらに、*mecA* 遺伝子を検出する PCR も同時に実施したが陰性であったため (図 3)、methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) の可能性が極めて高いと報告した。この結果にて抗菌薬を ceftriaxone に変更し、併発していた脳膿瘍の治療も経過良好で、その後退院となった症例である。

3) Hib による関節炎

1 歳 2 カ月の男児。発熱、右膝痛を主訴に、2008 年 10 月 29 日総合病院整形外科に入院。血清 CRP は強陽性 (10 mg/dl) であり、MRI 所見と併せて、化膿性膝関節炎と診断された。血液培養施行後、panipenem/betamipron 投与が開始されたが、症状の改善はなく、11/1 当院整形外科に転院

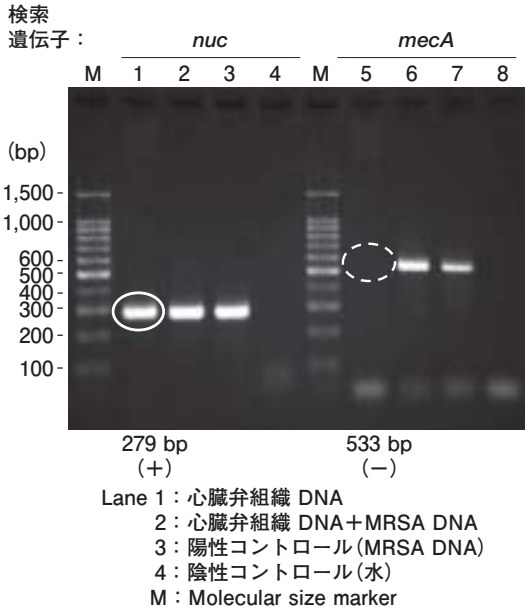


図 3 PCR 法による *nuc*, *mecA* 遺伝子の検出

となった。関節穿刺で得られた膿汁のグラム染色塗抹検査では、多数の白血球を認めたが、細菌はみられず、ラテックス凝集法によるインフルエンザ菌 b 型 (Hib)、肺炎球菌、B 群レンサ球菌、髄膜炎菌抗原検査は、いずれも陰性であった。膿汁の培養および前医入院時の血液培養も陰性であったため、膿汁の遺伝子解析を行ったところ、Hib が検出された。また、同時に TEM-1 および ROB-1 型 β ラクタマーゼと、PBP3 領域の遺伝子変異の検出を行ったところ、 β ラクタマーゼは陰性で ampicillin 軽度耐性に相当する遺伝子変異を有することが確認された。以上より、Hib による化膿性膝関節炎と診断され、侵襲性感染症であることを考慮して、11/7 より抗菌薬を BLNAR に良好な感受性を示す ceftriaxone に変更された。以後、臨床症状、検査所見ともに改善傾向を示したため、ceftriaxone は 11 日間投与され、11/18 に退院となった。

4) 黄色ブドウ球菌による肺炎/胸膜炎

10 カ月の男児。約 2 カ月前に黄色ブドウ球菌 (MSSA) による敗血症と化膿性関節炎 (右肩と股関節) の診断にて入院し、抗菌薬を 34 日間投与された。再発熱がみられ、化膿性関節炎の再燃を

疑い cefmetazole を 7 日間投与。治療を終了して 8 日後に胸水 (黄色で軽度混濁, 71 ml) を伴った肺炎を発症した。胸水の培養検査は陰性だったことから起炎菌を確定するために、遺伝子検査の依頼があった。胸水から DNA を抽出後、黄色ブドウ球菌を検出するために耐熱性ヌクレアーゼ遺伝子 (*nuc* gene) と MRSA 否かの判定に *mecA* の遺伝子検索も同時に実施した。その結果、*nuc* 遺伝子が検出され、*mecA* は陰性だったことから MSSA と報告。この結果によって治療を継続して軽快退院となった。

