

異質性萬古黴素抗藥性 金黃色葡萄球菌 (hVISA)

林尚儀¹ 饒雅婷² 盧柏樑^{1,3,4} 陳彥旭^{1,2,5}

高雄醫學大學附設醫院 ¹感染內科 ²感控室 ³醫學檢驗部微生物室

⁴高雄醫學大學醫學院 醫學系

⁵高雄醫學大學醫學院醫學研究所 熱帶醫學研究中心

異質性萬古黴素抗藥性金黃色葡萄球菌 (heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*; hVISA) 是一群對萬古黴素以臨床實驗室抗藥性試驗結果雖為具藥物敏感性，卻內含部分較高抗藥性菌落的金黃色葡萄球菌，目前該類菌株在世界各地有已有逐漸流行的趨勢，相當值得臨床醫療工作人員與微生物學者重視，包括台灣。目前，hVISA 的篩檢可以透過 Etest glycopeptide resistance detection (GRD)、Etest macromethod 以及 Brain heart infusion (BHI) screen agar plates 等方法進行篩檢，接著進行 modified population analysis profile / area under the curve (PAP/AUC) 進行確定。“高菌量”的感染症 (high-inoculum infection) 以及長期使用萬古黴素治療但卻治療失敗的個案與 hVISA 有關聯性。由於 hVISA 對萬古黴素有較高的抗藥性，治療選擇受到侷限，目前可使用的藥物包括 Linezolid、Daptomycin、Rifampin and fusidic acid、以及新一代 cephalosporins (Ceftobiprole、Ceftaroline)；其他 glycopeptide 類的抗生素 (Dalbavancin、Oritavancin 和 Telavancin) 對 hVISA 是否有效，仍需更進一步研究證明。雖然 hVISA 目前它的臨床意義不明確，但是它的出現通常暗示對萬古黴素的抗藥性增加，及早偵測抗藥性以及使用適當的抗生素是很重要的。(感控雜誌 2011;21:332-340)

關鍵詞： 金黃色葡萄球菌、萬古黴素、抗藥性

民國 100 年 9 月 1 日受理
民國 100 年 10 月 31 日接受刊載

通訊作者：盧柏樑
通訊地址：高雄市三民區自由一路100號
連絡電話：(07) 3121101 轉 5676

前言

西元 1880 年，蘇格蘭外科醫師 Alexander Ogston 首次從膿瘍中分離出金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)；金黃色葡萄球菌就漸漸成為臨床上很重要的致病菌，它所導致的感染症種類繁多，包括皮膚軟組織感染、骨髓炎、肺炎、腦膜炎、毒性休克徵候群、感染性心內膜炎甚至敗血症等等。西元 1940 年後，由於盤尼西林類抗生素的發明，金黃色葡萄球菌相關感染症的死亡率慢慢下降，但 1961 年後對甲氧苄青黴素 (methicillin) 具抗藥性之金黃色葡萄球菌 (methicillin-resistant *S. aureus*; MRSA) 開始產生，且在美國各大醫院流行，成為醫療照護相關感染的重要致病菌；在臺灣，根據衛生署疾病管制局台灣院內感染監測系統 (Taiwan Nosocomial Infection Surveillance System; TNIS) 顯示，於西元 2009 年，醫學中心加護病房醫療照護相關感染於 *S. aureus* 感染個案中高達 77.4% 為 MRSA。

自西元 1958 年後，萬古黴素 (vancomycin) 便開始用來治療嚴重的 MRSA 感染症，但是，由於細菌本身的突變以及萬古黴素廣泛使用下所形成的抗藥性篩選壓力 (selection pressure)，終於在 1997 年，日本發現了第一株對萬古黴素敏感度下降的金黃色葡萄球菌[1]，甚至 2002 年在美國出現了首例對萬古黴素具有抗藥性

