

## [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 (3): 2005 年度報告

山口英世<sup>1)</sup>・西山彌生<sup>1)</sup>・内田勝久<sup>1)</sup>・高橋長一郎<sup>2)</sup>・川島千恵子<sup>3)</sup>・林 和<sup>4)</sup>  
川上小夜子<sup>5)</sup>・安達桂子<sup>6)</sup>・奥住捷子<sup>7)</sup>・三澤慶樹<sup>8)</sup>・小栗豊子<sup>9)</sup>  
沖村幸枝<sup>10)</sup>・北澤俊美<sup>11)</sup>・堀 雅子<sup>12)</sup>・戸坂雅一<sup>13)</sup>

(抗真菌薬感受性サーベイランス研究会)

- <sup>1)</sup> 帝京大学医真菌研究センター  
<sup>2)</sup> 山形大学医学部附属病院中央検査部  
<sup>3)</sup> 足利赤十字病院臨床検査部  
<sup>4)</sup> 自治医科大学附属さいたま医療センター  
<sup>5)</sup> 帝京大学医学部附属病院中央検査部  
<sup>6)</sup> 東京都老人病医療センター研究検査部  
<sup>7)</sup> 獨協医科大学病院医療安全管理部  
<sup>8)</sup> 東京大学医学部附属病院感染制御部  
<sup>9)</sup> 順天堂大学医学部附属順天堂医院臨床検査部  
(現所属: 亀田綜合病院臨床検査部)  
<sup>10)</sup> 信州大学医学部附属病院臨床検査部  
<sup>11)</sup> きっこう会総合病院多根病院中央検査部  
<sup>12)</sup> 岡山済生会総合病院中央検査科  
<sup>13)</sup> 熊本大学医学部附属病院中央検査部

(平成 20 年 11 月 21 日受付, 平成 21 年 5 月 1 日受理)

Japan Antifungal Surveillance Program 第 3 回調査研究を, 2005 年 6, 7 月の 2 カ月間に  
全国 11 施設において臨床検体から分離された *Candida* 属酵母 541 株, 非 *Candida* 属酵母 15  
株および *Aspergillus* 属菌 18 株を対象に実施した。*Candida* 属酵母および非 *Candida* 属酵母  
の各分離株については fluconazole (FLCZ), itraconazole (ITCZ), voriconazole (VRCZ), およ  
び flucytosine (5-FC) の MIC を, *Aspergillus* 属菌分離株については ITCZ と VRCZ の MIC  
を, それぞれ CLSI M27-A2 法および日本医真菌学会法により測定した。主要 *Candida* 属酵母  
の菌種分布は, *C. albicans* (333 株, 57.8%), *C. glabrata* (104 株, 18.6%), *C. tropicalis* (46  
株, 8.0%), *C. parapsilosis* (27 株, 4.7%), *C. krusei* (14 株, 2.4%) の順であった。FLCZ,  
ITCZ, VRCZ のいずれかに対して耐性を示す分離株は, *C. albicans* および *C. parapsilosis* では  
認められず, *C. tropicalis* でも 5% 以下の頻度にとどまった。これに対して, *C. glabrata* ではそ  
れぞれ 7.5, 9.3, 1.9%, *C. krusei* ではそれぞれ 93, 14, 14% と頻度がより高く, とりわけ *C.*  
*krusei* の FLCZ に対する MIC の上昇が顕著であった。5-FC 耐性の頻度は, *C. tropicalis*  
(6.5%) を除けば, すべての菌種で 2% 以下であった。非 *Candida* 属酵母分離株の最多菌種  
*Trichosporon asahii* (8 株) については, アゾール系薬剤耐性と推定される株は検出されなかつ

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  
西山彌生  
TEL: 042-678-3256  
FAX: 042-674-9190  
E-mail: ynishiya@main.teikyo-u.ac.jp

た。一方、*A. fumigatus* 分離株 17 株中の 1 株は、ITCZ に対して低感受性 (MIC,  $>8\mu\text{g/ml}$ ) を示したが、VRCZ 感受性は高かった (MIC,  $0.5\mu\text{g/ml}$ )。前 2 回の調査結果と比較して、一部の菌種に特定の薬剤に対する耐性頻度の上昇傾向がみられ、臨床分離株抗真菌薬感受性の調査の重要性が示唆された。

**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* 属菌種分布, 薬剤耐性

## 序 文

欧米においては深在性真菌症 (以下真菌症と略) の原因菌が年々多様化していることが報告されており<sup>1~4)</sup>, わが国でも同様の状況にあると推測される。したがって真菌症の適正な診断および治療を行ううえで, 原因菌の菌種分布と併せて, 抗真菌薬感受性の動向を把握することがこれまで以上に重要になっている。

真菌症原因菌の抗真菌感受性の疫学的調査は, *Candida* 属酵母, 非 *Candida* 属酵母, *Aspergillus* 属菌をはじめとする糸状菌, などのカテゴリー別に行われることが多い。従来国内外で報告された真菌臨床分離株の抗真菌薬感受性のサーベイランスとしては, *Candida* 属菌種分離株, とくにカンジダ血流感染症患者からの分離株を対象としたものが大半である。しかし非 *Candida* 属酵母には, *Cryptococcus neoformans* は無論のこと, *Trichosporon asahii* など新興病原真菌として近年注目されるようになった菌種が少なからず含まれている<sup>5, 6)</sup>。また *Aspergillus fumigatus* をはじめとする *Aspergillus* 属菌については, 感染例とくに最も重篤な病型である侵襲性アスペルギルス症の症例が依然として増加する傾向にあり<sup>7)</sup>, その対策が昨今の臨床医真菌学の最大の課題となっている。

こうした状況を背景に, Japan Antifungal Surveillance Program (JASP) は, わが国における真菌臨床分離株の抗真菌薬感受性の動向を経年的に調査することを目的として, 真菌検査に精通した臨床検査室を擁する全国十余の施設の参加のもとに 2001 年に発足し, 以下の計画に基づいて実施されてきた。(i) 臨床分離株の収集は, 2001 年 (第 1 回), 2003 年 (第 2 回) および 2005 年 (第 3 回) の隔年ごとに, 原則として所定の 1~2 カ月間に行う。(ii) 分離源に用いる臨床検体のタイプは, 微生物検査に一般的に用いられる各種検体, すなわち血液, 血管カテーテル, 上部消化管 (口腔, 咽頭など) 分泌物, 気道分泌物 (喀痰, BALF など), 胃液, 胆汁, 糞便, 尿, 無菌の体液 (骨髄, 腹水など), 膿, などとする。(iii) 検査対象真菌は, *Candida* 属酵母, 非 *Candida* 属酵母, および *Aspergillus*

属菌その他の糸状菌とする。(iv) 感受性測定の対象とする抗真菌薬は, 発足当時 (2001 年) にすでに *Candida* 属酵母 に対する MIC ブレークポイントが NCCLS (CLSI) M27-A ガイドライン<sup>8)</sup> により設定されていた fluconazole (FLCZ), itraconazole (ITCZ), および flucytosine (5-FC) の 3 薬剤と, それに推定段階にあった voriconazole (VRCZ) を加えた計 4 薬剤とする。

この調査研究に関しては, 第 1 回 (2001~2002 年度) および第 2 回 (2003 年度) の成績をすでに本誌に発表した<sup>9, 10)</sup>。本報においては, それに続く第 3 回 (2005 年度) の成績を報告するとともに, 前回の成績および関連する国内外の抗真菌薬感受性サーベイランスの成績と比較しながらこの面での国内の動向について論考する。

