

【市販後調査】

臨床分離 *Candida* 属および *Aspergillus* 属真菌の micafungin 感受性

—第2報—

小林 寅喆¹⁾・鈴木 真言¹⁾・雑賀 威¹⁾・池田 文昭²⁾・堀 康宏²⁾
 松本 哲³⁾・川村 郁夫⁴⁾・吉安 貴史⁴⁾・堀田 久範⁴⁾

¹⁾ 三菱化学メディエンス株式会社化学療法研究室*

²⁾ アステラス製薬株式会社プロダクトマーケティング部

³⁾ 同 薬理研究所

⁴⁾ 同 育薬情報部

(平成19年12月7日受付・平成20年3月4日受理)

市販後調査の一環として、2005年1月から2006年12月の期間に全国の医療機関において真菌感染症が疑われた患者より分離した *Candida* 属6種410株および *Aspergillus* 属4種280株、合計690株の micafungin (MCFG) およびその他抗真菌薬7薬剤 (amphotericin B, fluconazole, itraconazole, micafungin, flucytosine, caspofungin, voriconazole) に対する感受性を測定し、過去の成績と比較した。 *Candida* 属に対する MIC 測定は Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M27-A、 *Aspergillus* 属に対しては CLSI M38-P に準拠した微量液体希釈法で実施し、 *Candida* 属についてはスコア0に加えて、キャンディン系抗真菌薬の *Candida* 属に対する判定基準として CLSI で標準化が進められているスコア2での MIC も参考値として測定した。その結果、 fluconazole 耐性を含む *Candida albicans* 130株、 *Candida tropicalis*、 *Candida glabrata*、 *Candida parapsilosis*、 *Candida krusei* および *Candida guilliermondii* 各50株に対する MCFG の MIC₉₀ 値はおのおの 0.015 μg/mL、 0.03 μg/mL、 0.015 μg/mL、 2 μg/mL、 0.25 μg/mL および 4 μg/mL であった。 *Aspergillus fumigatus* 100株に対する MCFG の MIC₉₀ 値は 0.015 μg/mL、 その他の *Aspergillus* 属180株に対する MCFG の MIC₉₀ 値は 0.008 μg/mL~0.03 μg/mL であった。今回得られた *Candida* 属および *Aspergillus* 属に対する MIC 値は2001年~2002年、2003年~2004年に収集した菌株の感受性結果と比較して変動は認められなかった。なお、スコア2での MIC 値はスコア0での MIC 値に比較して低い傾向が認められ、特に *C. guilliermondii* に対する MIC で著しい乖離が認められた。以上、MCFG は検討した抗真菌薬のなかで最も優れた抗真菌活性を示し、また、2001年から2年ごとに実施してきた以前の結果と比較して MCFG に対する高い感受性は保持されていた。

Key words: *Candida*, *Aspergillus*, micafungin, antifungal activity

近年臓器移植など高度先進医療の進展に伴い *Candida* 属や *Aspergillus* 属を原因とする深在性真菌症の増加が認められる。しかしながら、深在性真菌症の診断は容易ではなく、また、真菌症の患者の多くは何らかの基礎疾患を有しているためいったん発症すれば致死率も高く、医療上重要な課題となっている^{1~4)}。真菌細胞は、動物細胞と同様真核細胞であるため、真菌細胞の増殖を選択的に阻害し、かつ優れた安全性を有する薬剤を開発するのは容易ではない。現在本邦で使用可能な抗真菌薬は9薬剤しかなく、深在性真菌症の治療には患者の病態に応じてこれらの薬剤の体内動態、安全性、抗真菌スペクトルなどの特性を考慮して適正に選択・使用することが求められている⁴⁾。

Micafungin (以下 MCFG) は本邦で初めて承認されたキャ

ンディン系抗真菌薬である。MCFG は広い抗真菌スペクトルを有し、アゾール系抗真菌薬耐性株に対しても優れた活性を示し、組織移行性も良好であり、臨床において優れた効果が報告されている^{5~8)}。MCFG は真菌細胞壁の構成成分である 1,3-β-D-glucan を特異的に阻害し、ヒトではこの生合成経路は存在しないため、安全性の面からも理想的な作用機序を有する新規抗真菌薬と考えられる^{9,10)}。本邦では2002年10月に *Aspergillus* 属および *Candida* 属による深在性真菌症に対する治療薬として承認され、2006年4月には国内初の小児適応、2007年1月には造血幹細胞移植患者での真菌症予防適応がおのおの追加承認された。

過去にわれわれは臨床材料から分離された *Candida* 属および *Aspergillus* 属の MCFG および各種抗真菌薬に対する感受

*東京都板橋区志村 3-30-1

性測定法およびその抗真菌活性についての評価成績を報告した^{5,6)}。今回、その後の追跡調査および市販後調査の一環として、2005年以降に本邦で臨床材料より分離された *Candida* 属および *Aspergillus* 属の多数株について MCFG に対する感受性を測定し、過去の評価成績と比較し感受性推移を検討した。さらに、*Candida* 属については、従来のスコア 0 判定に加えて、キャンディン系抗真菌薬の *Candida* 属に対する判定基準として標準化が進められている Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 推奨のスコア 2 での評価も併せて検討した。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

