

当院における過去 25 年間に分離された真菌の検査動向

¹⁾北里大学病院臨床検査部細菌検査室, ²⁾北里大学医学部感染症学, ³⁾北里大学医学部微生物学

小幡 進¹⁾ 平田 泰良¹⁾ 砂川 慶介²⁾ 井上 松久³⁾

(平成 13 年 4 月 19 日受付)

(平成 13 年 6 月 25 日受理)

Key words : epidemiology, fungus, identification

要 旨

1976 年から 2000 年までの 25 年間に当院の真菌培養検査に提出された検体についてその疫学動向を調査した。

25 年間に提出された総検体数は 64,296 件であり, 提出検体数は 1988 年以降に急激に増加していた。全体の陽性率は約 40% 前後でほぼ一定であった。提出検体は, 開院当初婦人科系材料が 51.9% を占めていたが, 2000 年には呼吸器系材料が 38.8% を占めていた。一方, 菌種別検出頻度は, 酵母様真菌では, *Candida albicans* が分離酵母全体の 53.8% を占め, ついで *C. glabrata* (12.5%), *C. tropicalis* (5.3%), *C. parapsilosis* (3.4%) の順であった。特に *C. glabrata* の分離頻度が増加傾向を示していた。*Aspergillus* 属では *A. fumigatus* が分離同属全体の 48.1% を占め, ついで *A. niger* (31.4%), *A. terreus* (7.5%) の順であった。

皮膚糸状菌では, *Trichophyton rubrum* が皮膚糸状菌全体の 63.6% を占め, ついで *Microsporum canis* (17.9%), *T. mentagrophytes* (15.9%) の順であった。中でも, *M. canis* の分離頻度が増加傾向を示していた。

近年, 1 検体より複数菌種の分離頻度が増加傾向にあり, 開院当初の約 1% に比べて約 6 倍であった。

[感染症誌 75 : 863 ~ 869, 2001]

序 文

真菌感染症は, 近年の日見感染症の増加に伴いその症例数も増加し, 急激にその症状を悪化させる場合も多い^{1)~4)}。皮膚科領域などでペットなどから感染する真菌についてもその増加が危惧されている⁵⁾。また, 最近の抗真菌薬の普及により, 特定の菌種に耐性株が見られるようになってきた⁶⁾。当院では, 開院当初の 1976 年から培養方法や培養時間などの違いから, 検査の依頼を真菌検査, 抗酸菌検査, 一般細菌検査の 3 種類に分けて運用してきた。さらに, 最近では抗菌薬耐性や院

内感染が問題となってきており, それに伴って細菌検査の位置づけも一層高まり, 院内疫学情報の定期的な提供が求められている⁷⁾。

今回, 検査室の立場から真菌検査の動向を把握する目的で過去 25 年間の蓄積データの統計解析を行ったので報告する。

材料と方法

1. 集計期間

1976 年 1 月から 2000 年の 12 月までの 25 年間の偶数年次を対象とした。

2. 集計方法

同一患者から提出された重複検査を含む総検体による分離状況と, 1 週間のうち同一患者から提出された同一検体を削除した重複削除検体について

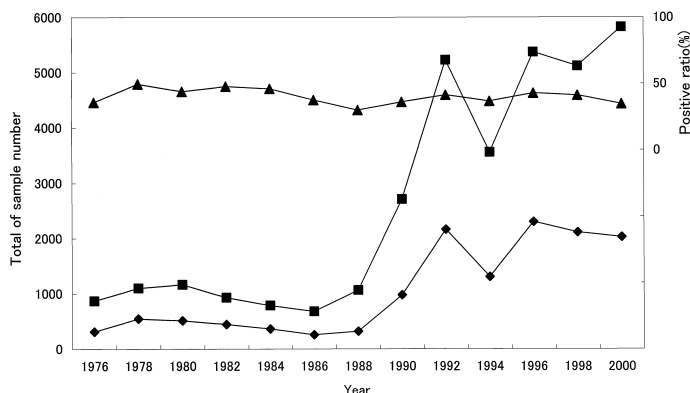
別刷請求先 : (〒228-8555) 神奈川県相模原市北里 1—15—1
北里大学病院臨床検査部細菌検査室

