

## 話題の感染症

カンジダ・アウリス (*Candida auris*) 感染症  
— 初の真菌性新興感染症*Candida auris* infection — the First Fungus-causing Emerging Infectious Diseaseやま ぐち ひで よ  
山口 英 世  
Hideyo YAMAGUCHI

## はじめに

昨年(2016年)6月24日、米国の疾病管理センター(Centers for Disease Control, CDC)は、国内の医療施設に対して「患者から検出されるカンジダ・アウリス(*Candida auris*)を監視するように」との異例の警告を発した<sup>1)</sup>。この警告は、*C. auris*感染症が2009年以来世界の幾つもの国で見つかったことを周知させるとともに、米国では感染症例の報告はまだないものの2013年のサーベイランスで*C. auris*がすでに検出されていることから、*C. auris*感染事例が発生したら公衆衛生機関またはCDCに届け出ることを要請するものであった。さらにこの警告のなかでは、*C. auris*がフルコナゾール(FLCZ)その他複数の抗真菌薬に対して耐性すなわち多剤耐性(multiple drug-resistant, MDR)であること、感染患者の致死率がきわめて高いこと、アウトブレイクを起こすことなど、病院感染原因菌として大きな脅威をもたらす危険性への注意も喚起している。それから1週間も経たないうちに、今度は英国公衆衛生局(Public Health England, PHE)から、同国の複数の医療施設において*C. auris*が分離されたこと、そのなかの1病院の集中治療室(ICU)では本菌感染患者が40名を超すアウトブレイクが起こり、強力な感染防止対策が講じられたにもかかわらずそのアウトブレイクは今なお持続していることが公表された<sup>2)</sup>。とくにCDCの警告については、わが国のマスコミでも大きくとり上げられたのでご存知の方も少なくないと思われる。

うかつなことに、私自身は帝京大学医真菌研究センター(帝京大医真菌研)の研究仲間である榎村浩一

教授から知らされるまでこの驚くべきニュースにまったく気がつかなかった。いうまでもないが榎村博士はかつて佐藤一朗博士(現講師)とともに*C. auris*を*Candida*属の新種と特定した(2009年報告<sup>3)</sup>)研究チームの中心的メンバーである。そこで遅ればせながら私は榎村・佐藤両博士の協力を得て*C. auris*に関する文献を渉猟した結果、診断、治療および感染予防対策のすべてを困難にする特性を備えた本菌による病院感染、とくにアウトブレイクが、いかに深刻な問題をひき起こすかをあらためて認識させられたのである。

本文中で詳細を述べるように、*C. auris*による病院感染症やアウトブレイクの事例はこの7年ほどの間に隣国である韓国を含めて世界3大陸の多数の国から報告されている。幸いわが国での発生事例の報告はまだみられないものの、すでに国内で患者からの*C. auris*株の分離例がある以上、いつ同様の事態が起こっても不思議ではない。それに備えるためにも*C. auris*の病原体としての生物学的特徴ならびに本菌感染症の疫学的・病因論的特徴を理解しておくことはきわめて重要と考え、これまで得られた知見に基づいて概説する。

I. カンジダ属新種 *Candida auris* の  
分離と記載

1990年代に入ると欧米諸国においては深在性真菌症とくにカンジダ血症をはじめとする侵襲性カンジダ症の原因菌種の多様化が目立つようになり、抗真菌薬感受性の動向と合せて世界的規模の疫学調査が幾つも行われてきた<sup>4~8)</sup>。しかし、いずれのサーベイランスにおいても日本は調査対象に含まれてい

ないことから、私は国内での病原真菌、とくにカンジダ症原因菌、についての疫学的状況を経年的に調査・解析する必要があると考え、全国十数ヶ所の大規模病院微生物検査室の参加を得て2001年に帝京大医真菌研をまとめ役とする Antifungal Surveillance Program (JASP) を発足させた。このプログラムのもとに、2001/2002年、2003年、および2005年の3回にわたって各年の特定期間中に患者検体から分離された真菌菌株の菌種同定および抗真菌薬感受性測定が行われた<sup>9-12)</sup>。

その結果、当該年にそれぞれ555株、389株および541株、合せて1,468株の *Candida* 属菌分離株が収集された。そのうち2005年に収集された1株を除くすべての分離株は *C. albicans* をはじめとする11の既知病原菌種のいずれかであることが通常の生化学同定検査および／または分子生物学的同定検査によって判明した。唯一残った同定不能株は、東京都内にある医療施設の入院患者(70歳、女性)の外耳道分泌物からの分離株であり、同施設の検査部から菌種不明の *Candida* sp. として送られてきた菌株であった。この分離株を同定するために、病原真菌の分子生物学分野のエキスパートである榎村・佐藤両博士のもとで詳細な分子系統解析が進められた。

得られた結果は意外なものであった。大サブユニット(LSU) rDNAのD1/D2ドメインやITS領域のシーケンシングのデータなどから、この分離株は *Metschnikowiaceae* 科に属する *Candida ruelliae* および *Candida haemulonii* と近縁な系統関係をもつ *Candida* 属の新種であることが判明し、*Candida auris* Satoh & Makimura sp. nov. の正式菌名で2009年に承認・記載された(*auris*は耳を、*species nova*の略語である *sp. nov.*は新種を、おのおの意味するラテン語)<sup>3)</sup>。それ以降、この菌株は *C. auris* の基準株(type strain)として世界の主な系統保存機関(わが国では理化学研究所微生物系統保存施設[JCM]; 株番号JCM15448T)に保存され、*C. auris*の研究や同定検査に広く世界中で利用されている。

*C. auris*の発見当初は、私達は潜在的病原性をもつまれな non-*albicans* *Candida* 菌種がまた1つ増えたぐらいにしか考えなかった。それというのも近年 *Candida* 属新種記載ラッシュが続いていたからである。酵母分類学の標準書といわれる「The Yeasts, A Taxonomic Study」に記載されている *Candida* 属菌

種の数は、第4版(1998年版)の163種から第5版(2011年版)では365種へと13年間に倍増し、202種もの新種が収載された<sup>13)</sup>。この急速な新種増加のトレンドはその後も続き、Daniel et al.<sup>14)</sup>が2014年に報告した論文では *C. auris* を含む69種がさらに追加されている。私達が *C. auris* を病原菌種としてさほど重視しなかった理由はほかにもあった。(i)臨床検体からの分離頻度がきわめて低いこと、(ii)試験したすべての抗真菌薬に感性であること、(iii)感染菌というよりはむしろ定着菌とみなされること、などである。とくに(i)の問題に関していえば、JASPサーベイランスにおける *Candida* 属菌全分離株中で占める *C. auris* 株の割合は5年間の全期間を通してみた場合にはたった0.07%(1/1,486)、この菌株が分離された第3回(2005年次)に限った場合でも0.2%(1/541)、ときわめて低い<sup>11,12)</sup>。この結果に基づいて、2012年に本誌に掲載された「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」と題する解説文のなかで私は *Candida* 属菌種やカンジダ感染症に関するこの種のレビューやサーベイランス報告としては世界で初めて *C. auris* を登場させた(ただし分離頻度については最も低いランクに位置づけた)<sup>15)</sup>。その時は、まさか *C. auris* が数年後に世界を震撼させる侵襲性感染症のアウトブレイクを起こすことになるとは思いもしなかった。

## II. *C. auris* 感染症の疫学

前述した通り、わが国でひとりの入院患者の外耳道から分離されたカンジダ属の新種が *C. auris* の菌名で初めて記載されたのは2009年のことである<sup>3)</sup>。隣国である韓国では、その同じ年に *C. auris* による15名の中耳炎症例が確認され<sup>16,17)</sup>、続いて2年後の2011年には本菌によるカンジダ血症3例が報告された<sup>18)</sup>。これを皮切りに、現在まで5年ほどの短い間に世界の多くの国や地域での *C. auris* によるカンジダ血症を含む血流感染症(BSI)その他の侵襲性感染症(すべて病院感染として発生)が相次いで報告または確認されるようになった。表1は、インド、クウェート、UK、南アフリカ、ベネズエラ、米国、イスラエル、およびコロンビア各国の病院で発生した事例についての報告の要点を年代順に収載したものである<sup>3,16-31)</sup>。そのほかにも2013年以降にパキス

タン(2病院、18症例、2015年)<sup>32)</sup>をはじめ、ケニア<sup>33)</sup>、ブラジル、スペインなどでも *C. auris* による BSI の発生事例があったことが知られている。このように *C. auris* 侵襲性感染症の蔓延は、東アジア、南アジア、中近東、アフリカ、ヨーロッパ、北米、南米、といった世界のほとんどの地域に及んでいる。しかも表 1 にあげた事例の大半は当該国で最初に確認されたからこそ論文として報告されたと考えられ、未発表の *C. auris* 感染症の発生は件数、罹患者数ともそれを上回っていることは疑いない。加えて、*C. auris* が通常の生化学的検査法では同定できないことを考慮するならば、流行の地域範囲や規模はさらに大きくなるはずであり、早急な疫学的状況の把握が求められる。

この問題に関連して、Lockhart et al.<sup>32)</sup> は、*C. auris* 感染症の流行が近年はじめて起こり出したのかどうかを明らかにするために、文献検索と合せて世界の主な微生物株系統保存施設に問い合わせを行った。その結果、現在知られる最も古い *C. auris* 株は韓国の施設に保存されていた 1996 年に BSI を発症した小児患者(表 1、事例 No.3)<sup>18)</sup> からの分離株であることが判明した。Shin et al.<sup>34)</sup> は、1996 年～2010 年の期間に韓国の 7 大学病院で分離された *C. auris* 株 (n=20) を用いて抗真菌薬感受性測定を行った成績を報告している。一方、Lockhart らの研究グループは、2008 年にパキスタンで分離された菌株(当初 *Saccharomyces cerevisiae* と誤同定)<sup>35)</sup> を *C. auris* と同定したものの、韓国以外では 2009 年以前に *C. auris* が分離されたという報告を見つけることができなかった<sup>32)</sup>。また Pfaller et al.<sup>36)</sup> は、SENTRY とよばれる全世界の 152 医療機関(アジア、n=41;ヨーロッパ、n=50;ラテンアメリカ、n=15;北アメリカ、n=46) が参加した国際的抗真菌薬サーベイランスにおいて 2004 年～2015 年の期間に収集されたカンジダ血症分離株 15,271 株のうち 2009 年以降の分離株を対象に分子生物学的手法(後述)による再同定を行った。その結果、*C. auris* と同定されたのはたった 4 株(2009 年、2013 年、2014 年、2015 年各 1 株)のみであった。また UK の Mycological Reference Laboratory (MRL) 保存株の調査でも 2013 年以前の *C. auris* 分離株は見当らなかったという<sup>26)</sup>。これらの報告からは、*C. auris* の感染またはコロナイゼーション(定着)が東アジア地域(日本/韓国)ではす

