

[原 著]

臨床真菌検査に関するアンケート調査成績
—1994年, 2002年および2010年の調査成績の比較—阿部美知子¹⁾・黒崎祥史¹⁾・小川善資¹⁾・久米 光²⁾¹⁾ 北里大学医療衛生学部医療検査学科²⁾ 北里大学医学部 病理

(平成24年3月12日受付, 平成24年5月1日受理)

1994(平成6)年, 2002(平成14)年および2010(平成22)年に, 全国の微生物検査室を対象に臨床真菌検査の現状に関するアンケート調査を行い, 各調査年次で200前後の施設より回答を得た。9割の検査室は臨床医より真菌検査の依頼がない場合でも, 臨床症状や臨床材料によって自主的に真菌検査を追加していた。同定結果が得られる以前に鏡検や培養成績を中間報告する施設は経年的に増加の傾向を示したが, その一方で培養日数が不足と思われる施設も2010年の調査で約5割と増加の傾向を示し, 検査法の啓蒙の必要性が示唆された。分離用培地は, カンジダ属菌の鑑別分離培地の使用が多く, 2010年は81%の施設が使用していた。また, 同年次の血中(1→3)- β -D-グルカンの検査は94%の施設で, 感受性検査は59%の施設で依頼されており, 検査法および検査依頼内容に経年的変遷が見られた。真菌検査の実施に際して困難することは, ①初めて分離した真菌の同定, ②菌糸のみを形成する糸状菌の同定, ③分離糸状菌の意義づけなどであったが, 卒後教育は不十分とする施設は83%から56%と減少し, 各学術団体の教育努力の傍証と考えられた。しかし, 現状において約半数はまだまだ不十分と回答しており, 真菌の検査手技や糸状菌の同定などに関する講習会開催の希望が多かった。

Key words: 臨床真菌検査, アンケート調査

序 文

臨床微生物検査のなかで, 真菌検査は細菌検査と比較すると標準的検査法が整備されていない。そのため, 臨床材料の前処理や培養方法などは個々の検査室の裁量で進められている¹⁾ことから, 真菌の検出頻度などに施設間でのバイアスが生じている可能性もある。他方, 近年の易感染性患者の増加に伴い内臓真菌症の発症頻度は高く²⁾, かつ原因菌種が多様化している^{3~7)}ことから, 各検査室では分離真菌, 特に糸状菌の同定や臨床的意義づけなどに苦慮する場合が増加しているように思われる。これらの状況がより良い方向に向かうためには, まずわが国の真菌検査の現状と問題点を的確に把握し, そのうえで対策を図ることが

肝要と考える。

第6回日本臨床微生物学会総会および第46回日本医真菌学会総会のシンポジウムでの報告に際し, わが国の真菌検査の現状を把握する必要があり, 1994(平成6)年および2002(平成14)年にアンケート調査を行った。さらに今回, 最新の真菌検査の現状を把握すべく, 2010(平成22)年8月に過去2回と同一内容のアンケート調査を行い, 最新の現状把握とともに過去のアンケート成績と比較して検査内容の質的変遷や問題点の抽出を行った。

本成績は, 今後のより良き真菌検査を行ううえで有益な基礎的資料になると考え報告する。

方 法

アンケートの実施は, 1994年12月, 2002年5月および2010年8月の3回で, 依頼施設は大都市にやや多い傾向があるものの, いずれの都道府県においても最低3~4施設は含まれるよう選択した。アンケートは, ほとんどの項目であらかじめ回答選択肢を列挙した

著者連絡先: (〒252-0373) 神奈川県相模原市南区北里1-15-1
北里大学医療衛生学部医療検査学科
阿部美知子
TEL/FAX: 042-778-9744
E-mail: abem@ahs.kitasato-u.ac.jp

表1. アンケート回答施設の概要(%)

1-A. 施設群別施設数

調査年	大学病院	国立病院	公立病院	団体病院	民間病院	合計施設数 (回収率)
'94	68 (30.9)	10 (4.5)	47 (21.4)	62 (28.2)	33 (15.0)	220 (77.2%)
'02	51 (30.5)	7 (4.2)	48 (28.7)	39 (23.4)	22 (13.2)	167 (72.6%)
'10	52 (30.2)	10 (5.8)	45 (26.2)	43 (25.0)	22 (12.8)	172 (78.2%)

1-B. 病床数別施設数

調査年	<200床	<400床	<600床	<800床	<1000床	<1200床	>1201床	無回答
'94	4 (1.8)	37 (17.0)	71 (32.6)	63 (28.9)	21 (9.6)	16 (7.3)	6 (2.8)	2
'02	3 (1.8)	28 (16.9)	54 (32.5)	46 (27.7)	22 (13.3)	6 (3.6)	7 (4.2)	1
'10	4 (2.3)	30 (17.5)	47 (27.3)	51 (29.7)	24 (13.9)	11 (6.4)	5 (2.9)	0

1-C. 微生物検査の担当技師数

調査年	1名	2名	3名	4名	5~6名	7~8名	>9名	無回答
'94	9 (4.1)	49 (22.3)	77 (35.0)	50 (22.7)	20 (9.1)	11 (5.0)	4 (1.8)	0
'02	6 (3.6)	32 (19.3)	52 (31.3)	39 (23.5)	24 (14.5)	12 (7.2)	1 (0.6)	1
'10	7 (4.1)	34 (20.1)	45 (26.6)	38 (22.5)	23 (13.6)	16 (9.5)	6 (3.6)	3

1-D. 真菌検査の専属担当技師を決めているか.

