

[短 報]

血液培養から検出されたカンジダ属真菌における最小発育阻止濃度の経時的变化
—10年間の単施設研究—

日馬由貴^{1) 2) 4)}・松尾裕央^{1) 2) 4)}・砂田淳子³⁾・山本 剛^{2) 4)}・忽那賢志^{1) 2) 4)}

¹⁾ 大阪大学医学部附属病院感染症内科

²⁾ 大阪大学医学部附属病院感染制御部

³⁾ 大阪大学医学部附属病院臨床検査部

⁴⁾ 大阪大学感染症総合教育研究拠点 (CiDER)

(令和6年8月16日受付, 令和6年12月23日受理)

国内単施設で、10年間で血流から分離されたカンジダ属真菌におけるMIC変化を観察した。2014～2023年で血液培養から分離されたカンジダ属真菌を対象に、カンジダ属真菌分離率、菌種、*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* に対する fluconazole, voriconazole, micafungin, caspofungin におけるMICの経年変化を観察した。経年的なカンジダ属真菌分離率は有意に増加し、血液培養提出人数とカンジダ属真菌分離率に有意な相関を認めた。検出された菌種の割合に変化はなかった。*C. parapsilosis* の fluconazole, voriconazole のMICは経年的に上昇していたが、ブレイクポイントで感性の範囲内であった。今後、多施設でMICをサーベイランスしていく必要がある。

Key words: カンジダ, カンジダ菌血症, 薬剤耐性, 薬剤耐性真菌

序 文

侵襲性真菌感染症の死亡率は高く、社会の高齢化による重症患者の増加などを背景として増加傾向である¹⁾。世界で毎年約150万人が死亡しているとされており、その数は結核やマラリアに匹敵する²⁾。侵襲性真菌感染症の中で原因菌として最も頻度の高いカンジダ属は、近年、獲得耐性、自然耐性両方の面から耐性化の傾向がみられている³⁾。米国のCenters for Disease Control and Preventionは薬剤耐性カンジダ属真菌を深刻な薬剤耐性とみなして監視しており⁴⁾、COVID-19のパンデミックで患者数が26%増加したことを報告した⁵⁾。日本においては2010年から2019年において院内感染対策サーベイランス (Japan Nosocomial Infections Surveillance: JANIS) のデータが解析され、*Candida albicans* 菌血症、*Candida parapsilosis* 菌血症、*Candida tropicalis* 菌血症発生率の減少、*C. tropicalis* の fluconazole 耐性 (17.8%) や、*C. glabrata* の micafungin 耐性 (7.8%) の多さなどが報告されたが、この期間で耐性の増加はみられなかった⁶⁾。しかし、侵襲性カンジダ症を起こすカンジダ属真菌の種類や耐性率は国⁷⁾や地域^{8) 9)}によって異なり、国、地域、施設、それぞれのレベルのサーベイランスが必要である。本研究では、日本の大学病院単施設において、10年間で血流から分離されたカンジダ属におけるMICの変化を観察し、薬剤感受性検査の

結果を検討した。

材料と方法

研究デザイン

病院の微生物検査データを利用した後方視的な観察研究である。

同定と感受性測定

2014年1月から2023年12月までの期間で血液培養から分離されたカンジダ属を対象とした。同一患者から同じ年に複数回カンジダ属が検出されていた場合、初回に検出されたもののみを対象とした。真菌の同定はMatrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (ブルカージャパン) を用いて、薬剤感受性検査はASTY (極東製薬工業) を用いて行われた。ASTYの添付文書に則り、薬剤感受性の判定はmicafungin, caspofunginについては培養後24時間、その他の薬剤については培養48時間後に行われた。内部精度管理には*Candida parapsilosis* ATCC 22019株を用いた。

評価項目

評価項目は、年間の血液培養提出人数におけるカンジダ属真菌分離率の経年変化、検出された菌種の経年変化、全カンジダ属真菌および、検出数の多かった上位3菌種である*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* に対する fluconazole, voriconazole, micafungin, caspofungin のMICの経年変化を比較検討した。ただし、caspofunginについては2017年10月から院内で薬剤感受性検査が開始されたため、この月以降を検討の対象とした。

