

原 著

Trichophyton tonsurans 臨床分離株に対する各種抗真菌薬の *in vitro* 抗真菌活性

古賀裕康¹ 南條育子¹ 井上和美¹

植村浩一² 坪井良治³

¹日本農薬株式会社 総合研究所

²帝京大学医真菌研究センター

³東京医科大学皮膚科学講座

〔受付 2 月 13 日, 2006 年. 受理 6 月 7 日, 2006 年〕

要 旨

国内で流行している *Trichophyton tonsurans* 感染症起因菌の薬剤感受性を調べることを目的として、感染症患者より採取した臨床分離株 10 株を用いて各種抗真菌薬の *in vitro* 抗真菌活性を調べた。抗真菌薬としては、塩酸テルピナフィン、イトラコナゾール、硝酸ミコナゾール、ケトコナゾール、ラノコナゾールおよびルリコナゾールを使用した。MIC の測定は、寒天平板希釈法および微量液体希釈法の 2 種類の測定法を試みたが、本菌種は寒天培地上での発育が遅いため、測定には微量液体希釈法が好ましいと考えられた。微量液体希釈法で測定した塩酸テルピナフィン、イトラコナゾール、硝酸ミコナゾールおよびケトコナゾールの *T. tonsurans* に対する MIC₉₀ はそれぞれ 0.013, 0.1, 0.8 および 0.4 μg/ml となり、これら薬剤の中では塩酸テルピナフィンの活性が強かった。皮膚糸状菌に対して強い活性を示すことで知られるラノコナゾールおよびルリコナゾールの MIC₉₀ はそれぞれ 0.00078 および 0.00039 μg/ml となり、塩酸テルピナフィンを凌ぐ強い活性が認められた。

以上の結果より、*T. tonsurans* の薬剤感受性は、白癬の主要起因菌である *T. mentagrophytes* や *T. rubrum* と同レベルと推察され、本病原菌に対しては、ラノコナゾールおよびルリコナゾールが極めて強い抗真菌活性を示すことが明らかとなった。

Key words: *Trichophyton tonsurans*, 抗真菌薬 (antifungal drugs), *in vitro*, MIC

緒 言

Trichophyton tonsurans 感染症は、本邦において 2002 年頃より格闘技競技者を中心に多発しており¹⁻⁷⁾、その全国的な流行を危惧して、2003 年には日本医真菌学会疫学調査委員会より注意が喚起されている⁸⁾。

T. tonsurans は、欧米では頭部白癬の主要病原菌として知られている^{9, 10)}。病原菌の感染は、皮膚の接触に因ると考えられ、欧米諸国では子供の学校内感染やレスリング、柔道選手等の格闘競技を介した集団感染が報告されている¹¹⁻¹⁷⁾。国内で流行している *T. tonsurans* は、レスリングや柔道競技者が感染の中心であることから格闘技競技者を介して国内へ持ち込まれたとみられている。それは既に 1990 年代には国内に拡散していた可能性も示唆されている⁷⁾。感染症患者から分離された菌株は、分子系統学的には従来国内に存在した株とは異なると報告されており⁷⁾、このような移入菌の抗真菌薬に対する

感受性については未だ詳細な検討はなされていない。

今回我々は、*T. tonsurans* 感染症に対する適切な抗真菌薬を探索する目的で、臨床分離株に対する各種抗真菌薬の *in vitro* 抗真菌活性を調べたので報告する。

材料および方法

1. 使用菌株

柔道選手、レスリング選手あるいはケルスス禿瘡の患者より分離後、リボゾーム RNA 遺伝子の ITS1 領域の塩基配列に基づいて *Trichophyton (T.) tonsurans* と同定された臨床分離株 10 株 (Table 1) を使用した。菌株は、いずれも Sabouraud's dextrose agar (SDA) 平板培地を用いて、27°C で 2 ~ 4 週間の前培養を行った。SDA 平板培地における菌株の性状は、白色から黄色のピロード状あるいは絨毛状で、中央部は不規則に隆起あるいは脳回転状に隆起したものであった。

