

Candida auris*: The First Resistant *Candida

Srisurang Tantimavanich*, Wichaya Kitphiboonpun and Virapong Prachayasittikul

*Department of Clinical Microbiology and Applied Technology, Faculty of Medical Technology,
Mahidol University, Nakorn Pathom Province, Thailand*

Abstract

Candida auris has recently emerged as a multidrug-resistant causative agent of bloodstream and invasive nosocomial infections. With most resistant to fluconazole (empiric treatment for candidemia), resistance to two or more antifungal drug classes especially amphotericin B (major drug used for treatment for rare yeast species), and echinocandins (recently developed for treatment *Candida* infection) deter the effective treatment with high rate of mortality. Unlike *C. albicans* and other *Candida* species, once a case of *C. auris* has occurred, the yeast may colonize on the human body for several weeks. It has high potential of transmission to other patients and surrounding environments, then, causing a nosocomial infection outbreak. Thus, early detection in the healthcare service is a key importance not only for providing the most suitable for patient management but also for prompt management of infection prevention and control (IPC). Report cases in many continents and hospital outbreak with supportive evidences of transmission among patients and environment have alert global healthcare settings to perform surveillance using an accurate identification by sequencing (ITS or D1/D2) or MALDI-TOF MS as recommended by the US CDC and other health authorities. Uncareful identification, *C. auris* is often misidentified as *C. haemulonii* as well as other species of *Candida*. Although, no case has been reported yet in Thailand, a watchdog system is required to avoid unwanted dissemination and outbreak of nosocomial *C. auris* infection. We are facing an emerging novel pathogenic yeast (rare yeast species) with aggressive multidrug resistance to antifungals. Therefore, it is the time to revise and maximize the laboratory method of identification to assure accurate results from the clinical laboratories. In this review, we highlight the incidence, characteristics, pitfall identification, as well as antifungal resistance of *C. auris*.

*Corresponding author E-mail address: srisurang.tan@mahidol.ac.th

Candida auris: แคนดิดาดี้อยาหลายขนานตัวแรก

ศรีสุรางค์ ตันติมานิช* วิชาญา กิจไพบุลย์พันธ์ และ วีระพงศ์ ปรัชชญาสิทธิกุล

ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิกและเทคโนโลยีประยุกต์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม

บทคัดย่อ

Candida auris เป็นเชื้อก่อโรคในโรงพยาบาลที่อุบัติใหม่และเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในกระแสเลือดและอวัยวะภายใน เชื้อส่วนใหญ่คือดื้อยา fluconazole (ยาหลักที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อ *Candida*) บางสายพันธุ์ดื้อยา 2 ขนาน หรือมากกว่า (ดื้อยาหลายขนาน) โดยเฉพาะ amphotericin B (ยาหลักที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อ *Candida* species ที่พบไม่บ่อย) และ echinocandins (ยาที่ได้รับการพัฒนาไม่นานนี้ เพื่อใช้รักษาโรคติดเชื้อ *Candida* ดื้อยา) ทำให้การรักษายุ่งยากและผู้ป่วยเสียชีวิต ในอัตราสูง *C. auris* ยังมีคุณลักษณะที่สำคัญและต่างจาก *C. albicans* และ *Candida* species ตรงที่ผู้ป่วยเมื่อติดเชื้อแล้ว เชื้ออาจยังคงอยู่บนตัวผู้ป่วยได้นานหลายสัปดาห์ เชื้อสามารถถ่ายทอดสู่ผู้ป่วยรายอื่นและสู่สิ่งแวดล้อมรอบ ๆ ตัวผู้ป่วย ทำให้เกิดการระบาดของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล ดังนั้นการตรวจพบเชื้อได้รวดเร็วจึงมีความสำคัญยิ่งต่อการรักษาผู้ป่วยและการกำหนดมาตรการการป้องกันควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อ รายงานอุบัติการณ์ในหลายทวีปทั่วโลกและหลักฐานสนับสนุนว่าเชื้อสามารถแพร่กระจายระหว่างผู้ป่วยและสิ่งแวดล้อม ได้กระตุ้นหน่วยงานด้านดูแลสุขภาพให้เฝ้าระวังโดยอาศัยวิธีวินิจฉัยเชื้อที่มีความถูกต้องเชื่อถือได้ เช่น การหาลำดับเบส (ITS, D1/D2) หรือการใช้ MALDI-TOF MS ตามข้อแนะนำของศูนย์เฝ้าระวังและควบคุมโรคติดต่อของประเทศสหรัฐอเมริกา (US CDC) และหน่วยงานด้านดูแลสุขภาพของนานาชาติ การขาดความระมัดระวังหรือรู้ไม่เท่าทันมักส่งผลให้การวินิจฉัยเชื้อบ่อยครั้งผิดพลาดเป็น *C. haemulonii* หรือบางครั้งผิดพลาดเป็น *Candida* species อื่น ๆ หรือยีสต์อื่น ๆ ในประเทศไทยถึงแม้จะยังไม่มียารักษาการพบเชื้อแต่ก็ควรเฝ้าระวังเพื่อลดความเสี่ยงในการแพร่กระจายเชื้อดื้อยาหรือควบคุมการระบาดของเชื้อดื้อยาได้ทันทั่วทั้งที่ ปัจจุบันมีแนวโน้มของการพบเชื้ออุบัติใหม่ที่มีการดื้อยาเพิ่มมากขึ้นหรือไม่ทราบว่าจะตอบสนองต่อยาชนิดใด จึงน่าจะถึงเวลาที่ควรจะมีการทบทวนหรือปรับวิธีการวินิจฉัยเชื้อให้ทันต่อเหตุการณ์ และมีความรู้ที่จะสร้างความมั่นใจในผลการทดสอบ ในบทความนี้จะกล่าวทบทวนพอสังเขปทั้งอุบัติการณ์การพบเชื้อ คุณลักษณะของเชื้อจุดบอดของการวินิจฉัยเชื้อที่ควรระวัง และการดื้อยาของเชื้อ *C. auris*

คำสำคัญ: *Candida auris*, Multidrug resistance, Non *albicans Candida*, *Candida* spp.

บทนำ

C. auris เป็นเชื้ออุบัติใหม่ มีรายงานครั้งแรกในปี พ.ศ. 2552 โดย Satoh และคณะ แยกเชื้อยีสต์สายพันธุ์ JCM15448 (ต่อมาตั้งชื่อเป็น *C. auris*) ได้จากหนองบริเวณช่องหูของผู้ป่วยหญิงขณะพักรักษาตัวในโรงพยาบาล⁽¹⁾ ในปีเดียวกันมีรายงานผู้ป่วยในประเทศเกาหลีใต้ 15 ราย ติดเชื้อ *C. auris* ในช่องทางที่มีการอักเสบเรื้อรัง⁽²⁾ ต่อมาพบผู้ป่วยติดเชื้อ *C. auris* ในกระแสเลือด 3 รายแรก⁽³⁾ หลังจากนั้นมียาผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดหรือติดเชื้อในอวัยวะต่างๆ อีกหลายแห่งทั่วโลก เช่น อินเดีย แอฟริกาใต้ คูเวต สหรัฐอเมริกา อังกฤษ เวเนซุเอลา สเปน อิสราเอล ปากีสถาน โคลัมเบีย และโอมาน⁽⁴⁻¹⁸⁾ *C. auris* ส่วนใหญ่คือต่อยา fluconazole บางสายพันธุ์คือต่อยา 2 กลุ่ม หรือมากกว่า (หรือเรียกว่าต่อยาหลายขนาน) เช่น fluconazole amphotericin B และ echinocandins^(16, 19) ซึ่งเป็นยาหลัก (first line drug) ที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อยีสต์ ทำให้การรักษาโรคติดเชื้อในกระแสเลือดหรือในอวัยวะภายในที่เกิดจาก *C. auris* ยากกว่า *C. albicans* ผู้ป่วยเสียชีวิตในอัตราร้อยละ 28-70^(3-5, 11-13, 15, 18, 20-21) ผู้ป่วยติดเชื้อส่วนใหญ่มักเกิดหลังจากนอนโรงพยาบาลโดยเฉพาะในหอผู้ป่วยหนัก (ICU) มากกว่า 10 วัน ถึง 65 วัน^(3, 6, 11-13, 16-18) และมักพบปัจจัยร่วม เช่น การได้รับยาปฏิชีวนะแบบครอบคลุมหรือได้รับยาต้านเชื้อรามาก่อน^(2, 4, 7, 13) มีการใส่สายสวนเข้าหลอดเลือดหรือทางเดินปัสสาวะ หรือได้รับการผ่าตัดช่องท้อง^(4, 5, 10, 12, 16, 17, 20, 32) *C. auris* สามารถถ่ายทอดและทำให้เกิดการระบาดของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล โดยมีหลักฐานสนับสนุนจากการสำรวจหลังพบการระบาดใหญ่ของการติดเชื้อในหอผู้ป่วยหนักในประเทศอังกฤษ 50 ราย⁽¹⁰⁾ และหลังพบผู้ป่วย 7 รายแรกในสหรัฐอเมริกา⁽¹¹⁾ ผลทางห้องปฏิบัติการตรวจพบเชื้อ

บนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อม เช่น เครื่องมือที่ใช้ตรวจผู้ป่วย โต๊ะ เก้าอี้ รถเข็น หน้าต่าง พื้นบริเวณรอบๆ เตียงผู้ป่วย และพบเชื้อเจริญโดยไม่ก่อโรคบนตัวผู้ป่วย (colonization) อยู่นานหลายสัปดาห์จนถึงหลายเดือน^(10, 11) จึงน่าจะเป็นไปได้ว่าเชื้อเหล่านี้ก่อให้เกิดการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม และเป็นแหล่งแพร่เชื้อสู่ผู้ป่วยรายใหม่จนเกิดการระบาดในโรงพยาบาล^(10, 11)

