

具有ESBL的肺炎克雷白氏菌感染

廖旭方

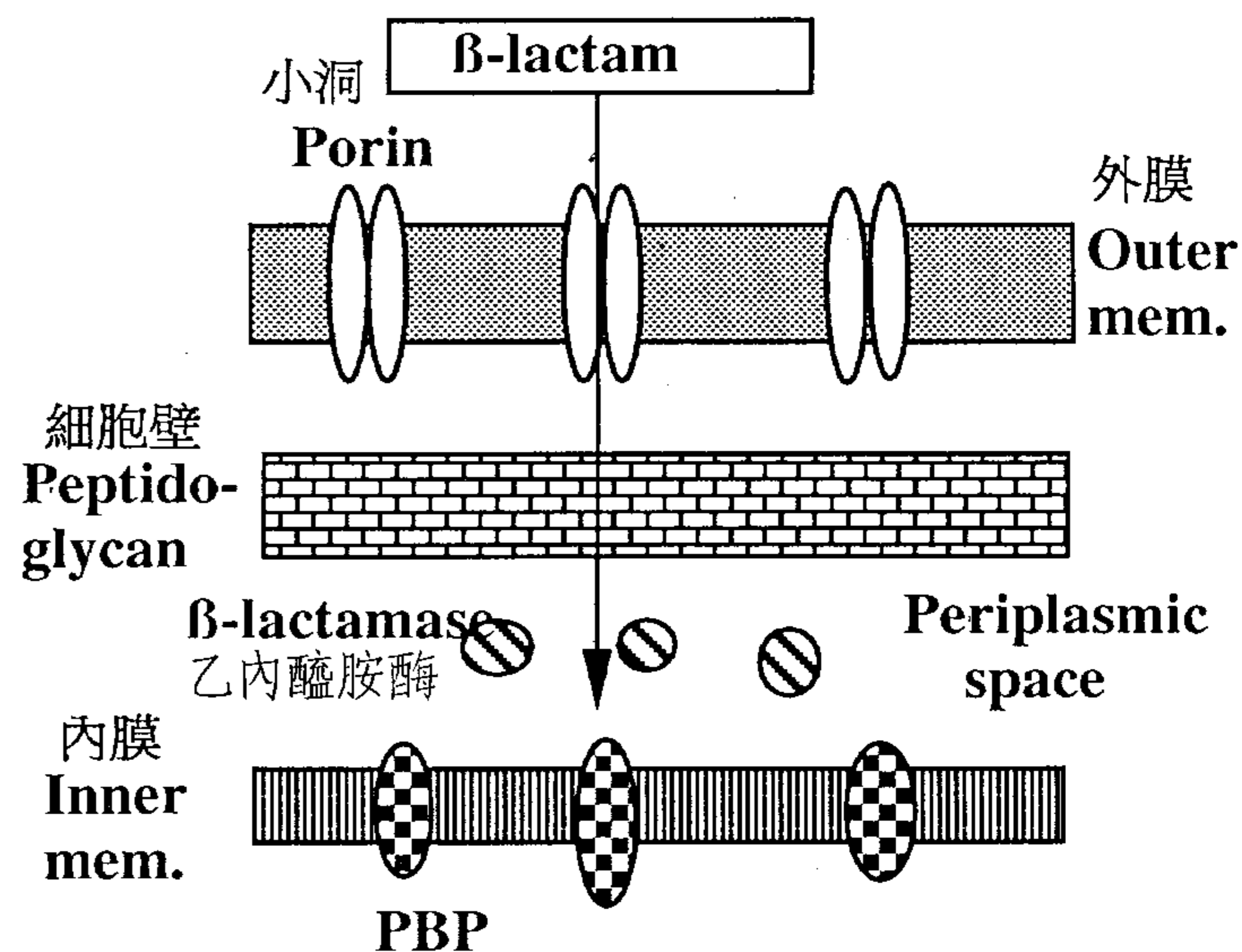
沙鹿童綜合醫院感管會

肺炎克雷白氏菌(*Klebsiella pneumoniae*)是台灣地區相當常見，可以引起社區感染或院內感染的革蘭氏陰性桿菌。社區感染方面，特別會造成糖尿病患者的肝膿瘍，也可引起腦膜炎、肺炎及眼內炎(*endophthalmitis*)等。院內感染方面，可以引起泌尿道感染、因點滴污染造成的菌血症、腦部手術後引起之腦膜炎與腦膿瘍、和肺炎等。過去，大部份第一代抗陰性菌藥物(如cefazolin, gentamicin等)對*K. pneumoniae*菌相當有效，唯一例外的是ampicillin。因為絕大部份*Klebsiella*菌都有SHV水解酶，可以分解像ampicillin等對水解酶抵抗力較弱的藥物。但是這一種現在稱為SHV-1的水解酶通常並不能分解第二代及第三代cephalosporins(cefoperazone除外)，並且可以被乙內醯胺酶抑制劑(β -lactamase inhibitor)如clavulanate, sulbactam或tazobactam所抑制。所以在1980年第三代cephalosporin剛問世的時候，cefotaxime (Claforan)或ceftazidime對*K. pneumoniae*幾乎是百份之一百有效。但近年來，*K. pneumoniae*對cefotaxime或ceftazidime這些第三代抗陰性菌藥物的抗藥性有增加的趨勢，特別是引起院內感染的*K. pneumoniae*菌株。目前，我們所瞭解的是這些*K. pneumoniae*主要是透過產生一類我們稱為ESBL (extended spectrum

β -lactamase)的乙內醯胺酶，對第三代cephalosporin產生抗藥性。

一、甚麼是ESBL?