5) インフルエンザ菌による肺膿瘍

5 歳の男児。ファロー四徴症にて根治術の既往あり。約半年間に細菌性肺炎を 4, 5 回繰り返していた。前医での胸部 CT で右 S9, S10 に径 25 mm 程度の球形の 2 つの膿瘍が描出され、肺膿瘍の診断となり、外科的治療の判断のために大学病院へ転院となった。入院後、panipenem/betamipron の投与にて膿瘍は縮小傾向を認めたが完全には消失せず、左下葉切除術が施行された。膿瘍部の培養は陰性。細菌全般の DNA を増幅する broad-range PCR を実施したところ陽性、増幅産物のシーケンス解析でインフルエンザ菌の塩基配列と相同性が高いことが判明した。追加実施したインフルエンザ菌を特異的に検出する PCR も陽性、Hib 検出の PCR は陰性であった。

2. 細菌感染が疑われるも培養陰性

1) 先天梅毒

緑白色の混濁した羊水のグラム染色にて好中球を多数認めたが細菌が観察されず、培養検査も陰性とのことで精査依頼。細菌性髄膜炎惹起の起炎菌を想定して Hib、肺炎球菌、GBS、大腸菌、リステリア菌、そして髄膜炎菌の 6 菌種に特異的な遺伝子の検出を試みるもすべて陰性。並行して実施した broad-range PCR で増幅産物が得られ、シーケンス解析した結果、*Treponema pallidum* subsp. *pallidum* であることが明らかになった。この遺伝子検査にて先天梅毒であることが判明し治療続行。母親の妊娠 12 週での血清梅毒反応は陰性。妊娠後期の感染が示唆された症例である。

2) 猫ひっかき病³⁾

頸部腫瘤膿汁の broad-range PCR で増幅産物

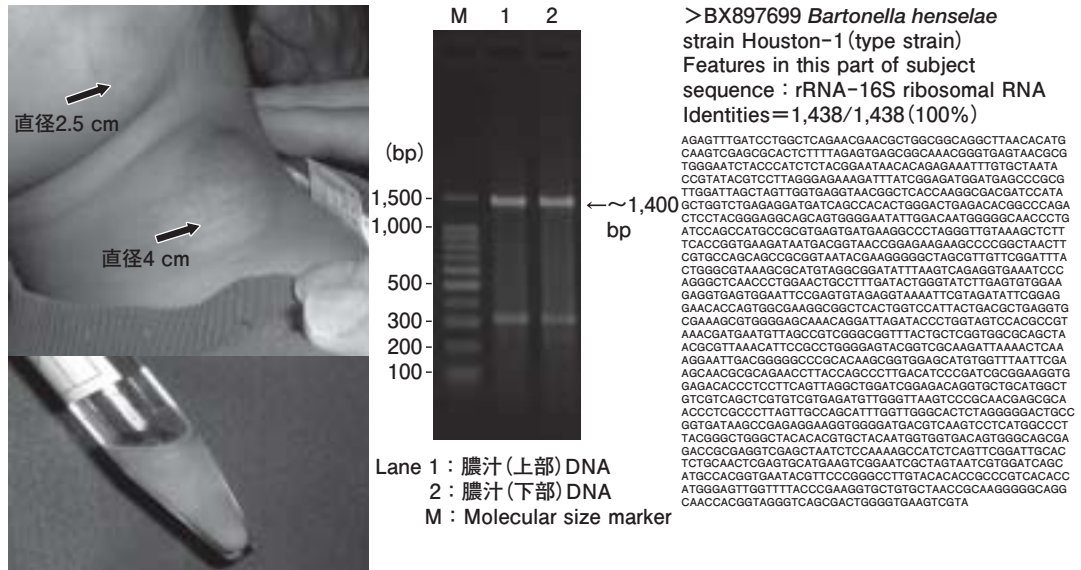


図 4 PCR 法とシーケンス解析による膿汁からの病原体検索

が得られ、シーケンス解析の結果、*Bartonella henselae* であることが判明 (図 4)。すぐに、*Bartonella henselae* 検出の特異的なプライマー 2 種類 (16S rRNA および *htrA* 遺伝子領域) を用いて PCR を実施した。双方の特異的遺伝子検出ともに陽性で確診。

