

腦膜炎雙球菌 (*Neisseria meningitidis*) 之抗藥趨勢

摘 要

台灣地區流行性腦脊髓膜炎，自民國九十年起確定病例數倍增，且因民國九十年六月發生成功嶺邱姓士兵猝死案件，造成廣大之媒體效應；然國內相關研究付之闕如，亟需建立本土性數據，於是展開一個全國入伍新兵鼻咽帶菌率調查，建立台灣基本資料；藉由這次調查收集的鼻咽菌株（民國九十年十月至民國九十一年一月我國入伍新兵）和臨床菌株（民國九十年十一月至九十一年十二月），在藥物選擇方面，用 E-test 進行藥物感受性試驗（Antimicrobial Susceptibility）。一般抗生素給予的第一線藥物是 penicillin，*Neisseria meningitidis* 對這種抗生素，其藥物感受性測試結果，鼻咽帶菌菌株呈現感受（susceptible）89.5%、感受性介於中間值（intermediate susceptible）為 10.5%，臨床病人菌株呈現感受（susceptible）80%、感受性介於中間值為 20%（表二）。對其他抗生素除鼻咽帶菌菌株有一株（5%）對 rifampicin 呈現抗性（resistant）外，其餘皆呈現感受性（susceptible）。

前 言

流行性腦脊髓膜炎是由病原菌 *Neisseria meningitidis* 所引起，可存在於 5~15% 正常人的咽喉部，使之成為帶菌者，其經由呼吸飛沫或直接接觸的方式傳染，由於個人免疫系統差異，有些人無症狀只侷限鼻咽部，但嚴重者會因細菌侵入血液或腦脊髓液而引起菌血症或腦脊髓膜炎，這是一種早期處理得當就可治癒的細菌感染症；在感染初期，與一般感冒很難區分。但是病程可能會變得非常的快速，自開始頭痛到進入昏迷僅數小時。所以這是一種需要急速給予正確抗生素處理之感染症。這種快速進展容易致命的疾病，若未能快速給予有效抗生素治療，其死亡率高達 50%，但若能正確給予抗生素其死亡率可降至 10%；這個疾病早在 1805 年就被報導出來，為世界性的疾病，

好發於冬春兩季，英國於 1996 年年初曾爆發有史以來最大規模的流行性腦脊髓膜炎流行，非洲大陸於 1996 年也在許多地區傳出流行消息，並且有許多死亡病例，台灣地區流行性腦脊髓膜炎確定病例自 1991~1995 年每年平均約 10 個病例，1996~2000 年稍有增加平均約 15 個病例，2001 年倍增至 44 個病例，2002 年維持高峰仍有 46 例確定病例，這種病例逐年增加，對國民健康是一個很大的威脅，因此流行性腦脊髓膜炎抗生素治療的有效性評估更形重要，在體外，最直接方便的測定方式，即是監視菌株藥物感受性。台灣地區使用抗生素狀況和其他國家並不完全相同，本土菌株抗藥性狀況可能會與其他國家有差異，不適合完全依據國外用藥經驗，國內有必要監視菌株抗生素感受性狀況，NCCLS 紙錠擴散試驗是使用最普遍和快速的方法，但紙錠試驗技術並不是最好的方法，它之所以被普遍採用是因為簡單與經濟，紙錠擴散試驗僅能提供定性資料，對大多數感染的治療可提供適當的指引，然而當治療藥物劑量必須調整，或遭遇紙錠擴散試驗不適用的情況（包括：試驗緩慢生長菌、營養挑剔性細菌、厭氧菌或紙錠試驗之判讀標準尚未建立之抗生素）、試驗結果模稜兩可（如果考慮使用中間性結果的抗生素治療病人）、或試驗結果不可靠（某些藥物例如 polymyxins B 或 E 之紙錠方法試驗結果常不可靠），則必須測定定量資料。最低抑菌濃度測定（MIC, minimum inhibitory concentration），依據美國臨床微生物檢驗室標準委員會（NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards）標準，*Neisseria meningitidis* 執行抗微生物劑敏感性試驗方法可利用稀釋法測定 MIC（1），但傳統稀釋法測定 MIC 時，步驟繁複不適合常規監測使用，幸運的是 Peña Gomez-Herruz et al.（1995）曾經評估 E-test 方法其測試結果和瓊脂稀釋法（agar dilution method）相符（2~4），本文選用 E-test 方法做為監視菌株抗生素感受狀況。

