

[原 著]

当院における過去5年間に分離されたカンジダの検査動向

大崎さゆり¹⁾・風間義顕¹⁾・菊池健太郎²⁾³⁾・下山陽也⁴⁾・茂木千代子¹⁾³⁾

黒崎文広³⁾・芦川鈴子³⁾・加藤良子¹⁾・村川裕二¹⁾²⁾・吉田 稔²⁾

¹⁾ 帝京大学医学部附属溝口病院中央検査部

²⁾ 帝京大学医学部附属溝口病院第四内科

³⁾ 帝京大学医学部附属溝口病院 Infection Control Team

⁴⁾ 帝京大学医学部附属溝口病院皮膚科

(平成29年3月7日受付, 平成29年6月2日受理)

カンジダ属酵母はヒトに常在するが, immunocompromised host においてはカンジダ症の原因微生物としての割合が高く死亡率も高いため, 真菌症の早期診断および適切な治療を行うことは重要である。今回, 2011年から2015年まで過去5年間の, 自施設におけるカンジダ属の分離数を調査し, 症例の臨床背景を検討した。

5年間で細菌検査室に提出された臨床検体5130件のうち1311件からカンジダ属が分離された。種別の分離頻度は *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* の順に高かった。*C. albicans* の分離数は経年的に著明に減少し, 特に呼吸器・泌尿器系検体からの減少が明らかであった。その時期は広域抗菌薬の antimicrobial use density が減少した時期と一致していたことから, 抗菌薬の適正使用により菌交代現象が抑制されたことが一因と考えられた。カンジダ血症20例の検討では, 高齢者, 免疫能の低下例や, 経静脈栄養例が多く, リスク因子を意識することが早期の診断と治療に役立つと考えられた。

Key words: *Candida albicans*, 菌交代現象, 経静脈栄養, カンジダ血症

序 文

カンジダ属酵母は自然環境中に広く生息し, 人の腸管などにも常在しているが, 感染症の原因となることも知られている¹⁾。特に免疫能が低下した患者や, カテーテル留置患者などに日和見感染を起こすことがあり, 敗血症に至った例の死亡率は高いため, 早期診断および適切な経験的治療を行うことは重要である。そのため, 自施設における原因菌種の分離頻度を確認し, 臨床背景を分析する必要がある。そこで今回, 過去5年間に分離されたカンジダ属について調査し,

臨床背景を検討したので報告する。

材料と方法

1. 材料

帝京大学医学部附属溝口病院(許可病床数400床)において, 2011年1月から2015年12月までの5年間に, 細菌検査室に提出された入院患者の全臨床検体を対象とし, 喀痰および気管内採痰を呼吸器系検体, 自然尿およびカテーテル尿を泌尿器系検体, 便および胆汁を消化器系検体, 動静脈血を血液検体に分類した。呼吸器系検体については溶解剤を用いて均質化した後に培養を行った。

2. 方法

a. カンジダ種の同定方法

カンジダ種の同定には「セロテック」ATG寒天生培地[®](株式会社セロテック)による集落色調肉眼同定と, 生化学的性状はRapID Yeast plus[®](株式会社アムコ)を使用し, 2015年9月からはCHROMagar

