

# 輸入真菌症の微生物学的検査： いかに安全に、どう検査を進めてゆくか

Laboratory diagnosis of imported mycoses :  
how to safely execute laboratory examinations

やま ぐち ひで よ  
山口 英 世  
Hideyo YAMAGUCHI

## はじめに

輸入真菌症として報告される患者の数は、まだそれほど多くはありませんが、増加傾向をたどっていることは確実です。後で詳しく触れますように、輸入真菌症と呼ばれる5つの深在性真菌症はどれも特徴的な臨床症状や画像所見に乏しいために、臨床的データだけで正しく診断することがきわめて困難です。その結果、結核など他の感染症と誤診され、見逃されているケースが相当な数にのぼると推測されます。輸入真菌症の正確な発生頻度が不明だとしても、罹患患者の検体が微生物検査室へ送られて来る機会が今後ますます増えることは間違いありません。血清診断法（特異抗原検出法）も推定診断の域を出ず、確定診断には適切な患者検体の微生物学的検査が、生検組織の病理組織学的検査とならんで、不可欠だからです。

数ある病原真菌のなかでも輸入真菌症の原因菌は特別な存在です。その理由は、どの原因菌も感染力と病原性が強く、場合によっては院内感染（しばしば重症化する）をひき起こす点にあります。しかもこの危険性は、患者と直接に接触する医師や看護師よりも、患者由来の検体を取り扱う微生物検査室のスタッフのほうがはるかに高いのです。そればかりではありません。もし、微生物検査室内で輸入真菌症原因菌の大量飛散事故が起こったならば、検査室スタッフのみならず、検査室の周辺に居合わせたすべての人を巻き込む大規模な院内感染のブレイクアウトにつながりかねないことも指摘されています。したがって、輸入真菌症の微生物学的検査を行う際には、ことのほか安全性への配慮が重要です。どの

菌ならばどこまで安全に検査を進めることができるのか、それは検査を担当するスタッフの知識、経験、技術、それに設備によって決まります。その限界を超えた検査の実施はきわめて危険であり、どうしても必要ならば、エキスパートの居る専門機関に委ねるべきです。

この小文の目的は、標題に示されているように、検査実施者の安全性確保すなわちバイオセーフティーの視点から見て、微生物検査室における輸入真菌症原因菌の検査をどうすれば安全に進められるかを知っていただくことにあります。またそれを理解するのに役立つと思われるいくつかの関連する事項についても解説することにしました。執筆にあたって参考にした多くの文献・資料のうち、本稿内容の全体にかかわるテキストブックやマニュアルをここにあげておきます<sup>1-6)</sup>。

## I. 輸入真菌症とは何か：輸入感染症 vs 輸入真菌症、輸入真菌症 vs 風土病型真菌症

「輸入感染症」という聞き慣れた言葉があります。わが国の医真菌学の泰斗として知られ、バイオハザード対策の先駆者の1人でもあった故岩田和夫博士（前東京大学医学部細菌学教授）によりますと、「輸入感染症」は、1976年に起こった「ラッサ熱事件」をきっかけに、「国際伝染病」と並んで当時の厚生省が便宜的に造った言葉だということです<sup>7)</sup>。その意味するところは、「本来わが国には存在しないが、過去わが国に外国から移入されて存在したことがあり、現在は絶滅しているか、あるいは症例が著しく減少している感染症の総称」とあります。具体的には、主に熱帯地域で風土病として流行してい

る感染症（正確にはその原因微生物）が旅行者や輸入食品を介して国内に持ち込まれる場合とされ、コレラ、腸チフス・パラチフス、細菌性赤痢、ブルセラ症などの細菌感染症、マラリア、ランブル鞭毛虫症などの寄生虫病、肝炎、デング熱などのウイルス感染症といった例があげられていました。したがって、現在でいう「輸入真菌症」も当然その範疇に含まれてよいはずなのですが、当時はこの言葉も概念もまだできていませんでした。その後、「輸入感染症」の定義はさらに拡大され、国内に常在する感染症であっても、海外で感染したことが明らかな場合にはすべて輸入感染症に含められるようになったのです。このように「輸入感染症」の概念は時代によっても異なり、かなりあいまいだといわざるを得ません。

私が「輸入真菌症」なる言葉をはじめて目にしたのは、1986年に刊行された宮治 誠博士（千葉大学名誉教授）と西村和子博士（千葉大学名誉教授）の共著による「輸入真菌症とバイオハザード（微生物災害）」と題する論文<sup>8)</sup>でした。少なくとも私の知る限り、当時この言葉はほかの誰の論文・著作にも見当たりませんでしたから、おそらく宮治・西村両博士による造語だと思われます。この論文のなかでは輸入真菌症に該当する真菌症としてコクシジオイデス症 (coccidioidomycosis)、ヒストプラスマ症 (histoplasmosis)、パラコクシジオイデス症 (paracoccidioidomycosis)、およびブラストミセス症 (blastomycosis) の4つがあげられていますが、後にマルネツフェイ型ペニシリウム症 (penicillosis marneffeii) が追加され、合計5疾患となり現在に至っています。どの真菌症も国内には常在せず、海外から新規に持ち込まれない限り、発生することはないとされていたわけですから、「輸入真菌症」の概念は「輸入感染症」のそれよりもはるかに明確ですし、後で述べるバイオハザード対策の観点からいっても、分かりやすく便利な言葉です。わが国で速やかに学術用語として定着したのもけだし当然といえるでしょう。

ところが、欧米には「輸入真菌症」に相当する言葉がありません。内容的にこれとほぼ合致するのは、風土病として特定の限られた地域での発生する真菌症を意味する「endemic mycoses」であり、わが国では「風土病性真菌症」、「真菌性風土病」あるいは「地域流行型真菌症」などと訳されています。Endemic

mycoses の疫学的状況が日本とよく似たヨーロッパ諸国はさておき、その常在地（流行地）をかかえた米国や中南米諸国は、いうなれば endemic mycoses の輸出国ですから、「輸入真菌症」という考え方が通用しないのは当たりまえかも知れません。

さて説明が長くなってしまいましたが、「輸入真菌症」をここであらためて定義しておきたいと思えます。国立感染症研究所の定義では、「輸入真菌症とは、本来日本には常在しない真菌に海外で感染した者が、日本国内で把握されたものを指す」となっています<sup>2)</sup>。しかしこの定義は、いささか行政的視点に偏る一方、狭過ぎる感があります。海外で感染した人の事例に限らず、流行地からの輸入品（特に原材料）や感染患者（主として流行地の居住者）から提供された移植用の臓器などが感染源となって国内で発生した事例も当然ながら輸入真菌症として扱うべきです。

## II. 輸入真菌症の疫学

### 1. 主な流行地と感染獲得様式

表1に示すように、5つの輸入真菌症には、おのおの固有の流行地が知られています。しかし調査・研究が進むにつれて、その地域範囲はさらに拡大しつつあります。いうまでもないことですが、流行地は原因菌やそのレザバー (reservoir) となる動物・植物の生息地と重なります。いずれの原因菌も本来は土壤に生息する腐生性真菌であり、生息地の特殊な自然環境条件が菌の発育・生存に適しているからこそそこに存在しているのだと考えられます。それに加えて、流行地のさまざまな動物や植物が保菌者または感染宿主として働き、菌の発育・増殖や伝播にあずかっています。この特異な生態が、輸入真菌症原因菌に共通する第1の特徴です。

各輸入真菌症の流行地を、表1に細か過ぎるほど詳しく記しました。それには、そうするだけの理由があります。輸入真菌症に罹った患者の診察にあたった臨床医が、それと正しく診断するうえで最も重要な情報となるのが流行地への旅行・居住歴だからです。