หน่วยงานด้านดูแลสุขภาพหลายแห่งทั่วโลก เช่น Centers for Disease Control and Prevention; US CDC (สหรัฐอเมริกา)⁽²²⁻²³⁾ Public Health England (อังกฤษ)⁽²⁴⁻²⁶⁾ European Centre for Disease Prevention and Control (ยุโรป)⁽²⁷⁾ International Society for Human and Animal Mycology (เอเชีย)⁽²⁸⁾ National Institute for Communicable Diseases (แอฟริกาใต้)⁽²⁹⁾ และ Indian Council of Medical Research *Candida auris* in healthcare setting-India (อินเดีย)⁽³⁰⁾ ได้ออกประกาศแจ้งเตือนสถานการณ์การติดเชื้อหรือการระบาดของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลจาก *C. auris* และกำหนดแนวทางและข้อแนะนำในการจัดการป้องกันและควบคุมเชื้อ *C. auris* ในสถานพยาบาลและชุมชน ข้อแนะนำการทำมาความสะอาดและฆ่าเชื้อในหอผู้ป่วย แนวทางสำหรับการตรวจทางห้องปฏิบัติการ แนวทางสำหรับผู้ป่วยและญาติ รวมถึงได้จัดทำแบบประเมินความเสี่ยง เพื่อลดความเสี่ยงของการแพร่กระจายเชื้อในสถานพยาบาล ซึ่งแนวทางและข้อแนะนำนี้เทียบได้กับมาตรการ/แนวทางในการจัดการป้องกันและควบคุมการติดเชื้อและการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียคือยา เช่น MRSA (methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) CRE (carbapenem resistant Enterobacteriaceae) และ MDR *Acinetobacter baumannii* ซึ่งก่อนหน้านี้ยังไม่เคยมีการนำมามาตรการหรือแนวทางนี้มาใช้

กับการติดเชื้อยีสต์และเชื้อราใด ๆ

แม้ว่าอุบัติการณ์การติดเชื้อ *C. auris* มีแนวโน้มสูงขึ้นไม่มาก⁽³¹⁾ แต่การที่ *C. auris* ขยายความสามารถในการก่อโรคจาก superficial infection เป็นการก่อโรคติดเชื้อในกระแสเลือดและในอวัยวะต่างๆ รวมถึงเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในโรงพยาบาลและเชื้อยาหลายขนาน ทำให้ทั่วโลกสนใจเฝ้าระวังและใส่ใจในการวินิจฉัยเชื้อยีสต์ให้ถูกต้องถึงระดับ species ครอบคลุมเชื้อ *C. auris* โดยเฉพาะเชื้อที่แยกจากตำแหน่งที่ปราศจากเชื้อประจำถิ่น (sterile sites) เพื่อช่วยชี้นำการรักษาที่เหมาะสม และช่วยชี้นำการจัดการป้องกันควบคุมการระบาดของโรคติดเชื้อหรือการแพร่กระจายเชื้อ^(5, 7-9, 32, 33)

การค้นพบ *C. auris*

Satoh และคณะ⁽¹⁾ แยกเชื้อ non *albicans* *Candida* สายพันธุ์ JCM15448 ได้จากหนองบริเวณช่องหูของผู้ป่วย แต่เมื่อทำการวินิจฉัยเชื้อด้วยวิธีดั้งเดิม (conventional phenotypic technique) โดยสังเกตลักษณะต่างๆ เช่น รูปร่าง การสร้าง germ tube, การสร้าง chlamydoconidia และ pseudo-hyphae รวมทั้งผลการทดสอบทางชีวเคมี และการเจริญในสภาวะต่างๆ (อุณหภูมิ ความเข้มข้นเกลือ วิตามิน) ผลการทดสอบบอกได้เพียงว่าเชื้ออยู่ในกลุ่ม VI (กล่าวคือ เจริญที่ 40 องศาเซลเซียส ไม่ assimilate inositol, nitrate และ erythritol) แต่ไม่สามารถระบุชื่อเชื้อจากตารางการวินิจฉัยเชื้อของ Meyer และคณะ⁽³⁴⁾ ในทางกลับกันเมื่อใช้วิธีทางอณูชีววิทยาโดยการหาลำดับเบสของยีนในช่วง D1/D2 บน 26S rDNA หรือลำดับเบสของยีน ITS (internal transcribed spacer) บน 18S rRNA gene ตามด้วยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (phylogenetic tree) สามารถจัดสายพันธุ์ JCM15448 เข้าอยู่ในหมวดหมู่ *Metchnikowiaceae* (*Metchnikow-*

iaceae clade)⁽¹⁾ ซึ่งเชื้อในหมวดหมู่นี้ประกอบด้วย *C. haemulonii* complex (*C. haemulonii*, *C. haemulonii* var *vulnera* และ *C. pseudo-haemulonii*)⁽³⁵⁾ และเชื้ออื่นๆ (*C. heveicola* และ *C. ruelliae*) ที่มีความใกล้เคียงกัน⁽¹⁾ การเทียบความเหมือนจากลำดับเบสพบว่าลำดับเบสในช่วง D1/D2 ของสายพันธุ์ JCM15448 เหมือนกับ *C. haemulonii* CBS5149 (U44812), *C. pseudohaemulonii* CBS10099 (AF042250) และ *C. ruelliae* CBS10815 (AM262326) ร้อยละ 86.7, 83 และ 82.4 ตามลำดับ ส่วนลำดับเบส ITS ของสายพันธุ์ JCM15448 เหมือนกับ *C. haemulonii* CBS5149 (AY500375) ร้อยละ 87.5, *C. pseudohaemulonii* CBS10099 (AB118791) ร้อยละ 81.4, และ *C. heveicola* CBS10701 (EU284101) ร้อยละ 81.3 เมื่อเทียบทวนผลการทดสอบโดย conventional phenotypic technique พบว่า (1) เจริญที่ 42 องศาเซลเซียส ทำให้ต่างจาก *C. haemulonii*, *C. pseudohaemulonii* และ *C. heveicola* (2) ไม่ assimilate แหล่งคาร์บอนที่มาจาก galactose, L-sorbose, cellobiose, L-arabinose, ethanol, glycerol, salicin และ citrate ทำให้ต่างจาก *C. ruelliae* (3) ไม่สร้าง pseudohyphae ทำให้ต่างจาก *C. haemulonii*, *C. pseudohaemulonii* และ *C. ruelliae* ผลดังกล่าวทำให้ Satoh และคณะ⁽¹⁾ สรุปว่าสายพันธุ์ JCM15448 เป็นเชื้อใหม่ที่ยังไม่เคยมีการค้นพบมาก่อน แต่มีความคล้าย *Candida* species และแยกได้จากช่องหูจึงให้ชื่อว่า *C. auris* (*auris* ภาษาละตินแปลว่าหู)

คุณลักษณะของ *C. auris* และอุบัติการณ์

จากการทบทวนบทความตีพิมพ์ พอสรุปคุณลักษณะของ *C. auris* ได้ว่าเป็นเชื้อยีสต์ที่มีรูปร่างกลมรี ถึงยาวรี ขนาด 2.0-3.0 × 2.5-5.0

ไมโครเมตร เรียงตัวแบบเซลล์เดี่ยว คู่ หรืออยู่เป็นกลุ่ม ลักษณะโคโลนี กลม ผิวเรียบ โคโลนีหนืดๆ คล้ายเนยเหลว สีขาวถึงขาวครีมบน Sabouraud dextrose agar และมีสีชมพูอ่อนบน CHROMagar™ *Candida* agar^(1, 2-9, 17, 32, 35) ไม่เจริญบนอาหารที่มี cycloheximide 0.01-0.1%^(1, 13) ไม่สร้าง germ tube และ chlamydoconidia ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่ต่างจาก *C. albicans*^(1-9, 13, 14, 17, 32, 35) ไม่สร้าง pseudohyphae ทำให้ต่างจาก *C. haemulonii*, *C. duobushaemulonii*, *C. pseudohaemulonii*, *C. ruelliae* และ *Candida* species ก่อโรคที่พบบ่อย^(1-9, 13, 14, 17, 32, 35) เชื้อทนความร้อน (thermotolerant) และทนเกลือ (salt tolerant) โดยเจริญได้ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส และเกลือ 10% ตามลำดับ^(1-9, 13, 14, 17, 32, 35) ซึ่งการเจริญที่ 42 องศาเซลเซียส เป็นคุณลักษณะสำคัญที่ช่วยแยก *C. auris* ออกจาก *C. haemulonii* การใช้แหล่งคาร์บอนจาก *N*-acetyl-D-glucosamine (NAcGlu) ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ สายพันธุ์ที่มาจากเอเชียไม่สามารถใช้ NAcGlu⁽¹⁻³⁾ แต่สายพันธุ์จากอินเดีย คูเวต แอฟริกาใต้ และบราซิล สามารถใช้ NAcGlu^(4, 7, 9, 32) ไม่สร้างเอนไซม์ urease ไม่สามารถใช้แหล่งไนโตรเจนจาก nitrate^(1-9, 13, 14, 17, 32, 35) คุณลักษณะอื่นๆ ตามที่ Satoh และคณะ กล่าวถึง ได้แก่ การใช้น้ำตาล [ferment น้ำตาล glucose, sucrose (weak) และ trehalose (weak) ไม่ ferment น้ำตาล galactose, maltose, lactose และ raffinose] [(assimilate glucose, sucrose, maltose, D-trehalose, D-raffinose, D-melezitose, inulin (weak), soluble starch, ribitol (weak), galactitol, D-mannitol, sorbitol และ citrate) (ไม่ assimilate D-galactose, L-sorbose, D-cellobiose, lactose, melibiose, D-xylose, L-arabinose, D-arabinose, methanol, ethanol, glycerol, erythritol,