著者連絡先: (〒213-8507) 神奈川県川崎市高津区溝口3-8-3

帝京大学医学部附属溝口病院第四内科

菊池健太郎

TEL: 044-844-3333

FAX: 044-844-3546

E-mail: kentaro@med.teikyo-u.ac.jp

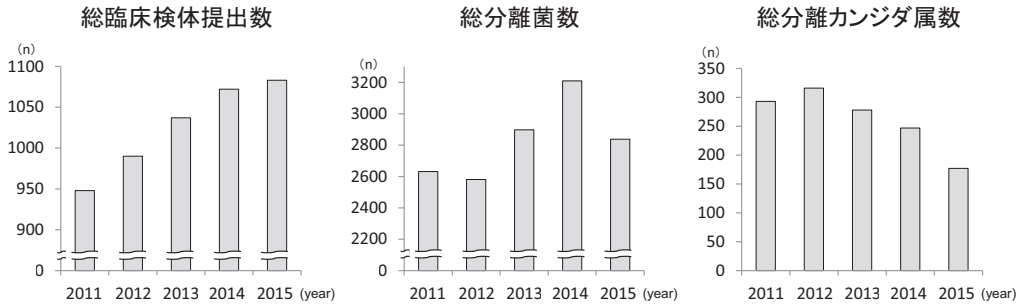


図1. 当院細菌検査室に提出された入院患者の総臨床検体数, 総分離菌数および総分離カンジダ属数の推移

Candida[®]寒天培地 (関東化学株式会社) による集落色調肉眼同定²⁾も併用した。

b. カンジダ種の集計方法

同一患者の重複臨床検体については, 同一カンジダ種を分離した場合は初回のカンジダ種のみ集計し, 異なるカンジダ種を分離した場合はそれぞれ集計した。

c. 主要抗菌薬の antimicrobial use density との相関

当院で採用されている meropenem (MEPM) 注射剤, imipenem/cilastatin (IPM/CS) 注射剤, ciprofloxacin (CPFX) 注射剤について1カ月単位で使用された量 (g), 規定1日投与量 (g) と延べ入院患者数から antimicrobial use density (AUD) を算出した。AUD とカンジダ種および methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) の分離数の相関をピアソンの積率相関係数で分析した。

d. 臨床情報の収集

消化器系検体からカンジダ属が分離された例は原疾患および絶食・中心静脈からの経静脈栄養の有無を調査し, 血液検体からカンジダ属が分離された例はそれらに加え年齢, 性, 呼吸器系・泌尿器系・消化器系検体からのカンジダ属分離歴の有無, 広域抗菌薬, ステロイド剤, H₂ブロッカーの投与歴および抗真菌薬投与歴と予後を調査した。

なお本検討は帝京大学倫理委員会の承認を得 (帝倫15-202号), 学内のガイドラインに沿って行った。

結 果

1. 総臨床検体数, 総分離菌数およびカンジダ属分離数の推移

5年間に細菌検査室に提出された臨床検体の総数は5130件で, 1年あたりの平均は1026件であった (図1)。2011年では948件, 2012年は990件から年々増加し, 2013年は1037件, 2014年は1072件, 2015年

では1083件であった。

細菌, 真菌を含めた総分離菌数は2011年で2632件, 2012年は2581件, 2013年は2898件, 2014年3210件と増加し, 2015年が2838件で, 5年間で計14159件, 1年あたりの平均は2832件であった。

総臨床検体数や総分離菌数の増加に反し, カンジダ属の分離数は2011年の293件, 2012年の316件から徐々に減少し, 2015年の177件まで減少していた。カンジダ属の総分離数は1311件であった。

2. カンジダ種の分離頻度, 分離数の推移

カンジダ種別の分離頻度は5年間を通し *Candida albicans* が最も高く, 次いで *C. glabrata*, *C. tropicalis* の順であった (図2)。*C. albicans* の分離数は2012年の212件をピークに明らかに減少傾向があり, 2015年では半数以下の103件であった。*C. glabrata* は2013年の55件よりやや減少しており, 2014年が49件, 2015年では42件であった。*C. tropicalis* は2011年から2014年までは30件前後であったのに対して, 2015年には16件に急に減少していた。この理由として2015年8月までは「セロテック」ATG寒天生培地[®]のみで集落の色調を肉眼で判断し, 判断が困難な場合のみ生化学的性状をRapID Yeast plus[®]で行っていたが, 9月より CHROMagar Candida[®]寒天培地による集落色調肉眼同定を併用した結果, *C. albicans* との肉眼的な区別が容易になったことがあげられた。

3. *C. albicans* の検体別分離数の推移

分離数の明らかな減少を認めた *C. albicans* について, 検体別に分離数の推移を調べた (図3)。呼吸器系検体からの分離数は2011年より165件, 179件, 148件, 108件, 78件で2012年より明らかに減少し, 泌尿器系検体でも31件, 25件, 29件, 21件, 10件と減少していた。消化器系検体では2013年までと比較し2014年16件, 2015年18件と増加がみられた。血液検体では2012年より2件ずつ分離され, 増減は認