輸入真菌症のなかで流行地の範囲が最も広いのはヒストプラスマ症です。他の輸入真菌症の場合とは

表1 輸入真菌症の主な流行地(原因菌の生息地) 感染獲得様式および潜伏期間

疾患名	病原菌種	主な流行地	主な感染源	主な感染経路	潜伏期間
コクシジオイデス症	<i>Coccidioides</i> spp. <sup>a)</sup>	北米：米国西南部諸州(アリゾナ、カリフォルニア、テキサス、ニューメキシコ、ユタ、ネバダなど) 中南米：メキシコ、ベネズエラ、アルゼンチン、ブラジルの特定地域	原因菌の分生子で汚染された土壌	粉塵とともに空中に飛散した分生子の吸入による経気道感染	1～4週間
ヒストプラズマ症	<i>Histoplasma capsulatum</i> var. <i>capsulatum</i> <sup>b)</sup>	北米：米国のミシシッピ川流域(オハイオ渓谷、ミシシッピ渓谷など) 中南米：メキシコ、グアテマラ、ブラジル、ベネズエラ、アルゼンチンなど ヨーロッパ：地中海沿岸(イタリア、トルコなど) 東南アジア・オセアニア：タイ、中国、台湾、フィリピン、シンガポール、インドネシア、マレーシア、バングラデシュ、インド、オーストラリアなど	原因菌の分生子を含むコウモリやトリの糞またはそれで汚染された土壌	／	1～4週間
	<i>Histoplasma capsulatum</i> var. <i>duboisii</i> <sup>c)</sup>	中央アフリカ：ナイジェリア、チャド、ザイール、コンゴ、カメルーンなど			
	<i>Histoplasma farciminosum</i> <sup>d)</sup>	東欧 中近東：エジプト、スーダン インド 日本(?)	原因菌の分生子で汚染された土壌(?)	皮膚(動物)への直接接種による経皮感染(?)	不明
パラコクシジオイデス症(南アメリカ分芽菌症)	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	中南米諸国とくにブラジル、コロンビア、ベネズエラ	原因菌の分生子で汚染された土壌・植物	経気道感染、または汚染植物による刺創を介して皮膚や口腔粘膜へ直接接種	数カ月～数十年
マルネッフェイ型ペニシリウム症	<i>Penicillium marneffeii</i>	中国南部(とくにベトナム国境地帯)、ベトナム(とくに北部山岳地帯)、タイ、マレーシア、インド東部、ミャンマー、シンガポール、フィリピン	原因菌の分生子で汚染されたタケなどの植物(?)	経気道感染(?)	不明
ブラストミセス症(北アメリカ分芽菌症)	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	北米：米国東北部(とくに五大湖からミシシッピ川流域、ウイスコンシン州) アフリカほぼ全土 中近東(サウジアラビア、イスラエル)、インド	原因菌の分生子で汚染された土壌、または感染動物	経気道感染、または感染動物との接触による皮膚・粘膜への直接接種	4～6週間

a) 以前は *C. immitis* が唯一の病原菌種とされていたが、最近新菌種 *C. posadasii* が加わった。

b) カプスラーツム型ヒストプラズマ症の原因菌

c) ズボアジイ型(アフリカ型)ヒストプラズマ症の原因菌

d) *H. capsulatum* var. *farciminosum* とよばれファルシミノーズム型ヒストプラズマ症の原因菌

異なり、ヒストプラズマ症の原因菌は3つの変種からなる菌種(または2つの変種を含む菌種ともう1つ別の菌種に分類)であり、それぞれの生息地が違っていることが大きな理由です。しかしそればかりではありません。本症患者の大半を占めるカプスラーツム型ヒストプラズマ症(以下、単にヒストプラズマ症と呼びます)だけをとっても、流行地はアメリカ全大陸や東南アジア、アフリカ大陸を中心に、世界中の熱帯・亜熱帯地域に広く分布していることも理由になっています。

どの輸入真菌症をとっても、原因菌の無性胞子、特に分生子によって汚染された土壌が流行地での主な感染源になっている点が共通しています。その場合、保菌・感染動物の糞(代表的な例はヒストプラズマ症の場合のコウモリの糞)が堆積すると、より

濃厚な感染源となり、大量曝露を受ける危険性が生じます。こうした汚染土壌や汚染糞が粉塵となって空中に飛散し、たまたまそれを吸い込むことによって経気道感染が起こるわけです。原因菌の感染力が特に強いコクシジオイデス症やヒストプラズマ症については、このような感染様式による集団発生の事例が数多く報告されています。

またパラコクシジオイデス症やブラストミセス症については、汚染植物や感染動物を扱っている際に受けた刺傷を介して直接的に菌が口腔粘膜や皮膚に接種されて発症した事例も知られています。しかしヒトからヒトへの直接伝播は、どの輸入真菌症についても確認されていません。その一方で、生物以外の媒体を介した感染も時にみられます。わが国では、米国の流行地から輸入された汚染原綿の取り扱い者

に発生したコクシジオイデス症の事例<sup>9)</sup>、米国人の感染ドナーからの死体腎の移植患者にヒストプラズマ症が発生した事例<sup>10)</sup>、などが報告されています。移植臓器に由来するヒストプラズマ症は、本場の流行地でも大きな問題となっているようです。最近の報告<sup>11)</sup>によりますと、本症流行の中心地である米国オハイオ州クリーブランドの1施設においては、1997年から2007年までの10年間に3,436例の臓器移植施行患者のうち10例(肺移植9例、肝移植1例)にヒストプラズマ症の発生が確認されたとのことでした。

各輸入真菌症の潜伏期間はさまざまです。コクシジオイデス症やヒストプラズマ症では1~4週間と短いために、いつ頃、どこで感染したかを比較的容易に特定することができます。一方、パラコクシジオイデス症の場合には、顕性感染が成立するまでに数カ月から数年以上、なかには数十年もかかる例があるようです。おそらく流行地で何度も繰り返し曝露を受けた後に、ようやく感染が成立して発症に至るものと推測されます。これまでわが国で確認されたパラコクシジオイデス症患者が、ブラジルなどの流行地に居住していた外国人労働者にほぼ限られていたのもそのためと考えられます。

輸入真菌症に共通していることですが、流行地での感染率がかかなり高いわりには発症率は低く、大半は不顕性感染で終わるか、または発症したとしても感冒様の軽い症状で済むのが普通です。これは健常者の場合ですが、それに比べてHIV感染、血液悪性腫瘍、臓器移植、長期ステロイド療法などによる免疫不全の患者、特にAIDS患者では、発症率が著しく高く、しかも重篤化しやすいことが知られています。各輸入真菌症に対する生体防御の第一線が細胞性免疫によって担われているからです。そのほかパラコクシジオイデス症に特徴的な現象ですが、発症患者の90%以上が男性で占められ、感染リスクに明らかな性差がみられます。これは原因菌の腐生形(菌糸形)発育から寄生形(酵母形)発育への変換(「Ⅲ.1. 特異な発育性状: 二形性」の項参照)を女性ホルモンが阻止するためと考えられています<sup>12)</sup>。

## 2. 国内発生状況

各輸入真菌症の国内発生件数がどの位あるかは、微生物学的検査を行ううえでも欠かせない重要な情報です。しかし残念なことに、わが国には輸入真菌

症に関する全国レベルのサーベイランスシステムが存在しないために、正確な件数を把握することが難しい状況にあります。輸入真菌症のなかでは唯一コクシジオイデス症が感染症法で4類感染症に指定され、全例の届出が義務づけられています。それでも診断の困難さなどの理由で見逃されていたり、不注意によって届出がなされなかった症例が少なからずあることは容易に想像されます。ましてや届出義務が課せられていないヒストプラズマ症その他の輸入真菌症に至っては、発生状況の実態をつかむことがもっと難しいのは当たり前です。

こうした厄介な状況のなかで、わが国における輸入真菌症の中核的研究機関として自他ともにゆるしている千葉大学真菌医学研究センターは、以前から国内の輸入真菌症症例のデータ収集を精力的に行ってきました。その収集源となっているのは、同センターに検査依頼のあった症例のデータ、医学中央雑誌やMedlineで検索された症例報告、それに国立感染症研究所が把握している症例の情報などです。こうして収集された各輸入真菌症の年次別発生数は、同センターのホームページ(<http://www.pf.chiba-u.ac.jp/yunyushinkinsyou-kanjya.html>)に常時掲載されています。図1は、そのデータと、同センターの亀井克彦博士が厚生科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)「輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究」研究報告書のなかに「輸入真菌症の発生動向調査」と題して毎年報告した内容とを、まとめて図示したものです。1990年以降のコクシジオイデス症とヒストプラズマ症の急増ぶりがとりわけ目立ちます。コクシジオイデス症については米国(特にカリフォルニア州とアリゾナ州)での感染例が圧倒的多数を占め、ヒストプラズマ症については中南米での感染例が最も多いようです。ヒストプラズマ症の大半はカプスラーツム型ですが、2002年にズボアジイ型が2例発生しています。一方、かつて多かったパラコクシジオイデス症の患者は、最近、激減しました。これは、症例のほとんどを占めていた南米、特にブラジルからの来日労働者が減少したことによると考えられます。マルネツフェイ型ペニシリウム症の患者は、1995年に第1例が見つかって以来、少数ですが徐々に増える傾向にあります。その大半は、東南アジアから来日したAIDS患者です。プラストミセス症の