2005年1月から2006年12月の期間に関東を中心とした全国多数の医療機関において、真菌感染症が疑われた患者の臨床材料より分離同定した *Candida* 属 6 種 410 株および *Aspergillus* 属 4 種 280 株、合計 690 株を用いた。*Candida albicans* は 2005 年と 2006 年分離株に区分して検討した。

各菌株および検体材料の内訳を Table 1 に示した。*Candida* 属各菌株の同定は CHROMagar *Candida* (日本ベクトン・ディッキンソン) および VITEK YBC カード (日本ビオメリュー) を用い、*Aspergillus* 属各菌株については、サブローデキストロース寒天培地 (日本ベクトン・ディッキンソン) 上に発育した巨大集落およびスライドカルチャーによる分生子などの鏡検像による形態学的性状から同定を行った。Fluconazole (FLCZ) 耐性 *C. albicans* のスクリーニングは、酵母様真菌薬剤感受性検査キット「酵母様真菌 DP '栄研」(栄研化学) を用い FLCZ の MIC が 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の株を FLCZ 耐性株として試験に供した。

なお、これらの試験菌株については日本臨床微生物学会「疫学研究に関する倫理指針」¹¹⁾ を遵守し、患者プライバシーには一切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

MCFG (アステラス製薬), amphotericin B (AMPH-B: ブリストル製薬), FLCZ (ファイザー), itraconazole (ITCZ: ヤンセンファーマ), miconazole (MCZ: 持田製薬), flucytosine (5-FC: 和光純薬), caspofungin (CAS: Merck), voriconazole (VRCZ: ファイザー) の計 8 薬剤を用いた。

3. MIC 測定

Candida 属および *Aspergillus* 属に対する各種抗真菌薬の MIC は CLSI の標準法 M27-A¹²⁾ および M38-P¹³⁾ に準じた微量液体希釈法にて測定した。培養および各抗真菌薬の判定条件は既報³⁾ のとおりである。なお、キャンディン系抗真菌薬である MCFG および CAS の判定は、国際的に進められているキャンディン系抗真菌薬の MIC 判定基準の標準化¹⁴⁻¹⁷⁾ を勧告し、従来のスコア 0 (目視で発

育なし) に加えて CLSI が推奨しているスコア 2 (明らかな発育阻止, 対照の 50% 程度) でも実施し、両者の成績を比較した。

4. 精度管理

精度管理株は CLSI M27-A および M38-P に準じて *Candida parapsilosis* ATCC22019 および *Candida krusei* ATCC6258 の 2 菌株を用い、測定ごとに試験菌株とまったく同じ条件で測定し、各薬剤の MIC 値がそれぞれ CLSI M27-A および M38-P の許容範囲であることを確認した^{12,13)}。

II. 結 果

Candida 属に対する各種抗真菌薬の MIC を Table 2 に示した。

スクリーニングによって FLCZ 感受性と分類された 2005 年および 2006 年分離 *C. albicans* 各 50 株に対し、スコア 0 で判定した場合の MCFG の MIC₉₀ は 0.015 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。また、0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で全株の発育を阻止した。スコア 2 で判定した場合 2006 年分離株の MIC₉₀ はスコア 0 での判定と同値であったが、2005 年分離株において MIC₉₀ は 1 管低くなり 0.008 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。2005 年および 2006 年分離株の両者に対し、VRCZ の MIC₉₀ は 0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$, MIC range は $\leq 0.008 \sim 0.06 \mu\text{g}/\text{mL}$ と MCFG に次いで優れた抗真菌活性を示した。その他、比較対照薬の MIC₉₀ は ITCZ および MCZ の 0.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ から AMPH-B および FLCZ の 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に分布した。MCFG と同系統の CAS はスコア 0 で判定した場合、MIC₉₀ が 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で、MIC range は 0.12 $\sim 0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった。スコア 2 で判定した場合の CAS の MIC₉₀ は 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, MIC range は 0.06 $\sim 0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

FLCZ 耐性 *C. albicans* 30 株に対して、MCFG はスコア 0 およびスコア 2 のいずれの判定においても 0.015 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で全菌株の発育を阻止し、FLCZ 感受性株に対する値とほぼ同等であった。しかし、ITCZ, MCZ および VRCZ の MIC 値は耐性側にシフトし、それぞれの MIC₉₀ は $> 16 \mu\text{g}/\text{mL}$, 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および $> 16 \mu\text{g}/\text{mL}$ と交差耐性が認められた。AMPH-B, 5-FC および CAS (スコア 0) の MIC₉₀ は 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と FLCZ 感受性株に対する値とほとんど差はなかった。CAS の MIC をスコア 2 で判定した場合も MIC₉₀ は 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と FLCZ 感受性株と同値であった。

Candida tropicalis に対する MCFG の MIC₉₀ (スコア 0) は 0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で、VRCZ の MIC₉₀, 0.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に比べ 1/4 低い値であった。スコア 2 で判定した場合 MCFG の MIC₉₀ は 0.015 $\mu\text{g}/\text{mL}$, CAS はスコア 0 および 2 の両者とも 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