調査年	決めている	決めていない	無回答
'94	26 (11.8)	194 (88.2)	0
'02	16 (9.6)	151 (90.4)	0
'10	13 (7.6)	157 (92.4)	2

1-E. 一般細菌検査の検体数 (1日平均)

調査年	≤20件	≤40件	≤60件	≤80件	≤100件	≤120件	≤140件	≤160件
'94	11 (5.0)	57 (25.9)	74 (33.6)	36 (16.4)	17 (7.7)	11 (5.0)	4 (1.8)	10 (4.6)
'02	11 (6.6)	35 (20.9)	55 (32.9)	28 (16.8)	18 (10.8)	13 (7.8)	3 (1.8)	4 (2.4)
'10	12 (7.0)	45 (26.2)	45 (26.2)	25 (14.5)	25 (14.5)	12 (6.9)	6 (3.5)	2 (1.2)

1-F. 真菌検査の検体数 (1日平均)

調査年	<10件	<20件	<30件	<40件	>41件	依頼なし	無回答
'94	138 (63.0)	42 (19.2)	16 (7.3)	10 (4.6)	13 (5.9)	0	1
'02	94 (56.7)	27 (16.3)	16 (9.6)	9 (5.4)	7 (4.2)	13 (7.8)	1
'10	97 (56.7)	33 (19.3)	12 (7.0)	9 (5.3)	11 (6.4)	9 (5.3)	1

が、適宜追加記載欄も設け無記名回答とした。また、質問項目は3回とも同一としたが、実施年次によっては、その検査法が普及していないなどの理由から回答選択肢が列挙されていない場合もある。

結 果

1. 調査施設の概要

表1に、過去3回のアンケート回答施設の概要を示した。施設は、1. 大学病院 (国立, 公立および私立), 2. 国立病院, 3. 市町村などの公立病院, 4. 日本赤十字, 共済, 済生会, 厚生連などの各種団体病院および 5. その他の民間病院の5群に分類し選択肢とした。表

中の () 内の数値は、合計施設数からそれぞれの項目で回答のなかった施設を除外した施設数を分母とした頻度を示す。また、本文中に記述した施設群別成績は2010年次のみを成績を施設群別に集計した成績を示す。

回答施設は、大学病院が30%と最も多く、国立病院が4~6%と最も少なかった。また、アンケートの回収率は各年次で73~78%と同程度であった【表1(以下、同様), 1-A】。病床数は401~600床および601~800床の中・大規模施設が約6割を占めた【1-B】。施設群別の最多病床数は、大学病院601~800床、国立病院201~400床、公立病院、団体病院および民間病院401~600床で、それぞれ約4割を占めた(表中の記載なし、以下同様)。

微生物検査を担当する技師数は、1~9名以上と幅があったが、3名の施設が3割前後で最も多かった【1-C】。施設群別の技師数は、大学病院5~6名、国立病院2名、公立病院および団体病院は3名、民間病院は2名または4名がそれぞれ3~4割と最も多かった。真菌検査を担当する技師を決めている施設は、1994年次は12%あったが、経年的にその割合は減少傾向を示した【1-D】。施設群別の真菌検査専属技師の割合に差はなかった。一般細菌検査の1日当たりの検査件数は、全体では41~60件の施設が30%前後と最も多く【1-E】、施設群別に見ると大学病院は41~100件、その他の施設群は21~60件が多かった。真菌検査の1日当たりの検査件数は、全体では10件以下の施設が56~63%を占め【1-F】、大学病院は10件以下および20件以下が各29%と他の施設群より検体数が多かった。

2. 真菌検査について

表2に、真菌検査に関する項目の集計成績を示した。表中のNAは該当調査年次に選択肢として挙げていなかった項目である。また、本文中の施設群別成績は、同様に2010年次のみを成績を示す。

医師が真菌検査を依頼するための依頼画面あるいは依頼伝票を、一般細菌検査用と別に作成している施設は全体で14~23%であったが【2-A】、大学病院では33%とほかより高値であった。医師から真菌検査の依頼がなくても検査室が自主的に真菌検査を追加して行う施設は全体で87~92%あり【2-B】、表に示していないが、追加の理由は、検査材料を考慮して(1994年: 67.7%, 2002年: 84.5%, 2010年: 48.1%), 病名や臨床症状を考慮して(同43.2%, 54.2%, 74.7%), 鏡検で真菌が確認された検体(同50.5%, 82.4%, 70.3%), 以前に真菌陽性であった症例(同21.9%,

38.7%, 32.3%)などの場合に真菌用培地を追加する、あるいは上記の場合に細菌用培地を長期間観察する(13~37%)と回答し、追加検査する検査材料は、喀痰(53~59%), 気管支肺胞洗浄液(42~51%), 髄液(48~54%), 胸水(22~27%), 腹水(16~23%), 尿(24~28%)などであった。真菌検査に関する臨床医からの問い合わせは、ときどきある、ほとんどない、が各調査年次ともそれぞれ半数を占め【2-C】、施設群別の割合に差はなかった。