でに西暦 2000 年前後に起こっていたのに対して、その他の地域で確認されたのは 2009 年以降であることが推測される。

*C. auris* による侵襲性感染症(とくに BSI)の疫学的特徴は、この菌が同じ病院内で水平伝播するのみならず特定の国または地域では別の病院へも伝播すること、そして何よりも院内アウトブレイクを起こすことである。これは *C. auris* の感染機序が、患者の腸管内や粘膜・皮膚表面などに常在して内因性感染を散発的にひき起こす他の *Candida* 属菌種の場合<sup>37)</sup> とは明らかにことなることを示している。この問題については次項であらためて触れる。

これまで報告された最大規模の *C. auris* 感染のアウトブレイクは、ロンドン市内にある心臓・胸部外科専門の 1 病院(296 床)で起こった事例(表 1、No.14)である。これを報じた Schelenz et al.<sup>31)</sup> の論文には、1 年を超す長期間にわたる新しい症例の出現状況と感染予防対策の詳細が記述されている。その点では他に例をみない多くの教示に富む報告なので、以下に概略を紹介する。

2015 年 4 月に始まったそのアウトブレイクは 16 ヶ月後の 2016 年 7 月現在なお進行中であり、この間の症例数は 50 例(女性 17 例、男性 33 例、平均年齢 53 歳、年齢範囲 19～78 歳)に達している。第 1 例は内科-外科混合成人 ICU(20 床)に収容されていた術後患者であり、胸骨の術創から *C. auris* が分離された。1 週間も経たないうちにその隣のベッドの患者の喀痰が *C. auris* 培養陽性になり、やがて血管カテーテル関連感染を発症した(第 2 例)。第 1 例からの水平伝播が疑われたが、明らかな感染源は見つからず、12 ヶ月前に遡って調べた微生物学的検査のデータを検索しても *C. auris* はどの患者からも分離されていなかった。1 ヶ月間を置いた 2015 年 6 月、さらに 2 名の ICU 患者が *C. auris* を保菌していることが判明し、アウトブレイクが確実になったことから、伝播経路を特定するための院内環境の徹底的な微生物学的検索と合せて標準的な感染防止対策が講じられ、臨床検体からの *C. auris* のプロスペクティブサーベイランスや *C. auris* 陽性患者および接触物のスクリーニング、さらには陽性患者隔離の措置もとられた。しかし 3 ヶ月後の 2015 年 10 月から再び新しい症例が毎月 1～10 例発生するようになり、現在(2016 年 7 月)に至っていると

表1 これまで報告された *C. auris* の病院内検出事例および分離株の薬剤耐性 (2017年6月現在)

No.	時期(年・月)	C. aurisが検出された:		分離株数 (症例数)	抗真菌薬耐性率*					報告	
		病院所在地 (国、都市など)	検体		FLCZ	VRCZ	ITCZ	AMPH	5-FC		MCFG- CPFG
1	2005年6~7月	日本、 東京都の1病院	外耳道	1(1)	0	0	0	-	0	-	Satoh <i>et al.</i> (2009) <sup>3)</sup>
2	2004年5月~ 2006年12月	韓国、 5大学病院	耳(中耳炎)	15(15)	2+	V	0	0	-	0	Kim <i>et al.</i> (2009) <sup>16)</sup> Oh <i>et al.</i> (2011) <sup>17)</sup>
3	2009年	韓国、 3大学病院	血液	6(3)	V	0	V	0	-	0	Lee <i>et al.</i> (2011) <sup>18)</sup>
4	2009年~ 2011年	インド、 デリー市の2病院	血液	12(12)	4+	0	0	0	0	0	Chowdhary <i>et al.</i> (2013) <sup>19)</sup>
5	2011年2月~ 12月	インド、 グルガオン市 (Gurgaon)の1病院	血液	15(15)	4+	2+	-	4+	0	-	Sarma <i>et al.</i> (2013) <sup>20)</sup>
6	2011年11月~ 2013年6月	インド、 南部地方の1病院	血液、壊死組織、 気道	15(11)	4+	3+	0	1+	2+	1+	Chowdhary <i>et al.</i> (2014) <sup>21)</sup>
7	2012年10月~ 2013年10月	南アフリカ、 4病院	血液	4(4)	4+	2+	0	0	0	0	Magobo <i>et al.</i> (2014) <sup>22)</sup>
8	2012年3月~ 2013年7月	ベネズエラ、 マラカイボ市の 1大学病院	血液	8(8)	4+	4+	-	2+	0	0	Calvo <i>et al.</i> (2016) <sup>23)</sup>
9	2013年	インド、 北部地方の1病院	外陰陰炎	1(1)	0	0	4+	0	-	-	Kumar <i>et al.</i> (2015) <sup>24)</sup>
10	2013年	UK	血液	2(2)							Borman <i>et al.</i> (2016) <sup>25)</sup> , (2017) <sup>26)</sup>
11	2014年5月	クウェート 1病院	血液	1(1)	4+	0	-	0	-	0	Emara <i>et al.</i> (2015) <sup>27)</sup>
12	2014年5月~ 10月	イスラエル、 テル・アビブ市の 1病院	血液(n=5)または 中心静脈カテー先(n=1)	6(2)	4+	0	0	2+	0	0	Ben-Ami <i>et al.</i> (2017) <sup>28)</sup>
13	2013年5月~ 2016年8月	米国、 東部4州の6病院	血液	7(7)	3+	-	-	1+	-	1+	Vallabhaneni <i>et al.</i> (2017) <sup>29)</sup>
14	2016年2月~ 7月	コロンビア、 北部の6病院	血液(n=13)、腹腔液・ 髄液・骨・尿(n=4)	17(17)	3+	1+	-	3+	-	0	Morales-López <i>et al.</i> (2017) <sup>30)</sup>
15	2015年4月~ 2016年7月 現在	UK、 ロンドン市の1病院	血液、創傷スワブ、 尿、血管カテー先、糞便、 皮膚検体(鼻、腋下、 臀部など)環境検体	50(50)	4+	-	-	V	0	0	Schelenz <i>et al.</i> (2016) <sup>31)</sup>

\* FLCZ, フルコザゾール(fluconazole); VRCZ, ポリコナゾール(voriconazole); ITCZ, イトラコナゾール(itraconazole); AMPH, アムホテリシンB(amphotericin B); 5-FC, フルシトシン(flucytosine); MCFG, ミカファンギン(micafungin); CPFG, カスポファンギン(caspofungin); 各薬剤に対する耐性率(全株中の耐性株の比率)のカテゴリー: 4+, 90~100%; 3+, 60~90%; 2+, 40~60%; 1+, 10~40%; 0, 10%未満; -, データなし; 耐性の判定法については「V. *C. auris*の抗真菌薬感受性」の項を参照のこと。

いう。この報告は、一旦 *C. auris* のアウトブレイクが発生したらその感染拡大の防止がいかに困難かを如実に示している。

これまでのところ最も多くの *C. auris* BSI の症例が報告されている国はインドである。この国におけるカンジダ血症原因菌種のなかで *C. auris* が占める割合について Chowdhary らの研究グループは、最初の事例 (表 1, No.4)<sup>19)</sup> では 30%、次の事例 (表 1, No. 6)<sup>21)</sup> では 8.6%、と報告している。Chakrabarti et al.<sup>38)</sup> は、インド国内の 27 ヶ所の ICU 施設において、2011 年 4 月～2012 年 9 月の期間中に発症したカンジダ血症 1,400 例についてのプロスペクティブな疫学研究を行った。解析の結果、*C. auris* は 19 施設で分離され、全カンジダ分離株の 5.2% を占め、この分離比率は *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* といった主要な 7 菌種 (合計分離比率 92.8%) を除けば最も高いことが示された。

表 1 には、各事例における *C. auris* 分離株の主要抗真菌薬に対する耐性パターンも示されている。詳

細は別の項 (「V. *C. auris* の抗真菌薬耐性」) にゆずるが、ほとんどすべての分離株が FLCZ 耐性であることに加えて、それ以外の抗真菌薬に対する耐性も合わせて示す菌株、つまり多剤耐性 (MDR) 菌株、が少なくないことがとくに注目される。

### Ⅲ. *C. auris* の分子系統的特徴

*C. auris* は、子囊菌門 (*Ascomycota*)、サッカロミセス亜門 (*Saccharomycotina*) のなかのメチニコワ科 (*Metschnikowiaceae*) に含まれるカンジダ属の新種であり、分子系統的には *Candida haemulonii*, *Candida pseudohaemulonii*, *Candida duobushaemulonii*, *Candida ruelliae* などと密接な類縁関係をもつ<sup>3, 17)</sup>。この理由から、これらの菌種を一括して *C. haemulonii* 複合群 (complex) と呼ぶことがある。各菌種が系統分類学的に近縁関係にあることは、図 1 に示す樹系図からも明らかである。

佐藤、楨村両博士ら<sup>3)</sup> が *C. auris* を新種として記

28S D1/D2 NJ tree

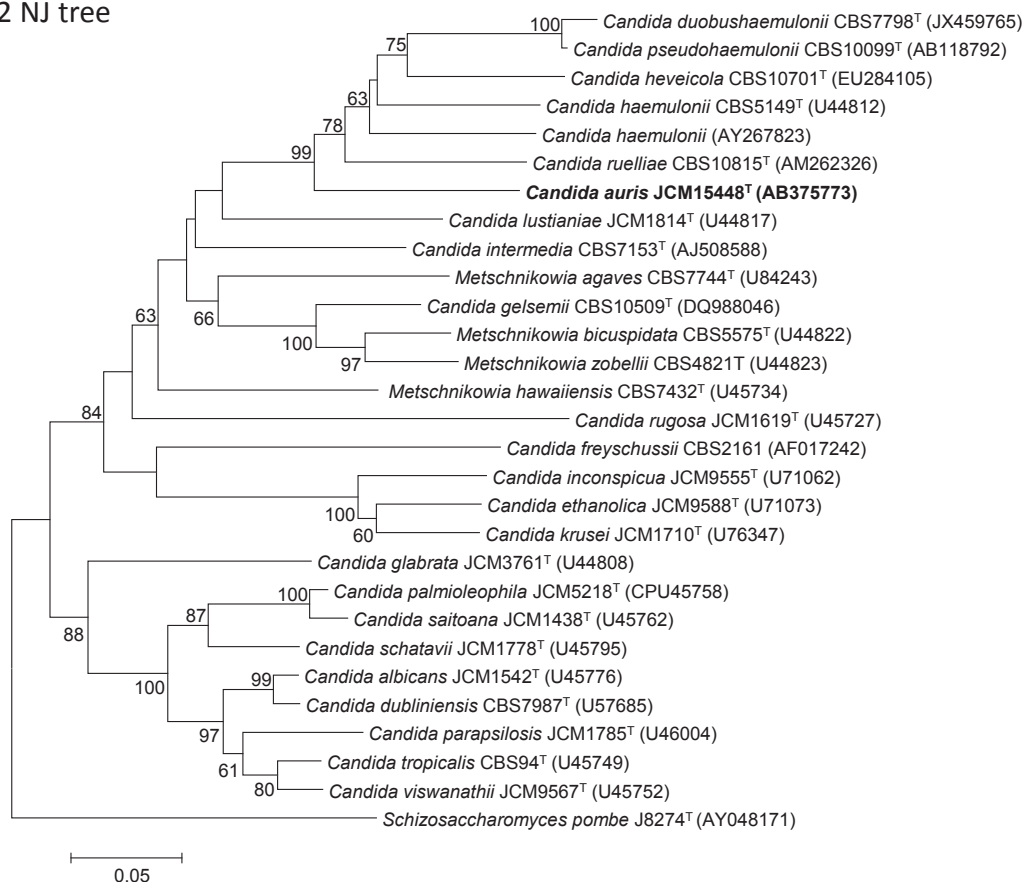


図 1 LSU (28S) rDNA D1/D2 領域シーケンスの近隣結合法による解析に基づいて作図した *C. auris* と近縁菌種との系統関係を示す樹系図 (楨村浩一博士 提供)。

