原　著

血液・血管カテーテル・尿・便からの *Candida* 属菌分離状況と抗真菌薬感受性

[1] 東邦大学医学部微生物学講座，[2] 東邦大学医療センター大森病院臨床検査部，
[3] 同　感染管理部，[4] 長崎大学医学部第2内科
田代　将人[1)4)]　村上日奈子[2)]　吉澤　定子[3)]
舘田　一博[1)]　山口　恵三[1)3)]

（平成21年1月28日受付）
（平成21年12月3日受理）

Key words: *Candida*, blood culture, catheter, urine, antifungal activity

要　旨

2002年から2008年までの7年間に，東邦大学医療センター大森病院にて *Candida* 属菌が分離された血液177検体，血管内留置カテーテル先端162検体，尿1,889検体，および便782検体を対象とし解析した．血液培養からの分離状況は，*Candida albicans*：90例（51%），*Candida parapsilosis*：30例（17%），*Candida glabrata*：22例（12%），*Candida tropicalis*：6例（3%），*Candida* spp.：29例（16%）であった．血管内留置カテーテル先端培養からの分離状況は，*C. albicans*：87例（54%），*C. parapsilosis*：14例（9%），*C. glabrata*：36例（22%），*C. tropicalis*：5例（3%），*Candida krusei*：2例（1%），*Candida* spp.：18例（11%）であった．尿培養からの分離状況は，*C. albicans*：1165例（62%），*C. parapsilosis*：22例（1%），*C. glabrata*：484例（26%），*C. tropicalis*：83例（4%），*C. krusei*：26例（1%），*Candida* spp.：109例（6%）であった．便培養からの分離状況は，*C. albicans*：425例（54%），*C. parapsilosis*：3例（1%），*C. glabrata*：103例（13%），*C. tropicalis*：28例（4%），*C. krusei*：5例（1%），*Candida* spp.：218例（28%）であった．*Candida* 属菌の年次推移は尿培養にて若干増加傾向が見られたが，その他の検体では変化を認めなかった．尿培養における増加は *C. albicans*，non-*albicans Candida* いずれも同様に増加していた．また，血液培養由来39株，血管内留置カテーテル由来10株の計49株に対し，amphotericin B（AMPH-B）flucytosine（5-FC），fluconazole（FLCZ），iraconazole（ITCZ），および micafungin（MCFG）の薬剤感受性試験を行った．5-FC，FLCZ，ITCZ と MCFG に対する感受性はおおよそ保たれていた．

〔感染症誌　84：187～192，2010〕

序　文

深在性真菌症は易感染宿主の増加に伴い，以前にも増して重要な感染症となっている．その原因菌の中でも *Candida* 属菌は最も分離頻度が高く重要な病原性酵母である．治療においては一部の抗真菌薬で菌種間の感受性差が大きく菌種の分布は重要な情報であるため，国内外から血液培養の成績が多数報告されている[1)～5)]．

病原性 *Candida* 属菌種は消化管や膣などの粘膜や全身の皮膚に常在菌として定着しており，内因性に感染を起こす．よって，血液や血管内留置カテーテルから分離されたものだけでなく，尿路や腸管内に定着している *Candida* 属菌の分布も重要な情報源であると考え，東邦大学医療センター大森病院にて得られた血液，血管内留置カテーテル，尿，便における分布，尿中 *Candida* 属菌の意義，抗真菌薬感受性について検討した．

別刷請求先：（〒143-8540）東京都大田区大森西5―21―16
東邦大学医学部微生物学講座　　田代　将人

平成22年3月20日

対象と方法

1．対象

東邦大学医療センター大森病院は，救急救命センター，新生児集中治療室，血液内科を有する1,021床の総合病院である．2002年から2008年までの7年間に，当施設にて *Candida* 属菌が分離された血液177検体，血管内留置カテーテル先端162検体，尿1,889検体，および便782検体を対象とした．同一患者であっ

