

對萬古黴素感受性下降之 金黃色葡萄球菌

何承懋

中國醫藥大學附設醫院 內科部感染科/檢驗醫學部

金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 在臨床上除了可以造成各式各樣的感染症，一直以來它也是各種醫療照護感染最重要的致病菌之一。就抗生素的發展歷史來看，雖然一直不乏可以治療金黃色葡萄球菌的藥物，從青黴素 (penicillin) 到甲氧苯青黴素 (methicilline) 再到萬古黴素 (vancomycin)，但隨著抗藥菌株的散布，臨床上可以使用的有效抗生素越來越少，這也增加了選擇經驗性抗生素治療的難度。近年來金黃色葡萄球菌對萬古黴素的感受性逐漸降低，特別是異質性萬古黴素抗藥性金黃色葡萄球菌 (heterogeneous vancomycin-intermediate *S. aureus*, hVISA) 和萬古黴素抗藥性金黃色葡萄球菌 (包括 vancomycin intermediate *S. aureus*, VISA 和 vancomycin-resistant *S. aureus*, VRSA) 的出現，在臨床上造成很大的衝擊，因為向來被認為治療抗甲氧苯青黴素金黃色葡萄球菌 (methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA) 的首選藥物萬古黴素，目前也變得不可靠了。這些對萬古黴素感受性下降的金黃色葡萄球菌除了在臨床上造成治療的困難之外，對於臨床的微生物室而言，偵測這些相對抗藥性的菌株 (hVISA 和 VISA) 也是一項挑戰，因為針對 hVISA 和 VISA，雖然有標準的方式可以偵測，但方法都過於昂貴且繁複，無法有效的應用在臨床大量的菌株。面對日益嚴重的抗藥性問題，除了治療本身之外，如何做好感染管制以避免這些抗藥細菌或基因的散布，以及不必要的抗生素濫用，都是刻不容緩的議題。(感控雜誌 2012;22:227-233)

關鍵詞：萬古黴素、異質性萬古黴素抗藥性金黃色葡萄球菌、抗藥性、抗甲氧苯青黴素金黃色葡萄球菌

民國 101 年 7 月 1 日受理
民國 101 年 8 月 30 日接受刊載

通訊作者：何承懋
通訊地址：台中市北區育德路 2 號
連絡電話：(04) 22052121

前 言

金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 為革蘭氏陽性菌中主要致病菌之一，它和其它葡萄球菌屬最主要的實驗室區別在於其凝固酶 (coagulase) 和凝集因子 (clumping factor) 呈現陽性，早至 1880 至 1882 年，學者 Ogston 就曾在醫學文獻中提及其所引起的相關感染症。直到現在，金黃色葡萄球菌在臨床上仍是引起各種嚴重感染症的最重要病原菌之一，包括菌血症、心內膜炎、骨髓炎、肺炎等，甚至引起敗血性休克而造成死亡[1]。根據台灣院內感染監視系統 (Taiwan Nosocomial Infections Surveillance System, TNIS) 的資料，從 2006 年至 2010 年醫學中心加護病房內造成各種醫院感染的病原菌中，金黃色葡萄球菌一直是最重要的致病菌之一，其中抗甲氧苯青黴素金黃色葡萄球菌 (methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA) 在各年度所佔的比率則從 84.5% 至 76.6% 不等。

金黃色葡萄球菌抗藥性的產生

在以往 MRSA 通常被認為是典型的醫院感染菌株，自從 1996 年之後，帶有較小 SCCmec 的 MRSA 菌株開始在世界各地的社區中散布[2]。相較於傳統醫院感染 MRSA 中所存在的第二型和第三型 SCCmec (其大小約為

34~67 kb)，社區型的 MRSA 其所帶的第 4 型或第 5 型 SCCmec 分子量較小 (其大小約為 20~27 kb)，這也意謂著它們通常較少帶有針對非內醯胺類 (non- β -lactam) 抗生素的抗藥基因 [3,4]。金黃色葡萄球菌抗藥性的產生及這些抗藥菌株的散播和臨床上大量使用的抗生素有著密切且不可分割的關係[5]。青黴素 (penicillin) 是 1941 年開始應用在臨床上治療病患，金黃色葡萄球菌對其抗藥性的發展如下：1 至 2 年之內就有抗藥性的菌株產生，25% 的醫院菌株對其產生抗藥性花了 6 年的時間，25% 的社區菌株對其產生抗藥性則是花了 15~20 年的時間，目前金黃色葡萄球菌對青黴素的感受性通常在 3% 以下。甲氧苯青黴素 (methicillin) 是 1961 年開始應用在臨床上，金黃色葡萄球菌在使用的 1 年之內就有抗藥性報告，經過了 25~30 年的時間，25% 的院內菌株對其有抗藥性。萬古黴素 (vancomycin) 是在 1956 年開始引進臨床上使用，起初是用來治療對 penicillin 有抗藥性的金黃色葡萄球菌，但因其副作用較大，在 methicillin 出來之後一度被捨棄不用，不過當 methicillin 的抗藥性增加之後，萬古黴素便成為治療 MRSA 感染的標準用藥。然而萬古黴素的抗藥性一直要到 40 年之後的 1996 年，臨床上才有對萬古黴素感受性下降的金黃色葡萄球菌感染案例報告[6]。

