

HAART を行うことによって結核合併 HIV 感染者の予後がどの程度改善しているのか今後も検討を行いたい。

参考文献

- 1) 永井英明, 赤川志のぶ, 川辺芳子, 木村哲: 結核患者における抗HIV抗体陽性率の検討. 厚生科学研究費補助金エイズ対策研究事業. HIV感染者に関する臨床研究. 平成10年度研究報告書 124-128 pp, 1999
- 2) Tuberculosis and human immunodeficiency virus infection: recommendations of the Advisory Committee for the Elimination of Tuberculosis(ACET).MMWR 1989;38:236-8, 243-50.
- 3) Katz DJ, Hall WN, Keon NB, Crane LR.: HIV testing in patients with tuberculosis: physician response to national recommendations. Am J Respir Crit Care Med 1993;147:1283-6.
- 4) Asch SM, London AS, Barnes PF, Gelberg L.: Testing for human immunodeficiency virus infection among tuberculosis patients in Los Angeles. Am J Respir Crit Care Med 1997;155:378-81.
- 5) Whalen C, Horsburgh CR, Hom D, Lahart C, Simberkoff M, Ellner J.: Accelerated course of human immunodeficiency virus infection after tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 1995;151:129-35.
- 6) Whalen C, Okwera A, Johnson J, et al.: Predictors of survival in human immunodeficiency virus-infected patients with pulmonary tuberculosis: the Makerere University -Case Western Reserve University Research Collaboration. Am J Respir Crit Care Med 1996;153:1997-81.
- 7) Whalen C, Horsburgh CR Jr, Hom D, Lahart C, Simberkoff M, Ellner J.: Site of disease and opportunistic infection predict survival in HIV-associated tuberculosis. AIDS 1997;11:455-60.
- 8) Toossi Z, Nicolacakis K, Xia L, Ferrari NA, Rich EA.: Activation of latent HIV-1 by *Mycobacterium tuberculosis* and its purified protein derivative in alveolar macrophages from HIV-infected individuals in vitro. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol 1997;15:325-31.
- 9) Goletti D, Weisman D, Jackson RW, et al.: Effect of *Mycobacterium tuberculosis* on HIV replication: role of immune activation. J Immunol 1996;157:1271-8.
- 10) Gerrait V, Cadranet J, Esvant H, et al: Tuberculosis generates a microenvironment enhancing the productive infection of local lymphocytes by HIV. J Immunol 1997;159:2824-30.
- 11) Nakata K, Rom WN, Honda Y, et al: *Mycobacterium tuberculosis* enhances human immunodeficiency virus-1 replication in the lung. Am J Respir Crit Care Med 1997;155:996-1003.



タイ国北部地域におけるHIV陽性患者に 合併した呼吸器感染症の臨床的検討

河野 茂¹⁾、永武 毅²⁾、渡辺 浩²⁾、大石 和徳²⁾、渡辺貴和雄²⁾、小林 忍³⁾

¹⁾長崎大学医学部 第二内科

²⁾長崎大学熱帯医学研究所 内科 (感染症予防治療研究分野)

³⁾杏林病院 内科

研究要旨

チェンマイのナコンピン病院において入院治療を行ったHIV感染者に合併した呼吸器感染症126症例(男性81例、女性45例、平均年齢33.5歳)127エピソードについて胸部Xp写真、喀痰検査(一般細菌、抗酸菌等)、血液培養、血液生化学検査、末梢血リンパ球サブセット(72例)等を施行し、臨床経過を観察した。病型は肺炎70例、カリニー肺炎24例、肺抗酸菌症20例、肺ノカルジア症7例、肺化膿症4例、胸膜炎2例であった。CD4、CD4/CD8の平均値はそれぞれ46.9/mm³、0.08で、喀痰中分離菌は *Haemophilus influenzae* 23例、*Pseudomonas aeruginosa* 9例、*Rhodococcus equi* 6例、*Streptococcus pneumoniae* 6例、*Staphylococcus aureus* 6例の順に多かった。合併症では *Penicillium marneffei* 感染症9例、髄膜炎4例(クリプトコッカス性3例、結核性1例)、敗血症3例が起り、16例(12.6%)は死亡した。今回検討したHIV陽性患者は病態、末梢血CD4値などよりその大部分がAIDS症例と考えられた。合併した呼吸器感染症は病原体が様々で合併症も多く、また複数菌感染も比較的多いことより、今回の結果をふまえたうえでの早期診断、早期治療が重要と考えられる。

分担研究者：河野 茂

研究協力者：永武 毅、渡辺 浩、大石和徳、渡辺貴和雄、小林 忍

Clinical study on respiratory tract infection among HIV-infected patients in northern Thailand

Hiroshi Watanabe¹⁾, Kazunori Oishi¹⁾, Kiwao Watanabe¹⁾, Shinobu Kobayashi²⁾ and Tsuyoshi Nagatake¹⁾

¹⁾ Department of Internal Medicine, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, ²⁾ Department of Internal Medicine, Kyorin Hospital

目 的

タイ国では1980年代後半よりHIV感染者数が増加の一路をたどり、特に1990年代に入ってから急増している。AIDS患者にとって呼吸器感染症は最もよくみられる合併症の1つであるが、タイ国におけるその実態はいまだ明らかにされていない。そこで、今回我々はタイ国北部地域におけるHIV陽性患者に合併した呼吸器感染症の病態を明らかにする目的で以下の検討を行った。

方 法

1996年12月より1999年10月の間にタイ国チェンマイのナコンピン病院において入院治療を行ったHIV感染者に合併した呼吸器感染症126症例(男性81例、女性45例、平均年齢33.5歳)127エピソードについて胸部Xp写真、喀痰検査(一般細菌、抗酸菌等)、血液培養、血液生化学検査、末梢血リンパ球サブセット(72例)等を施行し、臨床経過を観察した。

結 果

対象となった126症例127エピソードの臨床背景をTable 1に示す。末梢血CD4, CD4/CD8の平均値はそれぞれ46.9/mm³, 0.08で、病型は肺炎70例、カリニー肺炎24例、肺抗酸菌症20例、肺ノカルジア症7例、肺化膿症4例、胸膜炎2例であった。血液培養では *Penicillium marneffeii* が6例、*Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* がそれぞれ1例で分離され、喀痰中分離菌は *Haemophilus influenzae* 23例、*Pseudomonas aeruginosa* 9例、*Rhodococcus equi* 6例、*Streptococcus pneumoniae* 6例、*Staphylococcus aureus* 6例の順に多かった(Table 2)。治療は主としてペニシリン系、アミノグリコシド系などの抗生物質、ST合剤、抗結核剤、抗真菌剤が用いられたが、合併症として *Penicillium marneffeii* 感染症が9例、髄膜炎が4例(クリプトコッカス性3例、結核性1例)、敗血症が3例に起こり、16例(12.6%)は死亡した(Table 3)。死亡例の解析をTable 4に示す。死亡例は男性14例、女性2例、平均年齢37.0歳であり、末梢血CD4, CD4/CD8の平均値はそれぞれ81.7/mm³, 0.10で

Table 1 Clinical characteristics of patients with respiratory tract infections

Total cases (male / female)	126 (81 / 45) (127 episodes)
Mean age	33.5 y.o.
Mean CD4 of peripheral blood in 72 patients (CD4 / CD8)	46.9 / mm ³ (0.08)
Diagnosis	
Pneumonia	70
<i>Pneumocystis carinii</i> pneumonia	24
Pulmonary mycobacteriosis	20
Pulmonary nocardiosis	7
Lung abscess	4
Pleuritis	2

あった。入院してから死亡までの平均日数は12.5日であり、病型は肺炎8例、肺ノカルジア症3例、

肺抗酸菌症3例の順であり、喀痰中分離菌では *R. equi* 3例、*H. influenzae* 2例の順に多かった。

Table 2 Isolated pathogens from blood and sputum among patients with respiratory tract infections