材料與方法

一、菌株收集

(一) 鼻咽帶菌菌株：收集九十年十月至九十一年一月我國入伍新兵鼻咽帶菌調查中，分離出的菌株 19 株（血清型別分別有，B 型 9 株、Y 型 2 株、W135 型 4 株、Z 型 1 株、無法分型 3 株）。

(二) 病人分離出的菌株：收集九十年十一月至九十一年十二月由病人分離出的 22 株（血清型別分別有，B 型 11 株、Y 型 1 株、W135 型 7 株、C 型 2 株、A 型 1 株），3 株更早由病人分離出的菌株分別是八十五年、八十六年、八十七年血清型皆為 W135。

二、抗生素選用

依據治療常用抗生素選擇benzylpenicillin、cefotaxime、ceftriaxone、chloramphenicol、rifampicin、ciprofloxacin（Etest[®] AB Biodisk, Solna, Sweden）等六種抗生素。

三、最低抑菌濃度測定（MIC, minimum inhibitory concentration）方法

*Neisseria meningitidis*接種於巧克力平板上，置於 35°C 含 5 % CO₂培養箱中培養 18-24 小時，若菌株由冷凍取出要經 3 次次培養於巧克力平板上，用生理食鹽水調整菌液濃度為McFarland 0.5 標準液(約相當於 1.5×10^8 CFU/ml)，接種於Mueller Hinton+5% sheep blood平板上，貼上E-test抗生素試紙條，置於 35°C 含 5 % CO₂培養箱中，培養 18-24 小時後觀察抑制環，品管菌株（QC strain）為*Escherichia coli* CCRC11509 (=ATCC25922)。

結 果

選用的品管菌株 *Escherichia coli* ATCC25922 結果符合 NCCLS (5) 所設立的標準(表一)。在 NCCLS 並沒有對 *Neisseria meningitidis* 的 MIC 值，訂出其對藥物是感受性 (susceptible) 或抗性 (resistant) 的標準，本次實驗引用 AB Biodisk 提供的對 MIC 值的說明 (Etest Application Sheet EAS001,3)，來分析本土菌株對藥物感受性狀況 (表二及表三)，鼻咽帶菌菌株對 Penicillin 感受 (susceptible) 89.5%、感受性介於中間值 (intermediate

susceptible) 10.5% , 分析九十年十一月至九十一年十二月自臨床病人分離的菌株對 Penicillin 呈現感受 (susceptible) 77% 、而感受性介於中間值為 23% , 87 年以前分離的 3 株菌株對 Penicillin 皆呈現感受性 (susceptible) (表四), 對其他抗生素除鼻咽帶菌菌株有一株 (5%) 對 rifampicin 呈現抗藥性 (resistant) 外, 其餘皆呈現感受性 (susceptible)。

鼻咽帶菌菌株和臨床病人分離的菌株, 對藥物敏感性試驗結果是否會有差異 (表五及表六), 顯示臨床病人分離的菌株在對 penicillin 的 MIC 值範圍比較於鼻咽帶菌菌株有較高的趨勢, 鼻咽帶菌菌株其 MIC 範圍 0.025-0.125 ($\mu\text{g/ml}$), 臨床病人分離的菌株其 MIC 範圍 0.032-0.5 ($\mu\text{g/ml}$)。

探討不同血清型菌株, 其對藥物敏感性試驗結果是否會有不同 (表七及表八), 將台灣地區常見的血清型 B 和 W135 列出比較, 在對 Penicillin 的 MIC ($\mu\text{g/ml}$) 範圍上, 血清型 B 型比 W135 型有比較高的趨勢, 鼻咽帶菌血清型 B 型, 9 株有 1 株為感受性介於中間值 (intermediate susceptible), 臨床病人血清型 B 型, 11 株有 5 株為感受性介於中間值, 鼻咽帶菌血清型 W135 型 4 株和臨床病人血清型 W135 型 7 株皆為對 Penicillin 感受性 (susceptible)。

