

2006年台灣地區念珠菌(*Candida species*)臨床分離株對 amphotericin B 與 fluconazole 的藥物感受性

劉向寧¹ 楊昀良² 王安慧¹ 王誌偉¹ 鄭瑋婷¹ 李淑英³ 羅秀容¹

1 國家衛生研究院臨床研究組 2 交通大學生科系 3 疾病管制局研究檢驗中心

近年來伺機性病原菌如酵母菌的感染，是造成免疫不全病患致病率增加的主要原因。在美國，院內感染中引起菌血症排行第四的致病菌即是念珠菌[1]；其他研究指出，在台灣念珠菌引起之院內菌血症由 1981 年至 1993 年病例共增加了 27 倍之多[2,3]，這暗示抗黴菌藥物的廣泛及長期使用導致黴菌產生抗藥性議題之重要性。念珠菌對不同的抗黴菌藥物有不同的感受程度，例如 *Candida krusei* 就有先天性對 fluconazole 具有抗藥性的特性；*C. glabrata* 相較其他念珠菌對 fluconazole 也有較低的感受性；而常被分離出來的 *C. lusitaniae* 則是對 amphotericin B 有抗藥性[4]。本文藉由台灣黴菌抗藥性監測計畫(Taiwan Surveillance of Antimicrobial Resistance of Yeasts; TSARY)瞭解台灣臨床上致病性念珠菌的分布及其對抗黴菌藥物感受性的變化，進而預測未來的趨勢。本篇主要以 2006 年收集的念珠菌臨床分離株，進行對 amphotericin B 與 fluconazole 的藥物感受性測試，與 1999 年及 2002 年的結果比較並加以探討，其研究結果已發表於「*Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 61:175-180(2008)」。

監測計畫分析

台灣黴菌抗藥性監測計畫，分別針對 1999 年及 2002 年所收集的 632 及 909 臨床分離株進行黴菌藥物感受性的測試，其中分別有 0.5% 及 2.5% 的菌株對抗黴菌藥物 amphotericin B 具有抗藥性[最低抑菌濃度(minimum inhibitory concentration; MIC) $>2 \mu\text{g/mL}$]；以 fluconazole 測試感受性，其 MIC 值 $>64 \mu\text{g/mL}$ 時，則表示此菌株對 fluconazole 是具有抗藥性的。Fluconazole MIC 值是 $>64 \mu\text{g/ml}$ 的菌株比率由 1999 年的 8.4% 降低至 2002 年的 1.9% [4,5]。

在 2006 年的 7 月至 9 月由 22 家參與台灣黴菌抗藥性監測計畫的醫院中，總共收集到 964 念珠菌分離株，台灣黴菌抗藥性監測計畫三期的菌株分布有相同的趨勢。在 2006 年分離株中，*C. albicans* 所占的比例仍然最多，總共有 419 株(43.5%)、*C. tropicalis* 246 株(25.5%)、*C.*

glabrata 211 株(21.9%)、*C. parapsilosis* 62 株(6.4%)、*C. krusei* 14 株(1.5%)及其他 12 株(1.2%)。依據檢體來源分布則為尿液 406 株(42.1%)、糞便 158 株(16.4%)、血液 145 株(15%)、傷口 43 株(4.5%)、膿汁 40 株(4.1%)、靜脈導管 40 株(4.1%)、腹水 38 株(4%)及其他 45 個部位共分離出 94 株(9.8%)。雖然 *C. tropicalis* 在總分離率中排行第二僅次於 *C. albicans*，本次的分離株中以 *C. glabrata* 為尿液中分離最多的菌株[4]。

近年來的研究報告指出由非白色念珠菌的念珠菌種(non-*albicans* *Candida* species)所引起的感染有增加的趨勢。本次的研究中，菌株對 amphotericin B 的抗藥率從 2.5%(2002 年)降低到 1.8%(2006 年)。1999 年所收集的臨床菌株中，共有三株對 amphotericin B 有抗藥性，都屬於非白色念珠菌的念珠菌種；在 2002 年則是 23 株中就有 20 株是屬於非白色念珠菌的念珠菌種。而 2006 年的結果也相同的有 17 株對 amphotericin B 具有抗藥性的菌株，其中 16 株屬於非白色念珠菌的念珠菌種，包括了 12 株 *C. tropicalis*、2 株 *C. krusei*、*C. glabrata* 及 *C. curvatus* 各一株。*C. krusei* 及 *C. tropicalis* 對 amphotericin B 的感受性相較於 *C. glabrata* 或 *C. albicans* 是比較低的。另外，常被分離出來的 *C. parapsilosis* 對 amphotericin B 有較高的感受性。因此在 2006 年所收集到 *C. parapsilosis* 中都不具抗藥性。另外，在 1999 年、2002 年及 2006 年共分離到九株 *C. lusitanae* 對 amphotericin B 的感受性比其他地區發表的文獻高[4]。

