

## 【抗菌薬感受性報告】

## 群馬大学医学部附属病院における酵母真菌の分離状況と薬剤感受性の分析

渡邊 瑠海<sup>1)</sup>・内田 梓<sup>1)</sup>・高橋 美紀<sup>1)</sup>・四方田幸恵<sup>1)</sup>  
奈良 誠人<sup>2)</sup>・荻原 貴之<sup>2)</sup>・徳江 豊<sup>2)</sup>・村上 正巳<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 群馬大学医学部附属病院検査部\*

<sup>2)</sup> 同 感染制御部

(平成 24 年 8 月 31 日受付・平成 24 年 11 月 20 日受理)

群馬大学医学部附属病院で分離された酵母真菌について、2006 年から 2010 年の 5 年間の分離状況および 2010 年 2 月から 5 月と 2011 年 7 月から 10 月の分離株の薬剤感受性について検討を行った。いずれの年も約 50% が呼吸器材料から分離されており、*Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* が上位分離 5 菌種であった。薬剤感受性においては fluconazole は *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata* に耐性株がみられた。Miconazole は non-albicans *Candida* spp. の minimum inhibitory concentration (MIC) が幅広く分布し、voriconazole は *C. krusei*, *C. glabrata* の MIC が高い傾向が認められた。Itraconazole は *C. glabrata* の 91.7% が耐性であった。Micafungin は *C. tropicalis* に MIC が >16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  と耐性を示す株がみられ、flucytosine は *C. krusei* の 80.0% が耐性であった。菌種により多様な MIC の分布を示したことから、菌種の同定と抗真菌薬感受性測定結果に基づいた抗真菌薬の使用が望まれる。

**Key words:** yeast-like fungi, drug susceptibility

Compromised host を多く抱える今日の医療現場において、真菌は医療施設感染、日和見感染や菌交代症の原因微生物として重要である。近年では真菌の分離状況や抗真菌薬感受性の変化が指摘されており<sup>1)</sup>、なかでも耐性化の報告が数多くなされている *Candida* 属の分離状況や薬剤感受性を把握しておくことは真菌感染症の治療を行ううえで重要であると考えられる。今回、われわれは当院における過去 5 年間の酵母真菌の分離状況を調査し、薬剤感受性試験成績について検討を行ったので報告する。

対象は当検査室に提出された検体とし、2006 年から 2010 年の 5 年間に於ける酵母真菌の分離状況および 2010 年 2 月から 5 月と 2011 年 7 月から 10 月に分離された *Candida albicans* 70 株、*Candida tropicalis* 10 株、*Candida krusei* 5 株、*Candida parapsilosis* 14 株、*Candida glabrata* 12 株、これら 5 菌種以外の *Candida* 属 (以下、*Candida* spp.) 8 株の薬剤感受性について検討を行った。検討には同一患者からの同一材料および同一菌種の重複を除いた菌株を使用し、分離された酵母真菌は CHROMagar カンジダ培地 (関東化学) を用いてコロニーの形状や色調による肉眼的同定および必要に応じてアピコオクサノグラム (シスメックス・ビオメリュー) を用いて同定を行った。また、薬剤感受性は酵母真菌薬剤感受

性キット ASTY (極東製薬) を使用して測定した。測定薬剤および測定濃度範囲は amphotericin B (AMPH-B; 0.03~16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), micafungin (MCFG; 0.03~16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), flucytosine (5-FC; 0.125~64  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), fluconazole (FLCZ; 0.125~64  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), miconazole (MCZ; 0.03~16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), itraconazole (ITCZ; 0.015~8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), voriconazole (VRCZ; 0.015~8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) であり、感受性測定は添付文書に従い実施した。

過去 5 年間に於ける検査件数および主要な検査材料からの酵母真菌の菌種別の分離株数を Table 1 に示す。酵母真菌の分離数は 431 株から 488 株であり、各年とも 460 株前後であった。また、検査件数に対する分離株数の割合も 5.3~6.2% であり年度による差はみられなかった。