的金黃色葡萄球菌株 (vancomycin-resistant *S. aureus*; VRSA) [2]；而 2003 年在台灣的 SMART surveillance 研究中指出，MRSA 菌株中 VISA 佔 0.7%，其中並未發現 VRSA [3]。

自今，對萬古黴素敏感度下降的金黃色葡萄球菌已經逐漸在全球流行；同時，也觀察到某些菌株在臨床與實驗室標準協會 (Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI) 準則判讀下，雖然被歸類為對萬古黴素具有敏感性，但是卻有 vancomycin minimum inhibitory concentration (MIC) 越來越高的情形，即所謂“MIC creep”之現象[4]；目前研究發現這群菌株中，部份有可能是異質性萬古黴素抗藥性金黃色球菌 (heterogeneous vancomycin-intermediate *S. aureus*; hVISA)，由於 hVISA 對萬古黴素抗藥性較高，所以它造成相關感染症的處理也越來越受到重視，本篇綜論主要目的就在於討論這群菌株的相關特性。

流行病學

由於臨床與實驗室標準協會 (CLSI) 的判定規則變動以及各個區域所使用的實驗室偵測方法不同，使得各個全球各地 hVISA 的盛行率不一；在亞洲，不同國家不同時間 hVISA 盛行率也差異甚多，過去 hVISA 在 MRSA 中的盛行率平均是 4.3% (從 0% 到 8.2%)[5]；香港在過去的研究

中，hVISA 的盛行率是 1.8%；近年來，hVISA 在中國的盛行率高達 15.7%，2003 年在台灣 hVISA 的盛行率約 0.7%；然而，2009 年在台灣某醫學中心 hVISA 在 MRSA 中的盛行率高達 8.1% [6]，顯示出 hVISA 在臺灣似乎有日漸流行的趨勢。

實驗室偵測方法

在一群對萬古黴素具敏感性 (vancomycin broth MIC \leq 2 ug per ml) 的金黃色葡萄球菌的菌株中，大約有十萬分之一到百萬分之一的機率會有一株 hVISA 菌株 [7]，所以使用一般實驗室方法 (例如 broth 或 agar dilution 方法) 來偵測 hVISA 是很困難的。

一、hVISA 的篩檢方法

不同的篩檢方法的特異性和敏感性也不盡相同，於此介紹三種篩檢方法：

1. Etest glycopeptide resistance detection (GRD)

將 0.5 McFarland standard inoculum 置於含 5% 羊血 (5% sheep blood) 的 Mueller-Hinton agar (MHA) 中；在攝氏 35 度溫度培養下，分別於二十四及四十八小時後判讀 vancomycin 及 teicoplanin strips (Etest GRD strips) 的抑菌環 (zone of inhibition)，只要二者其中之一的抑菌環大於 8 ug/ml 則有可能是 hVISA。

2. Etest macromethod

將 2.0 McFarland inoculum 200 ul 置於 brain heart infusion (BHI) agar plates 上，在攝氏 35 度溫度培養下，分別於二十四及四十八小時後判讀 vancomycin 及 teicoplanin strips (Etest GRD strips) 的抑菌環，假使 vancomycin 及 teicoplanin strips 的抑菌環同時大於 8 ug/ml 或 teicoplanin strip 的抑菌環大於 12 ug/ml 則有可能是 hVISA。

3. Brain heart infusion (BHI) screen agar plates

過去臨床與實驗室標準協會 (CLSI) 中所使用的 vancomycin screen agar 方法 (將 0.5 McFarland-standard suspension 10ul 置入含有 6 ug/ml vancomycin 的 brain heart infusion (BHIA6V) 進行培養，48 小時後，假使出現兩個以上菌落則判定為陽性)，主要是用來篩檢 vancomycin-resistant *S. aureus* (VRSA) 以及可能的 vancomycin-intermediate *S. aureus* (VISA) [8]，然而，(BHIA6V) 這個方法用來篩檢 hVISA 的敏感度很低，所以後來發展出添加不同濃度 vancomycin 的 BHI 來進行 hVISA 的檢測，但是敏感性或特異性也不盡理想 [9]；而 Howden 等人發現額外加入 20% horse serum 於 BHI agar 中可以增加 hVISA 的偵測率 [10]。