感受性實驗中所使用的另一種抗黴菌藥物為 fluconazole，總共有 756 株(78.4%)是屬於感受性，其 MIC 值 $< 8 \mu\text{g/mL}$ ；43 株(4.5%)屬於藥物依賴型感受性(susceptible dose-dependent)，其 MIC 值介於 16 到 $32 \mu\text{g/mL}$ 之間；MIC 值 $> 64 \mu\text{g/mL}$ 有 165 株(17.1%)。結果分析發現 27.2%的糞便分離株具有高 MIC 值，相較於其他檢體來源的分離株高很多，如尿液、血液、傷口及腹水分別為 17.7%、13.1%、11.6%及 7.9%。五種常分離到的菌種中，所有的 *C. krusei* 分離株 MIC 值 $> 64 \mu\text{g/mL}$ ；而在血液分離株中，*C. albicans*、*C. glabrata* 及 *C. parapsilosis* 對 fluconazole 都是有感受性；然而本次的實驗中發現 32 株 *C. tropicalis* 分離株中，有 18 株的 MIC 值 $> 64 \mu\text{g/mL}$ 。

以肉湯液體微稀釋法(broth microdilution)進行的菌株對抗黴菌藥物如 fluconazole 的感受性測試，有些菌株在 24 小時對 fluconazole 所測得之 MIC 值是屬於感受性，但在 48 小時所測得之 MIC 值 $> 64 \mu\text{g/mL}$ ，這種與抗藥性相關的現象稱為生長蔓延效應(trailing growth)，這種現象會影響 MIC 值的判斷，尤其是對抑菌性的藥物，如 azole 類。在此監測計畫中，如果分離株在 48 小時所測之 MIC 值是 24 小時所

測值四倍以上，就定義分離株具有 trailing growth 的現象。針對 165 株對 fluconazole MIC 值 $>64 \mu\text{g/mL}$ 的分離株進行 trailing growth 之分析(表一)，有 64.8% 的分離株確實有 trailing growth 的現象，*C. krusei* 則沒有 trailing growth 的現象，此結果與 *C. krusei* 對 fluconazole 感受性低的特性一致。

1999 年的報告顯示有 14.7%(24/163) 的 *C. tropicalis* fluconazole MIC 值 $>64 \mu\text{g/mL}$ ；而在 2002 年時，在 244 株中，沒有任何一株 MIC 值 $>64 \mu\text{g/mL}$ ；而令人驚訝的是在 2006 年有 53.7%(132/246) 的菌株 MIC 值 $>64 \mu\text{g/mL}$ 。在 Chou 等[6]在 2007 年發表的文章裡，針對 1999 年所有 *C. tropicalis* fluconazole MIC 值 $>64 \mu\text{g/mL}$ 的菌株利用基因序列作分型(typing)，探討分離株之間的致病差異，依據 diploid sequence types(DST)的結果顯示 DST140 型是比較普遍的一型。在 2006 年，*C. tropicalis* fluconazole MIC 值 $>64 \mu\text{g/mL}$ 的菌株中也發現 DST140 型的存在。這或許可以解釋所收集到的 *C. tropicalis*，對 fluconazole 的感受性有如此大的差異，但對於是否為地區性分離株所造成的結果仍需要進一步的調查。

許多研究報告顯示 *C. tropicalis* 對 fluconazole MIC 值 $>64 \mu\text{g/mL}$ 有逐漸增加的趨勢，對臨床上而言是相當重要的訊息，因為此菌種在臨床上經常被分離出來[7,8]。有研究顯示相較於 *C. albicans*，此菌種較容易對 fluconazole 產生抗藥性[9]。2006 年所分析的資料顯示有 72.7%(96/132) 的 *C. tropicalis* 有 trailing growth 現象，其餘 36 株(14.6%)是否為真正對 fluconazole 具有抗藥性尚需作進一步的分析。