Blood isolates	
<i>Penicillium marneffeii</i>	6
<i>Pseudomonas spp.</i>	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<i>Salmonella spp.</i>	1
Sputum isolates	
<i>Haemophilus influenzae</i>	23
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
<i>Rhodococcus equi</i>	6
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	6
<i>Escherichia coli</i>	3
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2
<i>Nocardia spp.</i>	2
<i>Proteus mirabilis</i>	2
<i>Penicillium marneffeii</i>	1
<i>Salmonella enteritidis</i>	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
<i>Candida albicans</i>	1

Table 3 Complications and outcome of patients with respiratory tract infections

Complication	
Disseminated infection caused by <i>Penicillium marneffeii</i>	9 (7.1%)
Meningitis (cryptococcal in 3 and tuberculous in 1)	4 (3.1%)
Septicemia	3 (2.4%)
Tuberculous lymphadenitis	1 (0.8%)
Outcome	
Improved	92 (72.4%)
Not improved	19 (15.0%)
Dead	16 (12.6%)

Table 4 Analysis on dead cases of respiratory tract infections

Total cases (male / female)	16 (14 / 2)
Mean age	37.0 y.o.
Mean CD4 of peripheral blood in 6 patients (CD4 / CD8)	81.7 / mm ³ (0.10)
Mean period from admission to death (day)	12.5
Diagnosis	
Pneumonia	8
Pulmonary nocardiosis	3
Pulmonary mycobacteriosis	3
Interstitial pneumonia like <i>Pneumocystis carinii</i> pneumonia	1
Lung abscess	1
Pathogens isolated from sputum	
<i>Rhodococcus equi</i>	3
<i>Haemophilus influenzae</i>	2
<i>Candida albicans</i>	1
<i>Penicillium marneffeii</i>	1
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1

考 察

今回検討した HIV 陽性患者は CDC criteria²⁾よりその大部分が AIDS 症例と考えられた。タイ国北部地域における AIDS 患者に合併した呼吸器感染症は肺抗酸菌症、カリニー肺炎などは日本、欧米諸国と同様に多くみられたものの、肺ノカルジア症、*R. equi* による肺炎、肺化膿症および合併症としての *P. marneffeii* 感染症が多いことが異なっていた。

P. marneffeii 感染症は全身播種性の真菌感染症で³⁾、タイを中心とした東南アジアに特有にみられ、タイにおける AIDS の合併症としては結核、クリプトコッカス症について3番目に多い¹⁾。amphotericin B や itraconazole などの抗真菌剤は本感染症に有効であるが、再発率が高いことが問題であった。しかし、近年治療成功後も itraconazole 200mg/day の内服を継続することにより再発率が低下することが明らかになっている⁴⁾。

R. equi は本来子馬などの家畜に呼吸器感染症を引き起こす病原菌として知られていたが、AIDS の流行後人での呼吸器感染症の報告が増加しており⁵⁾、現在タイでは AIDS 患者に合併した呼吸器感染症の原因菌としてまれなものではなくなっている⁶⁾。本菌は抗酸性をもつグラム陽性菌であるが、細胞内寄生菌であるためその治療には薬剤感受性のみならず、細胞内移行の良い薬剤を選択する必要がある。しかし、特に HIV 感染患者の治療成績は不良であり、その致命率は HIV 陰性者で 28% であるのに対し HIV 陽性者では 60% と報告されている⁵⁾。

今回我々の検討での死亡例は末梢血 CD4、CD4/CD8 の数値をみてもむしろ全体の平均値より高めであり、必ずしも AIDS そのものの程度が進行していた訳ではないと思われた。無論、治療や診断の遅れにより死亡に至った例も少なからずあったであろうが、肺ノカルジア症や *R. equi* による呼吸器感染症では約半数が死亡しており、こういった

治療難治の感染症が比較的多いことや複数菌感染例も多いことが治療成績を下げている原因と思われる。

結 論

タイ国北部地域におけるHIV陽性患者に合併した呼吸器感染症は病原体が様々で合併症も多く、また複数菌感染も比較的多いことより、今回の結果をふまえたうえでの早期診断、早期治療が重要と考えられる。

参考文献

- 1) Sirisanthana, T.: AIDS in Thailand. Antibiotics and Chemotherapy. 11: 657-667, 1995.
- 2) Centers for Diseases Control.: Revised classification for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescent and adults. Morb. Mortal. Wkly. Rep. 41: 1-19, 1993.
- 3) Supparatpinyo, K., Chiewchanvit, S., Hirunsri, P., et al.: *Penicillium marneffe* infection in patients infected with human immunodeficiency virus. Clinic. Infect. Dis. 14: 871-874, 1992.
- 4) Supparatpinyo, K., Perriens, J., Nelson, K, et al.: A controlled of itraconazole to prevent relapse of *Penicillium marneffe* infection in patients infected with the human immunodeficiency virus. New Engl. J. Med. 339: 1739-1743, 1998.
- 5) Votava, M., Skalka, B., Hrstkova, H., et al.: Review of 105 cases of isolation of *Rhodococcus equi* in humans. Gas. Lek. Cesk. 136: 51-53, 1997.
- 6) Sirisanthana, T., Supparatpinyo, K.: Pulmonary infection caused by *Rhodococcus equi* in patients with human immunodeficiency virus infection: Report of 23 cases from Chaing Mai. J. Infect. Dis. Antimicrob. Agents. 13: 95-99, 1996.

本研究は Sirisanthana, T. (Department of Medicine, Faculty of Medicine, Chaing Mai University), Tharavichitkul, P. (Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chaing Mai University), Sanchai, T., Kositsakulchai, W., Kunsuikmengrai, K. and Kahintapong, S. (Nakomping Hospital)との共同研究である。



抗真菌剤が多用されている血液内科病棟における真菌の分離状況と薬剤感受性についての検討

米山 彰子¹⁾、日暮 芳己¹⁾、馬場 重好²⁾、奥住 捷子¹⁾、人見 重美²⁾、
木村 哲²⁾、中原 一彦¹⁾

¹⁾ 東京大学医学部附属病院 検査部

²⁾ 東京大学医学部 感染制御学教室

研究要旨

抗真菌剤の使用量増加に伴う耐性菌増加の有無を検討することを目的に、血液内科からの真菌分離状況を調査し、薬剤感受性を検討した。1年間に183症例中93症例から448株の真菌が分離された。*Candida albicans*が236株(52.7%)と最も多く、*Candida glabrata*が144株(32.1%)でそれに次ぎ、他の菌種も含めて*Candida*属が96.7%を占めた。*C. albicans* 62株の薬剤感受性を検討すると、MIC₉₀はamphotericin B 1μg/ml, flucytosine 0.25μg/ml, fluconazole 8μg/ml, itraconazole 1μg/ml, miconazole 0.5μg/mlであり、同時期の他科からの分離株や国内外の他の報告より高値を示した。fluconazole耐性株が3株(4.8%)、flucytosine耐性株が1株(1.6%)、itraconazole耐性株が7株(11.3%)あり、amphotericin BのMICが4μg/mlの株が1株、miconazoleのMICが16μg/ml以上の株が3株認められた。過去6か月間の抗真菌剤の投与歴の有無で感受性に差を認めたことから、血液内科において抗真菌剤が多用されていることとMIC₉₀が高いことの関連が示唆された。また抗真菌剤投与中に*C. albicans*や*C. glabrata*のMIC上昇が観察された症例があった。*C. glabrata*41株、*C. krusei*8株の薬剤感受性を検討したところ、*C. albicans*に比べ薬剤感受性が悪い傾向がみられた。*C. glabrata*はflucytosineに感受性だが、*C. krusei*は耐性であること、*C. glabrata*はfluconazoleのMICは2~8μg/mlが多いが、itraconazoleにはほとんどが耐性であることが示された。薬剤感受性試験の判定を48時間以降にまで延長して観察すると、MIC値の上昇する株が血液内科に多く認められ、その意義については今後検討が必要と思われた。