Table 1 Frequencies of *Candida* species

Species	No. (%) of isolates				
	Blood	Vascular catheters	Urine	Stool	Total
C. albicans	90 (50.8)	87 (53.7)	1,165 (61.7)	425 (54.3)	1,767 (58.7)
C. parapsilosis	30 (16.9)	14 (8.6)	22 (1.2)	3 (0.4)	69 (2.3)
C. glabrata	22 (12.4)	36 (22.2)	484 (25.6)	103 (13.2)	645 (21.4)
C. tropicalis	6 (3.4)	5 (3.1)	83 (4.4)	28 (3.6)	122 (4.1)
C. krusei	0 (0.0)	2 (1.2)	26 (1.4)	5 (0.6)	33 (1.1)
Candida spp.	29 (16.4)	18 (11.1)	109 (5.8)	218 (27.9)	374 (12.4)
Total	177 (100)	162 (100)	1,889 (100)	782 (100)	3,010 (100)

ても検査材料や採取日が異なる場合には重複して集計した．血管内留置カテーテルには経静脈高カロリー輸液用カテーテルの他にも，血液透析用カテーテルやスワンガンツカテーテルなど中心静脈に留置される全てのカテーテルを含めた．尿検体は中間尿とカテーテル尿を全て含み，1,303 例（69%）に尿道カテーテルが留置されていた．

2. 真菌の分離・同定

通常の院内ルートによって提出された検査材料から *Candida* 属菌を分離し，クロモアガー・カンジダ（関東化学）にて，集落形状や色調による肉眼的推定を行い，必要に応じバイテック 2 XL（日本ビオメリュー）にて同定を行った．

3. 抗真菌薬感受性測定

血液培養由来 39 株，血管内留置カテーテル由来 10 株の計 49 株に対し，amphotericin B（AMPH-B）flucytosine（5-FC），fluconazole（FLCZ），itraconazole（ITCZ），および nicafungin（MCFG）の薬剤感受性試験を行った．MIC の測定は CLSI（NCCLS）標準法 M27-A3 に準拠し，市販の酵母様真菌 DP“栄研”（栄研化学）を用い微量液体希釈法で実施した．5-FC，FLCZ，および ITCZ に対する感受性の評価基準は CLSI M27-S3 に準拠して，感性（S）カテゴリーの MIC ブレイクポイントをそれぞれ≦4μg/mL，≦8μg/mL，および≦0.125μg/mL，耐性（R）カテゴリーのそれをそれぞれ≧32μg/mL，≧64μg/mL，および≧1μg/mL とした．さらに FLCZ と ITCZ については感性と耐性の中間域の感受性を示すものを用量依存的感性（S-DD）とし，5-FC についてはそれを中間（I）とした．なお，FLCZ の *C. krusei* に対するブレイクポイントは確定していない．MCFG も同様に CLSI M27-S3 に準拠し，感性（S）カテゴリーの MIC ブレイクポイントを≦2μg/mL，非感受性（NS）カテゴリーのそれを＞2μg/mL とした．