## 材料と方法

### 1. 分離株の収集施設

JASP 参加施設のうち, 下記の全国 11 施設において臨床分離株を収集した。

1) 山形大学医学部附属病院中央検査部, 2) 足利赤十字病院臨床検査部, 3) 自治医科大学附属さいたま医療センター, 4) 帝京大学医学部附属病院中央検査部, 5) 東京都老人病医療センター研究検査部, 6) 東京大学医学部附属病院感染制御部, 7) 順天堂大学医学部附属順天堂医院臨床検査部, 8) 信州大学医学部附属病院臨床検査部, 9) きつこう会総合病院多根病院中央検査部, 10) 岡山済生会総合病院中央検査科, 11) 熊本大学医学部附属病院中央検査部。

### 2. 分離株の収集方法

収集期間は, 各検査室における日常業務への負担などを考慮して 2005 年 6 月 1 日~7 月 31 日の 2 カ月にあらかじめ限定した。この期間中に各施設の検査室において腔, 耳漏, 皮膚および角膜を除く部位から分離され, 疾患との関連性が無視できないと判断されるすべての酵母様真菌および糸状菌を対象として収集した。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分離株については, 初回と最終回の分離株

のみを収集することとした。

### 3. 収集分離株の菌種同定

収集した分離株の菌種同定は、その収集に当たった施設において行った。当該施設で同定不能とされたかまたは得られた同定結果に疑問のあった分離株については、帝京大学医真菌研究センターにおいて再同定を行った。*Candida* 属および *Cryptococcus* 属の中の同定不能の分離株および両属以外のすべての分離株については遺伝子同定<sup>11)</sup>を行った。

### 4. 収集分離株の抗真菌薬感受性試験

抗真菌薬感受性試験は、第1回および第2回のJASP調査研究<sup>9,10)</sup>と同様に、(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、また糸状菌分離株については ITCZ および VRCZ の2薬剤、の各 MIC を測定した。FLCZ および VRCZ の原末はファイザー(株)より提供されたものを、ITCZ および 5-FC の原末は市販製品(和光純薬工業(株))を、各々使用した。薬剤溶液の調製は CLSI M27-A2 ガイドライン<sup>12)</sup>に準拠し、各原末は室温でデシケーター内に保存した。

#### 2) 酵母分離株の抗真菌薬感受性試験

CLSI M27-A, M27-A2, 各ガイドライン<sup>8,12)</sup>に従って、0.165 M MOPS (morpholinepropane sulfonic acid; Sigma-Aldrich Co.) および 10 N NaOH (和光純薬工業(株)製)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試験を行った。*Candida* 属および非 *Candida* 属の酵母の分離株については 48 時間 (*Cryptococcus* 属分離株のみは 72 時間)、35°C で培養した後の IC<sub>50</sub> 値を終末点 (MIC) とした。ただしアゾール系薬剤に対して trailing growth<sup>12)</sup> を示す *Candida* 属分離株については、24 時間培養後の IC<sub>50</sub> 値を 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>13)</sup> および CLSI ガイドライン<sup>8,12)</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。なお、CLSI M27 ガイドライン<sup>8,12)</sup> では、*C. krusei* は元来 FLCZ 耐性とされているが、ここでは便宜上他の菌種と同様に表示した。VRCZ 感受性の評価基準については、第1回および第2回の調査研究では本薬常用量の薬力学的データ<sup>14)</sup>に基づいて Pfaller et al.<sup>15)</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  $\geq 2 \mu\text{g/ml}$ ) を用いたが、今回は、その後 Pfaller et al.<sup>16)</sup> が提案し、CLSI M27-A3 ガイドライン<sup>17)</sup> で確定されたブレークポイント (それぞれ  $\leq 1$  および  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ ) を採用した。

### 3) 糸状菌分離株の抗真菌薬感受性試験

*Aspergillus* 属菌などの糸状菌を対象とする抗真菌薬感受性試験は、第1回および第2回の調査研究と同様に日本医真菌学会法<sup>18)</sup> に準拠して行った。本法は、NCCLS (CLSI) M38-P<sup>19)</sup> 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>20)</sup>。試験培地には、酵母の場合と同様に RPMI 1640 培地 (pH 7.0) を用い、酸化還元指示薬 alamar blue (Alamar Bioscience Inc.) の呈色反応により得られる IC<sub>80</sub> 値を MIC と判定した。培養温度は 27°C, 培養期間は 1 週間以内として 24 時間ごとに観察し、発育コントロールが明らかに赤変した時点で MIC の判定を行った。

## 結 果

### I. 収集分離株数およびカテゴリー別分離頻度

収集された分離株の菌種と各々の株数を Table 1 に示す。総数 576 株のうち、*Candida* 属酵母が 9 菌種合わせて 541 株 (93.9%), 非 *Candida* 属酵母 8 菌種合わせて 17 株 (2.6%), および糸状菌 2 菌種合わせて 18 株 (3.1%) であった。糸状菌はすべて *Aspergillus* 属菌で占められ、*A. fumigatus* (17 株) 以外には *A. niger* が 1 株だけ含まれていた。

### II. *Candida* 属分離株の菌種分布

Table 1 に示されるように、*Candida* 属の菌種別の分離株数は *C. albicans* 333 株 (57.8%), *C. glabrata* 107 株 (18.6%), *C. tropicalis* 46 株 (8.0%), *C. parapsilosis* 27 株 (4.7%), *C. krusei* 14 株 (2.4%) の順であった。そのほかには *C. guilliermondii* 8 株 (1.4%), *C. lusitaniae* 4 株 (0.7%), *C. dubliniensis* 1 株が、さらに通常の生化学的検査および遺伝子検査では同定不能の *Candida* 属酵母 1 株 (後記参照) が、それぞれ分離された。

Table 1 には血液分離株 (血管カテーテル分離株を含む) の菌種分布も併せて示す。血液関連分離株 59 株中 *Candida* 属菌種が 57 株 (97%) と大半を占めた。*Candida* 属の菌種別分離株数は、*C. albicans* 31 株 (53%), *C. parapsilosis* 11 株 (19%), *C. glabrata* 8 株 (14%), *C. guilliermondii* 4 株 (7%), *C. tropicalis* 3 株 (5%), の順であった。血液関連分離株の菌種分布パターンは、全検体からの分離株のそれと比べて、*C. parapsilosis* および *C. guilliermondii* の分離率がいずれも高い点 (それぞれ 19% vs. 4.7%, 7% vs. 1.4%),

Table 1. Species distribution of *Candida*, non-*Candida* yeast and filamentous fungus isolates

Organism	Isolates from all types of specimens		Isolates from blood and related specimens	
	Number	%	Number	%
<i>Candida</i> spp.	541	93.9	57	97
<i>C. albicans</i>	333	57.8	31	53
<i>C. glabrata</i>	107	18.6	8	14
<i>C. tropicalis</i>	46	8.0	3	5
<i>C. parapsilosis</i>	27	4.7	11	19
<i>C. krusei</i>	14	2.4	0	
<i>C. guilliermondii</i>	8	1.4	4	7
<i>C. lusitanae</i>	4	0.7	0	
<i>C. dubliniensis</i>	1	0.2	0	
<i>Candida</i> sp. <sup>a)</sup>	1	0.2	0	
Non- <i>Candida</i> yeasts	17	2.6	2	3
<i>Trichosporon asahii</i>	8	1.4	1	2
<i>T. montevideense</i>	1	0.2	0	
<i>T. mucoides</i>	1	0.2	0	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	3	0.5	0	
<i>C. curvatus</i>	1	0.2	0	
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1	0.2	1	2
<i>Pichia ohmeri</i>	1	0.2	0	
<i>Geotrichum capitatum</i>	1	0.2	0	
Filamentous fungi	18	3.1	0	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	17	3.0	0	
<i>A. niger</i>	1	0.2	0	
Total	576		59	

