

臨床分離 *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* および *Trichosporon beigelii*
の amphotericin B に対する *in vitro* 感受性, 特に IC₅₀ 値での flucytosine,
miconazole および fluconazole との比較

三上 襄・矢沢 勝清・宇野 潤

千葉大学真核微生物研究センター化学療法分野*

松 前 昭 廣

北里大学

(平成2年4月28日受付・平成2年6月1日受理)

新たに臨床材料より分離された *Aspergillus fumigatus* 20 株, *Candida albicans* 50 株および *Trichosporon beigelii* 13 株に対する amphotericin B (AMPH) の *in vitro* 活性を, IC₅₀ 値 (50 % Inhibitory concentration of growth) を中心に最近臨床応用された fluconazole (FCZ) を含む深在性真菌症の治療に用いられている miconazole (MCZ) および flucytosine (5-FC) の活性との比較検討を行った。その結果, これら臨床分離株では, *A. fumigatus*, *C. albicans*, *T. beigelii* のいずれにおいても, 5~10 % 程度に 5-FC 耐性株が見られること, MIC (Minimum inhibitory concentration) 値で比較した場合には, *A. fumigatus* に対しては, いずれの培地でも AMPH が最も強い活性を示すが, *C. albicans* では培地によって異なり, 感受性用デスク培地で AMPH が低い MIC 値を示すこと, *T. beigelii* に対してはアゾール系の MCZ では AMPH より強い活性が, また FCZ でも低い MIC 値が観察されること, また IC₅₀ 値と MIC 値が AMPH ではほぼ同じ値を示すが, アゾール系の薬剤では IC₅₀ 値が MIC 値に比較して, 特に低く観察されるようになること, したがって, FCZ や MCZ では, 臨床効果は, MIC 値よりも IC₅₀ 値により相関性があることが確認された。また, 微生物自動増殖解析システムを用いることで, 再現性良く IC₅₀ 値を測定できることもあわせて報告する。

Key words : Amphotericin B, *in vitro* 抗真菌活性, IC₅₀ 値, MIC 値, 微生物自動増殖解析システム

Immunocompromised 患者¹⁾における真菌感染に対する治療法の確立は, 抗真菌化学療法の直面する最も重要な研究課題である。我々はこれまで, 深在性真菌症に対して, 臨床的に最も有効とされる amphotericin B (AMPH) の治療法について, 新しい局面から検討して, 特に経口投与での効果と血中濃度の関係等を通して, AMPH に関する活性の再評価の研究を進めてきた。その結果, AMPH は経口投与においても, HPLC での測定で MIC 値 (Minimum inhibitory concentration value) に近い血中濃度が得られることなどを報告²⁾し, AMPH の経口投与による臨床的有効性を支持するデータも得てきた。さらにまた, AMPH のリポソームによる投与という新しい研究³⁾も見られるようになり, 古くて新しい薬剤とされている AMPH にもまた新しい展開も見られるようになってきた。一方本邦において, 最近, 深在性真菌症の治療薬として, 新しいタイプのアゾール系の抗

真菌在, fluconazole (FCZ)^{4,5)}が臨床的に用いられるようになり, 深在性真菌症の化学療法剤にも選択の余地が出てきた。そこで我々は, これら深在性の真菌症の治療剤として本邦で用いられている flucytosine (5-FC), miconazole (MCZ) および FCZ の *in vitro* 活性を, AMPH との比較で, 新たに臨床分離された *Candida albicans* (50 株), *Aspergillus fumigatus* (20 株), *Trichosporon beigelii* (13 株) を用いて, 200 の検体の連続的な濁度を同時に測定できる微生物自動増殖解析システム⁶⁾による IC₅₀ 値 (50 % Inhibitory concentration of growth) を測定して, MIC 値との関係について検討したので報告する。またこれら *in vitro* 活性と臨床効果との関連についても考察した。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

千葉大学医学部付属病院中央検査部および北里大学

付属病院検査部で分離された臨床分離の *A. fumigatus* 20株, *C. albicans* 50株および *T. beigeli* 13株を使用した。

2. 使用薬剤

AMPH (スクイブ), FCZ (ファイザー), 5-FC (日本ロシユ), MCZ (持田製薬) の原末を用いた。AMPH, FCZ および MCZ は dimethylsulfoxide (DMSO) に溶解後, 等量の ethanol を加え滅菌し, その後 DMSO の最終濃度が 1% 以下になるように生理食塩水で希釈調整して使用した。5-FC については, 生理食塩水に溶解後, メンブランフィルター (マイレクス GV, 0.22 μm , 日本ミリポア工業) で濾過滅菌後使用した。