載する根拠となった LSU rDNA D1/D2 領域および ITS 領域の本菌特異的な塩基配列 (シーケンス) は、*C. auris* 同定のゴールドスタンダードとされ、これまで世界中から報告された病院アウトブレイク事例における *C. auris* 感染患者分離株の同定にはほとんど例外なく用いられてきた。またこのシーケンスや、フィンガープリント法、MLST 法 (multilocus sequence typing)、AFLP 法 (amplified fragment length polymorphism) などの分子生物学的方法によるデータに基づいて樹系図が作製され、分離株の分子系統解析もなされた。その結果は、韓国<sup>18)</sup>、インド<sup>19-21)</sup>、南アフリカ<sup>22)</sup>、ベネズエラ<sup>23)</sup>、イスラエル<sup>28)</sup> および UK<sup>31)</sup> の各事例の報告 (表 1) に、さらにその他のインド分離株<sup>38, 39)</sup> やパキスタン分離株<sup>32)</sup> について解析した報告にも示されている。いずれの事例においても同じ国のなかならば病院の所在地が離れていても、すべての分離株がまとまったクラスターをつくることが認められた。またこれによって特定クローン株の病院内伝播のみならず病院間伝播も実際に起こったことも明らかになったのである。

同様の手法に基づいて、異なる国または地域からの分離株同士での分子系統学的比較解析も数多く行われた。それらの成績からは、国や地域間で遺伝子型/分子系統の類似性の程度にさまざまな違いがあることが確認されている<sup>19-23, 27, 29, 32, 39-41)</sup>。さらに最近では、上述の AFLP 法や MLST 法に比べてクローン識別能のより高いドラフトゲノムまたは全ゲノムのシーケンシング (whole genome sequencing, WGS) に基づく樹系図を用いた分子系統解析も行われるようになった。その結果、上述したような一部の遺伝子の配列や遺伝子型に基づいて得られた知見があらためて確認されることとなったし<sup>34, 42-44)</sup>、米国東

部の 3 州 (ニューヨーク州、ニュージャージー州、メリーランド州) の分離株が同一遺伝子型であることも判明した<sup>29)</sup>。

これらの分子系統解析データをまとめると以下のようなになる。(i) これまで世界各地で分離された *C. auris* 株は地域別に次の 4 つの主要なクレード (clade) に分けられる: ①南アジア (インド/パキスタン/マレーシア)、②南アフリカ、③南米 (ベネズエラ)、④東アジア (日本/韓国)。(ii) 米国 (東部 3 州) 分離株は南アフリカ分離株と、イスラエル分離株とクエート分離株はインド分離株と、おのおの同じかまたは近似する遺伝子型をもつ。(iii) これらの国・地域ごとに特定の単一クローン系統の菌株のみが優勢であるが、UK では例外的に 2013 年以降に上記の (i) に示した①、②、④の 3 つのクレードの菌株が何回にも分けて別々に持ち込まれたものと考えられる<sup>26)</sup>。(iv) 異なるクレード間での遺伝子の構造分散性 (diversity) が他の *Candida* 属菌種よりも大きいことから、最近になって単一クローン株が世界的に蔓延したというよりはむしろ各クレードのクローン株が世界の少なくとも 4 つの地域でほぼ同時に独立的に出現した可能性が強く示唆される。

インドの 2 つの異なる地域の病院でいずれも *C. auris* による侵襲性感染を受けた患者からの分離株のドラフトゲノムシーケンスに基づいて *C. auris* ゲノムの基本的特徴を調べた研究がいくつかある。VPCI479/P/13 株を用いた Sharma et al.<sup>43)</sup> は、ゲノムサイズ 12.3Mb、GC 含量 44.8% と報告した。続いて Chatterjee et al.<sup>42)</sup> は Ci6684 株を用いてより詳細な解析を行い、ゲノムサイズ 12.5Mb、染色体数 99、GC 含量 44.53%、遺伝数 8,353 と報告している。こうした *C. auris* ゲノムの基本的な特徴を既知の主要な *Candida* 病原菌種と比較したものを表 2 に示す。

表 2 *C. auris* ゲノムの基本的特徴と既知の *Candida* 属病原菌種ゲノムとの比較<sup>a)</sup>

菌種・菌株名	ゲノムサイズ (Mb)	染色体数	GC 含量 (%)	遺伝子数
<i>C. auris</i> Ci 6684	12.5	99	44.53	8,358
<i>C. albicans</i> SC5314 <sup>b)</sup>	28.6	17	33.43	12,869
<i>C. dubliniensis</i> CD36	14.6	8	33.25	5,992
<i>C. tropicalis</i> MYA-3404	14.6	23	33.01	6,258
<i>C. orthopsilosis</i> Co 90-125	12.7	8	36.93	5,766
<i>C. guilliermondii</i> ATCC 6260	10.6	9	43.62	5,920
<i>C. lusitaniae</i> ATCC 42720	12.1	9	44.37	5,941
<i>C. glabrata</i> CBS 138	12.3	14	38.62	5,235

a) Chatterjee et al.<sup>42)</sup> を一部改変。

b) 2 倍体としての数値を示す。

*C. auris* のゲノムは、他の *Candida* 属菌種のそれと比べるとゲノムサイズが似ているものの、染色体数や遺伝子数が多い点で特徴的である。さらにドラフトゲノムの解析からは、細胞壁構築、栄養獲得、2成分制御系、組織侵襲性、酵素分泌などにかかわる遺伝子の存在が明らかになっている<sup>42)</sup>。いずれも *Candida* 属病原菌種に共通する遺伝子であり、さまざまな環境に適応して病原性を発揮する機能に関与していると考えられる。またアゾール系その他の抗真菌薬に対する耐性に関与する遺伝子も確認されている（「V. *C. auris* の抗真菌薬耐性」の項参照）。

#### IV. *C. auris* の表現型の特徴と同定検査

*C. auris* 株は、サブローデキストロース寒天培地に 37℃ で培養すると良好に発育し、鈍白色ないしはクリーム色のスムーズ型コロニーをつくる。42℃ まで良好な発育がみられるが、45℃ では発育しない。一方、*C. auris* がしばしば誤同定される相手となる近縁菌 *C. haemulonii* の菌株は 35℃ での発育は良好なもの、40℃ 以上では発育がみられないので、両菌種を識別することができる。*C. auris* 株は、0.01～0.04% シクロヘキシミド含有培地（例、マイコセル寒天）には発育しない。*C. auris* 培養を鏡検すると、円形、卵円形または楕円形を呈する小型の出芽酵母細胞が単独かまたは大小さまざまな集簇をつくって

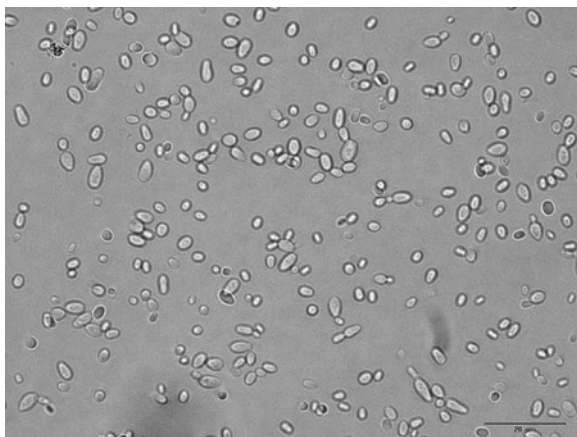


写真1 *C. auris* 日本分離株（基準株 JCM15448<sup>T</sup>）の鏡検像。グルコース・酵母エキス・ペプトンブロスに 25℃、3日間培養（榎村浩一博士提供）。

いるのが観察される（写真1）。同様の円形～卵円形の出芽酵母細胞は、*C. auris* 外陰陰炎患者局所検体の塗抹標本でも観察されている<sup>24)</sup>。*C. auris* 菌株をコーンミール寒天培地に培養しても厚膜分生子や仮性菌糸をつくらず、発芽管の形成もみられない。クロモアガー・カンジダ培地（CHROMagar *Candida*）上では一見 *C. parapsilosis* 様の白色またはうすいピンク色のコロニーをつくる（写真2）。このように *C. auris* の同定または推定に役立つ形態学的性状は認められない。

*Candida* 属菌種の同定には、通常、炭水化物同化・発酵試験が用いられるが、この方法でも *C. auris* を同定することはできない。生化学的同定試験に関して興味深いのは、日本・韓国の分離株は N-アセチルグルコサミン（NAG）を利用できないのに対して、インド・南アフリカ・クエート分離株は NAG 利用能をもつことである<sup>3, 4, 19, 21, 22, 28)</sup>。これは前項で示した国・地域による *C. auris* 分離株のクレードの違いを反映しているのかも知れない。

カンジダ属菌種が大半を占める酵母の分離株を同定するための日常検査は、一般には、API-20C、Vitek-2、MicroScan などのキット化同定システムの市販製品を使用して行われる。しかし *Candida* 属菌種表現型の代表的な生化学的特徴とされる糖利用能パターンの菌種特異性を原理とするこれらの製品を用いても、*C. auris* 分離株の正しい同定は不可能

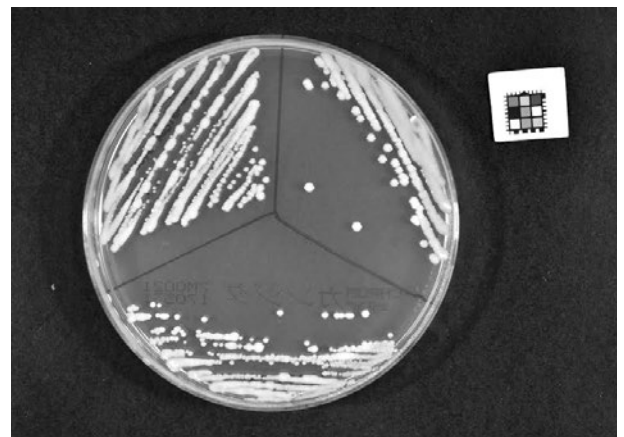


写真2 クロモアガー・カンジダ培地に 35℃、48 時間培養した *C. auris* 株の発育コロニー像。左上、日本株（基準株 JCM15448<sup>T</sup>）；右上、インド株（CBS12776）；下、韓国株（DBS12372）。（榎村浩一博士提供）。

