

## [原 著]

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

山口英世<sup>1)</sup>・内田勝久<sup>1)</sup>・西山彌生<sup>1)</sup>・奥住捷子<sup>2)</sup>・小栗豊子<sup>3)</sup>・安達桂子<sup>4)</sup>  
川上小夜子<sup>5)</sup>・戸坂雅一<sup>6)</sup>・三澤慶樹<sup>7)</sup>・川島千恵子<sup>8)</sup>・堀 雅子<sup>9)</sup>  
北澤俊美<sup>10)</sup>・林 和<sup>11)</sup>・沖村幸枝<sup>12)</sup>  
抗真菌薬感受性サーベイランス研究会

- 1) 帝京大学医真菌研究センター
- 2) 獨協医科大学病院医療安全管理部
- 3) 順天堂大学医学部附属順天堂医院臨床検査部
- 4) 東京都老人病医療センター研究検査部
- 5) 帝京大学医学部附属病院中央検査部
- 6) 熊本大学医学部附属病院中央検査部
- 7) 東京大学医学部附属病院感染制御部
- 8) 足利赤十字病院臨床検査部
- 9) 岡山済生会総合病院中央検査科
- 10) きっこう会総合病院多根病院中央検査部
- 11) 自治医科大学大宮医療センター臨床検査部
- 12) 信州大学医学部附属病院中央検査部

(平成 17 年 9 月 21 日受付, 平成 17 年 12 月 8 日受理)

2003 年 6, 7 月の 2 カ月間に全国 10 施設において臨床検体から分離された真菌 409 株について, fluconazole (FLCZ), itraconazole (ITCZ), voriconazole (VRCZ) および flucytosine に対する薬剤感受性を NCCLS M27-A2 法に準拠して測定した。収集菌株は, 糸状菌 8 株を除きすべて酵母であり, *Candida* 属菌種が 389 株 (95%) と圧倒的多数を占めた。上位菌種は, *C. albicans* 223 株 (54.5%), *C. glabrata* 91 株 (22.3%), *C. tropicalis* 29 株 (7.1%), *C. parapsilosis* 27 株 (6.6%) の順であった。主要 *Candida* 属菌種における FLCZ 耐性株頻度は, *C. glabrata* 2.2% であったが, それ以外の *C. albicans* を含むその他の菌種で全く認められなかった。唯一の例外は非主要菌種の *C. krusei* であり, 7 株中 4 株 (57.2%) が耐性を示した。一方, ITCZ については *C. glabrata* 株の 1.1%, *C. tropicalis* 株の 3.5% が耐性であったが, VRCZ 耐性株はいずれの菌種にも全く認められなかった。また *Candida* 属主要菌種については, 血液関連検体分離株とそれ以外の検体からの分離株との間で感受性に実質的な差は認められなかった。以上の試験成績から, 高頻度に FLCZ 耐性を示す *C. krusei* を除けば, 国内における三つのアゾール系薬, FLCZ, ITCZ および VRCZ に対する *Candida* 属菌種の感受性は依然として高いことが示された。しかしこうした感受性の傾向を特定するためには, さらにサーベイランスを継続することが有用となる。

**Key words:** 抗真菌薬感受性試験, 抗真菌薬感受性サーベイランス, 真菌臨床分離株, *Candida* 属菌種, 薬剤耐性

著者連絡先: (〒192-0395) 東京都八王子市大塚 359  
帝京大学医真菌研究センター  
内田勝久

TEL: 0426-78-3256  
FAX: 0426-74-9190  
E-mail: kuchida@main.teikyo-u.ac.jp

## 序 文

抗真菌薬の適正な使用をはかるには、深在性真菌症起因菌の抗真菌薬感受性に関する疫学的情報を集積するとともに、耐性菌の出現などの問題が生じた場合には速やかにその状況を把握して対応する必要がある。現在抗真菌薬感受性試験の臨床的意義が最も大きいとされているのは、病原性酵母とくに *Candida* 属菌種とアゾール系薬および flucytosine (5-FC) との組み合わせについてである。これは、これらの真菌が臨床検体から分離される頻度が高く、したがって感受性試験に付される機会も多いこと、また感受性と治療効果との間の相関性が明らかになっていることによる<sup>1)</sup>。

こうした状況を背景に、われわれは3種のアゾール系薬、fluconazole (FLCZ), itraconazole (ITCZ) および voriconazole (VRCZ), ならびに 5-FC, の各々に対する病原真菌臨床分離株の感受性の現状と動向を知るために、全国10~11施設の参加のもとに「抗真菌薬感受性サーベイランス研究会」を組織し、2001年、2003年および2005年の3回にわたって Japan Antifungal Surveillance Program (JASP) のもとで各年に新たに収集された臨床分離株を対象に感受性の調査研究を実施することを計画した。その第1回(2001/2002年)調査研究の成績をまとめた論文はすでに本誌に発表されている<sup>2)</sup>。本報では、引き続いて行われた第2回(2003年)JASP調査研究の成績について述べる。

## 材料と方法

### 1. 菌株の収集

収集期間を2003年6,7月の2カ月間に限定し、この期間中に各参加施設の検査室において臨床検体から分離され、起因菌の可能性が確定または推定された菌株を収集した。なお同一患者から収集期間中に複数回分離された同一菌種の菌株については、初回の分離株と最終回の分離株の計2株のみを調査の対象とした。

### 2. 収集菌株の菌種同定

菌種同定は日常検査に使用されている方法に従って、収集当該菌株を分離・収集した施設において行った。その結果、同定の結果に疑問を生じた菌株については、帝京大学医真菌研究センターにおいて再同定を行った。

