

## 【市販後調査報告】

## カンジダ属およびアスペルギルス属に対するカスポファンギン感受性の年次推移

—特定使用成績調査結果（製造販売後調査）—

天野 廣美<sup>1)</sup>・黒川 利徳<sup>2)</sup>・宮坂 知弘<sup>2)</sup>・近藤 孝行<sup>2)</sup>・河井 啓<sup>2)</sup>・原 満良<sup>1)</sup><sup>1)</sup> MSD 株式会社ファーマコビジランス領域\*<sup>2)</sup> 同 メディカルアフェアーズ

(平成 28 年 7 月 8 日受付・平成 28 年 10 月 4 日受理)

カスポファンギン (CPFPG) の市販後 3 年間 (2012~2014 年) に国内の医療機関において主に真菌感染症が疑われた患者より分離した *Candida* 属 6 種, 計 510 株および *Aspergillus* 属 4 種, 計 300 株の CPFPG に対する感受性を各年ごとに調査した。*Candida* 属および *Aspergillus* 属に対する感受性測定は, それぞれ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) の微量液体希釈法 M27-A3 および M38-A2 で実施した。*Candida* 属の感受性の判定基準は CLSI M27-S3 に従った。その結果, 2012, 2013, 2014 年に分離した各 50 株の *Candida albicans* に対する CPFPG の MIC<sub>90</sub> はおのおの 0.25, 0.25, 0.5 μg/mL, 幾何平均 MIC は 0.14, 0.14, 0.21 μg/mL であり, 分離年による感受性の明らかな変化はなかった。また, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii* および *Aspergillus* 属の *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* に対する CPFPG の MIC<sub>90</sub> もしくは MEC<sub>90</sub> および MIC もしくは MEC の幾何平均の各分離年間の変動は 2 倍以内であった。さらに, いずれの年においても CPFPG に対する感受性判定基準である 2 μg/mL を超える MIC の *Candida* 属の菌株 (非感受性株) は存在しなかった。これらの結果から, 2012 年から 2014 年において, 真菌症の主要起因菌である *Candida* 属および *Aspergillus* 属の CPFPG に対する感受性に明らかな変化はなく, 耐性化傾向もなかった。

**Key words:** caspofungin, *Candida*, *Aspergillus*, antifungal susceptibility

真菌症には深在性と表在性が存在するが, 近年日和見病原体である *Candida* 属および *Aspergillus* 属を起因菌とする深在性真菌症は, 癌化学療法, 臓器移植, 長期間の副腎皮質ステロイド等による免疫抑制療法の医療技術等の進展に伴い増加傾向にある<sup>1,2)</sup>。*Candida* 属は感染症死亡の主要な起因菌の一つであり, また, 免疫抑制状態での肺アスペルギルス症は難治性で予後不良な疾患である<sup>3,4)</sup>。さらに, 近年では non-*albicans* *Candida* や *Aspergillus fumigatus* 以外の *Aspergillus* 属を起因菌とする感染症, さらにムーコル症, まれな酵母様真菌による感染症も増加傾向にあり, 菌種の多様化も進んでいる<sup>5)</sup>。

深在性真菌症に対して有効な抗真菌薬は, 古くはアムホテリシン B (AMPH-B) のみであったが, アゾール系, キャンディン系薬および AMPH-B の脂質化製剤等, 新たに有用な新薬・剤型も創出され, 深在性真菌症の治療に大きく貢献している。各種抗真菌薬はそれぞれ特徴があり, アゾール系やポリエン系薬は幅広い抗真菌スペクトルを有し, 酵母や糸状菌による深在性真菌症の予防また標的治療に使われているが, 安全性や薬物相互作用について懸念がある。一方, キャンディン系薬

は *Candida* 属および *Aspergillus* 属に抗真菌活性をもち, 高い安全性と薬物相互作用が少ないことから, 本邦での深在性真菌症の診断・治療ガイドラインでは発熱性好中球減少症 (FN), カンジダ血症の第一選択薬となっている<sup>6)</sup>。

近年では深在性真菌症に対する抗真菌薬の使用増加に伴い, アゾールおよびキャンディン耐性の *Candida* 属, 特に *Candida glabrata* やアゾール耐性の *Aspergillus* 属が欧米で治療上の問題点となっているため, 抗真菌薬の感受性調査の実施が重要である<sup>5,7)</sup>。

カスポファンギン (CPFPG: カンサイダス<sup>®</sup>) は糸状菌 *Glarea lozoyensis* の代謝産物から見出された pneumocandin B<sub>0</sub> の誘導体で, 真菌細胞壁の主要構成成分である 1,3-β-D-glucan の生合成を特異的に阻害し, 抗真菌活性を発揮するエキノキャンディン系の抗真菌薬に分類される<sup>8)</sup>。CPFPG は *Candida* 属に対し溶菌活性を示し, また *Aspergillus* 属に対しては 1,3-β-D-glucan の生合成がみられる菌糸先端部を破壊することで強い抗真菌活性を発揮する。2001 年に米国で発売されて以来, 世界 93 カ国 (2014 年 8 月時点) で承認販売されて

おり、本邦でも2012年1月に「真菌感染が疑われる発熱性好中球減少症」および「カンジダ属又はアスペルギルス属による真菌感染症(食道カンジダ症、侵襲性カンジダ症、アスペルギルス症)」の適応を取得し、2014年12月には小児への適応が追加承認された。

今回、市販後3年間に日本国内の主要医療機関の主に深在性真菌症疑い患者より分離された *Candida* 属および *Aspergillus* 属の Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) の標準法による抗真菌薬に対する感受性調査を実施したので報告する。また、蛋白結合率を考慮した生体内での活性を推定するため、ヒト血清アルブミン (HSA) を培地に添加した際の感受性についても併せて検討した。