α -methyl-D-glucoside, salicin, D-gluconate, DL-lactate, succinate, inositol, hexacane, 2-keto-D-gluconate และ xylitol)] การใช้ไนโตรเจนเป็นแหล่งพลังงาน [(ใช้ ammonium sulfate, cadaverine และ L-lysine) (ไม่ใช้ sodium nitrite, potassium nitrite และ ethylamine)] ไม่ต้องการวิตามินในการเจริญบนอาหารเพาะเชื้อ เจริญได้ใน 50% glucose และ 10% NaCl/5% glucose⁽¹⁾ การเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองพบว่า *C. auris* บางไอโซเลท หลังแบ่งตัวแล้วไม่ปล่อยเซลล์ลูก (budding yeast cells) ทำให้เซลล์จับตัวกันเป็นกลุ่มก้อน (aggregated cells)⁽³⁶⁾

การก่อโรคของ *C. auris* เมื่อเทียบกับ *C. albicans* แล้วยังมีข้อมูลน้อยมาก การศึกษาในระดับจีโนมพบยีนที่ทราบว่าเป็นปัจจัยความรุนแรงของ *C. albicans* เช่น โปรตีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการของเซลล์และเมแทบอลิซึม (amino acid, oligopeptide และ metabolic transporters)⁽¹⁹⁾ ซึ่ง *Candida* ก่อโรคใช้ในการปรับตัวให้อยู่รอดได้ในสิ่งแวดล้อมที่หลากหลาย⁽³⁷⁾ โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ signal transduction เอนไซม์ที่ใช้ในการบุกรุกเซลล์ เช่น proteinases, lipases และ phospholipases นอกจากนั้นยังพบ ion transporters, adhesions, secreted aspartyl proteases, mannosyl transferases, MADS-box และ STE (serine/threonine enzyme) related proteins ซึ่งอาจเป็นปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรคของ *C. auris*⁽¹⁹⁾ การที่เชื้อจับตัวเป็นกลุ่ม (aggregated cells) การทนต่ออุณหภูมิสูงถึง 42 องศาเซลเซียส และทนเกลือ^(1, 36) ดังกล่าวข้างต้นอาจมีส่วนเสริมให้เชื้ออยู่รอดคงทนในสิ่งแวดล้อม⁽³⁷⁾

มีงานวิจัยที่ทดสอบความสามารถในการเกาะติด ทดสอบการสร้าง biofilm การสร้างเอนไซม์ proteinases และ phospholipases พบว่า *C. auris*

9 ใน 14 ไอโซเลท (ร้อยละ 64) และ 6 ใน 16 ไอโซเลท (ร้อยละ 37.5) สร้าง proteinases และ phospholipases ตามลำดับ *C. auris* บางสายพันธุ์สามารถสร้าง biofilm และเกาะติดบนวัสดุสายสวนที่ทำจากซิลิโคน แต่ activity ของเอนไซม์น้อยกว่าและขนาดของ biofilm บางกว่าเมื่อเทียบกับ *C. albicans*⁽³⁸⁾

อุบัติการณ์ของ *C. auris* ที่เพิ่งมีรายงานในปี พ.ศ. 2552⁽¹⁾ และรายงานของ Lee และคณะที่พบเชื้อ *C. auris* โดยบังเอิญขณะวินิจฉัยเชื้อ unidentified yeast ที่แยกได้ในปี พ.ศ. 2539⁽³⁾ ทำให้มีข้อสงสัยว่า *C. auris* เพิ่งอุบัติใหม่หรือมีอยู่เดิมแต่วินิจฉัยผิดหรือวินิจฉัยไม่ได้ จากการศึกษาย้อนหลัง (retrospective study) โดย US CDC ใช้ข้อมูลเชื้อ *Candida* 15,271 ไอโซเลท ที่เก็บในโปรแกรมการเฝ้าระวังเชื้อระดับนานาชาติ (international surveillance program SENTRY) ระหว่างปี พ.ศ. 2547-2558 พบเชื้อ *C. auris* เพียง 4 ไอโซเลทที่แยกได้ในปี พ.ศ. 2552 2556 2557 2558 ผลการวิเคราะห์สนับสนุนว่า *C. auris* เป็นเชื้ออุบัติใหม่⁽¹⁶⁾

นอกจากนี้ US CDC ได้ศึกษาความหลากหลายทางจีโนมไปจากลำดับเบสทั้งจีโนม (whole genome sequence, WGS) โดยใช้เชื้อ *C. auris* 47 ไอโซเลท ที่เก็บเชื้อระหว่าง พ.ศ. 2555-2558 จากปากีสถาน อินเดีย แอฟริกาใต้ และเวเนซุเอลา ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (phylogenetic tree) สามารถจัดจำแนกเชื้อได้เป็น 4 กลุ่ม คือกลุ่มเชื้อที่มาจากเอเชียใต้ (อินเดีย ปากีสถาน) กลุ่มเชื้อที่มาจากแอฟริกาใต้ กลุ่มเชื้อที่มาจากอเมริกาใต้ (เวเนซุเอลา) และกลุ่มเชื้อที่มาจากเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (ญี่ปุ่น) ซึ่งความสัมพันธ์ทางจีโนมไปของเชื้อที่จัดกลุ่มตามประเทศ ชี้ให้เห็นว่าเชื้อที่มาจากคนละประเทศมีความแตกต่างทางจีโนมไปมากพอที่จะจัดเชื้อเป็นคนละกลุ่ม ตรงกันข้ามเชื้อที่มาจากประเทศเดียวกันจีโนมไปเกือบจะไม่ต่างกัน⁽¹⁶⁾ ช่วยยืนยันว่าแต่ละพื้นที่มีการ

อุบัติของเชื้อขึ้นเอง ไม่ใช่มาจากการแพร่เชื้อจากต้นตอเดียวกัน⁽¹⁶⁾

ผลงานวิจัยอื่น ๆ ที่ศึกษาจีโนมไปของเชื้อ *C. auris* ที่พบในประเทศของตนเอง ทั้งที่มาจากรงพยาบาลเดียวกัน (ประเทศอังกฤษ) หรือต่างโรงพยาบาลกัน (อินเดีย) ไม่ว่าจะใช้วิธีใด เช่น AFLP^(5, 8, 10, 13) MLST (multilocus sequence typing) และ MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry)⁽⁵⁾ ITS และ MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry)⁽⁸⁾ ก็ให้ผลลัพธ์ของการจัดความสัมพันธ์หรือจัดกลุ่มเชื้อ (cluster) ในลักษณะเดียวกัน สรุปได้ว่าอุบัติการณ์ของเชื้อในแต่ละประเทศเกิดขึ้นเองในช่วงเวลาใกล้เคียงกันและเป็นแบบ clonality^(5, 8, 10, 13)

การวินิจฉัยเชื้อ *C. auris* และข้อจำกัด

รายงานของ Satoh และคณะ เป็นจุดเริ่มต้นที่ทำให้ทั่วโลกทราบว่ามีวิธี conventional phenotypic technique ไม่สามารถวินิจฉัยเชื้อ *C. auris*⁽¹⁾ มีรายงานที่คาดว่าน่าจะมีการวินิจฉัยผิดพลาดจากเชื้อที่แยกได้ในช่วงปี พ.ศ. 2552-2558 และได้้นำเชื้อมาวินิจฉัยซ้ำด้วยวิธีหาลำดับเบส ITS หรือ D1/D2 หรือ MALDI-TOF MS^(2-9, 12-15, 17, 18, 38) ผลการวินิจฉัยดังกล่าวทำให้เกิดความชัดเจนว่าการทดสอบโดยวิธี conventional phenotypic technique ทั้งที่เป็นชุดทดสอบหรือเครื่องอัตโนมัติ จะทำให้การวินิจฉัยเชื้อ *C. auris* ผิดพลาดเป็น *C. haemulonii*, *C. famata*, *C. catenulata*, *C. sake*, *C. lusitaniae*, *C. guiliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. albicans*, *Rhodotorula glutinis* หรือ *Saccharomyces cerevisiae*^(2-9, 12-15, 17, 18, 38) ขึ้นกับชุดทดสอบหรือเครื่องอัตโนมัติ

ที่ใช้ ดังแสดงใน Table 1

MALDI-TOF MS เป็นเทคนิคที่ใช้การดูลายพิมพ์โปรตีน ปัจจุบันมี 2 platforms [MALDI Biotyper (Bruker, Billerica, MA) และ VITEK MS (bioMérieux)] ทั้ง 2 platforms มีฐานข้อมูล 2 ชนิดให้เลือกใช้ คือ FDA-approved library และ research-use-only library (RUO) ข้อดีของ MALDI-TOF MS คือมีความไวและความแม่นยำในการวินิจฉัยเชื้อยีสต์ทางการแพทย์^(40, 41) สามารถวินิจฉัย non *albicans Candida* ที่พบก่อโรคบ่อยได้ถึงระดับ species^(41, 42)