### 3. 収集菌株の抗真菌薬感受性測定

抗真菌薬感受性の測定は、前回のJASP調査研究<sup>2)</sup>と同じく、(株)ビー・エム・エルにおいて下記により一括実施した。

### 1) 抗真菌薬

酵母分離株については FLCZ, ITCZ, VRCZ, および 5-FC の4薬剤を、また糸状菌については ITCZ および VRCZ の2薬剤を各々試験対象抗真菌薬として選んだ。被験薬剤のうち FLCZ, ITCZ, VRCZ はファイザー(株)提供の原末を、5-FC は市販(和光純薬(株))の原末を使用した。薬剤溶液の調製は NCCLS M27-A2<sup>3,4)</sup> ガイドラインに準拠し、各原末は室温でデシケータ内に保存した。

### 2) 酵母分離株の抗真菌薬感受性測定

NCCLS M27-A<sup>3)</sup> および M27-A2<sup>4)</sup> の各ガイドラインに準拠し、0.165M MOPS (morpholinepropane-sulfonic acid; Sigma-Aldrich Co.) にて pH 7.0 に調整した RPMI1640 培地 (Sigma-Aldrich Co.) を用いた微量液体希釈法により感受性を測定した。*Cryptococcus* 属を除く *Candida* 属その他すべての酵母については48時間、*Cryptococcus* 属酵母のみは72時間、いずれも35°Cで培養した後の IC<sub>50</sub> 値を終末点 (MIC) とした。ただし広い薬剤濃度範囲にわたって部分的に阻止されるような発育、すなわち trailing growth, を示す分離株については、24時間培養後の IC<sub>50</sub> 値を終末点 (MIC) とした。

*Candida* 属菌種の FLCZ, ITCZ および 5-FC に対する感受性の評価基準は Rex *et al.*<sup>1)</sup> および NCCLS 法<sup>3,4)</sup> に準拠して、感性 (S) カテゴリーの MIC ブレークポイントをそれぞれ  $\leq 8$ ,  $\leq 0.125$  および  $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ , 耐性 (R) カテゴリーのそれをそれぞれ  $\geq 64$ ,  $\geq 1$  および  $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ , とした。VRCZ 感受性の評価基準は規定されていないが、本薬常用量の薬学的データ<sup>5)</sup>に基づいて Pfaller *et al.*<sup>6)</sup> が推定した感性および耐性の MIC ブレークポイント、それぞれ  $\leq 1$  および  $\geq 2 \mu\text{g/ml}$  を採用した。さらに FLCZ と ITCZ については感性和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) とした。

### 3) 糸状菌分離株の抗真菌薬感受性測定

*Aspergillus* 属菌種などの糸状菌を対象とする抗真菌薬感受性試験法としては、NCCLS M38-A<sup>7)</sup> ガイドラインに基づく方法が標準法とされている。今回の JASP 調査研究ではこれとほぼ対応する結果が得られることが確認されている<sup>8)</sup> 日本医真菌学会法 (JSMM 法)<sup>9)</sup> に準拠して糸状菌臨床分離株の抗真菌薬感受性を測定した。試験培地には、酵母の場合と同様に、RPMI1640 培地を用い、酸化還元指示薬 alamar blue (Alamar Bioscience Inc.) の呈色により得られる IC<sub>80</sub> 値を終末点 (MIC) と判定した。培養温度は27°C, 期間は1週間以内として24時間ごとに観察を続け、発育

コントロールが明らかに赤変した時点で終末点判定を行った。

## 結 果

### I. 収集菌株の菌種別内訳, 分離源検体の種類および検体別 *C. albicans* 分離状況

Table 1 に示すように, 収集菌株の総数 409 株のうち, 糸状菌は *Aspergillus fumigatus* 7 株と *Mucor* 属菌種 1 株の計 8 株に過ぎず, 残りの 401 株はすべて酵母であった。酵母の最多菌種は, *C. albicans* (223 株) であり, 収集菌株総数の 54.5% を占めた。次いで *C. glabrata* (91 株, 22.3%), *C. tropicalis* (29 株, 7.1%), *C. parapsilosis* (27 株, 6.6%), の順に多かった。そのほかの *Candida* 属菌種の菌株としては *C.*

Table 1. Species distribution of 409 fungal clinical isolates collected by 10 hospitals in Japan, Japan Antifungal Surveillance Program, 2003.

Rank	Species	No. (%) of isolates
1	<i>Candida albicans</i>	223 (54.5)
2	<i>Candida glabrata</i>	91 (22.3)
3	<i>Candida tropicalis</i>	29 (7.1)
4	<i>Candida parapsilosis</i>	27 (6.6)
5	<i>Trichosporon asahii</i>	9 (2.2)
6	<i>Candida krusei</i>	7 (1.7)
6	<i>Aspergillus fumigatus</i>	7 (1.7)
8	<i>Candida guilliermondii</i>	5 (1.2)
9	<i>Candida lusitaniae</i>	4 (1.0)
10	<i>Candida dubliniensis</i>	2 (0.5)
11	<i>Candida rugosa</i>	1 (0.3)
11	<i>Pichia anomala</i>	1 (0.3)
11	<i>Pichia ohmeri</i>	1 (0.3)
11	<i>Cryptococcus curvatus</i>	1 (0.3)
11	<i>Mucor</i> spp.	1 (0.3)
Total		409 (100)