3. 染色鏡検で細菌が観察されたが培養で生えてこない

1) BCG 骨髄炎⁴⁻⁶⁾・リンパ節炎

結核菌群 PCR 法が陽性となった際に、*M. tuberculosis* と BCG 株を含む *M. bovis* との鑑別はできないことから、検体から直接に精査を依頼されたケースが 30 例を超えた。近医の小児科で抗菌薬による治療が行われるも症状の改善がなかったため、大学病院小児科に紹介入院となることが多い。このようなケースでは、BCG 株では欠損している遺伝子領域 RD1 の両端に特異的なプライマーを使用して PCR を実施する。増幅産物が得られれば、BCG 株であることが確認できる。さらに、BCG 東京株は、他国で使用されている BCG 株や *M. tuberculosis*、*M. bovis* に存在する RD16 領域に 22 塩基分が欠損しているという特徴がある。したがって、この RD16 領域の遺伝子を PCR で増幅した後、産物 DNA の長さ (379 bp) あるいは産物

をシーケンス解析して、BCG 東京株であることを確認している (図 5)。

2) 皮膚潰瘍

14 歳の男児⁷⁾。左顎下リンパ節と左鎖骨上窩から採取された膿汁の抗酸染色で菌体が観察された。膿汁から直接抗酸菌 DNA の検出と同定を試みたところ、*Mycobacterium ulcerans* であることが判明。本菌の至適発育温度は 25~30°C で、小川培地や MGIT 液体培地などで少なくとも 6 週間以上の培養を実施する必要がある。すなわち、検体の遺伝子解析は迅速な起炎菌診断だけでなく、分離培養条件 (温度、培養期間、使用培地など) の変更にも結びつき、薬剤感受性実施のために生菌そのものを得ることに寄与できる。

M. ulcerans が引き起こす壊死性の皮膚疾患は Buruli 潰瘍と呼ばれており、アフリカ中部のほか西部 (ベナン, ガーナ, コートジボアール)、西太平洋地域、アジア、中南米など熱帯や亜熱帯地方の少なくとも 32 カ国で報告されている。Buruli 潰瘍は、結核、ハンセン病 (らい菌: *M. leprae*) に次いで世界で 3 番目に多い抗酸菌感染症であることはあまり知られていない。わが国では 1982 年に御子柴ら⁸⁾によって初めて報告された。菌株の性状が *M. ulcerans* とは一部異なっていたため、