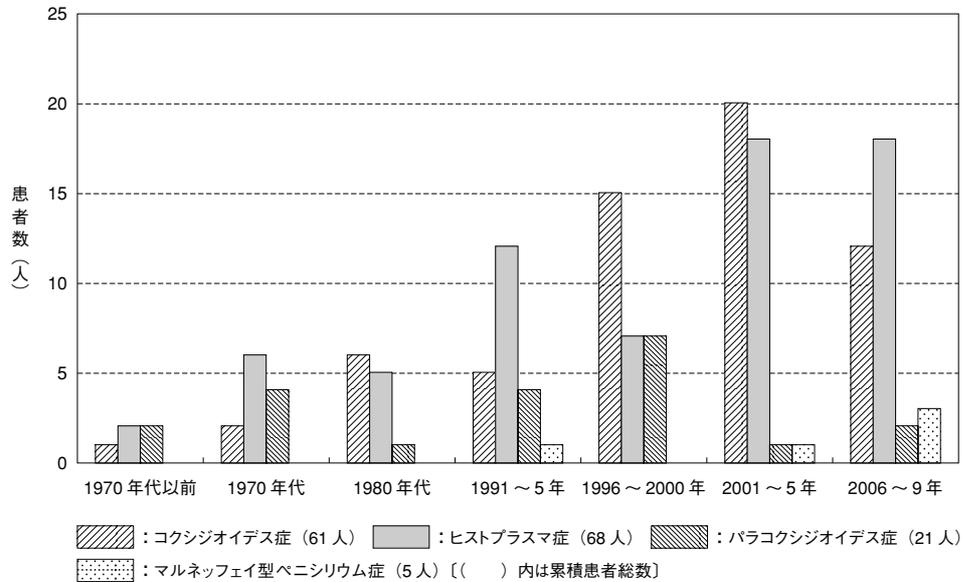


図1 確認された各輸入真菌症国内発生の年次の動向

(図1は巻末のカラーページに掲載しています。)

患者だけは、現在まで1例も確認されていません。

図1に示されている症例の数は、千葉大学真菌医学研究センターの努力によって把握できたものだけです。どの輸入真菌症についても実際の患者数がこれよりかなり多いだろうということは、先ほど述べた理由からもほとんど疑う余地がありません。いずれにしても、輸入真菌症患者の診療や検査を行う機会が今後間違いなく増えることを覚悟しておく必要があります。

### 3. ヒストプラズマ症をめぐる疫学的問題

日本という地理的視点から5つの輸入真菌症の疫学を見比べた場合、最も気になる状況にあるのは、ヒストプラズマ症です。それ以外の輸入真菌症については、わが国が流行地でないことはまず確実であり、したがって正真正銘の輸入真菌症といえます。これに対して、ヒストプラズマ症の患者のなかには流行地への旅行歴や居住歴がまったくない人が20%近くもいるのです。こうした人については国内で感染した可能性をどうしても考えざるを得ないわけです。ヒストプラズマ症の国内常在説をめぐっては、すでに1950年代から日本医真菌学会などでしばしば論争がくり返されてきましたが、まだ完全な結着はついていません。ただ、たとえ国内での自然感染例があるとしても、海外の流行地で感染した症例が大多数を占めることは事実です。したがって、少な

くとも先に述べた「輸入感染症」の条件には十分当てはまりますから、ヒストプラズマ症を輸入真菌症と呼ぶことに何ら支障はないわけです。

わが国でこれまで確認されたヒストプラズマ症のほとんどはカプスラーツム型(原因菌：*H. capsulatum* var. *capsulatum*)ですが、2002年にはズボアジイ型(原因菌：*H. capsulatum* var. *duboisii*)も2例見つかっています。また最近、ファルシミノーズム型ヒストプラズマ症(原因菌は*H. capsulatum* var. *farciminosum* または *H. farciminosum* と呼ばれる)に罹患したイヌ、ウシ、ラッコ、ウマなどの存在が明らかになったことから、本症が国内に常在していることは確かなようです<sup>13)</sup>。*H. farciminosum* はヒトには感染しないとされていますが、*H. capsulatum* var. *capsulatum* とは形態学的に区別がつきませんので、検査の際には混同しないように注意しなければなりません。

話をヒトのヒストプラズマ症に戻します。一部の地中海沿岸諸国を除くと、ヨーロッパは本症の非流行地と考えられていますので、そこでの発生状況はわが国の状況を探るうえで大いに参考になります。以前からヨーロッパにおけるヒストプラズマ症患者の大半は流行地からの移民または帰国者だといわれており<sup>14)</sup>、少数ですが英国やイタリアでは自国内感染例の報告がありました<sup>15, 16)</sup>。最近、東欧を含むヨーロッパ20カ国における1995年から1999年ま

での5年間の調査結果が報告され、収集された症例118例のなかでイタリー、ドイツおよびトルコからの合わせて8例は海外渡航歴がなく、自国内感染例と推定されたということです<sup>17)</sup>。地中海沿岸にあるイタリーやトルコはともかくとしても、ドイツでの発生は意外でした。こうしてみると、ヒストプラスマ症の流行地域範囲は予想以上に広く、わが国が流行地に含まれても決して不思議ではないことを思わせます。

### Ⅲ. 輸入真菌症原因菌のトピックス新旧2題

#### 1. 特異な発育性状：二形性

異なる輸入真菌症の原因菌の間には分類学的な類縁関係がまったくみられません。それなのに、いずれも二形性 (dimorphism) を示す、つまり二形性真菌 (dimorphic fungus) である、という点で共通の特徴をもっています。このことは古くから知られてきたのですが、輸入真菌症原因菌を語るうえで欠かせない特性なので、ここであらためて取り上げます。二形性とは、環境条件や栄養条件によって、糸状菌として発育する (糸状菌形または菌糸形と呼ばれる) こともあれば、酵母として発育する (酵母形と呼ばれる) こともあるという特殊な性質を意味します。そのために、すべての輸入真菌症の原因菌は、自然環境中に生息している場合や25～30℃で培養した場合には菌糸形で発育し (腐生形発育とも呼ばれます)、菌種によってさまざまなタイプの分生子をつくります。これに対して、同じ菌でも感染した宿主の組織内では酵母形で発育し (寄生形発育とも呼ばれます)、分芽 (出芽) や分裂によって増殖します。培養した場合でも、培養温度を37℃に上げると、生体組織内と同様の酵母形発育を行います。この温度依存性の形態変換は、輸入真菌症原因菌の特徴的な性質として同定検査に利用されます。ただし *Coccidioides* spp. だけは例外です。この菌は37℃で培養しても、またそのほかどんな条件下に置いても、酵母形に変換させることができません。各輸入真菌症原因菌の培養形態 (菌糸形、酵母形) および組織内形態 (酵母形) の詳細については検査の項で述べることにします。

#### 2. コクシジオイデス症原因菌の新菌種：

##### *Coccidioides posadasii*

コクシジオイデス症の原因菌としては、長い間 *Coccidioides immitis* が唯一の菌種とされてきました。しかし最近になって、原因菌がもう1菌種あることが明らかになりました<sup>18)</sup>。この新菌種は、1892年にコクシジオイデス症の最初の症例とその原因菌 (ただし原虫と誤って) を報告したアルゼンチンの医学生 Alejandro Posadas の名をとって *Coccidioides posadasii* と命名されています (表1をはじめここまでのコクシジオイデス症原因菌の名称を *C. immitis* ではなく *Coccidioides* spp. としたのはそのためです)。

