

國內外新知--抗黴菌藥物感受性試驗：紙錠法的評估

抗黴菌藥物感受性試驗：紙錠法的評估

編輯部

黴菌不但會造成局部性的表皮感染，還會引起致命的全身性感染。近年由於免疫系統缺陷患者的壽命延長，使得遭受伺機性病原菌感染患者大量增加，而各種侵入性醫療器材及抗生素的不當使用，更導致黴菌感染在院內感染中已成為不可被忽視的問題[1]。在致病性黴菌中，以念珠菌佔最大比例。然而不同種的念珠菌對於抗黴菌藥物的感受性也有所不同。例如：Candida krusei 和 Candida glabrata 對 fluconazole 大多具有抗藥性[1,2]，而 amphotericin B 治療 Candida lusitanae 感染的失敗率亦較高[1,3]。因此抗黴菌藥物感受性試驗的目的，就是希望以實驗室的方法預測臨床治療的效果；也就是偵測致病黴菌對臨床使用之抗黴菌藥物的感受性，以提供醫師參考，給予患者最適當的處方。

本文[4]作者在 2001 年自各國 61 家醫學中心收集近 1,500 株造成血流感染的臨床念珠菌。C. glabrata 是在非白色念珠菌中造成黴菌感染頻率較高的菌種，而且 C. glabrata 對 azole 類藥物產生抗藥性的比率也比較高。因此正確地測出 C. glabrata 對 azole 的感受性在臨床治療上具有非常重要的角色，故本文作者分別在培養基上進行紙錠法與 E test 來測定 235 株造成血流感染 C. glabrata 對 fluconazole 與 voriconazole 的藥物感受性，並且將結果與美國國家臨床實驗室標準委員會(National Committee for Clinical Laboratory Standards; NCCLS)於 1997 年發表準則中的培養液稀釋法[5]測得的結果做比較，以進一步評估紙錠法與 E test 的方法。

美國國家臨床實驗室標準委員會建議稀釋法以 RPMI-1640 為培養基。本文作者則比較另外兩種培養基對 E test 的影響，它們分別為含有 2%葡萄糖的 RPMI-1640 agar (RPG agar)及每毫升含有 0.5 μ g methylene blue 的 Mueller-Hinton agar (MBE agar)。而紙錠法則是採用 MBE agar 做為培養基。

稀釋法與 E test 的最低抑菌濃度均在黴菌培養 48 小時後判讀，而紙錠法則是在培養 24 小時後判讀。在分析藥物感受性結果時，當紙錠法或 E test 判讀為感受性(susceptible)而稀釋法判讀為抗藥性(resistant)時，則定義為嚴重錯誤(very major error)；當紙錠法或 E test 判讀為抗藥性而稀釋法判讀為感受性時，則定義為錯誤(major error)；當一種方法判讀為感受性或抗藥性而另一種方法判讀為藥劑依賴型感受性(susceptible-dose dependent)時則定義為輕微錯誤(minor error)。

表一顯示以 fluconazole 而言，62%左右的 E test 與稀釋法的結果達到一致性，而 62%左右的紙錠法與稀釋法的結果具有一致性。與稀釋法的結果相比，E test 判讀結果中並沒有嚴重錯誤發生，而且紙錠法產生嚴重錯誤判讀的比率也只有 0.4%。但是使用紙錠法檢測，最大的限制是無法偵測 *C. glabrata* 對 fluconazole 的藥劑依賴型感受性。此外，無論是紙錠法或 E test 與稀釋法對 voriconazole 感受性的測試與稀釋法均可達到高比率的一致性。[譯者評]除了本文作者之外，Barry 及 Morace 的研究團隊也有比較不同抗黴菌藥物感受性的報告[6,7]。Barry 團隊發現 E test 和紙錠法對 fluconazole 感受性測試的結果是精確且具有再現性。此團隊的研究與本文有一項明顯的差異是：此團隊偵測的 495 株黴菌中只有 37 株是 *C. glabrata*。Morace 團隊亦發現 E test、紙錠法與稀釋法的結果相類似。令人意外的是當他們將偵測的 793 株念珠菌中的 133 株 *C. glabrata* 分出來個別做比較時，其結果則與本文相似。他們同樣也發現 E test 與紙錠法測出的結果與稀釋法的一致性比率分別只有 68%與 50%；而其中不一致的結果，大部分落在輕微錯誤。

爲了因應黴菌感染逐年增加的趨勢，美國國家臨床實驗室標準委員會繼 1997 年發表 M27-approved 稀釋法(broth dilution method)後，在 2003 年發表 M44-proposed 提供有關紙錠法的準則[8]。紙錠法的發展符合簡單、快速及低成本的原則。值得一提的是，最低抑菌濃度是用來參考而不是治療的最終指標。以伺機型黴菌感染爲例，大部分得到黴菌感染的人都有其它潛在的疾病。除此，影響抗黴菌藥物功效的因素還包括寄主的免疫功能、感染部位、外來導管及是否遵照醫師處方適時適量地使用藥物。[楊昀良譯評]

表一 不同抗黴菌藥物感受性測試之比較

抗黴菌藥物	方法	感受性的百分比			不同判讀結果百分比			結果一致百分比
		感受性	藥劑量依賴感受性	抗藥性	輕微錯誤	錯誤	嚴重錯誤	
Fluconazole	稀釋法	57	36	7				
	E test-RPG	32	54	14	46	1.7	0	52.3
	E test-MBE	44	44	12	36.6	1.7	0	61.7
	紙錠法	90	2	8	34.9	0	0.4	64.7
Voriconazole	稀釋法	93		7				
	E test-RPG	92		8		2.6	2.6	94.8
	E test-MBE	93		7		1.7	2.1	96.2
	紙錠法	94		6		0.9	1.7	97.4

參考文獻

1. Yang YL, Lo H-J: Mechanisms of antifungal agent resistance. J Microbiol Immunol Infect 2001;34:79-86.

2. Orozco AS, Higginbotham LM, Hitchcock CA, et al: Mechanism of fluconazole resistance in *Candida krusei*. Antimicrob Agents Chemother 1998;42:2645-9.

3. Hadfield TL, Smith MB, Winn RE, et al: Mycoses caused by *Candida lusitanae*. Rev Infect Dis 1987;9:1006-12.

4. Pfaller MA, Diekema DJ, Boyken L, et al: Evaluation of the E test and Disk Diffusion Methods for Determining Susceptibilities of 235 Bloodstream Isolates of *Candida glabrata* to Fluconazole and Voriconazole. *J Clin Microbiol* 2003;41:1875-80.

5. National Committee of Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; M27 approved standard. 1997. Wayne, Pennsylvania NCCLS.

6. Barry AL, Pfaller MA, Rennie RP, et al: Precision and accuracy of fluconazole susceptibility testing by broth microdilution, E test, and disk diffusion methods. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:1781-4.

7. Morace G, Amato G, Bistoni F, et al: Multicenter comparative evaluation of six commercial systems and the national committee for clinical laboratory standards m27-a broth microdilution method for fluconazole susceptibility testing of *Candida* species. *J Clin Microbiol* 2002;40:2953-8.

8. National Committee of Clinical Laboratory Standards. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; proposed guideline. 2003. Wayne, Pennsylvania NCCLS.