2. 試験薬剤

塩酸テルピナフィン (TBF; 純度 99.8%), イトラコナゾール (ITZ; 純度 97.2%), ラノコナゾール (LCZ;

別刷請求先: 古賀 裕康

〒586-0094 大阪府河内長野市小山田町 345
日本農薬株式会社 総合研究所

Table 1. Clinical isolates of *Trichophyton tonsurans* used in this study and their macroscopic characteristics

| Strain No. | Origin | Texture and color on Sabouraud's dextrose agar |
|------------|---------------|---|
| M-J-13 | | Velvety. Powdery on the edge. Flat with a raised and cerebriform center. White to pale-buff. (Reverse: yellow-brown) |
| M-J-46 | | Velvety. Powdery on the edge. Flat with a raised and cerebriform center. White to pale-buff. (Reverse: reddish-brown to brown). |
| M-J-48 | | Velvety. Powdery on the edge. Flat with a randomly raised center. White to pale-buff (Reverse: reddish-brown to brown). |
| F-J-36 | Judo wrestler | Velvety. Flat with a randomly raised center. White to pale-buff (Reverse: reddish-brown). |
| F-J-38 | | Velvety. Powdery on the edge. Flat with a randomly raised center. White to pale-buff (Reverse: reddish-brown to brown). |
| M-J2-30 | | Velvety. Powdery on the edge. Flat with a raised and cerebriform center. White (Reverse: yellow-brown to brown). |
| M-J2-32 | | Velvety. Powdery on the edge. Flat with a randomly raised center. White to pale-buff. (Reverse: yellow-brown to brown). |
| CN02020102 | | Velvety. Flat with a randomly raised center. White (Reverse: brown). |
| CN02080101 | Wrestler | Velvety. Flat with a randomly raised center. White to ochre (Reverse: brown). |
| CN01111901 | Kerion celsi | Suede-like. Flat with a randomly raised center. White to pale-buff (Reverse: yellow). |

純度99.4%) およびルリコナゾール (LLCZ; 純度99.7%) は、日本農薬株式会社で合成および精製された原末を使用した。硝酸ミコナゾール (MCZ; 純度100%) およびケトコナゾール (KCZ; 純度>99%) は Sigma-Aldrich 社製の試薬を使用した。各薬剤は dimethyl sulfoxide (DMSO) に溶解し、試験系における DMSO の最終添加濃度が寒天平板希釈法では 1.0% (v/v)、微量液体希釈法では 0.5% (v/v) となるように調整した。

3. 薬剤感受性試験法

薬剤感受性試験には寒天平板希釈法および微量液体希釈法を用いた。寒天平板希釈法は、マイクロプラントを使用して行った^{18, 19)}。微量液体希釈法は本学会標準化委員会提案の方法²⁰⁾に従い、終末点はマイクロプレートリーダーを用いた吸光測定により判定した。

(1) 接種菌液の調製

前培養菌株に 0.1% (w/v) Tween 80 含有滅菌生理食塩水を添加し、菌体表面を白金耳で軽くこすことで分生子を浮遊させた。この分生子浮遊液を 4 枚重ねの滅菌ガーゼでろ過後、ろ液中の分生子数を Thoma 型血球計算盤を用いて計測し、寒天平板希釈法では 1.0×10^6 conidia/mL、微量液体希釈法では 2.0×10^5 conidia/mL となるよう調整して接種菌液とした。

(2) 寒天平板希釈法

試験培地として Casitone agar (Bacto-casitone 0.9%, Bacto-yeast extract 1%, グルコース 2%, KH_2PO_4 0.1%, Na_2HPO_4 0.1%, クエン酸 3 ナトリウム 1% および寒天

