

# 藥物感受性試驗簡介

黃文貴 林椿欽

高雄榮民總醫院微生物科

## 前言

對具有臨床意義的菌株進行藥物感受性試驗，是臨床微生物實驗室重要工作之一。至於進行藥物感受性試驗的目的，是希望經由體外試驗 (*in vitro*) 的分析，能提供選擇適當的抗微生物藥劑，以成功治療被微生物感染的病患。對於部份細菌、黴菌、病毒和寄生蟲，由於抗藥性的問題尚未產生或者是因目前還沒有有效的替代藥物存在，而繼續採用經驗療法 (*empiric therapy*)，但對於葡萄球菌、腸球菌、肺炎球菌、部份腸內細菌、假單孢菌、嗜血桿菌、淋病雙球菌和結核分枝桿菌，可經由不同機轉而對常用的抗微生物藥劑產生抗藥性，故常無法預知這類細菌對藥物的感受性情形，以正確選擇治療性藥物；此時藥物感受性試驗結果的主要功能，便是偵測此等病菌。在此要特別強調，對於正常或寄生菌叢不必進行藥物感受性實驗；但對於臨床上有意義菌株則應採用已標準化的方法及步驟，以獲得正確的報告。

傳統標準化的稀釋法、紙錠—瓊脂擴散法和其他的自動化方法，是目前普遍被應用於快速生長菌的藥物感受性試驗方法。在選擇細菌的藥物感受性試驗方法時，要注意其實用性及經濟性；選擇測驗藥物的種類及數量時，要適當且要足夠，

以提供臨床醫師常規使用抗微生物藥劑的參考。

## 選擇藥物感受性試驗方法

臨床微生物實驗室可經由傳統或新穎的方法執行常規細菌藥物感受性試驗，這些方法包括紙錠—瓊脂擴散法 (*disk-diffusion method*)、肉湯微量稀釋法 (*broth dilution method*)、瓊脂稀釋法 (*agar dilution method*)、E試驗紙條感受性試驗法 (*E-test, antimicrobial gradient strip method*) 和快速的自動化儀器方法 (*rapid automatic instrument method*)。

最近幾年已逐漸發展成使用商品化肉湯微量稀釋法配合自動化儀器協助判讀及報告，以取代紙錠—瓊脂擴散法的趨勢。由於抗微生物藥劑的種類繁多及每個醫療機構內使用的處方藥物差距很大，故廠商提供的商品化測試盤 (*test panel*)，很難適用於每個實驗室。而紙錠—瓊脂擴散法的靈活性，允許實驗室輕易的設計及選擇自己醫院需要的抗微生物藥劑組合，而且價格便宜，此外，此法操作步驟經過美國臨床實驗室標準委員會 (*National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS*)，持續精確的評估，隨時更新各項應用範圍及操作步驟等標準化參考資料；此法使用的報告方式—感受性

(susceptible, S)、中度感受性 (intermediate, I)、抗藥性 (resistant, R)，是所有臨床醫師所熟悉和接受的，這是它的優點；此法的缺點是只適用於快速生長細菌的感受性試驗，對於生長環境挑剔或生長緩慢的細菌，此法則不適用。

使用肉湯微量稀釋法及瓊脂稀釋法的優點是，可獲得正確的定量報告（最低抑菌濃度，MIC），比紙錠—瓊脂擴散法的定性方式為佳。同時還可以應用於不適合使用紙錠—瓊脂擴散法的厭氧菌或營養需求性特殊細菌的MIC值測定；在許多肉湯微量稀釋法的系統中，可以利用電腦系統來輔助進行實驗值的分析及統計結果，以供流行病學研究用，而且可以減少醫院中大電腦系統資料庫的負擔。至於選擇藥物感受性試驗方法時，不能因定量法較定性法為精確，做為選擇稀釋法之理由。