Sarah W. Satola 等人比較這三種 hVISA 篩檢方法發現，使用 Brain

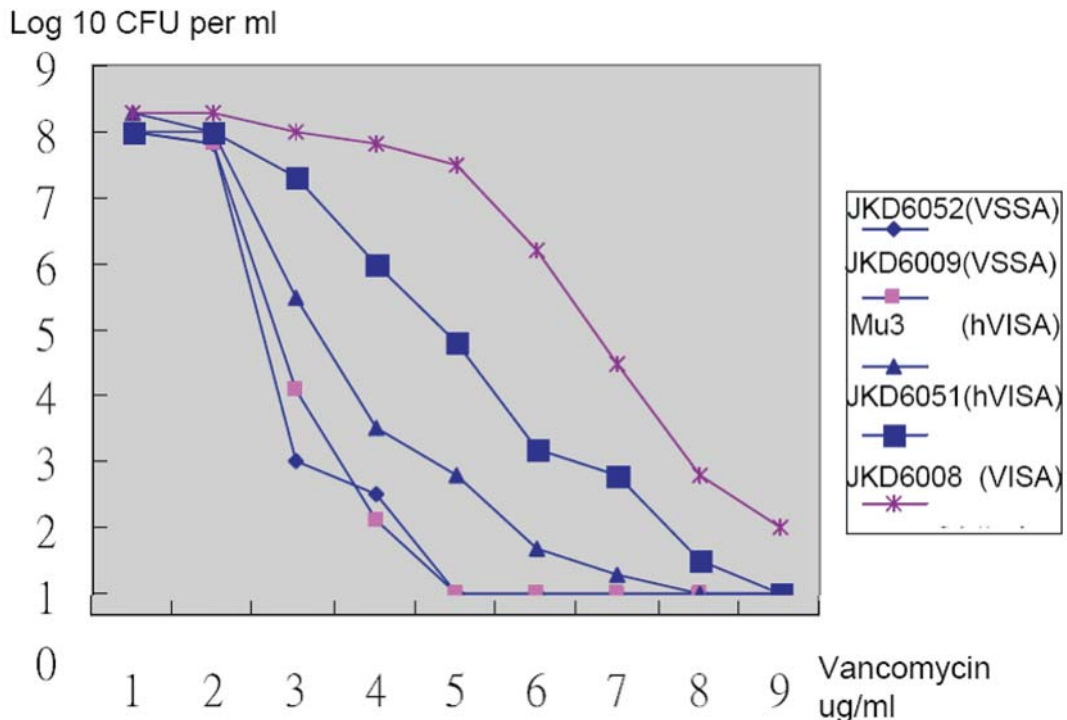
heart infusion (BHI) screen agar plates (其中包含 4 ug/ml 的 vancomycin 及 casein) 有較佳的敏感性及特異性 (使用 0.5 McFarland inoculum 有 90% 敏感性及 95% 特異性) [11]。

二、hVISA 的確定方法

標準的測定方式是經由 modified population analysis profile / area under the curve (PAP/AUC) 方式 [12]，其測定方式如下：

在 Tryptic Soy Broth (TSB) agar 培

養二十四小時後，將菌液稀釋成多種濃度，均勻滴在不同濃度 Vancomycin (0, 0.5, 1, 2, 2.5, and 4 mg/L) 的 BHI agar plate 上，並且使用推棒以劃圓方式均勻塗抹，在攝氏 37 度培養四十八小時後來計算菌落數，繪出 CFU per ml 和 vancomycin 濃度的相對圖並且計算出 area under curve (AUC)，與標準的 Mu3 strain (ATCC 700698) 的 AUC 比較，二者 AUC 比例介於 0.9 到 1.3 之間則定義為 hVISA (圖一)。



