

Miconazole の生物学的検定法およびそれによるヒト体液内濃度の測定

内田 勝久・山口 英世

帝京大学医学部医真菌研究センター

(昭和 59 年 3 月 26 日受付)

Blastomyces dermatitidis 酵母形細胞を検定菌とする寒天拡散法による miconazole の高感度生物学的検定法を開発した。この検定法における血清希釈標準薬剤溶液の測定可能な下限濃度は 0.025~0.05 $\mu\text{g/ml}$ 、生理食塩水希釈標準薬剤溶液のそれは 0.002 $\mu\text{g/ml}$ であった。この検定法を用いて miconazole 200~600 mg の点滴静注を受けた真菌症患者の血中濃度の経時的变化を追跡した。点滴終了時に 1.0~1.6 $\mu\text{g/ml}$ のピークに達した血中レベルは時間とともに急速に低下し、7~8 時間後の値はピーク値の 1/4 以下であった。クリプトコッカス性髄膜炎患者の髄腔内に miconazole 10 mg を直接注入した後の髄液内濃度は 72 時間後でも 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 以上のレベルを維持した。これらの体液内濃度と治療効果との関連性についても考察した。

Miconazole(MCZ) は、広範囲の病原真菌に対して強い *in vitro* 抗菌活性を有し¹⁻⁵⁾、種々の真菌症の動物モデルにおいても非経口的治療の有効性が確かめられている^{2,6-9)}。欧米諸国においては 1970 年代半ばより播種性カンジダ症、その他のカンジダ感染症、慢性粘膜皮膚カンジダ症、プラストミセス症、コクシジオイデス症、クリプトコッカス性髄膜炎などの種々の深在性真菌症に対する本剤の静脈内点滴療法が検討されてきた¹⁰⁻¹²⁾。近年にいたってわが国においても本剤の臨床的適用が試みられつつある。

本報においては、MCZ の治療効果を評価することを目的として、常用量とされている 1 回 200~600 mg 静脈内点滴注射を受けた真菌症患者における血中濃度および 10 mg 髄腔内直接注入を受けたクリプトコッカス性髄膜炎患者の髄液内濃度それぞれの時間的推移について検討した成績を述べる。また、本剤の血中レベルは一般に低く¹³⁾、その反面深在性真菌症は高い感受性をもつ¹⁻⁵⁾ことから、低濃度域まで測定する必要がある。われわれは *Blastomyces dermatitidis* の酵母形細胞を検定菌に用い、従来の方法よりもさらに高感度の生物学的検定法を考案し、これを体液内濃度の測定に適用した。

I. 実験材料と方法

1. 標準薬剤溶液

持田製薬(株)より分与された MCZ 精製標品をジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解して 8 mg/ml の溶液(原液)を調製し、-20°C に保存した。使用に先立ってこの原液から DMSO を希釈剤に用いて 2 倍希釈系列をつくり、それぞれを滅菌生理食塩水で 10 倍ずつ希釈し

た。次いで各希釈溶液の一部をとり 9 倍容量の生理食塩水またはコウシ血清(Gibco 社製)を加えてさらに 10 倍希釈し、最終薬剤濃度 0.002~0.8 $\mu\text{g/ml}$ の範囲の標準溶液の系列を作成した。

2. 検定菌株および培養

当センター保存の *Blastomyces dermatitidis* TIMM 0126 を検定菌として使用した。この菌の Sabouraud dextrose agar 斜面培養から少量の菌を白金耳でとり、Trypticase soy agar (BBL 社製)(以下 TS agar と略)平板に画線移植した後、37°C で培養した。1~2 週後平板表面に形成される隆起性で R 型の黄色コロニーから 1 白金耳鈎菌して Trypticase soy broth (BBL 社製)(以下 TS broth と略)に接種し、37°C で 3 日間振盪培養した。この結果、ほぼ完全に酵母形細胞のみからなる培養が得られた。遠心によって集めた細胞を新鮮な TS broth に浮遊した後、血球計算板を用いて細胞濃度を測定し、 10^7 ~ 10^8 細胞/ml の接種用菌液を調製した。