小幡 進

平成13年10月20日

Fig. 1 Positive ratio by year

▲ Positive ratio ■ Sample number (all samples) ● Sample number of positive



て比較した．複数菌種検出状況と年次別提出検体数については，総検体を用いた．なお，重複検査の削除は，同一菌種を検出した場合に限り，検出菌種が異なる場合は削除対象から除外した．

3. 集計対象菌

無菌材料より分離された菌については全て集計対象とし，喀痰・咽頭から分離された菌で菌量が 10^3 CFU/ml 以下の場合は常在菌と見なして集計から除外した．尿から分離された菌で菌量が 10^4 CFU/ml 以下の場合も集計から除外した．

4. 分離同定方法

検査材料は，一部を除き，10 μ l の定量白金耳を用いた半定量培養法を行った．呼吸器系材料は，喀痰溶解剤を用いて均一化した後に培養した．血液，髄液など増菌を必要とする場合は，サブロー液体培地で増菌を行い，材料はすべて1週間の継続培養を行った．爪，皮膚，毛髪はそのまま，組織などは材料をホモジナイザーで粉碎した後それぞれサブロー斜面培地で1カ月間培養した．酵母様真菌の同定には1976年から1978年までは Api 20C オキサノグラム[®] (APISYSTEM S.A. アスカ純薬)，その後は Api32C オキサノグラム[®] (APISYSTEM S.A. アスカ純薬) を用いて同定した．1996年から1997年までは ATG 寒天培地[®] (セロテック社製) による集落色調肉眼同定と YBC カード[®] (ピオメリュ社製) を併用した．1998年からは，CHROMagarCANDIDA 寒天培地[®]

(CHROMagar 社製) による集落色調肉眼同定と YBC カード[®] を併用した．また，必要に応じて追加試験を実施した．糸状菌は，巨大集落培養と，スライドカルチャーによる形態的同定を行った．

成 績

1. 検体数と陽性率の年次推移

1976年から2000年までの提出検体数の年次推移を Fig. 1 に示した．25年間に当院真菌検査に提出された検体の総数は64,296件であり，そのうち集計対象とした偶数年次総数は34,394件であった．同一患者の重複検体を削除した場合の検体数は28,491件であり，同一患者からの年次別の重複検体提出率は，各年次で提出総検体数の1.0% から1.3%の間を推移していた．

1976年から1988年までの提出検体の年次平均は935.8件であった．しかし1988年以降，年間平均提出検体は4,036.8件と1976年から1988年比で約4倍に増加していた．全ての提出検体のうち酵母様真菌及び糸状菌が分離された真菌検査全体の陽性率は，25年間の平均で39.7% とほぼ一定であった．

2. 酵母様真菌の分離状況

酵母様真菌の検出率は，集計偶数年次の平均で34.2%であった．年次別に見た菌種別検出比率を Fig. 2 に示す．*Candida albicans* は1976年から1978年では検出酵母様真菌全体の90%弱を占めていたが，1980年以降の平均分離率は全体の66.9

Fig. 2 Ratio of isolate of the principal yeast fungus by year
Candida albicans ■ *Candida glabrata* ▲ *Candida tropicalis*
 * *Candida* spp.

