

羅秀容

國家衛生研究院

## 前 言

由於免疫系統不完全的病患增加，侵入性療程頻繁地使用，再加上抗生素的不當使用，使伺機性黴菌感染在近年來已成為院內感染的主要病因之一。目前抗黴菌藥物並不多，而且副作用大，更令人擔憂的是，抗藥性的致病菌隨著大量使用藥物而增加。因此，為瞭解黴菌感染的現況與促進基礎研究的交流，國家衛生研究院與台灣疾病管制局主辦、謝維詮基金會協辦的 2007 年第四屆致病性黴菌研討會，於 6 月 8 日假國家衛生研究院竹南院區舉行。

首先由美國疾病管制局的 Dr. David Warnock 開啓一天的學術交流，接著由 台大醫院陳宜君醫師介紹全身性黴菌感染在院內感染中所扮演的角色，筆者報告 國家衛生研究院台灣黴菌抗藥性監測的結果，台灣疾病管制局的李淑英博士介紹 分子快速鑑定致病性黴菌的方法及分子流行病學，基隆長庚醫院李細祥醫師報告比較兩種在醫院中能使用的抗黴菌藥物感受性測試的結果，清華大學藍忠昱博士 及中山醫學大學謝嘉慶博士與交通大學楊昀良博士報告基礎研究的豐碩成果，最 後由美國聖安東尼奧德克薩斯大學的洪瓊玉博士介紹抗黴菌疫苗發展的最新進 度為此研討會畫下句點。

## 流行病學在疾病控制及黴菌感染所扮演的角色及挑戰

首先我們很高興能邀請到世界知名大師 Dr. Warnock 在百忙中遠從美國 CDC 來到台灣，帶給研討會一個精湛的演講。他目前已發表兩百多篇與黴菌相關的論文。他強調執行流行病學的最終目的是要控制疾病，並簡單地告訴聽眾執行監測計畫的四個目的：第一是確定目前所面臨的問題與某疾病所造成的影響，第二是偵測集體感染以提供控制策略，第三是評估所執行的控制或預防措施的成果，第四是告知及安撫民眾。Dr. Warnock 並指出有關黴菌感染監測計畫的問題，首先，因大部分造成人類疾病的黴菌是伺機性病原菌，因此確定黴菌感染與否的準則不易建立，再加上臨床醫護人員在認知上將黴菌感染列為非通報疾病而沒有報告，因此低估了黴菌感染實際個案數。Dr. Warnock 綜合 *Candida* 所引起的全身性感染的流行病學，推論出全球各地雖然有不同的盛行率，但一般而言每十萬個人中，有二到二十人感染 *Candida*。因 fluconazole 的研發與使用，最常引起黴菌感染，但對 fluconazole 感受性高的 *Candida albicans* 其感染率有下降的趨勢(由原本佔全身性黴菌感染的 90%降為 50%左右)。然而，對 fluconazole 感受性較低的非 *C. albicans* (尤其是 *Candida glabrata* 與 *Candida tropicalis*) 的感染率則相對地上升。另外，Dr. Warnock 也針對一向是被關注重點的器官移植者受 *Aspergillus* 感染與 HIV 感染病患受 *Cryptococcus* 感染的情形做精闢的整理。Dr. Warnock 的演講還帶來一些重要的訊息：黴菌感染流行病學的研究結果因不同的區域及不同的研究族群而異，因此，要想瞭解本土情形，必須自己進行監測；流行病學是得靠不同專家學者一起合作努力方可達成。

## 治療黃金時間的把握是臨床成功的重要關鍵

陳宜君醫師對台灣防治全身性黴菌感染的問題作探討，在醫院治療黴菌可分幾個不同階段，第一是對高危險群進行預防性投藥(prophylaxis)，第二是對可能(possible)因黴菌感染的病患進行經驗性(empirical)的治療，第三是經分子快速鑑定(如 PCR)為疑似(probable)黴菌感染的病患，則進行先發性(pre-emptive)的治療，第四是經培養或病理切片證實，則對病菌進行專一性的治療。在臨床上把握治療的黃金時間是重要關鍵，陳醫師舉出因延誤診斷，而無法即時治療，最後導致失去病人生命的遺憾實例。因此，發展快速分子鑑定法，將可提升醫療品質。另外陳醫師也指出，雖然抗黴菌藥物發展在近年有所突破，醫師仍須謹慎選擇最恰當的抗黴菌藥物與其劑量。