萬古黴素針對金黃色葡萄球菌 敏感性測試標準的改變

儘管這些抗藥的菌株在臨床上仍不常見，但是對萬古黴素有感受性的金黃色葡萄球菌，隨著長時間萬古黴素的大量使用，臨床菌株的最低抑菌濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 也逐漸上升，同時也有越來越多的證據顯示當金黃色葡萄球菌的最低抑菌等於或大於 2 $\mu\text{g/ml}$ 時，治療失敗的比率會大幅度的提高[7]。所以臨床與實驗室標準協會 (Clinical Laboratory Standard Institute, CLSI) 於 2006 年將金黃色葡萄球菌對萬古黴素感受性的 breakpoint，從 $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ 下調至 $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ ，讓微生物的敏感性報告更符合臨床需求[8]。根據目前 CLSI 的規範，這些有抗藥性的金黃色葡萄球菌可以根據其對萬古黴素的最低抑菌濃度區分成萬古黴素高度抗藥性金黃色葡萄球菌 (vancomycin-resistant *S. aureus*, VRSA: vancomycin MIC $\geq 16 \mu\text{g/ml}$)、萬古黴素中度抗藥性金黃色葡萄球菌 (vancomycin intermediate *S. aureus*, VISA: vancomycin MIC 4~8 $\mu\text{g/ml}$) 及異質性萬古黴素抗藥性金黃色葡萄球菌 (heteroresistant VISA, hVISA: vancomycin MIC 1~2 $\mu\text{g/ml}$) [9]。

然而即使調低了萬古黴素針對金黃色葡萄球菌敏感性測試的標準，在臨床上仍有很大的問題存在，主要的因素是 hVISA 的存在和目前臨床實驗

室使用的常規藥敏測試方式無法準確測得 VISA。針對葡萄球菌萬古黴素的敏感性測試，不管是 CLSI 或是歐洲藥檢委員會 (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) 都已經不建議使用紙錠擴散試驗 (disc diffusion test)，因為用紙錠測出抑制圈大小和建議使用的標準稀釋試驗 (dilution methods，包括 microdilution、macrodilution 和 agar dilution) 測出的敏感性結果相關性不好，無法準確的區分出 VSSA 和 VISA。但是標準的稀釋試驗，因為人力和經費上的考量，不可能常規的應用在日常臨床菌株的測試，所以目前國內各個臨床實驗室通常使用自動化的儀器 (Phoenix 或是 Vitek 2) 來執行敏感性的測試，但已經有研究指出即使這兩種儀器的測試基本原理是採用稀釋試驗，而且也都經過美國聯邦食品藥物管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 的認可，但和標準的稀釋試驗結果有一定比例的差異性[10]，而臨床上用來確定抗萬古黴素腸球菌 (vancomycin-resistant *Enterococcus*, VRE) 的 vancomycin screening agar，雖然是 CLSI 認可的篩選方式，但其中所含的萬古黴素濃度為 6 $\mu\text{g/ml}$ ，所以可能會沒有偵測到 MIC 為 4~6 $\mu\text{g/ml}$ 的 VISA，敏感性不夠高。