3. *In vitro* 活性の測定

(1) MIC 値の測定

MIC 値はすでに報告した方法²⁾に準じた寒天希釈法により行った。培地は Sabouraud dextrose agar (SDA, 栄研), 感受性デスク用培地 (KDA, パールコア, 栄研) および Yeast morphology agar (YMA, Difco) を用い, 前法²⁾によって作製した均一な菌浮遊液をマルチポイントイノキュレータ (Multipoint Inoculator A 400, Denley, England) で接種²⁾し, 37°C で培養後, 2~4 日目に判定した。

(2) IC₅₀ (50% Inhibitory concentration of growth) 値の測定

IC₅₀ 値は *C. albicans* および *T. beigeli* では濁度を測定することによって, また *A. fumigatus* では直接菌体量を測定することによって行った。すなわち *C. albicans* および *T. beigeli* については, 微生物全自動増殖解析システム (Bioscreen C, ラボシステム, ジャパン) を用いて行った。接種菌液は 37°C で 3 日間 SDA スラントで培養したものより最終孢子濃度が 1×10^6 個/ml になるように生理食塩水で調整し, その 50 μl を各ウエルに加えた。培地としては, Yeast nitrogen base (YNB, Difco) に 1% グルコースを添加して, さらに最終濃度が 1/15 M になるように MOPS バッファーで pH を 7.0 に調整し, 濾過滅菌したものを B-YNG 培地として用いた。各ウエルには 100 μl を分注した。薬剤は前述のごとく作製したものを, 各ウエルに 50 μl 宛分注した。この場合の薬剤濃度は, 最終の最高濃度が 100 $\mu\text{g/ml}$ になるようにし, 以後は 5 倍の希釈系列を作製して分注した。IC₅₀ 値は *C. albicans* では増殖が定常期に達した時点で (通常培養後 24 時間以降 48 時間以内での), 濁度が対照の薬剤無添加に比し, 1/2 を越えない最小の薬剤濃度をもって, また *T. beigeli* では 48 時間後から 72 時間以内での濁度より同様に算出した。

A. fumigatus に対する IC₅₀ 値の測定も, B YNG 培地を用いて行った。試験菌株を SDA 培地で 27°C で 1 週間培養し, そのスラントから 0.1% Tween 80 添加滅菌生理食塩水を用いて分生子を採取し, 滅菌ガーゼで濾過後, 1×10^6 個/ml に調整した。薬剤は最終濃度が 100 $\mu\text{g/ml}$ からの 2 倍系列を作製し, 前記作製の菌液を 1/100 量を接種し, 37°C で 5 日間培養後, 煮沸滅菌し, GC 50 (Glass fiber filter, Advantec) 上に菌体を集め, よく洗浄後, 乾燥してその重量を測定し, 対照群に比し, 1/2 になった最小濃度を IC₅₀ 値とした。通常 5 本の試験管を用いた。

II. 成 績

1. 臨床分離株の MIC 値の分布

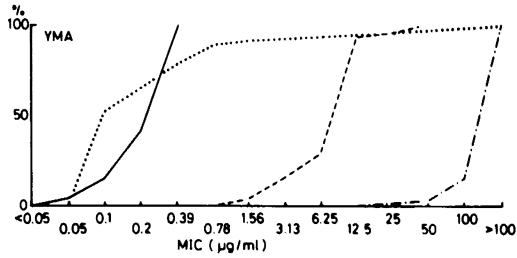
臨床分離株について SDA, YMA および KDA の 3 種の培地を用いて *in vitro* 感受性分布を調べた。*C. albicans* の 50 株について検討した結果を Fig. 1 a-c に示した。AMPH に関しては, いずれの培地でもほぼ同様の MIC 値の累積分布を示したが, SDA 培地では幾分高い MIC 値を示した。KDA 培地では AMPH は最も低い MIC 値を示した。一方アゾール系の MCZ および FCZ では KDA 培地で MIC 値が低くなる傾向が見られた。SDA 培地では, MCZ は AMPH と同様の MIC 値を示したが, FCZ ではいずれの培地でも 50% 以上の株が 50 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC 値を示した。4 薬剤に対して耐性菌と考えられる株は, YMA 培地ではっきりと観察された 4 株 (8%) の 5-FC 耐性株であった。

20 株の *A. fumigatus* の MIC 値の分布状態を Fig. 2 a-c に示した。この図から明らかなように AMPH に対する *A. fumigatus* の MIC 値はきわめて狭い範囲に分布することを特徴とするが, 5-FC では 20 株中 1 株に 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC 値を示す耐性株が観察された (Fig. 2 a)。YMA 培地では耐性株を除いて 5-FC と AMPH は同様の MIC 値を示した。また FCZ はいずれの培地でも 100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC 値であった。