<sup>a)</sup> Presumed to be a novel *Candida* species

Table 2. Specimen-based number of fungal isolates and frequency of *C. albicans*

Type of specimens	No. of all fungal isolates (%)	No. of <i>C. albicans</i> isolates (%)
Sputum, nasal cavity, bronchoalveolar lavage fluid, etc.	296 (51.4)	175 (59.1)
Urine	96 (16.7)	49 (51.0)
Pus, other exsudates, etc.	74 (12.8)	43 (58.1)
Blood, vessel catheter	59 (10.2)	31 (52.5)
Body fluid (spinal fluid, ascites, etc.)	21 (3.6)	13 (61.9)
Oral cavity, tongue, bile, stool, gastric juice	18 (3.1)	11 (61.1)
Biopsy, autopsy	12 (2.1)	11 (91.7)
Total	576 (100)	333 (57.8)

でことなっていた。

### III. 収集分離株の検体タイプ別株数ならびに検体ごとの *C. albicans* 分離比率

Table 2 に示すように、収集した分離株の分離源としては喀痰、気管支肺胞洗浄液などの呼吸器系検体に由来するものが 296 株 (51.4%) と過半数を占め、つづいて尿由来 96 株 (16.7%)、膿・分泌物由来 74 株

(12.8%)、血液関連検体 (血液および血管カテーテル) 由来 59 株 (10.2%)、の順であった。いずれの検体においても *C. albicans* が最も高い頻度で分離されたが、検体によって 90% 以上 (生検・剖検検体) から 50% 強 (尿、血液関連検体など) までその分離比率に差異がみられた。

Table 3. *In vitro* susceptibilities of 541 isolate of *Candida* spp. against fluconazole (FLCZ), itraconazole (ITCZ), voriconazole (VRCZ) and flucytosine (5-FC)

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> (333)	FLCZ	$\leq 0.031$ –16	0.25	1	99.4	0
	ITCZ	$\leq 0.0039$ –0.5	0.016	0.016	98.5	0
	VRCZ	$\leq 0.0039$ –0.5	0.0078	0.031	100	0
	5-FC	$\leq 0.031$ –>64	0.125	0.25	98.2	1.8
<i>C. glabrata</i> (107)	FLCZ	0.25–>64	16	32	45.8	7.5
	ITCZ	0.016–>8	0.25	0.5	11.2	9.3
	VRCZ	0.016–4	0.25	1	95.3	1.9
	5-FC	$\leq 0.031$ –8	0.063	0.125	99.1	0
<i>C. tropicalis</i> (46)	FLCZ	0.5–>64	4	8	96	4
	ITCZ	0.031–1	0.125	0.25	76	2
	VRCZ	0.031–4	0.125	0.25	96	2
	5-FC	$\leq 0.031$ –>64	0.125	2	91	7
<i>C. parapsilosis</i> (27)	FLCZ	0.25–4	1	2	100	0
	ITCZ	0.016–0.063	0.031	0.063	100	0
	VRCZ	0.0078–0.125	0.031	0.125	100	0
	5-FC	0.063–0.25	0.063	0.125	100	0
<i>C. krusei</i> (14)	FLCZ	32–>64	64	>64	0	93
	ITCZ	0.125–2	0.25	1	14	14
	VRCZ	0.25–4	0.5	4	79	14
	5-FC	4–16	8	16	21	0
<i>C. guilliermondii</i> (8)	FLCZ	4–16	4	16	90	0
	ITCZ	0.125–0.25	0.25	0.25	12	0
	VRCZ	0.063–0.125	0.125	0.125	100	0
	5-FC	0.063–0.125	0.063	0.125	100	0
<i>C. lusitaniae</i> (4)	FLCZ	0.25–0.5	0.5	0.5	100	0
	ITCZ	0.016–0.063	0.016	0.063	100	0
	VRCZ	0.0078–0.016	0.0078	0.016	100	0
	5-FC	$\leq 0.031$ –0.125	$\leq 0.031$	0.125	100	0
<i>C. dubliniensis</i> (1)	FLCZ	0.5	—	—	100	0
	ITCZ	0.031	—	—	100	0
	VRCZ	0.063	—	—	100	0
	5-FC	$\leq 0.031$	—	—	100	0
<i>Candida</i> sp. (1)	FLCZ	4	—	—	100	0
	ITCZ	0.016	—	—	100	0
	VRCZ	0.031	—	—	100	0
	5-FC	0.25	—	—	100	0

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

<sup>b</sup> Percent susceptible at a MIC of  $\leq 8 \mu\text{g/ml}$  (FLCZ),  $\leq 0.125 \mu\text{g/ml}$  (ITCZ),  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$  (VRCZ), or  $\leq 4 \mu\text{g/ml}$  (5-FC).

<sup>c</sup> Percent resistant at a MIC of  $\geq 64 \mu\text{g/ml}$  (FLCZ),  $\geq 1 \mu\text{g/ml}$  (ITCZ),  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$  (VRCZ), or  $\geq 32 \mu\text{g/ml}$  (5-FC).

Table 4. *In vitro* susceptibilities of 17 isolates of non-*Candida* yeasts against four antifungal agents

Species (no. of isolates)	Antifungal agent <sup>a</sup>	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Trichosporon asahii</i> (8)	FLCZ	1-16	4	16
	ITCZ	0.063-0.5	0.125	0.5
	VRCZ	0.063-0.25	0.125	0.25
	5-FC	2->64	16	>64
<i>T. montevidense</i> (1)	FLCZ	2	—	—
	ITCZ	0.063	—	—
	VRCZ	0.031	—	—
	5-FC	>64	—	—
<i>T. mucoides</i> (1)	FLCZ	8	—	—
	ITCZ	0.25	—	—
	VRCZ	0.125	—	—
	5-FC	16	—	—
<i>Cryptococcus neoformans</i> (3)	FLCZ	4	4	4
	ITCZ	0.016-0.063	0.031	0.063
	VRCZ	0.031-0.063	0.063	0.063
	5-FC	0.5-4	4	4
<i>C. curvatus</i> (1)	FLCZ	8	—	—
	ITCZ	0.25	—	—
	VRCZ	0.25	—	—
	5-FC	1	—	—
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (1)	FLCZ	0.063	—	—
	ITCZ	0.031	—	—
	VRCZ	0.063	—	—
	5-FC	$\leq 0.031$	—	—
<i>Pichia ohmeri</i> (1)	FLCZ	8	—	—
	ITCZ	0.125	—	—
	VRCZ	0.125	—	—
	5-FC	0.063	—	—
<i>Geotrichum capitatum</i> (1)	FLCZ	8	—	—
	ITCZ	0.031	—	—
	VRCZ	0.063	—	—
	5-FC	0.063	—	—

<sup>a</sup> Abbreviations are the same as those for Table 3.