（写真1, 2 は巻末のカラーページに掲載しています。）

であり、他の菌種として誤同定される(表3)。このことは多くの報告に示されている通りである<sup>18, 19, 21~23, 28, 39, 40, 45~48)</sup>。その直接の理由は、いずれの製品にも *C. auris* のデータベースが欠けていることにある。そうした誤同定は *C. auris* に限らずほかの様々な菌種についても生じることから、現在市販されている酵母同定キット製品を時代遅れとする意見もあるくらいである<sup>49)</sup>。

*C. auris* がどんな菌種に誤同定されやすいかは、使用する同定キット製品によって様々に異なる。それらの菌種名を製品ごとに表3に示す。したがって、各同定キットを用いた検査で *C. auris* が誤同定されやすい菌種名が得られた場合には、本当は *C. auris* である可能性を常に念頭におく必要があり、できる限り次に述べる分子生物学的方法によって *C. auris* か否かを確認することが望ましい。これまでわが国を含む先進諸国においてさえ酵母分離株の同定を生化学的検査(クロモアガー・カンジダ培地などの発色による検査を含む)のみに依存する医療施設が大半を占めていることを考えると、*C. auris* が他の菌種として誤同定されたために見逃されてきた事例のほうが実際に *C. auris* を検出した事例よりもはるかに多いと推測される。この見解は近年報告されたインドにおける多施設共同研究の結果からも支持される<sup>38)</sup>。

*C. auris* の確実な同定法として当初から用いられてきたのは、Sato et al.<sup>3)</sup> が最初に報告した ITS 遺伝子および LSU rDNA D1/D2 領域のシーケンシングによる方法をはじめとする分子生物学的方法である。この手法によって表2に示した15件の *C. auris* 病院感染事例のうち、UK の2つの事例(表1、No.10<sup>25, 26)</sup> および No.15<sup>31)</sup>) を除くすべての事例に

において *C. auris* が同定された。この DNA シーケンシング法は、PCR 法による標的領域の増幅やピロシーケンシング法を用いることによって効率化がはかれるものの、ふつうの微生物検査室で日常的に行うには手間も時間もかかり過ぎるのが大きな欠点である。

DNA シーケンシング法とならんで信頼性、確実性がともに高く、しかもより簡便でより迅速な *C. auris* 同定法として注目されているのは、マトリックス支援レーザーイオン化飛行時間型質量分析(matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS) である。これは菌種特異的なプロテオミックスプロフィールを質量スペクトルとして分析することを原理とする方法であり、*C. auris* 発見以前からカンジダ属をはじめとする多数の酵母菌種の同定に利用されてきた<sup>50, 51)</sup>。現在市販されている幾つかの MALDI-TOF MS システムのうち、Bruker MALDI Biotyper (BMS) のライブラリーには *C. auris* の日本分離株(JCM15448<sup>T</sup>)<sup>3)</sup> と韓国分離株2株(KCTC17809, KCTC 17810)のシーケンスがデータベースに組み込まれたことによって *C. auris* の同定が可能となった<sup>25, 32, 39, 40, 52~54)</sup>。一方、米国 FDA 承認ライブラリーのような *C. auris* を含まないデータベースを使用している bioMérieux VITEK MS (VMS) では同定不能という結果になるので<sup>54, 55)</sup>、注意する必要がある。これを確認するために、私達の研究グループは *C. auris* の日本株(n=1)、韓国株(n=2) およびインド株(n=12)、計15株を用いて BMS, VMS 両システムの比較検討を行った。その結果、前者のシステムでは全体が *C. auris* と同定(TOF MS スコア、 $\geq 1.88$ )される一方、後者では全株が同定不能という予想通りの成績が得られた。

表3 主な酵母同定用市販キットを用いて *C. auris* 分離株の検査を行った場合にみられる誤同定結果

市販キット	誤同定されやすい菌種名	備考
API-20C	<i>Rhodotorula glutinis</i> <i>Candida sake</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	・大半が <i>R. glutinis</i> と誤同定される ・その場合、寒天培地上のコロニーが濃いピンク色でなく、しかもウレアーゼ陰性ならば、 <i>C. auris</i> の疑いがより強くなる
Vitek-2	<i>Candida haemulonii</i> <i>Candida famata</i>	・ <i>C. haemulonii</i> と誤同定される場合が最も多い ・鏡検像は <i>C. famata</i> に似ている(仮性菌糸をつくらない小型の酵母細胞)
MicroScan	<i>Candida famata</i> <i>Candida lusitanae</i> <i>Candida guilliermondii</i> <i>Candida parapsilosis</i>	・さまざまな <i>Candida</i> 属菌種と誤同定される



MALDI-TOF MSによる *C. auris* 同定は、UK のアウトブレイクをはじめ様々な国・地域からの *C. auris* 臨床分離株の疫学解析<sup>39, 40, 46, 53, 55)</sup> においても行われている。

### V. *C. auris* の抗真菌薬耐性

表 4 に、現在わが国で侵襲性カンジダ症の治療への適応が承認されている抗真菌薬の種類ならびにそれらの作用メカニズムと耐性獲得メカニズムをクラス別に示す。アゾール系 5 薬剤、ポリエン系 1 薬剤、フルオロピリミジン系 1 薬剤、キャンディン系 2 薬剤、合わせて 4 クラス 9 薬剤にのぼるが、実際に第 1 選択薬として使用されるのは FLCZ (F-FLCZ を含む)、AMPH (とくにリポソーム製剤)、キャンディン系薬剤 (MCFG, CPGF) などにほぼ限られる<sup>56, 57)</sup>。

*C. auris* が警戒される大きな理由の 1 つとして多剤耐性 (MDR) であることがあげられる。このことは冒頭に述べた CDC の警告<sup>1)</sup> をはじめ *C. auris* に関する多くの論文で強調されている。*C. auris* 分離株の抗真菌薬感受性測定は、表 1 に示す 15 事例のうち事例 No.10 における 2 株を除くすべての事例の全株 (合計 158 株) で実施されている。加えて、*C. auris* 保存株を用いた感受性試験の成績も幾つかの論文に報告され<sup>28, 30, 31, 33, 38, 39, 43)</sup>、試験された菌株数は一部重複するとはいえ合計すると 300 株以上にもなる (表 5)。いずれの報告においても MIC 測定には

酵母の抗真菌薬感受性試験の標準法とされる CLSI M27-A 法が用いられている。各報告のデータを比較しやすくするために、表 1、表 5 とも耐性の判定は CLSI が推奨する *C. albicans* に対するブレイクポイント MIC<sup>58)</sup> に準拠し、CLSI 基準にない AMPH と 5-FC については CLSI M27-S3<sup>59)</sup> および Pfaller et al.<sup>60)</sup> による疫学的カットオフ値 (ECV) を参考にそれぞれ  $\geq 2$  および  $\geq 32 \mu\text{g/ml}$  をブレイクポイント MIC としてまとめた。こうしてつくった表 5 を全体的に眺めると、次のような耐性パターンの傾向が見てとれる。(i) 大多数の分離株は FLCZ 耐性である；(ii) 次世代のアゾール系薬 (ITCZ, VRCZ) についてもある程度の交叉耐性がみられるが、耐性率は薬剤間で幾分異なり、VRCZ のほうが ITCZ よりも高い；(iii) 30 ~ 40% の分離株は AMPH 耐性である；(iv) 5-FC 耐性およびキャンディン系薬剤耐性の頻度はいずれも 10% 以下である。また複数クラスの薬剤に対して耐性を示す菌株つまり MDR 株についていえば、約半数の分離株がそれに該当し、最も多い薬剤の組み合わせは FLCZ と AMPH であること、一方、3 クラス以上の薬剤に対する耐性を示す分離株はかなり少数にとどまることが知られる。

こうした *C. auris* 株の耐性パターンについては、その全体像に加えて、地理的クレード間で差があるのか否かも私達の大きな関心事である。この問題を考えるうえで Prakash et al.<sup>39)</sup> の報告は参考になる。彼等はインド株 (n=90) の抗真菌薬感受性を、異な

表 4 現在国内で侵襲性カンジダ感染症の治療に用いられる抗真菌薬ならびに各クラス薬剤の作用メカニズムと耐性獲得メカニズム

クラス	薬剤	おもな作用メカニズム (標的分子/結果)	おもな耐性獲得メカニズム
アゾール系	ミコナゾール (MCZ) フルコナゾール (FLCZ) ホスフルコナゾール (F-FLCZ) イトラコナゾール (ITCZ) ボリコナゾール (VRCZ)	ラノステロール 14 $\alpha$ -デメチラーゼ (P450 <sub>14DM</sub> )/エルゴステロール合成阻害 →細胞膜障害	・P450 <sub>14DM</sub> の量的/質的变化 (ERG11 <sup>b)</sup> の過剰発現/変異) ・ABCトランスポーター <sup>c)</sup> /MFSトランスポーター <sup>d)</sup> の機能亢進 (CDRs <sup>e)</sup> および/または MDR1 <sup>f)</sup> の過剰発現)
ポリエン系	アムホテリシン B (AMPH) <sup>a)</sup>	細胞膜エルゴステロール/直接的結合による細胞膜障害	・細胞膜のエルゴステロール含量低下またはステロール組成変化 (エルゴステロール以外のステロールの増加など)
フルオロピリミジン系	フルシトシン (5-FC)	チミジン酸合成酵素/DNA合成阻害	・ウラシル ホスホリボシルトランスフェラーゼの活性低下/欠損
キャンディン系	ミカファンギン (MCFG) カスポファンギン (CPFG)	(1,3) $\beta$ -グルカン合成酵素/ (1,3) $\beta$ -D-グルカン合成阻害→細胞壁障害	・(1,3) $\beta$ -D-グルカン合成酵素の変化 (FKSI <sup>g)</sup> の点変異) ・ABCTの機能亢進 (CDRsの過剰発現)

a) 現在はリポソーム製剤がもっぱら使用される。

b) P450<sub>14DM</sub>をコードする遺伝子

c) 多剤排出ポンプのひとつのタイプ: ABC (ATP-binding cassette) トランスポーター

d) 多剤排出ポンプのひとつのタイプ: major facilitators トランスポーター

e) ABCトランスポーターをコードする遺伝子ファミリー

f) MFSトランスポーターをコードする遺伝子ファミリー

g)  $\beta$ -D-グルカン合成酵素の触媒サブユニットのひとつ (Fks1pをコードする遺伝子)