臨床分離の *T. beigeli* 13 株の MIC 値の累積分布曲線を Fig. 3 a-c に示した。*T. beigeli* はアゾール系の FCZ や MCZ に対して比較的感受性が高くなる傾向がみられ, 特に MCZ は SDA および YMA の培地において, AMPH より低い MIC 値を示した。また FCZ でも 25 $\mu\text{g/ml}$ 以下で *T. beigeli* の増殖をすべて抑制した。5-FC に関しては 13 株中 3 株が耐性であった。

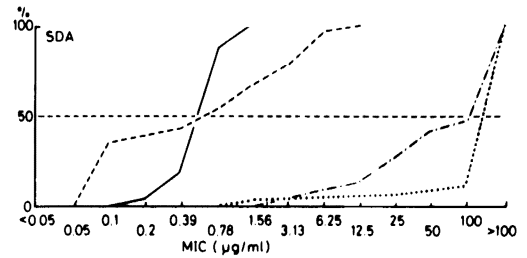
2. IC₅₀ 値での比較

全自動増殖解析システムによって測定したこれら 4 薬剤の *C. albicans* および *T. beigeli* それぞれ 4 株に対する IC₅₀ 値, および菌体重量の比較で求めた *A.*



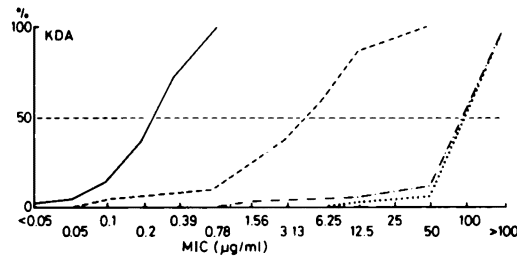
Antimycotic Distribution of strains (YMA)

Antimycotic	number	3	5	14	28											
AMPH	(%)	(6)	(10)	(28)	(56)											
5-FC	number		26	13	5	2										4
	(%)		(52)	(26)	(10)	(4)										(8)
MCZ	number					2	7	7	32	1	1					
	(%)					(4)	(14)	(14)	(64)	(2)	(2)					
FCZ	number									1	1	7	41			
	(%)									(2)	(2)	(14)	(82)			



Antimycotic Distribution of strains (SDA)

Antimycotic	number			2	7	35	6									
AMPH	(%)			(4)	(14)	(70)	(12)									
5-FC	number						2					1	2	1	44	
	(%)						(4)					(2)	(4)	(2)	(88)	
MCZ	number		17	6	5	6	5	10	1							
	(%)		(34)	(12)	(10)	(12)	(10)	(20)	(2)							
FCZ	number									2	4	3	7	5	2	27
	(%)									(4)	(8)	(6)	(14)	(10)	(4)	(54)



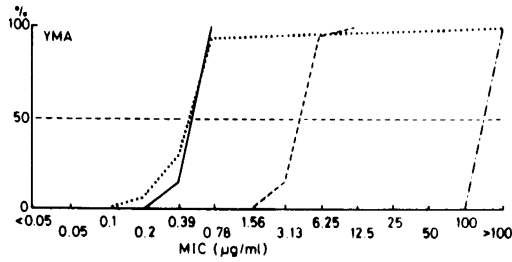
Antimycotic Distribution of strains (KDA)

Antimycotic	number	1	1	5	11	18	14									
AMPH	(%)	(2)	(2)	(10)	(22)	(36)	(28)									
5-FC	number									1	1	48				
	(%)									(2)	(2)	(96)				
MCZ	number		3	1	2	8	6	10	15	3	2					
	(%)		(6)	(2)	(4)	(16)	(12)	(20)	(30)	(6)	(4)					
FCZ	number						2		1	2	1	44				
	(%)						(4)		(2)	(4)	(2)	(88)				

Fig. 1. Susceptibility distribution of clinical isolates of *Candida albicans* (50 strains) against amphotericin B, flucytosine, miconazole and fluconazole. Amphotericin B (—), flucytosine (·····), miconazole (---), and fluconazole (— · — ·). Media: a. Yeast morphology agar (YMA) b. Sabouraud dextrose agar (SDA) c. Sensitivity desk agar (KDA)

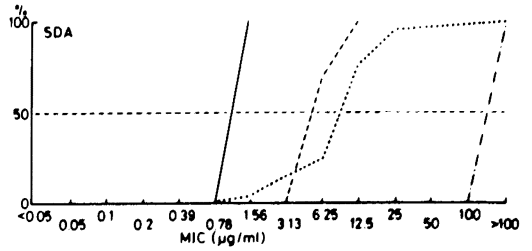
fumigatus 4 株の IC₅₀ 値の分布を Table 1 に示した。
C. albicans の MIC 値は AMPH では 0.2 から 0.4 µg/ml に分布しているが、IC₅₀ 値では 0.16 と MIC 値と IC₅₀ 値が近似した数字を示した。5-FC でも MIC 値と IC₅₀ 値が近似した数字を示した。一方 MCZ では IC₅₀ 値が 0.16 ~ 0.006 と MCZ の平均 MIC 値である 6 µg/

ml の 1/60 から 1/1,000 の低い値を示した。また FCZ でも IC₅₀ 値は平均 MIC 値の 1/100 以下の低い値を示した。この傾向は幾分差は認められるものの、*T. beigelii* でも同様に観察された。菌体重量で測定した *A. fumigatus* について検討した結果 (Table 1), MIC 値に比べ IC₅₀ 値は MCZ では 1/10 ~ 1/200 ときわめて



