

陳昶華<sup>1,2,3</sup> 朱韋臣<sup>3</sup> 黃介辰<sup>3</sup>

彰化基督教醫院<sup>1</sup> 內科部感染科<sup>2</sup> 感染管制委員會

<sup>3</sup>中興大學生命科學院生命科學系

院內感染是一個嚴重的問題，它的致病性與致死率都高，所以儘可能減低院內感染的發生，已經是目前全體院內感染團隊的共識；此外，如果有辦法找到可以預測院內感染的指標，將會對於院內感染的預防與治療，很有價值。近年來，國外有關院內感染的研究，指向院內感染的發生可能跟 integron 有關。筆者收集 integron 與院內感染可能有關係的資料，做進一步的整理，與讀者分享研究。期待未來有機會找到可以準確預測院內感染指標。

### 前 言

Integron，它約在 1980 年代被發現；它是一種具有可移動性的 DNA；它將某些特殊的基因都整合在相同基因結構的相同位置中；它跟抗生素抗性基因、或是相近的質體(plasmid)、或是轉位子(transposon)等等有關；它是複合型基因水平移動的單位。在 2006 年、由歐洲的 Eleni Kraniotaki 等發表，利用 integron 的特性分析多重抗藥性的鮑式不動桿菌(multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*; MDR)群突發，發現 integron 與院內感染有關係[1]。調查希臘一家醫院內之加護病房(ICU)爆發為期 3 個月的 MDR *Acinetobacter baumannii* 之群突發，有 31 個病人數。除病人外，另收集 ICU 環境和工作人員的手來辨識可能的污染，經由分子分型技術(molecular typing)在環境中找到帶有 Class 1 integrons 分別帶有 3.1, 2.5 and 2.2(kb)大小之基因卡匣，其 3.1 大小的 integron 更是首度在 *A. baumannii* 中被發現帶有五個抗藥性基因卡匣 gene cassettes)。

Eleni Kraniotaki 認為 integron 與鮑式不動桿菌(*Acinetobacter baumannii*)院內感染有關係。如眾所周知的鮑式不動桿菌的感染，是一個嚴重的問題，它的致病性與致死率都高，也長期存活於醫院環境中，長久以來已成了院內菌種生態的主要菌種。針對院內感染的鮑式不動桿菌，在國內與國外的研究中，由鮑式不動桿菌所引起的院內感染都具有一定的比例。以彰化基督教醫院院內感染的狀況而言，在 1998-1999 兩年之中，由鮑式不動桿菌所引起的院內感染比例為 1.4% [2]。雖然說鮑式不動桿菌並不是一個毒性很強的病原菌，但是嚴重的是近年來在醫院內發現具多重抗藥性的鮑式不動桿菌有逐年增加的趨勢，部分菌株出現了對最後一道防線 carbapenem 類抗生素的抗性，甚至還有台大醫院所謂的 PDRAB (Pandrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*) 出現，隨著抗生素使用量的增加，具有 imipenem 抗藥性的菌株的比例也逐年上升。

### 一、院內感染菌株的抗生素抗藥性的分類

眾所周知，不同的細菌有不同的抗藥性機轉。David Livermore 以綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)為例子，革蘭氏陰性菌之抗藥機轉常藉由以下四種方式獲得抗生素的抗藥性：(1)改變抗生素結合蛋白(例如 penicillin-binding protein)，使抗生素無法與之結合或作用；(2)改變細胞外膜通透性；(3)產生抗生素的分解酶；(4)減少抗生素進入細菌細胞內或是利用主動運輸將抗生素排出細胞外[3-5]。其中產生抗生素分解酶以  $\beta$ -lactamases 為最常見，作用機轉主要是藉由與  $\beta$ -lactam 環形成非共價鍵的結合，再以醃基化(acylation)的

作用將  $\beta$ -lactam 環打斷，最後經水解(hydrolysis)使抗生素失去活性[6]。 $\beta$ -lactamases 在細菌中可以經由染色體基因的表現而來，也可由質體(plasmid)或是轉位子獲得 [5,7]，近年來由於抗生素的使用，誘發許多  $\beta$ -lactamases 的產生，增加了細菌多重抗藥的能力。 $\beta$ -lactamase 的種類繁多，其分類系統也隨著時代的變遷而有所更動，目前最常被學者所引用為的有 Bush 以及 Ambler 兩位學者所發表的分類系統。其中 Bush 針對  $\beta$ -lactamase 的分類系統，主要是依  $\beta$ -lactamase 的外顯特性如：作用受質的種類與是否會被 clavulanic acid 所抑制來分成四大類[6]。Ambler 提出依酵素胺基酸序列分類的方式，將  $\beta$ -lactamase 分為四類：A、C、D 是屬於 serine 類的酵素，B 是屬於含鋅的酵素 [8]。