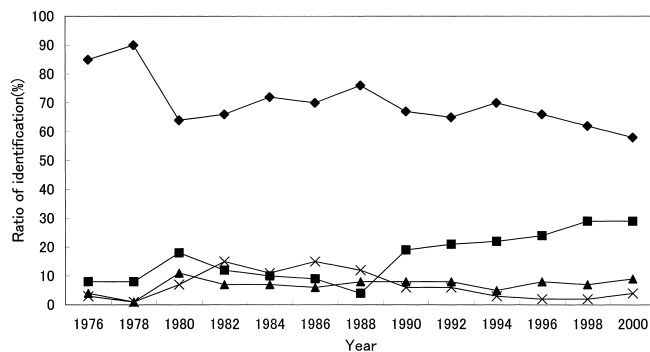


Fig. 3 Relative Ratio of identification of genus *Aspergillus* (1976 ~ 2000)
 A : *Aspergillus fumigatus* B : *Aspergillus niger*
 C : *Aspergillus terreus* D : *Aspergillus* spp.

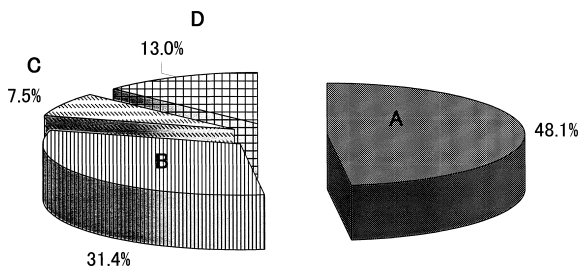
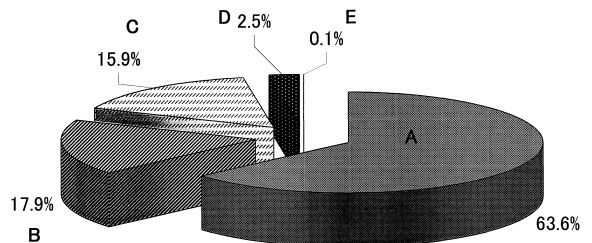


Fig. 4 Relative Ratio of identification of dermatophytes (1976 ~ 2000)
 A : *Trichophyton rubrum* B : *Microsporum canis*
 C : *Trichophyton mentagrophytes* D : *Microsporum gypseum* E : *Epidermophyton floccosum*



%であった。*Candida glabrata* は、1986 年以前の平均分離率は 10.8% であったが、1988 年以降分離率に増加傾向が見られ、2000 年には 29.0% と約 3 倍に増加していた。*Candida tropicalis* は、25 年間を通しての平均分離率は 6.8% で一定であった。*Candida* spp. は菌量の少ないものを除いて、1982 年の 15.0% を最高に減少傾向を示し、2000 年には 4.0% となっていた。また、*Cryptococcus neoformans* は、各年次とも 1% 以下で 25 年間の平均分離率は 0.8% であった。*Candida krusei* は、各年次とも分離比率 1% 以下であり、25 年間の平均は 1.2% とほぼ一定であった。喀痰から分離された菌量が 10^3 CFU/ml のもの、尿から分離された菌量が 10^4 CFU/ml 以下のものは、共に 1988 年以降の検体数増加に伴い増加していた。

平成13年10月20日

3. 糸状菌の年別分離頻度

1) *Aspergillus* 属の分離状況

Aspergillus 属の年次別検出率は、1988 年の 4.0% から 1992 年の 2.0% 多少の変動が見られるものの、集計年次平均で 1.2% を推移していた。菌種別に見た分離頻度を Fig. 3 に示した。分離された *Aspergillus* 属のうち *Aspergillus fumigatus* が全体の 48.1% と最も多かった。ついで *Aspergillus niger* (31.4%)、*Aspergillus terreus* (7.5%)、*Aspergillus* spp (13.0%) の順であった。

2) 皮膚糸状菌の分離状況

皮膚糸状菌の集計偶数年次における菌種別分離比率を Fig. 4 に示した。集計年次の平均では、*Trichophyton rubrum* が 63.6% と最も多かった。次

いで *Microsporum canis* (17.9%), *Trichophyton mentagrophytes* (15.9%), *Microsporum gypseum* (2.5%), *Epidermophyton floccosum* (0.1%) の順であった。菌種別の年次推移では, *M. canis* の分離比率が増加傾向を示し, 1976 年から 1986 年までの分離比率平均で 7.8% に比べ, 1988 年から 2000 年までの分離比率平均では 27.0% と 3.4 倍に増加していた。