金黃色葡萄球菌對萬古黴素的 抗藥機轉及 hVISA 的偵測方式

VRSA 的抗藥性機轉已被證實是金黃色葡萄球菌由 VRE 獲得 *vanA* 這個抗藥基因所致[11]。但引起 VISA 和 hVISA 的抗藥機轉目前並沒有定論，唯一共通點就是這兩種抗藥的金黃色葡萄球菌其細胞壁都有增厚的情形，而且其抗藥性和細胞壁的厚度呈現正相關[12,13]。而細胞壁的增厚會使萬古黴素大量的“卡”在細胞壁上，無法到達細胞壁內側的作用部位，因而對萬古黴素產生耐受性。其中的 hVISA，雖然對萬古黴素的 MIC 落於感受性的範圍，但仍有小於 $1/10^6$ 比例的菌株其 MIC 是超過 $2 \mu\text{g/ml}$ ，因為目前測試 MIC 的標準方法並不能測出如此低比例的抗藥性菌株 (agar dilution、macrodilution 和 microdilution 所使用的菌量分別是 1×10^4 、 5×10^5 和 5×10^4 CFU/ml)。根據統計，金黃色葡萄球菌對萬古黴素 MIC 為 2 或是 $3 \mu\text{g/ml}$ 時，其中有一半以上的菌株是 hVISA；而 MIC 為 $1.5 \mu\text{g/ml}$ 的 VSSA 中，hVISA 所佔的比率也可以達到 10~20%。至於 hVISA 在臨床上的盛行率差異很大，可以從 0% 到大於 30% [10,14]，這是因為不同的年代、地區和測試方法的差異性，其中測試方法可能存在著最大的問題，因為到目前並沒有一個公認的標準方式可應用在臨床上常規的偵測 hVISA。而台灣 VISA 和 hVISA 的盛行率在一個以 2003 年的菌株為研究的材料中分別為 0.2% 和 0.7% [15]，但因為其使用的初步篩選方式敏感性較差，有可能出現

低估的情形。而這些 hVISA 的存在，也是一個臨床上的重要問題，因為已有足夠的臨床證據顯示 hVISA 所造成的感染若使用萬古黴素來治療，相較於對萬古黴素具感受性的金黃色葡萄球菌，不論是在治療的失敗率、住院天數、菌血症的持續時間都會增加 [16,17]。目前 hVISA 的測定方式，通常是採用較高濃度的菌液 (如 McFarland 2.0) 或是延長培養的時間 (48 小時)，而目前公認最準確的方式為群分析測試 (population analysis profile, PAP) [18]，但是 PAP 的測定方式是相當費時且須要大量的人力，因此在進行 PAP 之前，最好能有一個方便且敏感性和特異性都高的初步篩選測試 (screening test)，如此一來可以大大的提升檢驗的效率。目前從文獻上敏感性較高的 screening test 有以下列幾種[10,19]：

(1) MHA (Mueller Hinton Agar) + teicoplanin at $5 \mu\text{g per ml}$ ，使用的菌液濃度為 $10 \mu\text{l}$ of a 2-McFarland standard suspension (MHA5T)，於 48 小時後判讀，此方法為法國微生物協會所建議，優點是方便執行，但其敏感性 (48 h, 65~79%) 和特異性 (48 h, 35~95%) 在不同的研究中差異性較大，且和其它的方法比較起來敏感性較低。

(2) Macromethod Etest (MET)，它是使用較高的菌液濃度 (2-McFarland) 和較長的時間做培養，其敏感性 (48 h, 69~98.5%) 和特異性 (48 h, 89~94%)

要比 MHA5T 來得好，但 E-test 的費用偏高，且在不同的研究中使用的菌液數量有所差異，因此敏感性的差異性較大。

(3) Etest GRD (GISA resistant detection) 所使用的菌液濃度為一般實驗室所採用的標準濃度 (即 0.5 McFarland standard)，但所使用的培養基為含有 5% blood 的 MHA。其 24 小時的敏感性和特異性分別為 70~77% 和 98~100%，而 48 小時的判讀敏感性可加至 93~94%，而仍有高的特異性 (82~95%)。針對 hVISA 的測定，E-test GRD 是一個不錯的選擇，但其費用很高，並不適合臨床用來做大量菌株的篩檢。

(4) BHI (brain heart infusion) 篩選培養基。它是 BHI agar 內含有 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的萬古黴素再加上 16 g/L 的 pancreatic digest casein，相較於之前的幾種檢測方式有不錯的敏感性和特異性 (若是使用的菌液濃度為 0.5 McFarland，則敏感性和特異性分別為 90% 和 95%；若是增加菌液濃度至 2.0 McFarland，則敏感性會達到 100%，而特異性則會降至 68%)。因為其所須的費用較 E-test 低且方便大量操作，所以是臨床用來大量篩選 hVISA 的一項不錯的方法。