成　績

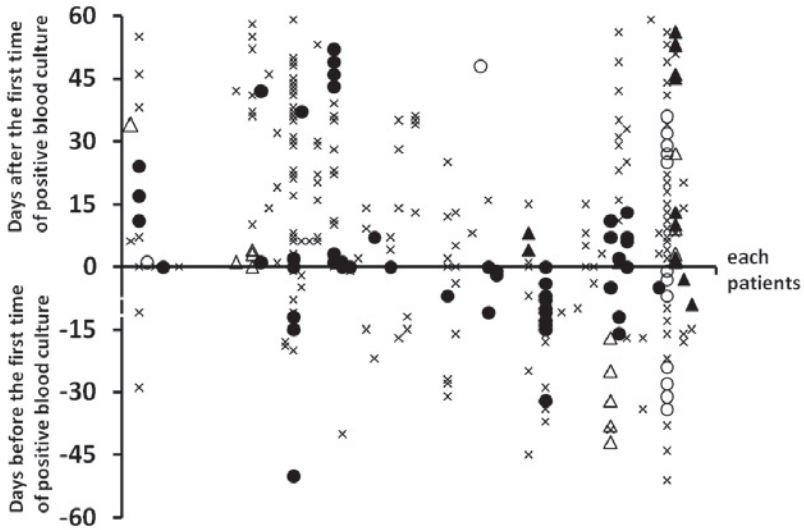
1. 分離状況

血液培養からの分離状況は，*C. albicans*：90 例（51%），*C. parapsilosis*: 30 例（17%），*C. glabrata*: 22 例（12%），*C. tropicalis*: 6 例（3%），*Candida* spp.：29 例（16%）であった．血管内留置カテーテル先端培養からの分離状況は，*C. albicans*: 87 例（54%），*C. parapsilosis*: 14 例（9%），*C. glabrata*: 36 例（22%），*C. tropicalis*: 5 例（3%），*C. krusei*：2 例（1%），*Candida* spp.：18 例（11%）であった．尿培養からの分離状況は，*C. albicans*: 1,165 例（62%），*C. parapsilosis*：22 例（1%），*C. glabrata*：484 例（26%），*C. tropicalis*：83 例（4%），*C. krusei*：26 例（1%），*Candida* spp.：109 例（6%）であった．便培養からの分離状況は，*C. albicans*: 425 例（54%），*C. parapsilosis*：3 例（1%），*C. glabrata*：103 例（13%），*C. tropicalis*：28 例（4%），*C. krusei*：5 例（1%），*Candida* spp.：218 例（28%）であった（Table 1）．*Candida* 属菌の年次推移は尿培養にて若干増加傾向が見られたが，その他の検体では年次毎の検出件数に変化を認めなかった．尿培養における増加は *C. albicans*，non-*albicans Candida* いずれも同様に増加していた．分布においては，いずれの検体も *C. albicans*が約半数を占め，*C. glabrata*が約 2 割を占めた．*C. parapsilosis*は血液や血管カテーテルからは検出されるが，尿や便にはほとんど認めなかった．

2. 血液培養と尿培養の関係

通常，尿より検出された *Candida* 属菌は尿道口より上行性に定着したものと判断される．カンジダ血症を起こした場合，下行性に尿中へ出現する可能性も理論的には考えられるが，実際の頻度は明らかでない．これらカンジダ血症とカンジダ尿症の関係を検証するため，血液培養初回陽性日とその前後 60 日以内の尿培養検査結果をまとめた（Fig. 1）．血液培養初回陽性日の前後 14 日以内に尿培養が提出されていた患者は 45 例おり，尿培養にて血液培養と属が一致した *Candida* 属菌が認められたのは 20 例（41%）であった．一方で血液培養陽性となる 14 日以前に尿培養で認められたのは 3 例/19 例（16%）のみであった．血液培養が陽性と判明した後は抗真菌薬が投与されており，ほぼ全例で尿中の *Candida* 属菌が陰性となっていた．

Fig. 1　Relatioship between positive blood culture and urine culture *
* black: same species in urine, white: different species in urine, circle: C.albicans, triangle: non-albicans candida spp., cross: negative urine culture



3. 抗真菌薬感受性

5-FC に対しては，*C. glabrata* の 1 株のみが耐性を示したが，他の大部分の株では感受性は保たれていた．同株は FLCZ と ITCZ に対しても耐性であった．*C. albicans* 20 株の内，FLCZ に対しては 2 株（10%），ITCZ に対しても 2 株（10%）が耐性を示した．これら 2 株は由来患者が異なり，それぞれ FLCZ と ITCZ 両者に対し耐性を示した．*C. glabrata* 9 株は FLCZ に対し 1 株（11.1%），ITCZ に対しては 4 株（44.4%）が耐性を示した．MCFG に対しては，全ての株が感受性であった（Table 2）．

考　察

以前よりカンジダ血症において non-*albicans Candida* 属菌が増加傾向にあるといわれている[6]．近年の報告でも *C. albicans*が主要な菌であることは変わらないものの，non-*albicans Candida* 属菌，特に *C. glabrata* の増加傾向が報告されている[7]．アジア，ラテンアメリカ，ヨーロッパ，北アメリカの各国のカンジダ血症における *Candida* 属菌分布の報告では，いずれもおよそ半数を *C. albicans* が占めている点は変わりなかった．しかし，*C. parapsilosis*，*C. glabrata*，*C. tropicalis* の頻度は地域によって若干異なる様である[1]．我が国では，多施設の血液培養より分離された 535 株の *Candida* 属菌の内訳が，*C. albicans*：41%，*C. parapsilosis*：23%，*C. glabrata*：18%，*C. tropicalis*：12% であったと報告されている[3]．血液培養に関する我々の検討では，2002 年度より 2008 年度までの 7 年間を総合すると，他の報告と大差は見られなかった．年次推移については，各年の検体数が少ないため傾向をつかむことはできなかった．