両菌種は、形態学的にはほとんど区別がつかず、引き起こされる症状や病態・病型も同じです。違う点は各々の生息地にあります。*C. immitis* は米国カリフォルニア州に、*C. posadasii* は米国テキサス州や中南米に、それぞれ多く、米国アリゾナ州では両菌種が分離されています。これら2菌種の鑑別同定は、分子生物学的に行うほかなく、いくつかのPCR法<sup>19～21)</sup> や臨床検体から直接検出するためのリアルタイムPCR法<sup>22, 23)</sup> が考案されています。両菌種の識別は、患者がどの地域で感染したかを特定するのに役立ちますが、通常の検査ではそこまでの必要性はありません。

### Ⅳ. 輸入真菌症原因菌とバイオセーフティ

以上述べた疫学的特徴や発育性状の特徴に加えて、輸入真菌症原因菌に共通するもう1つの大きな特徴は、どの菌をとっても感染力と病原性が病原真菌のなかでは抜群に強いことです。特に *Coccidioides* spp. や *H. capsulatum* による感染の場合は、比較的少量の菌に曝露されただけで感染が成立するばかりか、重篤化して致命的な転帰をたどることさえあります。一般に、病原微生物をはじめとする生物やその産生物 (毒素など) が原因となってヒトになんらかの災害を起こす場合、それをバイオハザード (biohazard) または微生物災害と呼びます。病原微生物によるバイオハザードの大半を占めるのは実験室内感染 (laboratory infection) ですが、もちろんこれには臨床検査室内で起こる感染も含まれます。こうした感染に対する防止対策がバイオセーフティ

(biosafety) にほかなりません。

細菌、ウイルス、原虫といった他の病原微生物の場合と同様に、真菌についてもハザードリスク（つまり感染リスク）の大きさに応じた危険度のクラス分けが、またそれに対する防止対策の必要度に応じたレベル分けが、いずれもなされています。それぞれ危険度クラスおよびバイオセーフティレベル（biosafety level ; BSL）と呼ばれるものがそれです。病原真菌の危険度クラスやBSLを決めるうえで、実験室内感染事例の有無や発生件数、それに経気道感染リスクの有無、さらに感染が重篤か否か、などが重要な根拠となります。病原真菌のハザードリスクについては、いささか古いデータになりますが、1976年に発表されたPikeの有名な報告<sup>24)</sup>があります。それによると、全実験室内感染事例の約9%は真菌に起因しており、その上位5疾患のなかの3つまでが輸入真菌症（コクシジオイデス症、ヒストプラズマ症、プラストミセス症）で占められています。同様の状況はその後も続いていると考えられ、1990年代前半までの比較的新しいデータを取めた報告でも、起因菌としては*C. immitis*（108例以上）と*H. capsulatum*（81例）が圧倒的に多く、それより

ぐっと少なくなって*Sporothrix schenckii*（13例）、*B. dermatitidis*（12例）、*P. marneffei*（2例）の順となっていて<sup>25, 26)</sup>、ここでも*S. schenckii*以外はすべて輸入真菌症原因菌です。

こうした実験室（および臨床検査室）内でのハザードリスクや発症した場合の重篤さに基づいて、主要病原真菌菌種の危険度クラスやリスクの分類と必要な予防措置（プレコーション）についてのガイドラインが各国で作られています。わが国では日本医真菌学会から危険度クラス分類の試案<sup>27)</sup>が、また国立感染症研究所からはハザードリスク分類に対応したBSL<sup>28)</sup>が、各々提示されています（表2）。この表から明らかのように、どちらの分類でも*C. immitis*を筆頭に、すべての輸入真菌症原因菌の危険度クラスは最も高い3bまたはそれに次ぐ3aに、またBSLとしてはすべての菌種が3という高いレベルに位置づけられています。特に*C. immitis*は、感染症法で三種病原体に分類され、法的規制の対象となります。三種病原体といえ、多剤耐性結核菌、ブルセラ、鼻疽菌/類鼻疽菌、発疹チフスリケッチアなどと同じですから、かなりの強毒菌扱いというわけですが、ただし輸入真菌症原因菌を含む大部分の病原

表2 輸入真菌症原因菌を含む各種病原真菌の実験室/検査室での危険性（ハザードリスク）

菌種	危険度クラス <sup>a)</sup>	バイオセーフティレベル (BSL) <sup>b)</sup>	実験室感染事例の有 (+) 無 (-)	経気道感染リスクの有 (+) 無 (-)
<i>Coccidioides immitis</i> * <sup>1</sup>	3b	3	+	+
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	3a	3	+	+
<i>Histoplasma capsulatum</i> * <sup>2</sup>	3a	3	+	+
<i>Histoplasma farciminosum</i>	— <sup>c)</sup>	3	—	+
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	3a	3	—	+
<i>Penicillium marneffei</i>	3a	3	—	+
<i>Cryptococcus neoformans</i> * <sup>3</sup>	2b	2	+	+
<i>Sporothrix schenckii</i>	2b	2	+	+
<i>Cladosporium carrionii</i> * <sup>4</sup>	2b	2	—	—
<i>Cladosporium trichoides</i> * <sup>4</sup> (= <i>C. bantianum</i> )	2b	2	—	—
<i>Fonsecaea pedrosoi</i> * <sup>4</sup>	2b	2	—	—
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2a	2	—	+
<i>Candida albicans</i>	2a	2	—	—
<i>Exophiala dermatitidis</i> * <sup>4</sup>	2a	2	—	—
<i>Microsporium canis</i> * <sup>5</sup>	2a	2	+	—
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> * <sup>5</sup>	2a	2	+	—
<i>Trichophyton rubrum</i> * <sup>5</sup>	2a	2	+	—

a) 日本医真菌学会（試案）による。病原真菌の危険度を、低い方から高い方へ1、2a、2b、3a、3b、の5段階に分類している。

b) 「国立感染症研究所病原体等安全管理規程」による。BSLは4つのクラス、1、2、3、4（この順に危険性が高くなる）に分けられているが、病原真菌についてはBSL3が最高。

c) 記載なし。

\* 1 感染症法において三種病原体に規定；*Coccidioides posadasii*も含むと考えるべきである。

\* 2 *H. capsulatum* var. *capsulatum* および *H. capsulatum* var. *duboisii*。

\* 3 *C. neoformans* var. *neoformans* および *C. neoformans* var. *gattii*。

\* 4 黒色真菌症（深部皮膚真菌症）の原因菌

\* 5 白癬（表在性皮膚真菌症）の原因菌

（表2は巻末のカラーページに掲載しています。）

真菌の場合は、直接的にも間接的にもヒトからヒトへの伝播は決して起らず、この点では同じ病原微生物といっても細菌やウイルスなどとはまったく異なります。

どの輸入真菌症原因菌についても、ハザードリスクが高いとされるのは、それらの菌糸形がつくる分生子が強い感染力をもっているからにはかなりません。なかでも *C. immitis* の感染力はとりわけ強く、実験動物では分生子を1～10個吸わせるだけで全身感染が成立するほどですので、実験室内感染事例の報告が最も多いのもうなずけます<sup>29)</sup>。これに *H. capsulatum* による事例を合わせると、細菌感染や寄生虫感染のそれを優に上回る数になります<sup>30)</sup>。

輸入真菌症原因菌のBSLについて一言つけ加えますと、BSL 3という高いレベルは、大量の菌糸形生菌培養を主として研究目的で取り扱うことを想定して決められたものです。しかし臨床検査室で取り扱う検体についていえば、そこに含まれている菌は分生子よりもはるかに感染力が弱い酵母形ですから、ハザードリスクはそれほど高くはないと考えられます。実際にASMのマニュアル<sup>5)</sup>には、そうした検体を取り扱う場合には、プレコーションは1段階低いレベルつまりBSL 2でよいと記されています。ただし臨床検査室といえども、生菌培養を取り扱うとなった場合には、BSL 3のプレコーションが要求されるのは当然です。BSL 3に対応可能な臨床検査室はわが国にはほとんどないようですので、生菌培養を操作する検査は決して行わないようにすべきです。先にスライド培養の実施を原則的に避けるべきだと述べた理由もここにあります。また放置された患者由来の検体（体液、組織など）や汚染された器材も分生子をつくっている可能性がありますので、生菌培養と同様に危険であることを認識すべきで