統計解析

経時的变化に対する有意性の検定はCochrane-Armitage

著者連絡先: (〒565-0871) 大阪府吹田市山田丘2-2
大阪大学医学部附属病院感染症内科
日馬由貴
TEL: 06-6879-5093
FAX: 06-6879-5094
E-mail: kusama1981@hp-infect.med.osaka-u.ac.jp

表 1. 血液培養から分離されたカンジダ属菌の数, 割合の変化

年	血液培養 提出人数	<i>Candida</i> spp. 検出率 (%)	<i>Candida</i> <i>albicans</i> (%)	<i>Candida</i> <i>parapsilosis</i> (%)	<i>Candida</i> <i>glabrata</i> (%)	Other <i>Candida</i> spp. (%)
2014	1516	10.6	5 (31.3)	6 (37.5)	1 (6.3)	4 (25.0)
2015	1600	8.1	4 (30.8)	5 (38.5)	2 (15.4)	2 (15.4)
2016	1688	3.6	3 (50.0)	1 (16.7)	1 (16.7)	1 (16.7)
2017	1777	7.3	6 (46.2)	2 (15.4)	2 (15.4)	3 (23.1)
2018	2000	9.5	8 (42.1)	4 (21.1)	4 (21.1)	3 (15.8)
2019	2005	9.0	7 (38.9)	6 (33.3)	1 (5.6)	4 (22.2)
2020	1853	15.1	11 (39.3)	9 (32.1)	5 (17.9)	3 (10.7)
2021	2087	17.2	15 (41.7)	10 (27.8)	7 (19.4)	4 (11.1)
2022	2039	17.2	17 (48.6)	8 (22.9)	7 (20.0)	3 (8.6)
2023	2221	16.7	13 (35.1)	10 (27.0)	8 (21.6)	6 (16.2)

Candida spp. 検出率は, 全血液培養提出人数に対して *Candida* spp. が検出された割合を示す。

検定で行った。また, 2つの変数における相関は Spearman の順位相関係数を用いて確認した。MIC の変化は MIC を目的変数, 年を説明変数とした一次回帰分析を行い, その傾きによって評価した。統計ソフトは R version 4.2.2 を用い, $P < 0.05$ を有意とした。

倫理

患者データを使用していないため省略した。

結 果

血液培養から分離されたカンジダ属真菌の数, 割合の変化を表 1 および図 1 に示す。2014 年から 2023 年までの血液培養提出人数は, 1516~2221 で推移し, 漸増していた。カンジダ属菌は最も少ない年で 6 人 (2016 年), 最も多い年で 37 人 (2023 年) から分離され, 全血液培養提出人数に対する分離率は最も低い年で 3.6% (2016 年), 最も高い年で 17.2% (2021 年および 2023 年) であった (図 1)。2014 年から 2023 年にかけて分離率に有意な増加傾向を認めた ($P < 0.01$)。分離されているカンジダ属真菌の種類は年によって異なっていたが, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* の割合の推移に有意差はなかった。また, 血液培養提出人数とカンジダ属菌の分離率には有意な相関を認めた (Spearman の順位相関係数 0.669 (95% 信頼区間 0.067—0.914, $P = 0.035$))。

検出されたカンジダ属真菌における MIC の経年的変化を属別に検討すると, *C. albicans* (図 2A), *C. glabrata* (図 2B) では fluconazole, voriconazole, micafungin, caspofungin に対する MIC の経年的変化はみられなかった。一方, *C. parapsilosis* (図 2C) では fluconazole ($P = 0.01$), voriconazole ($P < 0.01$) の MIC が経年的に上昇している傾向が観察された。micafungin と caspofungin には有意な経年的変化はみられなかった。

考 察

今回, 単施設で血液培養から検出されたカンジダ属真菌について後方視的に検討したところ, カンジダ血症が経時的に増加しており, 各カンジダ属真菌の検出割合には変化がなかったことがわかった。また, カンジダ属真菌における薬剤感受性の経年的な変化を観察し, *C. parapsilosis* の fluconazole と voriconazole に対する MIC が上昇傾向であることを