3. 検定用平板

寒天含量を 1% に減らし、kanamycin (最終濃度 50 $\mu\text{g/ml}$) を添加した TS agar を検定用培地として使用した。高圧蒸気滅菌した培地を 43~45°C に保ちながら約 2×10^4 細胞/ml になるように菌液を接種してよく混和した後、予め抗生物質検定用ステンレス製カップを 6~8 個立てておいた角型シャーレ(75×225×15 mm)に 65 ml ずつ手早く流し込んで固めた。寒天が完全に固まった後、カップを回転させながら静かに抜きとり、ウェルをつくった。

4. 検定実施法

検定用平板の各ウェルに標準薬剤溶液 0.2 ml を注いで満した。この場合、一つの平板に同一濃度の薬剤溶液を載せることはせず、また各濃度の溶液について2枚の平板を用いて検定を行なった。いずれの平板も予備拡散を行なうことなく直ちに 37°C のふらん器に入れ、48 時間培養した後、生じた阻止円の直径を 0.5 mm まで計測し、平均値を算出した。それぞれの値を $Y=a+b \log X$ (Y : 阻止円直径, X : 薬剤濃度) の式にあてはめ、最小二乗法を用いて最適直線を得た。

体液(血清, 髄液)試料についても同様にして検定を行なった。必要に応じて血清試料はコウシ血清で希釈し、髄液試料は生理食塩水で希釈した。同一試料(希釈した場合には各希釈ごと)について2枚以上の平板を用いて検定した。血清試料を載せた各平板にはコウシ血清希釈標準薬剤溶液2濃度を、また髄液試料を載せた各平板には生理食塩水希釈標準薬剤溶液2濃度をそれぞれ同時に載せて平板ごとの誤差の補正を行なった。血清試料および髄液試料について得られた各阻止円直径測定値は、それぞれコウシ血清希釈標準薬剤溶液および生理食塩水希釈標準薬剤溶液で作成した検量線に基づいて薬剤濃度を算出した。

5. ヒト体液試料

血清試料は MCZ 点滴静注を受けた深在性真菌症患者 25 名から点滴開始前, 点滴中および(または)終了後の一定時間に採取した血液から分離されたものを用いた。点滴は1時間かけて行なった。一部の患者では MCZ 200 mg 初回投与時に採血したが、大部分の患者ではすでに1日2~4回、各回200~600 mg の反復投与を受ける状態で特定量投与時に採血を行なった。25名は男子17名、女子8名で、年齢14歳から76歳、カンジダ血症、カンジダ性髄膜炎、慢性粘膜皮膚カンジダ症、カンジダ尿症、口腔・食道カンジダ症、カンジダ性皮疹、クリプトコッカス性髄膜炎、肺クリプトコッカス症、肺アスペルギルス症、角膜真菌症などの診断名であった。採取した血液からは直ちに血清を分離した。髄液試料は、クリプトコッカス性髄膜炎患者4名(29~76歳、男子、女子各2名)から10 mg 髄腔内投与前と後の一定時間に採取した。各体液試料は -80°C に凍結保存した。

II. 実験結果

コウシ血清および生理食塩水で希釈調製した標準薬剤溶液系列を用いて作成した典型的な検量線を Fig. 1 に示す。いずれにおいても薬剤濃度とそれによって生じる阻止円直径との間に良好な相関関係がみられた。両検量線の勾配 (b) はほぼ等しかったが、生理食塩水希釈薬剤溶液に比べてコウシ血清希釈薬剤溶液においては同一

Fig. 1 Dose-response curves for miconazole obtained by using well agar plate method with *Blastomyces dermatitidis* TIMM 012a. The diluents tested were calf serum (●) and saline (○).