2%) を使用した。2 倍希釈系列の薬剤を含有する平板培地を作成し、各平板培地にマイクロプラント (MIT-P 型; 佐久間製作所) を用いて 5 μl 量の接種菌液を接種した。薬剤を添加せずに DMSO のみを添加したものを発育コントロールとした。菌接種後の培地を 27°C で 14 日間培養し、形成されたコロニーを観察した。

(3) 微量液体希釈法

試験培地として、RPMI 1640 (Sigma-Aldrich) を 0.165 M morpholine propanesulfonic acid (MOPS, 和光純薬) で pH 7.0 に緩衝化して使用した。菌の発育の指示薬として Alamar Blue™ (和光純薬) を、最終濃度が 10% (v/v) となるように添加した。2 倍希釈系列の薬剤を含有する試験培地を 96 穴マイクロプレート (住友ベークライト) の各ウエルに 0.1 mL ずつ分注し、これに接種菌液 0.1 mL を添加した。発育コントロールには薬剤を添加せずに DMSO のみを添加し、また、陰性コントロールには菌を添加しなかった。菌接種後のプレートは 27°C で培養し、48 時間後から 24 時間毎にウエルの色調を観察した。発育コントロール群の色調が青色からピンク色ないし赤紫色に変色した日に、各ウエルの 570 nm の吸光度をマイクロプレートリーダー (THERMOmax; Molecular Devices Corporation) で 2 波長測定 ($\text{OD}_{570-595\text{nm}}$) した。試験は 2 連で行い、その平均を代表値とした。

(4) 判定

各薬剤の最小発育阻止濃度 (MIC) を求めた。すなわち、寒天平板希釈法では、菌のコロニー形成が認められない最小濃度を MIC とした。微量液体希釈法では各菌株の発育コントロール群における OD 値を基準に、その

Table 2. MIC of antifungal drugs against clinical isolates of *Trichophyton tonsurans* determined by the agar dilution method

| Origin | Strain No. | Incubation days | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | | | |
|---------------|--------------------------------|-----------------|--------------------------|---------------------|------------|-------------------|----------------|----------------|
| | | | TBF | ITZ | MCZ | KCZ | LCZ | LLCZ |
| Judo wrestler | M-J-13 | 7 | 0.00078 | 0.0063 | 0.025 | 0.4 | 0.00078 | 0.00039 |
| | | 14 | 0.0031 | 0.025 | 0.2 | 1.6 | 0.0031 | 0.00078 |
| | M-J-46 | 7 | — | — | — | — | — | — |
| | | 14 | 0.0016 | 0.013 | 0.2 | >0.8 | 0.00078 | 0.00039 |
| | M-J-48 | 7 | — | — | — | — | — | — |
| | | 14 | 0.0031 | 0.025 | 0.8 | 0.8 | 0.0063 | 0.0016 |
| | F-J-36 | 7 | 0.00078 | 0.0063 | 0.05 | 0.4 | 0.0016 | 0.00039 |
| | | 14 | 0.0016 | 0.025 | 0.4 | 1.6 | 0.0031 | 0.0016 |
| | F-J-38 | 7 | — | — | — | — | — | — |
| | | 14 | — | — | — | — | — | — |
| | M-J2-30 | 7 | — | — | — | — | — | — |
| | | 14 | 0.00078 | 0.0063 | 0.025 | ≤ 0.05 | 0.0016 | 0.00039 |
| | M-J2-32 | 7 | — | — | — | — | — | — |
| | | 14 | 0.0016 | ≤ 0.0016 | 0.025 | 0.1 | 0.0016 | 0.00039 |
| Wrestler | CN02020102 | 7 | — | — | — | — | — | — |
| | | 14 | 0.00078 | 0.013 | 0.1 | 1.6 | 0.0016 | 0.00039 |
| | CN02080101 | 7 | — | — | — | — | — | — |
| | | 14 | — | — | — | — | — | — |
| Kerion celsi | CN01111901 | 7 | 0.0016 | 0.1 | 0.8 | 6.4 | 0.0031 | 0.0016 |
| | | 14 | 0.0031 | >0.1 | >0.8 | >6.4 | 0.0063 | 0.0031 |
| | MIC range ($\mu\text{g/ml}$) | 14 | 0.00078~0.0031 | ≤ 0.0016 ~>0.1 | 0.025~>0.8 | ≤ 0.05 ~>6.4 | 0.00078~0.0063 | 0.00039~0.0031 |

