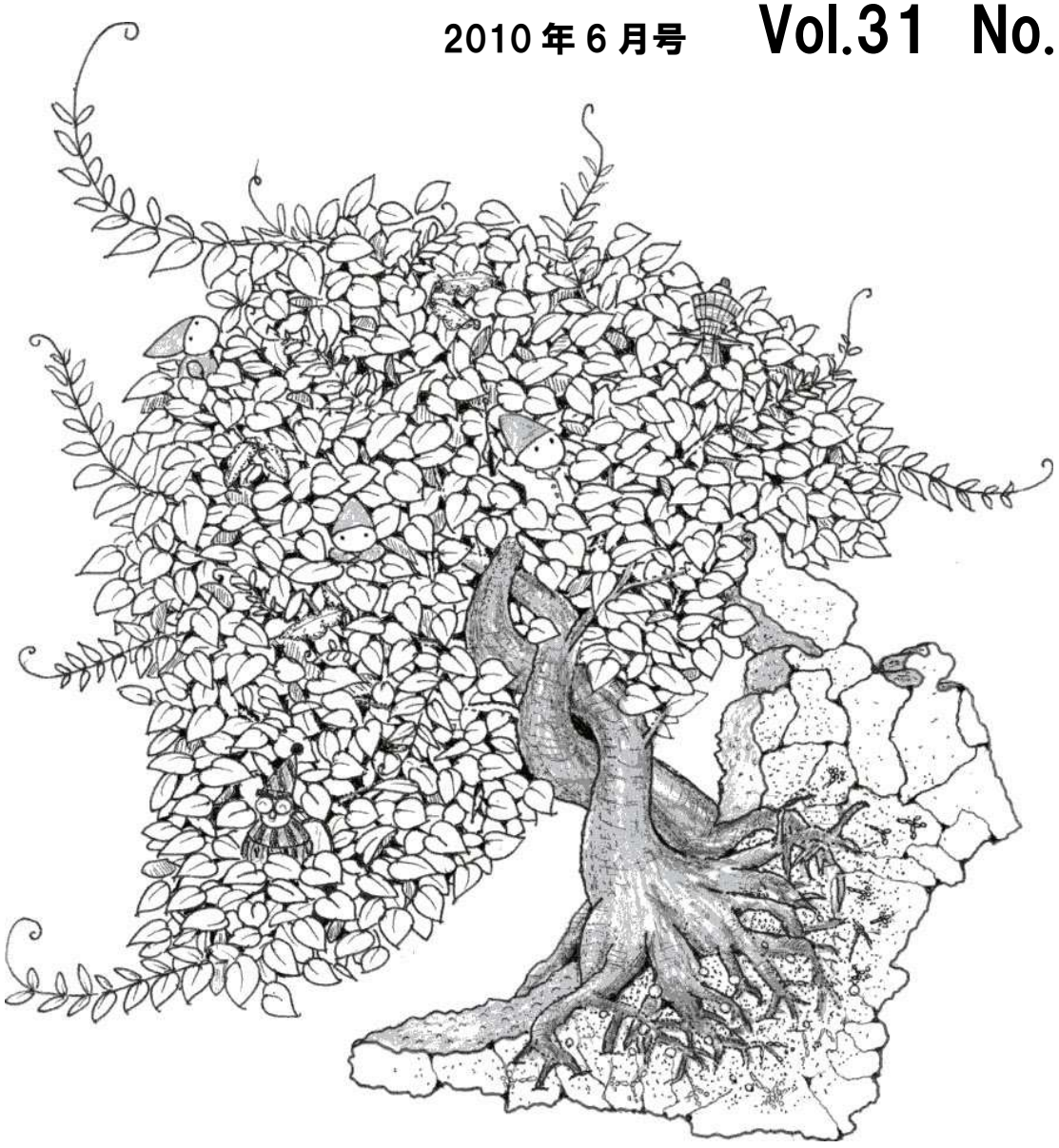
Letters to the Clinical Microbiology Laboratory

白金耳

2010年6月号　Vol.31　No.6



大阪府臨床検査技師会　学術部　微生物検査部門

Vol.31, No.6 （平成22年6月号）

白金耳

ごあんない
・今月の定期講習会　赤木　征宏

定期講習会報告　4月
・『これだけは知っておきたい抗MRSA薬の基礎』　赤木　征宏

ばくとおやじの知識箱
・『黒色真菌、Black molds（*Exophiala*属の検査法）』　佐子　肇

バイキンQuiz　市村　佳彦

（敬称は略させていただきました）

今月の定期講習会は

6月22日（火） 大阪医療技術学園専門学校で開催します。

今月の定期講習会

テーマ　：『LAMP(Loop-mediated Isothermal Amplification)法の原理とその応用』

講　師：栄研化学株式会社　LAMP 推進部　副島　隆浩

日時：平成２２年６月２２日（火）　１８：３０～２０：００
場所：大阪医療技術学園専門学校
（〒530-0044 大阪市北区東天満 2-1-30）

評価点：専門－２０点（会員証をお持ちください）
参加費：会員５００円、非会員３０００円
連絡先：(財) 大阪府警察協会大阪警察病院　赤木　征宏
e-mail：akg@oph.gr.jp

遺伝子検査は、既に細菌や微生物の検出を始め、ヒトの遺伝病の原因である遺伝子の変異検出等に応用されている。遺伝子検査では、殆どの場合検体に含まれる目的の遺伝子量が極めて少ないため、まず遺伝子を増幅しなければならない。従って、遺伝子検査を実施する上で最も重要なポイントは、遺伝子増幅技術である。

遺伝子増幅技術の一つであるLAMP法は、増幅反応が等温で進行する、６領域を認識する４種類のプライマーを使用するため特異性が高い、増幅効率が高く、短時間に増幅が可能である、増幅産物量が多く、簡易検出に適している等、細菌やウイルスなど微生物検出に適した方法である。