発見した。

まず, 当院におけるカンジダ血症は, 分離された人数, 分離率とも顕著に増加していた。2014 年のシステマティックレビューによると, 侵襲性カンジダ症の発生頻度は 2003 年まで世界で一貫して増加傾向であり, その後, 米国, カナダ, オーストラリア, 欧州などでは緩やかな減少傾向であると報告されている¹⁰⁾。しかし, 上記以外の地域では増加傾向が持続しているようである¹⁰⁾。この増加の背景として, 高齢者の増加, 免疫不全患者の増加, 集中治療を受けている患者の増加などが推測されているが¹¹⁾, いずれも当院で 2020 年以降に観察された短期間での増加を説明するものではない。当院では調査期間中に血液培養提出人数が増加しており, カンジダ分離率と血液培養提出人数との間に統計学的に有意な相関が認められた。カンジダ分離率の増加には多くの要因が考えられるため, 単一の理由と判断することはできないが, 血液培養採取が増加し, いままで未診断だったカンジダ血症を同定できるようになったことが, 当院でカンジダ分離率が増加した要因のひとつである可能性が考えられた。また, 2020 年以降は, COVID-19 のパンデミックによる集中治療が増加したことも, それ以外の要因として考えられる¹²⁾。一方, 世界各地で *C. albicans* 以外のカンジダ属真菌 (non-*albicans Candida*: NAC) の検出頻度が相対的に増加していることが報告されているが^{13)~15)}, 今回の検討ではその傾向はみられなかった。これは, *Candida krusei* と *Candida guilliermondii* 以外のカンジダ属真菌には分離割合の変化はみられなかったとする JANIS データからの報告と一致している⁶⁾。同報告では *C. albicans* と *C. parapsilosis* の検出が減少していたとされているが, 当院の動向では確認できなかった。

次に, *C. parapsilosis* の fluconazole と voriconazole の MIC は, この 10 年で上昇傾向であった。この理由は明らかではないが, 世界的に *C. parapsilosis* のアゾール耐性が増加しているという報告があり, 動向は注目に値する¹⁶⁾。今回, 薬剤感受性試験に用いた ASTY は最新の Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) が示す測定法に準拠したものではないものの, CLSI の定義している *C. parapsilosis* における fluconazole と voriconazole のブレイクポイントはそれぞれ 2 $\mu\text{g/mL}$ 以下, 0.12 $\mu\text{g/mL}$ 以下であり¹⁷⁾, MIC の上昇が感性の範囲内であったことに注意が必要である。