す。輸入真菌症原因菌の安全な取り扱い方については、いくつかの解説<sup>31～33)</sup>に詳しく述べられています。

これまで報告された臨床検査室内真菌感染の原因としては、生菌培養（試験管、シャーレ）の落下破損が第1位で、次いでスライド培養の準備作業です。やはり *C. immitis* での事故が最も多く、またコクシジオイデス症が輸入真菌症のなかで最も治療に抵抗することも問題をより大きくしています<sup>34)</sup>。こうした取り扱い事故が起こった際の初期対処法は感染の発生・拡大を防止するうえできわめて重要です。その具体的な手順については、この分野のエキスパートであるDavid Stevens博士らが提示しているガイドライン<sup>35)</sup>が大変参考になります。

## V. 輸入真菌症を診断するための微生物学的検査とその進め方

### 1. 検査をはじめの前に入手しておくべき患者情報

輸入真菌症、特にコクシジオイデス症またはヒストプラズマ症、に罹患している可能性を考慮する必要があるか否かは、実施しようとする検査の手順とプレコーションのレベルに大きく影響します。したがって、患者の診療に当たった医師は、輸入真菌症の疑いを持った場合には、表3に示すような患者情報を検査室のスタッフにあらかじめ伝えておかなければなりません。それが確実に行われるためには、院内感染防止対策委員会などで情報伝達システムを予め構築しておくことが重要です。

### 2. 検査に用いる検体

検査に適した検体（つまり原因菌が検出されやすい検体）の種類は、輸入真菌症によって多少違いま

表3 あらかじめ臨床検査室へ伝えておくべき輸入真菌症関連の患者情報

患者情報	備考
流行地への旅行歴と居住歴	<ul style="list-style-type: none"> <li>流行地での数時間滞在で感染した事例がある（コクシジオイデス症）。</li> <li>患者は流行地の長期（数年～数十年）居住者に限られる（パラコクシジオイデス症）。</li> </ul>
流行地での生活・行動	<ul style="list-style-type: none"> <li>流行地での野外生活、土木・発掘作業などで感染しやすい（コクシジオイデス症）。</li> <li>コウモリの棲む洞穴内での感染例が多い（ヒストプラズマ症）。</li> </ul>
流行地から輸入された原材料との接触歴	<ul style="list-style-type: none"> <li>流行地由来の原綿を取り扱って感染した事例がある（コクシジオイデス症）。</li> </ul>
臨床症状・画像所見	<ul style="list-style-type: none"> <li>呼吸器症状や胸部X線異常所見および（または）皮膚・粘膜の病変を呈することがある（すべての輸入真菌症）。</li> </ul>
基礎疾患	<ul style="list-style-type: none"> <li>重い免疫不全を伴うような基礎疾患（AIDS、血液悪性腫瘍、臓器移植、長期ステロイド療法など）をもつ患者では既存感染の活性化や再燃が起こりやすい（すべての輸入真菌症）。</li> </ul>

表4 輸入真菌症が疑われる場合の検査に適した臨床検体

疾患	検体の選択順位と種類
コクシジオイデス症	① 気道分泌物 (喀痰など) ② 皮膚・粘膜の化膿性病変組織 ③ 尿 ④ 血液・髄液
ヒストプラズマ症	① 気道分泌物 (喀痰、BAL 液など) ② 血液 ③ 骨髄 ④ 尿 ⑤ 皮膚・粘膜の病変組織 ⑥ 肝・脾の生検組織
パラコクシジオイデス症	① 気道分泌物 (喀痰、BAL 液など) ② 皮膚病変部 (肉芽腫の底部、潰瘍辺縁部など) 組織 ③ リンパ節、排膿された膿汁 ④ 髄液
マルネッフェイ型ペニシリウム症	① 骨髄 ② 皮膚病変部 (潰瘍) 組織、リンパ節 ③ 血液
プラストミセス症	① 気道分泌物 (喀痰、BAL 液、経気管吸引物など)、肺生検組織 ② 皮膚・粘膜病変部組織

す(表4)。また同じ輸入真菌症でも病型によって異なってきます。例えば、慢性肺型ヒストプラズマ症の患者では約2/3が喀痰培養陽性ですが、播種型ヒストプラズマ症の場合には血液、骨髄(穿刺液)または尿検体がそれと同程度かそれ以上の陽性率を示します。このように患者情報に基づいて、できるだけ多くの種類の検体について、それも1回限りではなく、繰り返し検査を行うことが陽性結果を得るための大事なポイントです。

どんな検体、どの菌であっても、新鮮な検体から感染を受けることはまずありません。危険なのは放置された古い検体(菌糸形発育が起こっている可能性がある)の場合ですので、使用済みの検体は容器ごと速やかに滅菌処理します。

### 3. 検査の手順

安全性と迅速性に優れた検査法である直接鏡検および(または)病理組織検査(生検材料の場合)を先ず実施します。先に述べたように、同じ菌でも培養形態である菌糸形(分生子)よりも組織内形態である酵母形のほうが格段に感染力が弱いため、より安全に取り扱うことができるからです。発育形態によって危険性が異なる点は、病原細菌にはみられない真菌の特徴です。

直接鏡検とならんで、この段階で実施可能な検査法は、検体から直接DNAを抽出し、それを用いて原因菌を同定するPCR法やリアルタイムPCR法です。現在、各原因菌について検査実施法の開発が進

められています(*Coccidioides* spp.の検出・同定法についての文献<sup>19-23)</sup>は先ほど紹介しました)。私なども大いに期待している検査法ですが、腐生性真菌が検体に混在していると誤った結果を導くことになりかねないといった欠点があります。

次の検査は、培養菌の形態観察ですが、生菌培養ならば必ず密封した状態で観察を行います。かき取り標本をつくってより詳しく観察したい場合には、培養菌を殺菌処理してから行わなければなりません。

通常の臨床検査室で比較的安全に行える検査はここまでです。その検査結果や患者情報から、扱っている菌が*Coccidioides* spp.や*H. capsulatum*の可能性がなく、しかも真菌検査について十分な知識・経験と技術を持ち、それに設備が整っている場合には、スライド培養法を含む培養検査も実施可能です。しかし少しでも*Coccidioides* spp.または*H. capsulatum*の疑いが残っている場合にはその実施を避けるべきです。以上のすべての操作は、BSL 2のプレクションのもと、クラス I、II A、またはIII Bのバイオハザード対策用キャビネット(安全キャビネット)内で行う必要があります。

### 4. 検体の直接鏡検

血液、BAL液、喀痰、骨髄(穿刺液)、髄液(沈渣)、膿汁などの液性検体は、どれも直接鏡検の対象となります。KOH、色素(ラクトフェノールコットンブルー、メチレンブルー)または蛍光色素(カルコフロー

ル、ファンギフローラ Y) で処理・染色したウエットマウント標本や、塗抹検体 (スメア) に PAS、グロコット、パパニコロウなどによる染色を施した標本を作製し、顕微鏡下で観察します。また生検材料については、同様の染色を施した組織切片標本を用いて病理組織学的検査を行います。図 2 に示すのは、

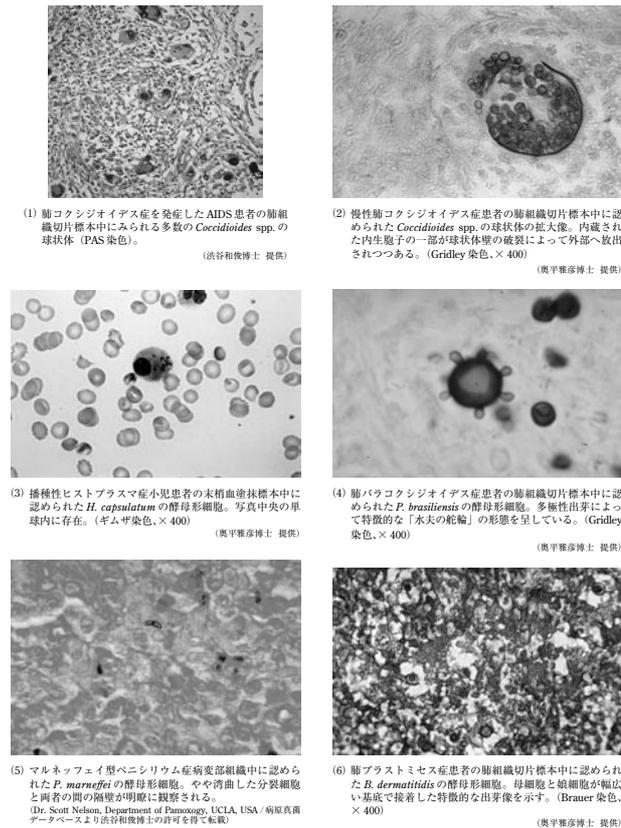


図 2 直接鏡検または病理組織検査による各輸入真菌症原因菌の検出例

(図 2 は巻末のカラーページに掲載しています。)