圖一 對萬古黴素具敏感性的金黃色葡萄球菌 (VSSA) 以及異質性萬古黴素抗藥性金黃色球菌 (hVISA) 的 population analysis profile 曲線，其中 Mu3 為 hVISA 的標準菌株 (reference strain)；與標準菌株 AUC 比例介於 0.9 到 1.3 之間則定義為 hVISA；JKD 6051 菌株為 hVISA，摘錄修改自 [13]。

臨床特點

由於各個研究偵測 hVISA 的方法學 (methodology) 不相同，研究的族群或採檢的樣本也都不盡相同，所以很難歸納出 hVISA 的臨床特點；不過，一般而言，hVISA 常常與“高菌量”的感染症 (high-inoculum infection) 有關聯性，例如感染性心內膜炎、骨髓炎、深部膿瘍、體內異體裝置物所致之感染 (prosthetic device infection) 等等；另外，長期使用萬古黴素治療但卻治療失敗也有機會篩選出 hVISA [13]。

近年來萬古黴素 MIC 攀升也和 hVISA 的發生率相關，隨著 Vancomycin MIC 上升，hVISA 所佔的比例也會逐漸上升[14]。

在一篇 meta-analysis 的研究中指出 [7]，hVISA 感染比 VSSA (Vancomycin susceptible *S. aureus.*) 感染多出 2.37 倍 glycopeptide 治療失敗的機會；雖然 hVISA 的感染不一定是導致治療失敗的主要原因，但是它可能是反映出治療失敗的結果。

雖然，持續性的菌血症 (persistent bacteremia) 常常會導致一些併發症，但是與 VSSA 比較，hVISA 似乎沒有較高的轉移性病灶 (metastatic complications)；另外，hVISA 感染也與延長住院天數有關係。

由於 hVISA 與“高菌量”的感染症、持續性的菌血症、高 vancomycin MIC 等等有相關性，是否 hVISA 感染

就意味著有較高的死亡率呢？至今仍然沒有確切的結論，同樣在這篇 meta-analysis 中發現 hVISA 和 VSSA 感染在三十天的死亡率 (30-day mortality rate) 是沒有差別的；作者認為這可能是因為 hVISA 的毒性 (virulence) 較弱或它會減低宿主的免疫反應所致。

治療選擇

一、Vancomycin

雖然 glycopeptide 治療 hVISA 感染失敗的機會似乎比 VSSA (vancomycin susceptible *S. aureus.*) 感染高[7]，但是也有研究指出，使用萬古黴素治療 hVISA 感染有可以接受的預後 (二十二位 hVISA 菌血症病人使用萬古黴素治療，可歸因死亡率 (Attributable mortality) 為 9.1%)[15]；目前萬古黴素是否建議可以用來治療 hVISA 感染仍然沒有結論，需要進一步的研究。

二、Linezolid

Linezolid 是 oxazolidinone 類的抗生素；雖然在 in vitro 中，它對金黃色葡萄球菌是抑菌性的 (bacteriostatic)，但是它依然可以處理嚴重的 MRSA 或是 vancomycin 治療失敗的 hVISA 感染 [16]，但是要注意長期 Linezolid 的使用，容易造成副作用的產生，尤其是骨髓抑制。

三、Daptomycin

Daptomycin 是從 *Streptomyces roseosporus* 粹鍊出來，屬於 cyclic lipopeptide 類的抗生素；在 in vitro 的實驗中，Daptomycin 對於 hVISA 仍是具有不錯的殺菌力 (bactericidal activity)[17]；然而，有些文獻指出在某些萬古黴素治療失敗的嚴重 MRSA 感染，可能因為金黃色葡萄球菌的細胞壁增厚，而導致 Daptomycin 的治療效果也不佳[16,18]；因此，臨床上在選用藥物或藥物更換的時機要特別注意，必要時可以加做 Daptomycin 的 MIC 測試。