Mizusawa และคณะ⁽³⁹⁾ ได้ทำการ validate เครื่องอัตโนมัติ (API 20C AUX, BD Phoenix, Vitek 2 system, และ MicroScan) และเครื่อง MALDI-TOF MS โดยใช้เชื้อ *C. auris* และเชื้อที่มีความใกล้เคียง (*C. haemulonii* และ *C. duobushaemulonii*) ผลการ validate เครื่องอัตโนมัติ พบว่าให้การวินิจฉัย *C. auris* ผิดพลาดเป็น *C. haemulonii* หรือ *Candida* species ดังแสดงใน Table 1 และทำให้ทราบว่าการวินิจฉัยผิดเกิดจากเครื่องอัตโนมัติไม่มีฐานข้อมูลเชื้อ *C. auris* นอกจากนั้นเครื่อง API 20C AUX และ MicroScan ยังขาดข้อมูล *C. haemulonii* และ *C. duobushaemulonii* ส่วน Vitek 2 system และ BD Phoenix ขาดข้อมูลเชื้อ *C. duobushaemulonii*

ในการทำงานเดียวกัน FDA-approved library ของ MALDI-TOF MS ทั้ง 2 platforms ก็ไม่มีฐานข้อมูลเชื้อ *C. auris* และไม่สามารถเพิ่มเติมข้อมูลได้อีก ในขณะที่ RUO library เป็นฐานข้อมูลที่สามารถเพิ่มเติมเพื่อปรับฐานข้อมูลได้ ถ้าการวินิจฉัยใช้ RUO library ที่ยังไม่ได้ปรับเพิ่มฐานข้อมูลของเชื้อ *C. auris* ก็จะทำให้ MALDI-TOF MS วินิจฉัย *C. auris* ผิดพลาดเช่นกัน⁽³⁹⁾ (Table 2)

ผลงานวิจัยของ Mizusawa และคณะ⁽³⁹⁾

ยังชี้ให้เห็นว่าการใช้ MALDI-TOF MS มีปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงคือ 1) เมื่อใช้ MALDI Biotyper ต้องใช้การสกัดโปรตีนในหลอดทดลองแบบ full-tube extraction (ethanol-formic extraction) จะใช้วิธีการสกัดโดยตรงบนแท่นสกัด (matrix) ไม่ได้⁽³⁹⁾ 2) นอกจาก *C. auris* แล้ว VITEK MS มีข้อจำกัดในการวินิจฉัยเชื้อ *C. duobushaemulonii* โดยพบว่าวินิจฉัยผิดพลาดถึงร้อยละ 67 (Table 2) มุ่งงานวิจัยที่ดัดแปลงใช้วิธีการสกัดบางส่วน (partial extraction method) เพื่อให้ง่ายขึ้น และพบว่าให้ผลวินิจฉัยเชื้อ *C. auris* ได้ดีและถูกต้อง⁽⁴³⁾ แต่ผู้เขียนยังไม่พบบทความตีพิมพ์ที่ใช้การสกัดตามวิธีนี้

มุ่งงานวิจัยพัฒนาการวินิจฉัย *C. auris* ด้วยวิธี PCR โดยใช้ primers [CauF 5' CGCACATT-GCGCCTTGGGGTA 3' และ CauR 5' GTAGTCCTACCTGATTTGAGGCGAC 3']⁽⁴⁴⁾ ควบคู่ไปกับการพัฒนาการวินิจฉัย *C. auris* และเชื้อที่มีความใกล้เคียง (*C. haemulonii*, *C. duobushaemulonii* และ *C. lusitaniae*) ด้วยวิธี real time PCR โดยใช้ primers [CauReIF 5' GCGATACGTAGTATGACTTGCAGACG 3' และ CauReIR 5' CAGCGGGTAGTCCTACCTGA 3']⁽⁴⁴⁾ ทั้ง 2 วิธีมีความไวร้อยละ 100 และความจำเพาะร้อยละ 100 ในการวินิจฉัย *C. auris* และมีระดับความไว (detection limit) ในการตรวจพบเชื้อที่ 10 CFU/reaction และ 1,000 CFU/reaction ตามลำดับ⁽⁴⁴⁾ วิธีนี้จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกและเหมาะสมกับห้องปฏิบัติการที่มีเครื่อง thermocycler หรือ real time PCR อยู่แล้ว

นอกจากการวินิจฉัยเชื้อแล้ว วิธีทางอณูชีววิทยา เช่น การหาลำดับเบสของยีน [ITS, D1/D2, RPB1 (ยีนบน subunit ที่ใหญ่ที่สุดของ RNA polymerase II), RPB2 (ยีนบน subunit ที่ใหญ่เป็นอันดับสองของ RNA polymerase II)] และการดู

Table 1 Limitation of diagnostic kit and automation for identification of *C. auris*, *C. haemulonii* and *C. duobushaemulonii*

Kit/Automate	Misidentification of <i>C. auris</i> as	Misidentification of <i>C. auris</i> as	Kit/Automate	Ref
Vitek	<i>C. haemulonii</i> , <i>C. famata</i> , <i>C. lusitaniae</i>	<i>C. haemulonii</i>	Vitek, BD Phoenix	2, 3, 5-9, 12, 14, 15, 17, 38, 39
API 20C AUX	<i>R. glutinis</i> , <i>C. sake</i> , unidentified	<i>C. famata</i>	Vitek, API Candida, Microscan	4, 8, 17, 38, 39
API Candida	<i>C. famata</i>	<i>C. lusitaniae</i>	Vitek, MicroScan	15, 39
AuxaColor 2	<i>S. cerevisiae</i>	<i>R. glutinis</i>	API 20C AUX	2, 3, 7, 39
BD Phoenix	<i>C. catenulata</i> , <i>C. haemulonii</i>	<i>C. sake</i> Unidentified	API 20C AUX API 20C AUX	4, 6, 15 15
Microscan	<i>C. famata</i> , <i>C. lusitaniae</i> , <i>C. guillemondii</i> , <i>C. parapsilosis</i>	<i>S. cerevisiae</i> <i>C. catenulata</i> <i>C. guillemondii</i>	AuxaColor 2 BD Phoenix MicroScan	15 18, 38, 39 39
MicroScan Walkaway	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	MicroScan	39
MicroScan autoScan	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i> <i>C. albicans</i>	MicroScan Walkaway MicroScan autoScan	17, 38 17, 38
		Misidentification of <i>C. haemulonii</i>* as	Kit/Automate	Ref
		<i>R. glutinis</i>	API 20C AUX	39
		<i>K. ohmeri</i>	Vitek	39
		Unidentified	BD Phoenix	39
		<i>C. catenulata</i>	MicroScan	39
		<i>C. parapsilosis</i>	MicroScan	39
		Misidentification of <i>C. duobushaemulonii</i> as	Kit/Automate	Ref
		<i>R. glutinis</i>	API 20C AUX	39
		<i>C. haemulonii</i>	Vitek	39
		<i>C. parapsilosis</i>	BD Phoenix, MicroScan	39
		<i>C. guillemondii</i>	MicroScan	39

* except Vitek and BD Phoenix give the right identification of *C. haemulonii*³⁹

Table 2 Performance of MALDI-TOF MS (Bruker Biotyper VS Vitek-MS) for identification of *C. auris*, *C. haemulonii* and *C. duobushaemulonii*

Species used for validation	No. of isolates/Total isolates (%) with correct identification upon direct or full-tube extraction and using				
	Bruker Biotyper: library/(extraction method)			Vitek-MS: library/(extraction method)	
	FDA library ^a	RUO library ^b		IVD library ^c	RUO library ^d
	(direct on-plate extraction)	(direct on-plate extraction)	(full-tube extraction)	(direct on-plate extraction)	(full-tube extraction)
<i>C. auris</i>	0/10 (0%)	5/10 (50%)	10/10 (100%)	0/10 (0%)	10/10 (100%)
<i>C. haemulonii</i>	2/2 (100%)	2/2 (100%)	Not done	2/2 (100%)	2/2 (100%)
<i>C. duobushaemulonii</i>	3/3 (100%)	3/3 (100%)	Not done	0/3 (0%)	1/3 (33%)

^a Bruker FDA library contains *C. haemulonii* (12 entries) and *C. duobushaemulonii* (7 entries)

^b Bruker RUO library contains *C. auris* (3 entries)

^c Vitek-MS IVD (in vitro diagnostic), FDA library contains *C. haemulonii*

^d Vitek-MS RUO library, RUO library contains *C. auris* and *C. duobushaemulonii*

adapted from Misuzawa *et al.*³⁹

ความหลากหลายของจีโนมไทป์ด้วย AFLP ยังช่วยแยก *C. auris* ออกจากเชื้อที่มีความใกล้เคียงในกลุ่ม *C. haemulonii* complex [*C. haemulonii*, *C. haemulonii* var. *vulnera*, *C. pseudohaemulonii*] และ *C. duobushaemulonii*^(1, 4, 10, 16, 32, 35) และสามารถแยก *C. auris* ออกจากเชื้อยีสต์ที่เครื่องอัตโนมัติให้การวินิจฉัย *C. auris* ผิดพลาด (*C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, *C. albicans*, *C. dublinensis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *R. glutinis* และ *S. cerevisiae*)⁽¹⁹⁾ วิธีอณูชีววิทยาดังกล่าวจึงมีความสำคัญเด่นชัดขึ้นในการวินิจฉัยเชื้อยีสต์ก่อโรคที่อุบัติใหม่ รวมทั้งเชื้อยีสต์ก่อโรคที่พบบ่อย (rare yeast pathogens) หรือเชื้อยีสต์ที่มีคุณลักษณะทาง phenotype คล้ายกันมาก

ในขณะที่ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ยังใช้วิธี conventional phenotypic technique หรือเครื่องอัตโนมัติในการวินิจฉัยเชื้อยีสต์ US CDC มีข้อ