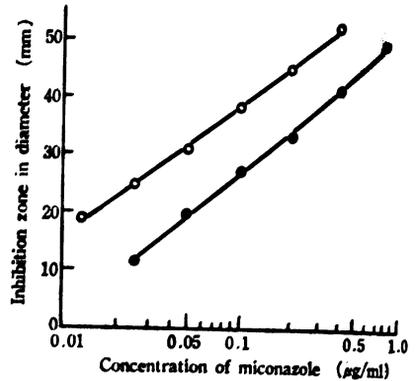
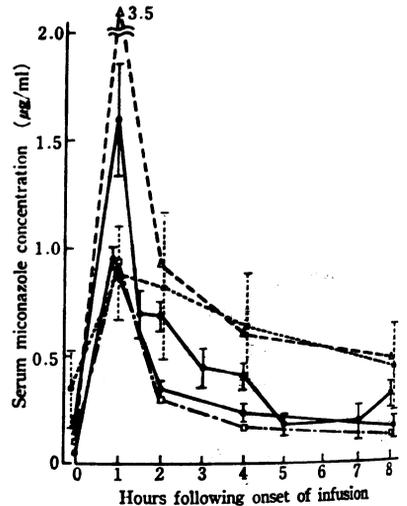


Fig. 2 Serum concentrations of miconazole following intravenous infusion in patients with systemic mycoses. Patients who had received (●-● 200 mg, □-□ 300 mg, ○-○ 400 mg, △-△ 600 mg) or had not received (●-● 200 mg) miconazole medication previously were administered intravenously with the indicated dose of miconazole.



濃度でつくられる阻止円の大きさが明らかに小さく、前者は 0.01~0.4 µg/ml、後者は 0.025~0.8 µg/ml の範囲で直線関係を示した。また、生理食塩水希釈薬剤溶液の場合には、0.002 µg/ml の低濃度まで明らかな阻止円形成が認められ、したがってこれが測定限界値であった。コウシ血清の代りに健常人血清を、生理食塩水の代りに健常人髄液を使用して標準薬剤溶液をつくった場合も、

検査線はほとんど変らなかったで、血清試料はコウシ血清希釈薬剤溶液、髄液試料は生理食塩水希釈薬剤溶液をそれぞれ用いて作成された検査線に基づいて含有薬剤濃度を算出しうることが示された。

Fig. 2 は、MCZ 200, 300, 400 および 600 mg をそれぞれ点滴静注された真菌症患者の血中濃度を時間ごとにまとめたものである。用量の相違または以前の投与の有無にかかわらず、基本的には同じパターンの血中レベルの推移を示した。比較的例数の多い 200 mg 初回投与群 (6 例) と 400 mg 反復投与群 (15 例) とを比べると、点滴開始 1 時間後すなわち点滴終了時の平均ピーク値はそれぞれ 0.96 および 1.6 $\mu\text{g/ml}$ であった。また、点滴開始から 2, 4, 8 時間後の平均レベルは、前者でそれぞれ 0.35, 0.24, 0.16 $\mu\text{g/ml}$ であったのに対し、後者ではそれぞれ 0.69, 0.41, 0.31 $\mu\text{g/ml}$ であり、全体を通して 400 mg 投与群のほうが約 2 倍高いレベルで経過し、用量依存性が示唆された。しかし 400 mg 投与群のなかでも症例によって血中濃度はかなり異なり、ピーク値は 4.4~0.85 $\mu\text{g/ml}$ の範囲に、また 8 時間後のレベルは 0.67~0.10 $\mu\text{g/ml}$ の範囲に広く分散した。200 mg 初回投与群においては当然のことながら、点滴開始前には血中にまったく薬剤が存在しないが、400 mg 反復投与群においては点滴開始前にすでに 0.2 $\mu\text{g/ml}$ のレベルに達していた。また例数は 2 例と少ないが、200 mg 反復投与群においても全経過を通じて 200 mg 初回投与群よりも高い血中レベルを示す傾向がみられた。いずれの成績も用量の大きさに加えて、反復投与が血中濃度を高める方向に働くことを示唆する。300 mg および 600 mg 反復投与を受けた各 1 例について得られたピーク値は、それぞれ 0.95 および 3.5 $\mu\text{g/ml}$ であった。

Table 1 は Ommaya レザーを用いて MCZ 10 mg を大脳側室に注入されたクリプトコッカス性髄膜炎患者および腰椎穿刺により髄腔内へ MCZ 10 mg を注入された同症患者それぞれ 2 例について、投与前ならびに投与 12 時間以後に腰椎穿刺により採取した髄液および Ommaya レザーで採取した脳室液中の薬剤濃度の測定値を示す。例数は少ないが、髄液内濃度は 12~24 時間後で 0.45~0.96 $\mu\text{g/ml}$ 、48~72 時間後でも 0.22~0.82 $\mu\text{g/ml}$ を示し、比較的低いレベルながら、かなり長時間持続されることが認められた。また薬剤を注入された脳室液からは 12 時間後に 32 $\mu\text{g/ml}$ と高濃度の薬剤が回収された。