Candida glabrata に対して MCFG はスコア 0 および 2 のいずれの判定においても 0.015 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で全株の発育を阻止した。本菌株に対しては 5-FC も優れた抗真菌活性を示し、全株に対する MIC は $\leq 0.12 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

Table 1. Test strains

Organism (No. of isolates)	Specimen	No. of isolates	
<i>Candida albicans</i> fluconazole-susceptible (100)	Blood	12	
	IVH catheter	4	
	Sputum	73	
	Other respiratory	10	
	Gastrointestinal	1	
<i>Candida albicans</i> fluconazole-resistant (30)	IVH catheter	1	
	Sputum	26	
	Other respiratory	3	
<i>Candida tropicalis</i> (50)	Blood	24	
	IVH catheter	3	
	Sputum	23	
<i>Candida glabrata</i> (50)	Blood	11	
	IVH catheter	5	
	Sputum	27	
	Other respiratory	6	
	Gastrointestinal	1	
<i>Candida parapsilosis</i> (50)	Blood	27	
	IVH catheter	5	
	Sputum	18	
<i>Candida krusei</i> (50)	Blood	2	
	Sputum	43	
	Other respiratory	5	
<i>Candida guilliermondii</i> (50)	Blood	1	
	Sputum	16	
	Other respiratory	1	
	Dermatological	26	
	Otorrhea	4	
	Vaginal discharge	1	
	Gastrointestinal	1	
Other <i>Candida</i> species (30)	Blood	3	
	Sputum	17	
	Other respiratory	3	
	Dermatological	6	
	Vaginal discharge	1	
<i>Aspergillus fumigatus</i> (100)	IVH catheter	1	
	Sputum	75	
	Other respiratory	9	
	Dermatological	4	
	Otorrhea	8	
	Pus	1	
	Gastrointestinal	1	
	Urine	1	
	<i>Aspergillus niger</i> (50)	Blood	1
		IVH catheter	2
Sputum		14	
Otorrhea		31	
Urine		1	
<i>Aspergillus flavus</i> (50)	Vaginal discharge	1	
	Sputum	8	
	Other respiratory	1	
	Otorrhea	36	
<i>Aspergillus terreus</i> (50)	Dermatological	5	
	Sputum	10	
	Otorrhea	40	
Other <i>Aspergillus</i> species (30)	Sputum	13	
	Dermatological	5	
	Otorrhea	11	
	Gastrointestinal	1	

Other respiratory: pharynx, tonsilla and bronchoalveolar lavage fluid

Gastrointestinal: gastric mucosa, tongue coating and stomach fluid

Dermatological: skin, nail, desquamation and eschar

Table 2. Antifungal activity of micafungin and other antifungal drugs against clinical isolates of *Candida* species

Organism	(No. of isolates)	Drug	MIC (μ g/mL)					
			Range		50%	90%		
<i>Candida albicans</i> fluconazole-susceptible isolated in 2005	(50)	Micafungin (score 0)	0.004	-	0.015	0.008	0.015	
			(score 2)	\leq 0.002	-	0.015	0.004	0.008
		Amphotericin B	0.25	-	2	0.5	1	
			Fluconazole	\leq 0.12	-	1	0.25	0.5
		Itraconazole	\leq 0.03	-	0.12	0.06	0.12	
		Miconazole	\leq 0.06	-	0.25	0.12	0.12	
		Flucytosine	\leq 0.12	-	0.25	\leq 0.12	0.25	
		Caspofungin (score 0)	0.12	-	0.5	0.25	0.5	
			(score 2)	0.06	-	0.5	0.12	0.25
		Voriconazole	\leq 0.008	-	0.06	0.015	0.03	
<i>Candida albicans</i> fluconazole-susceptible isolated in 2006	(50)	Micafungin (score 0)	0.004	-	0.03	0.008	0.015	
			(score 2)	\leq 0.002	-	0.03	0.008	0.015
		Amphotericin B	0.25	-	1	0.5	0.5	
			Fluconazole	\leq 0.12	-	4	0.5	1
		Itraconazole	\leq 0.03	-	0.5	0.06	0.25	
		Miconazole	\leq 0.06	-	0.5	0.12	0.25	
		Flucytosine	\leq 0.12	-	0.25	\leq 0.12	0.25	
		Caspofungin (score 0)	0.12	-	0.5	0.25	0.5	
			(score 2)	0.06	-	0.5	0.25	0.25
		Voriconazole	\leq 0.008	-	0.06	0.015	0.03	
<i>Candida albicans</i> fluconazole-resistant	(30)	Micafungin (score 0)	0.004	-	0.015	0.015	0.015	
			(score 2)	\leq 0.002	-	0.015	0.008	0.015
		Amphotericin B	0.25	-	1	0.5	1	
			Fluconazole		> 64		> 64	> 64
		Itraconazole		> 16		> 16	> 16	
		Miconazole	0.25	-	8	1	2	
		Flucytosine	\leq 0.12	-	0.5	\leq 0.12	0.25	
		Caspofungin (score 0)	0.25	-	0.5	0.5	0.5	
			(score 2)	0.12	-	0.5	0.25	0.25
		Voriconazole	16	-	> 16	> 16	> 16	
<i>Candida tropicalis</i>	(50)	Micafungin (score 0)	0.004	-	0.03	0.015	0.03	
			(score 2)	\leq 0.002	-	0.03	0.015	0.015
		Amphotericin B	0.25	-	1	0.5	1	
			Fluconazole	0.25	-	4	0.5	2
		Itraconazole	0.06	-	0.5	0.12	0.25	
		Miconazole	0.12	-	1	0.25	0.5	
		Flucytosine	\leq 0.12	-	0.5	\leq 0.12	\leq 0.12	
		Caspofungin (score 0)	0.25	-	0.5	0.5	0.5	
			(score 2)	0.06	-	0.5	0.25	0.5
		Voriconazole	0.03	-	0.25	0.06	0.12	
<i>Candida glabrata</i>	(50)	Micafungin (score 0)	0.004	-	0.015	0.015	0.015	
			(score 2)	\leq 0.002	-	0.015	0.008	0.015
		Amphotericin B	0.12	-	1	0.5	0.5	
			Fluconazole	2	-	8	4	4
		Itraconazole	0.12	-	1	0.5	0.5	
		Miconazole	\leq 0.06	-	0.5	0.12	0.12	
		Flucytosine		\leq 0.12		\leq 0.12	\leq 0.12	
		Caspofungin (score 0)	0.5	-	2	1	1	
			(score 2)	0.25	-	1	0.5	0.5
		Voriconazole	0.06	-	0.5	0.12	0.25	