แนะนำว่า หากวินิจฉัยเชื้อจากสิ่งส่งตรวจที่มาจากตำแหน่งของร่างกายที่ปราศจากเชื้อประจำถิ่น (sterile site) ได้เป็นเชื้อ *C. haemulonii*, *C. famata*, *C. lusitaniae*, *R. glutinis* หรือ *S. cerevisiae* ให้ทำการวินิจฉัยต่อด้วยวิธีการหาลำดับเบสในช่วง ITS หรือ D1/D2 หรือใช้ MALDI-TOF MS ที่มีฐานข้อมูลเชื้อ *C. auris* ใน RUO library⁽⁴⁶⁾

ผู้เขียนได้รวบรวม primers สำหรับการหาลำดับเบสของยีน ITS หรือ D1/D2 ตามที่มีการอ้างถึง เพื่อให้สะดวกต่อการนำไปใช้ในการวินิจฉัยเชื้อ ดังแสดงใน Table 3

สำหรับห้องปฏิบัติการในประเทศไทย ส่วนใหญ่ยังใช้การสังเกตรูปร่าง การสร้าง germ tube และการสร้าง pseudohyphae, chlamydoconidia บน corn meal agar หรือ glutinous rice tween agar มีห้องปฏิบัติการเพียงบางแห่งใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปหรือเครื่องอัตโนมัติ อย่างไรก็ตามการ

Table 3 Sequencing primers for ITS or D1/D2 gene target

Gene target	Primers	Sequences	Ref	
ITS including 5.8S rRNA (ITS1-5.8S rRNA-ITS2)	ITS-1	5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'	52 (cited by ref 4-9, 12-14, 32)	
	ITS-4	5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'		
ITS including 5.8S rRNA (ITS1-5.8S rRNA-ITS2)	pITS-F	5' GTCGTAACAAGGTTAACCTGCGG 3'	53 (cited by ref 2, 3)	
	pITS-R	5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'		
ITS	ITS2	ITS3	5' GCATCGATGAAGAACGCAGC 3'	
		ITS4	5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'	
	ITS1	ITS5	5' GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG 3'	53, 54 (cited by ref 15)
		ITS2	5' GCTGCGTTCATCGATATGC 3'	
D1/D2	NL-1	5' GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG 3'	55 (cited by ref 2-7, 9, 13, 16, 32)	
	NL-4	5' GGTCCGTGTTCAAGACGG 3'		
	LSU-1	perfectly identical to NL-1	55 (cited by ref 14)	
	LSU-2	perfectly identical to NL-4		

วินิจฉัยเป็น *C. haemulonii* หรือ rare yeast species หรือ *Candida* species ที่ดื้อต่อ fluconazole หรือ amphotericin B หรือดื้อต่อยาทั้ง 2 ชนิด หรือสงสัยว่าอาจจะเป็น *C. auris* ก็ควรทำตามข้อแนะนำของ US CDC หรืออย่างน้อยควรเพิ่มการตรวจคัดกรองเบื้องต้น โดยทดสอบความสามารถของเชื้อในการเจริญที่ 37 และ 42 องศาเซลเซียส และคุณลักษณะโคโลนีและสีบน CHROMagar Candida เชื้อ *C. auris* เจริญที่ 37 และ 42 องศาเซลเซียส ให้โคโลนีสีชมพูอ่อน ในขณะที่ *C. haemulonii* ไม่เจริญที่ 42 องศาเซลเซียส แต่เจริญที่ 37 องศาเซลเซียส ให้โคโลนีสีขาวถึงครีมและสร้าง pseudohyphae^(1, 2-9, 17, 32, 35)

การดื้อยาด้านเชื้อราของเชื้อ *C. auris*

มีรายงานผู้ป่วย 3 รายแรกที่ติดเชื้อ *C. auris* ในกระแสเลือดและเกิด breakthrough candidemia ระหว่างการรักษาด้วย fluconazole

จนเสียชีวิต 2 ราย⁽³⁾ และอีกหลายบทความตีพิมพ์ที่พบ breakthrough candidemia ในลักษณะเดียวกัน^(4-6, 10, 18) บ่งชี้ว่า fluconazole ใช้ไม่ได้ผลในการรักษาการติดเชื้อ *C. auris* ในกระแสเลือดหรืออวัยวะภายใน

จากงานวิจัยเปรียบเทียบความไวของเชื้อ *C. auris* (5 ไอโซเลท) กับ *C. albicans* (20 ไอโซเลท) ผลการทดสอบวิธี CLSI-microbroth dilution (M27-A3) พบว่า *C. auris* ดื้อต่อยาหลายขนาน (voriconazole, flucytosine และ echinocandins) 1 ไอโซเลท ดื้อต่อยา 2 กลุ่ม (voriconazole และ amphotericin B) 1 ไอโซเลท และทุกไอโซเลทดื้อต่อ fluconazole⁽¹⁹⁾ ในขณะที่ *C. albicans* ทั้งหมดที่ทดสอบไวต่อ azoles และ amphotericin B

ผู้เขียนได้ทบทวนผลทดสอบความไวของเชื้อ *C. auris* พบว่าวิธีที่ใช้ในบทความตีพิมพ์มีความหลากหลาย เช่น CLSI-microdilution M27-A2,

M27-A3, M27-S4, E-test, Vitek และ Sensititre YeastOne^(1-10, 12-18, 32, 36) จึงยากที่จะเปรียบเทียบในประเด็นของความไว (susceptible) หรือดื้อยา (resistant) แต่ได้แสดงช่วงค่า MIC (MIC range) พร้อมทั้งวิธีทดสอบ จำนวนเชื้อและปีที่แยกเชื้อได้ของแต่ละงานวิจัยและสรุปในภาพรวม ดังแสดงใน Table 4

จากบทความตีพิมพ์และบททบทวนปริทัศน์พบว่า *C. auris* ดื้อต่อ fluconazole (>ร้อยละ 90)^(4, 5) เชื้อลดระดับความไวต่อ triazole เช่น voriconazole แสดงจากค่า MIC ≥ 1 $\mu\text{g/mL}$ และ MIC₉₀ >8 $\mu\text{g/mL}$ (ร้อยละ 50)^(7, 8) แต่ยังคงมีค่า MIC ค่อนข้างต่ำต่อ azole รุ่นใหม่ เช่น posaconazole (0.06-1 $\mu\text{g/mL}$) และ isavuconazole (<0.015-0.5 $\mu\text{g/mL}$)^(4, 5, 7, 8, 13, 20) เชื้อมีทั้งไวและดื้อต่อ amphotericin B โดยมีสัดส่วนเชื้อที่มีค่า MIC >1 $\mu\text{g/mL}$ (ร้อยละ >50) MIC >2 $\mu\text{g/mL}$ (ร้อยละ 15-30)^(8, 12, 13, 32, 35, 36) ดื้อต่อ echinocandins (ร้อยละ 2-8)^(8, 11, 13) และดื้อต่อยาทุกกลุ่ม (ร้อยละ 16)⁽¹³⁾

นอกจากข้อมูลข้างต้น ยังมีข้อมูลของ US CDC ที่เป็นผลจากการทดสอบความไวด้วยวิธี CLSI M27-A3/M27-S4 โดยใช้เชื้อ *C. auris* ที่เก็บรวบรวมจากปากีสถาน อินเดีย แอฟริกาใต้ และเวเนซุเอลา ระหว่างปี ค.ศ. 2012-2015 จำนวน 54 ไอโซเลท⁽¹⁶⁾ ผลการวิเคราะห์การดื้อยาโดยอิง breakpoint ของ *Candida* species พบว่าเชื้อดื้อต่อ fluconazole (ร้อยละ 93) voriconazole (ร้อยละ 54) amphotericin B (ร้อยละ 19) echinocandins (ร้อยละ 4) และ flucytosine (ร้อยละ 6) ดื้อต่อยาอย่างน้อย 2 กลุ่ม (ร้อยละ 41) ดื้อต่อยา 3 กลุ่มคือ azoles, amphotericin B และ echinocandins (ร้อยละ 4)⁽¹⁶⁾

อัตราการดื้อยา 3 กลุ่ม (ดื้อยาหลายขนาน)

ร้อยละ 4⁽¹⁶⁾ และ ร้อยละ 16⁽¹³⁾ มีความแตกต่างกันมากซึ่งอาจเนื่องมาจากตัวเชื้อเองเช่น สายพันธุ์ต่างกัน หรือการอิง breakpoint ที่ต่างกันดังได้เกริ่นนำข้างต้น เช่น ในรายงานของ US CDC⁽¹⁶⁾ ตัดสินให้เชื้อดื้อต่อ amphotericin B ที่ค่า MIC ≥ 2 $\mu\text{g/mL}$ ⁽¹⁶⁾ ในขณะที่ Rudramurthy และคณะใช้เกณฑ์ที่ MIC ≥ 1 $\mu\text{g/mL}$ ⁽¹³⁾

ปัจจุบันยังไม่มีแนวทางที่ชัดเจนในการใช้ยาเพื่อรักษาการติดเชื้อ *C. auris* แต่การที่พบเชื้อดื้อต่อ caspofungin หรือมีค่า MIC สูงต่อ amphotericin B (MIC >1 $\mu\text{g/mL}$) เป็นเรื่องที่น่ากังวลเพราะ echinocandins เป็นยาหลักที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ *Candida* ในกระแสเลือดในหอผู้ป่วยหนัก (ICU)⁽⁴⁵⁾ ส่วน amphotericin B เป็นยาหลักที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อยีสต์ที่พบไม่บ่อย (rare yeast infection) ยกเว้น *Trichosporon* spp.⁽⁴⁶⁾