實驗室可能基於要迅速獲得藥物感受性結果的理由，而採用快速且自動化的藥物感受性測定系統，以取代傳統式的手工方法。理論上，它是可以較傳統方法提早十八至廿四小時獲得測試結果，而讓被感染的病患治療上獲益；實際上，這快速的藥物感受性報告，對於減低被感染病患之死亡率 (mortality) 及罹病率 (morbidity)，並沒有明顯的幫助，除非臨床醫師與微生物實驗室醫檢師們，能有非常積極的互動連繫，在醫師們能主動的查詢報告和醫檢師們快速的將結果送至醫師手中的充分合作下，將有助於醫師於採集檢體後的隔日即可選擇適宜的藥物。

藥物感受性試驗最重要的功能，是正確且快速的偵測出具有抗藥性的臨床上有

意義之分離菌株。有研究報告指出，快速的藥物感受性試驗方法，具有可能無法完全偵測到部份細菌可誘導的 (inducible) 或不明顯的 (subtle) 抗藥性機轉之缺失 [1]。目前市場上的儀器，都針對此缺點著手進行解決；但仍有部份儀器尚無法完全偵測到extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-mediated抗藥性及部份vancomycin抗藥性的缺點。所以當我們使用自動儀器進行藥物感受性試驗時，必需了解到可能會犧牲部份的準確性。

### 常規試驗用抗微生物藥劑種類的選擇

臨床微生物室有責任對於臨床分離有意義菌株，感染部位及臨床應用抗微生物藥劑，提供最佳的測試及報告，然而最佳的常規試驗及報告，必需針對各個醫療機構其病患的特性，和可能對第一線藥物具有抗藥性的情況，而有所變化。所以，醫學中心的微生物實驗室在選擇常規試驗用抗微生物藥物種類時，因有照顧器官移植或免疫機能不全的病患，則和其他的醫療單位不同，必需選擇較具廣效性的藥物來測試；其原則有三：（一）測試的藥物必需為該醫院內常備的處方藥品，而且臨床醫師普遍使用。（二）根據NCCLS發表的資料，不同的細菌，例如：需氧菌、營養挑剔性細菌、厭氧菌，而考慮選擇不同的測試用抗微生物藥劑種類；不同解剖位置（例如：腦脊髓液、血液、尿液、糞便）的感染之藥物選擇都有一定的規範。同時亦有建議使用何種代替藥物，以偵測其相關藥物的抗藥性。〔例如：使用oxacillin來

偵測MRSA和使用oxacillin紙錠來偵測俱盤尼西林抗藥性的肺炎雙球菌，至於測試藥物的種類應以NCCLS建議為規範，再依據各單位不同的需求；可經由感染科醫師、藥師、醫院內感染管制委員會及規定的處方一覽表，共同討論後選出適當的測試藥物。（三）選擇適合該醫院的常規測試方法，以探討特定抗微生物藥劑對細菌的有效性。目前有許多具方便性的測試方法可供選擇，例如：紙錠——瓊脂擴散法、自行配製或商業量產化的肉湯或瓊脂稀釋法等。商品化的測試系統，對於各個醫院的新採用藥劑，無法提供報告；但它具有提供多種抗微生物藥劑同時測試MIC值和鑑定菌種的好處。

### 藥物感受性試驗結果的判讀及報告

詳細且定期性的回顧醫院內菌株之抗微生物藥劑感受性試驗資料，將有助於照顧病患時，藥物的選擇及監視醫院內抗藥性菌株群突發的發生。雖然微生物對於抗微生物藥劑產生抗藥性的機轉是複雜的，而且新的抗藥性菌株會不斷突然的出現且快速的增加，但是如果熟悉且確認在自己單位內一般常見菌株的藥物感受性型態，且有系統的建檔及持續有效的偵測，將是實驗室於選擇試驗方法及設備時的決定性重要參考資料。藥物感受性試驗結果經由全自動化儀器系統或實驗室的資料處理系統之電腦協助整理資料，將有助於管理部門進行實驗室的品管；當結果顯示有異常的感受性型式時，則需要迅速進行評估，並且重新再測試，當確認有新的或不尋常見的菌株存在時，應知會醫院感染管