*krusei* (7 株, 1.7%), *C. guilliermondii* (5 株, 1.2%), *C. lusitaniae* (4 株, 1.0%), *C. dubliniensis* (2 株, 0.5%), および *C. rugosa* (1 株, 0.3%) が少数ながら含まれていた。*Candida* 属菌種全体を併せた菌株数は収集酵母菌株総数の 95% (389 株 / 409 株) に達した。*Candida* 属に限った上位 4 菌種の分布比率は, それぞれ 57.3%, 23.4%, 7.5%, および 6.9% となり, この 4 菌種で *Candida* 属菌種全体の 95% 以上を占めていた。

*Candida* 属以外の酵母の分離株は 3 菌種 12 株にとどまった。そのなかでは *Trichosporon asahii* (9 株) が最も多く, ほかに *Cryptococcus curvatus* (1 株), *Pichia anomala* (1 株), および *P. ohmeri* (1 株) が分離された。真菌菌株が分離された症例における基礎疾患については, 不明例または未記入例が大半であったが, 記入例のなかでは悪性腫瘍, 糖尿病, 臓器・骨髄移植などが多かった。

Table 2 に, 検体ごとの収集菌株数およびそのなかで *C. albicans* が占める菌株数と割合を示す。収集菌株の分離源としては, 喀痰, 気管支肺胞洗浄液などの気道由来検体が 40% 強 (172 株 / 409 株) と最も多く, 尿が 20.3% (83 株 / 409 株) でこれに次ぎ, 血液・血管カテーテル由来検体は 11.3% (46 株 / 409 株) にとどまった。また各検体からの分離株のなかで *C. albicans* が占める割合は, 膿・分泌液での 48.7% (18 株 / 37 株) を除けば, 血液・血管カテーテル由来検体での 52.2% (24 株 / 46 株) を含めて, いずれも 50% 以上であった。

### II. *Candida* 属菌株の抗真菌薬感受性

*Candida* 属 9 菌種の各菌株について得られた 4 薬剤の MIC 値 (範囲, MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub> および感性 (S) 株と耐性 (R) 株の各比率を Table 3 にまとめて示す。*C. albicans* はすべてのアゾール系薬に高感受性であり, 本菌に対する FLCZ の 50% MIC および 90% MIC は

Table 2. Specimen-based number of isolates and frequencies of *C. albicans* isolation.

Specimens	No. of all fungal isolates	No. of <i>C. albicans</i> isolates <sup>a</sup>
Sputum, nasal cavity, bronchoalveolar lavage fluid, etc.	172	99 (57.6)
Urine	83	43 (51.8)
Blood, vessel catheter	46	24 (52.2)
Oral cavity, tongue, bile, stool, gastric juice	44	22 (50.0)
Pus, other exsudates, etc.	37	18 (48.7)
Biopsy, autopsy	17	10 (58.8)
Body fluid (spinal fluid, ascites, etc.)	10	7 (70.0)
Total	409	223 (54.5)

<sup>a</sup> Numbers in the bracket show percentage of *C. albicans* isolates in all fungal isolates.

Table 3. *In vitro* susceptibilities of 389 clinical isolates of *Candida* species against fluconazole, itraconazole, voriconazole and flucytosine as determined by the NCCLS M27-A2 microdilution method.

Species (no. of isolates)	Antifungal agent	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>a</sup>			%S <sup>b</sup>	%R <sup>c</sup>
		Range	50%	90%		
<i>C. albicans</i> (223)	Fluconazole	$\leq 0.031$ -8	0.25	1	100.0	0
	Itraconazole	$\leq 0.0039$ -0.25	0.016	0.031	98.2	0
	Voriconazole	$\leq 0.0039$ -0.25	0.0078	0.031	100.0	0
	Flucytosine	$\leq 0.031$ ->64	0.125	0.5	98.7	0.9
<i>C. glabrata</i> (91)	Fluconazole	0.125->64	4	8	95.6	2.2
	Itraconazole	0.0078-2	0.25	0.5	49.5	1.1
	Voriconazole	$\leq 0.0039$ -2	0.125	0.25	98.9	1.1
	Flucytosine	$\leq 0.031$ -0.5	0.063	0.125	100.0	0
<i>C. tropicalis</i> (29)	Fluconazole	0.063-8	2	8	100.0	0
	Itraconazole	0.0078-2	0.063	0.25	86.2	3.5
	Voriconazole	$\leq 0.0039$ -0.25	0.063	0.25	100.0	0
	Flucytosine	$\leq 0.031$ -0.5	0.063	0.25	100.0	0
<i>C. parapsilosis</i> (27)	Fluconazole	$\leq 0.031$ -4	0.5	2	100.0	0
	Itraconazole	$\leq 0.0039$ -0.063	0.031	0.063	100.0	0
	Voriconazole	0.0078-0.125	0.031	0.063	100.0	0
	Flucytosine	$\leq 0.031$ -0.5	0.125	0.5	100.0	0
<i>C. krusei</i> (7)	Fluconazole	16-64	64	64	0.0	57.2
	Itraconazole	0.063-0.5	0.25	0.5	28.6	0
	Voriconazole	0.125-0.5	0.5	0.5	100.0	0
	Flucytosine	4-16	8	16	14.3	0
<i>C. guilliermondii</i> (5)	Fluconazole	2-8	4	8	100.0	0
	Itraconazole	0.0125-0.25	0.25	0.25	20.0	0
	Voriconazole	0.063-0.25	0.25	0.25	100.0	0
	Flucytosine	0.063-0.25	0.125	0.25	100.0	0
<i>C. lusitaniae</i> (4)	Fluconazole	0.25-0.5	0.25	0.5	100.0	0
	Itraconazole	0.0078-0.063	0.031	0.063	100.0	0
	Voriconazole	$\leq 0.0039$ -0.016	0.0078	0.016	100.0	0
	Flucytosine	$\leq 0.031$ -0.063	$\leq 0.031$	0.063	100.0	0
<i>C. dubliniensis</i> (2)	Fluconazole	0.5, 2			100.0	0
	Itraconazole	0.031, 0.063			100.0	0
	Voriconazole	0.016, 0.031			100.0	0
	Flucytosine	$\leq 0.031$			100.0	0
<i>C. rugosa</i> (1)	Fluconazole	2			100.0	0
	Itraconazole	0.016			100.0	0
	Voriconazole	0.016			100.0	0
	Flucytosine	0.5			100.0	0