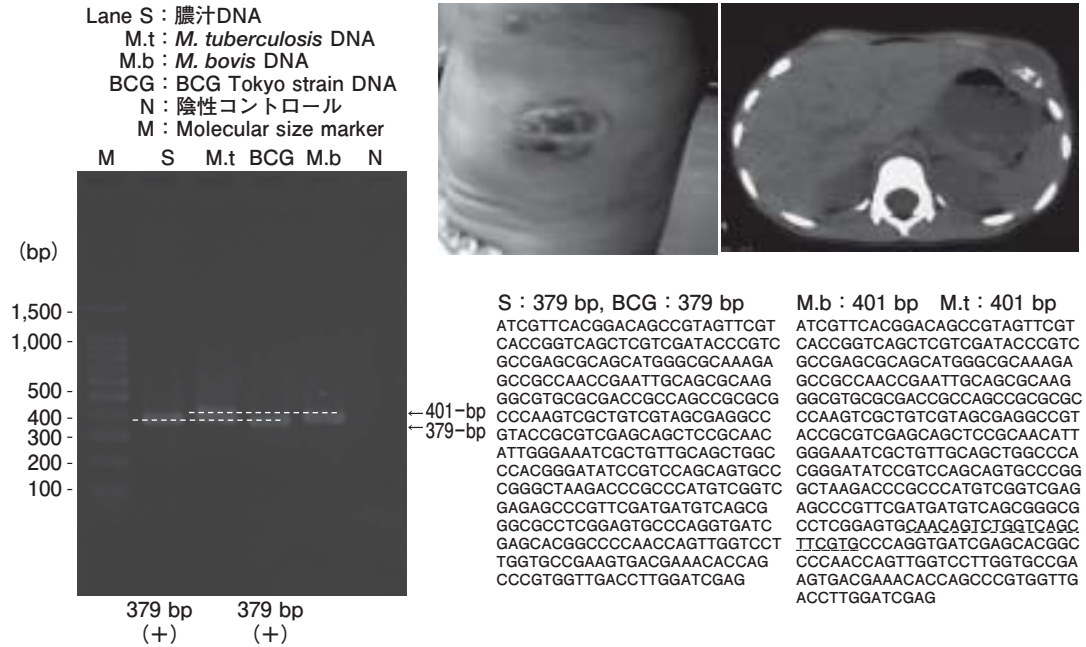


図 5 PCR 法と塩基配列解析による *M. bovis* BCG 株の同定 (RD16 領域)

M. ulcerans との類縁菌として、分離された地名「信州」にちなんで“*M. shinshuense*”と表現された(注;学名としては正式に認められていないので、俗称として“ ”で囲む)。その後2010年までに19例が報告⁹⁾されている。さらに、筆者が講演会や総説などで本菌による感染症を紹介するにつれて、「検体の塗抹検査で抗酸菌が観察されたが培養で発育しない」との相談を受け、検体から直接の遺伝子検査で *M. ulcerans* 感染症を診断できるケースが増加している。また、DDH 法では *M. ulcerans* が *M. marinum* と判定されることも認識されるようになったため、筆者の研究室や結核研究所、国立感染症研究所へ精査依頼する機会が増えていることも報告数の増加につながっていると考える。

4. 真菌, 原虫感染症の診断

1) 肺アスペルギルス症の2例¹⁰⁾

症例1は58歳男性、肺癌脳転移に対して2007年2月より全脳照射とステロイド投与を開始した。4週間後より右肺に空洞を伴う浸潤影出現。Panipenem, ciprofloxacin にて改善せず、病変は悪化の一途をたどったが、生検肺組織の遺伝子解析

法にて *Aspergillus fumigatus* が検出され、アスペルギルス感染症と診断された。Voriconazole + miconazole 投与にて著明な改善を得て退院。症例2は76歳女性、糖尿病治療中、発熱、黄色痰にて受診。気腫性変化を背景に左上葉に consolidation, panipenem, pazufloxacin が無効で急速に悪化した。気管支洗浄液の遺伝子解析にて *A. fumigatus* を検出。肺アスペルギルス症と診断。Voriconazole を投与したところ、一転軽快し退院。2症例とも通常の培養検査からは起炎菌が同定できず、血清診断 (β -D グルカン, アスペルギルス抗原) も陰性であり重症化したが、遺伝子解析法にて初めて診断がつき、治療が可能となった症例である。

2) 赤痢アメーバ性脳膿瘍¹¹⁾

31歳男性、2007年10月よりHIV治療(HAART)を開始して経過良好であった。2008年2月15日まで元気に仕事をしていた。頭痛と左・上下肢脱力のため21日に緊急入院、意識はほぼ清明、歩行困難であった。CT/MRIで右・前頭-頭頂部正中側に脳浮腫を伴う腫瘤病変を認めた。急速に病状進行、脳膿瘍と思われ、25日に緊急膿瘍排膿術とドレナージを施行。しかしながら脳浮