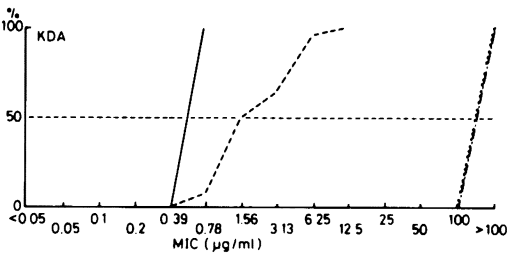
Antimycotic Distribution of strains (YMA)

AMPH	number				3	17									
	(%)				(15)	(85)									
5-FC	number		1	5	13									1	
	(%)		(5)	(25)	(65)									(5)	
MCZ	number					3	16	1							
	(%)					(15)	(80)	(5)							
FCZ	number													20	
	(%)													(100)	



Antimycotic Distribution of strains (SDA)

AMPH	number								20					
	(%)								(100)					
5-FC	number			1	2	2	10	4						1
	(%)			(5)	(10)	(10)	(50)	(20)						(5)
MCZ	number						14	6						
	(%)						(70)	(30)						
FCZ	number													20
	(%)													(100)



Antimycotic Distribution of strains (KDA)

AMPH	number					20								
	(%)					(100)								
5-FC	number													20
	(%)													(100)
MCZ	number					2	8	3	6	1				
	(%)					(10)	(40)	(15)	(30)	(5)				
FCZ	number													20
	(%)													(100)

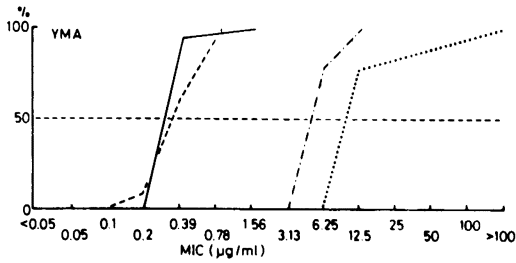
Fig. 2. Susceptibility distribution of clinical isolates of *Aspergillus fumigatus* (20 strains) against amphotericin B, flucytosine, miconazole and fluconazole.

Amphotericin B (—), flucytosine (.....), miconazole (-----), and fluconazole (-·-·-·). Media:

- a. Yeast morphology agar (YMA)
- b. Sabouraud dextrose agar (SDA)
- c. Sensitivity desk agar (KDA)

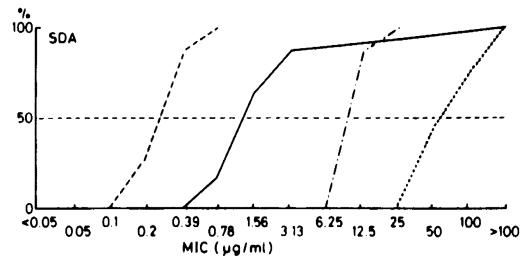
低い値で、このようなMIC値に比べ低いIC₅₀値の発現は、アゾール系薬剤に共通の現象であることが明らかになった。一方、AMPHや5-FCではその変化はあっても10倍程度であった。しかしFCZでは*A. fumigatus*へのIC₅₀値は100µg/ml以上であった。次に*C. albicans*で実際にIC₅₀の測定に用いた増殖曲線

をFig. 4 a~cに示した。Fig. 4 aにはAMPHの増殖曲線への影響を示したが、AMPH濃度が0.032µg/ml以下では薬剤無添加の対象と同じ増殖曲線を示すが、0.8µg/ml以上の濃度では、完全にその増殖を抑えており、不完全阻止を示す濃度はきわめて少ないことが明らかになった。この現象は5-FC (Fig. 4 b)でも認



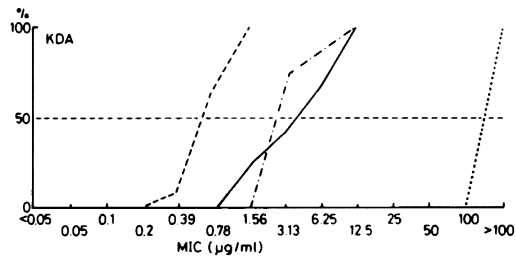
Antimycotic Distribution of strains (YMA)

