

醫學黴菌訓練課程記事

羅秀容

國家衛生研究院

目前，在世界各地黴菌感染都在持續增加中，如何因應此狀況，是相關專業人士所關注的焦點。為了增加足夠的人員來防治黴菌感染，第二屆為期兩天半的亞太地區醫學黴菌訓練課程 (Medical Mycology Training Network; MMTN) 在新加坡舉辦，其目的是希望參加學員能將所學帶回到自己國家，進而傳播出去，有效率地增加相關人才。

此課程首先由 Dr. Deanna Sutton 簡介醫學黴菌；再來由 Dr. Monica Slavin 分析目前診治黴菌感染的需求與挑戰；然後由 Dr. Slavin 以臨床醫師身份及 Dr. Annette Fothergill 以實驗室成員的角色來分享臨床醫師與實驗室成員間的密切關係；接著是 Dr. Tan Ai Ling 介紹致病性酵母菌型黴菌的鑑定。再來就是 Drs. Sutton 與 Fothergill 共同帶領我們實地觀察酵母菌型黴菌在不同培養基的型態與顏色、菌絲型黴菌在顯微鏡下的型態和介紹抗黴菌藥物感受性測試的進展。隨後由 Drs. Tan Ban Hock、Slavin、Atul Patel、Thomas Patterson、Siri-Orn Watcharananan 及

Liu Zhengyin 分析目前黴菌防治的策略與實際個案。北京大學的 Dr. Ruoyu Li 則簡介現有的抗黴菌藥物及其抗藥性產生的機制。Dr. Haran Schlammm 分享針對 voriconazole 治療藥物濃度監測 (therapeutic drug monitoring; TDM) 的研究心得；另外，Dr. Cheah Foong Koon 與我們分享不少放射影像，說明放射科在診治黴菌感染所扮演的角色。Drs. Arunaloke Chakrabarti 與 Tania Sorrell 分別介紹在亞太區較少見的黴菌所引起的個案，其中包括 *Scedosporium*、*Fusarium*、*Trichosporon*、*Paecilomyces*、*Histoplasma*、*Blastomyces*、*Penicillium*、*Sporotrichum* 及 *Zygomycetes* 等。最後，Dr. Sorrell 針對 *Cryptococcus* 做精闢的演講。

以下是針對幾個單元作較詳細的紀錄：

黴菌的種類

據估計，大自然中約有 150 萬種黴菌，目前被命名的約有 44 萬種，其中約有 200 種會造成人類與動物疾病。由於基因定序方法不斷的發展，

提供分類上的一個新利器。目前依 18S-rRNA 的序列可將黴菌分為四個門，其中含最多種的是 Ascomycota 門，包括 *Candida*、*Aspergillus* 及 *Fusarium* 等三萬二千多種菌；再來是 Basidiomycota 門，包括 *Cryptococcus*、*Trichosporon* 及 *Malassezia* 等三萬多種菌；然後是 Zygomycota 門，包括 *Rhizopus*、*Mucor* 及 *Lichtheimia* 等一千多種菌；第四個是含近千種菌的 Chytridomycota 門。

與黴菌感染較密切的事件

西元 1900 年代開始發現黴菌是人類致病菌之一；1940 年代開始研發抗黴菌藥物；1950 年代開始使用會降低免疫系統功能的類固醇；1954 年幾位醫學黴菌界的前輩因需求成立了 International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM)；1960 年代，降低免疫系統功能作為治療策略的免疫抑制療法 (Immuno Suppressive Therapy) 與導管侵入性治療開始使用，這是增加黴菌感染個案因素之一；1962 年為伺機型致病性黴菌 (opportunistic fungal pathogen) 下了定義；1970 年代開始器官移植；1980 年代愛滋病人人口急速增加；1990 年副作用較低的 fluconazole 上市，防治黴菌感染成功地跨前一大步；1997 普遍使用雞尾酒療法來治療愛滋病 (Highly Active Antiretroviral Therapy; HAART)，也改善了病人黴菌感染的情況。

造成黴菌感染菌種的變遷

新抗黴菌藥的發展與抗黴菌藥的頻繁使用，雖控制了不少的黴菌感染，然而也造成感染菌種分佈的改變。例如，在長期使用抗黴菌藥物下的篩選壓力，造成對常使用的 fluconazole 較具抗藥性的 *C. krusei* 及較容易產生抗藥性的 *C. glabrata* 與 *C. tropicalis* 感染比率升高；而 *Cryptococcus* 與 *Aspergillus* 屬的菌引起的感染個例也有增加的趨勢。另外，也有新興菌種造成感染個案陸續被報導。