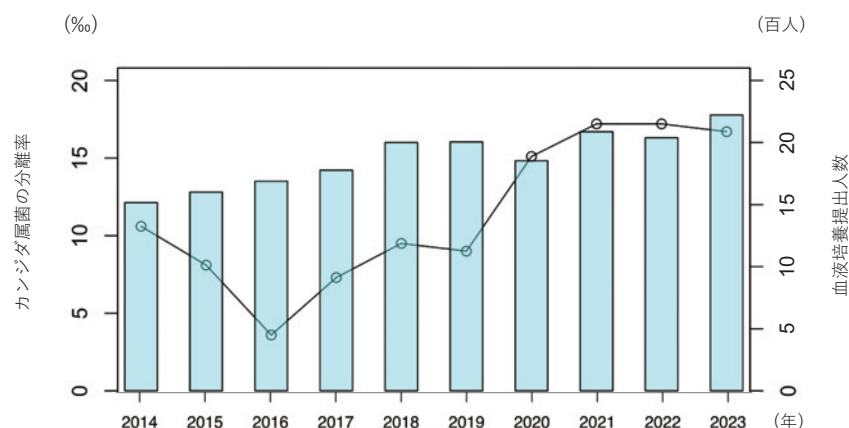
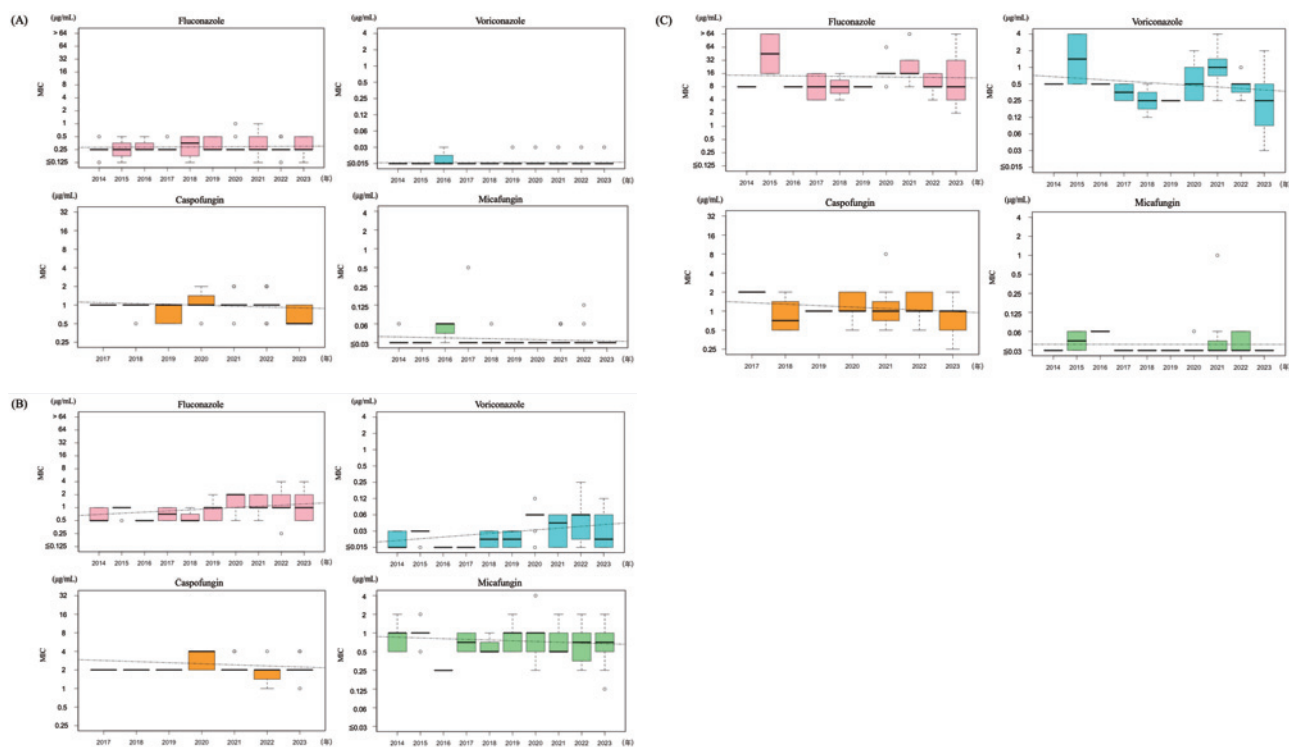


図1. 経時的な血液培養提出人数とカンジダ分離率の変化

棒グラフは血液培養提出人数（右軸）、折れ線グラフはカンジダ分離率（左軸）を表す。血液培養提出人数は経時的に増加し、カンジダ分離率は2020年から増加した。血液培養提出人数とカンジダ分離率の間には有意な相関が認められた（Spearmanの順位相関係数 0.669（95%信頼区間 0.067-0.914, $P=0.035$ ））。

図2. *Candida* spp. の経年的な MIC 分布(A) *Candida albicans*

N=5 (2014), 4 (2015), 3 (2016), 6 (2017), 8 (2018), 7 (2019), 11 (2020), 15 (2021), 17 (2022), 13 (2023)

MIC を目的変数、年を説明変数とした回帰分析の傾きは fluconazole : 0.01 (95% 信頼区間 $-0.04-0.06$, $P=0.68$), voriconazole : 0.00 (95% 信頼区間 $-0.02-0.02$, $P=0.75$), caspofungin : -0.04 (95% 信頼区間 $-0.12-0.04$, $P=0.38$), micafungin : -0.03 (95% 信頼区間 $-0.07-0.02$, $P=0.22$) であった。

(B) *Candida parapsilosis*

N=6 (2014), 5 (2015), 1 (2016), 2 (2017), 4 (2018), 6 (2019), 9 (2020), 10 (2021), 8 (2022), 10 (2023)

MIC を目的変数、年を説明変数とした回帰分析の傾きは fluconazole : 0.10 (95% 信頼区間 $0.02-0.18$, $P=0.01$), voriconazole : 0.12 (95% 信頼区間 $0.04-0.20$, $P<0.01$), caspofungin : 0.01 (95% 信頼区間 $-0.20-0.11$, $P=0.55$), micafungin : -0.04 (95% 信頼区間 $-0.12-0.04$, $P=0.30$) であった。