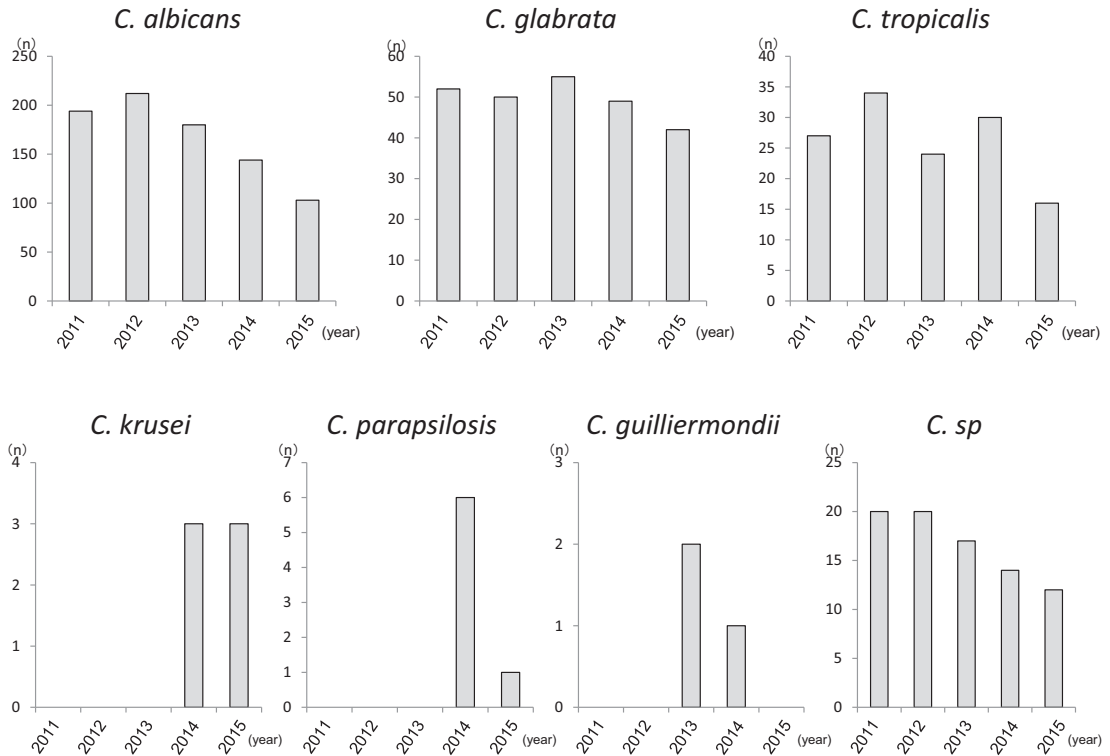


図2. カンジダ種の分離数の推移

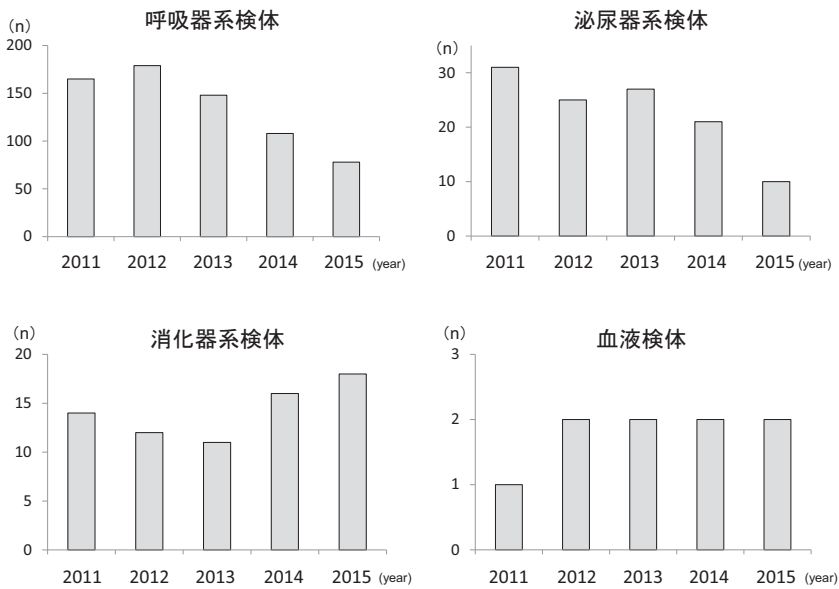


図3. 検出部位別 *Candida albicans* 分離数の推移。それぞれを喀痰および気管内採痰を含む呼吸器系検体，自然尿およびカテーテル尿を含む泌尿器系検体，便および胆汁を含む消化器系検体，動静脈血を含む血液検体とした。

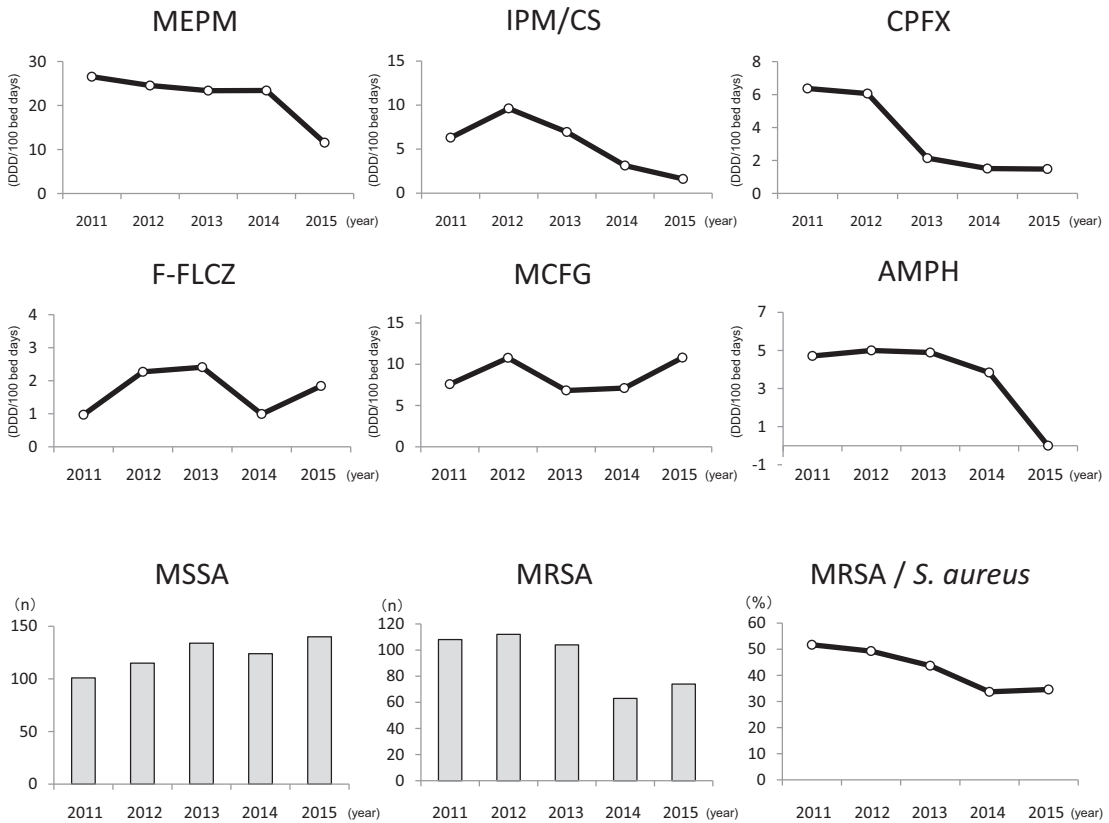


図4. 抗菌薬および抗真菌薬の antimicrobial use density (AUD) の推移 抗菌薬略号：MEPM；meropenem, IPM/CS；imipenem/cilastatin, CPFX；ciprofloxacin, F-FLCZ；fosfluconazole, MCFG；micafungin, AMPH；amphotericin. メチシリン感受性および耐性ブドウ球菌の分離数と割合の推移。MSSA：methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*, MRSA：methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*。