## 二、院內感染菌株的抗生素抗藥性基因的水平傳播

使細菌產生抗生素抗藥性的基因可能是由原菌體的染色體突變，或經基因水平傳播的方式由其它菌體獲得。對於臨床上的衝擊比較大的是，藉由基因水平傳播的方式，可以突破細菌物種間的藩籬造成散播，院內感染比較擔心這種狀況。細菌抗生素抗藥性基因可藉由幾種方式在菌體間傳遞，例如：細菌吸收環境中其他菌體的 DNA、或藉由噬菌體(bacteriophage)將外界基因帶入(即 transduction)、或由接合性的質體(conjugative plasmid)互相交換抗藥性基因、或藉轉位子插入質體或染色體的 DNA 序列以傳遞抗藥性基因，除了這些之外，近年來，備受學者重視的是 Integron 的部份。Integron 首度被發現的例子，是 1980 年代，利用限制酶每圖譜分析(restriction mapping)或異股 DNA 泳動分析法(heteroduplex analysis)的實驗結果發現，有許多不同組的抗生素抗性基因常常存在於同一個位置，或是相近的質體(如 R388 或 pSa)，或是同一個轉位子(如 Tn21、Tn2603 與 Tn2424)中。1980 年代中期，許多抗生素抗性基因被定序出來的同時，發現它們基因兩側上下游的序列有一部分完全相同，如 R388 中的 *dfxB2*(*dbfBII*)、pSa 中的 *aadA2*、Tn21 中的 *aadA1*、Tn2603 中的 *Oxa1* 與 R46 中的 *Oxa2* 等。這樣的結果顯示出，這些基因都被整合在相同基因結構的相同位置中[9]。接下來的研究也發現與不同類抗生素如 aminoglycosides、trimethoprim、chloramphenicol 與  $\beta$ -lactam 等抗生素抗藥性相關的基因也都可以被整合在同一個轉位子(如 Tn7 中)。不過除了抗生素抗藥性基因外，基因卡匣(gene cassettes)中還是有一些功能不明的開放閱讀架構 (open reading frames) [9]。在目前所發現的 integron 中，都具有三個與此特定部位的重組作用及基因表現有關的基本特徵：(1)具有一個 *intI* 基因(*intI* gene)，可轉譯出 integrase 酵素，它是一種 site-specific recombinase；(2)具有一個鄰近 *intI* 基因且能被 integrase 所認知的重組部位，並可容納基因卡匣插入，稱為 *attI* site，其主要的保留序列為 GTTRRRY 7 個 base(R 為 purine；Y 為 pyrimidine)，稱為核心部位(core site)；(3)具有一個 *Pant* promoter 區域，內含一或兩個起動子(promoter)，負責外來基因卡匣的表現 [10,11]。像這樣的複合基因水平移動單位，都可能會是抗生素抗藥性基因傳播複雜化的原因。Integron 以 class 1 integron 是最常見的一類，此類的 integron 在 5'端(5'end)的 conserved segment 帶有 *IntI* integrase 基因(*int1*)，負責將 cassettes 重組到 integron 上；此外，在這個 integrase 基因後端，還有讓第一個 cassette 連接的 *attI* site。第一類 integron 的末端還攜帶一段可抗四級銨類化合物消毒劑的基因，和一個抗抗生素 sulfonamide 的抗藥性基因 *sulII*[9]。

## 結 論

關於 integron 與抗生素抗藥性與院內感染的關係的探討，除 Eleni Kraniotaki 的研究認為 integron 與鮑式不動桿菌院內感染有關係的文章以外，尚有印度的 Abhishek Gaur 與 Laura Rojas 等[12,13]。Abhishek Gaur 的研究，利用分子生物學方式的聚鏈反應 polymerase chain reaction (PCR)檢測 86 株鮑式不動桿菌的 integrase gene，發

現 43.02% (37/86) 有 integrons，81.1% 是 Class1 integrons。2005 時 integron 上升到 63.6%。Abhishek Gaur 認為 integron 與鮑式不動桿菌的抗生素抗藥性與院內感染有關係[12]。除鮑式不動桿菌外，Laura Rojas 的研究[13]，在莫卡內那菌(*Morganella morganii*) 也有 integrons。在台灣，以彰化基督教醫院為例，也有類似的發現，筆者認為 integron 與院內感染可能真的有某種程度的關係，值得做進一步的研究。期待有辦法找到，預測院內感染的指標，這將會對於院內感染的防制很有幫忙。

## 參考文獻

1. Kraniotaki E, Manganeli R, Platsouka E, et al: Molecular investigation of an outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, with characterisation of class 1 integrons. *Int J Antimicrob Agents* 2006;28:193-9.
2. 陳昶華：包氏不動桿菌的分子特性與流行病學之研究。國立中興大學生命科學系研究所碩士論文。2003。
3. Livermore DM: beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:557-84.
4. Siu LK: Antibiotics: action and resistance in gram-negative bacteria. *J Microbiol Immunol Infect* 2002;35:1-11.
5. Hancock RE: Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clin Infect Dis* 1998;27:93-9.
6. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA: A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1211-33.
7. Poirel LT, Naas D, Nicolas L, et al: Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamase and its plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;44:891-7.
8. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos. Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1980;289:321-31.
9. Recchia GD, Hall RM: Gene cassettes: a new class of mobile element. *Microbiology* 1995; 141:3015-27.

10. Hall RM, Collis CM: Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. *Mol Microbiol* 1995;15:593-600.
11. Fluit AC, Schmitz FJ: Class 1 integrons, gene cassettes, mobility, and epidemiology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18:761-70.
12. Gaur A, Prakash P, Anupurba S, et al: Possible role of integrase gene polymerase chain reaction as an epidemiological marker: study of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from nosocomial infections. *Int J Antimicrob Agents* 2007 (on line journal in ScienceDirect).
13. Laura Rojas, Teresa Vinuesa, Fe Tubau, et al: Integron presence in a multiresistant *Morganella morganii* isolate. *Int J Antimicrob Agents* 2006;27:505-12.