<sup>a</sup> 50% and 90%, MICs at which 50 and 90% of isolated, respectively, are inhibited.

<sup>b</sup> %S, percent susceptible at a MIC of  $\leq 8 \mu\text{g/ml}$  (fluconazole),  $\leq 0.125 \mu\text{g/ml}$  (itraconazole),  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$  (voriconazole), or  $\leq 4 \mu\text{g/ml}$  (flucytosine).

<sup>c</sup> %R, percent resistant at a MIC of  $\geq 64 \mu\text{g/ml}$  (fluconazole),  $\geq 1 \mu\text{g/ml}$  (itraconazole),  $\geq 2 \mu\text{g/ml}$  (voriconazole), or  $\geq 32 \mu\text{g/ml}$  (flucytosine).

それぞれ 0.25 および  $1 \mu\text{g/ml}$  と低く、すべての菌株が感性であった。他の二つのアゾール系薬はいずれも FLCZ よりも強い抗 *C. albicans* 活性を示し、50% MIC および 90% MIC は FLCZ のそれぞれの値の 1/15~1/30 以下であった。ITCZ に対しては用量依存的感性株が 4 株含まれていたものの、ITCZ および

VRCZ のいずれに対する耐性株も全く分離されなかった。また *C. albicans* 分離株の大半は 5-FC 感受性が高く、耐性株は 223 株中 2 株 (0.9%) に過ぎなかった。

非 *C. albicans* の *Candida* 属 8 菌種のなかでは、*C. parapsilosis* ならびに比較的分離頻度の低い *C. lusi-*

Table 4. *In vitro* susceptibilities of 12 isolates of non-*Candida* yeasts against four antifungal agents and eight isolates of molds against two antifungal agents

Species (no. of isolates)	Antifungal agent	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>a</sup>		
		Range	50%	90%
<i>Trichosporon asahii</i> (9)	Fluconazole	0.25- >64	8	>64
	Itraconazole	0.031-4	0.25	4
	Voriconazole	0.016-4	0.125	4
	Flucytosine	0.25-64	8	64
<i>Cryptococcus curvatus</i> (1)	Fluconazole	4		
	Itraconazole	0.125		
	Voriconazole	0.031		
	Flucytosine	4		
<i>Pichia anomala</i> (1)	Fluconazole	8		
	Itraconazole	0.25		
	Voriconazole	0.5		
	Flucytosine	$\leq 0.031$		
<i>P. ohmeri</i> (1)	Fluconazole	64		
	Itraconazole	0.25		
	Voriconazole	0.25		
	Flucytosine	1		
<i>Aspergillus fumigatus</i> (7)	Itraconazole	0.063-0.25	0.25	0.25
	Voriconazole	0.125-0.5	0.25	0.5
<i>Mucor</i> spp. (1)	Itraconazole	>8		
	Voriconazole	>8		

<sup>a</sup> MICs for yeasts were determined by the NCCLS M27-A2 microdilution method, and MICs for molds were determined by the JSMM method for molds.

*taniae* および *C. dubliniensis* が, *C. albicans* と同程度の高いアゾール系薬感受性を有していた。また *C. tropicalis* および *C. guilliermondii* の FLCZ その他のアゾール系薬に対する感受性は, *C. albicans* よりも幾分低い傾向を示した。これらの6菌種では, FLCZ 耐性株が全く認められなかったが, *C. tropicalis* 29株中1株(3.5%)が ITCZ 耐性であった。しかしこの ITCZ 耐性株は, FLCZ および VRCZ に対しては交叉耐性を示さなかった。

非 *C. albicans* の *Candida* 属の残りの2菌種のうち, *C. glabrata* は *C. albicans* などと比べて, FLCZ と ITCZ に対してより低感受性であり, 91株中2株(2.2%)の FLCZ 耐性株が含まれ, そのうち1株(1.1%)は ITCZ に対しても交叉耐性を示した。しかしこれらの耐性株2株とも VRCZ には感性であった。もう一つの菌種 *C. krusei* の分離株は, *C. glabrata* よりもさらに FLCZ 感受性が低く, 7株中4株(57.2%)が耐性のカテゴリーに入った。これらの耐性株を含むすべての *C. krusei* 分離株は ITCZ 感受性および VRCZ 感受性も低下していたが, いずれの薬剤についても耐性はみられなかった。一方, 非 *C. albicans* の

*Candida* 属8菌種すべての分離株の5-FC感受性は高く, 耐性株は全く検出されなかった。

### III. *Candida* 属以外の酵母および糸状菌の抗真菌薬感受性

Table 4 は, *T. asahii* 9株を含む *Candida* 属以外の酵母12株の FLCZ, ITCZ, VRCZ および5-FCに対する感受性, ならびに *A. fumigatus* 7株を含む糸状菌8株の ITCZ および VRCZ に対する感受性の測定結果である。