#### IV. *Candida* 属菌種の抗真菌薬感受性

*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 にまとめる。最多分離菌種の *C. albicans* (333 株), はすべてのアゾール系薬剤に比較的高い感受性を示し, FLCZ の 50% MIC および 90% MIC はそれぞれが 0.25, 1  $\mu\text{g/ml}$  といずれも低く, 2 株を除くすべての本菌分離株 (331 株, 99.4%) が感性であった。例外の 2 株はいずれも用量依存的感性 (S-DD) のカテゴリー (MIC: 16~32

$\mu\text{g/ml}$ )<sup>8, 12)</sup> に該当し, 耐性株は検出されなかった。*C. albicans* 分離株は ITCZ と VRCZ に対しても高い感受性を示し, 両薬剤の 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 感受性に関しては, 用量依存的感性のカテゴリー (MIC: 0.25~0.5  $\mu\text{g/ml}$ ) に該当する分離株が 5 株 (1.5%) 含まれていたが, ITCZ および VRCZ のいずれに対しても耐性株は検出されなかった。一方, 5-FC については, 耐性株が 6 株 (1.8%) 検出されたが, 残りの 327 株 (98.2%) は高い感受性を示した。



Non-*albicans Candida* 8 菌種の中では, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. lusitanae*, *C. dubliniensis*, および同定不能株のアゾール系 3 薬剤に対する感受性が *C. albicans* とほぼ同等かまたはやや低いレベルにあったが, 菌種および薬剤を問わず耐性株は全く検出されなかった。これに比べて, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, および *C. krusei* においては, アゾール系薬剤感受性がより低く, 各薬剤に対する耐性株が分離された。分離頻度の高かった *C. glabrata* では, 107 株中に FLCZ および ITCZ に対する耐性株がそれぞれ 8 株 (7.5%) および 10 株 (9.3%) 検出された。このうち 5 株は FLCZ と ITCZ の両薬剤に交差耐性を, 2 株は FLCZ, ITCZ および VRCZ の 3 薬剤すべてに交差耐性を示した。アゾール系薬剤耐性率は *C. krusei* (14 株) でとくに高く, FLCZ に対しては 13 株 (93%) の MIC が  $\geq 64 \mu\text{g/ml}$  であり, しかもそのうちの 2 株は ITCZ および VRCZ に対しても交差耐性を示した。5-FC に対しては, *C. tropicalis* 46 株中 3 株 (6.5%) が耐性であったが, これ以外の non-*albicans Candida* 分離株はおおむね高い感受性を示した。

#### V. 非 *Candida* 属酵母の抗真菌薬感受性

非 *Candida* 属酵母の分離株 17 株中の最多菌種は *T. asahii* (8 株), 次いで *C. neoformans* (3 株) であり, その他に 6 菌種 (各 1 株) が含まれていた (Table 1)。これらの分離菌株のアゾール系薬剤感受性は, Table 4 に示すようにいずれも *C. albicans* 分離株に比べて低く, *T. asahii* に対する FLCZ, ITCZ および VRCZ の MIC<sub>90</sub> は, すべて 16 倍以上高かった。また, *Rhodotorula mucilaginosa* を除く大半の非 *Candida* 属酵母分離株に対しても, アゾール系 3 薬剤の MIC<sub>90</sub> は *C. albicans* のそれに比べると 2~32 倍高かった。一方, 5-FC は, *Trichosporon* 属分離株に対して高い MIC (2~ $>64 \mu\text{g/ml}$ ) を示したが, その他の菌種に対する MIC 値は比較的 low だった (Table 4)。

#### VI. *Aspergillus* 属の抗真菌薬感受性

Table 5 には *Aspergillus* 属 2 菌種の分離株 18 株

についての ITCZ と VRCZ に対する感受性を示す。これらの分離株に対する ITCZ および VRCZ の MIC は, *A. fumigatus* 1 株を除いてそれぞれ 0.063~0.5  $\mu\text{g/ml}$  および 0.25~0.5  $\mu\text{g/ml}$  の範囲に分布していた。一方, 残りの *A. fumigatus* 1 株に対しては, VRCZ の MIC は 0.5  $\mu\text{g/ml}$  であり, 上記の MIC 範囲に入ったが, ITCZ の MIC は  $>8.0 \mu\text{g/ml}$  の高値を示した。この結果から, 本菌株は ITCZ 耐性株 (ただし VRCZ には交叉耐性を示さない) の可能性が考えられた。

#### VII. 血液関連分離株とその他の分離株間の抗真菌薬感受性の比較

血液関連分離株しか得られなかった *R. mucilaginosa* を除く *Candida* 属 5 菌種および *T. asahii* の計 6 菌種について, 血液関連分離株 58 株とそれに対応する菌種の非血液関連分離株 471 株との間で MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub> および感性株比率 (S%) を指標として菌種ごとに各抗真菌薬の MIC を比較した。Table 6 に示す成績から明らかなように, ほとんどすべての菌種-抗真菌薬の組み合わせにおいては, 血液関連分離株群と非関連分離株群との間で感受性に大差を認めなかった。そのなかで, *C. glabrata* の FLCZ 感性株比率 (88% vs. 42%) および *C. guilliermondii* の ITCZ 感性株比率 (0% vs. 25%) のみは両群間で 2 倍以上の差を示し, 前者については血液関連分離株のほうが, また後者では非関連分離株のほうが, おのおのより高い感受性をもつ傾向がみられた。

#### 考 察

わが国における全国規模, 特定地域の複数施設, または単一施設での病原酵母臨床分離株の抗真菌薬感受性のサーベイランスに関する報告は, アンケート調査によるものを含めて多数みられる。しかし JASP のように厳密に規定された条件下で, 長い年月にわたって経年的に行われ, しかも糸状菌まで含めた全国規模のサーベイランスはほかに報告例がない。したがって

Table 5. *In vitro* susceptibilities of 18 isolates of *Aspergillus* spp. against two antifungal agents

Species (no. of isolates)	Antifungal agent <sup>a</sup>	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
		Range	50%	90%
<i>Aspergillus fumigatus</i> (17)	ITCZ	0.063->8	0.125	0.25
	VRCZ	0.25-0.5	0.25	0.5
<i>A. niger</i> (1)	ITCZ	0.5	—	—
	VRCZ	0.5	—	—

<sup>a</sup> Abbreviations are the same as those for Table 3.

Table 6. Comparison of *in vitro* susceptibilities to four antifungal agents between isolates from blood and related specimens and those from all other types of specimens

Species (no. of isolates)	Antifungal agent <sup>a</sup>	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>b</sup>		%S <sup>c</sup>
		50%	90%	
<i>C. albicans</i> (31 <sup>d</sup> /302 <sup>e</sup> )	FLCZ	0.25/0.25	1/1	100/99.3
	ITCZ	0.016/0.016	0.016/0.016	97/98.7
	VRCZ	0.0078/0.0078	0.016/0.031	100/100
	5-FC	0.125/0.125	0.25/0.25	100/98.0
<i>C. glabrata</i> (8/99)	FLCZ	8/16	16/32	88/42
	ITCZ	0.25/0.25	0.5/1	13/11
	VRCZ	0.25/0.25	0.25/1	100/95
	5-FC	0.063/0.063	4/0.125	100/99
<i>C. tropicalis</i> (3/43)	FLCZ	4/4	8/4	100/95
	ITCZ	0.063/0.125	0.125/0.25	100/74
	VRCZ	0.063/0.125	0.25/0.25	100/95
	5-FC	0.125/0.125	0.25/2	100/91
<i>C. parapsilosis</i> (11/16)	FLCZ	0.5/1	2/2	100/100
	ITCZ	0.016/0.063	0.063/0.063	100/100
	VRCZ	0.016/0.031	0.125/0.063	100/100
	5-FC	0.063/0.063	0.125/0.125	100/100
<i>C. guiliermondii</i> (4/4)	FLCZ	4/8	4/16	100/75
	ITCZ	0.25/0.25	0.25/0.25	0/25
	VRCZ	0.125/0.125	0.125/0.125	100/100
	5-FC	0.063/0.063	0.125/0.125	100/100
<i>T. asahii</i> (1/7)	FLCZ	8/4	8/16	
	ITCZ	0.125/0.125	0.125/0.5	
	VRCZ	0.063/0.125	0.063/0.25	
	5-FC	>64/16	>64/>64	

<sup>a</sup> Abbreviations are the same as those for Table 3.