(C) *Candida glabrata*

N=1 (2014), 2 (2015), 1 (2016), 2 (2017), 4 (2018), 1 (2019), 5 (2020), 7 (2021), 7 (2022), 8 (2023)

MIC を目的変数、年を説明変数とした回帰分析の傾きは fluconazole : -0.02 (95% 信頼区間 $-0.21-0.17$, $P=0.81$), voriconazole : -0.10 (95% 信頼区間 $-0.29-0.09$, $P=0.31$), caspofungin : -0.06 (95% 信頼区間 $-0.26-0.14$, $P=0.54$), micafungin : 0.00 (95% 信頼区間 $-0.12-0.11$, $P=0.99$) であった。

JANIS データからの報告で *C. parapsilosis* のアゾール耐性の増加はみられなかったが、JANIS データでは MIC のデータまで報告されていない。そのため、この現象は全国的な規模で起こっている可能性も考えられ、これを観察するためには多施設で MIC の変動を観察する必要がある。また、非感性株の増加に素早く対応できるよう、J-SIPHE のようなプラットフォームで全国のカンジダ属の薬剤耐性状況を把握できる仕組みも求められる。

本研究にはいくつかの限界がある。まず、患者情報を扱っていないため、患者の重症度の変化や MIC 上昇による患者への影響などは検討できていない。ただし、MIC の変化はブレイクポイントで感性と判断される範囲内の変化であり、患者へ大きな影響はないと考えられる。さらに、*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* 以外の種は検出数が少なく、検討できなかった。この点は、今後多施設研究を行うことで検討可能なカンジダ属真菌の数を増やす必要がある。また、今回は単施設での検討を行ったが、研究で得られた結果が本施設だけのものなのか、地域的なものなのか、全国的なものなのかは今後、検証する必要があるだろう。さらに、今回のカンジダ属菌の薬剤感受性試験は ASTY を用いて行われたが、現行の CLSI 法と MIC が乖離する可能性があるとして 2023 年に臨床微生物学会から注意喚起が行われている¹⁸⁾。今後、地域や全国での多施設研究を行う必要があるが、多施設研究を行うためには施設間での測定方法の統一、精度管理の徹底を行う必要がある。

結論として、単施設研究の結果、カンジダ血症は経年的に増加していたが、各カンジダ属真菌の検出割合には変化がなかった。また、カンジダ属真菌の MIC の経時的変化を観察したところ、*C. parapsilosis* の fluconazole と voriconazole に対する MIC が上昇傾向であった。この MIC の上昇は感性の範囲内であり、今後、多施設で MIC の変動を観察する必要がある。また、アゾール非感性 *C. parapsilosis* の増加に素早く対応できる全国規模のサーベイランス・プラットフォームが求められる。