皮膚科材料の検査は、直接鏡検は皮膚科医が行い培養は検査技師が行う分業の施設が38~53%と最も多く、皮膚科医がすべてを行う施設は経年的に減少の傾向を示した【2-D】。表に示していないが、施設群別に見ると、すべて臨床検査技師が行う施設は、大学病院(1994年: 28.8%, 2002年: 34.7%, 2010年: 40.4%), 公立病院(同27.7%, 15.2%, 29.5%), 団体病院(同32.8%, 17.9%, 27.9%)で、すべて皮膚科医が行うのは大学病院(1994年: 34.9%, 2002年: 28.6%, 2010年: 13.5%), 公立病院(同23.4%, 26.1%, 11.4%), 団体病院(同19.7%, 15.4%, 20.9%)であり、分業は大学病院(1994年: 24.2%, 2002年: 36.7%, 2010年: 30.8%), 公立病院(同44.7%, 52.2%, 52.3%), 団体病院(同39.3%, 66.7%, 44.2%)で、大学病院において検査室の関与が増加していた。

皮膚科材料およびその他の診療科材料ともに、直接鏡検成績のみを、培養結果を待たず常に先に臨床に報告する施設は経年的に顕著に増加し、2010年次は約半数を占めた。一方で、直接鏡検を全く行わない施設も経年的に微増し、2010年次は1割程度認められた【2-E】。

皮膚科材料の培養日数は、全体で1週間またはそれ以下とする施設が経年的に増加し、2010年次は約半数を占めた【2-F】。なお、施設群別の皮膚科材料の培養日数には大きな差を認めなかった。皮膚科以外の検査材料の培養日数は、2~3日とする施設が全体で19~50%で、皮膚科材料と同様に培養日数は経年的に短縮の傾向を認めたが、6~7日間培養する施設のみは、2002年次にいったん減少後、2010年次では増加していた【2-G】。大学病院および民間病院は、6~7日と長期間培養する施設が約半数と他群より多かった。培養で真菌が検出された場合に、結果を得るまでに日数を要する菌種同定の成績を待たず、とりあえず真菌が分離されたことを臨床に報告する施設は38~65%で経年的に増加した【2-H】。

分離培養に使用する培地は、サブロー寒天培地、ポテトデキストロース寒天(PDA)培地および酵素基

表2. 真菌検査に関するアンケート集計成績 (%)

2-A. 細菌検査と別に、真菌用の検査依頼画面（伝票）を作成しているか。

調査年	作成あり	作成なし
'94	31 (14.1)	189 (85.9)
'02	39 (23.4)	128 (76.6)
'10	31 (18.0)	141 (82.0)

2-B. 検査室が自主的に真菌検査を追加することがあるか。

調査年	ある	ときどきある	無回答
'94	192 (87.3)	28 (12.7)	0
'02	152 (91.6)	14 (8.4)	1
'10	158 (91.9)	14 (8.1)	0

2-C. 真菌検査に関する臨床医からの問い合わせ

調査年	かなりある	ときどきある	ほとんどない	ない	無回答
'94	1 (0.5)	105 (47.9)	98 (44.8)	15 (6.8)	1
'02	1 (0.6)	85 (50.9)	81 (48.5)	0	0
'10	2 (1.2)	85 (49.7)	84 (49.1)	0	1

2-D. 皮膚科の検査材料は、誰が検査するか。

調査年	すべて検査技師	すべて皮膚科医	鏡検は皮膚科医、培養は検査技師	外注	その他	無回答
'94	59 (27.3)	57 (26.4)	83 (38.4)	1 (0.5)	16 (7.4)	4
'02	37 (22.7)	37 (22.7)	86 (52.8)	3 (1.8)	0	4
'10	51 (29.8)	25 (14.6)	77 (45.0)	2 (1.2)	16 (9.4)	1

2-E. 検査室で行った鏡検成績は、培養成績より先に報告するか。

調査年	常に先に報告	場合により電話連絡	培養成績と同時に報告	鏡検しない	無回答
'94	36 (16.5)	149 (68.0)	23 (10.5)	11 (5.0)	1
'02	49 (29.5)	90 (54.3)	13 (7.8)	14 (8.4)	1
'10	78 (46.7)	64 (38.3)	7 (4.2)	18 (10.8)	5

2-F. 皮膚科材料の培養日数

調査年	≤1週間	≤2週間	≤3週間	≤4週間	≤5週間	その他	無回答
'94	53 (28.2)	66 (35.1)	24 (12.8)	36 (19.1)	9 (4.8)	0	32
'02	57 (39.3)	47 (32.4)	18 (12.4)	19 (13.1)	4 (2.8)	0	22
'10	76 (46.9)	53 (32.7)	6 (3.7)	17 (10.5)	9 (5.6)	1 (0.6)	10

2-G. 皮膚科以外の検査材料（喀痰など）の培養日数

調査年	2~3日	4~5日	6~7日	8~14日	15~21日	22~28日	無回答
'94	41 (18.7)	39 (17.8)	90 (41.1)	36 (16.4)	12 (5.5)	1 (0.5)	1
'02	81 (48.5)	23 (13.8)	45 (26.9)	15 (9.0)	3 (1.8)	0	
'10	85 (49.7)	11 (6.4)	59 (34.5)	12 (7.0)	4 (2.4)	0	1

2-H. 培養陽性時の中間報告

調査年	行う	行わない	検体により行う	その他	無回答
'94	83 (37.8)	51 (23.3)	84 (38.4)	1 (0.5)	1
'02	97 (58.1)	25 (15.0)	45 (26.9)	0	0
'10	111 (64.5)	21 (12.2)	40 (23.3)	0	0