材料別の比較では呼吸器材料からの分離率が約 50% と最も多く、尿、消化器材料、穿刺液の順となっており、膿・中耳・ドレーン・カテーテルなどのその他の材料からの分離例も多くみられた。菌種別に分離頻度を比較すると、いずれの年も *C. albicans* が 70% 以上を占めており、その他 *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* が上位に分離され、その割合も一定の傾向にあった。その他の酵母真菌として 2006 年は 3 菌種、2007 年は 7 菌種、2008 年は 7 菌種、2009 年は 8 菌種、2010 年は 5 菌種

\*群馬県前橋市昭和町 3-39-15

Table 1. Frequencies of isolation of *Candida* and origin of the samples

year	No. of <i>Candida</i> isolates/ No. of samples (%)	Specimen	Organisms						Total	(%)
			<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. krusei</i>	<i>Candida</i> spp.		
2010	465/8,078 (5.8)	Respiratory tract	164	10	16	1	0	3	194	(41.7)
		Urine	36	10	1	2	0	8	57	(12.3)
		Digestive tract	49	8	1	2	0	0	60	(12.9)
		Blood, ascites and pleural effusion	13	7	2	3	0	3	28	(6.0)
		Others	80	9	4	25	2	6	126	(27.1)
		Total (%)	342 (73.5)	44 (9.5)	24 (5.2)	33 (7.1)	2 (0.4)	20 (4.3)	465 (100.0)	(100.0)
2009	488/7,933 (6.2)	Respiratory tract	190	6	26	4	6	10	242	(49.6)
		Urine	24	7	3	4	0	4	42	(8.6)
		Digestive tract	49	1	2	2	1	2	57	(11.7)
		Blood, ascites and pleural effusion	12	4	0	0	1	1	18	(3.7)
		Others	96	12	4	10	1	6	129	(26.4)
		Total (%)	371 (76.0)	30 (6.1)	35 (7.2)	20 (4.1)	9 (1.8)	23 (4.7)	88 (100.0)	(100.0)
2008	431/8,182 (5.3)	Respiratory tract	176	10	20	2	4	2	214	(49.7)
		Urine	38	13	2	1	0	2	56	(13.0)
		Digestive tract	35	4	6	1	2	2	50	(11.6)
		Blood, ascites and pleural effusion	13	0	0	2	0	1	16	(3.7)
		Others	71	4	2	16	1	1	95	(22.0)
		Total (%)	333 (77.3)	31 (7.2)	30 (7.0)	22 (5.1)	7 (1.6)	8 (1.9)	431 (100.0)	(100.0)
2007	449/8,273 (5.4)	Respiratory tract	172	7	17	5	4	1	206	(45.9)
		Urine	23	9	9	1	3	10	55	(12.2)
		Digestive tract	34	5	4	3	0	0	46	(10.2)
		Blood, ascites and pleural effusion	8	2	1	2	1	7	21	(4.7)
		Others	78	13	4	17	3	6	121	(26.9)
		Total (%)	315 (70.2)	36 (8.0)	35 (7.8)	28 (6.2)	11 (2.4)	24 (5.3)	449 (100.0)	(100.0)
2006	474/8,442 (5.6)	Respiratory tract	188	17	28	8	1	1	243	(51.3)
		Urine	18	11	8	3	2	1	43	(9.1)
		Digestive tract	36	2	4	4	0	0	46	(9.7)
		Blood, ascites and pleural effusion	12	3	3	1	0	3	22	(4.6)
		Others	80	10	9	15	5	1	120	(25.3)
		Total (%)	334 (70.5)	43 (9.1)	52 (11.0)	31 (6.5)	8 (1.7)	6 (1.3)	474 (100.0)	(100.0)

が分離されており、それらは *Candida guilliermondii*, *Candida lusitanae*, *Candida famata*, *Candida lipolytica*, *Candida ciferrii* などであった。内田らは分離頻度の多い順に *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* の5菌種であったと報告しており<sup>1)</sup>, *C. albicans* の分離率が64%と主要な分離菌種であったが, *C. parapsilosis* の分離率は1%未満であったと報告している。Marchettiらも *C. parapsilosis* の分離率は1%と報告しており<sup>2)</sup>, 当院における *C. parapsilosis* の分離率は4.1~7.1%と既報に比較して若干高いことが明らかとなった。今回の検討では, *C. tropicalis* はいずれの年も呼吸器材料から最も多