表5 収集・保存された *C. auris* 株を用いて実施された抗真菌薬感受性試験の報告例

報告	試験菌株			抗真菌薬耐性率*						
	分離年	分離国	株数	FLCZ	VRCZ	ITCZ	AMPH	5-FC	MCFG	CPFG
Shin et al. (2012) <sup>34)</sup>	1996~2010	韓国	20	-	-	-	0	-	-	-
Kathuria et al. (2015) <sup>39)</sup>	2010~2014	インド	90	4+	2+	2+	2+	1+	1+	1+
Sharma et al. (2016) <sup>44)</sup>	2012~2014	インド	5	4+	1+	0	1+	1+	1+	1+
Vallabhaneni et al. (2016) <sup>29)</sup>	2013~2016	米国	7	3+	-	-	2+	-	2+	2+
Schelenz et al. (2016) <sup>31)</sup>	2015~2016	UK	50	4+	-	-	V	0	0	0
Lockhart et al. (2017) <sup>32)</sup>	2012~2015	パキスタン	18							
	-	インド	19							
	-	南アフリカ	10	4+	V	0	1+	0	1+	1+
	-	ベネズエラ	5							
	2005	日本	1							
Prakash et al. (2016) <sup>40)</sup>	-	インド	90	4+	2+	1+	2+	1+	1+	1+
	-	南アフリカ	6	4+	0	0	0	0	1+	1+
	-	ブラジル	5	4+	4+	0	3+	0	0	1+
	2009	韓国	2	1+	0	1+	0	0	0	0
	2005	日本	1	0	0	0	0	0	0	0

\*表1の脚註参照。

る4つの国の分離株、すなわち南アフリカ株 (n=6)、ブラジル株 (n=5)、韓国株 (n=2) および日本株 (n=1)、と直接比較した。その結果、インド株、ブラジル株および南アフリカ株は共通して大多数が FLCZ 耐性、一部がキャンディン系薬耐性を示し、さらにインド株とブラジル株の半数以上は AMPH に対しても耐性であった。これとは対照的に、韓国株2株中1株と日本株1株はすべてのクラスの薬剤に感性を示した。東アジア両国の分離株は株数が少ないために明確な結論は得られなかった。しかし韓国における2件の *C. auris* 病院感染事例<sup>16~18)</sup>における分離株合計16株の中の約半数が FLCZ 感性、全株が AMPH 感性という結果を併せて考えるならば、日本/韓国クレードの菌株では、インドクレードその他の地理的クレードの菌株とは異なり、耐性化がまだ起こっていないかまたはさほど進んでいないことが推測される。

現在のところ *C. auris* における抗真菌薬耐性メカニズムは不明である。*C. auris* は、FLCZ と AMPH の両薬剤に対して自然耐性 (一次耐性) または誘導耐性をもつことで知られている *C. haemulonii* と系統学的に近縁である<sup>47)</sup>。したがって *C. haemulonii* と同様に、*C. auris* においても抗真菌薬の影響下で作用標的分子の遺伝子に生じた急速な変異によって耐性になった可能性が高いと考えられる<sup>40)</sup>。最近の *C. auris* WGA の結果からは、FLCZ その他のアゾール系薬の主要な作用標的分子である P450<sub>14DM</sub> ABC トランスポーターおよび MFS トランスポーターをそれぞれコードする *ERG11* 遺伝子、*CDR* 遺伝子群

および *MDRs* 遺伝子群、ならびにキャンディン系薬の主要な作用標的分子 (1,3)  $\beta$ -D-グルカン合成酵素 (*Erg11p*) をコードする *FKS1*、*FKS2*、*FKS3* の各遺伝子の存在が明らかになっている<sup>42~44)</sup> (表4参照)。Lockhart et al.<sup>32)</sup> は *ERG11* 遺伝子変異について解析を行い、*C. albicans* と *C. auris* との間での *Erg11p* のアミノ配列の比較から、*C. albicans* の耐性株にのみ認められる (野生株には認められない) 9個のアミノ酸置換がすべての *C. auris* 分離株で確認されたと報告している。また、*C. albicans* における FLCZ 耐性を有意に増強することが確定または推定されているその他3箇所のホットスポットのアミノ酸置換<sup>61, 62)</sup> もまた *C. auris* で確認された<sup>32)</sup>。さらに興味深いことに、これらの置換のタイプは地理的クレードと密接に関連し、南アフリカクレードでは F126T、ベネズエラクレードでは Y132F、インド/パキスタンクレードでは Y132F または K143R であったという<sup>32)</sup>。

*Candida* 属菌の抗真菌薬耐性を論じる場合、バイオフィーム形成の影響をぜひとも考慮する必要がある。バイオフィームとは、浮遊性の酵母細胞が生物性または無生物性の有機物の表面に接着して発育し、最終的には酵母細胞、フィラメント (仮性菌糸など) および細胞外高分子物質、とくに (1,3)  $\beta$ -D-グルカン、を主な構成成分として作り上げる三次元構造物のことである。バイオフィーム形成は、自然界では細菌と同様に *Candida* 属菌にとってもごくふつうの発育形式であるが、感染した菌が生体内に留置された中心静脈カテーテル (CVC) などの医

療機器の表面にバイオフィルムを形成した場合には、大きな臨床的問題をひき起こす<sup>63, 64</sup>。その問題とは、バイオフィルムを形成した真菌細胞では現行の侵襲性カンジダ症治療用の抗真菌薬に対する抵抗力のみならず宿主の感染防御能に対する抵抗力もまた顕著に増強されることである<sup>65-67</sup>（後者については次項でとり上げる）。*Candida* 属菌のバイオフィルム形成能は菌種によってさまざまであり、これまで知られている限り *C. albicans* で最も高くバイオフィルム固着細胞の抗真菌薬感受性は、浮遊性酵母細胞よりも 1,000 倍も低いことが示されている<sup>67-69</sup>。

それでは *C. auris* のバイオフィルム形成能は *C. albicans* などに比べてどの程度なのだろうか。Oh et al.<sup>17</sup> は外耳道由来の韓国分離株 15 株（表 1、事例 No.2）を用いて高濃度（8%）グルコース含有サブロー・デキストロースブロス中でのバイオフィルム形成能を検討した結果、いずれの菌株にも形成能は認められなかったと報告している。一方、Chatterjee et al.<sup>42</sup> による WGA からは、*C. auris* にはバイオフィルム形成に関係する多くの遺伝子群— MAPK 経路の遺伝子 (*RAS1*, *CST20*, *HST7*, *CPH1*)、cAMP-依存性プロテインキナーゼ経路の遺伝子 (*RAS1*, *CYR1*, *FFG1*)、接着過程にかかわる遺伝子 (*HWPI*, *ALS1*) および菌糸の形成／維持にかかわる遺伝子 (*UME6*, *HGC1*, *EED1*)—がいずれも存在することが明らかになっている。これに対応して、Sherry et al.<sup>70</sup> は、その後 *C. auris* UK 分離株 4 株について通常用いられる培地その他の条件下で調べたところ、形成されるバイオフィルムの密度は *C. albicans* よりは低いものの *C. glabrata* のそれよりは高く、したがって中程度のバイオフィルム形成能をもつことが示された。さらに各クラスの抗真菌薬に対する感受性を浮遊性細胞とバイオフィルム固着細胞との間で比較すると、前者がもともと感性であった抗真菌薬（アゾール系薬、AMPH、キャンディン系薬）の MIC が後者に対しては 4～64 倍も上昇しており、バイオフィルム形成による感受性の低下が示唆された。

## VI. *C. auris* の病原性

*Candida* 属菌種の病原性については、*C. albicans* を対象とした研究が最も多く、さまざまな病原因子が明らかにされている。先ずあげられるのは宿主細

胞への接着・侵襲を助けるホスホリパーゼ、プロテイナーゼ（とくに分泌性アスパルチルプロテイナーゼ）のような細胞外加水分解酵素や、菌糸の伸長を促進する鉄の獲得に役立つ溶血素（ヘモリジン）である<sup>71-74</sup>。前出のバイオフィルム形成能もまた重要な病原因子として働き、宿主の防御免疫から自らの細胞を保護する役割を果たす<sup>75</sup>。さらに *C. albicans* では菌糸（仮性菌糸を含む）形成が病原性に寄与し<sup>76</sup>、この能力を欠く菌株は不完全なバイオフィルム（酵母細胞だけが詰まったうすくて剥れやすいバイオフィルム）しかつくりえない<sup>77</sup>。*C. albicans* をはじめ *Candida* 属病原菌種によるバイオフィルムの形成は、侵襲性感染をひき起こす決定的要因になることが多い<sup>67, 78, 79</sup>。

*C. auris* が病原性をもつことは、すでに 2009 年の韓国の事例についての病理組織学的研究で組織侵襲像が観察されたことによって確認されている<sup>18</sup>。その後 Kumar et al.<sup>24</sup> はインド北部地方の病院で外陰陰炎患者から分離された *C. auris* 株がホスホリパーゼ活性、プロテイナーゼ活性および溶血素活性のいずれをも示すことを報告した。また前項でも述べた通り、*C. auris* は CVC などの体内留置器具のポリマー表面に接着し、バイオフィルムを形成する<sup>70</sup>。この特性は本菌の病原性のみならず、病院内環境中での生存にも寄与し、結果的にアウトブレイク惹起能を増大させると考えられる<sup>23</sup>。

病原微生物の毒力、とくに致死毒力、を調べるのに従来からマウスなどの哺乳動物の感染モデルが一般的に用いられてきた。近年、こうした哺乳動物モデルに加えて、さまざまな利点をもつ昆虫モデルも利用されるようになり、なかでもハチミツガまたはハチノスツヅリガとよばれる *Galleria mellonella* の幼虫に作成した全身感染モデルは *Candida* 属病原菌種の病原性の比較検討に有用であることが報告されている<sup>80-84</sup>。Borman et al.<sup>25</sup> の報告によれば、この *G. mellonella* モデルにおける *C. auris* UK 分離株の致死毒力を *C. albicans* をはじめとする 9 種の *Candida* 属病原菌種ならびに *S. cerevisiae* 各 1 株と直接比較したところ、*C. auris* は *C. albicans* とほぼ同等の強い毒力を示した。これと基本的に一致する成績は、同じ *G. mellonella* モデルを用いた Sherry et al.<sup>84</sup> によっても得られている。*C. albicans* が *Candida* 属菌種のなかで最強の病原性をもつことは