血管内留置カテーテル先端培養については，我が国からは *C. albicans*：32.3%，*C. parapsilosis*：29.7%，*C. glabrata*：9.0%，*C. tropicalis*：7.1%，*Candida* 属以外の真菌：11.5% との報告がある[4]．一方，我々の検討では *C. albicans* が約半数を占め，*C. glabrata* が 2 割，*C. parapsilosis* が 1 割との結果であり，前記の報告や当院の血液培養の結果と比べても *C. parapsilosis* の割合が少なかった．原因としてカテーテル穿刺時に持ち込まれることが少なかったか，他の *Candida* 属菌が相対的に多かったことなどが考えられる．カテーテル留置部位の一つである鼠径部は肛門に近く，腸管内に定着している *C. albicans* や *C. glabrata* で皮膚が汚染されている可能性もある．今回検討したカテーテルの留置部位で鼠径部が多く選択されていることも疑ったが，さかのぼって検討することはできなかった．また菌種の分布を検証する上で FLCZ の使用頻度も重要な要素であるが，今回の調査では調べることができなかった．

今回我々は尿と便における *Candida* 属菌の分布も検討した．いずれも通常は定着と判断され，その臨床的意義は乏しいと考えられている．実際，臓器移植領域など高度の免疫抑制状態においてのみ，複数の部位から検出された際にカンジダ血症の危険因子として認識される程度である[8]．尿検体から *Candida* 属菌が検出される頻度は非常に多く，我々の施設でも 7 年間で 1,889 検体の尿から検出された．便においては腸管が元々定着している部位でもあり，少量の菌量であれば容易に検出される．しかし，血液培養における *Candida* 属菌の由来は大半が内因性，特に腸管由来であることを考慮すると，尿，便における *Candida* 属菌の分布は血液培養における分布に直結し，重要な情報源になる

Table 2 Antifungal susceptibilities of 49 *Candida* species from blood and vascular catheters

Species (no. of isolates)	Antifungal agent	MIC (μg/mL)			% Resistant*
		range	MIC_{50}	MIC_{90}	
C. albicans (20)	amphotericin B	≤ 0.063－1	0.25	0.5	—
	flucytosine	≤ 0.125－2	≤ 0.125	0.5	0.0
	fluconazole	≤ 0.125－> 64	0.25	2	10.0
	itraconazole	≤ 0.031－> 8	0.031	0.25	10.0
	micafungin	≤ 0.031－0.063	≤ 0.031	0.063	0.0
C. parapsilosis (11)	amphotericin B	≤ 0.063－0.5	0.125	0.5	—
	flucytosine	≤ 0.063－1	0.25	0.5	0.0
	fluconazole	0.5－16	1	2	0.0
	itraconazole	≤ 0.031－0.5	0.063	0.125	0.0
	micafungin	0.125－2	0.5	2	0.0
C. glabrata (9)	amphotericin B	0.125－0.5	0.25	0.5	—
	flucytosine	≤ 0.063－1	≤ 0.125	> 64	11.1
	fluconazole	4－> 64	4	> 64	11.1
	itraconazole	0.125－> 8	0.5	> 8	44.4
	micafungin	≤ 0.031－1	≤ 0.031	1	0.0
C. tropicalis (2)	amphotericin B	0.125－0.5	0.125	0.25	—
	flucytosine	≤ 0.063－1	0.25	0.5	0.0
	fluconazole	1－> 64	1	> 64	50.0
	itraconazole	≤ 0.031－> 8	0.031	> 8	50.0
	micafungin	≤ 0.031	≤ 0.031	≤ 0.031	0.0
Candida spp. (7)	amphotericin B	≤ 0.06－0.5	0.125	0.5	—
	flucytosine	≤ 0.063－1	≤ 0.125	1	0.0
	fluconazole	≤ 0.125－4	2	4	0.0
	itraconazole	≤ 0.031－0.5	0.063	0.5	0.0
	micafungin	≤ 0.031－0.5	0.5	0.5	0.0
All isolates (49)	amphotericin B	0.063－1	0.125	0.5	—
	flucytosine	≤ 0.125－> 64	0.125	0.5	2.0
	fluconazole	≤ 0.125－> 64	1	16	8.2
	itraconazole	≤ 0.031－> 8	0.063	2	8.2
	micafungin	≤ 0.031－2	≤ 0.031	1	4.1

* Percent resistant according to the CLSI breakpoints for flucytosine, fluconazole, itraconazole and micafungin.