## I. 材料と方法

### 1. 使用菌株

2012年4月から2014年12月に日本国内(主に関東地方)の医療機関において主に真菌感染症が疑われた患者の臨床検体より LSI メディエンスで分離同定した *Candida* 属6菌種、計510株および *Aspergillus* 属4菌種、計300株、合計810株の感受性を各年ごとにまとめて測定した。収集対象菌種と株数は、菌種の臨床的重要性およびベンダーでの臨床分離株の入手可能性を考慮した。年度別の各菌種の分離材料を Table 1a, 1b に示した。菌株の収集は、北海道地区、東北地区、関東地区、北陸地区、甲信越地区、中部地区、近畿地区、四国地区、中国地区、九州・沖縄地区から *Candida* 属ではおのおの1, 52, 315, 3, 6, 47, 11, 51, 20, 4株、また、*Aspergillus* 属では1, 21, 186, 1, 3, 27, 8, 46, 7, 0株収集した。

*Candida* 属は CHROMagar *Candida* (日本ベクトン・ディッキンソン) および VITEKII YST カード(シスメックス・バイオメリュー)を用いて、また、*Aspergillus* 属はサブローデキストロース寒天培地上に発育したコロニーの形態およびスライドカルチャーによる分生子の形態学的特徴より同定した。

これらの試験菌株の収集は、文部科学省および厚生労働省の「疫学研究に関する倫理指針」および日本臨床微生物学会の通知<sup>9)</sup>を遵守、患者のプライバシーには抵触しないことを厳守し、菌株のみを試験に使用した。

### 2. 使用薬剤

国内で発売済の主要な抗真菌薬、カスポファンギン(CPFG:カンサイダス<sup>®</sup>, MSD, ロット番号003M039), ミカファンギン(MCFG:ファンガード<sup>®</sup>, アステラス製薬), アムホテリシンB(AMPH-B:Sigma-Aldrich), ポリコナゾール(VRCZ:ブイフェンド<sup>®</sup>, ファイザー), フルコナゾール(FLCZ:Sigma-Aldrich), イトラコナゾール(ITCZ:Sigma-Aldrich) およびフルシトシン(5-FC:Sigma-Aldrich)の計7薬剤を使用した。CPFGは滅菌精製水で溶解後、測定培地(RPMI-1640+0.165 M MOPS, pH7.0)で希釈した。

### 3. 感受性測定

*Candida* 属および *Aspergillus* 属に対する各種抗真菌薬の MIC (最小発育阻止濃度) または MEC (最小有効濃度) はそれぞれ CLSI の標準法 M27-A3<sup>10)</sup> および M38-A2<sup>11)</sup> に準じた微量液体希釈法で、LSI メディエンスにて一括測定を行った。ヒトの血清中アルブミン濃度に相当する終濃度5%<sup>12)</sup>の HSA (Sigma-Aldrich) を測定培地に溶解し、同微量液体希釈法により CPFG および MCFG の MIC または MEC を測定した。

### 4. 感受性の判定

測定結果に基づき、MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub> および各 MIC の幾何平均を算出した。

*Candida* 属に対する感受性は、本試験の開始時点で公表されていた CLSI M27-S3 に基づき判定し、CPFG は 2 μg/mL 以下の株を感受性 (susceptible; S), 2 μg/mL を超える株を非感受性 (non-susceptible; NS) とした<sup>13)</sup>。

*Aspergillus* 属の感受性は、CLSI ではブレイクポイントが設定されていないため、判定を実施していない。

精度管理株は CLSI M27-A3 および M38-A2 に準じ *Candida parapsilosis* ATCC22019, *Candida krusei* ATCC 6258 および *Paecilomyces variotii* ATCC MYA-3630 を使用した。各測定時に精度管理株の MIC が各薬剤の許容範囲であることを確認した<sup>10,11)</sup>。

## II. 結 果

### 1. CPFG 感受性の経年変化

*Candida* 属および *Aspergillus* 属に対する CPFG の分離年ごとの MIC または MEC を Table 2 に示した。

2012, 2013, 2014年に分離した *Candida albicans* (50株/年) と *Candida tropicalis* (30株/年) に対する CPFG の MIC<sub>90</sub> は、おのおの 0.25, 0.25, 0.5 μg/mL, *C. parapsilosis* (30株/年) と *C. krusei* (20株/年) に対しては 1, 1, 1 μg/mL, *C. glabrata* (30株/年) に対しては 0.5, 0.5, 0.5 μg/mL, *Candida guilliermondii* (10株/年) に対しては 1, 0.5, 1 μg/mL であった。同様に、*A. fumigatus* (50株/年) と *Aspergillus flavus* (20株/年) に対する CPFG の MEC<sub>90</sub> は、おのおの 0.25, 0.25, 0.5 μg/mL, *Aspergillus niger* (20株/年) に対しては 0.25, 0.25, 0.25 μg/mL, *Aspergillus terreus* (10株/年) に対しては 0.25, 0.12, 0.25 μg/mL であった。2012年から2014年に分離された菌株に対する CPFG の MIC<sub>90</sub> もしくは MEC<sub>90</sub> および MIC もしくは MEC の幾何平均の変動は、いずれの菌種においても2倍以内であった。

米国の CPFG の添付文書<sup>14)</sup>が準拠している CLSI M27-S3 の感受性の判定基準をもとに今回の *Candida* 属の測定結果を解析すると、2 μg/mL を超える菌株は認められなかった。その結果、今回調査した *Candida* 属はすべて CPFG 感受性と判定された。

### 2. 国内臨床分離株の各種抗真菌薬に対する感受性

CPFG を含む各種抗真菌薬に対する 2012年から2014

Table 1a. Specimens used to isolate test strains (*Candida* spp.)