สมาคมโรคติดเชื้อแห่งสหรัฐอเมริกา (Infectious Disease Society of America, IDSA) กำหนดแนวปฏิบัติในการรักษาโรคติดเชื้อ *Candida* โดยให้เลือกการรักษาตามผลทดสอบความไว⁽⁴⁷⁾ ข้อเสนอแนะของ US CDC ก็ให้ทดสอบความไวของ *C. auris* ทุกไอโซเลท⁽⁴⁸⁾ แต่เนื่องจากมาตรฐาน CLSI และ EUCAST ยังไม่มี MIC breakpoints ของเชื้อ *C. auris* ทำให้ US CDC ได้ทบทวน epidemiological breakpoints ร่วมกับการใช้ expert opinion การอ้างอิงตาม breakpoint ของ related *Candida* species และการใช้ผล pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) จากผลการทดลองการให้ยาในหนู mice ที่ติดเชื้อ *C. auris* ในกระแสเลือด แล้วเสนอค่า tentative MIC breakpoints ของ *C. auris*⁽⁴⁸⁾ และให้พิจารณาการดื้อยาจากค่า MIC₅₀ และ MIC₉₀ ตามที่ Sear และคณะ⁽²¹⁾ ได้รวบรวมจากบทความตีพิมพ์หลายฉบับ^(8, 16, 32, 49) ดังแสดงใน Table 5

Table 4 Susceptibility profiles of *C. auris* to antifungals performed by various antifungal susceptibility testing (AST) during the year of 1996-2017

Year	AST*	AmB	FLU	ITC	VRC	ISA	POS	5-FC	CAS	MFG	AFG	Ref
(No. of Isolates)												
2009 (1)	Not mention											1
2004-2006 (15)	CLSI 2002, E test (AmB)	0.38-1.5	2-128	0.125-4	0.03-2				0.125-0.25	0.03-0.06		2
1996 (2) 2009 (4)	CLSI 2008	0.5-1	2-128	0.125-2	0.03-1				0.06	0.03		3
2009-2011 (12)	CLSI 2008	0.25-1	16-64	0.125-0.25	0.125-1	<0.015-0.25	0.06-0.25	0.125	0.125-0.25	0.06-0.125	0.125-0.5	4
2011-2013 (15)	CLSI 2008	0.25-1	64	0.06-0.25	0.5-4	0.06-0.5	0.015-0.125	0.25-64	0.25-1	0.06-0.125	0.125-0.25	5
2013 (4)	CLSI 2008	0.125-0.5	>64	0.03-0.125	0.06-0.125		<0.015	0.125-4	1	0.06	0.125-0.25	6
2012-2013 (4)	Vitek-2 YST	0.5-1	64->256	0.06-0.25	0.25-2		0.015-0.06	0.06-0.12	0.03-0.25	0.06-0.12	0.06-0.25	7
2010-2014 (90)	CLSI 2008	0.125-8	4->64	<0.03-2	0.03->16	<0.015-4	<0.015-8	<0.0125->64	0.125-8	<0.015-8	<0.015-8	8
2014 (1)	Etest	0.064	≥256		0.38				0.064			9
2010-2014 (104)	CLSI 2008	0.5-4	2->64	≤0.03-0.5	0.03-4	<0.015-0.25	0.03-1	0.125-0.5	0.06-1	0.015-1	0.125-0.5	32
2013 (12)	CLSI 2008	0.5-1	8->64	0.06-2	0.06-2		<0.03-1	<0.125-0.25			0.03-0.5	36
2015-2016 (50)	Sensititre	0.5-2	>256	0.03-2	0.03-2			0.06-0.12	0.06-0.25	0.06-0.25	0.06-0.25	10
2012-2013 (18)	CLSI 2012	1-2	>64		4			0.5			0.06-0.125	12
2012-2013 (74)	CLSI 2008	0.06-8	0.12->64	0.03-2	0.03-4		0.03-16		0.12-4	0.03-2	0.03-2	13
2014-2015 (6)	CLSI 2008	1-2	32-64	0.5	0.5-1		0.12-0.5	0.25-1	0.5	0.12-0.25	0.03	14
2014-2015 (8)	Sensititre	0.5	≥256	2				≤0.06				15
2014-2015 (54)	CLSI 2012	0.38-4	4-256	0.125-2	0.03-16		0.06-1	0.125-128	0.03-16	0.06-4	0.125-16	16
2016 (17)	Vitek-2 YST											
2016-2017 (5)	E test (AmB)	8->16	16->64		<0.12-2				<0.25-0.5	<0.06-0.12		17
	Sensititre	1-2	128->256	0.12-0.25	0.5-2		0.06-0.12		0.08-0.12	0.06-0.12	0.12	18
Overall MIC		0.06->16	0.12->256	<0.03-4	0.03->16	<0.015-4	<0.015-16	<0.0125-128	0.03-16	<0.015-8	<0.015-16	

AST* CLSI 2002 [Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard M27-A2, 2nd ed. Wayne, PA. CLSI 2002.]
 CLSI 2008 [Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard M27-A3, 3rd ed. Wayne, PA. CLSI 2008.]
 CLSI 2012 [Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Fourth information supplement (M27-S4). Wayne, PA. CLSI 2012.]
 Etest (AB Biodisk, Solna, Sweden)

Vitek-2 YST (bioMérieux Inc., France)

Sensititre (Sensititre Yeast One, Trek Diagnostic System, Cleveland, OH)

AmB = amphotericin B, FLU = fluconazole, ITC = itraconazole, VRC = voriconazole, ISA = isavuconazole,
 POS = posaconazole, 5-FC = 5-fluorocytosine, CAS = caspofungin, MFG = micafungin, AFG = anidulafungin

Table 5 Tentative MIC ($\mu\text{g/mL}$) breakpoints, MIC₅₀, MIC₉₀ and MIC of *C. auris* to antifungal agents

Antifungal drug	Tentative MIC breakpoint	Published MIC ₅₀ range	Published MIC ₉₀ range	MIC ($\mu\text{g/mL}$)*
Fluconazole	≥ 32	64-128	64-256	0.12 - >256
Voriconazole ^a	N/A ^b	0.5-2	4-8	0.03 - >16
Amphotericin B	≥ 2	0.5-1	2-4	0.06 - >16
Anidulafungin	≥ 4	0.125-0.5	0.5-1	<0.015 - 16
Caspofungin	≥ 2	0.25-0.5	1	0.03 - 16
Micafungin	≥ 4	0.125-0.5	0.25-2	<0.015 - 8

MIC₅₀ minimum inhibitory concentration (MIC) for 50% of total isolated testesd

MIC₉₀ minimum inhibitory concentration (MIC) for 90% of total isolated testesd

a apply for voriconazole and other 2nd generation triazoles

b fluconazole used as surrogate antifungal tested (resist to fluconazole may susceptible to triazoles)

adapted from Sear *et al*²¹ with additional MIC range* (overall MIC) of Table 4

ค่า MIC₅₀ และ MIC₉₀ ต่อ fluconazole >64 $\mu\text{g/mL}$ (Table 5) ชี้ชัดว่า *C. auris* ต่อกับ fluconazole จากผลดังกล่าว echinocandins จึงเป็นยาหลัก (empiric drug) ที่ใช้รักษาการติดเชื้อ *C. auris* ในกระแสเลือดหรือการติดเชื้อในอวัยวะต่างๆ^(3-5, 8, 32) ยกเว้นระบบทางเดินปัสสาวะซึ่งเป็นตำแหน่งที่ใช้ยาไม่ได้ผล⁽⁵⁰⁾ ต่อมาเริ่มพบเชื้อที่ลดระดับความไวต่อ echinocandins^(5, 11, 16, 19, 50) และพบว่าถ้า *C. auris* สร้าง biofilm จะทำให้ echinocandins ใช้ไม่ได้ผล⁽⁵⁰⁾ ในขณะที่ amphotericin B และ liposomal amphotericin B มีผลต่อเซลล์ที่อยู่ใน biofilm แต่ต้องใช้ในปริมาณที่เข้มข้นมาก (16 $\mu\text{g/mL}$) ซึ่งมากกว่าความเข้มข้นที่ใช้กับเซลล์เดี่ยว (4 $\mu\text{g/mL}$)⁽⁵⁰⁾ นอกจากนี้มีการศึกษาการใช้ยา 2 ชนิดร่วมกันในหลอดทดลอง พบว่า micafungin และ voriconazole ให้ผลเสริมฤทธิ์กัน⁽⁵⁰⁾ ณ ปัจจุบันยังไม่มีข้อแนะนำการใช้ยา 2 ชนิดร่วมกัน แต่แนะนำให้ปรับเปลี่ยนยาจาก empiric drug มาใช้ยาตามผลการทดสอบความไว

SCY 078 เป็นยาที่เพิ่งพัฒนาใหม่ บริหารทางปาก (เป็นยารับประทาน) และออกฤทธิ์ยับยั้งการ

สร้าง 1, 3- β -D-glucan การศึกษาในหลอดทดลองพบว่าประสิทธิภาพต่อเซลล์เดี่ยวและเซลล์กลุ่มก้อนซ้อนทับกันเป็น biofilm โดยมี MIC₉₀ ที่ 1 $\mu\text{g/mL}$ เท่ากับ caspofungin, micafungin และต่ำกว่า amphotericin (MIC₉₀ 4 $\mu\text{g/mL}$) ในขณะที่ MIC₉₀ ต่อ azoles มีค่า >64 $\mu\text{g/mL}$ (fluconazole), 2 $\mu\text{g/mL}$ (voriconazole), 1 $\mu\text{g/mL}$ (itraconazole), 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (posaconazole) และ 0.125 $\mu\text{g/mL}$ (isavuconazole)⁽³⁸⁾ การตรวจดูเซลล์ที่สัมผัสยา SCY 078 ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ scanning EM พบว่าเซลล์บิดเบี้ยวและหลอมรวมกันทำให้เซลล์แบ่งตัวไม่ได้⁽³⁸⁾ จึงมีแนวโน้มที่น่าจะนำ SCY 078 มาใช้ในการรักษาการติดเชื้อ *C. auris*^(38, 50)