總 結

在 1999 年所執行的台灣黴菌抗藥性監測計畫(TSARY 1999)中顯示有 8.4%(53/632) 對 fluconazole MIC 值 $>64 \mu\text{g/mL}$ 的臨床株，其中以 *C. tropicalis*(15%)最多，且依菌株來源分析發現抗藥性菌株大部分來自於醫學中心[4]。在 2002 年的分離株中則只有 1.9%(17/909) MIC 值 $>64 \mu\text{g/mL}$ ，以 *C. krusei*(77.8%)最多。因 *C. krusei* 及 *C. glabrata* 對 fluconazole 的感受性低，因此治療上多數以 amphotericin B 為主。但在 2002 年的結果中顯示隨著 amphotericin B 的使用率增加，*C. krusei*(66.7%)及 *C. glabrata*(5.4%)菌株對此藥物產生抗藥性有明顯的增加。因此對於同時對 fluconazole 及 amphotericin B 兩種藥物都具有抗藥性的菌株，在治療上較需要考量[5]。2006 年結果顯示最常被分離出來的依然是 *C. albicans*，其他則依序為 *C. tropicalis*、*C. glabrata*、*C. parapsilosis* 及 *C. krusei* 等。Amphotericin B 藥物感受性測試發現有 17 株具有抗藥性的分離株中，有 16 株為非白色念珠菌的念珠菌種。整

體而言，對 amphotericin B 的抗藥性由 2002 年的 2.5% 降低到 2006 年的 1.8%。另一方面，對 fluconazole MIC 值 $>64 \mu\text{g/mL}$ 的菌株共有 165 株分別屬於 *C. albicans*、*C. krusei*、*C. glabrata* 及 *C. tropicalis*，相較於 2002 年的 1.9%，2006 年的菌株有高達 17.1% 的菌株 MIC 值 $>64 \mu\text{g/mL}$ ，顯示大部分菌株有 trailing growth 的現象。目前臨床上的判讀是依據 24 小時所測得對黴菌抗藥性測驗的結果，可以避免 trailing growth 所造成的菌株抗藥性錯誤判斷。TSARY 在臨床上扮演相當重要的角色，除了監測台灣致病性黴菌對抗藥物的差異及趨勢，也可藉由此研究提昇對黴菌感染的治療。

表一 Fluconazole MIC 值 $\geq 64 \mu\text{g/mL}$ 的念珠菌種之 trailing growth 分佈

檢體來源 / 菌種	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. tropicalis</i>	合計
尿液	3/6	1/6	0/5	42/55	46/72
痰液	-	1/1	0/2	26/40	27/43
血液	-	-	0/1	12/18	12/19
膿	1/1	-	0/2	5/5	6/8
腹水	-	-	0/1	2/2	2/3
傷口	-	-	0/1	4/4	4/5
Tip	1/1	-	-	4/4	5/5
其他	2/2	2/2	0/1	1/4	5/9
合計	7/10	4/9	0/13	96/132	107/165

參考文獻

1. Lisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, et al: Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis 2004;39:309-17.
2. Chen YC, Chang SC, Sun CC, et al: Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections at a teaching hospital in Taiwan, 1981 to 1993. Infect Control Hosp Epidemiol 1997;18:369-75.
3. Hung CC, Chen YC, Chang SC, et al: Nosocomial candidemia in a university hospital in Taiwan. J Formos Med Assoc 1996;95:19-28.
4. Yang YL, Ho YA, Cheng HH, et al: Susceptibilities of Candida species to amphotericin B and fluconazole: the emergence of fluconazole resistance in Candida tropicalis. Infect Control Hosp Epidemiol 2004;25:60-4.

5. Yang YL, Li SY, Cheng HH, et al: Susceptibilities to amphotericin B and fluconazole of *Candida* species in TSARY 2002. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;51:179-83.
6. Chou HH, Lo HJ, Chen KW, et al: Multilocus sequence typing of *Candida tropicalis* shows clonal cluster enriched in isolates with resistance or trailing growth of fluconazole. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;58:427-33.
7. Cheng MF, Yu KW, Tang RB, et al: Distribution and antifungal susceptibility of *Candida* species causing candidemia from 1996 to 1999. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004;48:33-7.
8. Hung CC, Yang YL, Lauderdale TL, et al: Colonization of human immunodeficiency virus-infected outpatients in Taiwan with *Candida* species. *J Clin Microbiol* 2005;43:1600-3.
9. Barchiesi F, Calabrese D, Sanglard D, et al: Experimental induction of fluconazole resistance in *Candida tropicalis* ATCC 750. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:1578-84.