Organisms	No. of isolates	Specimens	No. of isolates					
			2012	2013	2014	Total		
<i>Candida albicans</i>	150	Blood	21	47	41	109		
		CV catheter	1	0	0	1		
		Other respiratory	3	1	7	11		
		Gastrointestinal	11	0	0	11		
		Bile	2	2	2	6		
		Abdominal fluid	1	0	0	1		
		Amniotic fluid	6	0	0	6		
		Bartholin's glands	1	0	0	1		
		Abscess	2	0	0	2		
		Unknown tissue	2	0	0	2		
		<i>Candida parapsilosis</i>	90	Blood	29	30	27	86
CV catheter	0			0	1	1		
Abscess	1			0	1	2		
<i>Candida glabrata</i>	90	Cerebrospinal fluid	0	0	1	1		
		Blood	23	27	26	76		
		CV catheter	1	0	0	1		
		Sputum	0	1	0	1		
		Other respiratory	0	1	1	2		
		Gastrointestinal	1	0	0	1		
		Bile	1	1	3	5		
		Abdominal fluid	2	0	0	2		
		Amniotic fluid	1	0	0	1		
		Unknown tissue	1	0	0	1		
		<i>Candida tropicalis</i>	90	Blood	16	25	24	65
CV catheter	1			0	1	2		
Sputum	0			2	2	4		
Other respiratory	0			1	1	2		
Pharynx	0			0	1	1		
Gastrointestinal	11			0	0	11		
Abdominal fluid	1			0	0	1		
Abscess	1			2	1	4		
<i>Candida krusei</i>	60			Blood	5	1	4	10
				Sputum	4	6	6	16
				Other respiratory	1	1	0	2
		Pharynx	3	0	1	4		
		Abdominal fluid	0	1	0	1		
		Vaginal discharge	7	8	9	24		
		Pseudomembranous tongue	0	2	0	2		
		Dermatological	0	1	0	1		
		<i>Candida guilliermondii</i>	30	Blood	8	1	6	15
				Catheter	0	1	0	1
				Sputum	0	0	2	2
Pharynx	0			1	0	1		
Otorrhea	1			0	0	1		
Pseudomembranous tongue	0			2	2	4		
Dermatological	1			5	0	6		

Other respiratory: bronchoalveolar fluid and pulmonary fluid

Gastrointestinal: stomach fluid, gastrostomy, alimentary secretion, colon mucosa, esophagus and duodenal juice

Dermatological: skin and nail

年分離の *Candida* 属および *Aspergillus* 属の感受性を Table 3a, 3b に集計した。*Candida* 属に関して, FLCZ 耐性 ( $\geq 64 \mu\text{g/mL}$ ) の *C. krusei* が 2 株, ITCZ 耐性 ( $\geq 1 \mu\text{g/mL}$ ) の *C. glabrata* が 4 株検出された。それ以外にキャンディン系薬, AMPH-B またはアゾール耐性の *Candida* 属は検出されなかった。また, *Aspergillus* 属において,

FLCZ を除いて, キャンディン系薬, AMPH-B に感受性が低下した菌株は観察されなかった。一方, VRCZ では MIC が  $4 \mu\text{g/mL}$  の低感受性を示す *A. fumigatus* が 1 株, また, ITCZ では MIC が  $4 \mu\text{g/mL}$  の低感受性を示す *A. fumigatus* および *A. niger* がそれぞれ 1 および 8 株検出された (データ未提示)。

Table 1b. Specimens used to isolate test strains (*Aspergillus* spp.)

Organisms	No. of isolates	Specimens	No. of isolates			
			2012	2013	2014	Total
<i>Aspergillus fumigatus</i>	150	Sputum	22	29	33	84
		Other respiratory	8	6	13	27
		Otorrhea	9	12	3	24
		Vaginal discharge	1	0	0	1
		Dermatological	6	0	0	6
		Feces	1	0	0	1
		Pleural fluid	1	1	0	2
		Abscess	0	2	1	3
		Unknown tissue	1	0	0	1
		Tongue	1	0	0	1
<i>Aspergillus flavus</i>	60	Dermatological	7	1	2	10
		Other respiratory	1	1	1	3
		Otorrhea	10	10	13	33
<i>Aspergillus niger</i>	60	Sputum	2	8	4	14
		Other respiratory	1	0	1	2
		Abscess	0	0	1	1
		Dermatological	11	0	1	12
<i>Aspergillus terreus</i>	30	Otorrhea	6	13	15	34
		Sputum	2	7	2	11
		Sputum	0	1	2	3
		Dermatological	1	2	0	3
		Otorrhea	9	7	8	24

Other respiratory: bronchoalveolar fluid, pulmonary fluid and lung tissue

Dermatological: skin, nail, desquamation and eschar

### 3. ヒト血清アルブミン添加の影響

ヒトの血清中アルブミン濃度に相当する5% HSAを添加した液体培地中での *Candida* 属および *Aspergillus* 属に対する CPFPG と MCFG の MIC<sub>90</sub> もしくは MEC<sub>90</sub> および幾何平均 MIC もしくは MEC の結果を Table 4 に示した。

CPFPG の HSA 非添加時の MIC<sub>90</sub> もしくは MEC<sub>90</sub> および MIC もしくは MEC の幾何平均は、いずれも MCFG よりも高値を示していた。しかしながら、血中での抗菌活性に近いと考えられる HSA 添加条件では、逆にいずれの菌種でも、CPFPG の MIC<sub>90</sub> もしくは MEC<sub>90</sub> および MIC もしくは MEC の幾何平均は MCFG よりも低値を示した。

CPFPG の HSA 添加と非添加時の比は MIC<sub>90</sub> もしくは MEC<sub>90</sub> および幾何平均の MIC もしくは MEC でそれぞれ 2~8 倍および 1.64~5.16 倍であったが、MCFG ではそれぞれ 32~256 倍および 20.2~228 倍上昇していた。CPFPG の両菌種に対する活性は HSA の影響を受けにくいことがわかった。

### III. 考 察

2012 年から 2014 年に全国の医療機関より収集した *Candida* 属および *Aspergillus* 属の CPFPG に対する感受性を CLSI の標準法 (それぞれ M27-A3 および M38-A2) により測定し、収集年ごとに集計した。各分離年での CPFPG の *Candida* 属および *Aspergillus* 属に対する MIC もしくは MEC の幾何平均はいずれの菌種においても 2 倍以内