く分離されていたのに対し, *C. parapsilosis* はカテーテルやドレーンを含むその他の材料から最も多く分離されていた。*C. parapsilosis* は *C. albicans* と同様にバイオフィルム形成能が高く, その多くはカテーテル感染などの院内感染が原因となって分離されることが知られている<sup>1,3)</sup>。Non-albicans *Candida* spp. は一般的に抗真菌薬感受性が低いとされており<sup>3)</sup>, その分離頻度が微増傾向にあると報告されているため<sup>4)</sup>, 日和見感染に対しハイリスク患者が多い病院内での感染対策のためにも, 今後の non-albicans *Candida* spp. の分離頻度の推移には注意が必要であると考えられる。

Table 2. MICs of antifungal agents against *Candida* species

Antifungal agent	Organism (Strain)	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )														
		<0.015	0.015	0.03	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	>64
FLCZ	<i>C. albicans</i> (70)					8	42	18	2							
	<i>C. tropicalis</i> (10)							1	4	3		1			1	
	<i>C. krusei</i> (5)								1							4
	<i>C. parapsilosis</i> (14)					1		4	1	6	1	1				
	<i>C. glabrata</i> (12)										3	3	3	2		1
	<i>Candida</i> spp. (8)								1	4		2	1			
MCZ	<i>C. albicans</i> (70)				22	45	3									
	<i>C. tropicalis</i> (10)							2	1	3	3	1				
	<i>C. krusei</i> (5)									4			1			
	<i>C. parapsilosis</i> (14)			1			2	2	3	6						
	<i>C. glabrata</i> (12)					1	3	2	4	2						
	<i>Candida</i> spp. (8)						1		3	3	1					
VRCZ	<i>C. albicans</i> (70)		70													
	<i>C. tropicalis</i> (10)			2	1	5		2								
	<i>C. krusei</i> (5)					1		3	1							
	<i>C. parapsilosis</i> (14)	2	3	3	5	1										
	<i>C. glabrata</i> (12)					4	1	3	3			1				
	<i>Candida</i> spp. (8)		1	3	2	1	1									
ITCZ	<i>C. albicans</i> (70)		3	3	12	37	14	1								
	<i>C. tropicalis</i> (10)						3	5					1*			
	<i>C. krusei</i> (5)							4	1							
	<i>C. parapsilosis</i> (14)				1	3	8	2								
	<i>C. glabrata</i> (12)						1		7	3			1*			
	<i>Candida</i> spp. (8)					1	3	2	2							
AMPH-B	<i>C. albicans</i> (70)					1	3	52	14							
	<i>C. tropicalis</i> (10)							3	7							
	<i>C. krusei</i> (5)							1	3	1						
	<i>C. parapsilosis</i> (14)							10	4							
	<i>C. glabrata</i> (12)							4	8							
	<i>Candida</i> spp. (8)							5	3							
MCFG	<i>C. albicans</i> (70)			58	10	2										
	<i>C. tropicalis</i> (10)				3	5	1							1**		
	<i>C. krusei</i> (5)				1	1	3									
	<i>C. parapsilosis</i> (14)			1				7	3	2	1					
	<i>C. glabrata</i> (12)			4	5	2	1									
	<i>Candida</i> spp. (8)					2	2	2		2						
5-FC	<i>C. albicans</i> (70)					41	21	4	2	2						
	<i>C. tropicalis</i> (10)				1***	3	4		2							
	<i>C. krusei</i> (5)					1						1			3	
	<i>C. parapsilosis</i> (14)				1***	10	3									
	<i>C. glabrata</i> (12)				7***	3	1		1							
	<i>Candida</i> spp. (8)				2***	3	2		1							

\*MIC: >8  $\mu\text{g/mL}$ , \*\*MIC: >16  $\mu\text{g/mL}$ , \*\*\*MIC: <8  $\mu\text{g/mL}$ , The vertical dashed line shows the MIC breakpoint.