2-I-①. 使用している分離培養用培地〔複数回答あり〕

調査年	サブロー	PDA	CHROMagar Candida ¹⁾	ポアメデア Viカンジダ ²⁾	バイタルメデア カラー Candida ³⁾	カンジダ GS ⁴⁾
'94	187 (85.0)	12 (5.5)	NA	NA	NA	43 (19.5)
'02	116 (69.5)	38 (22.8)	125 (74.9)	NA	NA	17 (10.2)
'10	114 (67.1)	60 (35.3)	137 (80.6)	12 (7.1)	7 (4.1)	2 (1.2)
カンジダGE ⁵⁾	バードシード ⁶⁾	MGYM ⁷⁾	CA-TG ⁸⁾	CT ⁹⁾	細菌用培地	他/無回答
21 (9.6)	4 (1.8)	11 (5.0)	14 (6.4)	37 (16.9)	46 (21.0)	34 (15.5)/0
3 (1.8)	7 (4.2)	2 (1.2)	2 (1.2)	2 (1.2)	40 (24.0)	0/0
1 (0.6)	5 (2.9)	1 (0.6)	0	3 (1.8)	40 (23.5)	6 (3.5)/2

1)：(関東化学, 日本ペクトンディッキンソン), 2)：(栄研化学), 3)：(極東製薬工業), 4)：(栄研化学), 5)：(白水製薬), 6)：(日本ペクトンディッキンソン), 7)：(極東製薬工業), 8)：(セロテック), 9)：(セロテック).

2-I-②. 施設群別の分離培養用培地の種類数 (2010年)

施設群	分離培養に使用する培地の種類数				無回答	鑑別分離培地のみ 使用の施設数
	1種類	2種類	3種類	4種類		
大学病院	2 (3.9)	29 (56.9)	18 (35.3)	2 (3.9)	1	1 (1.9)
国立病院	2 (20.0)	5 (50.0)	2 (20.0)	1 (10.0)	0	1 (10.0)
公立病院	6 (13.3)	30 (66.7)	7 (15.6)	2 (4.4)	0	5 (11.1)
団体病院	4 (9.3)	19 (44.2)	17 (39.6)	3 (6.9)	0	3 (7.0)
民間病院	5 (23.8)	12 (57.2)	4 (19.0)	0	1	1 (4.8)

2-J. 同定はどこまで行うか(酵母).〔複数回答あり〕

調査年	酵母様真菌で 報告	属名まで	主要菌は菌種, ほかは属名	鑑別培地で菌種まで, ほかは属名	主要検体は 菌種まで	すべて 菌種まで
'94	4 (1.8)	14 (6.4)	65 (29.5)	NA	71 (32.3)	64 (29.1)
'02	2 (1.2)	2 (1.2)	64 (38.3)	1 (0.6)	42 (25.1)	52 (31.1)
'10	0	1 (0.6)	40 (23.4)	72 (42.1)	47 (27.5)	36 (21.1)
その他	無回答					
14 (6.4)	0					
4 (2.4)	0					
0	1					

2-K. 同定はどこまで行うか(糸状菌).〔複数回答あり〕

調査年	糸状菌 で報告	属名まで	主要菌は菌種, ほかは属名	主要検体は 菌種まで	同定可能の み菌種まで	その他	無回答
'94	18 (8.2)	52 (23.7)	53 (24.2)	21 (9.6)	72 (32.9)	7 (3.2)	1
'02	14 (8.5)	17 (10.3)	55 (33.3)	16 (9.7)	63 (38.2)	0	2
'10	8 (4.7)	22 (12.9)	59 (34.5)	10 (5.8)	78 (45.6)	0	1

2-L. 血中真菌抗原検査

調査年	自施設で行う	外注する	自施設と外注	依頼なし	無回答
'94	いずれかで行う 125 (58.1)			90 (41.9)	5
'02	48 (28.8)	52 (31.1)	67 (40.1)	0	0
'10	22 (12.9)	76 (44.4)	73 (42.7)	0	1

2-M. 真菌抗原検査の種類(自施設検査および外注検査の合計)

調査年	カンジダ	クリプトコックス	アスペルギルス	β -D-グルカン	無回答
'94	117 (95.1)	33 (26.8)	24 (19.5)	NA	2
'02	117 (74.1)	87 (55.1)	86 (54.4)	137 (86.7)	9
'10	116 (73.0)	94 (59.1)	106 (66.7)	149 (93.7)	12

2-N. 使用している真菌抗原検査キット—カンジダ抗原

調査年	カンジテック ¹⁾	パストレックス カンジダ ²⁾	プラテリア カンジダ ³⁾	その他*
'02	87 (92.6)	7 (7.4)	0	0
'10	43 (82.7)	3 (5.8)	1 (1.9)	5 (9.6)

*: ユニメデイ「カンジダ」モノテスト(極東製薬工業) 2 (3.8), シカファンギテスト カンジダ(関東化学) 2 (3.8), 不明1 (1.9).

¹⁾: CAND-TEC (ラムコジャパン), ²⁾: PASTOLEX CANDIDA (日本サノフィ), ³⁾: PLATELIA CANDIDA (日本サノフィ).

2-O. 使用している真菌抗原検査キット—クリプトコックス抗原

調査年	セロダイレクト クリプト ¹⁾	パストレックス クリプト ²⁾
'02	25 (73.5)	9 (26.5)
'10	24 (88.9)	3 (11.1)

¹⁾: セロダイレクト‘栄研’クリプトコックス(栄研化学), ²⁾: PASTOLEX CRYPTOCOCCUS (日本サノフィ).