制委員會成員，研商是否需要採取隔離或協助選擇適當的抗微生物藥劑。例如，克雷白氏肺炎桿菌呈現對某些廣效性抗生素，如ceftazidime和aztreonam具抗藥性的不尋常感受結果，可以發現此菌具有ESBL。同樣的，在美國由於仔細的分析實驗室結果，因而獲得最原始的具低度vancomycin抗藥性的糞腸球菌（*Enterococcus faecalis*）的原型（prototype）Van B菌株，故對於異常的藥物感受性型式，有能力去確認及分析它，對於未來在發現新抗藥性菌株方面將是扮演著重要的地位（表一）。

微生物實驗室方面，必需具有能提供有效率、準確的且容易了解之藥物感受性體外試驗報告能力，以協助臨床醫師選擇最適當且有效的抗微生物藥劑以治療感染症。例如：ORSA菌株藥物感受性，於體外的試驗結果顯示對頭芽孢菌素， $\beta$ -lactam- $\beta$ -lactamase抑制劑結合藥物及imipenem具感受性，但事實上此菌對於所有的 $\beta$ -lactam藥物皆具有交叉抗藥性，故應該將其結果更正為抗藥性，以避免臨床醫師誤用。

由於具有ESBL酵素菌株的出現，故於臨床檢體分離之克雷白氏桿菌屬及大腸桿菌屬如具有此酵素時，將會造成實驗室工作人員在判讀及報告頭芽孢菌素及aztreonam藥物感受性結果時的困擾。根據不同酵素的產生，分離菌株可能會出現對於cefoxitin及ceftriaxone具有感受性[10]，但對於ceftazidime和aztreonam具有抗藥性的藥物感受性型式；由於不論何種頭芽孢菌素的效用皆可能受產生ESBL酵

表一、需進一步評估之抗藥性試驗型式的範圍

| 細菌   | 需調查的抗藥性型式  |
|--|--|
| 葡萄球菌 (staphylococci)                               | vancomycin抗藥性  |
| 草綠色鏈球菌 (viridans streptococci)                     | penicillin抗藥性  |
| 腸球菌enterococci                                     | aminoglycoside之高抗藥性  |
| $\beta$ -溶血性鏈球菌 ( $\beta$ -hemolytic streptococci) | penicillin抗藥性  |
| 淋病雙球菌 ( <i>Neisseria gonorrhoeae</i> )             | ceftriaxone抗藥性   |
| 腦膜炎雙球菌 ( <i>Neisseria meningitidis</i> )           | penicillin抗藥性  |
| 腸內菌 (Enterobacteriaceae)                           | imipenem抗藥性  |
| <i>Klebsiella</i> spp.及 <i>Escherichia coli</i>    | cefoxitin或cefotetan抗藥性   |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                      | amikacin抗藥性  |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>                | gentamicin或tobramycin感受性<br>imipenem感受性或<br>trimethoprim-sulfamethoxazole抗藥性 |

素菌株的影響，故如果直接將實驗結果報告出去將是不適當的。實驗室工作者如發現這類具ESBL酵素菌株時，必需直接與臨床醫師或感染科專科醫師諮詢，以協助選擇最適當的 $\beta$ -lactam藥物治療此類的感染症。

實驗室對於腸球菌進行藥物感受性試驗時，必需著重篩選藥物協同 (synergism) 治療時，具抗藥性菌株存在的偵測，故此菌的藥物感受性試驗之報告，必需和其他菌株之藥物結合性治療有少許的不同；報告時，必需避免給予任何假性的協同治療中單一藥物之感受性實驗結果，例如：ampicillin、penicillin、vancomycin、gentamicin、或者streptomycin實驗室在進行腸球菌的感受性試驗時須強調藥物的協同性及抗藥性菌株的偵測。報告時需避免誤導臨床醫師使用單一藥物來治療心內膜炎等嚴重的感染，同時在報告內應該有