Antimycotic	number									
AMPH	number		12	1						
	(%)		(92)	(8)						
5-FC	number					10				3
	(%)					(77)				(23)
MCZ	number	1	7	5						
	(%)	(8)	(54)	(38)						
FCZ	number					10	3			
	(%)					(77)	(23)			



Antimycotic Distribution of strains (SDA)

Antimycotic	number									
AMPH	number					2	6	3		1
	(%)					(15)	(46)	(23)		(8)
5-FC	number									6
	(%)									(46)
										4
										(31)
										3
										(23)
MCZ	number					3	8	2		
	(%)					(23)	(62)	(15)		
FCZ	number								11	2
	(%)								(85)	(15)



Antimycotic Distribution of strains (KDA)

Antimycotic	number									
AMPH	number					4	2	4	3	
	(%)					(31)	(15)	(31)	(23)	
5-FC	number									13
	(%)									(100)
MCZ	number					1	7	5		
	(%)					(8)	(54)	(38)		
FCZ	number								10	3
	(%)								(77)	(23)

Fig. 3. Susceptibility distribution of clinical isolates of *Trichosporon beigelii* (13 strains) against amphotericin B, flucytosine, miconazole and fluconazole.

Amphotericin B (—), flucytosine (·····), miconazole (-----), and fluconazole (— · — ·).

Media:

- a. YMA (yeast morphology agar)
- b. SDA (sabouraud dextrose agar)
- c. KDA (sensitivity desk agar)

められた。5-FCでは、さらに培養時間を延長すると、0.8 µg/mlのように増殖が再び認められるような現象も同時に観察され、5-FCのMIC値は測定時間によってかなり変動するという事実を示しているものと思われる。

一方アゾール系の薬剤は AMPH とはかなり異なっ

た増殖阻害曲線を示した。MCZ (Fig. 4 c) では 4.0 µg/ml から 0.032 µg/ml の幅広い濃度で、不完全阻害現象が観察され、この結果が低い IC₅₀ 値となって表れると考えられた。また Fig. 4 d にも示したように、FCZ でも幅広い濃度での部分的阻害現象が観察されたが、さらに特徴的なことは 100 µg/ml という濃度の FCZ

Table 1. Antifungal activity of amphotericin B, flucytosine, fluconazole and miconazole against *Candida albicans*, *Trichosporon beigelii* and *Aspergillus fumigatus* as determined by IC_{50} values

Organism	AMPH	IC_{50} ranges ($\mu\text{g/ml}$) of 4 strains		
		5-FC	MCZ	FCZ
<i>C. albicans</i> (4) ^{a)}	0.16	0.16	0.006-0.16	0.8
<i>T. beigelii</i> (4)	0.16	0.8-4.0	0.16-0.8	4.0
<i>A. fumigatus</i> (4)	0.05-0.4	6.12-50.0	0.8-3.1	>100.0

a) Strains numbers used in this study.

b) See materials and methods for the determination of IC_{50} values.

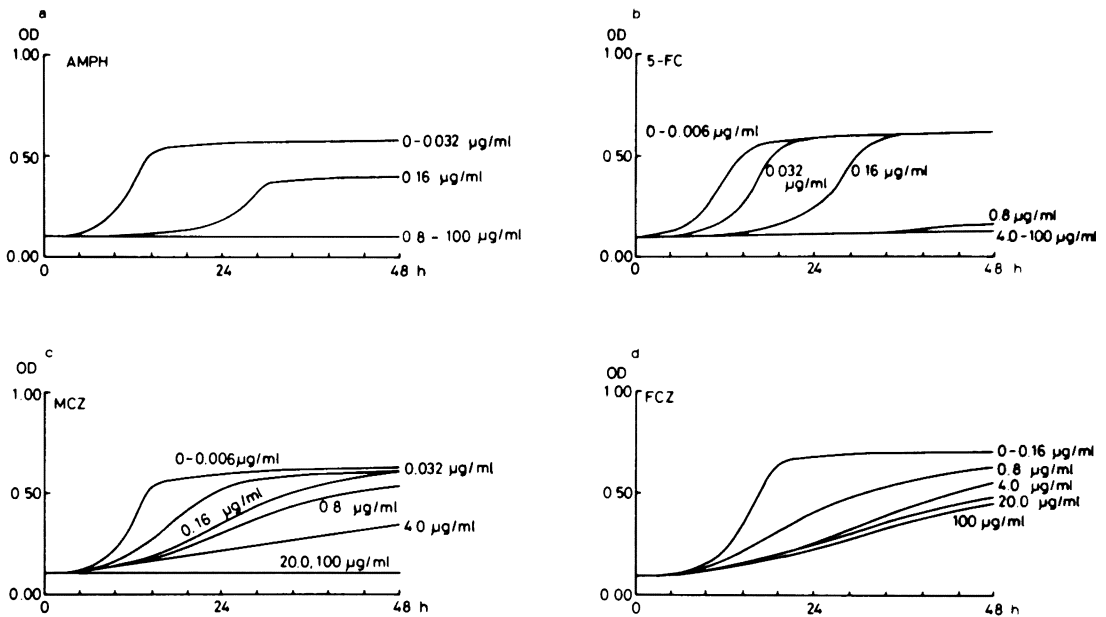


Fig. 4. Effect of various concentrations of antimycotics on the growth of *Candida albicans* 3532 strain.