— : not determined due to immature of fungal growth

Table 3. MIC of antifungal drugs against clinical isolates of *Trichophyton tonsurans* determined by the microdilution method

| Origin | Strain No. | Incubation hours | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | | | |
|---------------|--|------------------|--------------------------|-----------|---------|----------|----------------|----------------|
| | | | TBF | ITZ | MCZ | KCZ | LCZ | LLCZ |
| Judo wrestler | M-J-13 | 120 | 0.0063 | 0.1 | 0.8 | 0.1 | 0.00078 | 0.00039 |
| | M-J-46 | 120 | 0.0031 | 0.025 | 0.4 | 0.1 | 0.00078 | 0.00039 |
| | M-J-48 | 72 | 0.013 | 0.05 | 0.8 | 0.2 | 0.00078 | 0.00039 |
| | F-J-36 | 96 | 0.0063 | 0.1 | 0.8 | 0.4 | 0.0016 | 0.00078 |
| | F-J-38 | 96 | 0.0031 | 0.1 | 0.8 | 0.2 | 0.00078 | 0.00039 |
| | M-J2-30 | 120 | 0.0063 | 0.1 | 0.8 | 0.2 | 0.00078 | 0.00039 |
| | M-J2-32 | 120 | 0.0063 | 0.013 | 0.4 | 0.1 | 0.00039 | 0.0002 |
| Wrestler | CN02020102 | 120 | 0.0031 | 0.1 | 0.8 | 0.4 | 0.00078 | 0.00039 |
| | CN02080101 | 168 | 0.0031 | 0.2 | 0.2 | 0.05 | 0.00078 | 0.00039 |
| Kerion celsi | CN01111901 | 96 | 0.025 | 0.05 | 0.8 | 0.4 | 0.00078 | 0.00039 |
| | MIC range ($\mu\text{g/ml}$) | | 0.0031~0.025 | 0.013~0.2 | 0.2~0.8 | 0.05~0.4 | 0.00039~0.0016 | 0.0002~0.00078 |
| | MIC ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$) | | 0.013 | 0.1 | 0.8 | 0.4 | 0.00078 | 0.00039 |

発育を80%以上阻害する最小濃度を求めてMICとした。試験菌株の90% (10株中9株)の発育を阻止する濃度をMIC₉₀として示した。尚、MIC₉₀は、MICの測定株数が10株に満たない場合は求めなかった。

結 果

寒天平板希釈法で測定した各種抗真菌薬のMICをTable 2に示す。*T. tonsurans* 臨床分離株の寒天平板培地

上での発育は遅く、その速度は菌株間で異なった。本法における皮膚糸状菌のMIC判定は通常では培養7日前後とされているが^{18, 19)}、*T. tonsurans*は培養7日後においても発育コントロール群のコロニー形成が不十分な株が多かった。それぞれの菌株についてMICの判定日を見定めるのは困難と判断し、培養14日後に判定を行ったが、2株 (F-J-38 および CN02080101) ではコロニー形成が不十分なためMICは求まらなかった。培養14日後