分子生物学的にも明らかである<sup>85)</sup>。加えて、Borman et al.<sup>25)</sup>の研究からは、菌糸または仮性菌糸を形成する能力をもつ *C. albicans* や *C. tropicalis* の毒力が最も強く、同じく *C. lusitanae*、*C. guilliermondii*、*C. parapsilosis* がこれに次ぐ毒力を示すのに対して、菌糸／仮性菌糸形成能をほとんどまたはまったくもたない *C. glabrata* や *C. krusei* などには致死毒力がほぼ欠けていることが示されている。この結果に基づいて、彼らは *Candida* 属菌種の病原性が全般的には菌糸／仮性菌糸形成能と対応するものの、*C. auris* のみは例外であると論じている。*C. auris* は *in vitro* で菌糸や仮性菌糸をつくらず<sup>3, 18, 19, 38)</sup>、そればかりか *in vivo* (*G. mellonella* 体内) での形成も認められていない<sup>25)</sup>。それにもかかわらずなぜ *C. albicans* 並みの強い毒性を発揮するのかを説明する病原性メカニズムは現在のところ不明である。

*C. auris* が哺乳動物でも高い病原性を示すことは、マウス血行性全身感染モデルを用いた Ben-Ami et al.<sup>28)</sup> の研究からも明らかである。彼らは *C. auris* のイスラエル分離株を接種されたマウスを *C. albicans* 接種マウスと比較し、生存率の低下速度が遅い点、および主要標的臓器である腎組織内では菌糸を形成せずに酵母細胞の集塊のみが観察される点で、*C. auris* の病原性が *C. albicans* と異なることを認めた。これらの成績は、*G. mellonella* モデルでの成績と基本的に一致し、*C. auris* が菌糸／仮性菌糸形成能を欠くにもかかわらず、マウスモデルにおいては *C. albicans* に僅かに劣る程度の強力な致死毒性と組織侵襲性を示すことを認識させてくれる。少なくとも一部の *C. auris* 株がヒトに対しても *C. albicans* に匹敵する高い病原性を発揮することは確かなようである。

## VII. *C. auris* 感染症の臨床的インパクト

*C. auris* が *Candida* 属の新種として報告された2009年から10年たらずの短い年月の間に、本菌によるBSIといった重篤な侵襲性感染症が病院感染として世界中でみられるようになった。そればかりか病院感染は多くの場合アウトブレイクを起こして入院患者の管理に深刻な問題をひき起こすことから、2016年には米国ではCDC、UKではPHEといった公衆衛生当局から警告が出されたことはすでに述

べた通りである<sup>1, 2)</sup>。その臨床上の理由としては、ほかに次のような *C. auris* の特徴があげられる。第1は、FLCZ耐性に加えて、しばしば他のクラスの抗真菌薬に対しても耐性(つまりMRD)であるために抗真菌薬療法に反応しにくく、長期間感染が持続することである。さらに、通常の検査法では *C. auris* の同定ができないことも適切な抗真菌薬療法の選択を妨げる要因となる。第2には、*C. auris* 感染患者の致死率が高いことがあげられる。とくにBSIを発症した場合の致死率は30%から70%にも達し<sup>18~21, 28~30)</sup>、世界の様々な地域から報告されている侵襲性カンジダ症全般の致死率に匹敵する<sup>35, 86, 87)</sup>。

*C. auris* 感染症のリスク因子は、好中球減少、糖尿病、慢性腎疾患、CVC留置、広域抗生物質使用、腹部手術などであり<sup>18~20, 23, 27)</sup>、この点でも他の *Candida* 属菌種の場合と変らない。また *C. auris* 定着患者の20%がBSIを発症したという報告もある<sup>41)</sup>。したがって、こうした易感染患者については、とりわけ *C. auris* 感染症の発症頻度が高いことに留意すべきである。

## VIII. *C. auris* 病院感染およびアウトブレイクの予防対策

*C. auris* は、すでに述べてきたように、通常みられる *C. albicans* その他の侵襲性カンジダ症原因菌とは病因論または感染マネジメントのうえで異なる幾つの特徴をもつ。その第1は、分子生物学的手法を用いない限り(つまり日常的に用いられる生化学的検査法では)菌種同定が不可能なことである。第2には、大多数の *C. auris* 臨床分離株が一次的にFLCZ耐性であるばかりか他の抗真菌薬に対しても耐性(すなわちMDR)であるものが少なくないことがあげられる。*C. auris* によるBSIなどの侵襲性感染症の治療成績がきわめて不良で死亡率が高い理由の少なくとも一部はこうした本菌種の生物学的特徴にあると考えられる。それ以上に厄介な第3の特徴は、*C. auris* が感染患者生体内(皮膚・粘膜表面を含む)のみならず病院内環境中にも長期間定着または生存し続け、それが感染源となって免疫能の低下した患者に外因性感染(交叉感染)をひき起こし、しばしばアウトブレイクの発生に至ることである。表1に示したように、こうした *C. auris*

の水平伝播によるアウトブレイクが確認された事例は、韓国、インド、南アフリカ、ベネズエラおよびUKなどから報告されている<sup>18-23,31)</sup>。他の *Candida* 属菌種と違って、*C. auris* のみがなぜ病院環境中で長期生存可能なのか、その真の理由は不明である。しかし *C. auris* 表現型がもつ塩類耐性や分散しにくい大型の細胞集塊の形成能<sup>3,25)</sup>、さらには42°Cまで生存を可能にする温度耐性<sup>3)</sup>といった特徴的な性質もまた本菌の耐久力を高めるのに寄与していると考えられる。

いずれにせよ、*C. auris* 病院感染の予防対策は、アウトブレイクへの対応を常に念頭に置いて講じなければならない。その具体的な実施法はアウトブレイクと確認された数々の事例の報告<sup>23,29,30,32,41)</sup>にも述べられており、なかでもアウトブレイクが16ヶ月以上も持続しているUKの事例の報告<sup>31)</sup>は私達に多くの教訓を与えてくれる。またこれらの報告に基づいてCDC(米国)およびPHE(UK)からは *C. auris* 感染防止策の暫定的ガイドライン<sup>1,2)</sup>も提案されている。有効な予防対策を講じるうえで欠かせないのは、感染源(アウトブレイクのレザバー)および感染経路を明らかにすることであるが、残念ながら *C. auris* についてはいずれも特定されていない。それでも *C. auris* 感染患者(キャリアを含む)の皮膚・創傷部位、消化管などへの定着および患者から排菌された本菌の病院環境中での長期生存はすでに確認されているところである。この理由から感染患者からの直接伝播に加えて、汚染された病院環境・医療機器その他の器物やナーシングスタッフの手指を介した接触感染が主要な感染様式と推定されることから、一般的な標準予防策(スタンダード・プリコーション)ならびに接触感染予防策に準じた対策が、通常、用いられている。

これに加えて、前記のアウトブレイク事例報告およびガイドラインにおいてとくに強調されているのは初期対応の重要性であり、入院患者の何らかの検体から *C. auris* と同定された菌株または *C. auris* を否定できない FLCZ 耐性 *Candida* 属菌株が分離された場合に直ちにとるべき対策として、以下の措置があげられている。(i)すべての *C. auris* 陽性患者の個室隔離または集団隔離(コホーティング)、(ii)陽性患者との接触が否定できないすべての医療機器その他の器物の消毒・除菌、(iii)陽性患者が収容さ

れていた病室の消毒・除菌、(iv)陽性患者と同室した患者についてのスクリーニング検査。

さらにUKのアウトブレイク事例の報告は、アウトブレイクが起こると、一旦は収まったかにみえても再発をくり返して遷延し、完全に終息させることの困難さを指摘しており、その理由として陽性患者に定着した *C. auris* が容易に除菌されないことと、環境中の本菌が低レベルで長期間生存し続けることを述べている<sup>31)</sup>。この報告内容には、的確な初期対応とならんで、長期に及ぶ感染防止対策を厳格に実施することの重要性が如実に示されている。

*C. auris* 感染防止策に関して議論が多いのは、どんな消毒薬を使用すべきかという問題である。*In vitro* 試験では0.05~4.0%クロルヘキジンが *C. auris* の浮遊細胞のみならずバイオフィーム固着細胞にも有効だったとして皮膚や創傷の消毒に推奨する報告<sup>70)</sup>がみられるが、その一方でクロルヘキシジンでは定着した *C. auris* の除菌は困難とする意見もある<sup>88)</sup>。また環境・物品・医療用機器などの洗浄・消毒・除菌にはハロゲン系消毒薬、過酸化水素(蒸気)などを用いた例がある。しかしいずれについても有効性が確認された消毒薬は知られてない<sup>89)</sup>。現在不明な *C. auris* 感染経路の解明と併せて、最適な消毒薬を見つけることも今後に残された重要な検討課題の1つといえよう。

## おわりに

WHOは、新興感染症(emerging infectious diseases)に関する文書のなかで、「旦つては知られておらず最近になって新しく認識された感染症で、局部的または国際的に公衆衛生のうえで問題となるもの」を新興感染症と定義し、その脅威について警告を発している(World Health Day 1997 Emerging Infectious Diseases. Global Alert, Global Response, 1997)。これまで知られている新興感染症は、ウイルス(例、HIV)によるものが最も多く、そのほか細菌(例、*Legionella pneumophila*)、原虫(例、*Cryptosporidium parvum*)、さらにはプリオン(例、BSE prion)によるものまで含んでいる。その一方、真菌に起因する新興感染症は皆無であった。その存在を今世紀に入ってはじめて明らかにしたのは、新興感染症としての要件をすべて満たしている *C. auris* 感

染症であり、まさしく真菌性新興感染症の第1号にほかならない。

いうまでもなく *C. auris* は50種以上にものぼる *Candida* 属病原菌種の1つに過ぎないが<sup>15)</sup>、*C. auris* 感染症の発生状況は他のいかなる *Candida* 属菌種による感染症とも明確に異なっている。後者は、患者の消化管、粘膜表層、皮膚などに常在する遺伝的に多様な菌株の内因性感染によって散発的に起こる<sup>97)</sup>。これとは対照的に、*C. auris* 感染症は国中さらには国境を超えた広い地域に播種された同一クローンの菌株による同時多発的な外因性感染として発生し、アウトブレイクを起こす。加えて、*C. auris* 感染症の死亡率が高く多剤耐性を示す菌株が少ないことも考え併せると、その公衆衛生上の脅威は通常のカンジダ感染症のそれをはるかに凌ぐものがある。

これまで *C. auris* による病院感染やアウトブレイクの事例が報告された国は、まだ比較的少数にとどまっている(表1)。しかし *C. auris* の特定クローンが大陸規模で播種されていること、通常の検査法では本菌の同定が不可能なことなどを考慮するならば、わが国を含めてこれまで報告事例のない国においても *C. auris* 感染症がすでに発生していながら見逃されている可能性は決して否定できない。とくにわが国では世界に先駆けて *C. auris* の存在が確認されたわけであるから、その可能性はとりわけ大きいといわざるを得ない。したがって先ず必要なのは、できるだけ多くの医療施設において *C. auris* の検索がなされることであり、これを支援するために帝京大医真菌研の榎村研究室では *C. auris* 同定サービスを行っている(ご希望の方は同研究室 makimura@med.teikyo-u.ac.jp にご連絡ください)。