(Continued)

CASはスコア0で判定した場合のMIC₉₀およびMIC rangeは1 μ g/mLおよび0.5~2 μ g/mLで、スコア2で判定した場合はおのおの1管低値となった。

*C. parapsilosis*については上述の菌種とは傾向が異なり、スコア0で判定した場合のMCFGのMIC rangeは0.5~4 μ g/mL、MIC₉₀は2 μ g/mLといずれも高い値を

示した。本菌種に対して最も優れた抗真菌活性を示した薬剤はVRCZで、そのMIC₉₀は0.03 μ g/mL、次いでITCZの0.12 μ g/mL、5-FCの0.25 μ g/mLであった。CASのMIC range上限はスコア0で判定した場合、>64 μ g/mLであった。一方、スコア2で判定した場合、MCFGおよびCASのMICは低下し、MIC₉₀および

Table 2. (Continued)

Organism	(No. of isolates)	Drug	MIC (μ g/mL)					
			Range			50%	90%	
<i>Candida parapsilosis</i>	(50)	Micafungin	(score 0)	0.5	–	4	1	2
			(score 2)	0.06	–	2	1	2
		Amphotericin B		0.25	–	2	0.5	1
			Fluconazole	0.25	–	2	0.5	1
		Itraconazole	\leq 0.03	–	0.25	0.12	0.12	
		Miconazole	0.12	–	1	0.25	1	
		Flucytosine	\leq 0.12	–	0.5	\leq 0.12	0.25	
		Caspofungin	(score 0)	1	–	> 64	2	32
			(score 2)	0.25	–	2	1	2
		Voriconazole	\leq 0.008	–	0.03	0.015	0.03	
<i>Candida krusei</i>	(50)	Micafungin	(score 0)	0.12	–	0.25	0.25	0.25
			(score 2)	0.03	–	0.25	0.12	0.12
		Amphotericin B		0.5	–	2	1	2
			Fluconazole	4	–	64	16	32
		Itraconazole	0.25	–	1	0.5	0.5	
		Miconazole	0.5	–	4	1	2	
		Flucytosine	2	–	16	4	8	
		Caspofungin	(score 0)	1	–	2	1	2
			(score 2)	0.5	–	1	1	1
		Voriconazole	0.06	–	0.5	0.25	0.25	
<i>Candida guilliermondii</i>	(50)	Micafungin	(score 0)	0.25	–	8	1	4
			(score 2)	0.12	–	2	0.25	0.5
		Amphotericin B		0.12	–	0.5	0.25	0.5
			Fluconazole	1	–	8	2	4
		Itraconazole	0.12	–	1	0.5	1	
		Miconazole	0.5	–	2	1	2	
		Flucytosine	\leq 0.12	–	0.5	\leq 0.12	0.25	
		Caspofungin	(score 0)	2	–	> 64	64	> 64
			(score 2)	0.25	–	4	1	2
		Voriconazole	0.03	–	0.25	0.12	0.12	
Other <i>Candida</i> species	(30)	Micafungin	(score 0)	0.008	–	1	0.06	0.5
			(score 2)	\leq 0.002	–	0.5	0.06	0.25
		Amphotericin B		0.12	–	2	0.5	0.5
			Fluconazole	\leq 0.12	–	8	1	8
		Itraconazole	0.06	–	1	0.25	0.5	
		Miconazole	\leq 0.06	–	4	0.25	2	
		Flucytosine	\leq 0.12	–	0.5	\leq 0.12	0.5	
		Caspofungin	(score 0)	0.12	–	64	1	64
			(score 2)	0.12	–	2	1	1
		Voriconazole	\leq 0.008	–	0.25	0.03	0.25	