*Candida* 属以外の酵母分離株のアゾール系薬感受性は, *C. albicans* と比べて明らかに低く, 各薬剤の MIC は *C. krusei* に対するのと同程度のレベルであった。3種のアゾール系薬のなかでは, ITCZ と VRCZ がほぼ同程度の強い活性を示した。一方, 5-FC に対しては各菌種とも比較的高い感受性を示したが, *T. asahii* 分離株のなかには低感受性株(MIC, 64  $\mu\text{g/ml}$ )もみられた。

糸状菌分離株の大半を占めた *A. fumigatus* 7株は, いずれも ITCZ および VRCZ に対して感性であり, MIC はそれぞれ 0.063~0.25 および 0.125~0.5  $\mu\text{g/ml}$  の範囲に分布した。これに対して, *Mucor* 属菌種

(1株)は両薬剤に非感受性(MIC, >8 g/ml)であった。しかしいずれの糸状菌も被検菌株数が少なく、今回の成績からは抗真菌薬感受性の実状について結論を得るに至らなかった。

#### IV. 血液関連検体およびその他の検体からの分離株間の抗真菌薬感受性の比較

侵襲性または播種性の重篤な深在性真菌症の起原因菌であることがほぼ確実な血液関連検体(血液および血管カテーテル)分離株の抗真菌薬感受性を、監視培養などの日常検査のより多い検査対象となる気道由来検体や尿検体などの非血液関連検体からの分離株のそれと比較した。本調査研究における血液関連検体からの分離株46株のうち45株まではTable 1に示す上位5菌種すなわち*C. albicans* (24株), *C. glabrata* (6株), *C. tropicalis* (3株), *C. parapsilosis* (10株)および*T. asahii* (2株)で占められた。これらの血液関連検体分離株45株および対応する非血液関連検体分離株334株について、MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>および感性株比率(%)を指標として菌種ごとの各抗真菌薬感受性を比較した成績をTable 5に示す。*Candida*属4菌種に関しては、いずれの薬剤に対する感受性も両分離株群間で大差なかった。一方、*T. asahii*においては、血液関連検体分離株群のアゾール系3薬剤に対する感受性が非血液関連検体分離株群よりも1/8以下に低下していた。

#### 考 察

本調査は、JASPによる第2回国内真菌臨床分離株の抗真菌薬感受性に関する多施設共同研究として、2003年に収集された菌株を対象に実施されたものである。参加施設、菌株の収集法、被検抗真菌薬の種類、および感受性試験法については、2001~2002年収集菌株を対象とした第1回調査研究<sup>2)</sup>と変わりはない。一般にこうした抗微生物薬サーベイランスプログラムにおいては、標準化された試験法によって継続的に感受性データをとることに次のような利点があると指摘されている<sup>10), 11)</sup>。(i)微妙な感受性の変動を検出することができる、(ii)同じ標準的試験法を用いて行われたほかのプログラムによる調査研究のデータと比較することができる、(iii)継続的にデータがとられることによってMICブレイクポイントが決まっていない微生物や薬剤に関する感受性情報を提供することができる。また起原因菌の分離がなされていない(したがって感受性試験が実施できない)段階で開始される経験的治療の場合は無論のこと、たとえ起原因菌が分離されたとしても適正な感受性試験が実施される割合が必ずし

も高くないことを考えるならば、継続的なサーベイランスプログラムによって提供される感受性情報は、適切な治療薬の選択にとってきわめて有用といわなければならない。

今回の収集菌株数(409株)は第1回調査研究の収集菌株数(576株)よりも約30%少なかったが、大多数の*Candida*属主要菌種の分布状況には大きな変化はみられなかった。唯一の例外は*C. parapsilosis*であり、第1回の3.5%(576株中20株)から第2回では6.6%(409株中27株)と比率にして2倍近く増加している。そのほか比較的分離頻度の低い菌種のなかでは*T. asahii*が6株から9株へ、また*A. fumigatus*が2株から7株へ、各々増加したことが目立つ程度であった。したがって分離株全体としては菌種の分布に著しい差はないとみなすことができる。さらに各分離源の比率についても、第1回と第2回のJASP調査研究間で大差なく、血液・血管カテーテル由来分離株の割合もそれぞれ11.5%(576株中66株)および11.3%(409株中46株)とほぼ同じであった。これらの結果から、第1回と第2回の感受性データを比較するのに障害となるような問題は、少なくとも収集菌株については生じなかったと判断される。

酵母の感受性測定法に関しては、第1回調査研究では当初日本医真菌学会法<sup>12)</sup>を用いた。しかし欧米以上に高い頻度で分離される*Candida*属菌種とくに*C. tropicalis*のtrailing growth株に対してはこの測定法ではMICの誤判定を生じることが判明し、NCCLS M27-A2法<sup>4)</sup>を採用して測定をやり直すことによって問題を克服することができた<sup>2), 13)</sup>。したがって、今回の調査研究では酵母の感受性測定にNCCLS M27-A2法のみを用いた。得られた感受性データからいくつかの興味ある事実を読みとることができる。

第1は、今回収集された菌株の半数以上を占めるカンジダ症の主要起原因菌*C. albicans*に関しては、アゾール系3薬剤のいずれに対する耐性株も全くみられず、ほとんどすべての分離株が感性カテゴリーに属したことである。これは本菌に起因するカンジダ症の治療においてアゾール系薬が依然として高い有用性をもつこと、また一時懸念されたFLCZその他のアゾール系薬耐性化の問題が実際には起こっていないことを示唆している。第2は、非*C. albicans*の*Candida*属菌種のなかで高頻度に薬剤耐性株の出現がみられたのは、*C. krusei*におけるFLCZ耐性(7株中4株, 57%)に限られることである。しかもいずれのFLCZ耐性株もITCZおよびVRCZに対して交叉耐性を示さない点も注目に値する。そのほかにはFLCZ耐性

Table 5. Comparison of susceptibilities to four antifungal agents between isolates from blood-related specimens and other specimens.