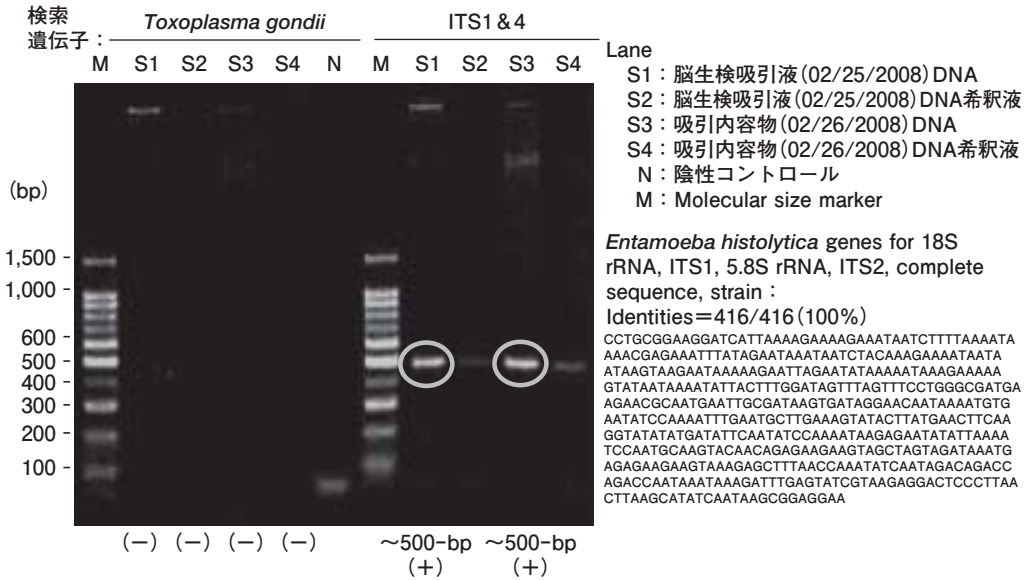


図 6 脳内容液からの病原体 DNA 検出と同定

腫は改善乏しく、翌日に広汎減圧開頭術を施行し、人工呼吸器で呼吸管理を開始。トキソプラズマ感染を疑い pyrimethamine, sulfadiazine による治療が開始された。高度な脳腫脹のため一部脳ヘルニアによる脳梗塞を併発、救命自体が危ぶまれる状況が続いた。28日に脳内容物からのトキソプラズマ検出を依頼された。*Toxoplasma gondii* を特異的に検出する PCR を実施するも陰性。念のため、真菌全般を増幅する PCR も同時に実施した結果、増幅産物が得られた。真菌としては産物の長さが短いと思いつながら、大至急この DNA のシーケンス解析を行った。その結果、赤痢アメーバの塩基配列であることが判明 (図 6)。検体到着の夜、電話で主治医に連絡した。すぐに大量の metronidazole 経鼻投与が開始された。治療が奏効し 3 月第 1 週には、右大脳半球腫脹の軽減が確認された。10日に脳膿瘍 2 回目の排膿、ドレナージ術を行い、3 月 11 日に人工呼吸器から離脱した。

入院時下痢を伴う腸炎はあったがアメーバは陰性で、腹部エコーで肝膿瘍も認めなかったため、赤痢アメーバは想定外であったとのこと。臨床医から提供された患者のサマリーを読み、直感的に真菌や原虫も考慮した。結果的には真菌検出の PCR を実施したことが患者治療に結びついた。つ

まり、「*T. gondii* を検出の PCR が陰性であった」と報告しただけでは患者を救命できなかったケースである。

3) アカントアメーバ角膜炎¹²⁾

24 歳女性、左角膜炎でコンタクトレンズを使用していることや、それまでの治療経過から *Acanthamoeba* sp. が疑われた。鏡検では原虫を確認できなかったことから PCR 法による解析依頼。*Acanthamoeba* sp. を特異的に検出するプライマーを 2 セット使用して PCR を実施した結果、両方ともに陽性。増幅産物の塩基配列解析でも *Acanthamoeba* sp. であることを確認した。

5. ウイルス感染症の診断

1) 新生児ヘルペス

血清から単純ヘルペスウイルス (HSV) を検出するプライマーを用いて PCR および real-time PCR を実施した結果、陽性。このプライマーは HSV-1 と HSV-2 の両方の型を一つのプライマー対で検出できるが、その増幅産物の塩基配列を決定することによってどちらの型かを鑑別できるように設計されている。本症例で検出の HSV は 1 型であることもすぐに報告した。

2) 頸部リンパ節炎

抗菌薬療法に抵抗性の化膿性リンパ節炎の診断

にて患部穿刺液の精査依頼。細菌に関しては broad-range PCR にて *Streptococcus pyogenes* が検出され、次に *S. pyogenes* に特異的な遺伝子 (streptolysin O, streptococcal pyrogenic exotoxin B) 検出のプライマーを使用して行った PCR もすべて陽性。ウイルスに関しては HSV, CMV, HHV-6, EBV の検出を試みた結果、EBV のみ陽性であった。*S. pyogenes* と EBV の重複感染による頸部リンパ節炎と診断された。