今回、そのLAMP法について、その概要、原理と特徴、実際の臨床応用についてご講演を頂く予定です。皆様奮ってご参加下さい。

定期講習会報告

４月定期講習会報告

『これだけは知っておきたい抗 MRSA 薬の基礎』

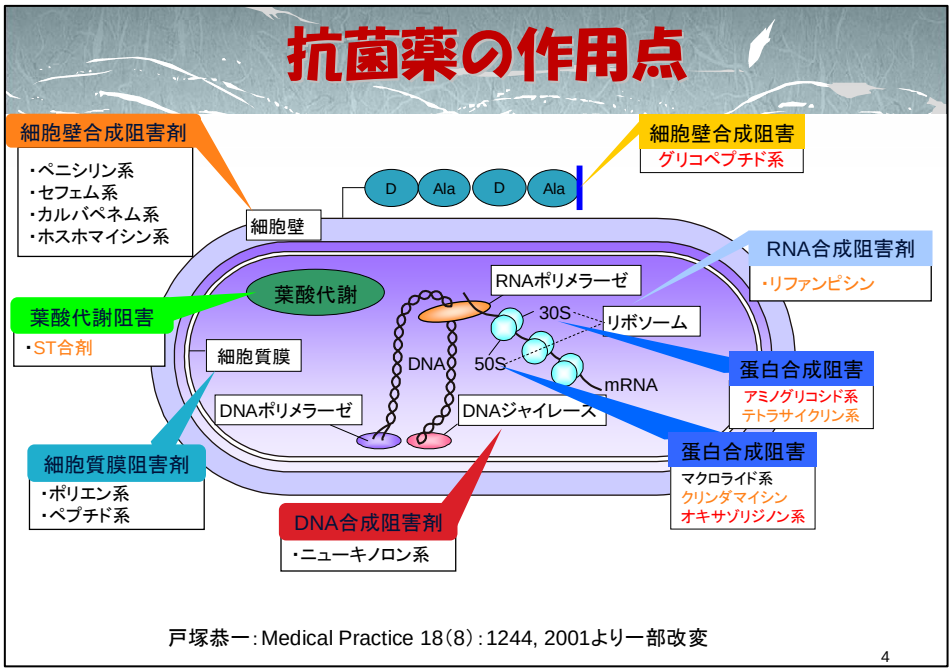
大阪警察病院　赤木　征宏

去る４月２７日、『これだけは知っておきたい抗 MRSA 薬の基礎』と題しまして、星ヶ丘厚生年金病院薬剤部の森田貴子先生にご講演を頂きました。先生が当日ご使用になられたスライドをお借りし、ご講演の内容をここに報告させていただきます。

【抗 MRSA 薬と抗 MRSA 補助薬】

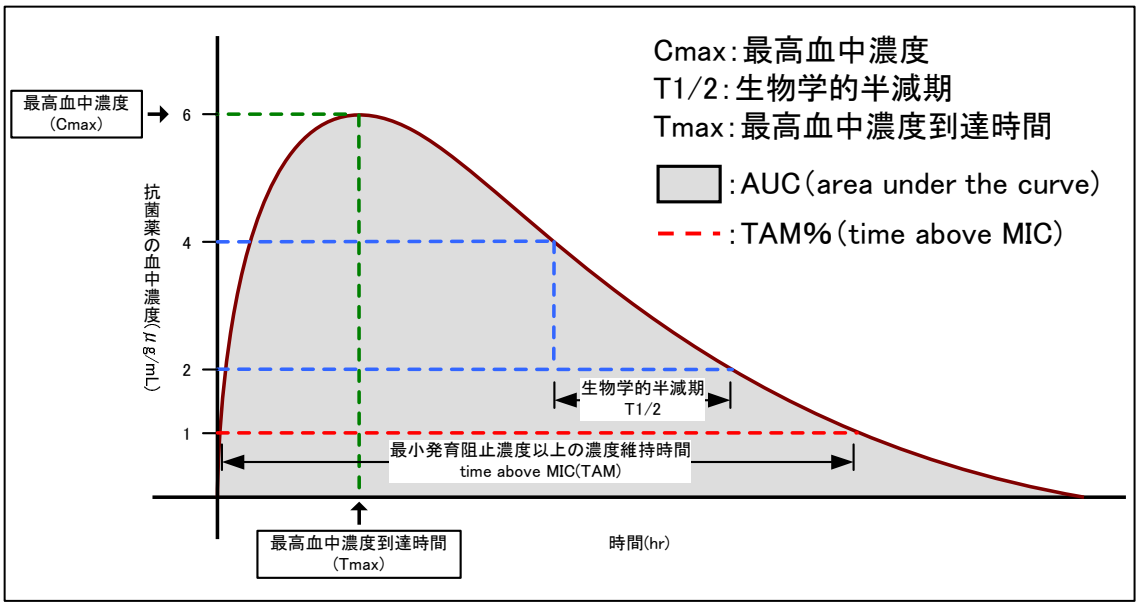
抗 MRSA 薬		抗 MRSA 補助薬
グリコペプチド系薬	バンコマイシン テイコプラニン	リファンピシン ＳＴ合剤 ミノサイクリン クリンダマイシン ホスホマイシン
アミノグリコシド系薬	アルベカシン	
オキサゾリジノン系薬	リネゾリド	

【抗菌薬の作用点】



【TDM の基礎・用語】

◆Therapeutic Drug Monitoring の略
◆日本語では治療薬物モニタリングあるいは薬物治療モニタリング。
◆治療効果や副作用に関する様々な因子をモニタリングしながら、それぞれの患者に個別化した薬物投与を行うこと
◆TDM が必要な薬剤
・血中濃度と治療効果・副作用発現が相関する薬剤
・治療域と副作用発現域が近く、副作用を起こしやすい薬剤
・薬物の吸収・分布・代謝・排泄に個人差が大きい薬剤
・濃度依存的に生じる副作用が重篤な場合



Cmax:薬剤の最高血中濃度　　Tmax:最高血中濃度到達時間
AUC (Area under the curve):抗菌薬が投与されてから 24 時間までの薬物血中濃度 - 時間曲線下面積
PAE (post antibiotic effect):MIC 以下の濃度での持続効果

Time above MIC% (%T>MIC):抗菌薬の血中濃度が標的菌の MIC 値を上回る時間の割合
AUC/MIC:AUC と MIC の比
Cmax/MIC:最高血中濃度が標的菌の MIC 値を何倍上回っているかを示す

【抗 MRSA 薬の使い分け】

①感染部位…患者の感染部位と各薬剤の臓器移行性を考慮
②患者背景を考慮…抗菌薬の投与歴、腎・肝機能障害、アレルギー歴など
③エビデンス…文献や症例報告などによる期待される治療効果

【バンコマイシン】

１．MRSA 感染症の第１選択薬･･･世界中で使用されており、エビデンスも多い。

２．組織移行（参考：抗 MRSA 使用の手引き/　日本感染症学会　日本化学療法学会）

●胸水、腹水への移行良好
●骨組織、関節液などにも移行：骨組織は移行がやや悪い（21～30%）
●肺組織へは血中濃度の 1/3～1/5 程度
●髄液には炎症の程度によって変化する（18～48%）；。：@
●胆肝系には移行は悪い：水溶性薬物のため

３．TDM が必要

●採血ポイント：４回目投与直前（トラフ値）＊ピーク値は必要に応じて測定
●推奨有効血中濃度：トラフ値で最低 10μg/ml 以上必要
・ MRSA 最小発育阻止濃度（MIC）＝１μg/ml の場合は、トラフ値 15～20μg/ml が必要となる。
●菌血症、心内膜炎、髄膜炎、骨髄炎、院内肺炎では、トラフ値 15～20μg/ml が必要となることが多い。
●トラフ値 20μg/ml 以上で腎機能障害が高率となる。
●AUC/MIC が指標とされてきている：AUC/MIC ≧ 400