と思われる．尿における分布の報告は120検体の検討に て，*C. albicans*：55.0%，*C. parapsilosis*：0.8%，*C. glabrata*：25.8%，*C. tropicalis*：17.5% との報告がある[5]．当院でも分布は類似していた．便に関しては詳細な分布の報告は見られないが，今回の検討ではおおよそ尿における分布と同様であった．

さらに我々は血液培養が陽性となった症例の中で，初回陽性の前後60日以内に尿培養が提出されている症例も検討した．このような検討を行った理由は，カンジダ血症において血中から下行性に尿中へ菌が出現する可能性を考えたためである．カンジダ血症の治療を行う際，その抗真菌学的な効果判定は血液培養の陰性化によってなされ，現在カンジダ血症治療終了の目安は血液培養陰性化後2週間以降が標準とされている[8]．血中から検出されない場合でも尿中より検出される場合は治療効果判定の一助となり得ないだろうか．我々の検討では，血液培養陽性となる2週間以前では尿培養の16% が陽性であったが，前後2週間以内では41% が陽性であり，より高頻度となっていた．またカンジダ血症が判明した時点で抗真菌薬が投与されており，ほぼ全例が血中，尿中ともに陰性化した．投与開始後14日以後に尿中より *Candida* 属菌が再検出された症例は5例あり，その中の4例で尿培養が陽性となった時期には血液培養からも検出されていた．5例の内訳は，*C. albicans* が4例，*C. glabrata* が1例であった．抗真菌薬投与終了後に尿中より *Candida* 属菌が再検出されることは，カンジダ血症の再燃を示唆している可能性がある．また尿培養と血液培養の違いとして，前者からは皮膚に常在する *C. parapsilosis*が滅多に検出されないことが挙げられる．尿中に *C. parapsilosis* が検出された症例は22例おり，19例（86%）に発熱がみられていた．血液培養にて *C. parapsilosis* が陽性となった4日後に，それまでは検出されていなかった尿より *C. parapsilosis* が出現し抗真菌薬投与により消失した症例も認めた．これはカンジダ血症により尿中へ出現した可能性が強く疑われた症例であったが，パルスフィールドゲル電気泳動法などは行っておらず同じ菌株であるとは断定できない．しかし，このように尿中より *C. parapsilosis* が検出される際はカンジダ血症と関連していないか慎重な検討が必要であ

る．

我が国における抗真菌薬感受性に関する2000年以降のサーベイランスでは，5-FCやアゾール系薬に対する *C. albicans* の耐性頻度は5%にも満たないことが示されている[3)9)10)]．5-FCは当院でも耐性株は1株のみでありおおよそ感受性は保たれていた．しかし当院で分離された *C. albicans* は20株中2株がFLCZとITCZに交叉耐性を示した．*C. glabrata* に関しても，9株中FLCZ耐性が1株，ITCZ耐性が4株認められた．諸外国では *C. parapsilosis* のアゾール系薬耐性が危惧されているが当院では認めなかった[11)]．今までの本邦におけるサーベイランスの結果と比較すると，*C. albicans* と *C. glabrata* はアゾール系薬耐性株がいずれもやや多かった．今後の調査では，抗真菌薬の使用状況などを他施設と比較する必要があろう．他の抗真菌薬MCFGは *C. parapsilosis* 以外の *Candida* 属菌には良好な抗真菌活性を示すことが報告されている[3)]．当院でも同様の状況であり，*C. parapsilosis* に対するMICが高い傾向を認めたが，全ての *Candida* 属菌が良好な感受性を有していた．

今回我々は各検体における *Candida* 属菌の分布，尿培養における *Candida* 属菌の意義，抗真菌薬感受性について報告した．いずれも今まで報告されていることを再確認した内容であるが，今後も継続した検討が必要である．