であったことから、CPFPG の MIC もしくは MEC には明らかな変動はなかったと考えられる。また、本邦での CPFPG 第 III 相臨床試験で 2008 年から 2010 年に分離された菌株 (*C. albicans* 19 株, *C. glabrata* 1 株および *Aspergillus* 属 15 株) の感受性を今回の調査と同一の施設および方法で測定した時の結果は、今回の調査とほぼ同等であった<sup>15)</sup>。これらは、日本国内での CPFPG に対する *Candida* 属, *Aspergillus* 属の感受性に変化がないことを示すものである。

今回、アゾール系薬の VRCZ, FLCZ, ITCZ, ポリエン系薬の AMPH-B を同時に測定した。いずれの薬剤についても 2012 年から 2014 年の経年的な変化はなく (データ未提示), *Candida* 属では FLCZ 耐性の *C. krusei* が 2 株および ITCZ 耐性の *C. glabrata* が 4 株検出されたのみであった。Katsuragi らは単一施設で FLCZ 耐性の *C. glabrata* と *C. tropicalis* がおのおの 19.1% と 36.4% の高頻度で検出されたことを報告しており<sup>16)</sup>, さらにアゾール耐性の *Aspergillus* 属も検出されている<sup>17)</sup>。アゾール系薬の耐性化動向も注意する必要がある。

*Candida* 属の CPFPG に対する感受性の判定基準として、MIC が 2  $\mu$ g/mL 以下の場合は S (susceptible), 2  $\mu$ g/mL を超える場合は NS (non-susceptible) であることが現在の米国の添付文書に記載されている<sup>14)</sup>。この基準は 2008 年に設定された CLSI M27-S3<sup>13)</sup> の値をもとにしたものであり、この判定基準に従うと今回の 3 年間の調査範囲では *Candida* 属は CPFPG にすべて感受性で

Table 2. Susceptibility of *Candida* and *Aspergillus* to caspofungin in Japan (2012–2014)

Organisms	No. of isolates	Isolation year	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )					
			Range	50%	90%	Geometric mean		
<i>Candida albicans</i>	50	2012	0.06	—	0.25	0.12	0.25	0.14
	50	2013	0.06	—	0.25	0.12	0.25	0.14
	50	2014	0.06	—	0.5	0.25	0.5	0.21
<i>Candida parapsilosis</i>	30	2012	1	—	2	1	1	1.0
	30	2013	0.5	—	2	1	1	0.95
	30	2014	0.5	—	2	1	1	0.95
<i>Candida glabrata</i>	30	2012	0.12	—	1	0.25	0.5	0.36
	30	2013	0.25	—	0.5	0.5	0.5	0.45
	30	2014	0.25	—	1	0.5	0.5	0.46
<i>Candida tropicalis</i>	30	2012	0.12	—	0.25	0.25	0.25	0.18
	30	2013	0.12	—	0.5	0.25	0.25	0.21
	30	2014	0.12	—	0.5	0.25	0.5	0.28
<i>Candida krusei</i>	20	2012	0.5	—	2	1	1	0.97
	20	2013	0.5	—	1	0.5	1	0.66
	20	2014	0.25	—	1	0.5	1	0.62
<i>Candida guilliermondii</i>	10	2012	0.5	—	2	1	1	0.87
	10	2013	0.25	—	0.5	0.5	0.5	0.44
	10	2014	0.5	—	1	1	1	0.87

  

Organisms	No. of isolates	Isolation year	MEC ( $\mu\text{g/mL}$ )					
			Range	50%	90%	Geometric mean		
<i>Aspergillus fumigatus</i>	50	2012	0.06	—	0.25	0.12	0.25	0.15
	50	2013	0.12	—	0.25	0.25	0.25	0.19
	50	2014	0.06	—	0.5	0.25	0.5	0.31
<i>Aspergillus flavus</i>	20	2012	0.12	—	0.25	0.12	0.25	0.17
	20	2013	0.12	—	0.25	0.12	0.25	0.15
	20	2014	0.12	—	0.5	0.25	0.5	0.25
<i>Aspergillus niger</i>	20	2012	0.12	—	0.25	0.12	0.25	0.16
	20	2013	0.06	—	0.25	0.12	0.25	0.12
	20	2014	0.12	—	0.25	0.25	0.25	0.20
<i>Aspergillus terreus</i>	10	2012	0.12	—	0.25	0.25	0.25	0.22
	10	2013	0.06	—	0.25	0.12	0.12	0.10
	10	2014	0.12	—	0.25	0.12	0.25	0.18

あった。本調査開始後の2012年12月に改定されたCLSI M27-S4<sup>18)</sup>では、CPFGの感受性(susceptible:S)の判定基準は菌種ごとに定められ、*C. albicans*、*C. tropicalis*、*C. krusei*に対しては $\leq 0.25 \mu\text{g/mL}$ 、*C. glabrata*に対しては $\leq 0.12 \mu\text{g/mL}$ 、*C. parapsilosis*、*C. guilliermondii*に対しては $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ となった。このCLSI M27-S4の感受性判定基準をもとにするとCPFGに対してS(susceptible)、I(intermediate)、R(resistant)と判定される割合は、それぞれ*C. albicans*、で94%、6%、0%、*C. glabrata*で1%、28%、71%、*C. tropicalis*で91%、9%、0%、*C. krusei*で2%、43%、55%となった。また、*C. parapsilosis*、*C. guilliermondii*はすべて感受性であった。CLSI M27-S3の判定基準をもとにした感受性の割合と大きな乖離が認められた。同様の傾向はスイスの多施設研究においても観察された<sup>19)</sup>。

CLSI M27-S4判定基準を用いたCPFGの感受性測定は、現在までにMIC測定方法、ブレイクポイント設定の2つの課題が指摘されている。Espinell-Ingroff<sup>20)</sup>らは、欧州、北米、中南米の14施設でCPFGの*Candida*属に対す