2-P. 使用している真菌抗原検査キット—アスペルギルス抗原

調査年	パストレックス アスペル ¹⁾	プラテリア アスペル ²⁾
'02	26 (92.9)	2 (7.1)
'10	3 (33.3)	6 (66.7)

¹⁾: PASTOLEX ASPERGILLUS, ²⁾: PLATELIA ASPERGILLUS (日本サノフィ).

2-Q. 使用している検査キット—(1→3)- β -D-グルカン

調査年	ファンギテックGテスト ¹⁾	β -グルカンテスト ²⁾
'02	9 (16.1)	47 (83.9)
'10	4 (5.7)	66 (94.3)

¹⁾: ファンギテックGテストMK(生化学工業), ²⁾: β -グルカンテストワコー(和光純薬工業).

2-R. 抗真菌薬感受性検査の依頼

調査年	ときどきある	ない	ごくまれにあり	無回答
'94	68 (30.9)	152 (69.1)	0	0
'02	79 (48.2)	75 (45.7)	10 (6.1)	3
'10	101 (58.7)	71 (41.3)	0	0

2-S. 感受性検査を依頼された場合の対処

調査年 (施設数)	自施設で行う	外注する	現在できない と断る	まだ必要ない と考えている	その他
'94 (68)	4 (5.9)	15 (22.1)	46 (67.6)	NA	3 (4.4)
'02 (89)	44 (49.5)	26 (29.2)	17 (19.1)	1 (1.1)	1 (1.1)
'10 (101)	67 (66.3)	27 (26.7)	6 (6.0)	0	1 (1.0)

2-T. 自施設で感受性検査を行う場合の、使用検査キット〔複数回答あり〕

調査年	FP '栄研' ¹⁾	DP '栄研' ²⁾	ASTY '極東' ³⁾	E test ⁴⁾	VITEK ⁵⁾	自製培地 ／無回答
'94	NA	NA	NA	NA	NA	4/0
'02	5 (11.4)	12 (27.3)	26 (59.1)	1 (2.2)	0	0/0
'10	4 (6.2)	9 (13.8)	51 (78.5)	0	2 (3.1)	0/2

^{1),2)}: (栄研化学), ³⁾ (極東製薬工業), ⁴⁾ (シスメックス・ピオメリュー), ⁵⁾ (シスメックス・ピオメリュー)

2-U. 真菌検査に関して困っていること〔複数回答あり〕

調査年	菌糸のみの 糸状菌の同定	分離糸状菌の 病原的意義	初めて分離した 真菌の同定	良い参考書が ない	感受性検査の 依頼	レファレンス センターがない	その他 ／無回答
'94	133 (60.5)	122 (55.5)	133 (60.5)	98 (44.5)	35 (15.9)	NA	0/0
'02	114 (69.9)	109 (66.9)	110 (67.5)	56 (34.4)	16 (9.8)	NA	0/4
'10	116 (69.0)	92 (54.8)	120 (71.4)	67 (39.9)	14 (8.3)	89 (53.0)	1 (0.6)/4

NA: 選択肢として挙げていない。

質(あるいは発色基質)を添加したカンジダ属菌種の鑑別分離培地である CHROMagar Candida 培地(関東化学株式会社, 日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)の3種が多用されており, 近年は CHROMagar Candida 培地が81%と最も多かった【2-I-①】。施設群別にみた使用培地の頻度は全体と大差なく, 分離培養に培地を何種類使用するか集計したところ, いずれの施設群においても2種類<鑑別培地+サブロー培地(2種類使用施設全体の46.3%), 鑑別培地+PDA培地(同22.1%)など>の使用が最も多く, ついで3種類<鑑別培地+サブロー培地+PDA培地(3種類使用施設全体の41.7%)など>の使用であり, 鑑別分離培地を単独使用する施設数も, 公立病院にやや多いものの施設群別に大差はなかった【2-I-②】。

真菌の同定をどこまで行うか, 酵母は2002年の調査までは, 主要菌種(*Candida albicans*など)検出頻度の高い菌種, 主要検体(血液, 髄液などの無菌的検

体)からの分離菌およびすべて菌種まで同定, がそれぞれ30%前後を占めたが, 2010年の調査では, 鑑別分離培地(CHROMagar Candidaなど)上の集落色で主要菌種を同定する, が最も多く42%を占めた【2-J】。施設群別にみると, 鑑別分離培地で菌種同定を行う施設は大学病院および民間病院で35%および32%と他群よりやや少なかった。糸状菌については, 同定できる場合は菌種まで同定する, が全体で33~46%, 次いで主要菌は菌種まで同定, が24~35%で, 菌種同定の割合は経年的に高くなり属名までにとどめる施設は経年的に減少した【2-K】。施設群別に前項に示した上位2者の選択肢の割合に大差はなかったが, 属名にとどめる, は大学病院で4%と低値であった。

真菌抗原検査については, 1994年の調査時はまだ各種検査法が普及していなかったため, 抗原別に真菌抗原検査を行っていますか, との質問にとどめた。すべてを自施設で行う施設の割合は経年的に減少して外

表3. 真菌検査の卒後教育に関するアンケート集計成績 (%)