分担研究者：米山彰子、木村 哲

研究協力者：日暮芳己、馬場重好、奥住捷子、人見重美、中原一彦

Trends in species distribution and antifungal susceptibilities of *Candida* species isolated from patients with haematological diseases

Akiko Yoneyama¹⁾, Yoshimi Higurashi¹⁾, Shigeyoshi Baba²⁾, Katsuko Okuzumi¹⁾, Shigemi Hitomi²⁾, Satoshi Kimura²⁾ and Kazuhiko Nakahara¹⁾

¹⁾Laboratory Center, University of Tokyo Hospital, ²⁾Department of Infection Control and Prevention, University of Tokyo

目的

真菌感染症はHIV感染をはじめとする免疫能低下時の日和見感染症として重要である。AIDS患者にfluconazoleを長期投与した場合に耐性*Candida albicans*が出現した報告^{1,2)}があるが、国内においては酵母様真菌のアゾール系薬剤耐性化は問題になっていない。今回、院内でもっとも抗真菌剤が多用されている血液腫瘍内科における真菌の分離状況と*Candida*の薬剤感受性を検討し、他科患者からの分離株と比較した。

方法

1. 対象

1998年6月から1999年5月までの1年間に、血液腫瘍内科病棟で培養検査が5検体以上提出された183症例を対象とし各種検査材料からの真菌の分離状況を検討した。対象とした患者の基礎疾患を図1に、また検体の種類を図2に示す。分離された真菌のうち*C. albicans* 62株、*C. glabrata* 41株、*C. krusei* 8株の薬剤感受性を測定した。またHIV感

染患者から分離された*C. albicans* 11株および他の病棟の患者から検出された*C. albicans* 69株についても薬剤感受性を検討した。

2. *C. albicans* の薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は日本医真菌学会標準化委員会報告提案抗真菌剤感受性試験法³⁾に準じ、フローゼンプレート(酵母様真菌FP'栄研':栄研化学株式会社)を用いて行った。試験薬剤および薬剤濃度は、amphotericin B(以下AMPH, 0.03~16 μ g/ml), flucytosine(以下5-FC, 0.125~64 μ g/ml), fluconazole(以下FLCZ, 0.125~64 μ g/ml), itraconazole(以下ITCZ, 0.015~8 μ g/ml), miconazole(以下MCZ, 0.06~32 μ g/ml)。一部の検体については48時間以降まで観察した。感受性の判定基準は5-FC, FLCZ, ITCZについては、NCCLSの基準(M27-A, 1997)⁴⁾に従った。

3. パルスフィールド電気泳動法(PFGE)による*C. albicans*分離株の解析

6症例から分離された*C. albicans* 28株についてDibらの方法⁵⁾に従ってパルスフィールド電気泳動を行いパターンの違いを解析した。

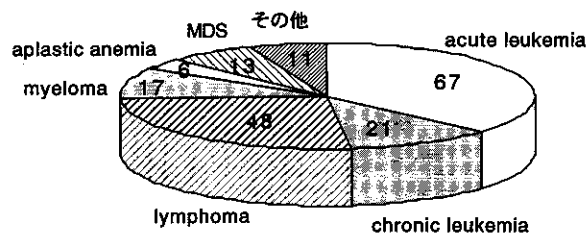


図1 基礎疾患

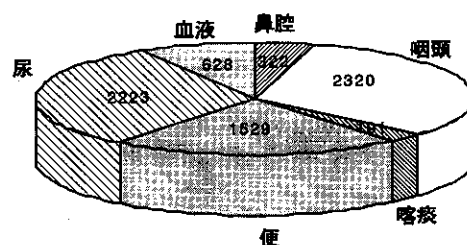


図2 検体の種類と数

結果

1. 真菌の分離状況

183 症例中 93 症例から 448 株の真菌が分離された。疾患別の真菌分離患者数(図3)、分離された真菌の内容(図4、表1)を示す。

真菌が分離された93症例中、抗癌剤投与例が72

例、副腎皮質ステロイド投与例が9例であった。また6か月以内に抗真菌剤投与歴(予防内服を含む)のあるものが51 症例あった。

検査材料別では、咽頭および便が検査検体数も多く、分離された真菌も多かった。菌種では *C. albicans* が 52.7% と最も多く、*C. glabrata* が 32.1% でそれに次ぎ、両者で全体の約 85% を占めた。

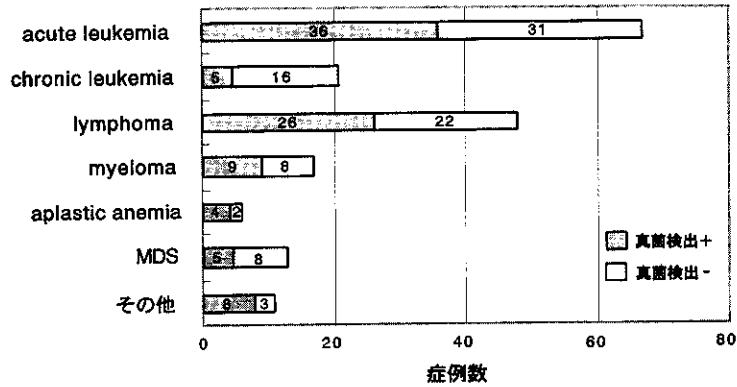


図3 疾患別の真菌分離状況

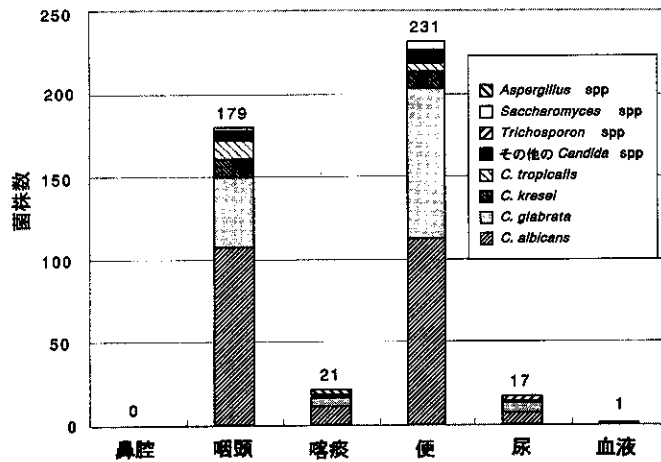


図4 各種検体から分離された真菌

表1 各種検体材料から分離された真菌

	鼻腔	咽頭	喀痰	便	尿	血液	合計
<i>C. albicans</i>	0	107	11	112	6	0	236
<i>C. glabrata</i>	0	42	5	91	6	0	144
<i>C. krusei</i>	0	11	1	10	0	0	22
<i>C. tropicalis</i>	0	11	1	5	1	0	18
<i>C. parapsilosis</i>	0	2	0	5	0	0	7
<i>C. guilliermondii</i>	0	3	0	1	0	0	4
他の <i>Candida</i> spp	0	0	0	1	0	1	2
<i>Saccharomyces</i> spp	0	2	0	5	0	0	7
<i>Trichosporon</i> spp	0	1	0	1	3	0	5
<i>Aspergillus</i> spp	0	0	3	0	0	0	3
合計	0	179	21	231	16	1	448

2. *C. albicans* の薬剤感受性

血液内科から分離された *C. albicans* 62株および血液内科以外の科からの分離株69株の薬剤感受性を図5,6に示す。血液内科の62株は、いずれの薬剤にも良好な感受性を示す株が多数を占めるが、FLCZ耐性株 (MIC $\geq 64\mu\text{g/ml}$) が3株、5-FC耐性株 (MIC $\geq 32\mu\text{g/ml}$) が1株、ITCZ耐性株 (MIC \geq