４．腎機能障害患者には投与量注意

・腎排泄型薬剤･･･健康成人に 0.5 または 1g を 60 分間で点滴静注した場合、24 時間後に約 85%が尿中に排泄される。
・無尿患者においては半減期が７～９日となる（健康成人：４～６時間）。

５．副作用

●レッドマン症候群：投与時に上半身の蕁麻疹様の発疹、痒み、時に発熱などの症状が出現。ヒスタミン遊離作用によるもので、時間を掛けて点滴（60 分以上）することで回避できる。
●聴力障害：最高血中濃度が 50μg/ml 以上で出現（ガイドラインでは 40μg/ml）するといわれているが､最低血中濃度が 30μg/ml 以上が続くような場合でも注意が必要（Geraci らの報告では､1958 年に経験した症例において聴力障害をきたした患者の最高血中濃度は 80～100 であった)。聴力障害を起こす併用薬があれば、さらに注意を要する。
●腎毒性：血中濃度が著しく高いと腎機能障害は起こりやすい。腎毒性を有する併用薬がある場合は、さらに注意を要する。投与開始前と比較すると血清クレアチニンが上昇する症例は多い。
●薬剤熱：投与１週間ごろから出現。好酸球はあまり変化しないこともあり、CRP も白血球も上昇することあり
●好中球減少：投与半月から１ヶ月ごろから出現
●一過性肝機能障害：濃度依存性と言われている

６．併用注意薬剤

●腎毒性を有する薬剤
アムホテリシンＢ、非ステロイド性抗炎症薬、シクロスポリンなど

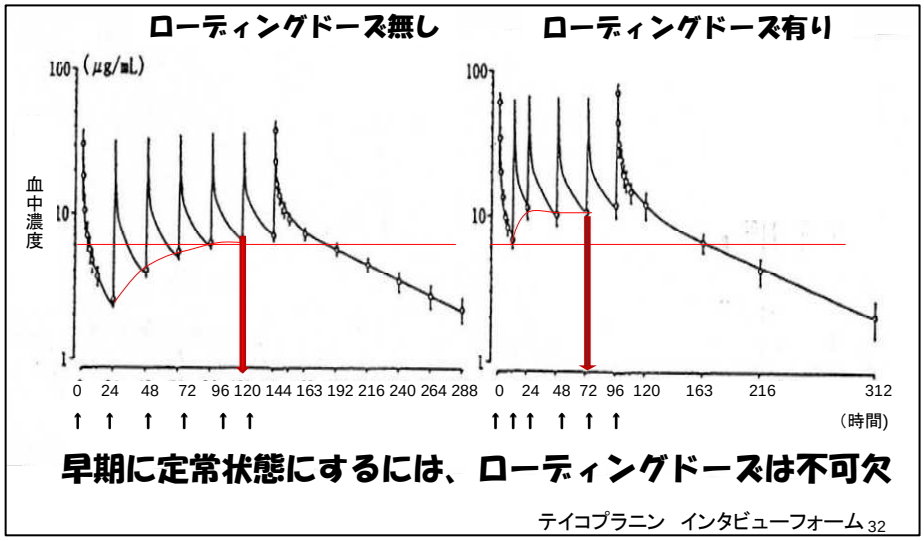
●腎障害、聴力障害を起こす薬剤
　　フロセミド、アミノグリコシド系薬剤、シスプラチン、カルボプラチン、
　　ネダプラチンなど
●全身麻酔薬
　　チオペンタール

7．“MRSA”だけに使用する抗菌薬ではない
●ペニシリン耐性肺炎球菌による髄膜炎
●*Enterococcus faecium*感染症
●β-ラクタムアレルギーの場合：手術前の予防的抗菌薬で使用　　など

8．注射薬と内服薬があり用途は異なる
●経口投与しても消化管からは吸収はされないため、バンコマイシン内服は腸管感染症のみに投与される：MRSA 腸炎、*Clostridium defficile*　腸炎

【テイコプラニン】

1．基本的にバンコマイシンと同じ攻め方
2．米国では使用されていないが、欧州では使用されている：６０ヶ国以上
3．投与方法に注意：
●早期に定常状態にするためにローディングドーズ（負荷投与量）が必要
例えば・・・初日：400mg を 2 回投与し翌日以降：400mg を 1 日 1 回投与する



4．組織移行
●心臓、肺組織、骨への移行良好
●髄液の移行は不良（VCM より移行不良）
●疣贅の内部には移行が不十分との報告あり
・心臓、心膜への移行は良好のようだが、疣贅（ゆうぜい：フィブリンや血小板、内膜に付着した細菌の塊）への移行が不十分と考えられ、そのため細菌性心内膜炎の治療成績が悪く、評価が安定しない。
●組織移行が遅い

●心臓組織：血清中濃度の 100～300%（約 1 時間後）
●肺胞被膜液：血漿中濃度の約 36%（24 時間後）
●骨組織：血清中濃度の約 120%（24 時間後）
●カテーテル関連血流感染症においては、バンコマイシンと同等の治療成績を上げている。

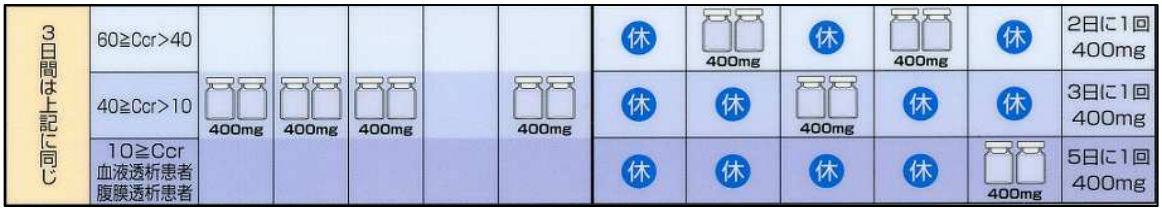
５．ＴＤＭが必要

●採血ポイント：ローディングドーズを行って投与開始 3～５日目の投与直前
●推奨有効血中濃度：トラフ値　10～20μg/ml（15～20μg/ml）
●投与量：
《添付文書》
初回 400 又は 800mg を 2 回に分け、以後 1 日 1 回 200 又は 400mg 投与。
《成人、正常腎機能の場合》
6mg/kg を最初の 3 回のみ 12 時間毎に投与。その後は同量を 24 時間毎投与。
●基本的には安全域が広いためピーク値の測定は不要であるが、効果確認のためにトラフ値測定は必要。