Species (no. of isolates)	Antifungal agent	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) <sup>a</sup>			%S <sup>b</sup>
		Range	50%	90%	
<i>C. albicans</i> (24 <sup>c</sup> /199 <sup>d</sup> )	Fluconazole	0.063-0.5 <sup>c</sup> /≤0.031-8 <sup>d</sup>	0.25/0.25	0.5/1	100/100
	Itraconazole	≤0.0039-0.031/≤0.0039-0.25	0.016/0.016	0.016/0.063	100/97.5
	Voriconazole	≤0.0039-0.016/≤0.0039-0.25	0.0078/0.0078	0.016/0.0031	100/100
<i>C. glabrata</i> (6/85)	Fluconazole	≤0.031-2/≤0.031->64	0.125/0.125	0.25/0.5	100/98.5
	Fluconazole	4-8/0.125->64	4/4	8/8	100/95.3
	Itraconazole	0.063-0.5/0.0078-2	0.25/0.125	0.5/0.5	33.3/50.6
<i>C. tropicalis</i> (3/26)	Voriconazole	0.031-0.5/≤0.0039-2	0.063/0.125	0.5/0.25	100/98.8
	Fluconazole	≤0.031-0.125/≤0.031-0.5	0.063/0.063	0.125/0.125	100/100
	Fluconazole	2-8/0.063-8	2/2	8/8	100/100
<i>C. parapsilosis</i> (10/17)	Itraconazole	0.031-0.25/0.0078-2	0.063/0.031	0.25/0.25	66.7/88.5
	Voriconazole	0.031-0.125/≤0.0039-0.25	0.063/0.063	0.125/0.25	100/100
	Fluconazole	0.063-0.5/≤0.031-0.5	0.25/0.063	0.5/0.25	100/100
<i>Trichosporon asahii</i> (2/7)	Fluconazole	0.25-2/≤0.031-4	0.5/0.5	1/4	100/100
	Itraconazole	0.016-0.063/≤0.0039-0.063	0.031/0.031	0.063/0.063	100/100
	Voriconazole	0.0078-0.063/0.0078-0.125	0.016/0.031	0.063/0.125	100/100
<i>Trichosporon asahii</i> (2/7)	Fluconazole	0.063-0.25/≤0.031-0.5	0.125/0.125	0.25/0.5	100/100
	Fluconazole	>64/0.25-32	>64/8	>64/32	
	Itraconazole	4/0.031-0.25	4/0.125	4/0.25	
<i>Trichosporon asahii</i> (2/7)	Voriconazole	1-4/0.016-0.25	1/0.125	4/0.25	
	Fluconazole	8-64/0.25-32	8/8	64/32	

<sup>a</sup> 50% and 90%, MICs at which 50 and 90% of isolates, respectively, are inhibited.

<sup>b</sup> %S, percent susceptible at a MIC of ≤8  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (fluconazole), ≤0.125  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (itraconazole), ≤1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (voriconazole), or ≤4  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (flucytosine).

<sup>c</sup> Isolates from blood.

<sup>d</sup> Isolates from other specimens.

*C. glabrata* 株 (91 株中 2 株, 2.2%), ITCZ 耐性 *C. glabrata* 株 (91 株中 1 株, 1.1%) が分離されたが、いずれの場合も耐性頻度は低かった。第 3 は、*C. albicans*, 非 *C. albicans* の *Candida* 属菌種を問わず、すべての *Candida* 属菌種を通して VRCZ 耐性株は全く、また 5-FC 株もほとんど分離されなかったことである。以上の結果を含めて総合的に判断するならば *C. krusei* における FLCZ 耐性を除けば、かつて FLCZ 耐性化が懸念された *C. albicans* や一時的に FLCZ 感受性の低い *C. glabrata* を含むいずれの *Candida* 属菌種においてもアゾール系薬に対する耐性頻度は菌種および薬剤の種類の違いを問わず低いこと、また 5-FC に関しては全菌種を通して耐性株はほとんどみられないことが示されたものといえるだろう。

こうした今回の調査研究のデータを前回のそれ<sup>2)</sup>と比較すると、MIC 値は全体的にやや高いほうへシフトしているものの、*Candida* 属各菌種の各薬剤耐性頻度はむしろ低下気味であり、したがって第 1 回と第 2 回の JASP 調査研究における各菌種の薬剤感受性データの間には実質的な相違はないと判断される。両調査研究における菌株収集期間の間隔が 2 年足らずと接近していたことを考慮するならば、この結果はむしろ当然というべきであろう。例外は *C. krusei* および *T. asahii* にみられた特定の薬剤に対する感受性の低下傾向である。*C. krusei* に関しては FLCZ 耐性頻度が第 1 回の 0% (8 株中 0 株) から 57.2% (7 株中 4 株) へと上昇し、*T. asahii* についてはアゾール系 3 薬剤に対する MIC<sub>90</sub> が 8 倍以上高くなった。後でも述べるように、他の研究グループによる国内外の感受性サーベイランス<sup>14)~24)</sup>の成績を勘案すると、*C. krusei* の耐性頻度としては第 2 回の結果のほうが妥当と考えられる。しかし第 1 回、第 2 回とも被験菌株が少なかったことから、真の耐性頻度がどの程度かは、現在進行中の第 3 回調査研究の結果を待って判断する必要があるだろう。