討 論

相較於台大醫師調查台灣地區臨床菌株 (個人資料傳達投稿審核中) (民國八十七年一月至九十年六月) 33 株菌株抗藥性結果, 利用瓊脂稀釋試驗 (agar dilution method) 取得 MIC ($\mu\text{g/ml}$) 值, 其結果 penicillin 的 MIC ($\mu\text{g/ml}$) 範圍 $\leq 0.03-0.5$ 、ceftriaxone 的 MIC ($\mu\text{g/ml}$) 範圍 ≤ 0.03 、chloramphenicol 的 MIC ($\mu\text{g/ml}$) 範圍 0.06-1、rifampicin 的 MIC ($\mu\text{g/ml}$) 範圍 $\leq 0.03-0.06$ 、ciprofloxacin 的 MIC ($\mu\text{g/ml}$) 範圍 ≤ 0.03 , 並沒有太大的差異 (表四, 表五), 不過在 Penicillin 的 MIC₉₀ 值卻有增加的趨勢, 台大醫師調查 penicillin non-susceptibility < 10% , 但此次結果 Penicillin non-susceptibility

(intermediate susceptible) 增加至鼻咽帶菌菌株之 10.5% , 而臨床病人分離菌株更增加至 20% , 這是否顯示台灣地區 *Neisseria meningitidis* 對 penicillin 的抗藥性情況已經有改變, 這可能需要更進一步的分析 penicillin non-susceptibility 這些菌株的特性, 是否確有抗藥性基因存在, 並且需要更進一步分析全台灣地區藥物感受性情況。

在流行性腦脊髓膜炎流行時, 常給予 rifampicin 作為預防性投藥以減少帶菌率, 但此次在對 *Neisseria meningitidis* 抗藥性調查中, 發現有抗藥性菌株 (resistant strain) 出現, 這次調查中 19 株鼻咽帶菌菌株和 25 株臨床病人菌株中有 1 株具 resistant 佔 2.3% , 國外調查中有 5% 的 *Neisseria meningitidis* 對 rifampicin 為 resistant (6), 由以上調查中發現 penicillin 和 rifampicin 用於流行性腦脊髓膜炎的治療或預防性投藥時, 可能會有治療失敗的結果產生, 而 ciprofloxacin 並不適合用於小孩或懷孕婦人, 所以當面對急性高致死率的流行性腦脊髓膜炎流行時, 其治療及預防以 ceftriaxone (或 cefotaxime) 為最佳優先考慮使用的藥物。

撰稿者: 姚淑滿、陳英彥、鄭麗容、周振英

衛生署疾病管制局研究檢驗組

參考文獻

1. Colin B, Davidson Y, and Keller N: Unreliability of Disc Diffusion Test for Screening for Reduced Penicillin Susceptibility in *Neisseria meningitidis*. Journal of Clinical Microbiology. 1998; 36: 3103-3104.
2. Peña G-H, González-Palacios R, Romanyk J, et al : Evaluation of the Etest for Penicillin Susceptibility Testing of *Neisseria meningitidis*. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 1995; 21: 115-117.
3. Marshall SA, Rhomberg PR, and Jones RN: Comparative Evaluation of Etest for Susceptibility Testing *Neisseria meningitidis* with Eight Antimicrobial Agents. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 1997; 27: 93-97.
4. Abadi FJR, Yakubu DE and Pennington TH: Antimicrobial Susceptibility of

- Penicillin-sensitive and Penicillin-resistant Meningococci. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1995; 35: 687-690.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards: MIC Testing Supplemental Tables. 2003; M100-S13 (M7) .
6. Carter PE, Abadi FJR, Yakubu DE, et al: Molecular Characterization of Rifampicin-resistant *Neisseria meningitidis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1994; 38: 1256-1261.

表一：品管菌株 (QC strain) *Escherichia coli* CCRC11509 (=ATCC25922) 之測試結果

	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	NCCLS 建議值
Benzylpenicillin	> 256	—
Cefotaxime	0.094	0.03~0.12
Ceftriaxone	0.064	0.03~0.12
Chloramphenicol	5	2-8
Rifampicin	16	4~16
Ciprofloxacin	0.016	0.004~0.016

表二：鼻咽分離和病人分離的 *Neisseria meningitidis* 藥物感受性 MIC 標準 (MIC Criteria, $\mu\text{g/ml}$)