- AMPH (amphotericin B)
- 5-FC (flucytosine)
- MCZ (miconazole)
- FCZ (fluconazole)

でも、抑制はされているものの増殖が見られる、いわゆる“不完全阻止作用”を示すことが確認された。FCZとMCZでは、MCZでは高濃度で完全増殖阻害が見られるが、FCZでは高濃度でも完全増殖阻害は見られない点で、FCZがより静菌的傾向を示すことが明らかになった。

III. 考 察

現在本邦においては AMPH, MCZ, FCZ および 5-FC が臨床的に深在性真菌症の治療に用いられている。ここでは、本邦において深在性真菌症の原因菌として

重要な *C. albicans* および *A. fumigatus*, さらに免疫低下に伴い深在性の感染を起こすことで最近注目⁷⁾されている *T. beigelii* の臨床分離株で、薬剤感受性を検討した。一般に真菌の場合は、臨床分離株について、薬剤感受性を総合的に調べた報告は少なく、これまでのデータと比較することは必ずしも容易ではないが、今回の MIC 値のデータで特徴的な現象は、*C. albicans* では 50 株中 4 株が、*A. fumigatus* では 20 株中 1 株が、また *T. beigelii* では 13 株中 3 株が、すでに 5-FC に耐性になっていることである。この件に関して、

今後の追跡研究が待たれるところである。

最近 *T. beigelii* による全身感染例が多く報告されている⁸⁻¹⁰⁾。それらの治療の多くでは、AMPHと5-FCの併用療法が行われているがFCZやMCZが比較的低いMIC値を示すことから、これら新しい薬剤についても臨床的検討が望まれる。*T. beigelii*のMIC値の測定に関する報告は少ないが¹¹⁾、本菌種がSDA培地では生育が悪く、結果的にMIC値の信頼性が問題となるので、YMA培地のような比較的生育の良好な培地での測定が望まれる。

真菌の薬剤の感受性試験では、多くの場合SDAを中心にYMA培地およびそれらのpHを7.0~7.4に修正したbuffered-SDAやbuffered-YMA培地が用いられている。またHoeprich and Finn¹²⁾らはSAAMF合成培地が5-FCに対する感受性測定に優れていることを報告し、その後、FCZなどの場合にもSAAMF培地が使用されている例が見られる¹³⁾。一方最近開発中のsaperconazoleではBrain heart infusion agarがMIC値の測定に優れ、低い値を示すことが報告されている¹⁴⁾。今回は、合成培地であるYMAと最もよく真菌の感受性試験に用いられているSDA培地、さらにこれまで我々が、AMPHやアゾール系の薬剤の活性の測定に優れていることを報告²⁾してきたKDA培地を用いて検討した。その結果、それぞれの薬剤で特徴ある結果が得られた。すなわち、*A. fumigatus*や*C. albicans*に対してはKDA培地でAMPHが、またYMA培地では5-FCが低いMIC値を示すこと、一方*T. beigelii*ではKDA培地においてMCZが低いMIC値を示した。したがって、真菌ではそれぞれの培地、菌種で、特有の異なったMIC値を示すことが確認されたが、5-FCを除いた場合は、すでに指摘したように、KDA培地がAMPHのみならずアゾール系の薬剤の感受性測定用の培地としても、適した培地であることが確認された。

今回は検討薬剤として5-FCも用いたことから、4種類の薬剤の*in vitro*活性を1種の培地で検討するために、pHをMOPS bufferで7.0に調整したB-YMA培地でIC₅₀値を検討してみた。その結果、3種の菌と4薬剤との組合せで、IC₅₀値を測定したが、いずれの薬剤でも*in vivo*活性を反映すると思われる値が得られた。B-YMA培地は、SAAMFとほぼ同様のMIC値が得られることも報告されており、すべての抗真菌剤の活性測定に利用でき、またすでにその基本培地(YMAおよびYNB培地)は市販されていることを考えると、pHの変動による沈澱形成のために保存が幾分難しい点を除けば、抗真菌剤の*in vitro*感受性の測定のため