今回の第 2 回調査研究においては、各菌種について血液分離株と血液以外の検体からの分離株 (非血液分離株) との間で薬剤感受性に違いがあるか否かを検討した。血液分離株が 2 株以上みられた *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *T. asahii*, 以上の 5 菌種について比較した結果、*Candida* 属の各菌種においては、とくに両分離株群の間で差異は認められなかったが、*T. asahii* のみは、血液分離株群のほうが非血液分離株群よりもアゾール系 3 薬剤に対して 8 倍以上高い MIC<sub>50</sub> 値を示した。この点についてはより多くの本菌収集株を対象として検討すべきと考えられ

る。*T. asahii* は別にして、少なくとも *Candida* 属主要菌種に関しては、血液分離株群と非血液分離株群がほぼ同じ薬剤感受性を示した。したがって、両群の菌株を一まとめにして得られた今回の調査研究の薬剤感受性データは、血液分離株のみを対象とした国内外の他の感受性サーベイランス<sup>14)~24)</sup>のそれと同等に扱うことが可能と判断し、比較を行った。その結果、われわれが前回ならびに今回得たデータに示される *Candida* 属主要菌種のアゾール系薬とくに FLCZ に対する耐性頻度は、Takakura et al.<sup>24)</sup>によって報告されたもう一つの国内サーベイランスにおける耐性頻度と基本的に同一と判断された。またこれを欧米のサーベイランスにみられる耐性頻度と比べると、各菌種を通して耐性頻度は全般的に低レベルであり、とくに *C. glabrata* のそれが著しく低い傾向にあるとみなすことができるかもしれない<sup>21, 24)</sup>。こうした耐性頻度の地理的相違が確実か否か、またわが国において年次的変動がみられるのか否か、その回答は今後の調査研究の結果にゆだねたい。

本論文の要旨は第 16 回に本臨床微生物学会総会 (平成 17 年 2 月) にて発表した。

**謝 辞** 本抗真菌薬感受性サーベイランスに対する Pfizer Pharmaceuticals, New York の Research grant (Study No.: DIF-2003-001) による助成および感受性測定を施行していただいた (株) ビー・エム・エルに深謝いたします。

## 文 献

- 1) Rex, J.H., M. A. Pfaller, J.N. Galgiani, et al. 1997. Development of interpretive breakpoints for antifungal susceptibility testing: conceptual framework and analysis of *in vitro-in vivo* correlation data for fluconazole, itraconazole, and *Candida* infections. Clin. Infect. Dis. 24: 235-247.
- 2) 山口英世, 内田勝久, 奥住捷子, 他. 2004. 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. 日本臨床微生物学雑誌 14: 183-193.
- 3) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved standard. M27-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 17 (9).
- 4) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002. Reference method for broth



- dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved standard-Second edition M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 22 (15).
- 5) Sheehan, D. J., C. A. Hitchcock, C. M. Sibley. 1999. Current and emerging azole antifungal agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12: 40-79.
  - 6) Pfaller, M. A., D. J. Diekema, R. N. Jones, et al. 2001. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and *in vitro* susceptibilities to fluconazole, ravuconazole and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *J. Clin. Microbiol.* 39: 3254-3259.
  - 7) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved standard. M38-A. National Committee for Clinical Laboratory Standard, Wayne, Pa. 22 (16).
  - 8) Yamaguchi, H., K. Uchida, K. Nagino, et al. 2002. Usefulness of a colorimetric method for testing antifungal drug susceptibilities of *Aspergillus* species to voriconazole. *J. Infect. Chemother.* 8: 374-377.
  - 9) 篠田孝子, 久米 光, 福島和貴, 他. 1999. 日本医真菌学会標準化委員会報告 (1995~1997年). *日本医真菌学会雑誌* 40: 239-257.
  - 10) Jones, R. N., The MYSTIC Advisory Board. 2000. Detection of emerging resistance patterns within longitudinal surveillance systems: data sensitivity and microbial susceptibility. *J. Antimicrob. Chemother.* 46(Topic T2): 1-8.
  - 11) Morris, A. K., R. G. Masterton. 2002. Antibiotic resistance surveillance: action for international studies. *J. Antimicrob. Chemother.* 49: 7-10.
  - 12) 山口英世, 内田勝久, 久米 光, 他. 1995. 日本医真菌学会標準化委員会報告 (1992~1994年). *日本医真菌学会雑誌* 36: 61-86.
  - 13) 内田勝久, 山口英世. 2003. 抗真菌薬の感受性試験法. *医薬ジャーナル* 39: 3301-3308.
  - 14) Kao, A. S., M. E. Brandt, W. R. Pruitt, et al. 1999. The epidemiology of candidemia in two United States cities: Results of a population-based active surveillance. *Clin. Infect. Dis.* 29: 1164-1170.
  - 15) Blumberg, H. M., W. R. Jarvis, J. M. Soucie, et al. 2001. Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: The NEMIS prospective multicenter study. *Clin. Infect. Dis.* 33: 177-186.
  - 16) Diekema, D. J., S. A. Messer, A. B. Brueggemann, et al. 2002. Epidemiology of candidemia: 3-year results from the emerging infections and epidemiology of Iowa organisms study. *J. Clin. Microbiol.* 40: 1298-1302.
  - 17) Chryssanthou, E. 2001. Trends in antifungal susceptibility among Swedish *Candida* species bloodstream isolates from 1994 to 1998: Comparison of the E-test and the sensititre Yeast-One colorimetric antifungal panel with the NCCLS M27-A reference method. *J. Clin. Microbiol.* 39: 4181-4183.
  - 18) ST-Germain, G., M. L. Laverdiere, R. Pelletier, et al. 2001. Prevalence and antifungal susceptibility of 442 *Candida* isolates from blood and other normally sterile sites: Results of a 2-year (1996 to 1998) multicenter surveillance study in Quebec, Canada. *J. Clin. Microbiol.* 39: 949-953.
  - 19) Pemán, J., E. Cantón, M. Gobernado, et al. 2005. Epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from blood: results of a 2-year multicentre study in Spain. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 24: 23-30.
  - 20) Giusiano, G. E., M. Mangiaterra, F. Rojas, et al. 2004. Yeasts species distribution in Neonatal Intensive Care Units in northeast Argentina. *Mycoses* 47: 300-303.
  - 21) Silva, V., M. C. Diaz, N. Febre, et al. 2004. Invasive fungal infections in Chile: a multicenter study of fungal prevalence and susceptibility during a 1-year period. *Medical Mycology* 42: 333-339.
  - 22) Hsueh, P-R., Y-J. Lau, Y-C. Chuang, et al. 2005. Antifungal susceptibilities of clinical isolates of *Candida* species, *Cryptococcus neoformans*, and *Aspergillus* species from Taiwan: Surveillance of Multicenter Antimicrobial Resistance in Taiwan Program data from 2003. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 512-517.
  - 23) Pfaller, M. A., D. J. Diekema, R. N. Jones, et al. 2002. Trends in antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from pediatric and adult patients with bloodstream infections: SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997 to 2000. *J. Clin. Microbiol.* 40: 852-856.
  - 24) Takakura, S., N. Fujihara, T. Saito, et al. 2004. National surveillance of species distribution in blood isolated of *Candida* species in Japan and their susceptibility to six antifungal agents including voriconazole and micafungin. *J. Antimicrob. Chemother.* 53: 283-289.