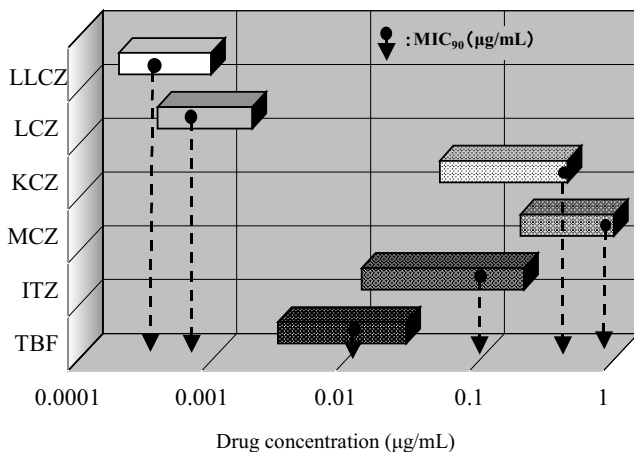


Fig. 1. Comparison of antifungal activity of TBF, ITZ, MCZ, KCZ, LCZ and LLCZ against the clinical isolates of *Trichophyton tonsurans*.

のMIC範囲はTBF, ITZ, MCZ, KCZ, LCZおよびLLCZでそれぞれ0.00078-0.0031, $\leq 0.0016 \rightarrow 0.1$, 0.025- > 0.8 , $\leq 0.05 \rightarrow 6.4$, 0.00078-0.0063および0.00039-0.0031 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となり, 比較的活性の低いITZ, MCZおよびKCZではMIC範囲が広がった. 試験菌株の中で比較的発育の早かった3株(M-J-13, F-J-36およびCN01111901)では培養7日後の時点で判定が可能であったためMICを測定したが, それらの値は14日後と比較して低く, 判定日より結果は変動した.

微量液体希釈法で測定した各種抗真菌薬のMICをTable 3に示す. 培養72~168時間で10株全てにおいて各薬剤のMICが求まった. 柔道選手, レスリング選手あるいはケルスス禿瘡といった菌株の由来による比較では, 各薬剤のMICに差はみられなかった. 薬剤間の比較では, TBF, ITZ, MCZおよびKCZの*T. tonsurans*臨床分離株に対するMIC₉₀は, それぞれ0.013, 0.1, 0.8および0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となり, TBFの活性が強かった. LCZおよびLLCZのMIC₉₀はそれぞれ0.00078および0.00039 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となり, *T. tonsurans*に対する強い活性が認められた. 各薬剤のMIC範囲およびMIC₉₀をFig. 1に比較する. 活性の強い薬剤ではMIC₉₀がMIC範囲の低濃度側に位置する傾向にあった. 特にLCZおよびLLCZでは, MIC範囲およびMIC₉₀が低濃度に収束し, それらの活性はTBF, ITZ, MCZあるいはKCZと比較して明らかに強いことがわかった.

考 察

皮膚糸状菌の*in vitro*薬剤感受性試験としては, 従来寒天平板希釈法^{18, 19)}が汎用されてきたが, 近年では標準化を図るための微量液体希釈法²⁰⁾が本学会標準化委員会より提案されている. 今回の検討では, 寒天平板希釈法および微量液体希釈法の両方で測定を試みた.

*T. tonsurans*は培地上の発育が遅い菌として知られているが²¹⁾, 寒天平板希釈法では培地上のコロニー形成が緩慢で, 培養14日後においても2株でMICが求まらな

かった. 従っていずれの薬剤においても寒天平板希釈法ではMIC₉₀は求められなかった. 比較的発育の早かった3株では培養7日および14日後の2時点でMICを比較したが, 判定日による変動がみられた. 微量液体希釈法を用いた標準化の経緯として, 寒天平板希釈法におけるMICの再現性・信頼性の問題と, それらの変動要因の一つとして培養時間が挙げられている²²⁾. 発育の遅い*T. tonsurans*ではこのような問題がより顕著になるのかもしれない. 一方, 微量液体希釈法においては本法の培養期限とされる168時間以内で²⁰⁾, 全ての株のMICが求まった. 酸化還元指示薬を用いて菌の呼吸量を指標に測定するため, 発育を鋭敏に捉えられたものと考えられる. さらに, 指示薬の色調変化を指標にするので終末点の判定時期の見極めも容易であり, *T. tonsurans*のように発育の遅い菌の薬剤感受性試験法としては好ましいと考えられた.