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

<sup>c</sup> Percent susceptible at a MIC of  $\leq 8 \mu\text{g/ml}$  (FLCZ),  $\leq 0.125 \mu\text{g/ml}$  (ITCZ),  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$  (VRCZ), or  $\leq 4 \mu\text{g/ml}$  (5-FC).

<sup>d</sup> Number of isolates from blood and related specimens.

<sup>e</sup> Number of isolates from all other types of specimens.

2001年から2005年までの5年間に隔年3回、集計解析されたJASP調査研究の成績は、この面におけるわが国の最近の動向をうかがううえできわめて貴重かつ有用なものと考えられる。

第3回に当たる今回(2005年)の調査に際して収集された分離株数は576株であり、第1回(2001/2002年, 576株)と同数、第2回(2003年, 409株)よりも40%増となった。今回収集した分離株については、*Candida*属以外の分離株が35株(6.1%)含まれ、前2回(第1回, 2%; 第2回 1%)に比べて高い比率となったこと、とくに *Aspergillus* 属菌分離株(18株)が多いことが特徴的であった。一方、*Candida* 属菌種は前2回の場合と同様に、今回もまた収集分離

株の大半を占め、*C. albicans* と non-*albicans Candida* との比率(61.5% vs. 39.5%)もまた第1回および第2回における比率(それぞれ 58.6% vs. 41.4%, 57.3% vs. 42.7%)と同程度であった。今回得られた non-*albicans Candida* の菌種分布をみると、分離率の順位は *C. glabrata* (18.6%), *C. tropicalis* (8.0%), *C. parapsilosis* (4.7%), *C. krusei* (2.4%) となり、前2回と全く変わらなかった。

非 *Candida* 属酵母に関しても、今回最も多数の株が分離された菌種は *T. asahii* (分離株全体の 1.4%) であった。この分離状況もまた、第1回(1.1%)および第2回(2.2%)と比べて大差なかった。これらの結果から、2001年から2005年までの5年間を通して



一般臨床検体からの酵母分離株に関しては、*C. albicans*をはじめとする主要な *Candida* 属の菌種分布ならびに非 *Candida* 属酵母の代表菌種である *T. asahii* の分離・収集状況は基本的に変わっていないと判断された。

抗真菌薬感受性調査の対象薬剤としたアゾール系3薬剤 (FLCZ, ITCZ, VRCZ) のうち、VRCZ に関して今回新たな状況が生じた。その一つは、2005年6月にVRCZ がわが国で上市されたことであり、もう一つは本年(2008年)公表された CLSI M27-3A<sup>17)</sup> において *Candida* 属に対する VRCZ の MIC ブレークポイント (S,  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ ; S-DD,  $2 \mu\text{g/ml}$ ; R,  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ ) が初めて正式に提示されたことである。第1点に関しては、VRCZ の発売時期が分離株収集時期とほぼ重なっていることから、発売が第3回調査研究に影響を及ぼした可能性はほとんどないと判断される。第2点についても、われわれが調査開始時に採用した Pfaller et al.<sup>16)</sup> の提案がそのまま M27-A3 ガイドラインとして承認されたわけであるから、それによるデータ解析の影響もなかったことになる。

*Candida* 属分離株の各抗真菌薬に対する感受性パターンを、耐性株の頻度を指標として前2回のデータと比較しながら検討した結果からは、もともとアゾール系薬剤に対する感受性が低いことで知られる *C. glabrata* と *C. krusei* 両菌種の分離株の抗真菌薬感受性に注目すべき変化が認められた。*C. glabrata* に関しては、FLCZ および ITCZ に対する耐性頻度がそれぞれ 7.5% および 9.3% と、第1回(それぞれ 3.8%, 2.3%) および第2回(それぞれ 2.2%, 1.1%) に比べて高値を示したことである。*C. krusei* については、MIC が  $\geq 64 \mu\text{g/ml}$  である株(これを便宜上耐性株と表す)の占める割合は第1回8株中0株(0%)、第2回7株中4株(57%)であった FLCZ 耐性株が今回14株中13株(93%)に増えたことに加えて、ITCZ と VRCZ の両薬剤に耐性化した分離株が2株検出されたことである。しかし本菌の分離株数が少ないことから、ITCZ および(または) VRCZ に対する耐性化が進む傾向にあるか否かについての結論は今後の検討を待たねばならない。

*Candida* 属分離株とくに血液関連分離株の抗真菌薬感受性を調査した成績については、国内外から多数の報告がなされている。これらのデータと比較する意図もあって、第2回報告に引き続き本報においても血液関連検体分離株と非関連検体分離株との間で各薬剤に対する感受性を比較した。その結果、一部の薬剤-菌種の組み合わせ、すなわち *C. glabrata* の FLCZ 感受

性や、*C. guilliermondii* の ITCZ 感受性にある程度の差が認められたものの、それぞれの血液関連分離株数が8株および4株と少ないこと、また前回の成績では今回のような感受性の差がみられなかったことを考えると、現段階では結論づけることは困難である。Pfaller et al.<sup>21)</sup> は検体のタイプにかかわらず *Candida* 属分離株の FLCZ および VRCZ に対する感受性に有意な違いがなかったと報告している。

国内においては、特定地域の単独施設または複数施設が主として1990年代後半から2000年代前半にかけての単一年次かまたは複数年次にわたって収集した *Candida* 属分離株について FLCZ, ITCZ および 5-FC を含む抗真菌薬に対する感受性を M27-A 法に準拠した方法を用いて検討した成績が多数報告されている<sup>22~33)</sup>。そのなかには、菌種を問わず FLCZ および ITCZ に対する耐性株がほとんど検出されないとする報告がある<sup>23, 24, 32)</sup>。しかし、その一方、FLCZ と ITCZ の両者またはいずれかに対する耐性株が *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* および(または) *C. guilliermondii* 各分離株のいずれかに10%以上の高頻度で出現するとの成績もみられる<sup>25, 26, 29, 31)</sup>。これらの報告においては、FLCZ 耐性よりも ITCZ 耐性の頻度のほうがより高く、とくに *C. glabrata* の ITCZ 耐性頻度は20%<sup>31)</sup> から85%<sup>33)</sup> にも及んでおり、本報を含む JASP 調査研究の成績と大きく異なっている。その理由の一つとして考えられるのは、いずれの報告においても M27-A2 ガイドライン<sup>12)</sup> に示されている trailing growth 株に対する配慮がなされている方法(M27-A2法)<sup>12)</sup> ではなくそれがなされていない M27-A法<sup>9)</sup> が使用されており、したがって本来感受性とすべき trailing growth 株を耐性株と誤判定した可能性である。事実、われわれは第1回調査研究において、M27-A2法による MIC 判定を行った場合には、M27-A法の場合に比べて VRCZ を含む各アゾール系薬剤に対する耐性の頻度が数分の1から数十分の1に低下することを確認している<sup>9)</sup>。

アゾール系薬剤耐性の問題に関してとくに注目されるのは、*C. krusei* の FLCZ に対する MIC が  $\geq 64 \mu\text{g/ml}$  である株の分離頻度の年次推移である。Takakura et al.<sup>30)</sup> による2001~2002年収集株をはじめ、須藤ら<sup>23)</sup> による1991~1995年収集株および力丸ら<sup>32)</sup> による2002~2004年収集株においては、いずれも0%であり、小松ら<sup>29)</sup> による2002~2003年収集株でも20%にとどまっている。いずれも JASP 第2回(2003年)および第3回(2005年)における耐性頻度(それぞれ57%, 93%)に比べて低い値であり、おそ