$1\mu\text{g/ml}$) が7株認められた。また AMPH の MIC が $4\mu\text{g/ml}$ の株が1株、MCZ の MIC が $16\mu\text{g/ml}$ 以上の株が3株認められた。MIC₉₀ は AMPH $1\mu\text{g/ml}$ 、5-FC $0.25\mu\text{g/ml}$ 、FLCZ $8\mu\text{g/ml}$ 、ITCZ $1\mu\text{g/ml}$ 、MCZ $0.5\mu\text{g/ml}$ であった。これに対し他科の株には耐性株は見られず、MIC₉₀ は AMPH $0.25\mu\text{g/ml}$ 、5-FC $0.125\mu\text{g/ml}$ 、FLCZ $0.25\mu\text{g/ml}$ 、ITCZ $0.03\mu\text{g/ml}$ 、MCZ $0.06\mu\text{g/ml}$

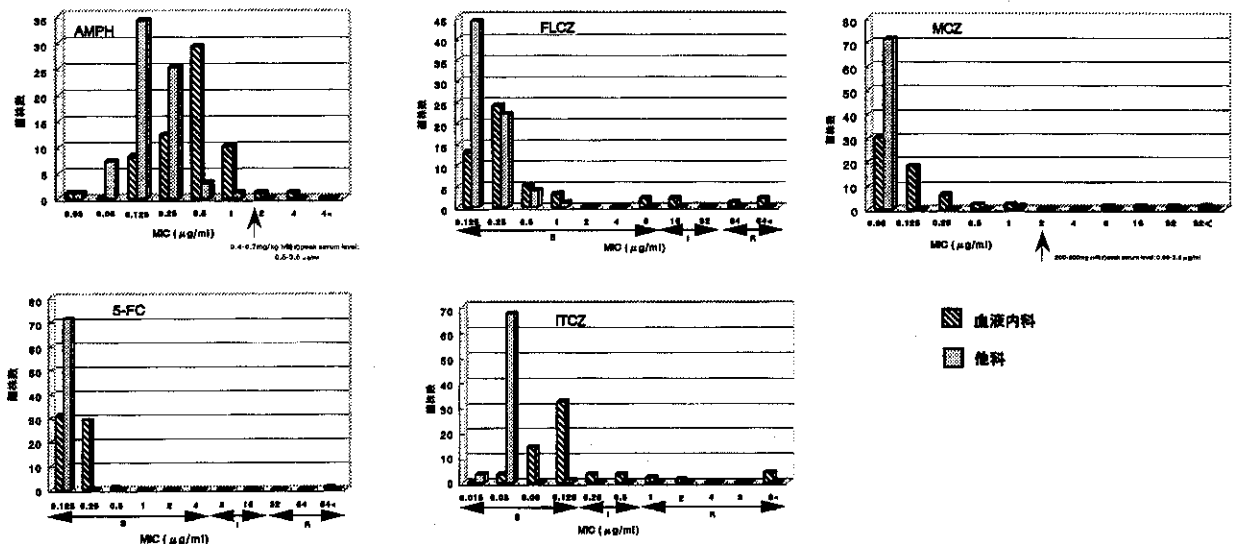


図5 *Candida albicans* の薬剤感受性

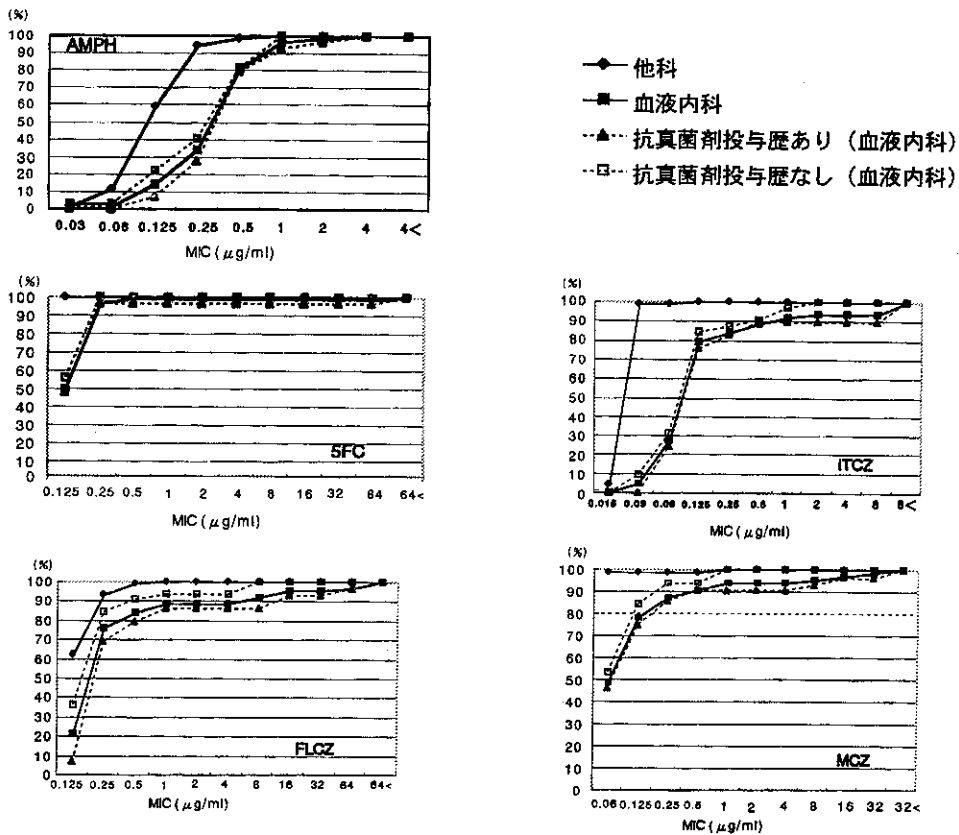


図6 *Candida albicans* の薬剤感受性 (累積百分率)

mlであった。血液疾患患者からの分離株を、6か月以内に抗真菌剤投与歴のある群とない群に分け薬剤感受性を比較すると、FLCZで投与群の方が感受性が低かった(図6)。HIV感染患者から分離された*C. albicans*11株の薬剤感受性は良好であった(表2)。

異なる薬剤のMICの相関を検討すると、FLCZはITCZ, MCZと交差耐性を認めたが、5-FCおよび

AMPHとは交差耐性を認めなかった(図7)。

薬剤感受性試験の判定を48時間以降にまで延長して観察すると、MIC値が24時間の判定では1 μ g/ml以下であるのに48時間以降では16 μ g/ml以上と著明に上昇する株があり、血液疾患患者からの株でその割合が高かった(18株中13株)(図8)。これらの株ではFLCZだけでなくITCZおよびMCZのMICも上昇を認めた。血液内科の18株中、FLCZ

表2 HIV感染患者から分離された*Candida albicans*の薬剤感受性

AMPH	MIC (μ g/ml)	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	4<			
	菌株数			5	6							
5-FC	MIC (μ g/ml)	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	64<
	菌株数	10	1									
FLCZ	MIC (μ g/ml)	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	64<
	菌株数		6	2	2	1						
ITCZ	MIC (μ g/ml)	0.015	0.03	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	8<
	菌株数	4	5	2								
MCZ	MIC (μ g/ml)	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	32<
	菌株数	7	3	1								