MIC range の上限値はともに $2 \mu\text{g/mL}$ であった。

C. krusei に対しては MCFG および VRCZ の抗真菌活性が優れ、 MIC_{90} は両薬剤ともに $0.25 \mu\text{g/mL}$ で、MCFG はすべての株を $0.25 \mu\text{g/mL}$ 以下で阻止した。本菌種に対する FLCZ の MIC 値は高く、いずれの株に対しても $4 \mu\text{g/mL}$ 以上であった。スコア 2 で判定した場合、MCFG の MIC_{90} は $0.25 \mu\text{g/mL}$ から $0.12 \mu\text{g/mL}$ へ、CAS は $2 \mu\text{g/mL}$ から $1 \mu\text{g/mL}$ へとのおおの 1 管低下した。

Candida guilliermondii に対しては 5-FC および VRCZ の抗真菌活性が優れ、両者の MIC_{90} は $0.25 \mu\text{g/mL}$ および $0.12 \mu\text{g/mL}$ であった。本菌種に対して MCFG および CAS の MIC 値はスコア 0 で判定した場合、 MIC_{90} は $4 \mu\text{g/mL}$ および $>64 \mu\text{g/mL}$ と高値であったが、スコア 2 では $0.5 \mu\text{g/mL}$ および $2 \mu\text{g/mL}$ と大幅に低下した。

分類されなかったその他の 6 菌種以外の *Candida* 属に対しては VRCZ が最も優れた抗真菌活性を示し、 MIC_{90} は $0.25 \mu\text{g/mL}$ であった。スコア 0 で判定した場合の本菌群に対する MCFG の MIC range は広く $0.008 \sim 1 \mu\text{g/mL}$ であったが、スコア 2 では $\leq 0.002 \sim 0.5 \mu\text{g/mL}$ と低値を示した。CAS も同様にスコア 0 で判定した場合の MIC range は $0.12 \sim 64 \mu\text{g/mL}$ であったが、スコア 2 では $0.12 \sim 2 \mu\text{g/mL}$ と低下した。

Aspergillus 属に対する成績を Table 3 に示した。*Aspergillus fumigatus* 100 株に対する MCFG の MIC_{90} は $0.015 \mu\text{g/mL}$ であった。対照薬のうち ITCZ、CAS および VRCZ はほぼ同等の活性を示し、その MIC_{90} は $0.25 \mu\text{g/mL}$ で、MCFG の MIC_{90} と比較し 16 倍高い値であった。FLCZ および 5-FC の活性は劣り、 MIC_{90} は $64 \mu\text{g/mL}$

Table 3. Antifungal activity of micafungin and other antifungal drugs against clinical isolates of *Aspergillus* species

Organism	(No. of isolates)	Drug	MIC (μ g/mL)				
			Range		50%	90%	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	(100)	Micafungin	0.004	–	0.03	0.008	0.015
		Amphotericin B	0.25	–	2	0.5	1
		Fluconazole	16	–	> 64	> 64	> 64
		Itraconazole	0.06	–	0.25	0.12	0.25
		Miconazole	0.25	–	2	2	2
		Flucytosine	4	–	> 64	32	64
		Caspofungin	0.12	–	0.5	0.25	0.25
		Voriconazole	0.03	–	0.25	0.12	0.25
<i>Aspergillus niger</i>	(50)	Micafungin	\leq 0.002	–	0.015	0.004	0.008
		Amphotericin B	0.25	–	0.5	0.5	0.5
		Fluconazole	64	–	> 64	> 64	> 64
		Itraconazole	0.12	–	0.5	0.25	0.25
		Miconazole	0.25	–	2	1	1
		Flucytosine	1	–	4	2	2
		Caspofungin	0.12	–	0.5	0.25	0.25
		Voriconazole	0.06	–	0.25	0.12	0.25
<i>Aspergillus flavus</i>	(50)	Micafungin	0.008	–	0.03	0.015	0.015
		Amphotericin B	0.5	–	2	1	2
		Fluconazole	8	–	> 64	64	> 64
		Itraconazole	0.06	–	0.5	0.25	0.25
		Miconazole	0.25	–	2	1	2
		Flucytosine	2	–	32	8	16
		Caspofungin	0.12	–	0.5	0.25	0.25
		Voriconazole	0.12	–	0.5	0.25	0.25
<i>Aspergillus terreus</i>	(50)	Micafungin	\leq 0.002	–	0.03	0.008	0.015
		Amphotericin B	0.5	–	4	1	2
		Fluconazole	8	–	> 64	> 64	> 64
		Itraconazole	0.06	–	0.25	0.12	0.25
		Miconazole	0.25	–	2	1	2
		Flucytosine	1	–	> 64	8	64
		Caspofungin	0.25	–	2	0.5	1
		Voriconazole	0.12	–	0.5	0.25	0.25
Other <i>Aspergillus</i> species	(30)	Micafungin	0.004	–	0.03	0.015	0.03
		Amphotericin B	0.5	–	4	1	2
		Fluconazole	2	–	> 64	> 64	> 64
		Itraconazole	0.06	–	1	0.25	0.5
		Miconazole	0.25	–	8	2	4
		Flucytosine	1	–	> 64	8	> 64
		Caspofungin	0.12	–	2	0.25	1
		Voriconazole	0.06	–	0.5	0.25	0.5