文　献

1) Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Kroeger J, Messer SA, Tendolkar S, *et al.*：In vitro susceptibility of invasive isolates of *Candida* spp. to anidulafungin, caspofungin, and micafungin：six years of global surveillance. J Clin Microbiol 2008；46：150―6.
2) Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Messer SA, Tendolkar S, Diekema DJ：Global surveillance of in vitro activity of micafungin against Candida：a comparison with caspofungin by CLSI-recommended methods. J Clin Microbiol 2006；44：3533―8.
3) Takakura S, Fujihara N, Saito T, Kudo T, Iinuma Y, Ichiyama S：National surveillance of species distribution in blood isolates of Candida species in Japan and their susceptibility to six antifungal agents including voriconazole and micafungin. J Antimicrob Chemother 2004；53：283―9.
4) 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.
5) 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；16：74―80.
6) Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzcowski H, Vartivarian S：The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different Candida species. Clin Infect Dis 1997；24：1122―8.
7) Presterl E, Daxbock F, Graninger W, Willinger B：Changing pattern of candidaemia 2001-2006 and use of antifungal therapy at the University Hospital of Vienna, Austria. Clin Microbiol Infect 2007；13：1072―6.
8) 河野　茂：深在性真菌症のガイドライン作成委員会編，深在性真菌症の診断・治療ガイドライン2007．協和企画，東京，2007；.
9) 山口英世，内田勝久，奥住捷子，小栗豊子，安達桂子，川上小夜子，他：抗真菌薬感受性サーベイランス研究会：Japan Antifungal Surveillance Programによる真菌臨床分離株の抗真菌薬感受性に関する調査（1）：2001～2002年度報告．日臨微生物誌　2004；14：183―93.
10) 山口英世，内田勝久，西山彌生，奥住捷子，小栗豊子，安達桂子，他：抗真菌薬感受性サーベイランス研究会：Japan Antifungal Surveillance Programによる真菌臨床分離株の抗真菌薬感受性に関する調査研究（2）：2003年度報告．日臨微生物誌　2006；16：13―22.
11) Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ng KP, Colombo A, *et al.*：Global Antifungal Surveillance Group.：Geographic and temporal trends in isolation and antifungal susceptibility of Candida parapsilosis：a global assessment from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. J Clin Microbiol 2008；46：842―9.

平成22年3月20日

Isolation Rate and Susceptibilities of *Candida* Species from Blood, Vascular Catheter, Urine and Stool

Masato TASHIRO[1)4)], Hinako MURAKAMI[2)], Sadako YOSHIZAWA[3)],
Kazuhiro TATEDA[1)] & Keizo YAMAGUCHI[1)3)]
[1)]Department of Microbiology, Toho University School of Medicine,
[2)]Department of Laboratory Medicine and [3)]Department of Infection Control, Toho University Omori Medical Center,
[4)]Second Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine

We evaluated species distribution and antifungal susceptibility of *Candida* isolates during 2002-2008. Of 177 *Candida* isolates from blood, species distribution was 90 (51%) *Candida albicans*, 30 (17%) *C. parapsilosis*, 22 (12%) *C. glabrata*, 6 (3%) *C. tropicalis* and 29 (16%) other *Candida* spp.. Of 162 *Candida* isolates from vascular catheter, species distribution was 87 (54%) *C. albicans*, 14 (9%) *C. parapsilosis*, 36 (22%) *C. glabrata*, 5 (3%), *C. tropicalis*, 2 (1%) *C. krusei* and 18 (11%) other *Candida* spp.. Of 1889 *Candida* isolates from urine, species distribution was 1165 (62%) *C. albicans*, 22 (1%) *C. parapsilosis*, 484 (26%) *C. glabrata*, 83 (4%) *C. tropicalis*, 26 (1%) *C. krusei* and 109 (6%) other *Candida* spp.. Of 782 *Candida* isolates from stool, species distribution was 425 (54%) *C. albicans*, 3 (1%) *C. parapsilosis*, 103 (13%) *C. glabrata*, 28 (4%) *C. tropicalis*, 5 (1%), *C. krusei* and 218 (28%) other *Candida* spp.. Both *C. albicans* and non-*Candida* spp. isolated from urine increased slightly over the past 7 years. Flucytosine, fluconazole, itraconazole and micafungin still have strong activity against *Candida* isolates.