4. 材料別真菌分離状況

1) 尿からの酵母様真菌分離状況

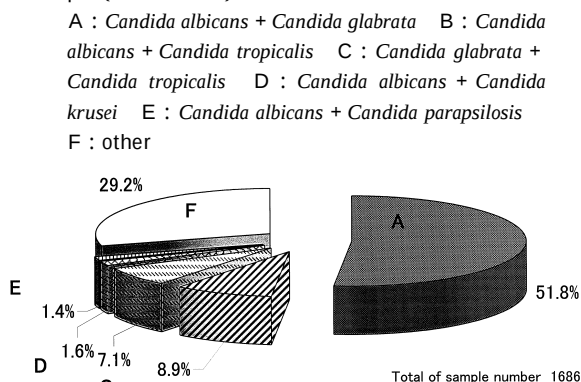
集計偶数年次に提出された尿検体は 2,430 件であり, そのうち陽性検体は 539 件であり, 陽性率は 22.2% であった。提出検体数は, 1988 年以前では年間平均 28.9 検体であったのに対し, 1990 年以降では年間平均 371.3 件と約 10 倍の提出検体の増加を認めた。菌種別分離比率は, *C. albicans* が 1976 年, 1978 年には平均 75.7% を占めていたが, 1980 年以降は平均 48.2% とほぼ一定であった。*C. glabrata* は, 1986 年以前は, 10.0% 以下の分離頻度であったが, 1988 年以降の分離頻度は平均 28.4% と増加していた。また, *C. tropicalis* は 10.5%, *Candida* spp. は 7.1% で分離頻度はほぼ一定であった。

2) 皮膚科材料からの真菌分離状況

集計偶数年次の皮膚科系材料の検体数は 2,598 件で, そのうち陽性検体は 1,124 件, 陽性率は 43.3% であった。陽性検体のうち 53.5% が酵母様真菌で, 次いで, 皮膚糸状菌の 45.3% の順であった。集計偶数年次の皮膚, 鱗屑, 毛髪を検体数は 1,932 件で, そのうち陽性検体は 802 件 (41.5%) であった。陽性検体 802 件中 *T. rubrum* が 40.3% と最も多く, 次いで *C. albicans* (18.3%), *T. mentagrophytes* (13.2%), *M. canis* (6.4%), *Candida parapsilosis* (5.4%), *Candida guilliermondii* (2.2%), *M. gypseum* (1.7%), *Rhodotorula rubra* (1.8%) の順であった。

集計偶数年次における爪の検体数は 666 件で, そのうち陽性検体は 314 件 (47.1%) であった。陽性検体 314 件中 *T. rubrum* が 23.9% と最も多く, ついで *C. parapsilosis* (18.8%), *C. albicans* (18.2%), *C. guilliermondii* (9.2%), *R. rubra* (7.2%), *T. mentagrophytes* (3.1%) の順であった。

Fig. 5 Isolation of two different species from a sample (1976 ~ 2000)



3) 呼吸器系材料からの真菌分離状況

集計偶数年次に呼吸器系材料 (喀痰, 気管支洗浄液) から分離された *Aspergillus* 属は, 喀痰 8,755 件中 302 件 (3.4%), 気管支洗浄液 2,180 件中 36 件 (1.7%) であった。呼吸器系材料における菌種別分離頻度は, *A. fumigatus* が 73.3% と最も多く, 次いで *A. niger* (16.1%), *A. terreus* 及び *Aspergillus flavus* (3.3%), *Aspergillus candidus* (1.1%), *Aspergillus* spp. (2.9%) であった。また, *Candida* 属は, 喀痰 8,755 件中 4,701 件 (53.9%), 気管支洗浄液 2,180 件中 443 件 (20.3%) であった。呼吸器系材料における菌種別分離頻度は, *C. albicans* が 52.6% と最も多く次いで, *C. glabrata* (21.1%), *C. tropicalis* (7.5%), *Candida* spp. (2.9%) 菌量 10^3 CFU/ml 以下の *Candida* spp. (15.9%) の順であった。