### 台灣致病性酵母菌流行病學的研究

羅秀容博士研究團隊分別在 1999、2002 與 2006 年進行台灣黴菌抗藥性的監測計畫(Taiwan Surveillance of Antimicrobial Resistance of Yeast; TSARY)，這是一個針對致病性酵母菌所做的研究。整體而言，念珠菌菌種的分佈及其好發部位在此三次監測期間並沒有明顯的改變。因此既定的相關措施及計劃仍可依序進行，不需要做重大變更。以 2002 年與 2006 年醫院提供在收集期間菌株分離來看，在 7,688 株菌中，以菌種來區分，*C. albicans* 佔最多(5,243, 68.2%)，其次依序為 *C. tropicalis* (939, 12.2%)、*C. glabrata* (735, 9.6%)、*C. parapsilosis* (200, 2.6%)、*Candida krusei* (50, 0.6%)及其他(521, 6.8%)。由檢體來源區分，菌株分離率依序分別為尿液、痰液、血液與傷口。對 amphotericin B 有抗藥性的菌株由 1999 年的 0.5% 升為 2002 年的 2.5%，初步結果顯示，2006 年有些微地降低至 1.8%。對 fluconazole 有抗藥性的菌株則由 1999 年的 8.4% 明顯地降為 2002 年的 1.9%。值得注意的是初步結果顯示，2006 年有明顯地升高為 17%，這變化主要是因 *C. tropicalis* 菌種所造成，此團隊正在探討造成感受性降低的危險因子。另外，此團隊亦分別在 1999、2001、2002 及 2005 年對高危險群 HIV 感染的病人進行口咽採樣。目前發現所分離的菌種數有逐年增加的趨勢，由 1999 年的五種增高為 2005 年的 25 種。同一檢體分離出多於一種菌種的個案亦明顯增加，由 1999 年的兩個檢體增高為 2005 年的 39 個，此團隊亦正在釐清造成此改變與 HIV 感染病患族群組成的關係。由此報告，我們可知持續定期進行台灣黴菌抗藥性的監測不但可充分掌握本土黴菌抗藥性的變遷，亦可早日偵測黴菌抗藥性造成的相關問題。

### 台灣分子快速鑑定方法的蓬勃發展

李淑英博士介紹近年來所發展的各式分子快速鑑定方法，如 PCR、PCR-EIA、real-time PCR，這些方法的敏感度可達 10 CFU。目前一個病人同時被多於一種黴菌感染的多重性感染報告有增加的趨勢，因應需求，李博士的研究團隊亦建立微珠陣列分析法(microsphere beads array method)來鑑定一個檢體中的多種病原菌。此團隊也同時發展了 random amplified polymorphic DNA(RAPD)、pulsed field gel electrophoresis(PFGE)、repetitive sequence-based PCR(rep-PCR)、Amplified fragment length polymorphism(AFLP)及 Multilocus sequence typing (MLST)的方法來探討念珠菌感染的分子流行病學。其 PFGE 及 MLST 研究結果顯示具有抗藥性臨床分離的 *C. tropicalis* 菌株親緣性高，此結果與 *C. albicans* 個別病人專屬型別的特性不同。最近此團隊以 MLST 方法比較台灣白色念珠菌和英國 Dr. Frank Odds(2005 年致病性黴菌研討會所邀請的國外學者)所收集的菌株，結果顯示台灣有屬於台灣專有的菌株，下一步即是探討台灣菌株和世界其它地區所分離的菌株在致病力上的異同。目前網站上 database 全球之 diploid sequence types (DST)共有 724 筆，alleles 共有 619 筆，經李博士研究團隊的努力，台灣目前提供之 new DST 計有 44 筆(6.1%)，new alleles 計有 26 筆(4.2%)。