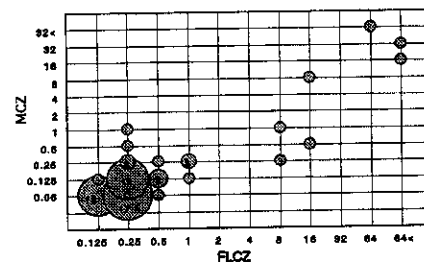
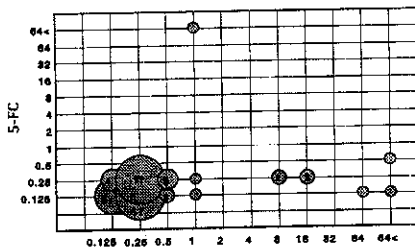
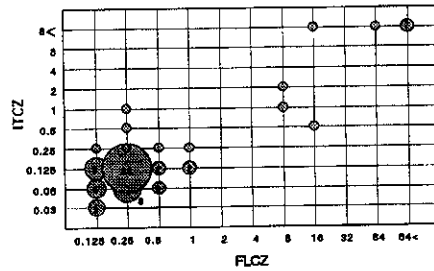
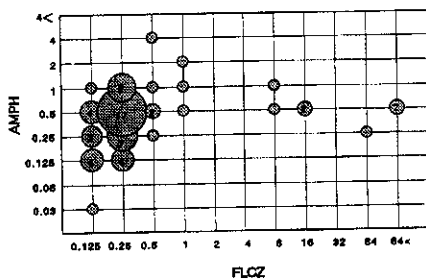


図7 *C. albicans*に対する各種抗真菌剤のMIC値の相関

②: 数字は菌株数
数字なしは1株

投与中の患者から分離されたものが3株あったが、いずれも48時間以降にMIC値が上昇を示した。他科からの分離株65株中15株でFLCZのMIC上昇を認めたが、ITCZおよびMCZのMICも上昇したのはそのうち8株であった。

3. *C. glabrata* の薬剤感受性 (図9)

C. glabrata は *C. albicans* に比べ薬剤感受性が悪く、MIC₉₀はAMPH 1μg/ml, 5-FC 0.125μg/ml, FLCZ 16μg/ml, ITCZ 4μg/ml, MCZ 1μg/mlであった。ITCZはほとんどの株が耐性で、高度耐性株も認めた。5-FCのみ良好な薬剤感受性を示した。

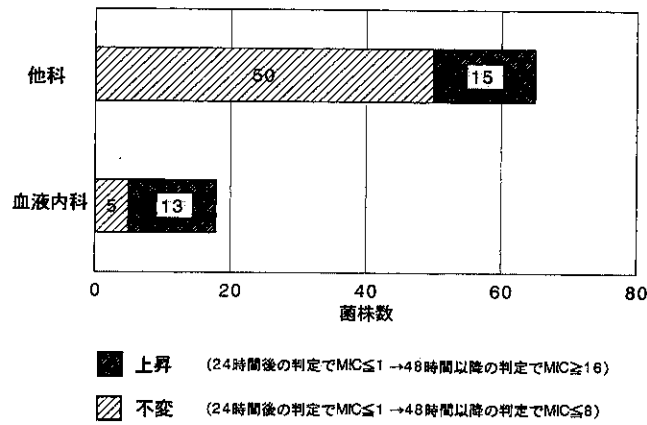


図8 判定時間延長によるFLCZのMICの上昇

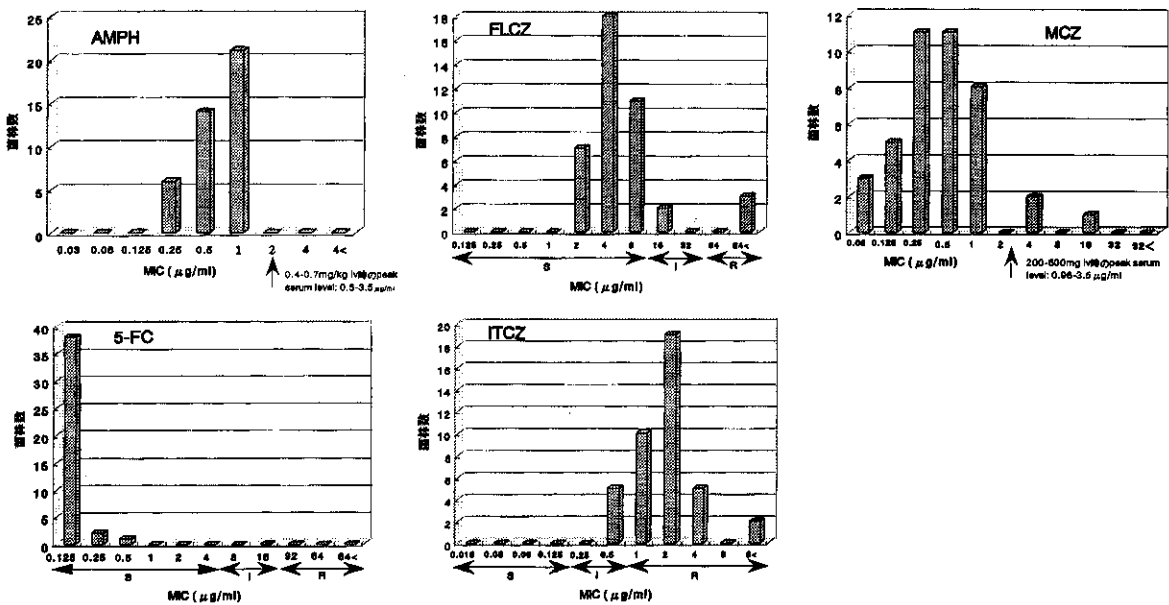


図9 *C. glabrata* の薬剤感受性

4. *C. krusei* の薬剤感受性

C. krusei は *C. albicans*、*C. glabrata* と比べ 5-FC の MIC が高いことが特徴的であった。FLCZ および ITCZ にも感受性株は少なかった (表 3)。

5. 抗真菌剤投与中の耐性化

抗真菌剤投与中に、*C. albicans*、*C. glabrata* の薬剤耐性化を認めた症例をそれぞれ経験した (図 10)。

6. パルスフィールド電気泳動法による *C. albicans* 分離株の解析 (図 11)

FLCZ 投与中に *C. albicans* の薬剤耐性化を認めた症例の株は PFGE で同一のパターンを示し (症例 5)、FLCZ 投与中に耐性が誘導されたことが示唆された。同じ患者から分離された株は同じパターンを示す場合が多かったが、一部異なるパターンのものを含む症例 (症例 4) もあった。

表 3 *C. krusei* の薬剤感受性

AMPH	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	4<			
	菌株数	1	2	5								
5-FC	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	64<
	菌株数	1						3	3	1		
FLCZ	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	64<
	菌株数	2						3	3			
ITCZ	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	0.015	0.03	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	8<
	菌株数	1				1		4		2		
MCZ	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	32<
	菌株数	1			2	2	1	2				

症例 1

Y.K. 29歳F AML
99年2月3日よりFLCZ 200mg経口投与
99年2月11日よりFLCZ 200mg静注
その間に便から検出された *C. albicans* に対する FLCZ, ITCZ の MIC が上昇