以上であった。*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus*, その他の *Aspergillus* 属に対する結果もほぼ同様の傾向で, MCFG の MIC₉₀ は 0.008~0.03 μ g/mL で, *Aspergillus* 全株に対して 0.03 μ g/mL で発育を阻止した。*Aspergillus* 属の全株に対する FLCZ の MIC₉₀ は >64 μ g/mL で, 5-FC の MIC₉₀ も 2~>64 μ g/mL と高かった。

III. 考 察

本研究においてわれわれは, 2005 年以降に本邦で臨床分離された *Candida* 属 410 株および *Aspergillus* 属 280 株の MCFG および各種抗真菌薬に対する感受性を検討した。その結果, MCFG は *Candida* 属に対して, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* を除き, 検討した薬剤のなかでも低い MIC 値を示し, FLCZ 耐性 *C. albicans* に対しても

FLCZ 感性株と同様の感受性を示した。さらに, *Aspergillus* 属の菌種に対しても MCFG はきわめて優れた活性を示した。今回の研究結果は, われわれが実施した 2001~2002 年⁵⁾ および 2003~2004 年の成績⁶⁾ および池田ら⁷⁾ が報告した 1990~2001 年の分離株に対する成績とほぼ同様の結果であった。また, 今回得られた各種 *Candida* 属の MCFG に対する感受性は, Pfaller ら¹⁷⁾ および Ostrosky-Zeichner ら¹⁸⁾ が報告した真菌症患者から分離された *Candida* 属株の感受性調査の成績ともよく一致していた。さらに 2006 年から 2007 年に報告された国内外の感受性成績^{19,20)} においてもこの傾向は変わらず, これらの知見を総合的に考えると, 現在のところ *Candida* 属および *Aspergillus* 属臨床分離株に対する MCFG の経年的な MIC 上昇は認められておらず, MCFG に対する高い感受

性は保持されているものと判断された。

一方、キャンディン系抗真菌薬に対する感受性が低下した *Candida* 属の臨床分離株の報告が散見される²¹⁻²⁵。この感受性低下の機序には分子生物学的な手法により、キャンディン系抗真菌薬の標的酵素である 1,3- β -D-glucan synthase の触媒サブユニットである Fks1p のアミノ酸変異が関係するものと考えられている²¹⁻²⁵。現時点ではキャンディン系抗真菌薬に対する低感受性株の臨床分離報告はごく限られたものであり、今回の調査でも MCFG および CAS 低感受性株は認められなかった。しかしながら、今後も臨床分離真菌のキャンディン系抗真菌薬に対する感受性を注意深く監視する必要があると考えられる。

本研究においては、FLCZ 耐性 *C. albicans* の各種抗真菌薬に対する感受性を FLCZ 感性 *C. albicans* とともに検討した。その結果、FLCZ 耐性 *C. albicans* に対しては、FLCZ だけでなく ITCZ、VRCZ も活性を示さず、MCZ も FLCZ 感性 *C. albicans* に比較すると 8 倍高い MIC を示し、アゾール系薬剤間に交差耐性が認められた。一方、MCFG は両菌種に対してほぼ同等の抗真菌活性を示し、その活性は検討した薬剤のなかで最も強力であり、MCFG はアゾール系薬剤とは交差耐性を示さなかった。この結果は、池田らの報告⁷やわれわれの 2003~2004 年の成績⁶とよく一致するものであり、MCFG の臨床的有用性を示すものである。一方、*Aspergillus* 属に対しても MCFG はきわめて優れた活性を有し、いずれの菌種に対しても 0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下の低濃度で発育を阻止した。アゾール系抗真菌薬のうち ITCZ および VRCZ は *Aspergillus* 属にも抗真菌活性を有することが知られているが、今回の成績においてもこれら 2 薬剤の MIC 値は比較的 low、いずれの菌種に対する MIC₉₀ も 0.25~0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。しかし、MCFG の MIC₉₀ と比べると 16~32 倍高く、既報⁶と同様の成績であった。

CLSI は CAS を用いてキャンディン系抗真菌薬の *Candida* 属に対する微量液体希釈法の標準化に取り組んできた^{14,15}。その結果、基本培地としては RPMI-1640 を用い、MIC の判定基準としては、従来の 48 時間培養後のスコア 0 (目視で発育なし) に替えて、24 時間培養後のスコア 2 (明らかな発育阻止、対照の 50% 程度) を採用することで、施設内および施設間でのばらつきが少なくなり、かつ、大部分 (99.9%) の臨床分離株と Fks1p に変異を起こした CAS 低感受性株を確実に区別することができたことと報告されている^{14,15}。今回われわれもスコア 0 による判定に加えてスコア 2 による判定でも評価したところ、CAS の *C. guilliermondii* に対する MIC₉₀ は >64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ から 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ へ、*C. parapsilosis* に対する MIC₉₀ は 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ から 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ へと低値化し、検討したすべての菌株で 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下の MIC となった。但し、スコア 2 による MIC と臨床効果の相関性については現時点で