III. 考 察

種々の深在性真菌症または局所療法の奏効しない表在性真菌症に対する MCZ の点滴静注療法および真菌性髄膜炎に対する直接的注入療法の有効性が確信された症例の報告が増加し、本剤の適用は益々拡大しつつある。それに伴って本剤の生物学的利用性、治療効果、毒性などをモニターするための信頼性が高くしかも臨床検査室で簡便に実施できる体内濃度検定法の必要性がより一層高まっている。MCZ のアッセイ法については、ガスクロマトグラフィーによる化学的測定法¹⁴⁾が開発されているが、日常検査上の簡便さからみれば、生物学的検定法がより好ましいと考えられる。MCZ のバイオアッセイに関しては従来から多くの研究者によって検討され、LEVINE *et al.*⁶⁾ が *Coccidioides immitis* の内生孢子 (MIC 0.125 $\mu\text{g/ml}$) を、ESPINEL-INGROFF *et al.*¹⁵⁾ が *Candida stellatoidea* 高度感受性株 (MIC 0.05 $\mu\text{g/ml}$) を、GRENDahl & SUNG¹⁶⁾ および江川ら¹⁷⁾ が *C. albicans* を、また HOEPRICH *et al.*¹⁸⁾ が *Kluyveromyces fragilis*

Table 1 Results of bioassays for miconazole in specimens from four patients with cryptococcal meningitis receiving intraventricular or intrathecal (lumbar) medication

| Case | Last miconazole dosage and route | Lapsed time since last dose (hr.) | Miconazole level ($\mu\text{g/ml}$) from specimen sources : | |
|----------|----------------------------------|-----------------------------------|---|-------------------|
| | | | CSF | Ventricular fluid |
| 1. M. H. | 10 mg intraventricular | Before 12 | 0.18 0.68 | 32 |
| 2. S. N. | 10 mg intrathecal | Before 24 72 | 0.005 0.45 0.22 | |
| 3. H. F. | 10 mg intrathecal | Before 48 | 0.005 0.23 | |
| 4. Y. S. | 10 mg intraventricular | Before 24 48 72 | 0.005 0.96 0.82 0.55 | |

を、それぞれ検定菌として用いた寒天拡散法に基づく検定法を報告している。*C. immitis* 内生胞子を使用する方法は危険度の点で実用的ではなく、これ以外の検定法で最も感度の高いと思われるのは HOEPRICH *et al.*¹⁸⁾ の方法であり、測定限界は血清で 0.6 $\mu\text{g/ml}$ 、尿または髄液で 0.1 $\mu\text{g/ml}$ と報告されている。

われわれは、さらに感度のよいバイオアッセイ法を求めて検定菌ならびに培地の検討を行なった結果、*C. pseudotropicalis* 高感受性株 (MIC $\leq 0.04 \mu\text{g/ml}$) と Yeast morphology agar を組み合わせた系を用いて血清希釈 MCZ 溶液 0.16 $\mu\text{g/ml}$ まで測定することが可能となった¹⁹⁾。しかし *Candida* 酵母を用いた場合には、発育に伴って培地が酸性化するためにウェルの周囲に血清タンパク質の白色沈殿を生じる結果、比較的小さな阻止円は判読不能となる。この欠点を取り除きさらに感度の高いアッセイ系を確立するために、*Candida* 以外の酵母状真菌および二形菌酵母形細胞の MCZ 感受性を多数の菌株について比較検討した。その結果、*B. dermatitidis* の大部分の菌株の 37°C 培養で発育する酵母形細胞が最も高い感受性を示し、 $\leq 0.01 \mu\text{g/ml}$ の薬剤濃度で完全に発育を阻止された。一方、同じ菌株の 27°C 培養で発育する菌糸形細胞に対する MIC 値は 2.5 $\mu\text{g/ml}$ であった。そこで 37°C 培養で酵母形細胞の比率が最も高い菌株として TIMM 0126 を選び、同じく 37°C で酵母形発育を最もよく支持する TS agar を検定用培地にしてアッセイ系をつくって調べた結果、血清希釈 MCZ 溶液で $\leq 0.05 \mu\text{g/ml}$ 、生理食塩水 (したがって髄液) 希釈 MCZ 溶液で $\leq 0.002 \mu\text{g/ml}$ までそれぞれ測定可能な超高感度系が得られた。この方法は予備的に前報¹⁹⁾ で述べたものと基本的に同一であり、阻止円の判読に 48 時間の培養を必要とする点では 24 時間培養ですむ *Candida* や *Kluyveromyces* の系に劣るが、予備拡散を要せず、再現性は良好であり、また他のイミダゾール剤の検定法としても利用できる点でも優れている。加えて、通常の血中濃度の amphotericin B が血清試料中に混在してもまったく影響を受けず、flucytosine 混在による影響も軽微である点でも *Candida*、その他の酵母状真菌を用いた系よりも勝っている。われわれは現在、flucytosine が共存してもまったく影響されないアッセイ系にするための改良を検討している。