診治黴菌感染的需要與挑戰

本人日前 (2010 年感控雜誌 20 期 334-340 頁) 已談到目前診治黴菌感染面臨的挑戰，Dr. Slavin 以臨床醫師的角度再度提醒我們在診治黴菌感染時的需要與挑戰，其中包括下面幾點：1. 評估風險--根據更多的研究報告，重新為黴菌感染的危險因子定義，而且因病人族群有所改變，鑑定黴菌感染的新危險因子也是有助益的。例如：使用抗癌藥 rituximab 的病人之免疫系統因需長時間才能恢復及使用 Anti TNF- α agents 病人被黴菌感染的機率增加。2. 加速診斷--快速的正確診斷能提早治療黴菌感染的病人，進而提高治癒的機率。這也可以使沒有被黴菌感染的病人，停止不必要的預防性或經驗性抗黴菌藥治療，如此不但可以省下抗黴菌藥物的花費，也可

避免病人因接受抗黴菌藥物而引起的副作用。明確的診斷，目前只能靠組織病理學評估和微生物培養等傳統方法。然而，取得適當的檢體及從受感染的組織培養出病原菌仍是傳統診斷方法面臨兩個問題。為了克服菌絲型黴菌培養不易且耗費時日的限制，以偵測病人血清中黴菌標誌物為診斷方法是最近的研發重點之一，其中以偵測病人血液中 galactomannan 與 1,3-beta-D-glucan 的抗原量研究較為成熟，目前已經有市售的偵測試劑。然而 wick enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 此兩種測試方法在專一性及敏感度上仍有改良的空間。beta-glucan 測試又因試劑製造成本高而限制它在臨床上的普及率。另外，聚合酶鏈反應 (PCR) 可以用來放大黴菌 ribosomal DNA 以提高偵測的準確度及速度。但因其過程缺乏標準化，限制了它被接受成為臨床診斷的通用方法。

3. 防治策略--不少研究指出對高危險病人族群進行預防性治療 (prophylaxis) 是有正面效果的，雖然針對某些病人族群已經有準則，但是，到底誰及什麼時候該接受預防性治療、哪種藥是最恰當與使用期程的決定還是具有爭議性的。病人的個別性是決定經驗性治療的結果的重要因素，因此，最恰當的經驗性治療必須配合其它因素，因人而異。另外，Dr. Patterson 指出應推廣『step down therapy』的策略，也就是說，『當病情不明的階段，使用廣效抗黴菌藥

物，確認病原後，針對病原選用適合的抗黴菌藥物』。4. 抗藥性--最近有報導，從環境中與被感染人類分離出親源關係很近且對 azole 類有抗藥性的 *Aspergillus fumigatus*，指出環境用藥篩選出具抗藥性的 *A. fumigatus*，然後感染人類的可能性。因此，無論在醫學、農業與環境用藥方面，大家都應該要謹慎。*C. tropicalis* 正是念珠菌屬中較能適應不同環境的菌種。在台灣，可從各地病人中分離出親源性高且對 fluconazole 有抗藥性的 *C. tropicalis*。這些具有抗藥性的 *C. tropicalis* 是否還持續在台灣造成感染、是否有共同來源及是否已散佈於台灣環境中，是需要特別的注意。

5. 治療藥物濃度監測 (TDM)，voriconazole 的研發成功對 *Aspergillo* 的治療可說是一大福音，然而在 voriconazole 劑量使用的策略上發生一些困擾。後來研究發現當 voriconazole 劑量減到一半時，在人體內的藥物濃度遠少於一半。因此，是否要進行 voriconazole 的治療藥物濃度監測是最近討論的議題。Dr. Schlamm 特別強調：無論如何，大家一定要遵照準則建議的 voriconazole 劑量使用。

實驗室在診治黴菌上扮演的角色

實驗室的功能是進行黴菌培養、專業且迅速地鑑定菌種、操作特殊不常見或新興的菌種、以分子生物方法

由少量檢體鑑定菌種、執行治療藥物濃度監測、進行藥物感受性測試與分子流行病學研究。有上述能力不但能進行診斷，也可幫忙偵測集體感染及可能來源。在研究上，則可進行新技術的評估。實驗室若有足夠的病人資料，如檢採時病人潛在性的疾病 (underlying diseases)、病徵、免疫功能狀態、旅行資訊、檢體來源及正確的採樣，便能更快速與正確地完成上述之功能。為提高病人照護品質，無論是身為臨床醫師的 Dr. Slavin，或是實驗室成員的 Dr. Fothergill，都一致強調臨床醫師與實驗室成員不斷地溝通對提升照護病人的品質有加乘的作用。