表 5 輸入真菌症原因菌の直接鏡検または病理組織学的検査における特徴的な所見

原因菌	特徴的所見備考	備考
<i>Coccidioides</i> spp. <sup>a)</sup>	多数の内生胞子 (2~4μm) を内蔵した大型で肥厚した壁をもつ球状体 (20~60μm)	本菌の内生胞子は他の二形性真菌の酵母形、 <i>Candida</i> spp. (とくに <i>C. glabrata</i> )、 <i>Cr. neoformans</i> 、 <i>Prototheca</i> spp. などと似ているので鑑別が必要。
<i>Histoplasma capsulatum</i>	球形~卵円形の小型酵母細胞 (2~4μm)。しばしば単球やマクロファージ内に存在。	<i>Coccidioides</i> spp. の内生胞子、 <i>P. marneffei</i> の酵母形、 <i>C. glabrata</i> 、 <i>Cr. neoformans</i> 、 <i>Toxoplasma gondii</i> などと類似し、鑑別が必要。
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	酵母形の親細胞 (15~30μm) の周りに幾つもの小型の芽細胞 (2~10μm) が並び、「水夫の舵輪 (pilot's wheel)」様の像を呈する。	
<i>Penicillium marneffei</i>	卵円形~楕円形の小型酵母形細胞 (3~6μm) が組織球内や組織中に存在。ソーセージ状にやや湾曲した二分細胞 (長さ 8μm) が両者を仕切る隔壁とともにしばしば観察される。	<i>H. capsulatum</i> の酵母形と似ているが、分裂によって生じた隔壁をもつ点で異なる。
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	球形で肥厚した壁による二重輪部をもつ酵母形細胞 (8~15μm) が組織内に存在。出芽によって生じた娘細胞は幅広い基底で母細胞と接着している。	

a) *C. immitis* のほかに新菌種 *C. posadasii* を含む。

各輸入真菌症原因菌の典型的な顕微鏡像です。表 5 にはそうした各菌の組織内形態の特徴をまとめました。*Coccidioides* spp. 以外の菌はどれも酵母形として存在する一方、*Coccidioides* spp. だけは内生胞子を容れた球状体として検出されるのが特徴的です。

この検査法は、危険性の高い *Coccidioides* spp. の検出・同定にはとりわけ有用です。事実、わが国で報告されたコクシジオイデス症症例の約 70% までが病理組織学的検査によって診断されています<sup>36)</sup>。

## 5. 密封した生菌培養の形態観察

分生子に曝露されることなく安全に生菌培養の形態を観察するには、それを密封した状態で行う必要があります。培養法としては、シャーレでの平板培養と試験管内の斜面培養が使われますが、前者は巨大コロニーの肉眼観察に適し、後者は菌糸形発育形態 (菌糸・分生子) の顕微鏡観察に向いています。どちらの培養にも培地としては、BHI 寒天 (1% グルコース添加)、サブロー・デキストロース寒天 (SDA)、ポテトデキストロース寒天 (PDA)、トリプティケース・ソイ寒天 (1% グルコース添加) などをつつう用います。喀痰など細菌が混在する検体については、抗菌薬 (クロラムフェニコール、ゲンタミシンなど) 含有培地を、また腐生性真菌の汚染が考えられる場合にはシクロヘキシミド含有培地を、各々使用します。培養温度としては、菌糸形発育に適した 25~30℃ を選びます。発育速度は、原因菌によって異なり、また同一菌種でも菌株によってま

ちまちです。最も発育が遅いのは *H. capsulatum* や *P. brasiliensis* であり、コロニーが観察可能な大きさになるまで4週間以上かかることもあります。このことを念頭に置いて十分な培養期間をとります。

平板培養の場合は、検体を培地中央に接種したら直ちにシャーレの縁を通気性ビニールテープで密封します（普通のビニールテープならば注射針を使って数カ所に通気孔を作ります）。斜面培養にはスクリュウ栓付試験管よりもシリコン栓付試験管のほうが操作しやすく、安全性のうえでも優れています。

図3は、各輸入真菌症原因菌を25～30℃で培養した場合（したがって菌糸形発育を示す）にみられる巨大コロニーの典型的なマクロ像です。特に印象的なのは、*P. marneffei* のPDA培養であり、鮮紅色の色素がコロニーの周りに拡散している像が観察されます（*P. citrinum*, *P. purpurogenum*, *P. rubrum* など本菌とは別の *Penicillium* spp. も同様の色素を産生するので、注意を要します）。

しかしこの例を除けば、どの輸入真菌症原因菌についてもコロニー性状に際立った特徴はみられません（表6）。それよりも参考になるのはコロニー発育

速度です。*P. marneffei* や *Coccidioides* spp. のコロニーは通常の糸状菌並みに比較的速やかに発育してきますが、それ以外の菌ではふつう1週間以上経たないとコロニーは肉眼で見えるようにはなりません。

また可能ならば、酵母形でも発育するかどうかを観察するために、BHI寒天またはBHI血液寒天を用いて37℃での培養も併せて行います。*Coccidioides* spp. はまったく酵母形発育を示さず、*P. marneffei* も酵母形になりにくいのに対して、残りの3種の輸入真菌症原因菌は比較的純粋に酵母形で発育します。同じ菌が菌糸形発育と酵母形発育の両方を行うことがわかって二形性真菌であることが確認できれば、菌の同定に大変役立ちます。

斜面培養の顕微鏡観察を行う場合には、実体顕微鏡を使い、低倍率で試験管の管壁越しに行います。菌糸形発育培養では菌種によって特徴的な形をした分生子の形成がみられますので、それを確認することが観察のポイントです。ただし、この方法では低倍率での観察しかできませんので、高倍率で詳しく観察するには、次の項で述べるかき取り標本を用いてそれを行う必要があります。図4は各菌糸形発育形