は明確になっておらず、今後、評価症例数を追加し PK/PD データと組み合わせるなど、さらなる検討が必要とされている²⁶。

MCFG についても CLSI 推奨による方法での検討が行われており、FLCZ 耐性 *Candida* 属菌種 315 株に対して 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下の MIC で¹⁶、また、種々の *Candida* 属菌種を含む 2,656 株に対して 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下の MIC で¹⁷、すべての菌株の発育を阻止したと報告されている。今回われわれもスコア 0 による判定に加えてスコア 2 による判定でも評価したところ、Table 2 に示すように、ほとんどの株でスコア 0 に比べてスコア 2 での MCFG の MIC 値は低くなり、特に *C. guilliermondii* に対する MIC₉₀ は 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ から 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ へと低値化し、今回検討したすべての菌株において CAS 同様 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下の MIC となった。今後、MCFG についてもスコア 2 による MIC と臨床での治療効果との相関性の検討を行い、臨床的ブレイクポイントの設定も含めて、判定基準のさらなる検証が必要であると考えられる。

2007 年に発行された「深在性真菌症の診断・治療ガイドライン 2007」⁴において抗真菌薬療法の問題点として、「臨床的に使用可能な抗真菌薬 (経口や注射で全身投与できるもの) は 9 薬剤 (2006 年 12 月現在) にのぼるが、病態によっては必ずしも満足すべき治療成績が得られていないことである。しかし、(中略) かに適正に抗真菌薬を選択し、有効に使用するかが深在性真菌症の治療に求められる」と総括されている。抗真菌薬を適正に投与するには、臓器移行性を含めた体内動態、安全性、各薬剤の抗真菌活性や抗真菌スペクトルの情報が不可欠である。抗真菌薬に対する感受性調査の報告は近年増加してきたが、抗真菌薬に比べると少ないのが現状である。深在性真菌症の治療において個々の患者の病態に応じた適正で有効な治療を達成するために、今後も感受性サーベイランスを継続的に実施し、各薬剤の抗真菌スペクトル特性を明らかにすることが重要であると考えられる。

文 献

- 1) McNeil M M, Nash S L, Hajjeh R A, Phelan M A, Conn L A, Plikaytis B D, et al: Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980-1997. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 641-7
- 2) Asciglu S, Rex J H, de Pauw B, Bennett J E, Bille J, Crokaert F, et al: Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 7-14
- 3) Kume H, Yamazaki T, Abe M, Tanuma H, Okudaira M, Okayasu I: Increase in aspergillosis and severe mycotic infection in patients with leukemia and MDS: comparison of the data from the annual of the pathological autopsy cases in Japan in 1989, 1993 and 1997. *Pathol Int* 2003; 53: 744-50
- 4) 深在性真菌症のガイドライン作成委員会: 深在性真

- 菌症の診断・治療 2007. 協和企画, 東京, 2007
- 5) 池田文昭, 中井 徹, 若杉昌宏, 堀田久範, 樋口貞夫, 小林寅喆: 新鮮臨床分離 *Candida* 属, *Aspergillus* 属株の micafungin に対する感受性。日化療会誌 2003; 51: 485-9
 - 6) 小林寅喆, 若杉昌宏, 池田文昭, 長谷川美幸, 鈴木真言, 堀田久範, 他: 臨床分離 *Candida* 属および *Aspergillus* 属真菌の micafungin 感受性。日化療会誌 2006; 54: 308-14
 - 7) 池田文昭, 大友寿美, 中井 徹, 森下佳彦, 牧 克之, 俵 修一, 他: キャンディン系抗真菌薬 micafungin の *in vitro* 抗真菌活性。日化療会誌 2002; 50 (S-1): 8-19
 - 8) 池田文昭: キャンディン系抗真菌薬ミカファンギン。真菌誌 2005; 46: 217-22
 - 9) 山口英世, 西山彌生, 内田勝久, 波多野和男, 森下佳彦, 中井 徹, 他: Micafungin の *Candida albicans* および *Aspergillus fumigatus* に対する作用機序の生化学的および形態学的研究。日化療会誌 2002; 50 (S-1): 20-9
 - 10) 東 純一, 中原邦夫, 加賀山彰, 大熊利明, 河村章生, 向井知人: Micafungin の高用量での薬物動態試験。日化療会誌 2002; 50 (S-1): 155-84
 - 11) 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。日本臨床微生物学会誌 2002; 12: 141
 - 12) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: Approved standard M27-A. NCCLS, Wayne, Pennsylvania, 1997
 - 13) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi: Proposed standard M38-P. NCCLS, Wayne, Pennsylvania, 1998
 - 14) Pfaller M A, Messer S A, Boyken L, Rice C, Tendolkar S, Hollis R J, et al: Further standardization of broth microdilution methodology for *in vitro* susceptibility testing of caspofungin against *Candida* species by use of an international collection of more than 3,000 clinical isolates. J Clin Microbiol 2004; 42: 3117-9
 - 15) Odds F C, Motyl M, Andrade R, Bille J, Canton E, Cuenca-Estrella M, et al: Interlaboratory comparison of results of susceptibility testing with caspofungin against *Candida* and *Aspergillus* species. J Clin Microbiol 2004; 42: 3475-82
 - 16) Messer S A, Diekema D J, Boyken L, Tendolkar S, Hollis R J, Pfaller M A: Activities of micafungin against 315 invasive clinical isolates of fluconazole-resistant *Candida* spp. J Clin Microbiol 2006; 44: 324-6
 - 17) Pfaller M A, Boyken L, Hollis R J, Messer S A, Tendolkar S, Diekema D J: Global surveillance of *in vitro* activity of micafungin against *Candida*: a comparison with caspofungin by CLSI-recommended methods. J Clin Microbiol 2006; 44: 3533-8
 - 18) Ostrosky-Zeichner L, Rex J H, Pappas P G, Hamill R J, Larsen R A, Horowitz H W, et al: Antifungal susceptibility survey of 2,000 bloodstream *Candida* isolates in the United States. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 3149-54
 - 19) 小栗豊子, 三澤成毅, 中村文子, 近藤成美, 猪狩 淳, 森 健: 血液・血管カテーテルからの真菌分離状況と抗真菌薬に対する感受性について。感染症誌 2006; 80: 656-64
 - 20) Wiederhold N P, Lewis J S 2nd: The echinocandin micafungin: a review of the pharmacology, spectrum of activity, clinical efficacy and safety. Expert Opin Pharmacother 2007; 8: 1155-66
 - 21) Baixench M-T, Aoun N, Desnos-Ollivier M, Garcia-Hermoso D, Bretagne S, Ramires S, et al: Acquired resistance to echinocandins in *Candida albicans*: case report and review. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 1076-83
 - 22) Hakki M, Staab J F, Marr K A: Emergence of a *Candida krusei* isolate with reduced susceptibility to caspofungin during therapy. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 2522-4
 - 23) Krogh-Madsen M, Arendrup M C, Heslet L, Knudsen J D: Amphotericin B and caspofungin resistance in *Candida glabrata* isolates recovered from a critically ill patient. Clin Infect Dis 2006; 42: 938-44
 - 24) Moudgal V, Little T, Boikov D, Vazquez J A: Multi-echinocandin- and multiazole-resistant *Candida parapsilosis* isolates serially obtained during therapy for prosthetic valve endocarditis. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 767-9
 - 25) 石川崇彦, 高田 徹, 田村和夫: Micafungin に低感受性を示した *Candida glabrata* 真菌血症の 1 例。日本化学療法学会東日本支部総会 No.089. 2004
 - 26) Kartsonis N, Killar J, Mixon L, Hoe C M, Sable C, Bartizal K, et al: Caspofungin susceptibility testing of isolates from patients with esophageal candidiasis or invasive candidiasis: relationship of MIC to treatment outcome. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 3616-23