## 不同抗黴菌藥物感受性測試的比較及應用

抗黴菌藥物感受性測試有傳統的稀釋法及衍生出的紙錠法。身為臨床感染科的李細祥醫師為快速、少量且健保給付的需求，探討紙錠法與傳統的稀釋法間結果的一致性。此研究結論是：Mueller-Hinton 培養基加上 2% 的葡萄糖培養基進行紙錠法與傳統的稀釋法所得的結果一致性高。因此，當只有少量菌株時，醫院也許可以考慮以紙錠法來執行藥物感受性測試，以達到快速經濟的目的。

## 黴菌致病基因的基礎研究及展望

下一階段是由從事基礎研究的四位博士來進行報告。因 *C. albicans* 是最常造成黴菌感染的病原菌而且亦發展出以此菌為模式的研究技術，因此前三位講者都是討論以它為模式的致病力研究。由於(1)不含鐵的 lactoferrin 與 transferrin 會抑制 *C. albicans* 生長且提高它對寄主免疫系統的感受性；(2)*C. albicans* 的侵入性及細胞壁的組成在有無含鐵的培養基是不同的；(3)造成內皮細胞感染亦需要鐵；再加上(4) *C. albicans* 鐵的 transporter 有無會影響其致病力。有鑑於此，藍忠昱博士延續他在美國的研究，以基因體學的方式來鑑定 *C. albicans* 與鐵反應有關的基因。最近陸續有報導指出與細胞週期(cell-cycle)有關的基因也調控 *C. albicans* 的型態變化，進而影響其致病力。因此謝嘉慶博士以其研究 *Saccharomyces cerevisiae* 細胞週期的經驗來擴展其研究領域，目前他亦發現至少兩個與細胞週期有關的基因也負面調控 *C. albicans* 的型態變化。楊昀良博士的研究團隊以比較基因轉錄體(transcriptome)的方法鑑定在有致病力野生菌與無致病力的 *cph1/cph1* *efg1/efg1* 雙突變白色念珠菌中表現不同的基因。其中一個是產生 enolase 的 *CaENO1*。此團隊證實 *C. albicans* 只有一個基因序列產生 enolase，而且 *CaENO1* 也和白色念珠菌型態變化有關。更有趣的是，*efg1/efg1* 突變株對抗黴菌藥物的感受性增加，經實驗證明 *Efg1p* 負向調控 *ERG3*。因此，楊博士結論 *Efg1p* 不但與致病力有關，它也負向調控 *ERG3* 而與抗藥性有關。最後他報告血清不但誘發 *C. albicans* 的型態而且也抑制藥物幫浦 *CDR1* 的表現，進而提高菌株對抗黴菌藥物的感受性。菌株如何經由一個因子而同時調節致病力與抗藥性的訊息傳遞及一個環境因子如何驅動菌株不同的訊息傳遞將是下一個階段的研究方向。

## 抗黴菌疫苗的發展

洪瓊玉博士首先介紹一個令人羨慕的研究環境，在 San Antonio Center 一共有十幾個專家從事與臨床黴菌有關的研究，她個人是發展防治好發於沙漠地區的 *Coccidioidomycosis* 的疫苗。她闡述由不同表現蛋白系統的測試，進而至動物測試再到鑑定出細胞壁組成的三個不同的蛋白質在小鼠實驗具有保護效果的經歷。然而以經濟效益而言，卻沒有生技公司願意發展含有三個蛋白質的疫苗。因此，目前她的研究團隊正將三個不同的蛋白質中有作用的區域建構成一個組合蛋白，並測試此組合蛋白是否在小鼠實驗中仍具有保護效果。此演講呈現一個基礎研究結果應用到實用醫學是不容易的，需長期不懈的努力。

## 總結

在國家衛生研究院臨床組蘇益仁主任的鼓勵下，由筆者、台灣疾病管制局李淑英博士及台大醫院陳宜君醫師合力在 2002 年成立台灣黴菌研究團隊(Taiwan Mycology Group)，進行相關的研究及推廣工作。很高興這幾年來台灣對致病性黴菌研究有興趣的醫師及研究員的人數有增加的現象，希望藉由大家共同的努力，提供更多的知識，使我們更用心也更有信心地對抗黴菌感染。