る活性をCLSIの微量液体希釈法により測定した結果、*C. albicans*と*C. glabrata*に対するMIC最頻値はそれぞれ0.016~0.5と0.031~0.5  $\mu\text{g/mL}$ で、施設間で最大32倍開きがあり、*C. parapsilosis*、*C. guilliermondii*以外の*Candida*属に対する施設間の差が大きいと報告している。施設間差の原因についてCPFG原末の入手先、溶解方法、原末の保存時間・温度、MIC測定時の判断基準など複合的な要因の検討が行われたが、影響を及ぼすファクターは確定されなかった<sup>20)</sup>。最近、Fothergillらは、親水処理されたポリスチレンマイクロプレートと未処理のプレートでのCPFGのMICを比較し<sup>21)</sup>、親水処理したプレートでのMICが高く、特に*C. glabrata*と*C. krusei*において未処理プレートとの乖離が大きいことから、プレートの表面処理がCPFGの感受性判定結果に影響していることが示唆された。なお、European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)では、*C. albicans*のCPFGに対する感受性に大きな施設間差があることから、CPFGについて*Candida*属に対するMICのブレイクポイントは設定されていない<sup>22, 23)</sup>。

Table 3a. Antifungal susceptibility of *Candida* in Japan

Organisms	No. of isolates	Drugs	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )					
			Range		50%	90%	Geometric mean	
<i>Candida albicans</i>	150	CPFG	0.06	—	0.5	0.12	0.25	0.16
		MCFG	$\leq 0.002$	—	0.015	0.008	0.008	0.0062
		AMPH-B	0.12	—	1	0.5	0.5	0.45
		VRCZ	0.004	—	0.03	0.008	0.015	0.0064
		FLCZ	$\leq 0.12$	—	0.5	0.25	0.5	0.20
		ITCZ	$\leq 0.015$	—	0.06	$\leq 0.015$	0.03	0.017
		5-FC	$\leq 0.12$	—	>64	$\leq 0.12$	$\leq 0.12$	0.15
<i>Candida parapsilosis</i>	90	CPFG	0.5	—	2	1	1	0.98
		MCFG	0.06	—	2	0.5	0.5	0.47
		AMPH-B	0.5	—	2	1	2	1.2
		VRCZ	0.004	—	0.03	0.015	0.03	0.014
		FLCZ	$\leq 0.12$	—	2	0.5	0.5	0.41
		ITCZ	$\leq 0.015$	—	0.06	0.03	0.06	0.026
		5-FC	$\leq 0.12$	—	0.5	$\leq 0.12$	0.25	0.19
<i>Candida glabrata</i>	90	CPFG	0.12	—	1	0.5	0.5	0.42
		MCFG	0.004	—	0.015	0.008	0.008	0.0076
		AMPH-B	0.25	—	1	1	1	0.68
		VRCZ	0.03	—	1	0.06	0.25	0.091
		FLCZ	1	—	32	4	8	3.4
		ITCZ	0.06	—	8	0.25	0.5	0.22
		5-FC	$\leq 0.12$	—	8	$\leq 0.12$	$\leq 0.12$	0.14
<i>Candida tropicalis</i>	90	CPFG	0.12	—	0.5	0.25	0.25	0.22
		MCFG	0.004	—	0.03	0.015	0.015	0.013
		AMPH-B	0.5	—	1	1	1	0.72
		VRCZ	0.008	—	0.06	0.03	0.03	0.022
		FLCZ	0.25	—	2	0.5	1	0.46
		ITCZ	$\leq 0.015$	—	0.25	0.06	0.06	0.047
		5-FC	$\leq 0.12$	—	32	$\leq 0.12$	0.25	0.18
<i>Candida krusei</i>	60	CPFG	0.25	—	2	1	1	0.73
		MCFG	0.03	—	0.12	0.06	0.06	0.066
		AMPH-B	0.5	—	2	1	2	1.2
		VRCZ	0.06	—	0.5	0.12	0.25	0.17
		FLCZ	8	—	64	16	32	20
		ITCZ	0.06	—	0.5	0.25	0.25	0.20
		5-FC	2	—	16	8	8	7.2
<i>Candida guilliermondii</i>	30	CPFG	0.25	—	2	0.5	1	0.69
		MCFG	0.06	—	1	0.25	0.25	0.19
		AMPH-B	0.25	—	1	0.5	0.5	0.43
		VRCZ	0.03	—	0.25	0.12	0.25	0.11
		FLCZ	2	—	8	4	4	3.6
		ITCZ	0.12	—	0.5	0.25	0.5	0.32
		5-FC	$\leq 0.12$	—	0.25	$\leq 0.12$	0.25	0.15

CPFG: caspofungin, MCFG: micafungin, AMPH-B: amphotericin-B, VRCZ: voriconazole, FLCZ: fluconazole, ITCZ: itraconazole, 5-FC: flucytosine

All organisms were isolated from specimens collected between 2012 and 2014.

次にブレイクポイント設定の課題について述べる。海外で市販されている感受性キット (YeastOne<sup>®</sup>) を用いると、CPFG の感受性の施設間差が少なく、2 管以内であったことが報告されている<sup>24)</sup>。キャンディン系の標的酵素である 1,3-D-グルカン合成酵素を Encode する FKS1 および FKS2 遺伝子の点変異が、耐性に関連すると考えられている<sup>25, 26)</sup>。また CPFG の臨床効果は、*fks* 変異を有する株に対して低下することが報告されているが<sup>27)</sup>、YeastOne<sup>®</sup> を用いた Shields らの報告では<sup>26)</sup>、CPFG が I (Intermediate) と判定された株に *fks* 変異はなく、CPFG

の臨床効果を推定する意味でのブレイクポイントの精度に疑問があると主張している。今回の調査では *fks* の変異について遺伝子学的検討を実施していないが、CLSI M27-S4 の基準による MCFG の感受性からキャンディン耐性株の有無を推定すると<sup>18)</sup>、今回収集した *Candida* 属のなかにキャンディン耐性菌は存在しないと考えられた。今後、施設間差の原因の究明とともにブレイクポイントの再設定が待たれる。