利益相反：申告すべき利益相反なし

文 献

- 1) Battistolo, J., E. Glampedakis, L. Damonti, et al. 2021. Increasing morbidity and mortality of candidemia over one decade in a Swiss university hospital. *Mycoses* 64: 1512-1520.
- 2) Brown, G.D., D.W. Denning, N.A. Gow, et al. 2012. Hidden killers: human fungal infections. *Sci Transl Med* 4: 165rv13.
- 3) Lamoth, F, S.R. Lockhart, E.L. Berkow, et al. 2018. Changes in the epidemiological landscape of invasive candidiasis. *J Antimicrob Chemother* 73: i4-i13.
- 4) Antibiotic resistance threats in the united states 2019. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf> 2024 年 3 月 26 日現在.
- 5) COVID-19 U.S. Impact on antimicrobial resistance. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/covid19-impact-report-508.pdf> 2024 年 3 月 26 日現在.
- 6) Kajihara, T., K. Yahara, M. Nagi, et al. 2022. Distribution, trends, and antifungal susceptibility of *Candida* species causing candidemia in Japan, 2010-2019: A retrospective observational study based on national surveillance data. *Med Mycol* 60: myac071.
- 7) Pfaller, M.A., D.J. Diekema, J.D. Turnidge, et al. 2019. Twenty years of the SENTRY antifungal surveillance program: Results for *Candida* species from 1997-2016. *Open Forum Infect Dis* 6: S79-S94.
- 8) Bilal, H., M. Shafiq, B. Hou, et al. 2022. Distribution and antifungal susceptibility pattern of *Candida* species from mainland China: A systematic analysis. *Virulence* 13: 1573-1589.
- 9) Verma, R., D. Pradhan, Z. Hasan, et al. 2021. A systematic review on distribution and antifungal resistance pattern of *Candida* species in the Indian population. *Med Mycol* 59: 1145-1165.
- 10) Quindós, G. 2014. Epidemiology of candidaemia and invasive candidiasis. A changing face. *Rev Iberoam Micol* 31: 42-48.
- 11) Kauffman, C.A. 2001. Fungal infections in older adults. *Clin Infect Dis* 33: 550-555.
- 12) Mulet Bayona, J.V., N. Tormo Palop, C. Salvador García, et al. 2021. Impact of the SARS-CoV-2 pandemic in candidaemia, invasive aspergillosis and antifungal consumption in a tertiary hospital. *J Fungi (Basel)* 7: 440.
- 13) Aydin, S., O. Derin, M. Sahin, et al. 2022. Epidemiology of nosocomial candidemia, mortality, and antifungal resistance: 7-year experience in Turkey. *Jpn J Infect Dis* 75: 597-603.
- 14) Abdel-Hamid, R.M., H.A. El-Mahallawy, N.E. Abdelfattah, et al. 2023. The impact of increasing non-albicans *Candida* trends on diagnostics in immunocompromised patients. *Braz J Microbiol* 54: 2879-2892.
- 15) Taei, M., M. Chadeganipour, R. Mohammadi. 2019. An alarming rise of non-albicans *Candida* species and uncommon yeasts in the clinical samples; a combination of various molecular techniques for identification of etiologic agents. *BMC Res Notes* 12: 779.
- 16) Daneshnia, F., J.N. de Almeida Júnior, M. Ilkit, et al. 2023. Worldwide emergence of fluconazole-resistant *Candida parapsilosis*: current framework and future research roadmap. *Lancet Microbe* 4: e470-e480.
- 17) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2022. Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts 3rd Edition (M27M44S), CLSI, Wayne PA.
- 18) 日本臨床微生物学会. 酵母の薬剤感受性測定法について. https://www.jsbm.org/modules/guideline/index.php?content_id=38 2024 年 11 月 12 日現在.

Ten-year temporal trends in the minimum inhibitory concentration of *Candida* species isolated from blood cultures

Yoshiki Kusama^{1) 2) 4)}, Hiroo Matsuo^{1) 2) 4)}, Atsuko Sunada³⁾, Go Yamamoto^{2) 4)}, Satoshi Kutsuna^{1) 2) 4)}

¹⁾ Department of Infectious Disease, University of Osaka Hospital

²⁾ Department of Infection Control and Prevention, University of Osaka Hospital

³⁾ Department of Clinical Laboratory, University of Osaka Hospital

⁴⁾ Center for Infectious Disease Education and Research (CiDER)

Candida species are the most frequently isolated fungi in invasive fungal infections, and their antifungal resistance has recently increased. Here, we observed trends in the minimum inhibitory concentrations (MICs) of *Candida* spp. isolated from the bloodstream for 10 years at a university hospital in Japan. This study used *Candida* spp. isolated from blood cultures collected between January 2014 and December 2023. We evaluated the annual changes in the isolation rate of *Candida* spp. from the number of patients submitted blood culture, detected species, and MICs of fluconazole, voriconazole, micafungin, and caspofungin against *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, and *Candida glabrata*. The isolation rate of *Candida* spp. from blood cultures significantly increased during the study period ($P < 0.01$). As the number of blood cultures increases, a significant correlation was observed between the number of patients submitted blood culture and the isolation rate of *Candida* spp. (Spearman's rank correlation coefficient 0.669, $P = 0.035$). No significant changes were observed in the proportions of *C. albicans*, *C. parapsilosis*, and *C. glabrata*. The MICs for fluconazole ($P = 0.01$) and voriconazole ($P < 0.01$) against *C. parapsilosis* significantly increased during the study period. The increase in MICs occurred within the "susceptible" breakpoint range and may have been unnoticed in susceptibility surveillance. This suggests that observing MIC fluctuations in *Candida* spp. across multiple facilities is necessary.