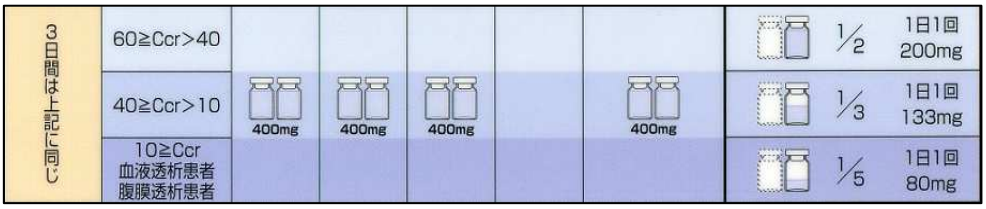
６．腎機能障害患者には注意

●腎排泄型薬剤（投与後 96 時間までの尿中排泄率は 54%）
●腎機能障害者への投与方法

《投与間隔での調節》



《投与量での調節》



７．副作用はバンコマイシンより少ない？

●全体的に VCM に比べて副作用は少ない
●レッドマン症候群：ヒスタミン放出が VCM より少ないが、30 分以上かけて点滴
●肝機能障害
・トラフ濃度が 20mg/L 以上になった症例において ALT,AST の値が投与前の 1.5 倍以上に上昇したとの報告がある。用量依存性と言われている
●聴力障害　●薬剤熱（1.8%）　●白血球減少（1.8%）
●腎毒性：1987 年から 1995 年までに報告された海外での比較試験論文を解析集計した結果、バンコマイシンが 10.7%に対してタゴシッドによる腎毒性発現率は 4.8%（28 例/585 例）であった。

８．併用注意薬剤

●腎障害、聴覚障害を増強する薬剤
・ループ利尿剤（フロセミド、エタクリン酸など）
・アミノグリコシド系薬剤　　・ペプチド系薬剤
・シクロスポリン　　・シスプラチン　　など

【アルベカシン】

１．日本でしか使用されていない

２．グラム陰性桿菌にも有効?

３．組織移行

●胸水、腹水、心嚢液、滑膜液への移行良好
●腎・尿路系の移行は良好
●それ以外の移行は悪い
●髄液にも移行は不良（VCM より移行不良）
●疣贅への移行は不良
●肺や気道のような低い pH の組織では活性が低下し、効果が得られにくい可能性

４．濃度依存的薬剤

●ハベカシンは濃度依存的に殺菌作用をしめすため、高い血中濃度が必要
●1 回に大量投与し、濃度を十分に上がることが重要（濃度依存性）
●2008 年 2 月に 1 日 1 回投与が承認された（それ以前は１日２回投与）
●1 日 1 回投与の理由：PAE 作用があるため、1 日 2 回と同等の効果あり
●1 日 1 回投与の方が腎毒性が少ない

５．TDM 必要

●採血ポイント：投与直前（トラフ値）と点滴終了 30 分後（ピーク値）
●推奨血中濃度：トラフ値　２μg/ml 以下（投与直前）
　　ピーク値　9～20 μg/ml（点滴終了 30 分後）
●投与量
《添付文書》
成人：1 日 1 回 150mg から 200mg を 30 分から 2 時間かけて点滴静注

※添付文書どおりの投与ではピーク値が有効な濃度に達しない場合も多く、
そのような場合は投与量 5mg/kg で 30 分で点滴。

●患者の状態把握：クレアチニンクレアランスの値は？感染部位は？
●トラフ値は副作用回避のために測定
●ピーク値は十分な効果をだすために測定：
ピーク値は、点滴時間や採血時間で血中濃度が大きく変化しやすいため注意
《点滴時間がもたらすピーク濃度の変化》

1 回投与量（mg）	点滴速度（時間）	投与間隔（時間）	予測ピーク濃度（μg/ml）
200	0.5	24	15.1
	1.0		13.8
	1.5		12.7
	2.0		11.8

６．腎機能障害者には注意

●腎排泄型薬剤：24 時間後、約 84%尿中に排泄
●原則禁忌；腎障害のある患者（添付文書より）

７．副作用

●腎毒性：可逆的だが、注意必要。腎障害がある場合はない場合に比べてリスクが高い。トラフ濃度上昇に伴って腎機能障害出現。

トラフ濃度（μg/ml）	1	2	5
腎障害発現率（%）	2.8	4.0	11.8

《注意点》
・腎障害発現の初期は非欠乏性（尿量は落ちない）
・高齢者や腎機能障害患者では、早期かつ高度に発現するため、治療前に腎機能を把握
・定期的な腎機能チェック
・総投与量が４ｇを超えないこと(1 日 2 回のデータ)
　総投与量が４ｇ以上になると腎障害発現率は５０％であるに対して、4g 未満では８％。トラフが ２μｇ／ｍｌ以下でも総投与量が４ｇ以上なると腎障害の発言が上昇することも報告されている。

●聴力毒性：感覚細胞が破壊されると、不可逆的になる。血中濃度が高いと内耳のリンパ管に蓄積しやすいためである。遺伝的な問題のある場合は、少量でも障害をきたしやすい。初期症状として高音の耳鳴りや平衡感覚障害など、特に高齢者においてはもともと聴力の低下等を持っていたりする場合も多いので見極めが難しい。

８．併用注意薬剤

●腎障害を起こす薬剤
　アムホテリシンＢ、非ステロイド性抗炎症薬、シクロスポリン、ヒドロキシエチルなど
●腎障害、聴力障害を起こす薬剤
　フロセミド、バンコマイシン、シスプラチン、カルボプラチン、ネダプラチンなど
●神経筋遮断作用を起こす薬剤
　筋弛緩剤、麻酔剤、(重症筋無力症)

【抗 MRSA 薬 TDM のまとめ】

薬剤	採血ポイント	トラフ濃度	ピーク濃度
バンコマイシン	トラフ値(投与直前)	10μg/ml 以上 15 から 20μg/ml	
テイコプラニン	トラフ値（投与直前）	10 から 20μg/ml (15～20μg/ml)	
アルベカシン	トラフ値（投与直前） ピーク値(点滴終了 30 分後)	2μg/ml 以下	9～20μg/ml

【リネゾリド】

１．TDM 不要：リネゾリド６００ｍｇを１日２回で色々な年齢、体重で検討した結果、安全域も大きく、効果に差が見られなかったことから TDM 不要

２．腎機能・肝機能障害者にも用量調節不要：代謝は肝臓、尿中に排泄

３．適応菌種は MRSA と VRE

●適応菌種：MRSA とバンコマイシン耐性 *E. faecium*
●グラム陰性菌桿菌は自然耐性
●MRSA に関して：肺炎、敗血症、皮膚・軟部組織感染症以外の感染症における有効性は確立していない

４．バイオアベイラビリティは約１００％

●内服でも注射でも同じ投与量で効果は同じ
※バイオアベイラビティ：生物学的利用率のことであり、内服した薬が血中に到達する割合をあらわしている。定義上、静脈注射された薬のバイオアベイラビリティは 100%となる。