3-A. 真菌検査の卒後教育に関する意見〔複数回答あり〕

調査年	技師会の講習会 などで充足	酵母は問題なし, 糸状菌は現状で十分	卒後教育は 不十分	真菌全般の 講習会が必要	糸状菌の 講習会が必要	その他/ 無回答
'94	21 (9.5)	13 (5.9)	182 (82.7)	NA	NA	8 (3.6)/0
'02	8 (5.0)	2 (1.3)	88 (55.0)	102 (63.8)	NA	0/7
'10	3 (1.8)	6 (3.5)	96 (56.1)	82 (47.9)	102 (59.6)	3 (1.8)/1

3-B. 真菌に関する講習会を行う場合, 希望するテーマは何か.〔複数回答あり〕

調査年	検査手技	まれな酵母様真菌	皮膚糸状菌	他の非着色菌	黒色菌
'94	122 (55.5)	85 (38.6)	105 (47.7)	64 (29.1)	70 (31.8)
'02	104 (65.4)	68 (42.8)	107 (67.3)	82 (51.6)	87 (54.7)
'10	111 (64.9)	63 (36.8)	63 (36.8)	59 (34.5)	56 (32.7)
糸状菌全般	その他	無回答			
NA	19* (8.6)	0			
NA	0	8			
131 (76.6)	12** (7.0)	1			

*: 初歩から12 (5.5), 検出菌の意義7 (3.2). **: 抗真菌薬関連2 (1.2), 輸入真菌症などその他10 (5.8).
NA: 選択肢として挙げていない.

部検査機関への依頼(外注)が増加し, 2010年次はすべて外注あるいは自施設での検査と一部外注の混合で行う施設がそれぞれ約半数を占めた【2-L】。団体病院および民間病院は, すべてを外注する割合がそれぞれ70%および64%と高値であった。検査項目は, (1→3)-β-D-グルカン検査が最も多く, 87~94%の施設で依頼されており, ついでカンジダ抗原73~95%, アスペルギルス抗原20~67%, クリプトコックス抗原27~59%であった【2-M】。大学病院ではアスペルギルスおよびクリプトコックス抗原検査の依頼が, それぞれ81%および75%と他の施設群より多かった。表中に成績を示していないが自施設での実施率を抗原別にみると, カンジダ抗原(2002年: 80.3%, 2010年: 44.4%), クリプトコックス抗原(同39.1%, 28.4%), アスペルギルス抗原(同32.6%, 8.5%)および(1→3)-β-D-グルカン(同51.1%, 46.7%)で, 自施設での実施率は経年的に減少した。自施設で真菌抗原検査を行う場合に使用する検査キットは, カンジダ抗原はCAND-TEC(ラムコジャパン), クリプトコックス抗原はセロダイレクト「栄研」クリプトコックス(栄研化学株式会社), アスペルギルス抗原は, 2002年次はPASTOREX ASPERGILLUS(日本サノフィ)が多かったが, 2010年次ではPLATELIA ASPERGILLUS(日本サノフィ)が多用されていた。(1→3)-β-D-グルカン検査は, β-グルカントテストワコー(和光純薬工業(株))の使用が多かった【2-N~

2-Q】。

抗真菌薬の感受性検査の依頼が, ときどきあるとする施設は31~59%で経年的に増加し【2-R】, 大学病院での依頼割合は87%と他の施設群より高値であった。感受性検査を依頼される施設における検査室の対応は, 自施設で行う, は全体で6~66%で経年的に増加し, 出来ないと断る施設は1994年次の68%から2010年次は6%と減少した【2-S】。感受性検査を外注する施設は, 民間病院および団体病院でそれぞれ46%および44%とやや高値であった。自施設で感受性検査を行う施設で使用する検査キットは, 2010年次はASTY「極東」(極東製薬工業(株))が多く, ついでDP「栄研」(栄研化学(株))であった【2-T】。

真菌検査を行う際に困惑することを, 自由記載欄を含め質問した結果(複数項目選択可), 1. 菌糸のみ観察される糸状菌の同定, 2. 分離された糸状菌の病原的意義づけ, 3. 初めて分離された真菌の同定, の3者はいずれも56~70%の施設が困惑するとした。レファレンスセンターがないこと, は2010年次の調査で53%の施設が困惑事項とした【2-U】。

3. 卒後教育について

表3に真菌検査の卒後教育に関する意見を示した。表中のNAは, 各調査年次で選択肢として挙げていなかった項目である。

「現在の卒後教育は不十分」は, 1994年次に83%あったが, 後の2回の調査では55~56%と減少し,

「真菌全般の講習会が必要」は、2002年次の64%から2010年次は48%と減少した。しかし、2010年次に列挙した「糸状菌の講習会が必要」は、60%の施設が必要とした【3-A】。講習会を行う場合の希望テーマは、「検査手技」が56~65%と通年高頻度であり、「皮膚糸状菌」、「その他の非着色菌」および「黒色菌」は2002年次に希望が増加したが2010年次には減少した。一方、2010年次に列挙した「糸状菌全般についての講習会」は77%の施設が必要と回答した【3-B】。

考 察

3回のアンケートは無記名回答のため施設名は不明であるが、群別および病床数別の施設頻度が3回ともにはほぼ同様であったことから、同じ施設より繰り返し回答いただいた割合が高いと推測された。