らく国内においては収集年次によって、また施設の違によって *C. krusei* の FLCZ 感受性にかかなりの差があるものと推測される。

1990 年代以降に収集された *Candida* 属分離株（多くは血液分離株）のアゾール系薬剤や 5-FC を含む抗真菌薬に対する感受性のサーベイランスに関しては、わが国以上に海外から多数の報告がなされている<sup>14, 21, 34~51</sup>。大多数の報告で菌種別にみた各アゾール系薬剤耐性株出現パターンは共通であり、分離株が収集された地域や年次とは無関係に、FLCZ および ITCZ に対する耐性株が 5% 以上の頻度で出現する菌種は *C. glabrata* と *C. krusei* に限られている。しかし FLCZ 耐性頻度および ITCZ 耐性頻度のレベルはまちまちであり、*C. glabrata* においてはそれぞれ 6%<sup>42</sup>~30%<sup>45</sup> および 20%<sup>37</sup>~94%<sup>45</sup>、*C. krusei* においてはそれぞれ 35%<sup>37, 54</sup> ~ 100%<sup>14, 43, 44, 46</sup>、20%<sup>50</sup> ~ 100%<sup>45</sup>、といずれも幅広い範囲に分散している。これらの成績は、FLCZ と ITCZ に対する耐性頻度が *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* などでは世界的に低いレベルで推移している一方、*C. glabrata* および *C. krusei* では地域によって大差がみられることを示している。それでも全体的にみれば、海外諸国に比べてわが国における両アゾール系薬剤に対する耐性頻度はまだ低いレベルにあると推測されるが、JASP 調査研究からはその上昇傾向も疑われることから、今後とも調査を継続する必要性は大きいと考えられる。

FLCZ や ITCZ の場合に比べて、VRCZ についての感受性サーベイランスデータを含む国内外の報告はまだ比較的少数にとどまっている<sup>14, 21, 30, 42, 45, 46</sup>。これらの成績をみる限り、*C. glabrata* や *C. krusei* を含むすべての *Candida* 属主要菌種における耐性頻度は 5% 以下と低い。JASP 調査研究の成績も同様であることから、原因菌の菌種を問わず、VRCZ の *Candida* 感染症の治療における有用性は世界的にも維持されているものと推測される。

アゾール系薬剤に先行して 1970 年代初期に国内で上市された 5-FC については、当初、*Candida* 属での耐性獲得がきわめて容易に起こるとみなされていた。しかし今回を含む JASP 調査全期間を通してすべての *Candida* 属菌種の耐性頻度は 0~6.5% の低いレベルで推移した。同様の成績は 1990 年代以降の分離株について 5-FC 感受性を検討した国内外のすべての報告<sup>23, 24, 26, 29, 31~33, 35~37, 41, 42, 49</sup> にも示されており、世界的にみても *Candida* 属の 5-FC 感受性は良好に維持されていると考えられる。この状況は、アゾール系薬剤の出現以来、5-FC 使用量が激減したことと関係

があるのかもしれない。

*Candida* 属とは対照的に、非 *Candida* 属酵母を調査対象に入れた抗真菌薬感受性サーベイランスに関する報告は、JASP 調査研究以外には国内外を通してほとんど見当たらない。本調査研究において収集された非 *Candida* 属酵母の分離株数は各回とも 20 株以下の少数にとどまるなか、毎回比較的安定して分離株が得られた *Trichosporon* 属菌種 (*T. asahii* その他) および *Cryptococcus* 属 (*C. neoformans* その他) について検討した限りでは、各抗真菌薬に対する感受性には明らかな経年的変化の傾向が認められなかった。また各薬剤に対する感受性も従来いわれているレベルと基本的に変わっていないことが示唆された。

現在、欧米諸国においてアスペルギルス症の治療への適応が認められている抗真菌薬は、アムホテリシン B (脂質製剤を含む) を除けば、ITCZ と VRCZ にほぼ限られ、わが国においてのみキャンディン系の *miconazole* がそれに加えられている。ITCZ に対する *Aspergillus* 属の感受性については、近年 *in vitro* 獲得耐性株の出現が問題視され<sup>52~55</sup>、そうした耐性株の *in vivo* 耐性もアスペルギルス症動物モデルにおいて確認されている<sup>56, 57</sup>。このように *Aspergillus* 属とくに *A. fumigatus* の抗真菌薬耐性に関する研究の進展には、糸状菌の抗真菌薬感受性試験法の標準化<sup>19</sup> が大きくあずかっている。こうした基礎研究を背景に、*Aspergillus* 属臨床分離株の抗真菌薬感受性に関する大規模なサーベイランスが海外において幾つも実施されてきた<sup>46, 58~61</sup>。

*Aspergillus* 属の抗真菌薬感受性を評価する場合の最大の問題点は、その感受性カテゴリー、すなわち感性かそれとも耐性か、を判定するための MIC ブレークポイントがいずれの抗真菌薬についてもまだ明確に設定されていないことである。ITCZ および VRCZ については、MIC 値が  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$  の場合を感性とみなすことには異論はないようであるが、耐性の規準としては  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$  を採用している論文と  $\geq 8 \mu\text{g/ml}$  をとる論文とがある点には注意しなければならない。これまで欧米から報告された主なサーベイランスの成績においては、ITCZ および VRCZ の MIC が  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$  を示す *A. fumigatus* 分離株の割合は、それぞれ 85~93%、96~100% であり、その他の *Aspergillus* 属とくに *A. niger* や *A. versicolor* では幾分その比率が低いことが示されている<sup>49, 61</sup>。一方、MIC が  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$  または  $\geq 8 \mu\text{g/ml}$  と高いことから耐性と考えられる *Aspergillus* 属分離株の比率については、ITCZ ではおおむね 2~5%、VRCZ では 1% 以下とする報

告が大半である<sup>49, 56, 59, 61</sup>)。わが国においては、これまで *Aspergillus* 属臨床分離株の抗真菌薬感受性サーベイランスに関する報告がほとんどないことから、*Aspergillus* 属分離株 18 株を対象として行われた今回の試験結果が注目された。その結果、18 株中に ITCZ の MIC が  $>8 \mu\text{g/ml}$  の高値を示して ITCZ 耐性と考えられる *A. fumigatus* 分離株が 1 株見いだされた。この株については、VRCZ の MIC が  $0.5 \mu\text{g/ml}$  と低く、VRCZ との交叉耐性はみられなかった。本菌株は、肺・気管支真菌症と診断された悪性腫瘍患者の喀痰から分離されたものであり、ITCZ を含む抗真菌薬の治療歴等については不明であるが、その特徴的なアゾール系薬感受性パターンは興味深い。収集分離株数が少ないことから、国内における *Aspergillus* 属の抗真菌薬感受性の動向を明確に示すことはできなかったものの、たとえ 1 株とはいえ ITCZ 耐性株が分離されたことは、*Candida* 属や非 *Candida* 属酵母の場合と同様に、*Aspergillus* 属を対象とした抗真菌薬感受性サーベイランスの重要性を改めて強く示唆するものである。

**追記** 外耳道・副鼻腔穿刺液からの分離株で菌種同定不能とされた *Candida* 属菌種 1 株については、その後詳細な分子生物学的解析を行った結果、従来記載されていない新種であることが判明し、*Candida auris* の菌名で報告・登録された<sup>62</sup>)。