このように感度の高いバイオアッセイ系を用いて、200~600 mg の MCZ を深在性真菌症患者に点滴静注した後の血中濃度の経時変化を追跡した結果、用量および反復投与の有無によって明らかな影響を受けることが示された。今回得られたわれわれの成績を従来諸外国の研究者により報告された同一用量での成績と比較する

と、ピーク値および低下の時間的推移のいずれの点でも BOELAERT *et al.*¹⁸⁾ および LEWI *et al.*¹⁹⁾ が健常者で、STEVENS *et al.*²⁰⁾ がコクシジオイデス症患者で、また HOEPRICH *et al.*¹⁸⁾ および SUNG *et al.*²¹⁾ が種々の深在性真菌症患者でそれぞれ得た値やパターンと基本的に相違しなかった。

今回検査の対象となった大部分の症例を含めて、最近わが国で深在性真菌症の患者から分離された主要病原菌のなかで *C. albicans* および *Aspergillus fumigatus* に対する MCZ の MIC₉₀ は 1 $\mu\text{g/ml}$ 程度である一方、*Cryptococcus neoformans* や *Torulopsis glabrata* に対する MIC₉₀ は $\leq 0.16 \mu\text{g/ml}$ と低い⁵⁾。したがって、血液中または血液からの薬剤移行性の良好な臓器内においては、MCZ 200~600 mg の 8 時間ごとの投与という常用量で、*C. neoformans* や *T. glabrata* の大部分の菌株に対し MIC 値以上のレベルが確保されることから十分な有効性が期待できる反面、*C. albicans* や *A. fumigatus* では約半数の菌株に対しては MIC 値以上の高いレベルが得られるのは、MCZ 点滴中または直後の短い時間に限られてくる。それにもかかわらず、過半数の症例で MCZ 治療の臨床の有効性が確認されている^{22,23)}。したがって、MCZ の抗真菌活性は、MIC 近辺のレベルでの短時間接触で充分発揮されるか、さもなければ ROLINSON²⁴⁾ が指摘するように、完全に発育を阻止しなくともある程度発育速度を低下させる。すなわち部分的発育阻止のみでも治療効果が得られるタイプの感染症があり、多くの深在性真菌症はそうしたタイプに属するのかもしれない。いずれにせよ、MCZ の *in vitro* での MIC 値と生体内での治療効果を得るに足る血中濃度、その他の薬動力学的パラメーターとの関連性についてはさらに詳細な検討が必要である。

MCZ の血液から髄液への移行は不良であり、静脈内投与後の髄液内濃度は血中濃度の 3~48% に過ぎないことが知られている^{20,25,26)}。したがって、*C. neoformans* 自身は高い MCZ 感受性をもつとしても、その主な病型であるクリプトコッカス性髄膜炎を有効に処置するためには、髄腔内へ直接投与する治療法を考慮する必要がある。SUNG *et al.*²¹⁾、GRAYBILL & LEVINE²⁷⁾、および STEVENS²⁸⁾ は 20 mg にいたる MCZ の脳室内注入により、また SUNG *et al.*²¹⁾ は同量の髄腔内注入 (腰椎穿刺) によりいずれも有効な髄液内濃度が維持されることを報告している。今回のわれわれの成績から、10 mg の脳室内または髄腔内投与後 72 時間まで髄液内濃度は 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 以上すなわち大部分の *C. neoformans* 株に対する MIC 値以上に維持されることが確認された。事実、Table 1 において症例 2 で MCZ の有効性が証明された