の標準培地として適したものと思われる。

FCZは最近臨床に供された新しいトリアゾール系の薬剤であり、すでにそのMIC値に基づく*in vitro*活性が*in vivo*活性を反映しない代表的な薬剤として、報告¹⁶⁾されてきた。

柴等は¹⁷⁾、FCZの健康成人男子での血しょう中濃度は50 mgおよび100 mgの内服で、それぞれ0.92 μg/mlおよび1.88 μg/mlであり、その半減期は31時間であると報告している。確かに、*C. albicans*でみたかぎり、*in vitro*活性、すなわちMIC値は高く、その値では優れた臨床効果は説明できないが、IC₅₀値では0.8 μg/mlという値がでており、十分に*in vivo*効果を説明できる。またIC₅₀値およびIC₉₉値等は、アゾール系薬剤のMIC値の測定で最も問題となる接種菌量に比較的影響を受けないこともすでに報告¹⁵⁾されていることや、血中の濃度、さらには半減期等を考えた場合、MIC値よりも、IC₅₀値の濃度での薬剤が、実際に生体内で、重要な役割をしていると考えることが合理的である。したがって、*in vitro*感受性測定法の基準化ができるまでの当分の間は、アゾール系の薬剤に関する限り、IC₅₀値やIC₉₉値等の測定が望まれる。しかし今回の実験でも、FCZの*A. fumigatus*に対する活性では、そのIC₅₀値が約100 μg/ml以上で、その値から報告されているFCZの優れた臨床効果を説明することには無理がある。そこで、最近報告された本邦でのFCZの実際の臨床効果を検索してみた。その結果、FCZの*A. fumigatus*の感染症に対する効果は、*C. albicans*感染症に対する場合と異なり、かなりの例で無効という結果^{4,5)}も報告されていることがわかった。実際に松島等⁴⁾はアスペルギルス症に対するFCZの臨床的效果について、今後の症例の積み重ねと、詳しい観察が必要であることを指摘している。これら無効例が菌株の感受性の差によるものかどうかは今のところ不明であるが、今後、FCZの*A. fumigatus*に対する高いIC₅₀値が、何を意味するのか、基礎、臨床面からの詳細な検討が望まれる。

現在動物モデルで、これら4薬剤の治療効果の予備的な検討を進めているが、AMPHを除いて、高いMIC値を示す薬剤は、たとえ低いIC₅₀値を示しても、組織からの感染菌の排除が難しいと言う結果も得られており、静菌的作用の強い薬剤が、どのような機構で、生体内活性を示すかは、きわめて興味ある研究課題である。

IC₅₀やIC₉₉値等の測定には濁度や、菌体および蛋白量の測定、さらには、菌数の直接の測定法等があるが、菌体量や蛋白量の測定は、比較的菌量が少ないことか

ら、再現性等に問題があり、その点濁度法は正確なデータを得られやすい。したがって、今後菌糸状真菌でも測定を可能とするための、濁度法の条件検討が必要であり、現在その準備を進めている。

抗真菌化学療法は、毒性の少ない、幅広い範囲で静菌的な作用を有する FCZ の開発によって新たな時代に突入した感がある。また最近では FCZ よりもさらに優れているとされる SCH 39304¹⁸⁾ や ICI 195,739¹⁹⁾、また saperconazole¹⁴⁾ など、特徴あるアゾール系の薬剤が次々に開発され、臨床応用への段階にある。IC₅₀値や感受性測定用の培地や標準株の設定等を含めて、抗真菌剤の薬剤感受性測定に関して、早急な標準化の検討が必要であろう。