四、新一代的 cephalosporins

Ceftobiprole 是新一代 cephalosporin 類的抗生素，它是第一個可以用來治療 MRSA 的 β -lactam 類的抗生素，在動物實驗中，Ceftobiprole 對於嚴重的 MRSA 感染性心內膜炎仍有治療成效[19]。

Ceftaroline 是另外一種具有廣效性抗菌範疇 cephalosporin 類的抗生素，它一樣對 MRSA 有治療效果；在 MRSA 或 hVISA 的感染性心內膜炎動物實驗中，與 Vancomycin 和 Linezolid 相比，Ceftaroline 的殺菌效果較快[20]。

五、Rifampin and fusidic acid

Rifampin 和 fusidic acid 都是用來治療 MRSA 感染的口服藥物，但是，假使單獨使用的話很容易產生抗藥性而導致治療失敗，因此，一般都必須

搭配另一種有效的抗生素合併使用才有效，例如，Rifampin 合併 Fusidic acid 或是 Rifampin 合併 quinolone 使用；在處理 Vancomycin 治療失敗的 hVISA 感染，使用這兩種藥物是有可能治療成功的[21]。

六、其他 glycopeptide 類的抗生素

Dalbavancin、Oritavancin 和 Telavancin 都是 lipoglycopeptide 類的抗生素，在嚴重 MRSA 感染的臨床試驗中都有不錯的成效，其中體外試驗顯示 Dalbavancin 和 Telavancin 對於 VISA 的效果不錯，但是對 VRSA 不好；Oritavancin 對 VISA 及 VRSA 的效果都不錯[22]；這三種抗生素對 hVISA 是否有效仍需進一步的研究證明。

結論

異質性萬古黴素抗藥性金黃色葡萄球菌 (hVISA) 逐漸在各地散播，雖然目前它的臨床意義不明確，但是它的出現通常暗示對萬古黴素的治療效果不佳；尤其在治療對甲氧苄青黴素具抗藥性之金黃色葡萄球菌 (MRSA) 所引起的“高菌量”感染症時，需謹慎評估治療反應，當萬古黴素的 MIC 偏高或出現異質性萬古黴素抗藥性金黃色葡萄球菌，及早換另一種類抗生素是合理的選擇。

參考文獻

1. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, et al: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother* 1997;40:135-6.
2. CDC: *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin--United States, 2002. *MMWR* 2002;51:565-7.
3. Ho CM, Hsueh PR, Liu CY, et al: Prevalence and accessory gene regulator (*agr*) analysis of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* among methicillin-resistant isolates in Taiwan-SMART program, 2003. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29:383-9.
4. Sader HS, Fey PD, Fish DN, et al: Evaluation of vancomycin and daptomycin potency trends (MIC Creep) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates collected in nine US medical centers from 2002 to 2006. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:4127-32.
5. Song JH, Hiramatsu K, Suh JY, et al: Emergence in Asian countries of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:4926-8.
6. Lin SY, Chen TC, Chen FJ, et al: Molecular epidemiology and clinical characteristics of heteroresistant vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* bacteremia in a Taiwan medical center. *J Microbiol Immunol Infect*, in press
7. Van Hal SJ, Paterson DL: Systematic review and meta-analysis of the significance of heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:405-10.
8. Walsh TR, Howe RA, Wootton M, et al: Detection of glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2001;47:357-8.
9. Fitzgibbon MM, Rossney AS, O'Connell B: Investigation of reduced susceptibility to glycopeptides among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from patients in Ireland and evaluation of agar screening methods for detection of heterogeneously glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2007;45:3263-9.
10. Howden BP, Ward PB, Xie S, et al: Identification of a new agar dilution screening method for the accurate detection of heterogenous-vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* (hVISA). *Antimicrob Agents Chemother* 2004;44:140-1.
11. Satola SW, Farley MM, Anderson KF, et al: Comparison of detection methods for heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*, with the population analysis profile method as the reference method. *J Clin Microbiol* 2011;49:177-83.
12. Wootton M, Howe RA, Hillman R, et al: A modified population analysis profile (PAP) method to detect hetero-resistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* in a UK hospital. *J Antimicrob Chemother* 2001;47:399-403.
13. Howden BP, Johnson PDR, Ward PB, et al: Isolates with low-level vancomycin resistance associated with persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:3039-47.
14. Musta AC, Riederer K, Shemes S, et al: Vancomycin MIC plus Heteroresistance and outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: Trends over 11 years. *J Clin Microbiol* 2009;47:1640-4.
15. Riad Khatib, Jinson Jose, Adina Musta, et al: Relevance of vancomycin intermediate susceptibility and heteroresistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:1594-9.
16. Huang YT, Hsiao CH, Liao CH, et al: Bacteremia and infective endocarditis caused by a non-daptomycin-susceptible, vancomycin-intermediate, and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain in Taiwan. *J Clin Microbiol* 2008;46:1132-6.
17. Sader HS, Becker HK, Moet GJ, et al: Antimicrobial activity of daptomycin tested against *Staphylococcus aureus* with vancomycin MIC of 2 μ g/mL isolated in the United States and European hospitals (2006-2008). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010;66:329-31.
18. Bennett JW, Murray CK, Holmes RL, et al: Diminished vancomycin and daptomycin susceptibility during prolonged bacteremia with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008;60:437-40.