５．組織移行も良好

●各臓器、組織移行良好
●肺、骨への移行良好
●肺胞被覆液：血漿中濃度の約 400%
●炎症水泡：血漿中の約 140%
●骨：血漿中濃度の約 60%

６．副作用

●血小板減少（19%）：可逆的。投与 14 日目頃から認められる。
●貧血（13%）、白血球減少（７%）：可逆的な副作用
※上記はリネゾリドによる骨髄抑制が原因で、これらに伴い皮下出血や歯肉出血などの出血傾向も表れる。
●視神経障害：28 日を超えて投与したときに現れることがある
●肝機能障害
●下痢、悪心、嘔吐（いずれも５%以上）
●頭痛（１０%以上）

７．併用注意薬剤

●リファンピシン：リネゾリドのＣｍａｘ及びＡＵＣが低下する
●アドレナリン作動薬：血圧上昇、動悸が起きることがある
●セロトニン作動薬：セロトニン症候群の症状（錯乱、せん妄、情緒不安定、振戦、発汗など）が現れる
●チラミンを多く含有する飲食物：チーズ、ビール、赤ワインなどは血圧上昇、動悸が現れることがある

８．高額薬剤：注射；17,861 円　　錠剤；13,005.90 円

【承認された適応症】

	VCM	TEIC	ABK	LZD
敗血症	○	○	○	○
感染性心内膜炎	○			
深在性皮膚感染症 慢性膿皮症		○		○
外傷・熱傷および 手術創等の二次感染	○	○		○
骨髄炎・関節炎	○			
肺炎・肺膿瘍・膿胸	○	○	○	○
慢性呼吸器病変の二次感染		○		
腹膜炎	○			
化膿性髄膜炎	○			

【その他抗 MRSA 補助薬の特徴】

1）リファンピシン

●菌周囲バイオフィルムを透過して内部の MRSA に到達して、速やかな作用を示す。
●胆汁、髄液、喀痰、皮膚に移行良好
●心内膜炎、人口弁感染や人工関節感染などで併用効果が示されている。
●単剤投与では短期間で耐性化しやすいため避けること
●副作用：発疹、肝機能障害、食欲不振
●相互作用が多い：酵素誘導による
●体液が赤くなる：涙、唾液、尿、糞便、汗から赤～ｵﾚﾝｼﾞ色に着色。

2）ＳＴ合剤

●喀痰、胆汁、皮膚、骨、髄液などに移行良好
●皮膚・軟部組織感染症、腫瘍などで併用
●腎臓から排泄されるため、腎機能障害者には減量が必要。
●副作用：消化器症状、発疹、高カリウム血症、顆粒球減少症の副作用が多い

3）ミノサイクリン

●皮膚・軟部組織感染症や腫瘍などで併用する
●感受性低下 MRSA 株の増加（約 50%）
●8 歳以下は原則禁忌（歯の永久的な色調変化、妊婦、授乳中の女性も避ける）
●制酸薬、ミルク、鉄剤、カルシウム、マグネシウム、アルミニウムの存在下では吸収が阻害さる。１～2 時間ずらして服用
●高齢者では前庭障害によるめまいなどがある

4）クリンダマイシン

●骨髄炎や軟部組織・蜂窩織炎などで長期に併用する
●髄膜には移行わるい
●高度に肝機能障害がある場合は、投与量を半量にする

●バイオアベイラビリティは 90%
●副作用：下痢
●30 分以上かけて緩徐に静注：急速な大量静注で、血圧低下、心電図変化、心停止の報告がある。

５）ホスホマイシン

●バイオフィルム破壊による抗 MRSA 主力薬の効果を増強するのが狙い。
●投与方法：抗 MRSA 薬投与 60 分前に２ｇ静注

＜ご講演を聞いて＞

「薬のことは薬剤師さんに任せとけ！」とお考えの方もいらっしゃるかも知れませんが、薬剤師さんほどの薬に関する知識が無くとも、我々も最低限のことは知っておく必要があると思います。今回は抗 MRSA 薬とその補助薬にターゲットを絞ったご講演で、とてもわかりやすく、改めてそれらを整理して覚える大変良い機会となりました。森田先生お忙しいところを本当にありがとうございました。

ぼくとおやじの知識箱

黒色真菌、Black molds（*Exophiala* 属の検査法）

大阪医療センター　佐子　肇

【はじめに】

Exophiala 属は、世界各地の植物、土壌、枯れ木などの環境中に腐生菌として広く分布している。感染は皮膚の軽微な外傷部から皮下組織に侵入し、発症する。臨床症状はメラニン色素性真菌に起因する皮膚の小結節、膿瘍、嚢腫であり、内臓転移は稀である。発症部位は露出部とくに上腕に好発する。本症の多くは糖尿病や免疫不全患者を侵す日和見感染症として認識が高まっている。わが国で最も高頻度に分離されるのは、***F. pedrosoi*** であり、全起因菌の７０％以上を占めている。ついで ***E. jeanselmei*** 、 *P. verrcosa*、*C. carioni* その他 *Alternaria* spp. などが分離されている。

1981 年 Ajello らは、黒色真菌症のなかの深在性真菌症を寄生形態よりｸﾛﾓﾌﾞﾗｽﾄﾐｺｰｼｽ chromoblastomycosis：**CBM** とﾌｪｵﾊｲﾌｫﾐｺｰｼｽ phaeohyphomycosis：**PHM** 及び 真菌性菌腫とに分類した。CBM と PHM の比率は５：１であるが、近年、PHM が増加傾向にある。CBM は皮膚、皮下組織内に肉芽腫性病巣を形成し、しばしば潰瘍化する慢性型の感染である。**PHM は糖尿病、白血病、及び造血器疾患などの基礎疾患を有する易感染患者が多くを占めている。**免疫不全患者では全身性に播種し、脳などの主要臓器に病変を生じることがあり、内臓転移例では（ときに健常者でも）予後不良である。PHM が増加傾向にあるのは、こうした易感染患者の増加と関係があるものと考えられている。**PHM** の原因菌として ***E. jeanselmei*** が増加傾向にある（表-1）。

今回、***Exophiala* 属**の同定法及び抗真菌薬感受性検査法について解説する。

表-1　病原性黒色真菌に起因する疾患

感染部位	病型	感染菌種
深部皮膚 （皮膚、皮下組織、深部臓器）	CM→ CBM	*Fonsecaea pedrosoi* *Phialophora verrucosa* *Exophiala dermatitidis* *Cladosporium carrionii* *Rhinocladiella aquaspersa*
	PHM	***Exophiala jeanselmei*** *Wangiella dermatitidis*（*E.dermatitidid*） （*Alternaria* spp.）*
	菌腫	***Exophiala jeanselmei***
表在性 （表皮、毛髪）	黒色癬	*Hortaea werneckii*