められなかった。

4. 呼吸器・泌尿器系検体からの *C. albicans* の分離数減少と広域抗菌薬の AUD との関係

カンジダ属は抗菌薬投与後に生じた菌交代現象の結果、優位に検出されることがある。*C. albicans* の分離数が呼吸器・泌尿器系検体において減少したのは、定着しているカンジダ属の分離減少による可能性があり、その原因として抗菌薬適正使用の推進により菌交代現象の頻度が減少した可能性を考え、同期間の抗菌薬の AUD の推移を調査した。

当院では2013年から広域抗菌薬の使用届出制を開始していた。図4に示すごとく、MEPMのAUDは2011年から2014年まで26.5, 24.5, 23.4, 23.2と徐々に減少し、2015年は11.5と著明に減少していた。IPM/CSは2012年から9.6, 6.9, 3.1, 1.6と減少、CPFAXも5年間で6.4, 6.1, 2.1, 1.5, 1.4と減少していた。

これらの変化は呼吸器・泌尿器系検体からの *C. albicans* の分離数減少に一致し、いずれも強い正の相関 ($r > 0.7$) を認めた。F-FLCZのAUDは2014年に0.99, MCFGは2013年に6.82まで減少したが、2015年にはいずれも増加し、AMPHは2015年に0まで急激に減少した。またMRSAが入院患者から検出された割合についても検討した。2011年51.7%, 2012年49.3%, 2013年43.7%, 2014年33.7%, 2015年34.6%と低下し、MEPMと軽度の ($r > 0.56$), IPM/CS ($r > 0.89$), CPFAX ($r > 0.79$) とは強い正の相関を認めた。

5. カンジダ属が血液から分離された20例の臨床的背景

次に、5年間に認められたすべてのカンジダ種によるカンジダ血症20例についてリスク因子³⁾を調査した。表に示すごとく平均年齢は79.7歳で、原疾患は

表. 5年間のカンジダ血症20例の臨床情報

No.	年齢	性	原疾患	経静脈 栄養	H ₂ ブロッカー	広域 抗菌薬	colonization からの分離	ステロ イド剤	カンジダ種	抗真 菌薬	β-D グルカン (pg/mL)	予後
1	75	F	胆嚢炎	○	○	○	○		<i>Candida albicans</i>	MCFG	—	生存
2	86	M	肺炎	○		○	○		<i>Candida albicans</i>	CPFG	191.8	生存
3	65	F	悪性 リンパ腫		○			○	<i>Candida albicans</i>	—	—	死亡
4	78	M	胆嚢炎	○	○	○			<i>Candida albicans</i>	FLCZ	—	死亡
5	88	F	肺炎	○	○	○	○		<i>Candida albicans</i>	—	163.4	死亡
6	87	M	慢性 腎不全	○			○		<i>Candida albicans</i>	—	—	死亡
7	87	F	食道癌	○	○	○			<i>Candida albicans</i>	MCFG	1439	死亡
8	79	M	多発筋炎	○	○		○	○	<i>Candida albicans</i>	—	—	死亡
9	74	M	膵臓癌	○		○			<i>Candida albicans</i>	—	—	死亡
10	87	F	イレウス						<i>Candida glabrata</i>	MCFG	4.3	生存
11	80	M	脳腫瘍	○					<i>Candida glabrata</i>	MCFG	3634	生存
12	86	M	肺炎	○	○		○		<i>Candida glabrata</i>	MCFG	—	死亡
13	72	F	肺炎	○	○	○	○		<i>Candida tropicalis</i>	MCFG	1950	生存
14	91	F	肺炎	○	○				<i>Candida tropicalis</i>	MCFG	17	生存
15	73	M	肺炎		○	○			<i>Candida tropicalis</i>	—	—	死亡
16	70	M	肝臓癌	○					<i>Candida parapsilosis</i>	MCFG	43.3	生存
17	51	M	膵臓癌	○	○		○		<i>Candida parapsilosis</i>	VRCZ	139.7	死亡
18	77	M	多発性 骨髄腫	○	○				<i>Candida guilliermondii</i>	MCFG	5660	生存
19	102	M	慢性 腎不全	○		○			<i>Candida guilliermondii</i>	MCFG	1462	死亡
20	85	M	肝硬変	○	○				<i>Candida sp</i>	MCFG	—	生存