抗真菌薬においても血清アルブミンとの結合は薬剤の治療効果に大きく影響し、マウス播種性感染モデルでは、

Table 3b. Antifungal susceptibility of *Aspergillus* in Japan

Organisms	No. of isolates	Drugs	MEC or MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )					
			Range		50%	90%	Geometric mean	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	150	CPFG	0.06	—	0.5	0.25	0.5	0.21
		MCFG	$\leq 0.002$	—	0.015	0.004	0.008	0.0044
		AMPH-B	0.25	—	2	1	1	0.74
		VRCZ	0.25	—	4	0.5	0.5	0.41
		FLCZ	>64	—		>64	>64	>64
		ITCZ	0.06	—	4	0.25	0.25	0.18
<i>Aspergillus flavus</i>	60	CPFG	0.12	—	0.5	0.25	0.25	0.19
		MCFG	0.004	—	0.015	0.008	0.015	0.0077
		AMPH-B	0.5	—	2	2	2	1.4
		VRCZ	0.25	—	1	0.5	1	0.54
		FLCZ	64	—	>64	>64	>64	>64
		ITCZ	0.12	—	0.5	0.25	0.5	0.31
<i>Aspergillus niger</i>	60	CPFG	0.06	—	0.25	0.12	0.25	0.16
		MCFG	$\leq 0.002$	—	0.008	$\leq 0.002$	0.004	0.0028
		AMPH-B	0.25	—	1	0.5	1	0.58
		VRCZ	0.12	—	2	1	2	0.71
		FLCZ	64	—	>64	>64	>64	>64
		ITCZ	0.25	—	4	1	4	1.0
<i>Aspergillus terreus</i>	30	CPFG	0.06	—	0.25	0.12	0.25	0.16
		MCFG	0.004	—	0.008	0.004	0.004	0.004
		AMPH-B	0.5	—	2	1	2	1.2
		VRCZ	0.12	—	0.5	0.25	0.5	0.30
		FLCZ	16	—	>64	>64	>64	>64
		ITCZ	0.12	—	0.5	0.25	0.5	0.20

CPFG: caspofungin, MCFG: micafungin, AMPH-B: amphotericin-B, VRCZ: voriconazole, FLCZ: fluconazole, ITCZ: itraconazole  
All organisms were isolated from specimens collected between 2012 and 2014.

Table 4. Susceptibility to caspofungin and micafungin in the presence of human serum albumin

Organisms	No. of isolates	MIC <sub>90</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )						MIC mean <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g/mL}$ )					
		CPFG			MCFG			CPFG			MCFG		
		without HSA <sup>b)</sup>	with HSA <sup>c)</sup>	Ratio <sup>d)</sup>	without HSA <sup>b)</sup>	with HSA <sup>c)</sup>	Ratio <sup>d)</sup>	without HSA <sup>b)</sup>	with HSA <sup>c)</sup>	Ratio <sup>e)</sup>	without HSA <sup>b)</sup>	with HSA <sup>c)</sup>	Ratio <sup>e)</sup>
<i>Candida albicans</i>	150	0.25	0.5	2	0.008	2	256	0.163	0.331	2.03	0.00623	0.977	157
<i>Candida parapsilosis</i>	90	1	8	8	0.5	>16	>32	0.977	5.04	5.16	0.470	>16	>32
<i>Candida glabrata</i>	90	0.5	1	2	0.008	2	256	0.419	0.686	1.64	0.00758	1.29	170
<i>Candida tropicalis</i>	90	0.25	0.5	2	0.015	2	128	0.221	0.406	1.84	0.0126	1.62	129
<i>Candida krusei</i>	60	1	2	2	0.06	16	256	0.732	1.72	2.35	0.0655	7.38	113
<i>Candida guilliermondii</i>	30	1	2	2	0.25	8	32	0.691	1.23	1.78	0.194	3.91	20.2

  

Organisms	No. of isolates	MEC <sub>90</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )						MEC mean <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g/mL}$ )					
		CPFG			MCFG			CPFG			MCFG		
		without HSA <sup>b)</sup>	with HSA <sup>c)</sup>	Ratio <sup>d)</sup>	without HSA <sup>b)</sup>	with HSA <sup>c)</sup>	Ratio <sup>d)</sup>	without HSA <sup>b)</sup>	with HSA <sup>c)</sup>	Ratio <sup>e)</sup>	without HSA <sup>b)</sup>	with HSA <sup>c)</sup>	Ratio <sup>e)</sup>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	150	0.5	1	2	0.008	1	128	0.208	0.486	2.34	0.00436	0.69	159
<i>Aspergillus flavus</i>	60	0.25	1	4	0.015	2	128	0.185	0.645	3.48	0.00772	0.933	121
<i>Aspergillus niger</i>	60	0.25	0.5	2	0.004	1	256	0.157	0.334	2.12	0.00283	0.645	228
<i>Aspergillus terreus</i>	30	0.25	0.5	2	0.004	1	256	0.157	0.294	1.87	0.00400	0.512	128

CPFG: caspofungin, MCFG: micafungin

a): geometric mean of MICs or MECs for each isolate

b): RPMI medium without human serum albumin

c): RPMI medium with 5% human serum albumin

d): MIC<sub>90</sub> or MEC<sub>90</sub> with HSA/MIC<sub>90</sub> or MEC<sub>90</sub> without HSA

e): MIC mean or MEC mean with HSA/MIC mean or MEC mean without HSA

血清添加培地での抗菌活性が防御効果と相関することが報告されている<sup>28)</sup>。ヒト血清蛋白との結合率はCPFPGが96%、MCFGが99.8%と<sup>29)</sup>、比較的高いことからHSA添加によるMICの影響を測定した。HSA添加前のMIC値はMCFGが低かったが、逆にHSA添加後のMIC値はCPFPGが相対的に低くなった。さらにHSA添加によるMIC値の変動率はMCFGで高く、CPFPGで低かった。また、蛋白結合率以外の作用としてアスペルギルスについてはアルブミンがCPFPGの菌糸への結合を促進させることによる相乗効果があるという報告がされている<sup>30)</sup>。それらのことから、生体内ではMCFGよりもCPFPGのほうがより抗真菌活性が強いことが示唆された。