本論文の要旨は第 19 回日本臨床微生物学会総会 (平成 20 年 1 月) および第 82 回日本感染症学会総会 (平成 20 年 4 月) において発表した。

**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・エルに感謝いたします。

## 文 献

- 1) Pfaller, M. A., D. J. Diekema. 2004. Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: concerns for resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *J. Clin. Microbiol.* 42: 4419-4431.
- 2) Nucci, M., K. A. Marr. 2005. Emerging fungal diseases. *Clin. Infect. Dis.* 41: 521-526.
- 3) Fridkin, S. K. 2005. The changing face of fungal infections in health care settings. *Clin. Infect. Dis.* 41: 1455-1460.
- 4) Pfaller, M. A., P. G. Pappas, J. R. Wingard. 2006. Invasive fungal pathogens: Current epidemiological trends. *Clin. Infect. Dis.* 43: S3-S14.
- 5) Perfect, J. R., W. A. Schell. 1996. The new fungal opportunists are coming. *Clin. Infect. Dis.* 22(Suppl. 2): S112-S118.
- 6) Groll, A. H., T. J. Walsh. 2001. Uncommon opportunistic fungi: New nosocomial threats. *Clin. Microbiol. Infect.* 7(Suppl. 2): 8-24.
- 7) 深在性真菌症の診断・治療ガイドライン作成委員会 (編). 2007. 深在性真菌症の診断・治療ガイドライン 2007, [1] 疫学, p. 36-38, 協和企画, 東京.
- 8) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing for yeasts. Approved standard M27-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 17(9).
- 9) 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.
- 10) 山口英世, 内田勝久, 西山彌生, 他. 2006. 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 (2): 2003 年度報告. *日本臨床微生物学雑誌* 16: 13-22.
- 11) Mannarelli, B. M., C. P. Kurtzman. 1998. Rapid identification of *Candida albicans* and other human pathogenic yeasts by using short oligonucleotides in a PCR. *J. Clin. Microbiol.* 36: 1634-1641.
- 12) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard, 2nd ed., M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 22(15).
- 13) 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.
- 14) Sheehan, D. J., C. A. Hitchcock, C. M. Sibley. 1999. Current and emerging azole antifungal agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12: 40-79.
- 15) 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.



- zole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *J. Clin. Microbiol.* 39: 3254-3259.
- 16) Pfaller, M. A., D. J. Diekema, J. H. Rex, et al. 2006. Correlation of MIC with outcome for *Candida* species tested against voriconazole: analysis and proposal for interpretive breakpoints. *J. Clin. Microbiol.* 44: 819-826.
  - 17) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard-third edition (M27-A3). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa. 28(14).
  - 18) 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.
  - 19) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1998. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi; proposed standard. M38-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 18 (13).
  - 20) 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. Chemther.* 8: 374-377.
  - 21) Pfaller, M. A., D. J. Diekema, D. L. Gibbs, et al. 2007. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2005: An 8.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species and other yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. *J. Clin. Microbiol.* 45: 1735-1745.
  - 22) Furuta, I., Y. Obana, T. Yamazumi, et al. 1996. The state of isolation and drug sensitivity of *Candida* species. *Acta Med. Kinki Univ.* 21: 111-116.
  - 23) 須藤貴子, 槇村浩一, 川田かおる, 他. 1997. 微量液体希釈法による口腔・食道カンジダ症分離株の感受性試験—各種抗真菌薬の *in vitro* 活性と fluconazole の *in vitro/in vivo* 活性相関—. 日本化学療法学会雑誌 45: 115-122.
  - 24) 山住俊晃, 黒田隆也, 大畠恒子, 他. 1998. 微量液体希釈法による臨床分離 *Candida albicans* の薬剤感受性成績の検討. 感染症学雑誌 72: 813-819.
  - 25) 櫻田政子, 安達桂子, 安中めぐみ, 他. 1999. 血液培養から分離された酵母様真菌の年次推移と薬剤感受性. 日本臨床微生物学雑誌 9: 149-155.
  - 26) 渋谷泰寛, 羽石恵理子, 木村由美子, 他. 2000. 酵母様真菌感受性測定キットを用いた臨床分離株の感受性の検討. 日本臨床微生物学雑誌 10: 28-35.
  - 27) 太田忠信, 竹岡康信, 赤堀美佳, 他. 2000. 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. 大阪医学 34: 94-96.
  - 28) 小幡 進, 平田泰良, 砂川慶介, 他. 2001. 当院における過去 25 年間に分離された真菌の検査傾向. 感染症学雑誌 75: 863-869.
  - 29) 小松 方, 相原雅典, 島川宏一, 他. 2003. 天理病院で分離された酵母様真菌に対する抗真菌薬の抗菌力について—特にキャンディン系抗真菌薬ミカファンギンの抗菌力—. *Jpn. J. Antibiotics* 56: 705-711.
  - 30) Takakura, S., N. Fujihara., T. Saito, et al. 2004. 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.* 53: 283-289.
  - 31) 深澤裕美, 遠藤 武, 内田 幹, 他. 2004. 山梨県内で実施した *Candida* 属サーベイランス. 日本化学療法学会雑誌 52: 654-659.
  - 32) 力丸 徹, 米光純子, 嶋田亜希子, 他. 2005. 真菌血症より分離された *Candida* に対する各種抗真菌薬の *in vitro* 抗真菌活性. 感染症学雑誌 79: 20-24.
  - 33) 小栗豊子, 三澤成毅, 中村文子, 他. 2006. 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. 感染症学雑誌 80: 656-664.
  - 34) 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.
  - 35) Colombo, A. L., Z. Nakagawa, F. Valdetaro, et al. 2003. Susceptibility profile of 200 bloodstream isolates of *Candida* spp. collected from Brazilian tertiary care hospitals. *Med. Mycol.* 41: 235-239.
  - 36) Tortorano, A. M., A. L. Rigoni, E. Biraghi, et al. 2003. The European Confederation of Medical Mycology (ECMM) survey of candidemia in Italy: antifungal susceptibility patterns of 261 non-*albicans Candida* isolates from blood. *J. Antimicrob. Chemother.* 52: 679-682.
  - 37) Hajjeh, R. A., A. N. Sofair, L. H. Harrison, et al. 2004. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and *in vitro* susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. *J. Clin. Microbiol.* 42: 1519-1527.
  - 38) Marchetti, O., J. Bille, U. Fluckiger, et al. 2004. Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991-2000. *Clin.*