3) 帯状疱疹に伴う VZV 髄膜炎

生来健康な 13 歳男児、水痘罹患歴あり。2 日前からの発熱、前日から頭痛、嘔吐を認め、当日体幹に水疱を認め 2007 年 8 月 7 日外来受診した。軽度の項部硬直を認め、髄液検査にて細胞数 453/ μ l (単 452/多 1) であった。無菌性髄膜炎合併帯状疱疹と診断され、同日入院し aciclovir 30 mg/kg/day を 1 週間投与した。入院 2 日後には解熱し経過良好であった。入院時の髄液 PCR にて水痘・帯状疱疹ウイルス (VZV) を検出し、入院 1 週間後の血清 VZV-IgM の陽転化と髄液中 VZV-IgG 陽転化と合わせて VZV 髄膜炎と確定診断。夏季で無菌性髄膜炎も流行していたことから、鑑別のために VZV 検出の PCR 解析を依頼された症例であった。

おわりに

感染症診断における遺伝子解析技術の特徴をまとめたのち、実際に経験した臨床検体の解析症例を紹介しながら、感染症診断における遺伝子解析技術の適応についてとりあげた。本稿は、感染症の診療における遺伝子検査の役割を紹介しているだけにとどまらない。確かに病因診断に至った切り札は遺伝子解析技術であったかもしれないが、このプロセスの根底に、「感染症の診断と治療は、医師と臨床検査技師との緊密な情報交換による共同作業である」ということを感じとってもらえれば幸いである。何よりこのコラボレーションと種々の検査手段を最大限に活用することが、患者診療における貴重な診断的価値としての検査結果

をもたらすのだと確信している。

日本小児感染症学会の定める利益相反に関する開示事項はありません。

文 献

- 1) 大楠清文, 江崎孝行: 遺伝子およびシグナル増幅法. 臨床と微生物 34: 459-478, 2007
- 2) 大楠清文: いま知りたい臨床微生物検査 実践ガイド—珍しい細菌の同定・遺伝検査・質量分析—, 医歯薬出版, 東京, 2013, 10-98
- 3) 仲野敦子, 他: 2ヶ所に頸部膿瘍を形成した猫ひっかき病の小児例. 日本耳鼻咽喉科感染症研究会誌 25 (1): 157-160, 2007
- 4) Funato M, et al: Refractory osteomyelitis caused by bacille Calmette-Guérin vaccination: a case report. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 59: 89-91, 2007
- 5) 石和田稔彦, 他: BCG 菌とヒト型結核菌の鑑別に PCR 法が有用であった胸部皮下膿瘍・肋骨骨髄炎の 1 小児例. 感染症学雑誌 82 (1): 30-33, 2008
- 6) 上野健太郎, 他: BCG 骨髄炎の 2 幼児例—早期診断のための遺伝子検査の有用性—. 小児感染症疫 21 (1): 7-12, 2009
- 7) 蓮見純平, 他: *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* による頸部皮膚潰瘍の 1 例. 小児感染症疫 23 (4): 383-387, 2011
- 8) Nakanaga, K, et al: Nineteen cases of Buruli ulcer diagnosed in Japan, 1980-2010. J Clin Microbiol 49 (11): 3829-3836, 2011
- 9) 御子柴甫, 他: *Mycobacterium ulcerans* 類似菌による非定型抗酸菌症の 1 例. 日皮会誌 92: 557-65, 1982
- 10) 石塚聖洋, 他: 診断に難渋し遺伝子解析法が有用であった肺アスペルギルス症の 2 症例. 日本呼吸器学会誌 46: 164, 2008
- 11) 宮地康高, 他: 遺伝子解析が有用であった HIV 関連赤痢アメーバ性脳膿瘍の救命例. 日本エイズ学会 13 (2): 92-98, 2011
- 12) 大家進也, 他: 岐阜大学およびその関連病院におけるアcantアメーバ角膜炎の 12 症例. あたらしい眼科 29 (1): 117-122, 2012