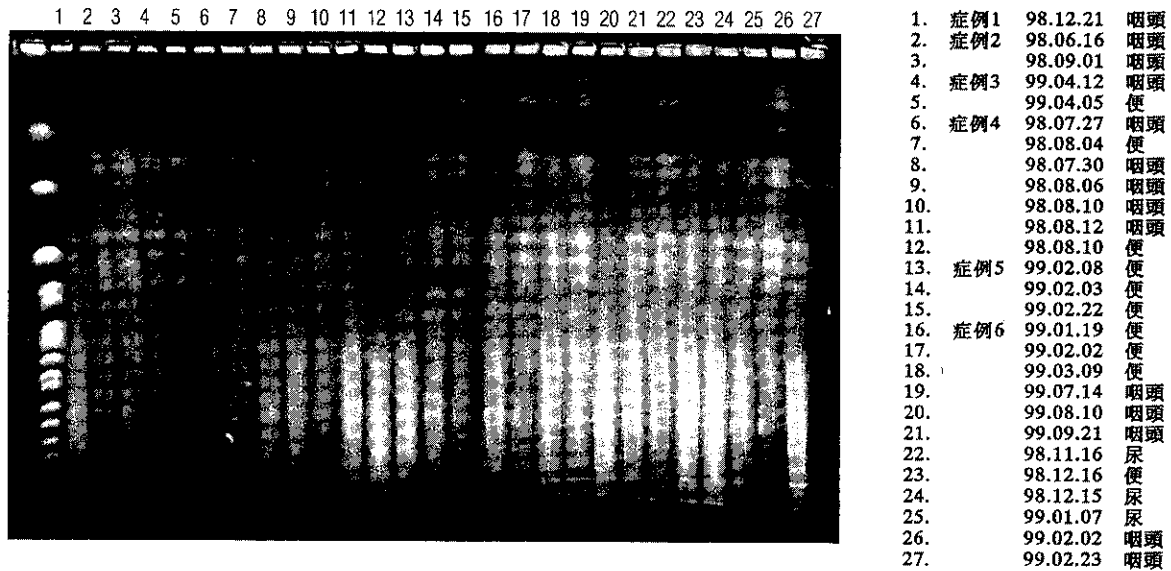
	AMPH	5-FC	FLCZ	ITCZ	MCZ
99年2月3日	1	0.125	0.25	0.13	0.5
99年2月8日	2	0.125	2	0.5	0.25
99年2月22日	1	0.125	64<	8<	1

症例 2

K.O. 70歳F AML
98年2月から99年3月にかけて FLCZ、ITCZ、AMPH を断続的に投与
その間に咽頭および喀痰から検出された *C. glabrata* に対する AMPH, FLCZ, ITCZ, MCZ の MIC が上昇

	AMPH	5-FC	FLCZ	ITCZ	MCZ
98年6月8日	0.5	0.125	2	1	0.25
98年7月27日	1	0.125	16	8<	4
98年8月24日	1	0.125	4	2	1
98年9月21日	1	0.125	4	2	1
99年2月1日	1	0.125	64	8<	4
99年3月1日	2	0.125	64	8<	2

図 10 抗真菌剤投与中の MIC 上昇

図11 PFGEによる *C. albicans* の解析

考 察

わが国における *Candida* 属の薬剤耐性化の有無を調べることを目的に、抗真菌剤が多用されている血液内科からの真菌の分離状況と薬剤感受性を検討した。血液内科では、化学療法中に合併する neutropenic fever に対処するため定期的に咽頭分泌物、尿、便などの培養がなされており、今回の検討の対象の多くは監視培養の検体と思われる。約半数の症例から経過中真菌が分離された。448 株中 *C. albicans* が 236 株 (52.7%) と最も多く、*C. glabrata* が 144 株 (32.1%) でそれに次ぎ、他の菌種も含めて *Candida* 属が 96.7% を占めた。血液内科では抗癌剤治療中の予防投与や発熱時の empiric therapy で抗真菌剤が投与される頻度が高く、真菌が分離された 93 症例中 51 例で過去 6 か月以内に何らかの抗真菌剤が投与されていた。分離された菌種のうち *C. albicans* が比較的少なく *C. glabrata* が多いのはアゾール系抗真菌剤が多用されているためと考えられる。

C. albicans は薬剤感受性の良好な株が多数を占めるものの、国内外の報告⁶⁻¹⁰⁾に比べると、アゾール剤に対する MIC₉₀ が高く耐性株もみられた。FLCZ 耐性株が 3 株 (4.8%)、5-FC 耐性株が 1 株

(1.6%)、ITCZ 耐性株が 7 株 (11.3%) あり、NCCLS から感受性の判定基準の示されていない他の 2 剤についても、AMPH の MIC が 4 μg/ml の株が 1 株、MCZ の MIC が 16 μg/ml 以上の株が 3 株認められた。5-FC は耐性化しやすいことが知られ臨床的にも使用頻度が低いのが、今回の検討では低い MIC を示した。同時に検討した血液内科以外の *C. albicans* 株の感受性は良好で耐性株も認めないことから、低感受性株の増加は血液内科に特有の状況と考えられ、過去 6 か月間の抗真菌剤の投与歴の有無で感受性に差を認めたことから、血液内科において抗真菌剤が多用されていることとの関連が示唆された。実際に今回検討した症例で抗真菌剤投与中に *C. albicans* や *C. glabrata* の MIC 上昇が観察された症例もあり、そのうち *C. albicans* の 1 例では PFGE で MIC の上昇した株と上昇前の株が同一株であることが示された。FLCZ の数カ月にわたる投与あるいは総投与量 10g 以上での耐性化の報告がある¹⁾が、血液内科ではこれに相当する症例が多数存在すると思われる。アゾール系抗真菌剤は副作用が少なく使いやすいこともあり国内での使用量が増加しているが、危惧される耐性菌の増加はこれまで指摘されていない。しかし今回の検討で抗真菌剤が多用されている病棟における *C. albicans* の感

受性低下傾向が示され、抗真菌剤の適切な使用による耐性菌出現の防止とともに、今後 *Candida* 属の薬剤耐性化についてのサーベイランスが必要であると思われた。

Candida 属の薬剤耐性については、アゾール剤に交差耐性があるという報告¹¹⁾とともに交差耐性を認めない報告^{1,12)}もあるが、今回の耐性株ではアゾール剤間では交差耐性を認めたが、AMPHや5-FCとは交差耐性を認めなかった。

C. glabrata および *C. krusei* は *C. albicans* に比べ薬剤感受性が悪い傾向がみられた。*C. glabrata* は 5-FC に感受性だが、*C. krusei* は耐性であること、*C. glabrata* は FLCZ の MIC は 2~8 µg/ml が多いが、ITCZ にはほとんどが耐性であることが示された。血液内科の株と他科の株の比較は今回は行われていないが、今後検討したい。

今回、日本医真菌学会標準化委員会報告提案抗真菌剤感受性試験法に準じて MIC 判定を行った後、観察期間をさらに 24 時間以上延長すると MIC の上昇する株がみられた。このような株が血液内科の株に多いこと、FLCZ 投与中に分離された *C. albicans* にこのような現象がみられたことから、耐性化傾向を示す現象である可能性が考えられた。酵母様真菌の MIC 測定に際してはアゾール剤において終末点が尾を引くいわゆる "trailing" 現象が問題になり¹³⁾、日本医真菌学会標準化法では 80% 発育阻止濃度 (IC₈₀) を分光光学的に求め終末点を決定している。判定時間については、24 時間毎に観察し発育コントロールの濁度が基準に達した時点での判定と決められており、通常は 24 時間での判定になる。今回観察された判定時間延長に伴う MIC 上昇は、通常の判定の時点では 80% 以上発育が阻止されていてもその後発育してくることがあることを示しており、その意味付けは今後 MIC と臨床効果の関係とともに検討されるべきものと思われた。

結 論

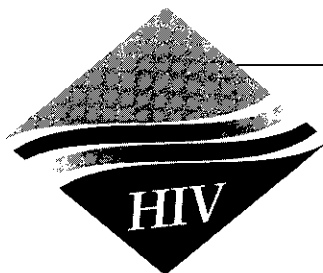
抗真菌剤が多用されている血液内科から分離された *C. albicans* の薬剤感受性が他科からの分離株より悪く、耐性菌もアゾール剤で 5~11% とこれまでの報告より高率に認められた。抗真菌剤の適