抗菌薬略号：MCFG；micafungin, CPFG；caspofungin, FLCZ；fluconazole, VRCZ；voriconazole. β-Dグルカン基準値：<20 pg/mL。

慢性腎不全、悪性リンパ腫など免疫能の低下が考えられる例がほとんどであった。その他のリスク因子を調査した結果、経静脈栄養が17例(85%)、H₂ブロッカー投与歴は13例(65%)、広域抗菌薬投与歴9例(45%)、カンジダ属の分離歴8例(40%)、ステロイド剤投与歴は2例(10%)に認められた。

カンジダ種別には、*C. albicans* が最多で5年間で9件分離され、*C. glabrata* は2014年に1件、2015年に2件の計3件、*C. tropicalis* は2011～2013年に1件ず

つ、計3件分離された。*C. parapsilosis* は2014年に2件、*C. guilliermondii* は2013年に2件分離された。抗真菌薬はmicafunginが投与された例が多かったが、未治療の例も6例認められた。またβ-Dグルカン未測定の場合が9例認められた。死亡は20例中11例(55%)で、カンジダ種別にみると7例が*C. albicans* 分離例であった。未治療の6例は検体採取時に抗真菌薬の経験的投与が開始されなかった例であり、分離時にはすでに死亡していた。

考 察

日本病理剖検輯報を対象とした、剖検例における臓真菌症の真菌別頻度では、カンジダ症は1989年のfluconazoleの登場および、2003年、2007年の深在性真菌症に対する治療ガイドラインの発表などにより、2009年まで減少傾向にあると報告されている⁴⁾。しかし真菌による敗血症の多くを占めることから、症例数は少ないものの自施設における原因菌種の分離頻度を確認し、臨床背景を分析することは重要と考え検討した。

帝京大学医学部附属溝口病院における細菌検査室に提出された総臨床検体数、総分離菌数は5年間で増加していた。その背景として、閉鎖されていた病棟の再開や、2014年に消化器内科が新設されたことなどの影響があげられた。それに反してカンジダ属の分離数は5年間で減少していた。カンジダ種の分離頻度は*C. albicans*、*C. glabrata*、*C. tropicalis*の順に高く、既報と同様であった⁵⁾⁶⁾。分離数はいずれも減少傾向であり、特に呼吸器・泌尿器系からの*C. albicans*の分離が減少していた。

*C. albicans*はヒトに親和性が高く、消化管、上気道などの粘膜や、全身の皮膚の表面に常在菌として定着している。バイオフィルムを形成することが知られており、汚染された輸液や医療従事者の手指を介して、中心静脈カテーテル留置患者に外因性要因として敗血症を生じることがあるが⁷⁾、抗菌薬投与後に生じた菌交代現象の結果、喀痰などから検出されることも以前から指摘されている⁸⁾。

抗菌薬の漫然とした投与は、耐性菌の出現を助長することは明らかであり⁹⁾、当院ではinfection control teamの活動の1つとして、従来からの手指衛生の遵守に加え、2013年から広域抗菌薬の使用届出制を開始した。それ以降カルバペネム、ニューキノロン系のAUDは減少傾向を認めた。今回の検討で、*C. albicans*に代表されるカンジダ属の分離数も高い相関性を持って経年的に減少していることが明らかになった。またMRSAの検出数および検出率も高い相関性を持って経年的に減少していた。抗菌薬の適正使用により、破壊された常在菌叢が回復することで、MRSAの分離割合が低下することが報告されているが¹⁰⁾¹¹⁾、本検討においても菌交代現象が抑制されたことが、呼吸器・泌尿器系からの*C. albicans*の分離が減少した一因と考えた。抗真菌薬のAUDの変動については、カンジダ属の分離数減少により処方数が減少したこと、AMPHが真菌症の予防的治療として、また標的治療の第一選択薬として選択されなくなったことなどが理