*T. tonsurans*感染症の治療では, TBFやITZの内服による全身治療とMCZやKCZ含有シャンプーの併用ないし予防的な使用が推奨されている²³⁻²⁵⁾. そこで本検討ではTBF, ITZ, MCZおよびKCZを比較した. 微量液体希釈法で測定したこれら薬剤の活性を比較すると, TBF (MIC₉₀: 0.013 $\mu\text{g}/\text{ml}$), ITZ (MIC₉₀: 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$), KCZ (MIC₉₀: 0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$)およびMCZ (MIC₉₀: 0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$)の順となり, TBFの活性が強かった. 今回と同様の微量液体希釈法で測定したTBFの*T. mentagrophytes*および*T. rubrum*臨床分離株に対するMIC₉₀はいずれも0.003 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であることから²⁶⁾, 本病原菌の薬剤感受性は白癬主要起因菌とほぼ同レベルと考えられた.

*T. tonsurans*の薬剤感受性に関する欧米の報告では, スペインおよび英国で採取された臨床分離株(18株)におけるTBF, ITZ, MCZおよびKCZの検討²⁷⁾, あるいは米国で採取された臨床分離株(42株)におけるTBFおよびITZの検討²⁸⁾において微量液体希釈法を用いた報告がみられ, それらのMIC範囲あるいはMIC₉₀は我々の結果とはほぼ一致する. 一般の病原菌の薬剤感受性は欧米の病原菌と比較して大差ないものと推察された.

生毛部の*T. tonsurans*病変部では外用抗真菌薬の使用も推奨されていることから²⁴⁾, 既存外用薬の中で皮膚糸状菌に対する活性が極めて強いことで知られるLCZ²⁹⁾およびLLCZ^{26, 30, 31)}を比較に加えた. 微量液体希釈法で求めたLCZおよびLLCZの*T. tonsurans*臨床分離株に対するMICはいずれも低濃度域に収束し, MIC₉₀はそれぞれ0.00078および0.00039 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となった. LCZおよびLLCZの活性はTBF, ITZ, MCZあるいはKCZを凌ぐと考えられた. 寒天平板希釈法においても, LCZおよびLLCZのMIC範囲はそれぞれ0.00078-0.0063および0.00039-0.0031 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり, 微量液体希釈法の結果と大きな隔たりはみられなかった. 2種測定法のいずれにおいても極めて低いMICが確認されたことは, これら薬剤が*T. tonsurans*に対して様々な条件下で安定した抗真菌活性を発揮する可能性を示すと考えられ, 臨床

での効果が期待された。

以上の結果より、*T. tonsurans* 感染症起因菌の薬剤感受性は白癬主要起因菌とほぼ同レベルと推察され、本病原菌に対してラノコナゾールおよびリコナゾールは極めて強力な抗真菌活性を示すことが明らかとなった。