5. 複数菌種の分離状況

同一検体に複数の菌種が分離されたものの件数は, 集計偶数年次において 1,686 件で複数菌分離率は 5.9% であった。2 菌種分離された検体の菌種別組み合わせを Fig. 5 に示す。最も多い組み合わせは *C. albicans* と *C. glabrata* の 51.8% で次いで, *C. albicans* と *C. tropicalis* (8.9%), *C. glabrata* と *C. tropicalis* (7.1%), *C. albicans* と *C. krusei* (1.6%), *C. albicans* と *C. parapsilosis* (1.4%) の順であった。複数菌種が分離された検体は, 喀痰が 65.9% と最も多く, 次いで咽頭 (8.7%), 便 (5.5%), 尿 (3.5%) であった。また複数菌種が分離された検体の

76.3% が入院患者からの検体であった。

考 察

当院では、開院当初から真菌検査の依頼は一般細菌検査及び抗酸菌検査と培養方法、時間の違いなどから、独立した形式で運用している。一般細菌で真菌を認め、直ちにこれを精査する場合に真菌検査を依頼している。

本邦の内臓真菌症は、日本病理剖検輯報についての集計によると1969年から1990年までの統計で症例数は増加傾向にあると報告されている^{8)~10)}。当院でも1989年以降陽性率に変化がなかったものの、真菌検査の依頼件数は急激に増加していた。これは1989年以降、真菌症を念頭に置いた検体提出が当院でも増加したためと考えられる。また1980年代後半には、抗菌薬として第3世代のセフェム系などが発売された時期であることから¹¹⁾、広域抗菌薬投与中の一般細菌との菌交代現象の監視、日和見感染症の発症および易感染性患者の監視などの理由で検体数が増加したものと考えられる。1992年に一時検体数が増加しているが、これは診療科による常在菌把握のための監視培養が行われたためであった。

また、開院当初と比較して、検出菌種が多様化していた。これは、真菌検査への提出検体の種類が多様化したためであると考えられ、同様に真菌感染症がある特定部位に感染する感染症から、内臓を含めた全身感染症へこの25年間で変化してきたと考えられる。

酵母様真菌の分離頻度推移を見ると、検体から高頻度に分離される *C. albicans* は、開院当初を除いてほぼ横ばいであったが、近年 *C. albicans* が減少傾向を示し、逆に *C. glabrata* が増加傾向にあることがわかった。アゾール系抗真菌薬であるフルコナゾール (FCZ) が上市されたのは1989年であり、*C. glabrata* が増加しはじめた頃と一致していた。*C. glabrata* は、他の酵母様真菌と比較してFCZに低感受性であるため¹²⁾、分離頻度が増加したものと考えられる。しかし、同様にFCZ低感受性であるとされる *C. krusei* の分離頻度は、ほぼ横ばいであった。病状によっては empiric therapy など抗真菌薬を予防的に低濃度投与する場合もあ

り、これら菌種が耐性化することも危惧される。FCZ 使用により *C. albicans* との間に菌交代現象が生じたものなのか、他の酵母様真菌とこれら低感受性菌の間に、FCZ の感受性に対する差がまだ少ない結果であるのかは、今後保存株等を用いて感受性検査に差を認めるか否かの検討を重ねてゆく予定である。また、易感染性患者が多い血液内科病棟でも *C. glabrata* の分離頻度が増加しており、同様にFCZの低感受性である *C. krusei* の動向も含めて、今後の疫学統計によって分離動向を把握していく必要がある。