CM：chromomycosis　CBM：chromoblastmycosis　**PHM：phaeohyhomycosis**

表-２　*Exophiala* 属の鑑別表

	１％グルコース加 BHI	**CDA**（２７℃）発育	硝酸カリウム利用能	温度耐性（℃）		アネライド／分生子
				３５	**４２**	
E.d	**酵母形（溶けたチョコレート状）**	**不良**	－	＋	＋	*E. jeanselmei* とよく似ており、ピン形のアネライドや菌糸側壁から分生子が産生される。
E.m	菌糸形	＋	＋	＋	**d**	小型の球形、基部が膨らんで連鎖した小集塊を形成。分生子は１細胞性で、楕円形であるが、**ソーセイジ形**のものも見られる。
E.j	菌糸形	＋	＋	＋	－	*E. jeanselmei* とよく似ており、ピン形のアネライドや菌糸側壁から分生子が産生される。
E.s	菌糸形	＋	＋	＋	－	長ビンから坪形、先端部に鋭い棘のような突起がある。

E.d；*E.dermatitidis*　**Em；*E.moniliae***　**E.j；*E.jeanselmei***　**E.s；*E.spinifera***

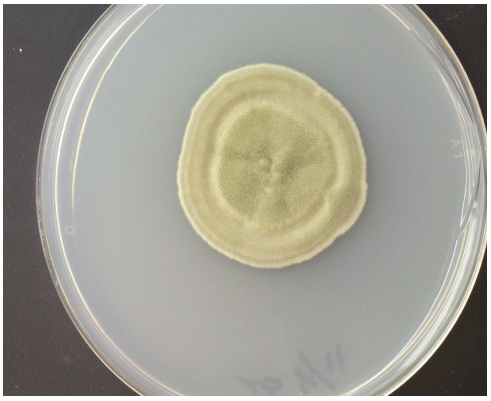
（**CDA**）；**Czapek-Dox 寒天培地**は培地に含まれる**硝酸カリウム利用能**を見る培地である。