文 献

- 1) Fisher M A, Shen S H, Haddad J, Tarry W F: Comparison of *in vivo* activity of fluconazole with that of amphotericin B against *Candida albicans*, *Candida glabrata*, and *Candida krusei*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33: 1443~1446, 1989
- 2) 三上 襄, 陳 豪勇, 矢沢勝清, 宇野 潤, 新井 正, 菅野治重: Amphotericin B の *in vitro* および *in vivo* 活性の再評価。真菌誌 28: 373~384, 1987
- 3) Gondal J A, Swartz R P, Rahman A: Therapeutic evaluation of free and liposome-encapsulated amphotericin B in the treatment of systemic candidiasis in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33: 1544~1548, 1989
- 4) 松島敏春, 池川博胤, 富澤貞夫, 中村淳一, 安達倫文, 川西正泰, 田辺 潤, 田野吉彦: 真菌感染症に対する fluconazole の臨床的検討。Jpn. J. Antibiot. 42: 153~163, 1989
- 5) 岡 慎一, 時津 学, 毛利 洋, 中田 光, 後藤美江子, 後藤 元, 島田 馨: fluconazole の臨床的検討。Jpn. J. Antibiot. 42: 31~39, 1989
- 6) 三上 襄, 宇野 潤, 矢沢勝清, 新井 正: 微生物自動増殖解析システムによる monobactam 系抗生物質 aztreonam の抗菌作用の解析。Chemotherapy 37: 723~730, 1989
- 7) Yazawa K, Mikami Y, Uno J: *In vitro* susceptibility of *Nocardia* sp. to a new fluoroquinolone, tosufloxacin (T-3262). *Antimicrob. Agents Chemother.* 33: 2140~2141, 1989
- 8) Payne A L, Teall A J: *Trichosporon beigelii* infection in an immunocompromised host. *Mycoses* 32: 183~186, 1989
- 9) 島中和奈, 紫藤忠博, 木村主志, 佐藤昌彦, 佐々木康雄, 安藤正幸, 菅 守隆, 井田基聖, 坂田哲宜, 吉田和子: 急性リンパ性白血病に合併した *Trichosporon cutaneum* 全身感染症の 1 例。感染症誌 61: 362~367, 1987
- 10) 深山牧子, 稲杉孝思, 森真由美, 美輪哲義: 急性骨髄性白血病に続発した全身性 *Trichosporon beigelii* 感染症の 1 例。感染症誌 62: 734~738, 1988
- 11) 山口英世, 内田勝久, 川崎賢二, 松永敏幸: 新トリアゾール系抗真菌剤 fluconazole の *in vitro* 抗真菌活性。Jpn. J. Antibiot. 42: 1~16, 1989
- 12) Hoeprieh P D, Finn P D: Obfuscation of the activity of antifungal antibiotics by culture media. *J. Infect. Dis.* 126: 353~361, 1972
- 13) Saag M S, Dismukes W E: Azole antifungal agents: emphasis on new triazoles. *Antimicrob. Agents Chemother.* 32: 1~8, 1988
- 14) Van Cutsem J, Van Gerven F, A J Janssen P: Oral and parenteral therapy with saperconazole (R 66905) of invasive aspergillosis in normal and immunocompromised animals. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33: 1063~2068, 1989
- 15) Mc Intyre K A, Galgiani J N: *in vitro* susceptibility of yeasts to a new antifungal triazole. SCH 39304: effects of test conditions and relation to *in vivo* efficacy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33: 1095~1100, 1989
- 16) Troke P F, Andrews R J, Brammer K W, Marriott M S, Richardson K: Efficacy of UK-49, 858 (fluconazole) against *Candida albicans* experimental infections in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 28: 815~818, 1985
- 17) 柴 孝也, 斉藤 篤, 宮原 正: Fluconazole 単回使用時の安全性並びに薬物体内動態試験。健常成人男子志願者を対象とした内服及び静注による検討。Jpn. J. Antibiot. 42: 17~30, 1989
- 18) Restrepo B I, Ahrens J, Graybill J R: Efficacy of SCH39304 in murine cryptococcosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33: 1242~1246, 1989
- 19) Tucker R M, Hanson L H, Brummer E, Stevens D A: Activity of ICI 195, 739, a new oral triazole, compared with that of ketoconazole in the therapy of experimental murine blastomycosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33: 573~575, 1989

IN VITRO ACTIVITY OF AMPHOTERICIN B, FLUCYTOSINE, FLUCONAZOLE
AND MICONAZOLE AGAINST CLINICALLY ISOLATED *CANDIDA ALBICANS*,
ASPERGILLUS FUMIGATUS AND *TRICHOSPORON BEIGELII*

Yuzuru Mikami¹⁾, Katsukiyo Yazawa¹⁾, Jun Uno¹⁾
and Akihiro Matsumae²⁾

¹⁾ : Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicoses, Chiba University, 1-8-1, Inohana, Chiba, Japan

²⁾ : Kitasato University

We compared the *in vitro* antifungal activity of amphotericin B (AMPH) with those of flucytosine (5-FC), miconazole (MCZ) and fluconazole (FCZ) against recent clinical isolates, including 50 strains of *Candida albicans*, 20 strains of *Aspergillus fumigatus* and 13 strains of *Trichosporon beigelii*. Of these, 5% to 10% were resistant to 5-FC, but no strains resistant to other antimycotics were observed. Although AMPH still showed the highest activity against *A. fumigatus* and *C. albicans*, *T. beigelii* was more sensitive to MCZ than AMPH. In the drug sensitivity test for AMPH, sensitivity test medium (KDA) was superior to other media. Although MIC values of 5-FC and AMPH correlated with the *in vivo* efficacy, a 50% turbidimetric endpoint (50% inhibitory concentration of growth; IC₅₀ values determined by broth microdilution assay) was found to much correlate closely with the *in vivo* efficacy of FCZ. Problems in standardizing a susceptibility test for antimycotics including standard strain and media are discussed.