*C. auris* についてはまだ幾つもの疑問や未解決の問題が残されている。①なぜ本菌が最近になって突然に出現したのか、②なぜ本菌の特定のクローンが世界的に蔓延しているのか、そしてこの状況は今後どう変わるのか?、③なぜ本菌は病院環境中に長期間生存でき、どのようにして水平伝播し、アウトブレイクを起こすのか、④どのようにすれば本菌の病院感染やアウトブレイクを防止できるのか、⑤本菌はどんなメカニズムによって抗真菌薬耐性しかも多剤耐性になったのか。それに答えるための研究が速やかに進展することを心から願ってこの稿を閉じたい。

## 謝 辞

本稿の執筆にあたり、貴重なデータ、資料、助言などを頂いた帝京大学医真菌研究センター 榎村浩一教授、佐藤一朗講師ならびに帝京大学附属病院中央検査部 古川泰司部長、石垣しのぶ技師、各位に深謝いたします。

## 文 献

- Centers for Disease Control and Prevention. Clinical alert to US healthcare facilities-June 2016. Global emergence of invasive infections caused by the multidrug-resistant *Candida auris*. 2016[cited 2016 June 24]. <http://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/candida-auris-alert.html>.
- Public Health England. *Candida auris* identified in England. 2016[cited 2016 July 1]. <https://www.gov.uk/government/publications/candida-auris-emergence-in-england/candida-auris-identified-in-england>.
- Satoh K, Makimura K, Hasumi Y, Nishiyama Y, Uchida K, Yamaguchi H. *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. *Microbiol Immunol* 2009 ; **53** : 41-44.
- Voss A, Kluytmans JA, Koeleman JG, Spanjaard L, Vandembroucke-Grauls CM, et al. Occurrence of yeast bloodstream infections between 1987 and 1995 in five Dutch university hospitals. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996 ; **15** : 909-912.
- Abi-Said D, Anaissie E, Uzen O, Raad H, Pinzowski H, Vartivarian S. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *Clin Infect Dis* 1997 ; **24** : 1122-1128.
- Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Doern GV, Brandt ME, et al. Trends in species distribution and susceptibility to fluconazole among bloodstream isolates of *Candida* species in the United States. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999 ; **3** : 217-222.
- Trick WE, Fridkin SK, Edwards JR, Hajjeh RA, Gayness RP. Secular trends of hospital acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989-1999. *Clin Infect Dis* 2002 ; **35** : 627-630.
- Pfaller MA, Diekema DJ. Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida*. *Clin Microbiol Infect* 2004 ; **10**(Suppl.1): 11-23.
- 山口英世、内田勝久、西山彌生、奥住捷子、小栗豊子、安達桂子、ほか(抗真菌薬感受性サーベイランス研究会) : Japan Antifungal Surveillance Program による真菌臨床分離株の抗真菌薬感受性に関する調査(1) : 2001~2002年度報告. *日本臨床微生物学雑誌* 2004 ; **14** : 183-193.

- 10) 山口英世、内田勝久、西山彌生、奥住捷子、小栗豊子、安達桂子、ほか(抗真菌薬感受性サーベイランス研究会). Japan Antifungal Surveillance Programによる真菌臨床分離株の抗真菌薬感受性に関する調査(2): 2003年度報告. 日本臨床微生物学雑誌2006; **16**: 13-22.
- 11) 山口英世、西山彌生、内田勝久、高橋長一郎、川島千穂子、林 和、ほか(抗真菌薬感受性サーベイランス研究会). Japan Antifungal Surveillance Programによる真菌臨床分離株の抗真菌薬感受性に関する調査(3): 2005年度報告. 日本臨床微生物学雑誌2009; **19**: 128-141.
- 12) Yamaguchi H, Uchida K, Nishiyama Y; The Japan Antifungal Surveillance Program Group. Species distribution and *in vitro* susceptibility to three antifungal triazoles of clinical *Candida* isolates from a five-year nation-wide survey in Japan. *Med Mycol Res* 2012; **13**: 17-26.
- 13) Kurtzman CP, Fell JW, Bookhout T(eds). *The Yeasts, A Taxonomic Study*, 5th ed, Elsevier, Amsterdam, 2011.
- 14) Daniel H-M, Lachance M-A, Kurtzman CP. On the reclassification of species assigned to *Candida* and other anamorphic ascomycetous yeast genera based on phylogenetic circumscription. *Antonie van Leeuwenhoek* 2014; **106**: 67-84.
- 15) 山口英世. 病原性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* 2012; **58**: 261-277.
- 16) Kim M-N, Shin JH, Sung H, Lee K, Kim E-C, Ryoo N, et al. *Candida haemulonii* and closely related species at 5 university hospitals in Korea: identification, antifungal susceptibility, and clinical features. *Clin Infect Dis* 2009; **48**: e57-61.
- 17) Oh BJ, Shin JH, Kim M-N, Sung H, Lee K, Joo MY, et al. Biofilm formation and genotyping of *Candida haemulonii*, *Candida pseudohaemulonii*, and a proposed new species (*Candida auris*) isolates from Korea. *Med Mycol* 2011; **49**: 98-102.
- 18) Lee WG, Shin JH, Uh Y, Kang MG, Kim SH, Park KH, et al. First three reported cases of nosocomial fungemia caused by *Candida auris*. *J Clin Microbiol* 2011; **49**: 3139-3142.
- 19) Chowdhary A, Sharma C, Duggal S, Agarwal K, Prakash A, Singh PK, et al. New clonal strain of *Candida auris*, Delhi, India. *Emerg Infect Dis* 2013; **19**: 1670-1673.
- 20) Sarma S, Kumar N, Sharma S, Govil D, Ali T, Mehta Y, et al. Candidemia caused by amphotericin B and fluconazole resistant *Candida auris*. *Indian J Med Microbiol* 2013; **31**: 90-91.
- 21) Chowdhary A, Anil Kumar V, Sharma C, Prakash A, Agarwal K, Babu R, et al. Multidrug-resistant endemic clonal strain of *Candida auris* in India. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; **33**: 919-926.
- 22) Magobo RE, Corcoran C, Seetharam S, Govender NP. *Candida auris*-associated candidemia, South Africa. *Emerg Infect Dis* 2014; **20**: 1250-1251.
- 23) Calvo B, Melo ASA, Perzo-Mena A, Hernandez M, Francisco EC, Hagen F, et al. First report of *Candida auris* in America: Clinical and microbiological aspects of 18 episodes of candidemia. *J Infect* 2016; **73**: 369-374.
- 24) Kumar D, Banerjee T, Pratap CB, Tilak R. Itraconazole-resistant *Candida auris* with phospholipase, proteinase and hemolysin activity from a case of vulvovaginitis. *J Infect Dev Ctries* 2015; **9**: 435-437.
- 25) Borman AW, Szekely A, Johnson EM. Comparative pathogenicity of United Kingdom isolates of the emerging pathogen *Candida auris* and other key pathogenic *Candida* species. *mSphere* 2016; **1**(4): e00189-16.
- 26) Borman AM, Szekely A, Johnson EM. Isolates of the emerging pathogen *Candida auris* present in the UK have several geographic origins. 2017. *Med Mycol* doi : 10.1093/mmy/myw147.
- 27) Emara M, Ahmad S, Kahn Z, Joseph L, Al-Obaid I, Purohit P, et al. *Candida auris* candidemia in Kuwait, 2014. *Emerg Infect Dis* 2015; **21**: 1091-1092.
- 28) Ben-Ami R, Berman J, Novikov A, Bash E, Shachor-Meyouhas Y, Zakin S, et al. Multidrug-resistant *Candida haemulonii* and *C. auris*, Tel Aviv, Israel. *Emerg Infect Dis* 2017; **23**: 195-203.
- 29) Vallabhaneni S, Kallen A, Tsay S, Chow N, Welsh R, Kerins J, et al. Investigation of the first seven reported cases of *Candida auris*, a globally emerging invasive, multi-drug-resistant fungus – United States, May 2013–August 2016. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR, from CDC)/Nov 11, 2016/65(44)*; 1234-1237; *Am J Transplant* 2017; **17**: 296-299.
- 30) Morales-López SE, Parra-Giraldo CM, Ceballos-Garzón A, Martínez HP, Rodríguez GJ, Álvarez-Moreno CA, et al. Invasive infections with multidrug-resistant yeast *Candida auris*, Colombia. *Emerg Infect Dis* 2017; **23**: 162-164.
- 31) Schelenz S, Hagen F, Rhodes JL, Abdolrasouli A, Chowdhary A, Hall A, et al. First hospital outbreak of the globally emerging *Candida auris* in a European hospital. *Antimicrob Resist Infect Control* 2016; **5**: 35.
- 32) Lockhart SR, Etienne KA, Vallabhaneni S, Farooqi J, Chowdhary A, Govender NP, et al. Simultaneous emergence of multidrug-resistant *Candida auris* on 3 continents confirmed by whole genome sequencing and epidemiological analysis. *Clin Infect Dis* 2017; **62**: 134-140.
- 33) Okinda N, Kagotho E, Castanheira M, Njuguna A, Omuse G, Makau P, et al. Candidemia at a referral hospital in sub-Saharan Africa: emergence of *Candida auris* as a major pathogen. *European Conference on Clinical Microbiology and Infectious Diseases*; 2014 May 10-13: Barcelona, Spain.
- 34) Shin JH, Kim M-N, Jang SJ, Ju MY, Kim SH, Shin MG, et al. Detection of amphotericin B resistance in *Candida haemulonii* and closely related species by use of the Etest, Vitek-2 Yeast Susceptibility System, and CLSI and EUCAST broth microdilution methods. *J Clin Microbiol* 2012; **50**: 1852-1855.
- 35) Farooqi JQ, Jabeen K, Saeed N, Iqbal N, Malik B, Lockhart SR, et al. Invasive candidiasis in Pakistan: clinical characteristics, species distribution and antifungal sus-