皮膚糸状菌については、本邦における糸状菌分離動向^{13)~14)}と差はなかったが、当院では特に *M. canis* が増加傾向を示していた。近年、真菌検査に提出される動物の体毛などの検体が増加しており、これらの検体からも患者同様に *M. canis* を分離した検体が増加していた。ペットを飼育している場合などは、疾患の原因究明の為に動物の体毛も同時に検体を提出することが大切であると考ええる。

呼吸器系材料、耳鼻科系材料からの *Aspergillus* 属の年次別分離頻度に差は認められなかった。*Aspergillus* 属は空気中にもその胞子が多数存在するため^{15)~16)}、*Aspergillus* 属が分離されても病因的意義が不明な場合も多く認められる。しかし、1987年から1993年の間に当院真菌検査に提出された検体の集計では、臨床的に *Aspergillus* 症と診断された症例の56.3%で、検体から複数回 *Aspergillus* 属が分離されていた¹⁷⁾。本集計では、分離株の推移を示す為に同一患者由来株を削除したが、臨床的には同一患者から複数回 *Aspergillus* 属が分離された場合には *Aspergillus* 症である場合が多く、その場合には臨床側への迅速報告が重要である。また複数回 *Aspergillus* 属が分離された場合、 β -D-グルカンや *Aspergillus* 抗原検索などの検査を検査室側から推奨すること^{18)~19)}により *Aspergillus* 症診断の精度がより高まると考える。

Candida spp. は1982年を境に減少していた。これは酵母様真菌の同定検査が同定キットや分離培地の開発などにより、精度自体が向上した結果を反映しているものと考ええる。

本集計結果から近年、同一検体から複数菌種が分離された検体が増加傾向にあることがわかった。これは開院当初と比較し、高精度の酵母様真菌同定用キットが多数上市されていことも要因の一つと考えられる。しかし、開院当初に比べ、複数菌種分離件数が約6倍に増加していることや、外来患者の喀痰からの複数菌種分離件数も増加傾向にあることから、常在的に複数菌種が定着している患者が増加したと考えられる。また、外来患者と比較して病棟患者の喀痰、咽頭中からの分離を多く認め、*C. albicans* と共に *C. glabrata* を検出する検体が多かった。現在真菌症に多用されている FCZ に対して低感受性である *C. glabrata* は易感染性患者に対して重篤な症状を引き起こす危険性があるため、病棟で口腔内を清潔に保つための処置等が必要であろう。

今回、血液からの真菌検出数は示さなかったが、分離株数は、13件と少なかった。その原因としては、熱発がある場合に初めに真菌感染を疑う例は少なく²⁰⁾、一般細菌検査には血液検体が提出されたものの、真菌検査に提出される検体数が少ないためであると思われる。血液検体については、真菌についてもその動向をより正確に知るために、一般細菌へ提出された検体を含めた集計を行う予定である。

今後、検査の立場から臨床的背景を含めたデータ解析を行い、真菌感染症の詳細な疫学情報を臨床に提供したいと考える。

謝辞：稿を終えるに当たり、ご指導ご校閲いただきました北里大学医学部病理学講師、久米 光先生、ならびに北里大学医療衛生学部臨床検査医学講師、阿部美知子先生に感謝いたします。