医師から依頼される真菌検査は、大学病院でやや多いもののその他の施設は1日10件以下が大半を占めた。しかし医師の依頼がなくても検査室が独自に真菌検査を追加実施する施設が9割あり、検査依頼の有無にかかわらず検出される原因微生物は見落とさないようにという検査室サイドの意思が感じられた。臨床医からの真菌検査に関する問い合わせの頻度は経年的に全く変化がなかったが、抗真菌薬の感受性検査依頼は増加しており、臨床医は真菌が検出されて初めて真菌症を認識し要に応じ感受性検査を依頼するという構図が推測された。このことから、原因真菌の検出においては検査室が自主的に追加実施する真菌検査が重要な役割を有すると考えられた。臨床医に真菌症をさらに認識していただくために、細菌検査の依頼画面（伝票）と別に真菌検査依頼画面（伝票）を作成するのも一手段かと思われるが、作成している施設は大学病院で3割、その他の施設は1割前後であった。病院の特性、すなわち易感染性患者が多い病院か否かなどにより対応が異なると思われるが、多くの施設で別に作成している結核菌検査依頼画面（伝票）と同様に真菌検査依頼画面（伝票）を別に作成することも臨床医の真菌症への意識高揚につながるのではないかと考える。

皮膚科材料の検査は、皮膚科医ではなく検査室が行う施設が増加傾向を示し、特に大学病院で顕著であった。検査室にとっては皮膚科領域特有の原因真菌を観察する機会が増え、良い現象と考える。

培養日数は皮膚科材料および内科系材料ともに経年的に短縮される傾向を示した。阿部⁸⁾の臨床材料から真菌分離に要した培養日数の成績では、皮膚科材料からのトリコフィトン属46株すべての分離に要した培養日数は14日、喀痰からのアスペルギルス属65株

すべての分離に6日を要しており、より発育の遅い真菌の存在を考慮すると、前者の材料では最低3~4週間、後者では最低7~10日間の培養は必須であり、今回最も高頻度の培養日数（皮膚科材料：≤1週間、内科系材料：2~3日）で培養を打ち切った場合、先の成績⁸⁾を参照すると、それぞれ約半数の症例の真菌を見落とすことになり培養日数については是非とも再考が必要と考える。

近年分離培養に最も多く使用されている培地はカンジダ属菌種の鑑別分離培地で、回答施設の81%が使用し、6.5%は本培地を分離培養に単独使用し、さらに42%の施設はこの培地上の集落色のみでおもなカンジダ属菌種の同定を行っていた。これらの培地の登場は臨床検査室にとって画期的でありその恩恵は多大であるが、サブロー培地などに比較して①集落形成が遅くなる場合がある、②糸状菌の分離にも用いざるをえない施設においては、糸状菌は菌種により成書と異なる集落色を呈する場合がある、および③市販培地の製造ロットによっては集落色の特徴が乏しい場合もあるなどを考慮し、必要に応じ糸状菌は他の真菌用培地に再接種する、また集落色が凝わしい酵母は他の同定法を併用するなどの配慮が必要と考える。

菌種同定については、酵母をすべて菌種まで同定する施設は21~31%と変化がなかったが、糸状菌は同定可能なものは菌種まで同定する施設が増加の傾向を示し、できるだけ菌種まで同定するという向上的姿勢が見られた。

真菌抗原検査の実施率は、カンジダ抗原検査は減少傾向を、クリプトコックスおよびアスペルギルスの抗原検査は増加傾向を示し、それぞれ60~73%とほぼ同じ割合で実施されるようになったが、自施設での検査はそれぞれ激減していた。カンジダ抗原の検査キットであるCAND-TEC（ラムコジャパン）は、問題を指摘されながらもいまだ多数の施設で使用されており、アスペルギルス抗原の検査キットは、より高感度の検査キットの使用にシフトしていた。(1→3)-β-D-グルカン検査は、1997（平成9）年に検査キットが2種類に増えたが、今回の調査では94%の施設で依頼され、自施設での実施率も約半数と血清学的検査の中で最も高かった。これらの血清学的検査に関する近年の変化は、検査法自体がより普遍的なものになりつつあることはもとより、アスペルギルス症の増加^{2,9)}など内臓真菌症の質的变化や検査キットの多様化とその検討成績の集積の結果であり、外注の増加は検査室運営を考慮したうえでの判断と推察された。

抗真菌薬の感受性検査の依頼がある施設のうち、

1994年次の調査ではできないとして検査を断っていた施設が68%, 自施設で行う, は6%であったが, 2010年次の調査ではそれぞれ6%および66%と逆転し, 大きな変化が見られた。3回の調査では, 酵母あるいは糸状菌のいずれに対する感受性検査が明確に質問しなかったが, ほとんどは酵母についての感受性検査であったと推測される。近年, 糸状菌のMIC判定にはMEC (Minimum Effective Concentration) の概念が導入される^{10, 11)} など検査法が整備されつつあり, また *Aspergillus fumigatus* のアゾール系薬耐性なども話題となっている^{12, 13)} ことから, 今後は酵母のみならず, 糸状菌に対する感受性検査の必要性も高まるものと予測される。

真菌検査実施時に困惑することや卒後教育に関する意見では, 分離された糸状菌の同定や意義づけに困惑する, は各年次で60%前後を占めたが, 良い参考書がない, 卒後教育が不十分であるとする意見は減少傾向を示し, 1994年当時と比較すると真菌関連の成書や各学術団体による講習会が増えたことに起因すると考えられた。しかしながら, 依然として講習会が必要であるとする意見は半数あり, そのテーマとしては, 検査手技および糸状菌の同定が必要とされていることが判明した。