正使用とともに、耐性真菌のサーベイランスや薬剤感受性試験結果と臨床効果の相関の検討が必要と思われた。

参考文献

- 1) Million L, Manteaux A, Reboux G et al: Fluconazole-resistant recurrent oral candidiasis in human immunodeficiency virus positive patients: persistence of *Candida albicans* strains with the same genotype. *J. Clin. Microbiol.* 32: 1115-1118, 1994
- 2) Ruhnke M, Eigler A, Tennagen I et al: Emergence of fluconazole-resistant strains of *Candida albicans* in patients with recurrent oropharyngeal candidiasis and human immunodeficiency virus infection. *J. Clin. Microbiol.* 32: 2092-2098, 1994
- 3) 山口英世、内田勝久、久米光他：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, 1995
- 4) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A. Pennsylvania, National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997
- 5) Dib JC, Dube M, Kelly C et al: Evaluation of pulsed-field gel electrophoresis as a typing system for *Candida rugosa*: comparison of karyotype and restriction fragment length polymorphism. *J. Clin. Microbiol.* 34: 1494-1496, 1996
- 6) 山根誠久、猪狩 淳：酵母様真菌を対象とする Clorimetric Broth Microdilution 法での抗真菌剤薬剤感受性試験の経験—国内 17 施設での共同評価 臨床病理 45: 190-200, 1996
- 7) 藤田信一：ミクロ液体希釈法による血液および脳脊髄液由来酵母真菌の薬剤感受性に関する検討 臨床病理 44: 373-378, 1996
- 8) 須藤貴子、楨村浩一、川田かおる他：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, 1997
- 9) 山住俊晃、黒田隆也、大島恒子他：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 感染症学会雑誌 72: 813-819, 1998
- 10) Pfaller MA, Jones RN, Doern GV et al: 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 SENTRY program. *J. Clin. Microbiol.* 36: 1886-1889, 1998
- 11) Wardle HM, Law D, Moore CB et al: In vitro activity of D0870 compared with those of other azoles against fluconazole-resistant *Candida* spp. *Antimicrob Agent Chemother* 39: 868-871, 1995
 - 12) Barchiesi F, Colombo AL, McGough DA et al: In vitro activity of itraconazole against fluconazole-susceptible and -resistant *Candida albicans* isolates from oral cavities of patients infected with human immunodeficiency virus. *Antimicrob Agent Chemother* 38: 1530-1533, 1994
 - 13) Revankar SG, Kirkpatrick WR, McAtee RK et al: Interpretation of trailing endpoints in antifungal susceptibility testing by the National Committee for Clinical Laboratory Standards method. *J. Clin. Microbiol.* 36: 153-156, 1998



HIV感染者におきたA型肝炎 outbreak の ウイルス学的解析

井田 節子、立川 夏夫、土屋 亮人、高橋由紀子、蜂谷 敦子、松岡 沙織、
田中 真理、平林 義弘、岡 慎一

国立国際医療センター エイズ治療・研究開発センター

研究要旨

HIV感染者におきたHAVのoutbreakのウイルス学的解析を行った。1998年8月から1999年秋にかけてエイズ治療研究開発センター外来のホモセクシャルのHIV患者の中から、HAV肝炎患者が頻発した。ホモセクシャルのHIV患者はこのoutbreakで22.6%がHAVに感染し、1999年9月現在抗体保有率は38%になった。発症者22名のHAVを対象にして分子疫学的な解析を行った結果、このoutbreakは1A型で系統樹の上でひとつのクラスターを形成するウイルスによってひき起こされていた。また現在までにHIV感染者のA型肝炎について解析した報告はない。そこでviremiaの期間、viremiaと肝機能異常との相関、抗HAVIgM抗体の推移についての解析を行った。HIV患者でのHAV RNAの血液中での平均存続期間は41.7日であった。同様の検出法を用いて非HIV感染者では18日と報告されており、HIV感染者では長期間にわたって血中からHAV RNAが検出された。このことは今回の流行が長期にわたっていることの原因のひとつかもしれない。AST値が異常を示し肝臓に炎症が存在する時期には全ての血清からHAV RNAが検出された。AST値が正常化した後の血清中からもHAV RNAが検出された。anti HAV IgMは発症後4~6ヶ月で陰性となり、HAV RNAよりも長期間陽性であった。このことからanti HAV IgMはHAV RNAのマーカーとして有用と考えられた。ホモセクシャルのHIV感染者において高率にHAVが蔓延したことから、エイズ治療研究開発センターではこれらのハイリスク患者にはワクチン接種が推奨された。HIV感染者の間で同じHAVがSTDとして蔓延していた事は、HIVの感染防御を考える上での警鐘となると考えられた。

分担研究者：岡 慎一

研究協力者：井田節子、立川夏夫、土屋亮人、高橋由紀子、蜂谷敦子、松岡沙織、田中真理、
平林義弘

Prolonged duration of hepatitis A virus viremia in HIV-1-infected homosexual men

Setsuko Ida, Natsuo Tachikawa, Kiyoto Tsuchiya, Yukiko Takahashi, Atsuko Hachiya, Saori Matsuoka, Mari Tanaka and Yoshihiro Hirabayashi

AIDS Clinical Center · International Medical Center of Japan

背景と目的

HAV感染症は糞口感染症であるが、食物による感染^{1,2)}、精薄施設などでの集団感染²⁶⁾、STDとしてのホモセクシャル間での流行だけでなく^{3,4,5)}、血液製剤^{7,8)}や輸血⁶⁾による感染も報告されている。このような背景があるにも関わらず、Nested PCR法などの高感度な検出法を用いて糞便中へのHAVの排泄期間やviremiaの存続期間についてのまとまった症例数の報告は多くはない^{11,12)}。その理由の一つはA型肝炎の予後が良好な所から、急性期を過ぎると患者は来院しなくなり回復期以後のフォローアップが行い難い点にある。HIV感染者におけるHAV感染症のについて解析を行った報告はない。1998年から1999年にかけて、エイズ治療研究開発センター (ACC) に通院する HIV 感染者にA型肝炎の流行が見られた¹³⁾。ACCにおいては、定期的に患者が来院するために、不顕性感染の解析や、HAV肝炎発症前から治癒後の長期間にわたる血液を用いた解析が可能である。そこでこの流行の様相、HIV感染者におけるviremiaの期間、viremiaと肝機能異常の相関、IgMのdecayの追跡について解析をおこなった。

対象と方法

疫学的解析

ACCに通院する HIV 感染者で1998年8月から1999年9月にかけてA型肝炎を発症した22名および1998年1月から1999年9月にかけて来院した患者115名を対象とした。

HAV抗体の検出はダイナボット・アキシム HAVABキットを用い、このoutbreakによってHAVに感染したHIV感染者の解析、顕性感染と不顕性感染の割合を解析した。

分子疫学的解析

発症者22名及び対照として、1992-1996年に発症した東京近郊のHAV患者10名、1990年から1995年にかけて長崎地方で発症したHAV患者30名のHAVの分子疫学的な解析を行った。HAVの構造蛋白をコードするVP3領域の168bとVP12A領域の286bを次の方法により増幅し、遺伝子配列を調

べ系統樹解析をおこなった。凍結保存してあった患者血清80μlからスマイテストを用いてHAV RNAを抽出しDEPE処理したH₂O 30μlに溶解した。その10μlからOne step RT PCR kit (TAKARA)、EX Taq polimerase (TAKARA)を用いてPCR産物を得た。プライマーはChudy等により設定されたプライマー位置を日本で分離されたHAV シークエンスに当てはめて設定した⁷⁾。このRNA溶液を60度5分間加熱処理後、VP3領域をOne step RT PCR kit (TAKARA)とプライマー (2226:5'-CTCCTGAATCATCTCC, 2020:5'-ATAGGTACACGAAGTCAG)を用い、50℃ 30分、94℃ 2分インキュベートした後、(94℃ 1分、50℃ 1分、72℃ 1分)の条件で30サイクル増幅を行った。ついでNested PCRには得られたPCR産物1μlとプライマー (2039:5'-CACATCAAAAAGGTGAGT, 2206:5'-TGTGTGGTAACATCCATA)を用いて同じ条件でNested PCRを行い、PCR産物を得た。VP12A領域は同様に、(3398:5'-AGTAAGAACTCCAGCATCCATCTC, 2891:5'-GGTTTCTATT CAGATTGCAAATTA)と(2940:5'-TTTAGTTGTTATTTGTCTGTC, 5'-3284:5'-CATTATTTCATGCTCCTCAG)を用いて同様の条件で増幅した。このPCR産物からABI社のBig dye terminator cycle seaquence kitを用いてシークエンスを得た。得られたシークエンスについてCLUSTAL Wソフトウェアを用いて系統樹解析を行った。