文 献

- 1) 奥平 雅彦：Opportunistic fungus infection の病理。日病会誌 1985；74：61—91.
- 2) 久米 光：内臓カンジダ症の疫学と予防。CANDIDIASIS カンジダ症の基礎と臨床 1994；p. 44—52.
- 3) 上野桂一，二上文夫，中野達夫：消化器外科領域における真菌（とくに *Candida*）感染。日外会誌 1991；92：1280.
- 4) Miyake M, Okudaira M：A statistical survey of deep fungus infections in Japan. Acta Pathol Jpn 1967；17：401—15.
- 5) Hasegawa A：Dermatophytes from Animals。日医真菌誌 2000；41：1—4.
- 6) Odds FC：Resistance of azole-derivative antifungus. J. Antimicrob. Chemother 1993；31：463—71.
- 7) 二木芳人：難治性真菌感染症への対策。日医真菌誌 1997；38：58.
- 8) 久米 光：Opportunistic fungus infection の発症に関する研究。真菌と真菌症 1976；15：142—55.
- 9) Kanda M：A statistical survey of deep mycosis in Japan, with particular reference to autopsy cases of Cryptococcosis. Acta Pathol Jpn 1974；24：595—609.
- 10) Hotchi M：Present state of fungal infections in autopsy cases in Japan. A statistical survey of all autopsy cases during the ten year period from 1966 to 1975. Amer. J Clin Path 1980；74：410—6.
- 11) 橋本 一，井上松久：病原菌の薬剤耐性—機構の解明とその対策—。学会出版センター 1995；p. 1—40.
- 12) 砂田淳子，浅利誠志：真菌検査の進め方—薬剤感受性検査—。Medical Technology 1995；p. 599—608.
- 13) 日本医真菌学会疫学調査委員会：1992 年次皮膚真菌症疫学調査成績。日医真菌誌 1995；36：87—95.
- 14) 日本医真菌学会疫学調査委員会：1996 年次皮膚真菌症疫学調査成績。日医真菌誌 2000；41：187—96.
- 15) 朝田康夫：自然界における真菌の分布消長について。日医真菌誌 1963；4：129.
- 16) 石岡 栄：松江地方の空中真菌相とその菌種に関する研究。日医真菌誌 1991；32：297.
- 17) 小幡 進，阿部美知子：呼吸器系材料より検出したクリプトコッカスおよび糸状菌の病原的意義に関する検討。日医真菌誌 1994；35：135.
- 18) 山下えりこ：急性骨髄性白血病寛解導入療法中、免疫学的に診断し治療し得た肺アスペルギルス症の1例。感染症誌 1993；67(1)：85—91.
- 19) 橋口浩二：血清抗原検出にて肺アスペルギルス症と診断され救命し得た慢性骨髄性白血病の1症例。感染症誌 1992；66(11)：1592—6.
- 20) 上田 泰，清水喜八郎：深在性真菌症の診断と治療。メディカルジャーナル社 1988；p. 89—102.

An Epidemiological Study for Fungus Isolation during the Twenty-five Year Periods from 1976 to 2000 in Kitasato University Hospital

Susumu OBATA¹⁾, Yasuyoshi HIRATA¹⁾, Keisuke SUNAKAWA²⁾ & Matuhisa INOUE³⁾

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Kitasato University Hospital

²⁾Department of infectious disease, Kitasato University School of Medicine

³⁾Department of Microbiology, Kitasato University School of Medicine

We investigated an epidemiological study for fungus isolation in our hospital from 1976 to 2000. For 25 years, the total sample number of fungus examination were 64,296, and after 1988, the total sample number increased suddenly. As a whole, the positive ratio was constantly about 40%. When our hospital opened, the obstetrical and gynecological samples showed 38.8% for fungus examination, but recently, samples of the respiratory organ has increased. Ratio of isolation for yeast, *Candida albicans* was 53.8%, and another yeasts such as *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* were 12.5%, 5.3%, and 3.4%, respectively. Recently, isolation of *Candida glabrata* showed a tendency to increase.

For genus *Aspergillus*, *Aspergillus fumigatus* was isolated, 48.1%, and *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* were isolated, 31.4% and 7.5%, respectively. For dermatophytes, *Trichophyton rubrum* was isolated, 63.6% in dermatophytes, and another dermatophytes were *Microsporum canis* (17.9%), and *Trichophyton mentagrophytes* (15.9%) respectively. For dermatophytes, isolation of *Microsporum canis* showed a tendency to increase. Recently, the plural number of species showed a tendency to increase in the samples. Compared with the number of samples at the beginning in our hospital, the plural number of species in the samples increased about six times.