國內外新知

臨床微生物檢驗可以診斷出 *Candida auris* 嗎？

Candida auris 於 2009 年在日本首次被發現，目前在歐洲、亞洲、美洲、非洲十餘國迅速傳播，因 *C. auris* 在醫療照護機構中可造成群聚感染，此菌約有 50% 會造成造成血流感染，*C. auris* 大多具有多重抗藥性，也伴隨有高的死亡率，因此為近年重要的新興傳染病。有效的預防，治療和感染控制醫療照護機構群突發事件，都需要臨床微生物實驗室能快速正確的鑑定出 *C. auris*。

然而根據 Mizusawa 等發表於 2017 年的文獻指出，對於 *C. auris* 的鑑定美國大部分的實驗室並沒有經驗，因此美國疾病管制預防中心 (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) 準備一套菌株，包含有 10 株 *C. auris*，3 株 *C. duobushaemulonii*，2 株 *C. haemulonii*，2 株 Saccharomyces 以及 *Kodamaeaohmeri*、*C. krusei*、*C. lusitaniae* 各 1 株，提供給美國國內各實驗室，以不同的鑑定工具來確認此菌。結果採用傳統的生化反應法來鑑定所有的 *C. auris*，其鑑定結果都錯誤。以 API 20C AUX 系統 (bioMerieux) 鑑定，結果均為 *Rhodotorula glutinis*；以 BD Phoenix 系統 (BD Diagnostics) 則多鑑定為 *C. haemulonii* (其中一株鑑定為 *C. catenulata*)；以 Vitek-2 系統 (bioMerieux) 鑑定，結果為 *C. haemulonii*；以 MicroScan 系統 (Beckman Coulter) 鑑定則會被鑑定成 *C. famata, C. guilliermondii, C. lusitaniae, C. parapsilosis* 等。

另外如果以 Bruker Biotyper (Bruker) 和 Vitek-MS (bioMerieux) 這兩個 MALDI-TOF MS 系統做鑑定，採用常規的分析系統也一樣得不到鑑定結果，必須以各公司已更新且包含 *C. auris* 鑑定資訊的資料庫 (可能是研究用，reseach-use-only, RUO 版本) 才能得到正確的鑑定結果。此外上機前萃取檢體的方法也會影響結果，用 RUO 系統鑑定 Bruker Biotyper 系統如果用直接塗盤萃取法 (Direct on-plate extraction) 操作，仍會有 50% 機率鑑定失敗，必須以全試管內萃取法 (Full-tube extraction) 操作。這在 Kim 等人的文獻報告中就有提到如果以直接塗盤萃取法

失敗後再以酒精蟻酸萃取 (簡易) 法重測，則在 Vitek-MS 系統會將 *C. auris* 鑑定成 *Candia. albicans* 和 *C. haemulonii* 在 Bruker Biotyper 系統則被鑑定成 *N. meningitidis serogroup A* 和 *P. rhizosphaerae*。在 Fraser 等人的報導中也有談到部份萃取 (partial extraction) 的方法和全試管內萃取 (Full-tube extraction) 在不同菌種間各有不同的失敗率。

所以要正確的鑑定 *C. auris* 除定序 ITS 和 D1/D2 區外，MALDI-TOF 系統是目前能用的快速鑑定法，但是想要得到正確的結果則有賴於使用能鑑定 *C. auris* 的 RUO 資料庫和正確的全試管內萃取法。

全試管內萃取法 (以 Bruker Biotyper standard operating procedure 為例) 的步驟如下：

1. 取 300 μl 純水於 1.5 ml 微量離心管。用接種環取單一菌落的菌量，Vortex 使菌體充分散開、均質化於水中。

2. 加入 900 μl 無水酒精，充分 Vortex 以混合均勻。高速離心 2 分鐘 (13,000~15,000 rpm)，去除上清液。

3. 再次離心 (2 分鐘，13,000~15,000 rpm)，用微量吸管將剩餘的上清液盡量去除。並風乾至少 5 分鐘。

4. 加入與菌量相等之 (約 20~80 μl) 70% 蟻酸 (FA)，利用微量吸管重複吸、放或是 Vortex 使菌體充分散開、均質化。

5. 加入等量之 ACN (acetonitrile) (等量於步驟4 所加入的 70% FA 溶液)，Vortex 混合均勻。高速離心 2 分鐘 (13,000~15,000 rpm)。

6. 取 1 μl 上清液，置於樣品盤上，於室溫下風乾。再置於 MALDI TOF 質譜儀進行分析與菌種鑑定。

【譯者評】各臨床實驗室應事先規劃 *Candida auris* 之鑑定流程與提升鑑定能力之教育訓練。實驗室常用的生化鑑定儀若出現文中所述容易錯誤菌種如 *C. haemulonii* 等，則應再以分子生物學法做確認，若使用 MALDI-TOF 確認則應使用全試管內萃取法。MALDI-TOF 系統雖然是診斷的利器，但仍應留意其方法學的局限與注意之事項，才能在微生物診斷上發揮效果，達到快速防堵新興傳染病擴散的目的。【高醫附設醫院　李昆畝/盧柏樑　摘評】

參考文獻

1. Mizusawa M, Miller H, Green R, et al: Can multidrug-resistant *Candida auris* be reliably identified in clinical microbiology laboratories? J Clin Microbiol 2017;55:638-40.
2. Kim TH, Kweon, OJ, Kim HR, et al: Identification of Uncommon Candida Species Using Commercial Identification Systems. J Microbiol Biotechnol 2016;16:2206-13.
3. Fraser M, Brown Z, Houldsworth M, et al: Rapid identification of 6328 isolates of pathogenic yeasts using MALDI-ToF MS and a simplified, rapid extraction procedure that is compatible with the Bruker Biotyper platform and database. Med Mycol 2016;54:80-8.