感受性測定結果を Table 2 に示す。FLCZ は *C. albicans* の MIC は 0.125~1  $\mu\text{g/mL}$  に分布しており、測定した 70 株に耐性株は認められなかった。しかし、*C. tropicalis* の 1 株、*C. krusei* の 4 株、*C. glabrata* の 1 株に MIC が 64 以上を示す耐性株がみられた。MCZ に対しては、*C. albicans* の MIC は 0.06~0.25  $\mu\text{g/mL}$  に分布していたが、non-albicans *Candida* spp. の MIC は 0.06~16  $\mu\text{g/mL}$  と広範囲に分布していた。VRCZ は *C. albicans* はすべての株の MIC が 0.015  $\mu\text{g/mL}$  となり、高い抗真菌活性が認められた。Non-albicans *Candida* spp. はほとんどの株が

VRCZ に対し感受性株であったものの、*C. krusei*、*C. glabrata* の MIC が高い傾向が認められ、*C. glabrata* の 1 株が耐性株であった。ITCZ は *C. albicans* には耐性株はみられなかったが、*C. glabrata* では 12 株中 11 株 (91.7%) と高い耐性率を示した。AMPH-B は、すべての株の MIC が 0.125~2  $\mu\text{g/mL}$  に分布していた。MCFG は *C. parapsilosis* の 14 株中 13 株 (92.9%) が 0.5~4  $\mu\text{g/mL}$  に分布し MIC が高い傾向がみられ、*C. tropicalis* のうち 1 株が 16  $\mu\text{g/mL}$  以上と高い MIC 値を示した。5-FC は *C. krusei* の 5 株中 4 株が中等度耐性または耐性であったが、その

他の *Candida* spp. はすべて感受性株であった。当院における過去5年間の抗真菌薬の使用状況を見ると MCFG が頻用されており、その他に fosfluconazole, VRCZ, リポソーム製剤の AMPH-B が多く使用されていた。アゾール系の薬剤は真菌症治療に汎用されるが、FLCZ に低感受性の *C. albicans* が分離されたという報告<sup>5)</sup>や FLCZ 耐性の *C. albicans* が数%~10% 程度に存在するとの報告もある<sup>6)</sup>。同じアゾール系抗真菌薬の VRCZ は non-albicans *Candida* spp. に優れた抗真菌活性があるとされるが、*C. glabrata* の一部の株が耐性を示すことや、同様に non-albicans *Candida* spp. に有効とされる MCFG は *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* に対してはその薬剤感受性が劣るなど、菌種によって薬剤感受性パターンが異なることが知られている<sup>7)</sup>。さらに、われわれの結果と同様に MCFG 耐性の *C. tropicalis* やアゾール系薬剤に高度耐性を示す *C. tropicalis* が報告されており<sup>8,9)</sup>、各薬剤に対し感受性とされる菌種においてもそれぞれの分離株における薬剤感受性を確認することが望ましいと考えられる。

真菌においてはトレーリング発育現象やスキップ現象が知られている。トレーリング発育を示す株は24時間判定と48時間判定で数10~数百倍もエンドポイントが異なるため、このような株は24時間判定値を正しい MIC として採用する必要がある<sup>10)</sup>。スキップ現象を示す株においては低濃度域で発育阻止されていても高濃度域でわずかに発育し呈色を示すため、高濃度域の発育は陰性とみなして判定を行う必要がある。今回の検討において感受性を測定した *C. tropicalis* のうち FLCZ, ITCZ, VRCZ においてトレーリング発育を示した株が4株あり、MCFG においてスキップ現象を示した株が1株みられたため、24時間判定値と48時間判定値を比較し抗真菌薬に対する感受性の判定を誤らないように注意した。正しい MIC 値を得るためには、このような菌株による特性も考慮し判定時間や判定基準に留意する必要がある。

当院で過去5年間に分離された酵母真菌はその由来材料や菌種に大きな変化はみられなかったが、今後の non-

albicans *Candida* spp. の分離状況には注意が必要である。また、酵母真菌の各薬剤に対する MIC は菌種によって広範囲な分布を示したことから、それぞれの菌種の特性と低感受性菌や耐性菌を考慮した選択や長期投与による耐性化や交差耐性を起こさないような使用が望まれる。