国際的なサーベイランス (SENTRY surveillance) では、世界各地域<sup>31)</sup>やアジア・太平洋地域<sup>32)</sup>では、カンディン系薬の *C. albicans* や *C. glabrata* に対する耐性率は地域間で差がみられたものの、アジア・太平洋地域においては耐性 (R) の割合はきわめて少ないことが報告されている。国内でもカンディン耐性 *C. glabrata* による感染の報告<sup>33)</sup>や真菌サーベイランスによりMCFGのMICが上昇した *C. glabrata* や *C. tropicalis* が検出されている<sup>34, 35)</sup>。その一方で、カンディンに対する耐性株はみられなかったという報告もある<sup>36)</sup>。

CPFPGの2012年から2014年の3年間の国内分離 *Candida* 属および *Aspergillus* 属の感受性調査を実施し、経年のMIC変化を検討した結果、CPFPGに対する感受性に明らかな変化はなく、*Candida* 属の非感受性株も確認されなかった。今回われわれは、同一施設・同一条件下で感受性測定を実施し、精度管理株を用いた測定により再現性を確認した。その結果、3年間の経時的変化は認められておらず、収集した臨床分離株にはCPFPGに対して明らかな感受性の変化はないものと考えられる。また、海外のカンディン耐性菌の傾向に注意しながら、日本国内における抗真菌薬に対する継続的な感受性調査が必要と考えられる。

#### 謝 辞

MSD株式会社クリニカルリサーチ領域の吉成智子氏、前臨床開発部の小川真実氏には本成績を纏めるにあたって多大なご支援をいただきましたことを厚く御礼申し上げます。

利益相反自己申告：本調査はMSD株式会社のカンサイダス®点滴静注用の製造販売後特定使用成績調査として実施された。本論文の作成においては株式会社LSIメディエンス松本哲が執筆の一部を補佐し、その費用はMSD株式会社が負担した。筆頭者を含むすべての著者はMSD株式会社の社員である。

#### 文 献

1) Pappas P G, Alexander B D, Andes D R, Hadley S, Kauffman C A, Freifeld A, et al: Invasive fungal in-

fections among organ transplant recipients: results of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). *Clin Infect Dis* 2010; 50: 1101-11

- 2) Kontoyiannis D P, Marr K A, Park B J, Alexander B D, Anaissie E J, Walsh T J, et al: Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001-2006: overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 1091-100
- 3) Singh N: Fungal infections in the recipients of solid organ transplantation. *Infect Dis Clin North Am* 2003; 17: 113-34
- 4) Cleveland A A, Farley M M, Harrison L H, Stein B, Hollick R, Lockhart S R, et al: Changes in incidence and antifungal drug resistance in candidemia: Results from population-based laboratory surveillance in Atlanta and Baltimore, 2008-2011. *Clin Infect Dis* 2012; 55: 1352-61
- 5) Shields R K, Nguyen M H, Clancy C J: Clinical perspectives on echinocandin resistance among *Candida* species. *Curr Opin Infect Dis* 2015; 28: 514-22
- 6) 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, 2014
- 7) Perlin D S: Mechanisms of echinocandin antifungal drug resistance. *Ann N Y Acad Sci* 2015; 1354: 1-11
- 8) Bartizal K, Gill C J, Abruzzo G K, Flattery A M, Kong L I, Scott P M, et al: In vitro preclinical evaluation studies with the echinocandin antifungal MK-0991 (L-743,872). *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 2326-32
- 9) 日本臨床微生物学会：「疫学研究に関する倫理指針」の施行等について。日臨微生物誌 2002; 12: 255
- 10) Clinical and Laboratory Standards Institute: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved standard, 3rd ed, CLSI document M27-A3. CLSI, Wayne, PA, 2008
- 11) Clinical and Laboratory Standards Institute: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved standard, 2nd ed, CLSI document M38-A2. CLSI, Wayne, PA, 2008
- 12) 最新臨床検査項目辞典。医歯薬出版, 2008
- 13) Clinical and Laboratory Standards Institute: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Informational supplement, 3rd ed, CLSI document M27-S3. CLSI, Wayne, PA, 2008
- 14) CANCELAS® (Caspofungin acetate); US prescribing information, 09/2014; Merck & Co., NJ, USA
- 15) Kohno S, Izumikawa K, Yoshida M, Takesue Y, Oka S, Kamei K, et al: A double-blind comparative study of the safety and efficacy of caspofungin versus micafungin in the treatment of candidiasis and aspergillosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32: 387-97
- 16) Katsuragi S, Sata M, Kobayashi Y, Miyoshi T, Yamashita Y, Neki R, et al: Antifungal susceptibility of *Candida* isolates at one institution. *Med Mycol J*