参考文献

- 金子建彦, 大野祐樹, 金沢博龍, 萩原里佳, 三関信夫, 植村浩一: *T. tonsurans* による体部白癬の集団発生例. 真菌誌 **43**(Suppl 2): 107, 2002.
- 田邊 洋, 河崎昌子, 望月 隆, 石崎 宏, 金原武司: 集団検診で発見された高校柔道部員の *Trichophyton tonsurans* による白癬集団発生例. 真菌誌 **43**(Suppl 2): 79, 2002.
- 笠井達也, 牧野好夫, 望月 隆: 複数高校の柔道部員間に蔓延した *Trichophyton tonsurans* による白癬集団発生例. 真菌誌 **43**(Suppl 2): 78, 2002.
- 藤田 繁, 望月 隆: *Trichophyton tonsurans* による black dot ringworm の 1 例. 真菌誌 **43**(Suppl 2): 78, 2002.
- 東 禹彦, 望月 隆: *T. tonsurans* による高校生の頭部白癬の 1 例. 真菌誌 **43**(Suppl 2): 78, 2002.
- 浦野聖子, 白井滋子, 鈴木陽子, 菅谷圭子, 瀧川雅浩, 望月 隆: *Trichophyton tonsurans* による頭部白癬の 1 例. 真菌誌 **44**: 25-29, 2003.
- 望月 隆, 田邊 洋, 河崎昌子, 安藤数史, 石崎 宏: 北陸・近畿地方における *Trichophyton tonsurans* 感染症の実態調査. 真菌誌 **46**: 99-103, 2005.
- 日本医真菌学会疫学調査委員会 (会報): 最近疫学的に注目される皮膚糸状菌症についてのご注意. 真菌誌 **44**: 145, 2003.
- Elewski BE: Treatment of tinea capitis: beyond griseofulvin. J Am Acad Dermatol **40**: S27-30: 286-290, 1999.
- Gupta AK, Summerbell RC: Tinea capitis. Med Mycol **38**: 255-287, 2000.
- Stiller MJ, Klein WP, Dorman RI, Rosenthal S: Tinea corporis gladiatorum: an epidemic of *Trichophyton tonsurans* in student wrestlers. J Am Acad Dermatol **27**: 632-633, 1992.
- Beller M, Gessner BD, Georia A: An outbreak of tinea corporis gladiatorum on a high school wrestling team. J Am Acad Dermatol **31**: 197-201, 1994.
- Fari ME, Gräser Y, Presber W, Tietz HJ: An epidemic of tinea corporis caused by *Trichophyton tonsurans* among children (wrestlers) in Germany. **43**: 191-196, 2000.
- Adams BB: Tinea corporis gladiatorum. J Am Acad Dermatol **47**: 286-290, 2002.
- Chan YC, Friedlander SF: New treatments for tinea capitis. Curr Opin Infect Dis **17**: 97-103, 2004.
- Ergin S, Ergin C, Kaleli I, Evliyaoğlu D: An experience from an outbreak of tinea capitis gladiatorum due to *Trichophyton tonsurans*. Clin Exp Dermatol **31**: 212-214, 2005.
- Poison DM, Rousseau D, Defo D, Esteve E: Outbreak of tinea corporis gladiatorum, a fungal skin infection due to *Trichophyton tonsurans*, in a French high level judo team. Euro Surveill **10**: 187-190, 2005.
- 山口英世, 内田勝久, 渡辺晋一, 高橋 久, 中村遊香, 中村絵美, 西山雄一, 手塚万由里, 富澤尊儀, 下妻道朗, 長田 厚, 河野志穂美, 中内洋一, 湧川基史, 後藤敦子, 上田純嗣, 松川 中, 久保正英, 皆見春生, 有川順子, 相馬良直, 池 亨仁, 玉置邦彦: 承認後10年目における Bifonazole の足白癬に対する基礎的・臨床的検討. 第1報皮膚糸状菌臨床分離株の Bifonazole 感受性. Jap J Antibiotics **49**: 1085-1094, 1996.
- 内田勝久: 抗真菌剤感受性試験法. 真菌誌 **32**: 245-247, 1991.
- 篠田孝子, 久米 光, 福島和貴, 島田慈彦, 村瀬勢津子, 内田勝久, 池田玲子, 安藤正幸, 森 健, 加藤卓郎: 日本医真菌学会標準化委員会報告 (1995-1997). 真菌誌 **40**: 239-257, 1999.
- 山口英世: 病原真菌と真菌症 (第3版). 210, 南山堂, 2005.
- 内田勝久, 山口英世: 抗真菌薬の創薬における前臨床薬効評価の現状と課題. 真菌誌 **45**: 83-91, 2004.
- 望月 隆: 体部白癬, 頭部白癬. 真菌症 up date. (福田知雄編) Derma **83**: 1-6, 全日本病院出版会, 東京, 2004.
- 比留間政太郎, 白木祐美, 廣瀬伸良: 柔道選手の皮膚真菌症 (トリコフィトン・トンズランス感染症) ブラシ検査・治療・予防のガイドライン (*T. tonsurans* 感染症対策研究会編), (有) 編集室なるにあ, 東京, 2003.
- 二ノ宮淳也, 伊藤弥生, 滝内石夫: *Trichophyton tonsurans* 感染症に対するミコナゾール含有シャンプーの予防効果の検討. 真菌誌 **46**: 177-181, 2005.
- Koga H, Tsuji Y, Inoue K, Kanai K, Majima T, Kasai T, Uchida K, Yamaguchi H: *In vitro* antifungal activity of luliconazole against clinical isolates from dermatomycosis patients. J Infect Chemother **12**(3): 163-165, 2006.
- Fernandez-Torres B, Carrillo AJ, Martin E, Delpalacio A, Moore MK, Valverde A, Serrano M, Guarro J: *In vitro* activity of 10 antifungal drugs against 508 dermatophyte strains. Antimicrobial Agents and Chemotherapy **45** (9): 2524-2528, 2001.
- Jessup CJ, Warner J, Isham N, Hasan I, Ghannoum MA: Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: establishing a medium for induction conidia growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. Clinical Microbiology: 341-344, 2000.
- 平谷民雄, 内田勝久, 山口英世, 岡 秀樹, 庭野吉己, 近江哲人, 内田又左衛門: 新規イミダゾール系抗真菌剤 NND-318 の *in vitro* 抗真菌活性. 真菌誌 **33**: 321-328, 1992.
- Niwano Y, Kuzuhara N, Kodama H, Yoshida M, Miyazaki T, Yamaguchi H: *In vitro* and *in vivo* antidermatophyte activities of NND-502, a novel optically active imidazole antimycotic agent. Antimicrobial Agents and Chemotherapy **42**(4): 967-970, 1998.
- Uchida K, Nishiyama Y, Yamaguchi H: *In vitro* antifungal activity of luliconazole (NND-502), a novel imidazole antifungal agent. J Infect Chemother **10**: 216-219, 2004.