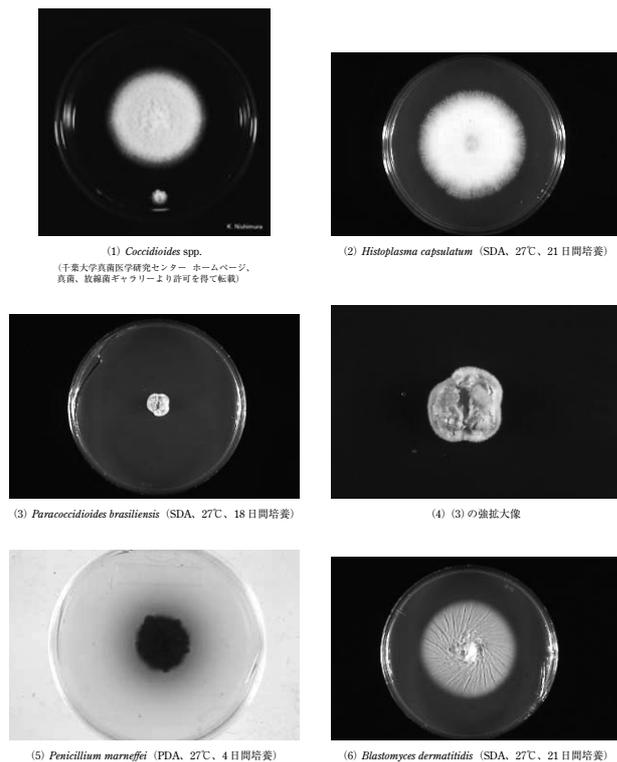


図3 寒天平板培地に培養した各輸入真菌症原因菌の巨大コロニー(菌糸形発育)のマクロ像

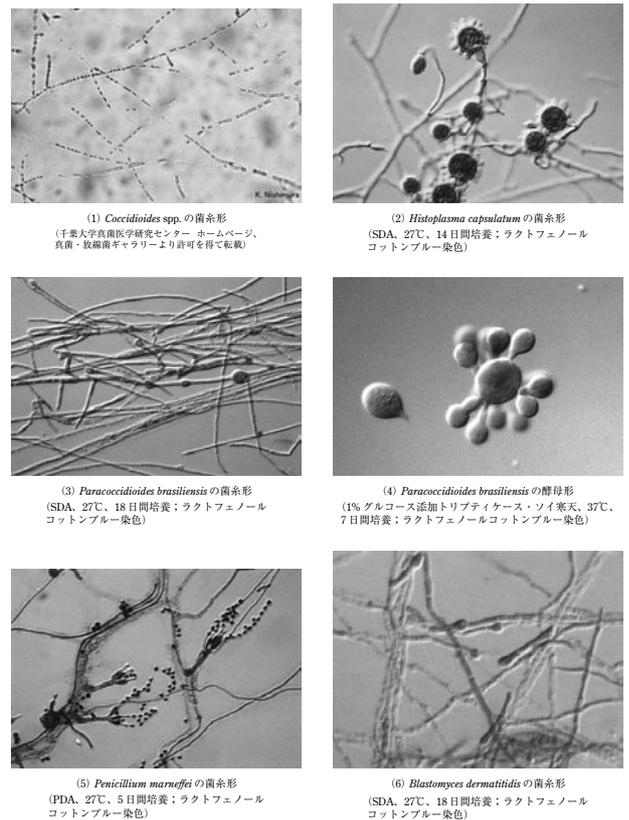


図4 各輸入真菌症原因菌の菌糸形〔(4)のみは酵母形〕培養形態の顕微鏡像

(図3, 4 は巻末のカラーページに掲載しています。)

態の鏡検像です。さらに *P. brasiliensis* については、菌糸形発育形態〔図 4 (3)〕のほか同一菌株を 37℃で培養した場合の特徴的な酵母形発育形態〔図 4 (4)〕も併せて示しました。ただし、これらの鏡検像はスライド培養標本の観察によって得られたものであり、形態の特徴をこれだけ良好に保った像をかき取り標本で得ることは仲々できません。

以上の各菌のコロニーレベルならびに顕微鏡レベルでの形態学的特徴を表 6 にまとめました。

## 6. 殺菌・固定処理した培養菌を用いる検査

高倍率でより詳細な顕微鏡観察を行う場合には、殺菌した培養菌を使用するのが安全です。斜面培養試験管のシリコン栓に注射針を突き刺し、注射器でホルマリン液またはアルコール液をすべての発育コロニーが完全に浸るまで注入します。それぞれの溶液の濃度は、寒天培地を含めて最終濃度が 10% および 70% になるように調製しておきます。24～48 時間放置した後、殺菌・固定された菌体を取り出してかき取り標本を作成し、ラクトフェノールコットンブルーで染色し、ウェットマウントで観察します。またこのエタノール固定菌体またはエタノール液自

体から真菌 DNA を抽出し、分子生物学的同定検査 (次項参照) に利用することもできます。ホルマリン固定菌体から抽出した DNA では偽陽性になる場合が多いので、あまり奨められません。

## 7. 生菌培養を用いる同定検査

病原真菌全般に通じることですが、輸入真菌症原因菌についても確実な菌種同定には培養検査が欠かせません。その基本となる手技がスライド培養法です。これを行うことによって、表 6 に示したような各原因菌の形態学的特徴、特に菌糸形発育のそれが最も明確に観察されるからです。それと並んで菌糸形から酵母形への形態変換、つまり二形性真菌であることが確認されれば、輸入真菌症原因菌の可能性を支持する重要な根拠となります。ただし *Coccidioides* spp. だけはどんな条件下でも酵母形へ変換しません。その代わりに、以前からある Converse 改良液体培地または宮治・西村両博士考案の改良 YNB 寒天培地<sup>37)</sup> を使用し、高 CO<sub>2</sub> 分圧 (5～20%) 下、37～40℃で 2 週間ほど培養すると、球状体の形成を観察することができ、本菌同定の決定的な証拠となります。

表 6 輸入真菌症原因菌の 25～30℃培養 (菌糸形発育) および 37℃培養 (酵母形発育) のコロニー像ならびに鏡検像の特徴

菌名	25～30℃培養 (菌糸形発育)	37℃培養 (酵母形発育)
<i>Coccidioides</i> spp.	コロニー：速やかに発育。約 1 週間で黄色～黄褐色から淡黄色を呈する。 鏡検：菌糸に厚い壁をもつ樽形の分節型分生子 (2～4×3～6μm) がつくれ、空になった解離細胞と交互に配列。	25～30℃培養と同様の菌糸形発育。
<i>Histoplasma capsulatum</i>	コロニー：発育は遅く、白色から黄褐色～褐色へと変化する粉状～綿毛状のコロニー。 鏡検：培養初期には球形、卵円形または洋梨形の小分生子 (2～5μm) を、培養が進むと特徴的な球形～洋梨形の大分生子 (8～16μm) を形成。	コロニー：表面平滑で湿潤した白色～淡黄色の酵母様コロニー。 鏡検：球形～卵円形の酵母形細胞 (2～4μm)。
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	コロニー：発育は遅く、外観は顆粒状褐色から綿毛状ベージュ色までさまざま。 鏡検：数週間培養後に小分生子 (3～10μm) を形成。	コロニー：やや乾燥した白色～淡黄色の酵母様コロニー。 鏡検：大小さまざまなサイズの酵母形細胞 (3～10μm)。単極性または多極性出芽。多極性出芽細胞は「水夫の舵輪」と呼ばれる特徴的な形態。
<i>Penicillium marneffei</i>	コロニー：発育は速いかまたは中等度の速さ。はじめ白色～黄色の綿毛状を呈するが、分生子形成とともに青緑色に変わる。PDA 上で紅色色素を産生、培地中へ拡散。 鏡検： <i>Penicillium</i> 特有の構造体 (メツラ、フィアライド、筆状体) を形成。球形～亜球形の小分生子 (2～3μm) を形成。	コロニー：灰白色の酵母様コロニー。 鏡検：卵円形～楕円形、小型の酵母形細胞 (2～3μm)。 ただし酵母形発育はしばしば困難。
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	コロニー：発育は中等度の速さかまたは遅い。はじめ白色で、徐々に淡褐色に変わる羊毛状～無毛状のコロニー。 鏡検：短い側枝上または菌糸先端に球形、卵円形または洋梨形の分生子 (2～10μm) を形成。	コロニー：表面にシワのある白色～クリーム色の酵母様コロニー。 鏡検：球形で大小さまざまなサイズの酵母形細胞 (5～30μm)。

もう1つの菌種同定法は、分子生物学的方法です。純培養の生菌から抽出されたDNAの菌種特異的な塩基配列領域（リボソームRNA遺伝子のITS領域など）を標的とし、検出にはDNAプローブとのハイブリダイゼーション（DNAプローブ法）、PCR法、nested PCR法、リアルタイムPCR法などを用います。先に述べた臨床検体から直接抽出したDNAや初代培養からのDNAも勿論分子生物学的同定検査に利用できますが、いずれも（特に前者では）検体由来の汚染DNAの影響は避けられません。したがって、純培養から得られるDNAが、より信頼性の高い結果を与えることはいうまでもないことです。しかし良好なDNA検体を使ったとしても、DNAプローブ法では交叉反応によって、また各種PCR法では試薬の真菌DNA汚染などによって、いずれも誤った結果を生じる可能性があります。この点では、direct sequencing法は最も確実な菌種同定法といえます。

以上の生菌を取り扱う培養検査は、菌種同定に最も有用である反面、検査室内感染の危険性が最も高い検査法でもあり、このことは繰り返し述べてきた通りです。輸入真菌症原因菌の可能性が少しでもある未同定の無着色糸状菌については、必ずクラスIIA以上の安全キャビネット内で操作すべきです。さらに輸入真菌症原因菌と同定された場合には、直ちに院内感染防止対策委員会などに報告し、その指示に従って対処します。培養菌の検査室保存は、これできるだけ避け、特に*Coccidioides* spp.と判明した場合には絶対に行ってはなりません。ただし学術的ならびに疫学的には貴重な菌株ですので、専門機関と連絡をとり、保存と併せて遺伝子型別などの研究への利用をはかることが望まれます。