- ceptibility. *J Med Microbiol* 2013 ; **62** : 259-268.
- 36) Pfaller MA, Woosley LN, Messer SA, Jones RN, Castanheira M. Significance of molecular identification and antifungal susceptibility of clinically significant yeasts and moulds in global antifungal surveillance programme. *Mycopathologia* 2012 ; **174** : 259-271.
  - 37) Kullberg BJ, Arendrup MC. Invasive candidiasis. *New Engl J Med* 2015 ; **373** : 1445-1456.
  - 38) Chakrabarti A, Sood P, Rudramurthy SM, Chen S, Kaur H, Capoor M, et al. Incidence, characteristics and outcome of ICU-acquired candidemia in India. *Intensive Care Med* 2015 ; **41** : 285-295.
  - 39) Kathuria S, Singh PK, Sharma C, Prakash A, Masih A, Kumar A, et al. Multidrug-resistant *Candida auris* misidentified as *Candida haemulonii*: characterization by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and DNA sequencing and its antifungal susceptibility profile variability by Vitek 2, CLSI broth microdilution, and Etest method. *J Clin Microbiol* 2015 ; **53** : 1823-1830.
  - 40) Prakash A, Sharma C, Singh PK, Kumar A, Hagen F, Govender NP, et al. Evidence of genotypic diversity among *Candida auris* isolates by multilocus sequence typing, matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry and amplified fragment length polymorphism. *Microbiol Infect* 2016 ; **59** : 535-538.
  - 41) Chowdhary A, Voss A, Meis JF. Multidrug-resistant *Candida auris*. 'new kid on the block' in hospital-associated infections. *J Hosp Infect* 2016 ; **94** : 209-212.
  - 42) Chatterjee S, Alampalli SV, Nageshan RK, Chettiar ST, Joshi S, Tau US. Draft genome of a commonly misdiagnosed multidrug resistant pathogen *Candida auris*. *BMC Genomics* 2015 ; **16** : 686.
  - 43) Sharma C, Kumar N, Meis JF, Pandey R, Chowdhary A. Draft genome sequence of a fluconazole-resistant *Candida auris* strain from candidemia patient in India. *Genom Announc* 2015 ; **3** : e00722-15.
  - 44) Sharma C, Kumar N, Pandey R, Meis JF, Chowdhary A. Whole genome sequencing of emerging multidrug resistant *Candida auris* isolates in India demonstrates low genetic variation. *New Microbes New Infect* 2016 ; **13** : 77-82.
  - 45) Cendejas-Bueno E, Kolecka A, Alastruey-Izquierdo A, Theelen B, Groenewald M, Kostrzewa M, et al. Reclassification of *Candida haemulonii* complex as *Candida haemulonii* (*C. haemulonii* group I), *C. duobushaemulonii* sp. nov. (*C. haemulonii* group II) and *C. haemulonii* var. *vulnera* var. nov.: three multiresistant human pathogenic yeasts. *J Clin Microbiol* 2012 ; **50** : 3641-3651.
  - 46) Ghosh AK, Paul S, Sood P, Rudramurthy SM, Rajbanshi A, Jillwin TJ, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for the rapid identification of yeasts causing bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect* 2015 ; **21** : 372-378.
  - 47) Kumar A, Prakash A, Singh A, Kumar H, Hagen F, Meis JF, et al. *Candida haemulonii* species complex: an emerging species in India and its genetic diversity by multilocus sequence analysis and amplified fragment length polymorphism. *Emerg Microbes Infect* 2016 ; **5** : e49.
  - 48) Mizusawa M, Miller H, Green R, Lee R, Durante M, Perkins R, et al. Can a multidrug resistant *Candida auris* be reliably identified in clinical microbiology laboratories? *J Clin Microbiol* 2017 ; **55** : 638-640.
  - 49) Posteraro B, Efremov L, Leoncini E, Amore R, Posteraro P, Recciardi W, et al. Are the conventional commercial yeast identification methods still helpful in the era of new clinical microbiology diagnostics? A meta-analysis of their accuracy. *J Clin Microbiol* 2015 ; **53** : 2439-2450.
  - 50) Manchini N, De Carolis E, Infurnari L, Vella A, Clementi N, Vaccaro L, et al. Comparative evaluation of the Bruker Biotyper and Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization – time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry systems for identification of yeasts of medical importance. *J Clin Microbiol* 2013 ; **51** : 2453-2457.
  - 51) Pence MA, McElvania Tekippe F, Wallace MA, Burnham C-AD. Comparison and optimization of two MALDI-TOF MS platforms for the identification of medically relevant yeast species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014 ; **33** : 1703-1712.
  - 52) Fraser M, Brown Z, Houldsworth M, Borman AM, Johnson EM. Rapid identification of 6328 isolates of pathogenic yeasts using MALDI-TOF MS and a simplified, rapid extraction procedure that is compatible with the Bruker Biotyper platform and database. *Med Mycol* 2016 ; **54** : 80-88.
  - 53) Girard V, Mailler S, Chetry M, Vidal C, Durand G, van Belkum A, et al. Identification and typing of the emerging pathogen *Candida auris* by matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry. *Mycoses* 2016 ; **59** : 535-538.
  - 54) Clancy CJ, Nguyen MH. Emergence of *Candida auris*: An international call-to-arms. *Clin Infect Dis* 2017 ; **64**: 141-143.
  - 55) Butler G, Rasmussen MD, Lin MF, Santos MA, Sakthikumar S, Munro CA, et al. Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes. *Nature* 2009 ; **459** : 657-662.
  - 56) 深在性真菌症のガイドライン作成委員会(編). 深在性真菌症の診断・治療ガイドライン2014. 協和企画、東京、2014.
  - 57) 侵襲性カンジダ症の診断・治療ガイドライン作成委員会. 日本医真菌学会 侵襲性カンジダ症の診断・治療ガイドライン Executive summary集. *Med Mycol J* 2013 ; **54** : 147-251.
  - 58) Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Fourth International Supplement (M27-S4), Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute ; 2012.
  - 59) Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference



- method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Third informational supplement M27-S3. CLSI, Wayne, PA, USA, 2012.
- 60) Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Canton E, Castanheira M, Cuenca-Estrella M, Diekema DJ, et al. Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for amphotericin B, flucytosine, and itraconazole and *Candida* spp. as determined by CLSI broth microdilution. *J Clin Microbiol* 2012 ; **50** : 2040-2046.
  - 61) Flowers SA, Colon B, Whaley SG, Schuler MA, Rogers PD. Contribution of clinically derived mutations in *ERG11* to azole resistance in *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother* 2015 ; **59** : 450-460.
  - 62) Perea S, López-Ribot JL, Kirkpatrick WR, McAtee RK, Santillán RA, Martínez M, et al. Prevalence of molecular mechanisms of resistance to azole antifungal agents in *Candida albicans* strains displaying high-level fluconazole resistance isolated from human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2001 ; **45** : 2676-2684.
  - 63) Douglas LJ. Medical importance of biofilms in *Candida* infections. *Rev Iberoam Micol* 2002 ; **19** : 139-143.
  - 64) Kojic EM, Darouiche RO. *Candida* infections of medical devices. *Clin Microbiol Rev* 2004 ; **17** : 255-267.
  - 65) Kumamoto CA. *Candida* biofilms. *Curr Opin Microbiol* 2002 ; **5** : 608-611.
  - 66) Ramage G, Saville SP, Thomas DP, López-Ribot JL. *Candida* biofilms: an update. *Eukary Cell* 2005 ; **4** : 633-638.
  - 67) Rajendran R, Sherry L, Nile CJ, Sherriff A, Johnson EM, Hanson MF, et al. Biofilm formation is a risk factor for mortality in patients with *Candida albicans* bloodstream infection-Scotland, 2012-2013. *Clin Microbiol Infect* 2016 ; **22** : 87-93.
  - 68) Howser SP, Douglas LJ. Resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents *in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995 ; **39** : 2128-2131.
  - 69) Ramage G, Rajendran R, Sherry L, Williams C. Fungal biofilm resistance. *Int J Microbiol* 2012 ; **2012** : 528521.
  - 70) Sherry L, Ramage G, Kean R, Borman A, Johnson EM, Richardson MD, et al. Biofilm-forming capability of highly virulent, multidrug-resistant *Candida auris*. *Emerg Infect Dis* 2017 ; **23** : 328-331.
  - 71) Ghannoum MA. Potential role of phospholipases virulence and fungal pathogenesis. *Clin Microbiol Rev* 2000 ; **13** : 122-143.
  - 72) Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003 ; **67** : 400-428.
  - 73) Schaller M, Borelli C, Korting HC, Hube B. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses* 2005 ; **48** : 365-377.
  - 74) Tsang CSP, Chu FCS, Leung WK, Jin LJ, Samaranyake LP, Siu SC. Phospholipase, proteinase and hemolytic activities of *Candida albicans* isolated from oral cavities of patients with type 2 diabetes mellitus. *J Med Microbiol* 2007 ; **56** : 1393-1398.
  - 75) Ramage G, Mowat E, Jones B, Williams C, López-Ribot J. Our current understanding of fungal biofilms. *Crit Rev Microbiol* 2009 ; **35** : 340-355.
  - 76) Thompson DS, Carlisle PL, Kadosh D. Coevaluation of morphology and virulence in *Candida* species. *Eukaryot Cell* 2011 ; **10** : 1173-1182.
  - 77) Nobile CJ, Mitchell AP. Genetics and genomics of *Candida albicans* biofilm formation. *Cell Microbiol* 2006 ; **8** : 1382-1391.
  - 78) Douglas LJ. *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends Microbiol* 2003 ; **11** : 30-36.
  - 79) Ramage G, Martínez M, López-Ribot JL. *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *FEMS Yeast Res* 2006 ; **6** : 979-986.
  - 80) Cotter G, Doyle S, Kavanagh K. Development of an insect model for the *in vivo* pathogenicity testing of yeasts. *FEMS Immunol Microbiol* 2000 ; **27** : 163-169.
  - 81) Fallon J, Kelly J, Kavanagh K. *Galleria mellonella* as a model for fungal pathogenicity testing. *Methods Mol Biol* 2012 ; **845** : 469-485.
  - 82) Fuchs BB, Eby J, Nobile DJ, El Khoury JB, Mitchell AP, Mylonakis E. Role of filamentation in *Galleria mellonella* killing by *Candida albicans*. *Microbes Infect* 2010 ; **12** : 488-496.
  - 83) Fuchs BB, O'Brien E, Khoury JB, Mylonakis E. Methods for using *Galleria mellonella* as a model host to study fungal pathogenesis. *Virulence* 2010 ; **1** : 475-482.
  - 84) Sherry L, Rajendran R, Lappin DF, Borghi E, Perdoni F, Falleni M, et al. Biofilms formed by *Candida albicans* bloodstream isolates display phenotypic and transcriptional heterogeneity that are associated with resistance and pathogenicity. *BMC Microbiol* 2014 ; **14** : 182. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-14-182>
  - 85) Moran GP, Coleman DC, Sullivan DJ. Comparative genomics and evolution of pathogenicity in human pathogenic fungi. *Eukaryot Cell* 2011 ; **10** : 34-42.
  - 86) Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* 2007 ; **20** : 133-163.
  - 87) Doi AM, Pignatari AC, Edmond MB, Marra AR, Camargo LF, Siqueira RA, et al. Epidemiology and microbiologic characterization of nosocomial candidemia from a Brazilian national surveillance program. *PLOS One* 2016 ; **11** (1) : e00146909.
  - 88) Septimus EJ, Schweizer ML. Decolonization in prevention of health care-associated infections. *Clin Microbiol Rev* 2016 ; **29** : 201-222.
  - 89) Boyce JM. Modern technologies for improving cleaning and disinfection of environmental surfaces of hospitals. *Antimicrob Resist Infect Control* 2016 ; **5** : 10. 1186/S13756-016-0111- $\chi$ .