以上, 真菌検査に関する3回のアンケート調査を集計した結果, 施設群別に特性を反映する成績はいくつかあったが, 大差を認めるものは少なかった。全体としては使用培地の変化や血清学的検査の増大など時代に応じた変遷が認められる一方で, 培養日数の不足などマイナスの変化も認められ早急に改善すべき点が明確になった。臨床真菌検査にも分子生物学的手法が用いられ, 最近では質量分析による同定も検討される時代となりつつあるが, 大多数の検査室の日常検査では, まだ暫くは従来の分離培養法や同定法による検査が主軸であろうと思われる。また, 分子生物学的手法による原因真菌の特定の評価のためにも従来法による原因真菌の分離と同定は不可欠である。したがって, 原因真菌の検出や同定のためのより精度が高く簡易な検査法が日常検査として定着するまでは, 分離・培養はもとより集菌など臨床材料の適正な検査前処理⁸⁾ や培養日数の延長など, 着手できることを直ちに実施し少しでも原因真菌の見逃しを減らす努力が肝要と考える。

謝 辞 過去3回のアンケート調査を快諾し, ご協

力いただいた各病院の検査室の皆様は心より御礼を申し上げます。

文 献

- 1) 阿部美知子. 2003. 真菌検査の受け入れ体制の現状. *Jpn. J. Med. Mycol.* 44: 197-201.
- 2) Kume, H., T. Yamazaki, T. Togano, et al. 2011. Epidemiology of visceral mycosis in autopsy cases in Japan: Comparison of the data from 1989, 1993, 1997, 2001, 2005 and 2007 in *Annual of Pathological Autopsy Cases in Japan*. *Med. Mycol. J.* 52: 117-127.
- 3) 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.
- 4) 毛利 忍. 1999. 深在性真菌症 ペニシリウム症. *臨床検査* 43: 206-209.
- 5) 木村由美子, 斎藤若菜, 川上健司, 他. 2004. 肺膿瘍, 多発性脳膿瘍をきたした *Scedosporium apiospermum* 感染症の1例. *日本臨床微生物学雑誌* 14: 9-13.
- 6) 奥野敬一郎, 吉田圭子, 黒須一見, 他. 2009. スエヒロタケによるアレルギー性真菌性副鼻腔炎. *耳鼻咽喉科・頭頸部外科* 81: 939-943.
- 7) 田代隆良. 2009. 肺アスペルギルス症の病態と呼吸器検体より分離される *Aspergillus* 属の臨床的意義. *日本臨床微生物学雑誌* 19: 67-75.
- 8) 阿部美知子, 小川善資, 田沼弘之, 他. 2009. 真菌症の微生物学的検査法の基礎的検討—検体処理と分離培養—. *Jpn. J. Med. Mycol.* 50: 235-242.
- 9) Ozen, M., N. O. Dündar. 2011. Invasive aspergillosis in children with hematological malignancies. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 9: 299-306.
- 10) Kurtz M. B., I. B. Heath, J. Marrinan etc. 1994. Morphological effect of lipopeptides against *Aspergillus fumigatus* correlate with activities against (1→3)- β -D-glucan synthase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38: 1480-1489.
- 11) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard—Second Edition. CLSI Document M38-A2, 28 (16). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- 12) van der Linden, J. W., E. Snelders, G. A. Kampinga, et al. 2011. Clinical implications of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*, the Netherlands, 2007-2009. *Emerg. Infect Dis.* 17: 1846-1854.
- 13) Burgel P. R., M. T. Baixench, M. Amsellem, et al. 2012. High prevalence of azole-resistance *Aspergillus fumigatus* in adults with cystic fibrosis exposed to itraconazole. *Antimicrob. Agents Chemother.* 56: 869-874.

Results of Questionnaire Surveys on the Status of Mycological Examination
in Clinical Laboratories in Japan
—Comparison of Questionnaire Survey Results from 1994, 2002 and 2010—

Michiko Abe,¹⁾ Yoshifumi Kurosaki,¹⁾ Zensuke Ogawa,¹⁾ Hikaru Kume²⁾

¹⁾ Department of Medical Laboratory Sciences, School of Allied Health Sciences, Kitasato University

²⁾ Department of Pathology, School of Medicine, Kitasato University

A questionnaire survey was conducted in order to assess the current state of mycological examination in clinical laboratories of Japan in August 2010, and the chronological changes were assessed by comparison with similar survey data obtained in 1994 and 2002. Answers were returned by 172, 167 and 220 clinical laboratories in 2010, 2002 and 1994, respectively. Laboratories in which the incubation period for clinical specimens was considered deficient (2 or 3 days' incubation for internal medicine specimens, or 7 days' incubation for dermatological specimens), accounted for 19–50% of respondents in the three surveys, with the rate being highest in 2010 (47% for dermatological specimens and 50% for internal medicine specimens). CHROMagar™ *Candida*, a differential and selective medium for *Candida* spp., was used for isolation of clinical specimens in 75% and 81% of clinical laboratories in 2002 and 2010, respectively. Detection of (1→3)- β -D-glucan in blood for serological diagnosis of visceral mycoses was performed at 87% and 94% of laboratories in 2002 and 2010, respectively. Susceptibility testing for antifungal agents was ordered by clinicians in 31%, 48% and 59% of laboratories in 1994, 2002 and 2010, respectively. Between 1994 and 2010, serological diagnostic testing, use of differential and selective media, and susceptibility testing for antifungal agents tended to be performed more frequently in clinical laboratories, while the incubation period has decreased.