d；42℃でも発育する株がある。

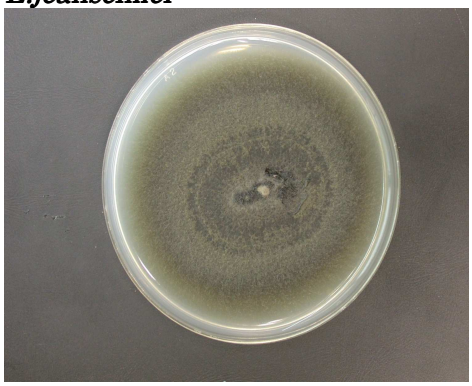
→ *Exophiala* 属４菌種の PDA 培地のｼﾞｬｲｱﾝﾄ集落

E.dermatitidis

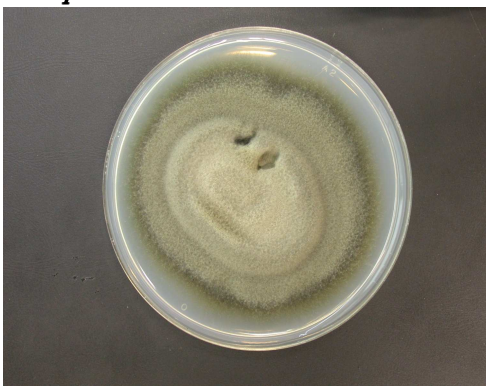
E.moniliae



E.jeanselmei



E.spinifera

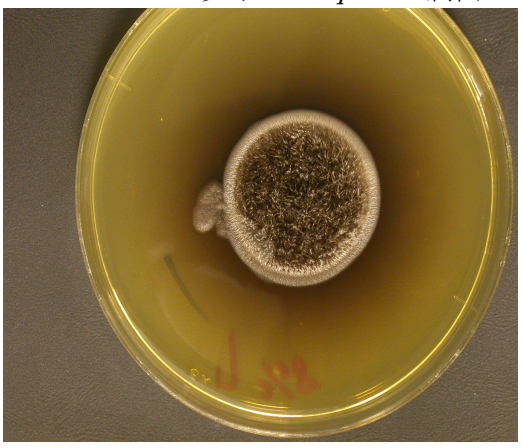


→ Brain heart infusion dextrose （1%） agar 、27℃、２５日間培養

E.dermatitidis

酵母形（ 溶けたチョコレート状 ）

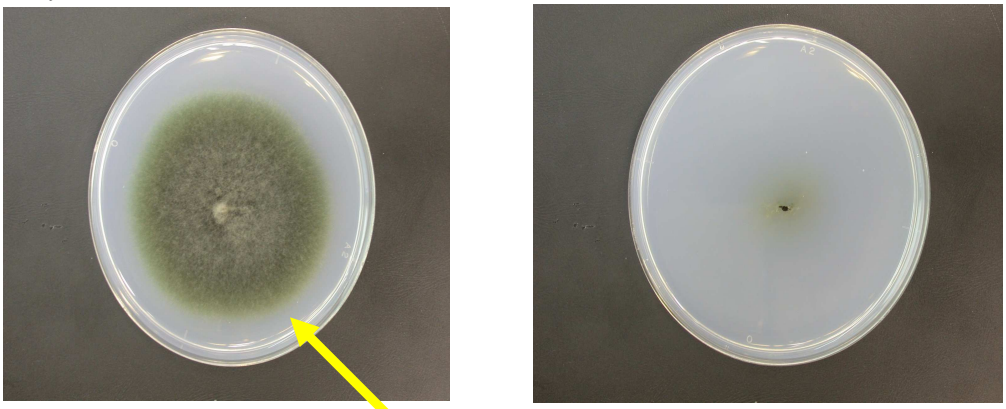
E.dermatitidis 以外の *Exophiala* 属菌



酵母様発育からやがて菌糸様集落に発育する

→　Czapek・Dox 寒天培地　（　ＣＤＡ　）、27℃、２５日間培養

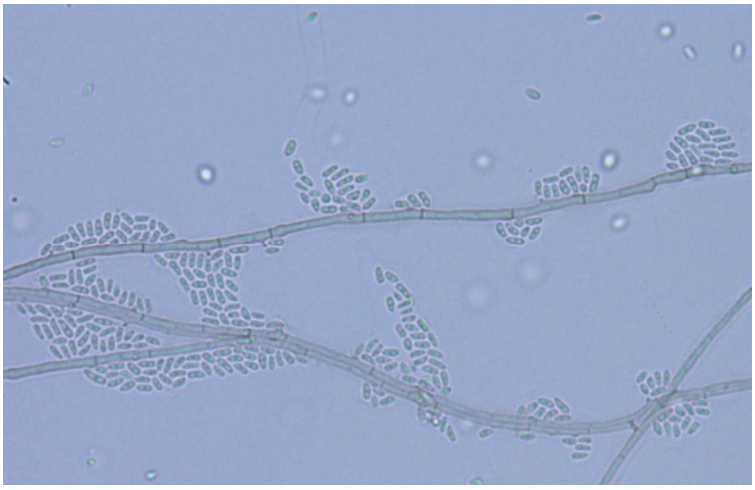
E.jeanselmei　　*E.dermatitidis*



硝酸カリウムを利用できるためＣＤＡ培地に発育良好（ 左 矢印 ）

→　スライド培養法

E.jeanselmei　　x400

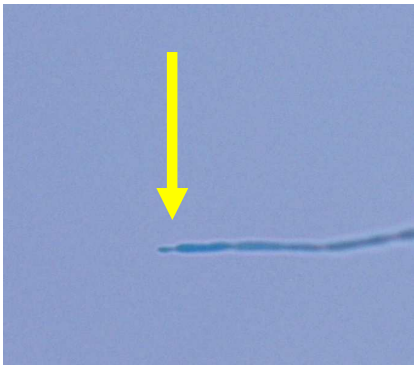


E.dermatitidis とよく似ており、ピン形のアネライド（環紋）や菌糸側壁から分生子が産生される。

E.moniliae　　x400

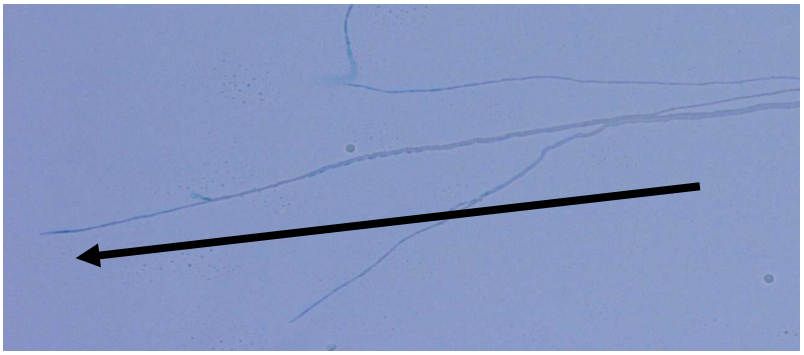
球形又は基部の方が膨らみ、連鎖したり枝分かれして小集塊をなしている。
分生子形成細胞は菌糸に側生するものは**球形**ないし**亜球形**で、分生子を産生するたびに、その分生子形成部位は先へ先へと伸長し、細長い管状で多少曲がった形態となる。

E. spinifera x400



アネライド先端に鋭い棘の様な突起が１本生じ、次々にアネロ形分生子を産生する（矢印）。

E.spinifera x400



分生子形成細胞の分生子形成部位が細長く先へ先へと伸長していることも特徴である。

【同定検査法のまとめ】

→*E. dermatitidis* と *E. jeanselmei* はよく似ているため、形態学的鑑別は困難である。両者を鑑別するには、**１％グルコース加 BHI 寒天培地**と **Czapek-Dox 寒天培地**併用による発育性状から容易に鑑別することができる（表-2)。

→*E. spinifera* は分生子形成細胞の分生子形成部位が**細長く先へ先へと伸長し**、また**先端部に鋭い棘のような突起**を持つアネライドが特徴である。

→*E. moniliae* は**４２℃でも発育する株がある**。アネライドは球形又は基部の方が**膨らみ**、**連鎖**したり枝分かれして**小集塊**をなしている。分生子形成細胞は菌糸に側生するものは**球形**ないし**亜球形**で、細長い管状で多少曲がった形態となる。分生子は１細胞性で、楕円形であるが、**ソーセイジ形～バナナ形**のものも見られる。

◎　**生育温度試験**は、*E. dermatitidis*（一部の *E. monilise*）が４２℃まで生育するので他の *Exophiala* 菌種と鑑別にはなるが、*E. jeanselmei*、*E. spinifera* も３８～３９℃まで生育できるため、鑑別にはあまり役立たない（表-2)。

Exophiala 属菌種は発育が遅いので同定検査に３週間以上の培養が必要である。

Exophiala 属の抗真菌薬感受性試験

（酵母真菌感受性キット（ASTY）を応用した *Exophiala* 属の感受性検査）

本キットは酵母を対象に行う試験で、**酵母は細菌と同様に単細胞の状態で発育・増殖する**のに対して、**糸状菌は分生子が発芽して生じた菌糸を伸ばして発育する**両者の発育形態の特徴がある。以下に *Exophiala* 属菌の抗真菌薬感受性試験応用例を示した。

（*Exophiala* 属の菌液作成及び接種法）

1、ポテトデキストロース寒天（PDA）培地に 25℃、5～7 日間培養したコロニーを用いる。

2、ガラスビーズ入り試験管に 0.1%Tween80 加滅菌生理食塩水　（T-生食液）1ｍｌを加え、湿らせた滅菌綿棒にコロニー表面の分生子をなぞって採取する。

3、30 秒以上、十分混和し懸濁する。

4、数分間静置後、上清菌液を別に取り生理食塩水（菌液調整用 A 液）　で **McFarland　0.5** に調整する。（菌濃度 10^8cfu/ml）

5、4 の調整菌液 200μｌに菌液調整用 A 液 2ｍｌを加え懸濁する。（菌濃度 10^7 cfu/ml ）

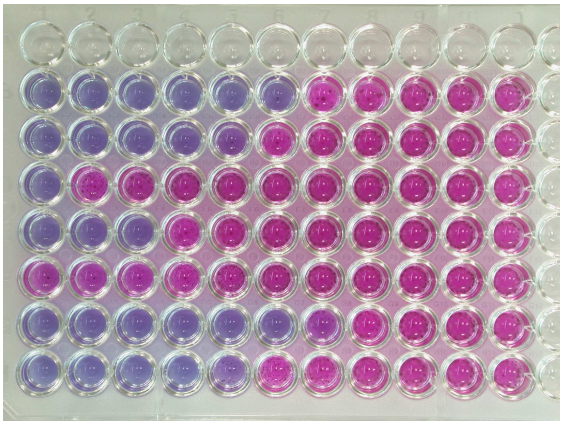
6、RPMI1640 培地 2ｍｌ（菌液調整用 B 液）に 5 の調整菌液 20μｌ加え、十分混和する。（菌濃度 10^5 cfu/ml）

7、レサズリン（酸化還元指示薬）添加 RPMI1640 寒天培地 11.4ｍｌ（接種用培地）に 600μｌ加え、十分混和する。（菌濃度 10^4 cfu/ml）

8、これを薬剤固層マイクロプレートに 100μｌずつ文注し、35℃、48～72 時間後に一次判定し（MCFG のみ判定をする）、発育コントロールが赤変した 96 時間培養後にすべての薬剤について目視判定した。