- 2014; 55: E1-7
- 17) Tashiro M, Izumikawa K, Hirano K, Ide S, Mihara T, Hosogaya N, et al: Correlation between triazole treatment history and susceptibility in clinically isolated *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 4870-5
  - 18) Clinical and Laboratory Standards Institute: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Informational supplement, 4th ed, CLSI document M27-S4. CLSI, Wayne, PA, 2012
  - 19) Orasch C, Marchetti O, Garbino J, Schrenzel J, Zimmerli S, Mühlethaler K, et al: *Candida* species distribution and antifungal susceptibility testing according to European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing and new vs. old Clinical and Laboratory Standards Institute clinical breakpoints: a 6-year prospective candidaemia survey from the fungal infection network of Switzerland. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20: 698-705
  - 20) Espinel-Ingroff A, Arendrup M C, Pfaller M A, Bonfietti L X, Bustamante B, Canton E, et al: Interlaboratory variability of caspofungin MICs for *Candida* spp. using CLSI and EUCAST methods: Should the clinical laboratory be testing this agent? *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 5836-42
  - 21) Fothergill A W, McCarthy D I, Albatneh M T, Sanders C, McElmeel M, Wiederhold N P: Effects of Treated versus Untreated Polystyrene on Caspofungin *In Vitro* Activity against *Candida* Species. *J Clin Microbiol* 2016; 54: 734-8
  - 22) Arendrup M C, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, Hope W W: Breakpoints for antifungal agents: An update from EUCAST focusing on echinocandins against *Candida* spp. and triazoles against *Aspergillus* spp. *Drug Resist Updat* 2013; 16: 81-95
  - 23) EUCAST: Breakpoints table for interpretation of MICs (Version 8.0)  
[http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)
  - 24) Eschenauer G A, Nguyen M H, Shoham S, Vazquez J A, Morris A J, Pasculle W A, et al: Real-world experience with echinocandin MICs against *Candida* species in a multicenter study of hospitals that routinely perform susceptibility testing of bloodstream isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58: 1897-906
  - 25) Katiyer S K, Alastrurey-Izquierdo A, Healey K R, Johnson M E, Perlin D S, Edlind T D: Fks1 and Fks2 are functionally redundant but differentially regulated in *Candida glabrata*: implications for echinocandin resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 6304-9
  - 26) Shields R K, Nguyen M H, Press E G, Cumbie R, Driscoll E, Pasculle A W, et al: Rate of FKS mutations among consecutive *Candida* isolates causing bloodstream infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59: 7465-70
  - 27) Shields R K, Nguyen M H, Press E G, Kwa A L, Cheng S, Du C, et al: The presence of an FKS mutation rather than MIC is an independent risk factor for failure of echinocandin therapy among patients with invasive candidiasis due to *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 4862-9
  - 28) Maki K, Matsumoto S, Watabe E, Iguchi Y, Tomishima M, Ohki H, et al: Use of a serum-based antifungal susceptibility assay to predict the *in vivo* efficacy of novel echinocandin compounds. *Microbiol Immunol* 2008; 52: 383-91
  - 29) Odabasi Z, Paetznick V, Rex J H, Ostrosky-Zeichner L: Effects of serum on *in vitro* susceptibility testing of echinocandins. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 4214-6
  - 30) Ioannou P, Andrianaki A, Akoumianaki T, Kyrmizi I, Albert N, Perlin D, et al: Albumin Enhances Caspofungin Activity against *Aspergillus* Species by Facilitating Drug Delivery to Germinating Hyphae. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 60: 1226-33
  - 31) Castanheira M, Messer S A, Jones R N, Farrell D J, Pfaller M A: Activity of echinocandins and triazoles against a contemporary (2012) worldwide collection of yeast and moulds collected from invasive infections. *Int J Antimicrob Agents* 2014; 44: 320-6
  - 32) Pfaller M A, Messer S A, Jones R N, Castanheira M: Antifungal susceptibilities of *Candida*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus* from Asia and Western Pacific region: data from the SENTRY antifungal surveillance program (2010-2012). *J Antibiот (Tokyo)* 2015; 68: 556-61
  - 33) 乾佐知子, 中村竜也, 田辺公一, 大野秀明, 小池千裕, 奥田和之, 他: FKS2 遺伝子内変異による Micafungin 低感受性 *Candida glabrata* が検出された 1 例. *感染症誌* 2011; 85: 49-53
  - 34) 藤田信一: 各種抗真菌薬の血液由来 *Candida* 属に対する抗真菌活性. *日化療会誌* 2007; 55: 257-67
  - 35) 渡邊瑠海, 内田 梓, 高橋美紀, 四方田幸恵, 奈良誠人, 荻原貴之, 他: 群馬大学医学部附属病院における酵母真菌の分離状況と薬剤感受性の分析. *日化療会誌* 2013; 61: 5-9
  - 36) 小林寅喆, 鈴木真言, 雑賀 威, 池田文昭, 堀 康宏, 松本 哲, 他: 臨床分離 *Candida* 属および *Aspergillus* 属真菌の micafungin 感受性—第 2 報—. *日化療会誌* 2008; 56: 344-52

## Survey of susceptibility of *Candida* and *Aspergillus* species to caspofungin in Japan

Hiromi Amano<sup>1)</sup>, Toshinori Kurokawa<sup>2)</sup>, Tomohiro Miyasaka<sup>2)</sup>,  
Takayuki Kondo<sup>2)</sup>, Akira Kawai<sup>2)</sup> and Mitsuyoshi Hara<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Pharmacovigilance Area, MSD K.K., KITANOMARU SQUARE, 1-13-12 Kudan-kita, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan

<sup>2)</sup> Medical Affairs, MSD K.K.

A post-marketing survey was performed to examine changes in the susceptibility of *Candida* (510 strains) and *Aspergillus* (300 strains) species to caspofungin (CPFPG) over time. All the species were isolated from specimens obtained from patients with suspected fungal infections who had been treated at Japanese medical facilities between 2012 and 2014. The minimum inhibitory concentrations (MICs) for the *Candida* spp. and the *Aspergillus* spp. were determined using broth microdilution methods according to the standards of the Clinical and Laboratory Standards Institute (M27-A3 and M38-A2, respectively). The CLSI M27-S3 criteria for interpreting susceptibility were used in this study.

The MIC<sub>90</sub> value of CPFPG against *Candida albicans* strains isolated in 2012, 2013 and 2014 were 0.25, 0.25 and 0.5  $\mu\text{g/mL}$ , respectively, while the geometric means of CPFPG were 0.14, 0.14 and 0.21  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. The MIC<sub>90</sub> and geometric means for *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii* and *Candida krusei* as well as those for *Aspergillus* species including *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus terreus* were within the range of double the value for the period. Moreover, no unsusceptible strain with a CPFPG MIC of over 2  $\mu\text{g/mL}$ , which is the breakpoint for *Candida* spp., were observed. These results indicated that the susceptibility of *Candida* spp. and *Aspergillus* spp. to CPFPG did not decrease the period of 2012 to 2014.