HAV RNAの存続期間

血清80μlからスマイテストによって抽出したHAV RNAをH₂O 12μlに溶解しその10μlを用いて上記の方法でVP12A領域についてRT-Nested PCRを行った。このPCR産物10μlを寒天電気泳動しEtBr染色してHAV-RNAの有無を判定した。コンタミネーションによる誤認を避けるため、RNAの抽出、反応溶液の作成、PCR産物の解析はそれぞれ異なった実験室で行い、2~3回の実験を繰り返し判定を行った。また常にサンプル数の半数の陰性コントロールを同時に用いてコンタミネーションの有無の確認を行った。

anti HAV 抗体検査

anti HAV IgM抗体はダイナボット・アキシム

anti HAV 抗体検査

anti HAV IgM 抗体はダイナボット・アキシム HAVAB-M キットを用いて検討した。

anti HAV 抗体はダイナボット・アキシム HAVAB キットを用いて検討した。

結 果

1999年8-9月にかけて来院した患者137名のうち51名(38%)はHAV抗体陽性であった。そのうち1998年8月から1999年7月までに臨床症状と抗HAV IgM抗体検査から23名の男性がA型肝炎と診断されていた。その発生状況の推移をFig1)に示す。発症患者数のピークは4月であり日本におけるA型肝炎の季節的な消長と同じパターンを示していた。発症が確認されなかった28名のうち8名は約1年6ヶ月前にはHAV抗体は陰性で不顕性感染と考えられた。12名は陽性でありこのoutbreak以前にHAV感染があったと考えられた。従って約1年6ヶ月の間に137名中少なくとも31名(22.6%)がこの流行でHAVに感染していた。顕性感染者と不顕性感染者のCD4数は 464 ± 144 , 436 ± 235 、CD8数は 761 ± 303 , 881 ± 440 で有意な差は認められなかった。このoutbreak前に感染していた患者の平均年齢は54歳、このoutbreakで感染した者の平均年齢は34歳であった。若年者層を中心としてこの

A型肝炎の流行が起きていた。

シーケンス解析の結果得られたアミノ酸配列から、このHAVは日本で一般的な1A型であることが確認された¹⁴⁾。

VP12A領域の系統樹解析の結果を図に示す。Fig2)

このoutbreakは1つのクラスターを形成するよく似たウイルスによる流行であることが示された。22人のHIV患者のうち20人は全く同じ塩基配列であった。残る2名のウイルスも、それぞれ異なった場所が1塩基だけ異なる非常に近い塩基配列をもつウイルスであった。VP3領域でもHIV患者のHAVは同一のクラスターを形成していた。

次に発症者のうちHAV RNAが陽性であった日から陰性化する日までの期間が6週間以内であった14名について血中でのHAV RNAの存続期間を示すFig3)。患者の間診により吐き気、発熱、褐色尿などの症状を示した日を発症0日として存続期間を算出した。もっとも長い人で少なくとも発症後89日目にも陽性であることが確認された。HIV感染者でのHAVの平均存続期間は41.7日以上と算出された。

肝機能検査値と血中HAV RNAの有無との関連性について検討をした。B型肝炎C型肝炎、薬物障害のない患者を対象とした。AST値に異常が認められる患者の血中にはHAV RNAが存在してい

A型肝炎発症者数の推移

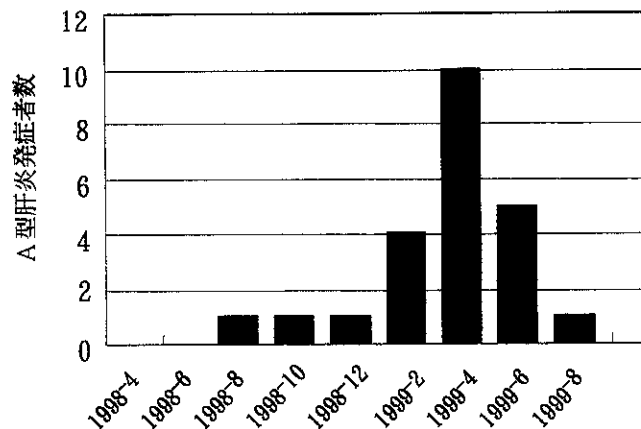


Fig1 A型肝炎発症者数

た。ALT値、LDH値、ALP値、rGTP値についても同様の傾向にあった。しかし発症後120日以内のAST値が正常値を示す22検体のうち14検体からもHAV RNAが検出され、肝機能検査値はHAV RNA存在のマーカーとならないと考えられた。Fig4)

次にHIV感染者12名についてanti HAV IgM抗体価の経時的な変化と、HAV RNAの存続期間と

の相関の有無をみたFig5)。全例において抗体価は4-6ヶ月の間に正常値まで減少した。HAV RNAが陽性の期間はanti HAV IgM抗体値は高値を示し、anti HAV IgM抗体が陰性化する前にHAV RNAは陰性化した。このことからanti HAV IgM抗体はHAV RNA有無のマーカーとなりうると考えられた。

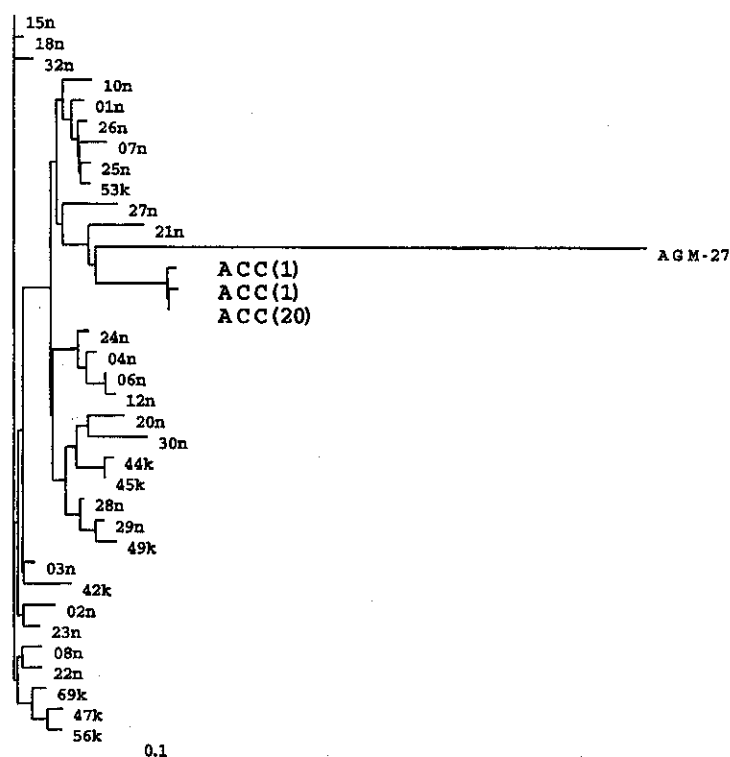


Fig2 HAV VP1/2A領域の系統樹解析
 ACC:エイズ治療研究開発センター・HIV感染者
 n:長崎地方の非HIV感染者
 k:関東地方の非HIV感染者
 (:):人数