結 論

從抗生素發展的歷史來看，金黃色葡萄球菌是一種適應力極好的微生

物，能造成各種嚴重的感染，也能對各種抗生素快速的產生抗藥性 (除了萬古黴素之外)。也因此在過去萬古黴素向來被視為治療 MRSA 的首選用藥，然而隨著抗藥性的出現，這個觀念不再被認為是金科玉律，再加上一般的臨床微生物室目前並無法有效且正確的偵測出 hVISA 和 VISA，因此臨床上在面對 MRSA 的感染，除了感染管制的考量之外，治療藥物的選擇更須要謹慎，特別是相對重症的病患。因此當懷疑的抗藥性菌株的感染或是臨床上使用萬古黴素治療的反應不佳時，目前在台灣還可以使用的藥物包括了：linezolid、fosfomicin、daptomycin、tigecycline、rifampin + fucidic acid 等。不過這些藥物各有其不同的臨床適應症和副作用，在使用之前必須根據病患的病情和潛在的疾病作整體的考量，而且在使用一段時間之後，也已經有文獻報告金黃色葡萄球菌對這些藥物的抗藥性。從歷史來看，人類和微生物的戰爭從來沒有停過，在引進抗生素做為臨床治療初期，人類似乎明顯佔了上風，但這些抗生素在短時間大量的使用之後，在選擇性的壓力之下，各種抗藥性於焉產生，甚至出現所謂的“ESKAPE” [20]，其中的“S”就是金黃色葡萄球菌。面對這些“多重”或是“全”抗藥的細菌，除了治療本身之外，如何避免這些抗藥細菌或基因的散布，以及避免不須要的抗生素濫用，以減低對這些病原菌的選擇性壓力，都是刻

不容緩的議題。

參考文獻

1. Lowy, FD: *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med 1998;339:520-32.
2. Centers for Disease, C. and Prevention, Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-Minnesota and North Dakota, 1997-1999. MMWR 1999;48:707-10.
3. Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, et al: The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Trends Microbiol 2001;9:486-93.
4. Zetola N, Francis JS, Nuermberger EL, et al: Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. Lancet Infect Dis 2005;5:275-86.
5. Chambers HF: The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? Emerg Infect Dis 2001;7:178-82.
6. 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.
7. Wang G, Hindler JF, Ward KW, et al: Increased vancomycin MICs for *Staphylococcus aureus* clinical isolates from a university hospital during a 5-year period. J Clin Microbiol 2006;44:3883-6.
8. Tenover FC, Moellering RC Jr: The rationale for revising the Clinical and Laboratory Standards Institute vancomycin minimal inhibitory concentration interpretive criteria for *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis 2007;44:1208-15.
9. Sakoulas G, Moellering RC Jr: Increasing antibiotic resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. Clin Infect Dis 2008;46 Suppl 5:S360-7.
10. Howden BP, Davies JK, Johnson PD, et al: Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. Clin Microbiol Rev 2010;23:99-139.
11. Chang S, Sievert DM, Hageman JC, et al: Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. N Engl J Med 2003;348:1342-7.
12. Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR, et al: Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. Glycopeptide-Intermediate *Staphylococcus aureus* Working Group. N Engl J Med 1999;340:493-501.
13. Cui L, Ma X, Sato K, et al: Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 2003;41:5-14.
14. Liu C, Chambers HF: *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods. Antimicrob Agents Chemother 2003;47:3040-5.
15. 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.
16. Charles PG, Ward PB, Johnson PD, et al: Clinical features associated with bacteremia due to heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis 2004;38:448-51.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, et al: Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2009;48:1-12.

Staphylococcus aureus with Reduced Susceptibility to Glycopeptides

Cheng-Mao Ho

Division of Infectious Disease & Department of Laboratory Medicine, China Medical University Hospital, Taichung, Taiwan

Staphylococcus aureus is an important causative agent of a wide variety of community and healthcare-associated infections, from local skin and soft tissue infection to deep-seated abscesses and osteomyelitis, and life-threatening septicemia and endocarditis. Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) is a major cause of hospital-acquired infections worldwide for which glycopeptide antibiotics, including vancomycin, are the standard treatment option. *S. aureus* with reduced vancomycin susceptibility was first isolated in 1996. The geographic range and frequency of such isolates, which includes vancomycin-resistant *S. aureus* (VRSA), vancomycin-intermediate *S. aureus* (VISA), and heteroresistant VISA (hVISA), have increased. The prevalence of MRSA isolates with reduced vancomycin susceptibility leads to challenges in both clinical therapeutics and laboratory diagnosis because of a lack of rapid, efficient laboratory detection methods. The growing problem of antibiotic resistance can only be resolved with infection control and antimicrobial agents in order to prevent this resistance from spreading.

Key words: Vancomycin, hVISA, resistance, MRSA