Nationwide Survey of Antifungal Drug Susceptibility of Clinical  
Fungal Isolates in Japan for the Japan Antifungal  
Surveillance Program (JASP), 2003

Hideyo Yamaguchi,<sup>1)</sup> Katsuhisa Uchida,<sup>1)</sup> Yayoi Nishiyama,<sup>1)</sup> Katsuko Okuzumi,<sup>2)</sup>  
Toyoko Oguri,<sup>3)</sup> Keiko Adachi,<sup>4)</sup> Sayoko Kawakami,<sup>5)</sup> Masakazu Tosaka,<sup>6)</sup>  
Yoshiki Misawa,<sup>7)</sup> Chieko Kawashima,<sup>8)</sup> Yoshiko Hori,<sup>9)</sup>  
Toshimi Kitazawa,<sup>10)</sup> Mutsumu Hayashi,<sup>11)</sup> Yukie Okimura,<sup>12)</sup>  
Association of Japan Antifungal Susceptibility Surveillance

<sup>1)</sup> Teikyo University Institute of Medical Mycology

<sup>2)</sup> Dokkyo University Hospital

<sup>3)</sup> Juntendo University Hospital

<sup>4)</sup> Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital

<sup>5)</sup> Teikyo University Hospital

<sup>6)</sup> Kumamoto University Hospital

<sup>7)</sup> The University of Tokyo Hospital

<sup>8)</sup> Ashikaga Red Cross Hospital

<sup>9)</sup> Okayama Saiseikai General Hospital

<sup>10)</sup> Kitkohkai General Hospital Tane Hospital

<sup>11)</sup> Jichi Medical School Ohmiya Hospital

<sup>12)</sup> Shinshu University Hospital

We evaluated the antifungal susceptibility profile of 409 recent clinical fungal isolates collected from JASP-participating nationwide hospitals during the two months, June and July 2003. Almost all isolates were *Candida* species (389 isolates), with fewer numbers of non-*Candida* yeasts (12 isolates) and molds (8 isolates). *C. albicans* was the most frequent species (54.5%), followed by *C. glabrata* (22.3%), *C. tropicalis* (7.1%) and *C. parapsilosis* (6.6%). The MIC of fluconazole (FLCZ), itraconazole (ITCZ), voriconazole (VRCZ) and flucytosine (5-FC) against *Candida* and other yeast species were determined by the NCCLS M27-A2 (micro) broth dilution method. Percent resistant by using the interpretive breakpoint criteria of NCCLS to FLCZ was 2.2% for *C. glabrata*, while no resistant isolate was seen for any other *Candida* species. The only exception was *C. krusei*, in which FLCZ-resistance was observed at a high frequency (4 of 7 isolates). For ITCZ, resistance was observed only in 1.1% of *C. glabrata* isolates and 3.5% of *C. tropicalis* isolates. Resistance to VRCZ was not observed with any species of *Candida*. There was no substantial difference in susceptibility to all of the four testing antifungal agents between *Candida* isolates from blood-related specimens and those from other clinical specimens. This study showed that the three azoles FLCZ, ITCZ and VRCZ were all active against all species of *Candida*, except for *C. krusei* frequent by resistant to FLCZ. Continued surveillance will help to identify susceptibility trends.