- Infect. Dis. 38: 311-320.
- 39) Cuenca-Estrella, M., D. Rodriguez, B. Almirante, et al. 2005. *In vitro* susceptibilities of bloodstream isolates of *Candida* species to six antifungal agents: results from a population-based active surveillance programme, Barcelona, Spain, 2002-2003. J. Antimicrob. Chemother. 55: 194-199.
- 40) Almirante, B., D. Rodriguez, B. J. Park, et al. 2005. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. J. Clin. Microbiol. 43: 1829-1835.
- 41) Metwally, L., M. J. Walker, V. Coyle, et al. 2007. Trends in candidemia and antifungal susceptibility in a university hospital in Northern Ireland 2001-2006. J. Infect. 55: 174-178.
- 42) Odds, F. C., M. F. Hanson, A. D. Davidson, et al. 2007. One year prospective survey of *Candida* bloodstream infections in Scotland. J. Med. Microbiol. 56: 1066-1075.
- 43) Pfaller, M. A., R. N. Jones, G. V. Doern, et al. 1998. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY Program. J. Clin. Microbiol. 36: 1886-1889.
- 44) Pfaller, M. A., R. N. Jones, G. V. Doern, et al. 2000. Bloodstream infections due to *Candida* species: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program in North America and Latin America, 1997-1998. Antimicrob. Agents Chemother. 44: 747-751.
- 45) 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.
- 46) Pfaller, M. A., D. J. Diekema, S. A. Messer, et al. 2003. Activities of fluconazole and voriconazole against 1,586 recent clinical isolates of *Candida* species determined by broth microdilution, disk diffusion, and E test methods; report from the ARTEMIS global antifungal susceptibility program, 2001. J. Clin. Microbiol. 41: 1440-1446.
- 47) Pfaller, M. A., D. J. Diekema, S. A. Messer, et al. 2003. *In vitro* activities of caspofungin compared with those of fluconazole and itraconazole against 3,959 clinical isolates of *Candida* spp., including 157 fluconazole-resistant isolates. Antimicrob. Agents Chemother. 47: 1068-1071.
- 48) Pfaller, M. A., L. Boyken, R. J. Hollis, et al. 2006. *In vitro* susceptibilities of *Candida* spp. to caspofungin: four years of global surveillance. J. Clin. Microbiol. 44: 760-763.
- 49) Messer, S. A., R. N. Jones, T. R. Fritsche. 2006. International surveillance of *Candida* spp. and *Aspergillus* spp.: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2003). J. Clin. Microbiol. 44: 1782-1787.
- 50) Ostrosky-Zeichner, L., J. H. Rex, P. G. Pappas, et al. 2003. Antifungal susceptibility survey of 2,000 bloodstream *Candida* isolates in the United States. Antimicrob. Agents Chemother. 47: 3149-3154.
- 51) Lortholary, O., E. Dannaoui, D. Raoux, et al. 2007. *In vitro* susceptibility to posaconazole of 1,903 yeast isolates recovered in France from 2003 to 2006 and tested by the method of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrob. Agents Chemother. 51: 3378-3380.
- 52) Chryssanthou, E. 1997. *In vitro* susceptibility of respiratory isolates of *Aspergillus* species to itraconazole and amphotericin B acquired resistance to itraconazole. Scand. J. Infect. Dis. 29: 509-512.
- 53) Verweij, P. E., M. Mensink, A. J. Rijs, et al. 1998. *In-vitro* activities of amphotericin B, itraconazole and voriconazole against 150 clinical and environmental *Aspergillus fumigatus* isolates. J. Antimicrob. Chemother. 42: 389-392.
- 54) Dannaoui, E., F. Persat, M. F. Monier, et al. 1999. *In-vitro* susceptibility of *Aspergillus* spp. isolates to amphotericin B and itraconazole. J. Antimicrob. Chemother. 44: 553-555.
- 55) Dannaoui, E., E. Borel, M. F. Monier, et al. 2001. Acquired itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. J. Antimicrob. Chemother. 47: 333-340.
- 56) Denning, D. W., K. Venkateswarlu, K. L. Oakley, et al. 1997. Itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. Antimicrob. Agents Chemother. 41: 1364-1368.
- 57) Dannaoui, E., E. Borel, F. Persat, et al. 1999. *In-vivo* itraconazole resistance of *Aspergillus fumigatus* in systemic murine aspergillosis. EBGA Network. European research group on biotypes and genotypes of *Aspergillus fumigatus*. J. Med. Microbiol. 48: 1087-1093.
- 58) Verweij, P. E., D. T. A., Te Dorsthorst, A. J. M. M. Rijs, et al. 2002. Nationwide survey of *in vitro* activities of itraconazole and voriconazole against clinical *Aspergillus fumigatus* isolates



- cultured between 1945 and 1998. J. Clin. Microbiol. 40: 2648–2650.
- 59) Gomez-Lopez, A., G. Garcia-Effron, E. Mellado, et al. 2003. *In vitro* activities of three licensed antifungal agents against Spanish clinical isolates of *Aspergillus* spp. Antimicrob. Agents Chemother. 47: 3085–3088.
- 60) Diekema, D. J., S. A. Messer, R. J. Hollis, et al. 2003. Activities of caspofungin, itraconazole, posaconazole, ravuconazole, voriconazole, and amphotericin B against 448 recent clinical isolates of filamentous fungi. J. Clin. Microbiol. 41: 3623–3626.
- 61) Pfaller, M. A., S. A. Messer, L. Boyken, et al. 2008. In vitro survey of triazole cross-resistance among more than 700 clinical isolates of *Aspergillus* species. J. Clin. Microbiol. 46: 2568–2572.
- 62) Satoh K., K. Makimura, Y. Hasumi, et al. 2009. *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. Microbiol. Immunol. 53: 41–44.

### Nationwide Survey of Antifungal Drug Susceptibility of Clinical Fungal Isolates in Japan for the Japan Antifungal Surveillance Program (JASP), 2005

Hideyo Yamaguchi,<sup>1)</sup> Yayoi Nishiyama,<sup>1)</sup> Katsuhisa Uchida,<sup>1)</sup> Choichiro Takahashi,<sup>2)</sup> Chieko Kawashima,<sup>3)</sup> Mutsumu Hayashi,<sup>4)</sup> Sayoko Kawakami,<sup>5)</sup> Keiko Adachi,<sup>6)</sup> Katsuko Okuzumi,<sup>7)</sup> Yoshiki Misawa,<sup>8)</sup> Toyoko Oguri,<sup>9)</sup> Yuki Okimura,<sup>10)</sup> Toshimi Kitazawa,<sup>11)</sup> Yoshiko Hori,<sup>12)</sup> Masakazu Tosaka<sup>13)</sup>  
(Association of Japan Antifungal Susceptibility Surveillance)

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

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

<sup>3)</sup> Ashikaga Red Cross Hospital

<sup>4)</sup> Saitama Medical Center Jichi Medical University

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

<sup>6)</sup> Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital

<sup>7)</sup> Dokkyo University Hospital

<sup>8)</sup> The University of Tokyo Hospital

<sup>9)</sup> Juntendo University Hospital (Current address: Kameda Medical Center)

<sup>10)</sup> Shinshu University Hospital

<sup>11)</sup> Kikkoukai General Hospital Tane Hospital

<sup>12)</sup> Okayama Saiseikai General Hospital

<sup>13)</sup> Kumamoto University Hospital

As a third nationwide surveillance of the longitudinal Japanese Antifungal Surveillance Program (JASP), a total of 541 *Candida* isolates, 17 non-*Candida* yeast isolates, and 18 *Aspergillus* isolates collected in 11 hospitals during 2 months, June and July 2005, were studied for their *in vitro* antifungal susceptibilities. The rank order of *Candida* spp. occurrence was as follows: *C. albicans* (57.8%), *C. glabrata* (18.6%), *C. tropicalis* (8.0%), *C. parapsilosis* (4.7%) and *C. krusei* (2.4%). Percent resistant by using the interpretive breakpoint criteria of CLSI guideline to fluconazole (FLCZ), itraconazole (ITCZ) and voriconazole (VRCZ) was 7.5, 9.3 and 1.9% for *C. glabrata* and 93, 14 and 14% for *C. krusei*, respectively. In other *Candida* spp., isolates resistant to any of the three azoles drugs were not or only infrequently detected. All *Candida* spp. isolates were favorably susceptible to 5-FC. All of 17 *A. fumigatus* isolates were susceptible to both ITCZ and VRCZ except one isolate insusceptible only to ITCZ (MIC, >8 µg/ml). These results which extend upon previous finding from JASP reports (2001 to 2003) suggest a changing trend of frequency of resistance for *Candida* spp. isolates and emphasize the importance of continuing this or a similar type of surveillance.