由としてあげられた。

一方、検体数は少ないものの消化器系の検体では*C. albicans*の分離数が増加していた。腸内細菌叢は抗菌薬の使用後に回復へ向かうものの、完全には元に戻らないことが報告されており¹²⁾、抗菌薬の適正使用だけでは効果が及ばないこと、また原疾患に一定数の悪性腫瘍患者が存在していたこと、2014年の消化器内科の新設により提出された臨床検体数が増加したこと、疾患として炎症性腸疾患などが増加し、絶食および中心静脈からの経静脈栄養の状態に加え、ステロイド剤投与により腸管内でカンジダがovergrowthしたことなどが考えられた。カンジダ血症の内因性要因の多くは腸管由来であり¹³⁾、絶食による消化管粘膜の萎縮¹⁴⁾と宿主免疫能の低下などによるカンジダのovergrowthが主に関与すると考えられていることから、かかる例はカンジダ血症発症のリスクが高いと考えられた。

そこで実際のカンジダ血症例において、リスク因子がどれだけ存在していたかを調べるため、すべてのカンジダ属が分離されたカンジダ血症患者20例について臨床背景を調べた。その結果、年齢は高齢で原疾患に悪性腫瘍など免疫能の低下が考えられる例がほとんどであった。また絶食および中心静脈からの経静脈栄養が施行されている例やH₂ブロッカーが投与されている例が多く、次いで抗菌薬投与歴やカンジダ属の分離歴がある例が多かった。

抗真菌薬はmicafunginが投与されている例が多かったが、当院のカンジダ種の分離頻度は*C. albicans*、*C. glabrata*、*C. tropicalis*の順に高く、過去2年間のmicafunginの感受性率は100%であったので、それらをカバーする抗真菌薬としては妥当と考えられた。

本文中には記載していないが、当院では血液培養で分離される頻度はCoagulase Negative *Staphylococcus*、腸内細菌、MRSAを含む*Staphylococcus aureus*が上位を占めて推移し、カンジダ属は10位前後に位置している。本検討で得られたカンジダ血症の症例数は20例と少ないことから、臨床背景の分析には限界があるが、少なくともカンジダ血症のリスク因子を意識することは、早期の診断に加え抗真菌薬の経験的投与の開始に役立ち、死亡者数の減少につなげることができると考えられた。またリスク因子を減らすための努力も必要であり、現行の抗菌薬適正使用をさらに進めて菌交代現象を減らしていくことに加え、消化管粘膜を健常に保つため可能な限り経口摂取を行うことなどでカンジダのovergrowthを減少させ、内因性要因

による感染を抑制することが重要と考えた。さらに外因性要因による感染を防ぐために、医療従事者の手指衛生を徹底することに加え、経静脈栄養が施行されている例で、敗血症が疑われる場合には、カテーテルを留置せず抜去できるのか検討することが大切である。医療従事者における知識の共有とそのアップデートのために、検査側からもアピールやレクチャーを行う機会を設定していくこと、そしてカンジダ属が分離された際は、colonization にか起炎菌かを臨床医とディスカッションし、 β -D グルカンや抗原検索の推奨を頻繁にしていけることが大切と考えた。

2015年9月にカンジダ種の培養同定方法が変更になる以前は、*C. albicans* を *C. tropicalis* と誤同定していた可能性があることも本研究の limitation である。カンジダ種別の分離頻度や *C. albicans* の年間分離数に影響は少ないと考えているが、*C. tropicalis* の年間分離数はさらに経過を見て判断するべきと考えている。