กลไกการดื้อยาของเชื้อ *C. auris* ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่การศึกษาด้านจีโนมพบยีน *ERG3*, *ERG11*, *FKS1*, *FKS2* และ *FKS3* ที่อาจเกี่ยวข้องกับ การดื้อยา เมื่อเทียบความเหมือนของลำดับเบสระหว่าง *C. auris* กับ *C. albicans* และ *C. glabrata* พบว่ามีความเหมือนของลำดับเบสในยีน *ERG* และ *FKS* ร้อยละ 78-85⁽¹⁹⁾ ในรายงาน

การศึกษาของ US CDC ที่วิเคราะห์ลำดับกรดอะมิโนในยีนดื้อยา fluconazole (*ERG11*) บริเวณ hot spot จากเชื้อที่เก็บรวบรวมจาก ปากีสถาน อินเดีย แอฟริกาใต้ และเวเนซุเอลา พบการแทนที่ของกรดอะมิโน 9 ตำแหน่งเช่นเดียวกับที่พบใน *C. albicans*⁽¹⁶⁾ นอกจากนี้ในบริเวณ hot spot ยังพบการแทนที่ของกรดอะมิโนเพิ่มอีก 3 ตำแหน่งคือ F126T (เชื้อจากแอฟริกาใต้) Y132F (เชื้อจากเวเนซุเอลา) Y132F และ K143R (เชื้อจากอินเดียและปากีสถาน)⁽¹⁶⁾ ในทางตรงข้าม การเทียบลำดับเบสบนยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อ echinocandins (*FKS1* และ *FKS2*) กลับไม่พบการกลายพันธุ์ตรงตำแหน่งที่เคยพบใน *C. glabrata*^(8, 19)

การวิเคราะห์ลำดับเบสทั้งจีโนม (whole genome sequence) พบโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการนำส่งยา (drug transporter proteins) เช่น ATP binding cassette (ABC) และ major facilitator superfamilies (MFS) ซึ่งในเชื้อดื้อยาอื่นๆ เกี่ยวข้องกับการปั๊มยาออก (efflux pump)^(19, 50, 51) การวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบลำดับเบสในจีโนมของ *C. albicans* และ *S. cerevisiae* พบ zinc cluster transcription factor orthologs เช่น kinases ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า *C. auris* ใช้ในการรับยีนดื้อยาในลักษณะคล้ายกับ protein kinase A (HOG1) ที่พบในเชื้อดื้อยาอื่นๆ ที่เมื่อถูกกระตุ้นโดย stress แล้วจะทำหน้าที่ไปควบคุมการแสดงออกของยีน (stress signaling pathways) ส่งเสริมให้เชื้อราทนต่อสารต้านเชื้อรา^(19, 50)

บทสรุปและวิจารณ์

C. auris มีคุณลักษณะสำคัญที่แตกต่างจาก *C. albicans* ตรงที่ 1) *C. albicans* ไวต่อ fluconazole และ amphotericin B โดยมีระดับ MIC ต่ำ ในขณะที่ *C. auris* ส่วนใหญ่ (> ร้อยละ 90) ดื้อต่อ fluconazole และมีแนวโน้มที่จะลดระดับ

ความไวต่อ voriconazole 2) *C. auris* บางสายพันธุ์ดื้อต่อยา (≥ 2 กลุ่ม) ที่สำคัญคือดื้อต่อ echinocandins ซึ่งเป็นยาที่เพิ่งพัฒนาสำหรับการรักษาโรคติดเชื้อจาก *Candida* species ทำให้มีข้อจำกัดในการเลือกใช้ยารักษา และ 3) การติดเชื้อ *C. auris* มักเป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาล มีอัตราตายสูง และอาจเป็นสาเหตุของการระบาด ที่ต้องมีการจัดการในการป้องกันและควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาล

C. auris และ *C. haemulonii* complex ถือเป็น rare pathogenic yeast ที่ดื้อยา และก่อให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดเช่นเดียวกัน แต่การดื้อยาของเชื้อมีความแตกต่างกัน *C. auris* ดื้อต่อ fluconazole แต่อาจไวหรือดื้อต่อ amphotericin B ในขณะที่ *C. haemulonii* และ *C. duobushae-hemulonii* อาจไวหรือดื้อต่อ fluconazole (MIC ต่อ fluconazole มีค่าอยู่ในช่วงกว้าง 2 - >64 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ส่วนใหญ่ไวต่อ voriconazole (MIC 0.03 - 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) แต่ดื้อต่อ amphotericin B หรือมีค่า MIC สูง (4-16 $\mu\text{g}/\text{mL}$)⁽⁸⁾

ในขณะที่มีเพียงข้อแนะนำให้ใช้ echinocandins เป็น empiric drug ในการรักษาเบื้องต้น แต่ให้ปรับใช้ยาตามผลการทดสอบความไว และการให้ปรับใช้ยาตามผลการทดสอบความไว และการทำงานด้านดูแลสุขภาพในหลายประเทศมีแนวทางและข้อแนะนำในการรายงานเชื้อ *C. auris* และการจัดการตามวิธีการที่ใช้ในการป้องกันและควบคุมเชื้อดื้อยา ยิ่งทำให้การวินิจฉัยเชื้อที่ถูกต้องทันกาลและการทดสอบความไวมีความสำคัญเด่นชัดขึ้น ซึ่งห้องปฏิบัติการควรทราบอุบัติการณ์ ระบาดวิทยา และทราบข้อจำกัดที่เป็นจุดบอดของชุดทดสอบและเครื่องอัตโนมัติ หรือ MALDI-TOF MS ในรุ่นที่ใช้อยู่ การพัฒนาการวินิจฉัยเชื้อให้เป็นไปตามมาตรฐานทันตสถานการณ์ปัจจุบัน การรู้เท่าทันอุบัติการณ์หรือการตรวจติดตามเชื้อ *C. auris* และเชื้อที่อาจอุบัติขึ้นใหม่ในอนาคต มีความสำคัญ แม้ว่าจะยังไม่มียารายานเชื้อนี้ในประเทศไทยก็ตาม

เอกสารอ้างอิง

1. Satoh K, Makimura K, Hasumi Y, Nishiyama Y, Uchida K, Yamaguchi H. *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. *Microbiol Immunol* 2009; 53: 41-4. doi: 10.1111/j.1348-0421.2008.00083.x.
2. Kim MN, Shin JH, Sung H, *et al.* *Candida haemulonii* and closely related species at 5 university hospitals in Korea: identification, antifungal susceptibility, and clinical features. *Clin Infect Dis* 2009; 48: e57-e61.
3. Lee WG, Shin JH, Uh Y, *et al.* First three reported cases of nosocomial fungemia caused by *Candida auris*. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 3139-42. doi:10.1128/JCM.00319-11.
4. Chowdhary A, Sharma C, Duggal S, *et al.* New Clonal Strain of *Candida auris*, Delhi, India. *Emerg Infect Dis* 2013; 19: 1670-3. <https://doi.org/10.3201/eid1910.130393> PMID:24048006.
5. Chowdhary A, Kumar VA, Sharma C, *et al.* Multidrug-resistant endemic clonal strain of *Candida auris* in India. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33: 919-26. <https://doi.org/10.1007/s10096-013-2027-1>. PMID:24357342.
6. Khillan V, Rathore N, Kathuria S, Chowdhary A. A rare case of breakthrough fungal pericarditis due to fluconazole-resistant *Candida auris* in a patient with chronic liver disease. *JMM* 2014; 1. <https://doi.org/10.1099/jmmcr.0.T00018>.
7. Magobo RE, Corcoran C, Seetharam S, Govender NP. *Candida auris*—associated candidemia, South Africa. *Emerg Infect Dis* 2014; 20: 1250-1. doi: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2007.131765>.
8. Kathuria S, Singh PK, Sharma C, *et al.* Multidrug-resistant *Candida auris* misidentified as *Candida haemulonii*: characterization by matrix-assisted laser desorption ionization—time of flight mass spectrometry and DNA sequencing and its antifungal susceptibility profile variability by Vitek 2, CLSI broth microdilution, and Etest method. *J Clin Microbiol* 2015; 53: 1823-30. doi:10.1128/JCM.00367-15.
9. Emara M, Ahmad S, Khan Z, *et al.* *Candida auris* Candidemia in Kuwait 2014. *Emerg Infect Dis* 2015; 21: 1091-2. doi: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2106.150270>.
10. Schelenz S, Hagen F, Rhodes JL, *et al.* First hospital outbreak of the globally emerging *Candida auris* in a European hospital. *Antimicrob Resist Infect Control* 2016; 5. doi 10.1186/s13756-016-0132-5.