かったものの、他の3例にはいずれも著効を示し²³⁾、この髄腔内直接注入法の有用性が確かめられた。

Miconazole 注射剤を分与して頂いた 持田製薬株式会社に深謝いたします。

文 献

- 1) GODEFROI, E. F.; J. HEERES, J. VAN CUTSEM & P. A. J. JANSSEN: The preparation and antimycotic properties of derivatives of 1-phenethyl-imidazole. *J. Med. Chem.* 12: 784~791, 1969
- 2) VAN CUTSEM, J. M. & D. THIENPONT: Miconazole, a broad-spectrum antimycotic agent with antibacterial activity. *Chemotherapy (Basel)*, 17: 392~404, 1972
- 3) SHADOMY, S.; L. PAXTON, A. ESPINEL-INGROFF & H. J. SHADOMY: *In vitro* studies with miconazole and miconazole nitrate. *J. Antimicrob. Chemother.* 3: 147~152, 1977
- 4) DIXON, D.; S. SHADOMY, H. J. SHADOMY, A. ESPINEL-INGROFF & T. M. KERKERING: Comparison of the *in vitro* antifungal activities of miconazole and a new imidazole, R 41,400. *J. Infect. Dis.* 138: 245~248, 1978
- 5) 平谷民雄, 山口英世: イミダゾール系抗真菌剤 miconazole (base) の *in vitro* 抗菌活性. *Chemotherapy* 32: 534~540, 1984
- 6) LEVINE, H. B.; D. B. STEVENS, J. M. COBB & A. H. GEBHARDT: Miconazole in coccidioidomycosis. I. Assays of activity in mice and *in vitro*. *J. Infect. Dis.* 132: 407~414, 1975
- 7) COSTA, A. L.; A. VALENTI, L. E. LETETA & S. MIDILI: Antimycotic activity of miconazole (R 18134) *in vitro* and *in vivo*. *Mykosen* 20: 431~440, 1977
- 8) BALK, M. W.; M. H. CRUMRINE & G. W. FISCHER: Evaluation of miconazole therapy in experimental disseminated candidiasis in laboratory rats. *Antimicrob. Agents Chemother.* 13: 321~325, 1978
- 9) 内田勝久, 山口英世: マウス実験的カンジダ症における miconazole 注射剤の治療効果. *Chemotherapy* 32: 547~554, 1984
- 10) HEEL, R. C.; R. N. BROGDEN, G. E. PAKES, T. M. SPEIGHT & G. S. AVERY: Miconazole: a preliminary review of its therapeutic efficacy in systemic fungal infections. *Drugs* 19: 7~30, 1980
- 11) GRAYBILL, J. R. & P. C. CRAVEN: Antifungal agents used in systemic mycoses. Activity and therapeutic use. *Drugs* 25: 41~62, 1983
- 12) KOLDIN, M. H. & G. MEDOFF: Antifungal chemotherapy. *Pediatr. Clin. North Amer.* 30: 49~61, 1983
- 13) BOELAERT, J.; R. DANEELS, H. VAN LANDUYT & J. SYMOENS: Miconazole plasma levels in healthy subjects and in patients with impaired renal function. In *Chemotherapy (WILLIAMS, J. D. and GEDDES, A. M. ed.)*, Vol. 6, Plenum Publ. Co., New York, pp. 165~169, 1976
- 14) LEWI, P. J.; J. BOELAERT, R. DANEELS, R. DE MEYERE H. VAN LANDUYT, J. J. P. HEYKANTS J. SYMOENS & J. WYNANTS: Pharmacokinetic profile of intravenous miconazole in man. Comparison of normal subjects and patients with renal insufficiency. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 10: 49~54, 1976
- 15) ESPINEL-INGROFF, A.; S. SHADOMY & J. F. FISHER: Bioassay for miconazole. *Antimicrob. Agents Chemother.* 11: 365~368, 1977
- 16) GREINDAHL, J. G. & J. P. SUNG: Quantitation of imidazoles by agar-disk diffusion. *Antimicrob. Agents Chemother.* 14: 509~513, 1978
- 17) 江川朝生, 山口英世, 岩田和夫: *Candida albicans* を用いた Miconazole 血中濃度測定法. *真菌誌* 22: 251~257, 1981
- 18) HOEPRICH, P. D.; R. M. LAWRENCE & E. GOLDSTEIN: Treatment of coccidioidomycosis with miconazole. *JAMA* 243: 1923~1926, 1980
- 19) 江川朝生, 山口英世, 岩田和夫: Miconazole 膈錠の血中移行および腔内乳酸桿菌におよぼす影響. *真菌誌* 22: 258~264, 1981
- 20) STEVENS, D. A.; H. B. LEVINE & S. C. DERESINSKI: Miconazole in coccidioidomycosis. II. Therapeutic and pharmacologic studies in man. *Amer. J. Med.* 60: 191~202, 1976
- 21) SUNG, J. P.; J. G. GREINDAHL & H. B. LEVINE: Intravenous and intrathecal miconazole therapy for systemic mycoses. *West. J. Med.* 126: 5~13, 1977
- 22) 川村光夫, 小林保子, 米田良蔵: 肺アスペルギルス症に対する Miconazole の治療効果. *新薬と臨床* 32: 129~132, 1983
- 23) 池本秀雄, 他: ミコナゾールの深在性真菌症に対する臨床試験成績. *Jap. J. Antibiotics* (投稿中).
- 24) ROLINSON, G. N.: Subinhibitory concentration of antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.* 3: 111~113, 1977
- 25) DERESINSKI, S. C.; J. N. GALGANI & D. A. STEVENS: Miconazole treatment of human coccidioidomycosis: Status report. In *Coccidioidomycosis, Current Clinical and Diagnostic Status (AJELLO, L. ed.)*, pp. 267~292, 1977
- 26) HOEPRICH, P. D. & E. GOLDSTEIN: Miconazole therapy for coccidioidomycosis. *JAMA* 230: 1153~1157, 1974
- 27) GRAYBILL, J. R. & H. B. LEVINE: Successful