本論文の要旨は第28回日本臨床微生物学会総会・学術集会(2017年1月20-22日、長崎市)において発表した。

謝辞: 御助言を賜りました帝京大学医真菌研究センター、横村浩一先生に深謝します。

利益相反: 申告すべき利益相反なし。

文 献

- 1) 山口英世. 2012. 病原カンジダ菌種の多様化とその医真菌学的インパクト. *モダンメディア* 58: 261-277.
- 2) 横村浩一. 2008. 主要病原 *Candida* 属分離鑑別のための呈色培地: クロモアガー TM カンジダ上における各種糸状菌の集落性状. *深在性真菌症* 4: 33-35.
- 3) Pfaller, MA, DJ Diekema. 2007. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* 20: 133-163.
- 4) Suzuki, Y, H Kume, T Togano, et al. 2013. Epidemiology of visceral mycoses in autopsy cases in Japan: the data from 1989 to 2009 in the Annual of Pathological Autopsy Cases in Japan. *Med Mycol* 51: 522-526.
- 5) 内田 幹, 深澤裕美, 遠藤 武, 他. 2006. 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. *日臨微誌* 16: 74-80.
- 6) 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動向. *感染症誌* 75: 863-869.
- 7) 門脇雅子, 下野信行. 2014. カンジダカテーテル感染症. *Jpn J Antibiot* 67: 1-14.
- 8) 美甘義夫. 1952. 抗生物質とモリニア. *日本臨床* 10: 105-116.
- 9) 紺野昌俊. 2004. 抗菌薬の開発と薬剤耐性菌の歴史. *日臨微誌* 14: 1-23.
- 10) 細川浩輝, 三星 知, 細川泰香, 他. 2016. 新潟県 5 施設における MRSA 分離率に影響する因子の検討. *日環境感染症誌* 31: 36-40.
- 11) 久保裕子, 酒井義朗, 有馬千代子. 2008. 抗菌薬の適正使用に関する当院 ICT の取り組み 指定抗菌薬使用届出制導入後における MRSA 陽性患者数の推移も含めて. *日環境感染症誌* 23: 201-205.
- 12) 西尾壽乗. 2014. 小児の抗菌薬使用と腸内常在菌叢. *家畜感染症学会誌* 3: 117-121.
- 13) 田代将人, 村上日奈子, 吉澤定子, 他. 2010. 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. *感染症誌* 84: 187-192.
- 14) 安田 篤, 土師誠二, 安田健司, 他. 2001. 栄養投与経路の違いにおける腸管免疫防御機構に及ぼす影響について: bacterial translocation との関連について. *静脈経腸栄養* 16: 83-90.

An Epidemiological Study of the Isolation of *Candida* Species during the Five Year Periods from 2011 to 2015 in Teikyo University Mizonokuchi Hospital

Sayuri Osaki¹⁾, Yoshiaki Kazama¹⁾, Kentaro Kikuchi^{2) 3)}, Harunari Shimoyama⁴⁾, Chiyoko Motegi^{1) 3)}, Fumihiko Kurosaki³⁾, Suzuko Ashikawa³⁾, Ryoko Kato¹⁾, Yuji Murakawa^{1) 2)}, Minoru Yoshida²⁾

¹⁾Central Laboratory, Teikyo University Mizonokuchi Hospital

²⁾The Fourth Department of Internal Medicine, Teikyo University Mizonokuchi Hospital

³⁾Infection Control Team, Teikyo University Mizonokuchi Hospital

⁴⁾Department of Dermatology, Teikyo University Mizonokuchi Hospital

Fungi are one of the indigenous microorganisms but sometimes cause severe sepsis, therefore early diagnosis and treatment of mycosis are important. In this study, we investigated the isolation of *Candida* species during the five year periods in Teikyo University Mizonokuchi Hospital. Isolation of *Candida albicans* was gradually diminished in specimens from the respiratory and urinary system. In keeping with that period, antimicrobial use density of broad-spectrum antibiotics was decreased. In the examination of 20 candidemia patients, we found that the most of all were older, had immune dysfunction and received intravenous hyperalimentation. We thought that giving care of the risk factors of candidemia was helpful for early diagnosis and treatment.