新興致病性酵母菌型黴菌的種類逐年增加，目前致病性酵母菌型黴菌有 *Candida*、*Cryptococcus*、*Trichosporon*、*Saccharomycetes*、*Rhodotorula*、*Geotrichum* 與 *Malassezia* 等屬。有下列幾種方法可以協助鑑定酵母菌型黴菌：第一是由培養基上菌落的外觀、顏色及黏稠度做初步的鑑定，如 *Rhodotorula* 呈現紅色，*Cryptococcus* 則特別黏稠。CHROMagar *Candida* 是一種能以顏色分辨一些較常見的 *Candida* 菌種的培養基。另外也可以在顯微鏡下的型態來判斷菌種；再來，*C. albicans* 與 *C. dubliniensis* 能形成發芽管特性也常被用來進行菌種初步鑑定。*Cryptococcus*、*Trichosporon* 及 *Rhodotorula* 屬的菌與一些 *Candida* 屬 (如 *C. krusei* 及 *C. lipolytica*) 具有 urease。因此，它們能利用 urea 的特

性也可用來進行菌種鑑定。一些商業化的生化反應測試劑，如 API 與 Vitek 等也常用來鑑定菌種。當上述方法不容易分辨時，基因序列進行分子鑑定則是方法之一。

菌絲型黴菌感染的診斷常因其培養耗時與不易而拖延，導致錯失了治療的黃金時間。即使培養出來，也需要有經驗的人員才能鑑定出是什麼菌種。有鑑於此，此課程特別安排實地觀察有代表性的菌絲型黴菌，其中包括菌絲、孢子囊 (sporangium)、有性與無性孢子等的特徵。Dr. Sutton 呼籲：菌絲型黴菌的型態，往往會因不同的培養基或培養條件而有所不同，因此，實驗室最好是用固定的培養基與一致的培養條件，每一菌種的基本型態特徵的再現性才會高。

抗黴菌藥物及抗藥性產生機制

依作用標的來分，目前使用的抗黴菌藥物有幾大類：有抑制細胞膜主要成分合成的 azole 類的藥、破壞細胞膜的 amphotericin B、抑制 RNA 與蛋白質合成的 flucytosine 與最近發展出抑制細胞壁幾丁質合成的 echinocandins。但是，每種藥物都有其限制，例如：沒有一種藥能對所有的黴菌有效：仍然沒有效力好的藥能用來治療 *Scedopsorium prolificans* 與 *Trichosporon* 屬所引起的感染。

目前已知抗藥性產生的機制有以下幾種：降低藥物進入；大量生產藥

物幫浦 (efflux pumps)，將藥物排出；藥物作用標的突變，使藥物失去作用；及大量表現藥物作用標的，使原本足夠的藥物濃度變的不足。而在處理可能被有抗藥性菌株感染的風險時，病人的狀況與病原菌的特性是影響治療成功與否的關鍵。Dr. Fothergill 在討論抗黴菌藥物感受性測試單元中提到 Dr. John Rex 的『90-60 規則』：當體外測試菌株對該藥有感受性的，大約有 90% 病人，其感染可被此藥改善；當體外測試菌株對該藥有抗藥性的，仍有約 60% 的效益。個人認為雖然有此『90-60 規則』，體外抗黴菌藥物感受性測試及其解讀仍有改進的空間。

結 語

台灣黴菌抗藥性監測計畫 (Taiwan Surveillance of Antimicrobial Resistance of Yeasts; TSARY) 在 1999 年開始執行，定期偵測致病性酵母菌型黴菌之菌種的分佈與其對藥物感受性的變遷。目前，除了致病性酵母菌型黴菌外，菌絲型黴菌如 *Aspergillus* 引起的感染個例也有增加的趨勢。若要

有效防治黴菌感染，我們除了持續致病性酵母菌型黴菌的研究外，也要關注菌絲型黴菌的研究。此外，國內『血液腫瘤黴菌感染研究團隊』 (Fungal Infections in Hematologic Malignancy Patient Study Group) 在 2010 年成立，正積極以血液腫瘤病人為研究對象，瞭解共生於血液腫瘤病人口腔及尿液的黴菌種類及其對藥物的感受性，並探討化療對這些共生黴菌種類與數量的影響。Dr. Patterson 在這次課程提出共生 (colonization) 的資訊成為預測侵入性感染 (invasive infection) 的可能性。恰巧我們團隊也提出研究計畫，希望能以更多的個案來評估此可能性。長期來看，我們也設法建立檢體庫，以幫助改進及發展黴菌感染的診斷方法。總而言之，即時偵測出高危險病人、快速診斷黴菌感染、適當的治療及增加抗黴菌藥物的選擇可以提高防治黴菌感染的成功率。最後，若台灣也能定期舉辦類似此次在新加坡舉辦的訓練課程，對提昇國內醫界與學界對黴菌感染的認識與關注將有莫大的助益，進而提高黴菌感染病人照護的品質。