E. spinifera の抗真菌薬感受性試験ドライプレートの目視判定結果を示す。

（右）はリーディングミラーでのドライプレート目視判定結果を示す。



35℃、３～４日間培養。　３日目で中間判定、４日目で最終判定。

CLSI M27-A3 における抗真菌薬の *Candida* 属菌に対する感受性ブレークポイント

	感受性カテゴリー　MIC(μg／ml)				
	感性 (S)	S-DD	中等度耐性 (I)	耐性 (R)	感受性なし(NS)
＊AMPH	≦1		2－8	16≦	
FLCZ	≦8	16－32	－	64≦	
5-FC	≦4		8－16	32≦	
MCFG	≦2	－	－	－	
ITCZ	≦0.125	0.25－0.5	－	1≦	2＜
VRCZ	≦1	2		4≦	

＊：AMPH に関しては *Candida* 属菌に対する MIC とカンジダ症の治療効果との間に明らかな相関性は見られない。『 **S-DD：susceptible dose / delivery dependent** 十分な投与量で薬剤移行性のよい病変であれば感受性であるという MIC 域 』

Exophiala 属菌 10 株の ASTY を応用した抗真菌薬感受性試験結果（ **MIC μg/ml** ）

	Ed1	Ed2	Ed3	Ed4	Ej5	Ej6	Ej7	Es8	Es9	Em10
AMPH	0.25	0.25	0.06	0.25	1	1	1	0.5	0.12	0.25
5-FC	8	8	8	4	16	4	4	8	2	4
FLCZ	16	16	16	32	64	64	64	64	8	16
MCZ	2	0.5	0.5	1	2	4	2	4	1	1
MCFG	16≦	16≦	16≦	16≦	16≦	16≦	16≦	16≦	16≦	16≦
ITCZ	0.5	0.5	0.12	0.25	0.5	0.5	0.25	0.25	0.25	0.5
VRCZ	0.25	0.25	0.12	0.12	0.5	1	0.25	0.5	0.06	0.25

Ed ； ***E. dermatitidis***　Ej ； ***E. jeanselmei***　Es ； ***E. spinifera***　Em ； ***E. moniliae***

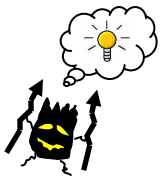
【抗真菌薬感受性検査法のまとめ】

Exophiala 属菌は、まれな感染症でもあるため、見逃されることがあり、抗癌剤使用患者や免疫抑制状態にある患者に、出現した嚢腫性病変では、本症を疑う必要がある。近年、外来で癌化学療法を受けている患者も多く、こうした免疫不全状態の患者の膿瘍性病変をみた場合、さらに深部臓器に及んだ場合には抗真菌薬療法を行う必要がある。治療は、抗真菌薬の単独内服では長期的にみて、効果が乏しく、ITCZ または５－FC 及び**外科的治療**の**併用が有用**とされる。しかし **ITCZ の無効例も報告されているので、抗真菌薬感受性検査は必要と考えられる。**今回、ASTY を応用した感受性試験の結果は、AMPH、ITCZ 及び VRCZ が感受性域と良好な結果を示した。以前は AMPH、5－FC の単独或いは併用が行われていたが、近年、有効とされた ITCZ に無効例も報告されたことから、第 2 選択薬として **VRCZ** の有効性が期待できると考えられた。

大阪赤十字病院
市村　佳彦

【問題】
寄生虫についての、正誤問題です。
正しいものには○、間違っている
ものには×を付けて下さい。

1、　蟯虫卵は透明で、柿の種の形に類似している。
2、　蟯虫卵の検査には、糞便が最も適している。
3、　糞線虫症は、ヒトは虫卵の摂取によって感染する。
4、　糞線虫の寄生世代の成虫は雌雄両方が存在する。
5、　糞線虫のＲ型幼虫は尾端部にＶ字の切れ込みがある。
6、　すべての吸虫類の成虫は、雌雄同体である。
7、　横川吸虫卵と肝吸虫卵は、大きさで区別がつく。
8、　横川吸虫・肝吸虫共に、第一中間宿主は淡水魚である。
9、　横川吸虫卵・肝吸虫卵共に、卵殻を有し内容はミラシジウムである。
10、　条虫類は、擬葉目・円葉目共に産卵門を有する。
11、　無鉤条虫・有鉤条虫共に、生活史の中ではヒトは中間宿主にも終宿主にもなる。
12、　赤痢アメーバの成熟シストの核の数は、4 個である。
13、　三日熱マラリア原虫感染赤血球は、感染前より大きくなりシュフナー斑点が見られる。
14、　四日熱マラリア原虫の生殖母体は半月状である。
15、　肝細胞内のヒプノゾイドが再発の原因となるのは、三日熱マラリアと熱帯熱マラリアである。



バイキンQuizの解答

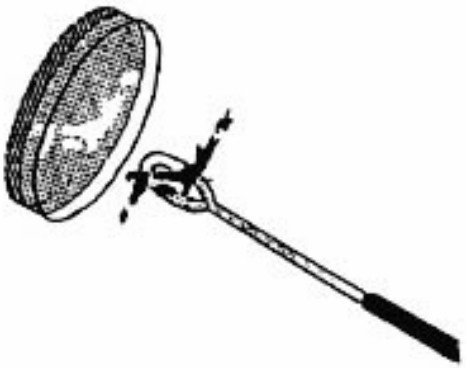
１、○
２、×…便中には殆ど排出されない、セロハンテープ肛門周囲検査法が適する
３、×…Ｆ型幼虫の経皮感染、肛門部での自家感染（Ｒ→Ｆ型幼虫）
４、×…寄生世代は雌のみ
５、×…Ｖ字切れ込みがあるのは、Ｆ型幼虫
６、×…住血吸虫類は雌雄異体
７、×…卵殻表面の亀甲状紋理と卵殻のコンマ状突起で区別（肝吸虫卵の特徴）
８、×…第一中間宿主は、淡水産巻貝
９、○
１０、×…円葉目は産卵門を有しない。
１１、×…無鉤条虫生活史の中ではヒトは終宿主のみ。
１２、○
１３、○
１４、×…半月状の生殖母体は、熱帯熱マラリア原虫
１５、×…三日熱マラリア原虫と卵形マラリア原虫

編集後記

梅雨入りしました。例年に比べて遅い梅雨入りのせいか、湿度だけでなく気温も高く、少し寝苦しい日々が続きますね。勉強会等で帰りが遅くなる日は、天気予報が雨でなくとも、折り畳み傘を持って出かけましょう。カビが生えたパンは食べないで、佐子先生のところに送りましょう…きっと同定してくれますよ。

【白金耳】　Vol.３１．No.６．2010.（平成 22 年６月号）
発行日：平成２２年６月１５日発行
発　行：大阪府臨床検査技師会　学術部　微生物検査部門
表　紙：井邊　幸子
発行者・編集：赤木　征宏（財団法人　大阪警察病院）
〒543-0035　大阪市天王寺区北山町 10-31
TEL：06 - 6771 - 6051　　e-mail：akg@oph.gr.jp

許可なく転載および複写はご遠慮下さい



白 金 耳

Vol. 31, No. 6（6月号）

大阪府臨床検査技師会

学術部　微生物検査部門