## おわりに

輸入真菌症は、今では誰もが知っている言葉ですが、一般的には文字通りそのエキゾチックな面が強調され過ぎてきたように思います。しかし微生物検査にたずさわる側からすれば、輸入真菌症原因菌が検査室内感染（しかも時には重篤な）を起こし得る強い感染力と病原性を兼ね備えているという事実のほうが、はるかに大きな問題です。私の念願は、こうしたハザードリスクの高い真菌の検査が安全にし

かも適確に行われることにあります。それを実践していただくためには、輸入真菌症の概念、疫学、バイオセーフティといった関連する重要な事項についての基本的な知識と理解が欠かせないと考え、本稿の前半部分でかなり詳しく解説しました。

国内で確認された輸入真菌症の患者数はまだそれほど多くありませんが、実際の発生数は間違いなくそれを上回っているはずであり、しかも今後ますます増えることも自明の理です。輸入真菌症原因菌と一口にいても、臨床検査室で取り扱う場合のハザードリスクつまり感染を受ける危険性の程度はさまざまです。最も危険度の高い*Coccidioides* spp. やそれに次ぐ*H. capsulatum* については、1つ取り扱いを誤れば、検査室内感染はおろか、室外の広い区域を巻き込んだ大規模な院内感染の発生につながりかねません。一方、バイオセーフティについて十分な配慮がなされれば、そうした事故を一切起こすことなく、かなりのレベルまで安全に検査を行うことが可能です。それを果たすのにこの小文が少しでも役立つことを心から願っています。

## 文 献

- 1) Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA (ed): *Clinical Mycology*, Churchill Livingstone, New York · Edinburgh · London · Philadelphia, 2003.
- 2) 厚生労働科学研究費補助金（新興感染症研究事業）：輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究班（国立感染症研究所生物活性物質部）：輸入真菌症診断・治療ガイドライン2006、国立感染症研究所生物活性物質部、2006.
- 3) 宮治 誠（編）：病原性真菌ハンドブック、医薬ジャーナル社、東京、2007.
- 4) 山口英世：病原真菌と真菌症 改定4版、南山堂、東京、2007.
- 5) Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, et al (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, ASM Press, Washington, DC, 2007.
- 6) バイオメディカルサイエンス研究会（編）：バイオセーフティの事典 病原微生物とハザード対策の実際、みみずく舎、東京、2008.
- 7) 岩田和夫：微生物によるバイオハザード—その問題点と対策— 真菌誌、**23**: 1-16, 1982.
- 8) 宮治 誠、西村和子：輸入真菌症とバイオハザード（微生物災害）p.96-106、文部省総合研究・真菌症班（編）：病原真菌同定法の指針、文光堂、東京、1986.
- 9) 榎原 啓、肥田野 等、土屋整也、ほか：コクシジオイデス症（*Coccidioidomycosis*）の1例。日内会誌、**73**: 968-973, 1984.

- 10) 発地雅夫、渡辺正秀、羽山正義、ほか：移植腎から感染したと思われるヒストプラズマ症の1剖検例. 真菌誌、**28** : 111, 1987.
- 11) Cuellar-Rodriguez J, Avery RK, Lard M, et al : Histoplasmosis in solid organ transplant recipients : 10 years of experience at a large transplant center in an endemic area. Clin Infect Dis, **49** : 710-716, 2009.
- 12) Stevens DA : The interface of mycology and endocrinology. J Med Vet Mycol, **27** : 133-140, 1989.
- 13) 佐野文子：ヒストプラズマ症の最新の知見—家庭内飼育動物が罹患したら—。モダンメディア、**55** : 36-45, 2009.
- 14) Manfredi R, Mazzoni A, Nanetti A, et al : *Histoplasmosis capsulati* and *duboisii* in Europe : The impact of the HIV pandemic, travel and immigration. Eur J Epidemiol, **10** : 675-681, 1994.
- 15) Symmers WC : Histoplasmosis contracted in Britain : a case of histoplasmic lymphadenitis following clinical recovery from sarcoidosis. Br Med J, **2** : 786-790, 1956.
- 16) Viviani MA, Vago G, Farina C, et al : ECMM Survey of histoplasmosis in Europe. Report from Italy. Rev Iberoamer Micol, **17** : S143, 2000.
- 17) Ashbee HR, Evans EGV, Viviani MA, et al : Histoplasmosis in Europe : report on an epidemiological survey from the European Confederation of Medical Mycology Working Group. Med Mycol, **46** : 57-65, 2008.
- 18) Fisher MC, Koenig GL, White TJ, et al : Molecular and phenotypic description of *Coccidioides posadasii* sp. nov., previously recognized as the non-California population of *Coccidioides immitis*. Mycologia, **94** : 73-84, 2002.
- 19) Bialek R, Kern J, Herrmann T, et al : PCR assays for identification of *Coccidioides posadasii* based on the nucleotide sequence of the antigen 2/proline-rich antigen. J Clin Microbiol, **42** : 778-783, 2004.
- 20) Johnson SM, Simmons KA, Pappagianis D : Amplification of coccidioidal DNA in clinical specimens by PCR. J Clin Microbiol, **42** : 1982-1985, 2004.
- 21) Umeyama T, Sano A, Kamei K, et al : Novel approach to design primers for identification and distinction of the human pathogenic fungi *Coccidioides immitis* and *Coccidioides posadasii* by PCR amplification. J Clin Microbiol, **44** : 1859-1862, 2006.
- 22) Binnicker MJ, Buckwalter SP, Eisberner JJ, et al : Detection of *Coccidioides* species in clinical specimens by real-time PCR. J Clin Microbiol, **45** : 173-178, 2007.
- 23) Sheff KW, York ER, Driebe EM, et al : Development of a rapid, cost-effective TaqMan real-time PCR assay for identification and differentiation of *Coccidioides immitis* and *Coccidioides posadasii*. Med Mycol, **48** : 466-469, 2010.
- 24) Pike RM : Laboratory-associated infections. Summary and analysis of 3921 cases. Health Lab Sci, **13** : 105-114, 1976.
- 25) Collins CH : Laboratory Acquired Infections, 3rd edn, Butterworth-Heinemann Ltd, Oxford, UK, 1993.
- 26) Sewell DL : Laboratory-associated infections and biosafety. Clin Microbiol Rev, **8** : 389-405, 1995.
- 27) 宮治 誠：真菌の危険度分類. 真菌誌、**34** : 220-229, 1993.
- 28) 国立感染症研究所バイオリスク管理委員会(編)：国立感染症研究所病原体等安全管理規程、2007.
- 29) Walsh TJ, Pizzo PA : Nosocomial fungal infections : a classification for hospital-acquired fungal infections and mycoses arising from endogenous flora or reactivation. Ann Rev Microbiol, **42** : 517-545, 1988.
- 30) Pike RM : Laboratory-associated infections : incidence, fatalities, cases, and prevention. Ann Rev Microbiol, **33** : 41-66, 1979.
- 31) 山口英世：真菌、p.146-159、バイオメディカルサイエンス研究会(編)バイオセーフティの事典 病原微生物とハザード対策の実際、みみずく舎、東京、2008.
- 32) Warnock DW : Mycotic agents of human disease, p.110-120, Fleming DO, Hunt DL (ed), Biological Safety : Principles and Practices, ASM Press, Washington, DC, 2000.
- 33) Padhye AA, Bennett JE, McGinnis MR, et al : Biosafety considerations in handling medically important fungi. Med Mycol, **36** (Suppl 1) : 258-265, 1998.
- 34) Galgiani JN, Ampel NM, Blair JE, et al : Coccidioidomycosis. Clin Infect Dis, **41** : 1217-1223, 2005.
- 35) Stevens DA, Clemons KV, Levine HB, et al : Expert opinion : what to do when there is *Coccidioides* exposure in a laboratory. Clin Infect Dis, **49** : 919-923, 2009.
- 36) Kamei K, Sano A, Kikuchi K, et al : The trend of imported mycoses in Japan. J Infect Chemother, **9** : 16-20, 2003.
- 37) 宮治 誠：輸入真菌とバイオハザード. 真菌誌、**34** : 113-120, 1993.