- treatment of cryptococcal meningitis with intraventricular miconazole. *Arch. Int. Med.* 138: 814~816, 1978
- 28) STEVENS, D. A.: Chemotherapy of systemic mycoses. In *Coccidioidomycosis* (STEVENS, D. A. ed.), Plenum Medical Book Co., New York, pp. 256~257, 1980
- 29) BRUGMANS, J.; J. VAN CUTSEM, J. HEYKANTS, V. SCHUERMAN & D. THIENPONT: Systemic antifungal potential, safety, biotransport and transformation of miconazole nitrate. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 5: 93~99, 1973

BIOASSAY FOR MICONAZOLE AND ITS LEVELS IN HUMAN BODY FLUIDS

KATSUHISA UCHIDA and HIDEYO YAMAGUCHI

Research Center for Medical Mycology, Teikyo University School of Medicine

A simple and reliable diffusion bioassay for a systemic imidazole antimycotic miconazole, in which yeast-form cells of *Blastomyces dermatitidis* was employed as the indicator organism, was developed. The assay was sensitive to less than 0.05 and 0.002 $\mu\text{g/ml}$ of the drug dissolved in human serum and saline, respectively. With this bioassay procedure, the serum concentration of miconazole in patients of deep-seated mycoses was measured at intervals after intravenous infusion of 200 to 600 mg of the drug. The peak serum concentration of 1.0 to 1.6 $\mu\text{g/ml}$ occurred at the end of the infusion, decreasing rapidly to about one-fourth as low as the peak level after 7 to 8 hours. Cerebrospinal fluids from the patients with cryptococcal meningitis who had received intrathecal administration of 10 mg of miconazole contained greater than 0.2 $\mu\text{g/ml}$ of drug even after 72 hours. A brief discussion of clinical implication of body fluid levels of miconazole in its therapeutic efficacy.