利益相反自己申告：徳江豊は第一三共株式会社、大正富山医薬品株式会社より資金援助を受けている。

#### 文 献

- 1) 内田 幹, 深澤裕美, 遠藤 武, 三上美恵, 大屋とし子, 井上清太郎, 他: 各種検査材料からのカンジダ属分離状況と抗真菌薬感受性について。日臨微生物誌 2006; 16: 14-9
- 2) Marchetti O, Bille J, Fluckiger U, Eggimann P, Ruef C, Garbino J, et al: Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991-2000. Clin Infect Dis 2004; 38: 311-20
- 3) 山口英世: 病原カンジダ菌種の多様化とその医真菌学的インパクト。Mod Media 2012; 58: 1-17
- 4) 太田忠信, 竹岡泰信, 赤堀美佳, 岩田卓也, 太田健介, 山根孝久, 他: 近年増加している真菌症の市中病院での原因菌種の変遷と治療の現状。大阪医 2000; 34: 94-6
- 5) 深澤裕美, 遠藤 武, 内田 幹, 三上美恵, 大屋とし子, 井上清太郎, 他: 山梨県内で実施した *Candida* 属サーベイランス。日化療会誌 2004; 52: 654-9
- 6) 小栗豊子, 三澤成毅, 中村文子, 近藤成美, 猪狩 淳, 森 健: 血液・血管カテーテルからの真菌分離状況と抗真菌薬に対する感受性について。感染症誌 2006; 80: 656-64
- 7) 今村圭文: 抗菌力。臨と微生物 2011; 38: 99-104
- 8) 前崎繁文: 深在性真菌症—いかに診て, いかに治して, いかに防ぐか—。Jpn J Antibiot 2005; 58: 368-72
- 9) 松延直子, 村上紀之, 高田 徹, 吉村尚江, 恵良文義, 豊福千穂, 他: 酵母真菌感受性キット 'ASTY' を用いた真菌薬剤感受性試験の検討と同キットによる臨床分離株 MIC の測定。医学検査 1999; 48: 1385-90
- 10) 河口 豊, 田村昌代, 濱野政弘, 村上悦子, 石松昌巳, 通山 薫: 酵母真菌薬剤感受性検査の検討—NCCLS M27-A2 microdilution 法と比較して—。医学検査 2009; 58: 15-21

## Analysis of the situation of isolation and drug susceptibilities of yeast-like fungi in Gunma University Hospital

Rumi Watanabe<sup>1)</sup>, Azusa Uchida<sup>1)</sup>, Miki Takahashi<sup>1)</sup>, Sachie Yomoda<sup>1)</sup>,  
Makoto Nara<sup>2)</sup>, Takayuki Ogiwara<sup>2)</sup>, Yutaka Tokue<sup>2)</sup> and Masami Murakami<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Clinical Laboratory Center, Gunma University Hospital, 3-39-15 Showa-machi, Maebashi, Gunma, Japan

<sup>2)</sup> Department of Infection Control, Gunma University Hospital

We examined the frequency of isolation and the drug susceptibility of yeast-like fungi in Gunma University Hospital. Almost a half of the yeast-like fungi isolated were from the respiratory specimens from each year, and the major species isolated were *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* and *Candida krusei*. Some strains of *C. tropicalis*, *C. krusei* and *C. glabrata* were resistant against fluconazole. The distribution of the range of MICs of the isolated non-albicans *Candida* species against miconazole was wide. Both *C. krusei* and *C. glabrata* showed elevated MICs against voriconazole. Ninety-one point seven percent of *C. glabrata* isolates were resistant against itraconazole. One of the *C. tropicalis* isolates was resistant to micafungin having an MIC > 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Eighty percent of *C. krusei* isolates showed resistance to flucytosine.

These results indicate that MICs against drugs had a variety of distributions among the *Candida* species. In conclusion, our data suggest that, for proper treatment of target fungi, appropriate drugs should be selected based on the results of the identification of the target fungi and the susceptibility test.