Antifungal activity of micafungin against clinical isolates of
Candida and *Aspergillus* species

Second biennial surveillance report

Intetsu Kobayashi¹⁾, Makoto Suzuki¹⁾, Takeshi Saika¹⁾,
Fumiaki Ikeda²⁾, Yasuhiro Hori²⁾, Satoru Matsumoto³⁾,
Ikuo Kawamura⁴⁾, Takashi Yoshiyasu⁴⁾ and Hisanori Horita⁴⁾

¹⁾ Chemotherapy Division, Mitsubishi Chemical Medience Corp., 3-30-1 Shimura, Itabashi-ku, Tokyo, Japan

²⁾ Product Marketing, Astellas Pharma Inc.

³⁾ Pharmacology Research Labs., Astellas Pharma Inc.

⁴⁾ Post Marketing Medical Research, Astellas Pharma Inc.

In a postmarketing surveillance study for comparison with previous results, we determined the susceptibility to micafungin (MCFG) and other antifungal drugs—amphotericin B, fluconazole, itraconazole, miconazole, flucytosine, caspofungin, and voriconazole—for 690 strains (410 of 6 *Candida* species and 280 of 4 *Aspergillus* species), isolated from patients with suspected fungal infection visiting medical facilities in Japan between January 2005 and December 2006. MIC levels against *Candida* and *Aspergillus* species were determined according to the broth microdilution, as specified by Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) documents M27-A and M38-P. For *Candida* species, MIC levels for score 2, currently being standardized by the CLSI as criteria for MIC determination of echinocandin antifungal drugs against *Candida* species, were determined for reference in addition to score 0. MIC₉₀ levels of MCFG against 130 *Candida albicans* isolates, including those fluconazole-resistant were 0.015 μg/mL, and against 50 isolates each of *Candida tropicalis* 0.03 μg/mL, *Candida glabrata* 0.015 μg/mL, *Candida parapsilosis* 2 μg/mL, *Candida krusei* 0.25 μg/mL, and *Candida guilliermondii* 4 μg/mL. MIC₉₀ levels of MCFG against 100 *Aspergillus fumigatus* isolates were 0.015 μg/mL and against another 180 *Aspergillus* isolates 0.008 to 0.03 μg/mL. MIC levels of MCFG against *Candida* and *Aspergillus* species determined in this study remained unchanged compared to those against isolates sampled in 2001–2002 and 2003–2004. MIC levels of MCFG for score 2 tended to be lower than those for score 0, with a markedly significant difference between scores observed in MIC against *C. guilliermondii*. These findings indicate that MCFG exerts the most potent antifungal activity of antifungal drugs studied and that the susceptibility of target fungi to MCFG remained high compared to previous biennial surveillance conducted from 2001.