In vitro Activities of Antifungal Drugs against Clinical Isolates of *Trichophyton tonsurans*Hiroyasu Koga¹, Yasuko Nanjoh¹, Kazuyoshi Inoue¹, Koichi Makimura², Ryoji Tsuboi³¹Research Center, Nihon Nohyaku Co., Ltd.,
345 Oyamada-cho, Kawachi-Nagano, Osaka 586-0094, Japan²Teikyo University Institute of Medical Mycology,
359 Otsuka, Hachioji, Tokyo 192-0395, Japan³Department of Dermatology, Tokyo Medical University,
6-7-1 Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160-0023, Japan

To determine drug susceptibility of *Trichophyton tonsurans* endemic in Japan, *in vitro* MICs of antifungal drugs against a total of 10 clinical isolates of *T. tonsurans* collected from dermatophytosis patients were measured by the agar dilution method and the broth microdilution method. The agar dilution method was not appropriate as the growth of *T. tonsurans* on the agar medium was too slow to determine drug activity, while the broth microdilution method was thought to be an appropriate method for this study. The MIC₉₀ values determined by the broth microdilution method for terbinafine, itraconazole, miconazole and ketoconazole were 0.013, 0.1, 0.8 and 0.4 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Meanwhile, the MIC₉₀ values of lanconazole and luliconazole, known to be antifungal drugs potent against dermatomycosis, were 0.00078 and 0.00039 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The drug susceptibility of these *T. tonsurans* isolates to the aforementioned antifungal drugs was found to be on a similar level with that of *T. mentagrophytes* and *T. rubrum*, major causative agents of dermatomycosis. The results also demonstrated the strong antifungal activity of lanconazole and luliconazole against *T. tonsurans*.