11. Vallabhaneni S, Kallen A, Tsay S, *et al.* Investigation of the First Seven Reported Cases of *Candida auris*, a Globally Emerging Invasive, Multidrug-Resistant Fungus—United States, May 2013—August 2016. *Weekly*/November 11, 2016; 65:1234-7.
12. Calvo B, Melo ASA, Perozo-Mena A, *et al.* First report of *Candida auris* in America: clinical and microbiological aspects of 18 episodes of candidemia. *J Infection* 2016; 73: 369-74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2016.07.008>.
13. Rudramurthy SM, Chakrabarti A, Paul RA, *et al.* *Candida auris* candidaemia in Indian ICUs: analysis of risk factors. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72: 1794-801.
14. Ben-Ami R, Berman nJ, Novikov A, *et al.* Multidrug-resistant *Candida haemulonii* and *Candida auris*, Tel Aviv, Isarel. *Emerg Infect Dis* 2017; 23: 195-203.
15. Ruiz Gaitán AC, Moret A, Lopez Hontangas JL, *et al.* Nosocomial fungemia by *Candida auris*: First four reported cases in continental Europe. *Rev Iberoam Micol* 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.riam.2016.11.002>.
16. Lockhart SR, Etienne KA, Vallabhaneni S, *et al.* Simultaneous emergence of multidrug-resistant *Candida auris* on 3 continents confirmed by whole-genome sequencing and epidemiological analyses. *Clin Infect Dis* 2017; 64: 134-40.
17. Morales-López SE, Parra-Giraldo CM, Ceballos-Garzón A, *et al.* Invasive Infections with Multidrug-Resistant Yeast *Candida auris*, Colombia. *Emerg Infect Dis* 2017; 23: 162-3.
18. Al-Siyabi T, Al Busaidi I, Balkhair A, Al-Muharrmi Z, Al-Salti M, Al'Adawi B. First report of *Candida auris* in Oman: Clinical and microbiological description of five candidemia cases. *J Infect* 2017; 75: 373-6.
19. Sharma C, Kumar N, Pandey R, Meis JF, Chowdhary A. Whole genome sequencing of emerging multidrug resistant *Candida auris* isolates in India demonstrates low genetic variation. *New Microbes New Infect* 2016; 13: 77-82.
20. Chowdhary A, Sharma C, Meis JF. *Candida auris*: A rapidly emerging cause of hospital-acquired multidrug-resistant fungal infections globally. *PLOS Pathogens* 2017; 13: e1006290.
21. Sears D, Schwartz BS. *Candida auris*: An emerging multidrug-resistant pathogen. *Int J Infect Dis* 2017; 63: 95-8.
22. Centers for Disease Control and Prevention. CDC. Clinical alert to US healthcare facilities - June 2016: global emergence of invasive infections caused by the multidrug-resistant yeast *Candida auris*. [cited 2017 December 27]. Available from: <http://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/candida-auris-alert.html>.

23. Centers for Disease Control and Prevention, CDC. Recommendations for Infection Prevention and Control for *Candida auris*. [cited 2018 February 12]. <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/c-auris-infection-control.html>.
24. Public Health England. Guidance for the laboratory investigation, management and infection prevention and control for cases of *Candida auris* August 2017 v2.0. [cited 2017 December 27]. Available from: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/637685/Updated_Candida_auris_Guidance_v2.pdf.
25. Public Health England. *Candida auris*: infection control in community care settings. [cited 2017 December 27]. Available from: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/637092/C_auris_in_community_settings_v1.0.pdf.
26. Public Health England. *Candida auris* - a guide for patients and visitors. [cited 2017 December 27]. Available from: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/637101/Candida_auris_a_guide_for_patients_and_visitors.pdf.
27. European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid Risk Assessment. *Candida auris* in healthcare settings—Europe 19 December 2016. [cited 2017 December 27]. Available from: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/Candida-in-healthcare-settings_19-Dec-2016.pdf.
28. Asia Fungal Working Group. ICMR issues *C. auris* advisory. [cited 2018 March 15]. Available from: <https://www.afwgonline.com/resources/articles/icmr-issues-c-auris-advisory/>
29. National Institute for Communicable Diseases, Division of the National Health Laboratory Service, Centre for Opportunistic, Tropical and Hospital Infections. Interim guidance for management of *Candida auris* infections in South African hospitals. [cited 2017 December 27]. Available from: <http://www.nicd.ac.za/assets/files/2016-12-22%20InterimNIC-DRecommtdtnsCAuris.pdf>.
30. Indian Council of Medical Research *Candida auris* in healthcare settings—India Date: 16.9.2017. [cited 2018 February 2]. Available from: <http://www.icmr.nic.in/icmrnews/candida%20auris.pdf>.

31. Center for Infectious Disease Research and Policy. CDC reports uptick in *Candida auris* cases. Chris Dall | News Reporter | CIDRAP News Jul 17, 2017. [cited 2017 December 27]. Available from: <http://www.cidrap.umn.edu/news-perspective/2017/07/cdc-reports-uptick-candida-auris-cases>.
32. Prakash A, Sharma C, Singh A, *et al.* Evidence of genotypic diversity among *Candida auris* isolates by multilocus sequence typing, matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry and amplified fragment length polymorphism. *Clin Microbiol Infect* 2016; 22: 277.e1–277.e9.
33. Schelenz S, Barnes RA, Barton RC, *et al.* British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases. *Lancet Infect Dis* 2015; 15: 461-74.
34. Meyer SA, Payne RW, Yarrow D. *Candida* Berkhout. In: Kutzman CP, Fell JW, eds. *The Yeasts, a taxonomic study*, 4th ed. Amsterdam: Elsevier 1998: 454-73.
35. Cendejas-Bueno E, Kolecka A, Alastruey-Izquierdo A, *et al.* Reclassification of the *Candida haemulonii* Complex as *Candida haemulonii* (*C. haemulonii* Group I), *C. duobushaemulonii* sp. nov. (*C. haemulonii* Group II), and *C. haemulonii* var. *vulnera* var. nov.: Three multiresistant human pathogenic yeasts. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 3641-51.
36. Borman AM, Szekely A, Johnson EM. Comparative pathogenicity of United Kingdom isolates of the emerging pathogen *Candida auris* and other key pathogenic *Candida* species. *mSphere* 2016; 1: e00189-16.
37. Clancy CJ and Nguyen MH. Emergence of *Candida auris*: An International Call to Arms. *Clin Infect Dis*; 64: 141-3.
38. Larkin E, Hager C, Chandra J, *et al.* The Emerging Pathogen *Candida auris*: Growth phenotype, virulence factors, activity of antifungals, and effect of SCY-078, a novel glucan synthesis inhibitor, on growth morphology and biofilm formation. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61: e02396-16.
39. Mizusawa M, Miller H, Green R, *et al.* Can multidrug-resistant *Candida auris* be reliably identified in clinical microbiology laboratories? *J Clin Microbiol* 2017; 55: 638-40.
40. Marklein G, Josten M, Klanke U, *et al.* Matrix-assisted laser desorption ionization—time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 2912-7.
41. van Veen SQ, Claas ECJ, Kuijper Ed J. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization—time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 900-7.

42. Buchan BW, Ledebor NA. Advances in identification of clinical yeast isolates by use of matrix-assisted laser desorption ionization—time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 1359-66.
43. Fraser M, Brown Z, Houldsworth M, Borman AM, Johnson EM. Rapid identification of 6328 isolates of pathogenic yeasts using MALDI-TOF MS and a simplified, rapid extraction procedure that is compatible with the Bruker Biotyper platform and database. *Med Mycol* 2016; 54: 80-8.
44. Kordalewska M, Zhao Y, Lockhart SR, Chowdhary A, Berrio I, Perlin DS. Rapid and accurate molecular identification of the emerging multidrug-resistant pathogen *Candida auris*. *J Clin Microbiol* 2017; 55: 2445-52.
45. Cornely OA, Bassetti M, Calendra T, *et al.* ESCMID guidelines for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18 (Suppl 7): 19-37.
46. Arendrup MC, Boekhout T, Akova M, Meis JF, Cornely OA, Lortholary O. ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of rare invasive yeast infections. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20 (Suppl 3): 76-98.
47. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, *et al.* Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016; 62: e1-e50.
48. Centers for Disease Control and Prevention. CDC. Recommendations for Identification of *Candida auris*. <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/recommendations.html>. Accessed 21 November 2017.
49. Arendrup MC, Prakash A, Meletiadis J, Sharma C, Chowdhary A. Comparison of EUCAST and CLSI reference microdilution MICs of eight antifungal compounds for *Candida auris* and associated tentative epidemiological cutoff values. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61: e00485-17.
50. Jeffery-Smith A, Taori SK, Schelenz S, Jeffery K, Johnson EM, Borman A. *Candida auris* Incident Management Team, Manuel R, Brown CS. *Candida auris*: a review of the literature. *Clin Microbiol Rev*. 2017; 31. pii: e00029-17.
51. Chatterjee S, Alampalli SV, Nageshan RK, Chettiar ST, Joshi S, Tatu US. Draft genome of a commonly misdiagnosed multidrug resistant pathogen *Candida auris*. *BMC Genomics* 2015; 16: 686.

52. White TJ, Bruns TD, Lee SB, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds. PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, San Diego, CA. 1990 pp. 315-22.
53. Sugita T, Takashima M, Poonwan N, Mekha N. *Candida pseudohaemulonii* sp. Nov., an amphotericin B- and azole-resistant yeast species, isolated from the blood of a patient from Thailand. Microbiol Immunol 2006; 50: 469-73.
54. Bellemain E, Carlsen T, Brochmann C, Coissac E, Taberlet P, Kauserud H. ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an *in silico* approach reveals potential PCR biases. BMC Microbiology 2010; 10: 189.
55. Kurtzman CP, Robnett CJ. Identification of clinically important ascomycetous yeasts based on nucleotide divergence in the 5' end of the large-subunit (26S) ribosomal DNA gene. J Clin Microbiol 1997; 35: 1216-33.