分離來源	Benzylpenicillin			Chloramphenicol			Rifampicin		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
	≤ 0.06	0.12-1	≥ 2	≤ 8	16	≥ 32	≤ 1	—	≥ 4
新兵 (19)	17	2	0	19	0	0	18	0	1
臨床病人 (25)	20	5	0	25	0	0	25	0	0

表三：病人分離的 *Neisseria meningitidis* 藥物感受性 MIC 標準
(MIC Criteria, $\mu\text{g/ml}$)

分離來源	Benzylpenicillin			Chloramphenicol			Rifampicin		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
	≤ 0.06	0.12-1	≥ 2	≤ 8	16	≥ 32	≤ 1	—	≥ 4
臨床病人									
90.11-91.1	17	5	0	22	0	0	22	0	0
2									
臨床病人									
87年以前	3	0	0	3	0	0	3	0	0

表四：臨床病人分離 3 株 *Neisseria meningitidis* (87 年以前血清型 W135)
E-test 抗生素感受性結果

抗生素	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	Range	50%	90%
Benzylpenicillin	0.064	0.064	< 0.064
Cefotaxime	< 0.016	< 0.016	< 0.016
Ceftriaxone	< 0.016	< 0.016	< 0.016
Chloramphenicol	0.75-1	0.75	0.75
Rifampicin	0.016-0.23	0.016	0.016
Ciprofloxacin	0.004	0.004	0.004

表五：臨床病人分離 25 株（包含 87 年以前 3 株血清型 W135）*Neisseria meningitidis* E-test 抗生素感受性結果

抗生素	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	Range	50%	90%
Benzylpenicillin	0.032-0.5	0.064	< 0.38
Cefotaxime	< 0.016	< 0.016	< 0.016
Ceftriaxone	< 0.016	< 0.016	< 0.016
Chloramphenicol	0.38-1	0.75	0.75
Rifampicin	0.016-0.19	0.032	0.125
Ciprofloxacin	0.002-0.047	0.004	0.004

表六：入伍新兵鼻咽分離 19 株 *Neisseria meningitidis* 之 E-test 抗生素感受性結果

抗生素	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	Range	50%	90%
Benzylpenicillin	0.025-0.125	0.047	< 0.094
Cefotaxime	< 0.016	< 0.016	< 0.016
Ceftriaxone	< 0.016	< 0.016	< 0.016
Chloramphenicol	0.25-0.75	0.75	0.75
Rifampicin	0.016-256	0.016	0.016
Ciprofloxacin	0.003-0.004	0.004	0.004

表七：入伍新兵鼻咽分離 9 株和臨床病人分離 11 株 *Neisseria meningitidis* (血清型 B) E-test 抗生素感受性結果

抗生素	MIC (µg/ml)					
	Range		50%		90%	
	帶菌	病人	帶菌	病人	帶菌	病人
Benzylpenicillin	0.032-0.125	0.032-0.5	0.047	0.047	<0.064	<0.38
Cefotaxime	<0.016	<0.016	<0.016	<0.016	<0.016	<0.016
Ceftriaxone	<0.016	<0.016	<0.016	<0.016	<0.016	<0.016
Chloramphenicol	0.25-0.75	0.38-0.75	0.5	0.5	0.75	0.75
Rifampicin	0.016-0.064	0.016-0.19	0.016	0.016	0.016	<0.094
Ciprofloxacin	0.003-0.004	0.002-0.004	0.004	0.003	0.004	0.004

表八：入伍新兵鼻咽分離 4 株和臨床病人分離 7 株 *Neisseria meningitidis* (血清型 W135) E-test 抗生素感受性結果

抗生素	MIC (µg/ml)					
	Range		50%		90%	
	帶菌	病人	帶菌	病人	帶菌	病人
Benzylpenicillin	0.064	0.032-0.064	0.064	0.064	0.064	0.064
Cefotaxime	<0.016	<0.016	<0.016	<0.016	<0.016	<0.016
Ceftriaxone	<0.016	<0.016	<0.016	<0.016	<0.016	<0.016
Chloramphenicol	0.75	0.5-1	0.75	0.75	0.75	0.75
Rifampicin	0.016-0.023	0.016-0.125	0.016	0.016	<0.23	<0.125
Ciprofloxacin	0.004	0.004-0.047	0.004	0.004	0.004	<0.047