清楚的附註說明，選用協同性藥物以治療此菌嚴重性感染的必要性，以傳遞正確的藥物感受性試驗結果。

### 藥物感受性試驗的未來發展及需求

由於抗藥性菌株，已經散播到醫院各角落中，故臨床微生物實驗室此時不但扮演著照顧病患的角色，而且還要審慎的監視抗微生物藥劑的感受性型式，以達到控制抗藥性菌株產生之重要角色。

為有效的面對此具有挑戰性的工作，實驗室工作者必須持續不斷的評估並於有需要時，即時調整他們的藥物感受性試驗計劃；首先包括要選擇而且保持具有正確且可靠的測試方法，不論是使用傳統的或分子生物技術的方法均可；這是對具有特殊抗藥性菌株連續性的監視最基本方法。在此嚴密的監視下，將是發現突發性具抗藥性菌株增加的最好的方法。所以正確的

選擇及應用測試方法，是在維持實驗室報告的可靠性。對於報告持續的監測，可迅速發現其改變及趨勢；經由電腦協助分析，將可以快速的且正確的回顧該單位的抗藥性型式。其次，報告的內容必需週期性的審核及更新，以符合實際上的需要；基本上，臨床微生物實驗室工作者，必需了解臨床醫師極需正確的資訊以治療他們的病患，而常與醫師溝通，以促成臨床醫師可以選用適當的抗微生物藥劑。

所有醫療工作從事人員都有責任來監視抗藥性的趨勢，以便能快速偵測到新的或者是不常見的藥物感受型式。每個醫療院所的藥物感受性資料，應該要相互交換及討論，且將是支持區域性、國際性，甚至世界性的藥物感受性型式監視系統最佳的利器。

### 參考文獻

1. Boyce JM, White RL, Bonner MC, et al: Reliability of the MS-2 system in detecting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 1982; 15: 220-5.
2. Citron DM, Ostovatri MI, Karlsson A, et al: Evaluation of the E test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. J Clin Microbiol 1991; 29: 2197-203.
3. Courvalin P: Interpretive reading of antimicrobial susceptibility tests. ASM News 1992; 58: 368-75.
4. Doern GV, Scott DR, Rashad AL: Clinical impact of rapid antimicrobial susceptibility testing of blood culture isolates. Antimicrob Agents Chemother 1982; 21: 1023-4.
5. Evers S, Sahm DF, Courvalin P: The van B gene of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* V583 is structurally related to genes encoding D-ala: D-ala ligases and glycopeptide-resistance proteins Van A and Van C. Gene 1993; 124: 143-4.
6. Hill GB, Schalkowsky S: Development and evaluation of the spiral gradient endpoint method for susceptibility testing of anaerobic gram-negative bacilli. Rev Infect Dis 1990; 12 (Suppl.2): S200-9.
7. Jorgensen, JH: Selection criteria for an antimicrobial susceptibility testing system. J Clin Microbiol 1993; 31: 2841-4.
8. Jorgensen JH: Selection of antimicrobial agents for routine testing in a clinical microbiology laboratory. Diagn Microbiol Infect Dis 1993; 16: 245-9.
9. Jorgensen JH, Ferraro MJ, McElmeel ML, et al: Detection of penicillin and extended-spectrum cephalosporin resistance among *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates by use of the E test. J Clin Microbiol 1994; 32: 159-63.
10. Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, et al: Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. J Clin Microbiol 1994; 32: 691-6.
11. Nadler HL, Dolan C, Mele L, et al: Accuracy and reproducibility of the Auto Microbic System Gram-Negative General Susceptibility-Plus card for testing selected challenge organisms. J Clin Microbiol 1995; 22: 355-60.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. Approved standard M11-A3. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa. 1993.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Testing for Bacteria That Grow Aerobically. Approved standard M7-A3. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa. 1993.
14. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved standard M2-A5. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa. 1993.
15. Neu HC: The crisis in antibiotic resistance. Science 1992; 257: 1064-73.