19. Chambers HF: Evaluation of ceftobiprole in a rabbit model of aortic valve endocarditis due to methicillin-resistant and vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:884-8.
20. Jacqueline C, Caillon J, Le Mabecque V, et al: In vivo efficacy of ceftaroline (PPI-0903), a new broad-spectrum cephalosporin, compared with linezolid and vancomycin against methicillin-resistant and vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a rabbit endocarditis model. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:3397-400.
21. Howden BP, Ward PB, Charles PGP, et al: Treatment outcomes for serious infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced vancomycin susceptibility. *Clin Infect Dis* 2004;38:521-8.
22. Zhanel GG, Calic D, Schweize F, et al: New lipoglycopeptides: a comparative review of Dalbavancin, Oritavancin and Telavancin. *Drugs* 2010;70:859-86.

Heterogeneous Vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*: A Systematic Review

Shang-Yi Lin¹, Ya-Ting Jao², Po-Liang Lu^{1,3,4}, Yen-Hsu Chen^{1,2,5}

¹Division of Infectious Diseases, Department of Internal Medicine;

²Department of Infection Control;

³Laboratory Medicine, Kaohsiung Medical University Hospital, Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan;

⁴School of Medicine;

⁵Graduate Institute of Medicine, Tropical Medicine Research Center, College of Medicine, Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan

Heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (hVISA) is a resistant subpopulation of vancomycin-sensitive *S. aureus*, according to the definition of the Clinical and Laboratory Standards Institute. Currently, hVISA has been detected in many countries, including Taiwan. The screening methods of hVISA include the glycopeptide resistance detection macro-method and brain heart infusion screen agar plates. The confirmation method is a modified population analysis profile/area under the curve. “High-inoculum” infection and vancomycin treatment failure are commonly associated with hVISA infection. Because hVISA is a resistant subpopulation of vancomycin-sensitive *S. aureus*, the therapeutic options are limited. Vancomycin, linezolid, daptomycin, rifampin, fusidic acid, and new cephalosporins (ceftobiprole, ceftaroline) are antibiotics currently available for treating hVISA. The efficacy of other glycopeptides (dalbavancin, oritavancin, and telavancin) requires further investigation. Although the clinical significance of hVISA is yet to be determined, its existence often implicates a poor response to vancomycin treatment. It is important to identify the strains for early modification of antibiotic treatment.

Key words: *Staphylococcus aureus*, vancomycin, resistance