ESBL中文的翻譯是超廣效乙內醯胺酶與broad-spectrum β -lactamase意義並不盡相同。凡對penicillin與cephalosporin水解能力相當的乙內醯胺酶皆可稱為broad-spectrum β -lactamase，但只有能水解oxyimino- β -lactam(包括cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime及aztreonam等)才能稱為ESBL。在談到ESBL之前，我們必須要對細菌對 β -lactam類抗生素的抗藥機轉有一點瞭解。圖一是革蘭氏陰性菌的基本結構， β -lactam類抗生素(包括penicillin, cephalosporin, monobactam, 與carbapenem等)主要是抑制細菌細胞壁



圖一、革蘭氏陰性菌的結構與對 β -lactam類抗生素抗藥性之關係

中的peptidoglycan的合成而達到其殺菌的作用。但合成peptidoglycan的酶是在細胞膜，也就是我們稱為PBP (penicillin-binding protein) 的結構。而革蘭氏陰性菌與陽性菌最大的不同，就是多了一層外膜，這層外膜含有脂多糖的結構，一般水溶性的 β -lactam 抗生素不能直接通過，所以必須透過一些叫porin的小洞，進入細胞壁與內膜間的空隙，我們稱為periplasmic space，在這空隙中，有些陰性菌會含有能破壞 β -lactam 抗生素的乙內醯胺酶。所以 β -lactam 抗生素能否對這一種陰性菌產生效果，主要是決定於(1)這一種 β -lactam 能否通過這一細菌的外膜，(2)能否抵抗在periplasmic space 中乙內醯胺酶的破壞，(3)能否與這

一細菌的PBP結合。其中乙內醯胺酶對 β -lactam 抗生素的破壞是陰性菌最主要的抗藥機轉。

Ambler根據乙內醯胺酶演化的來源，把它們分成A,B,C,D,四大類(表一)，而Bush則根據乙內醯胺酶的外顯特性，分成1,2(a~f),3,4等四大組(表二)。但基本上，乙內醯胺酶可以經由染色體的基因轉錄而來，也可由質體或跳躍子(transposon)的基因轉錄而來。在革蘭氏陰性菌中，從質體基因轉錄而來的乙內醯胺酶，主要是TEM-1,TEM-2及SHV-1 乙內醯胺酶。*Escherichia coli*主要含有TEM-1 乙內醯胺酶，*K. pneumoniae* 則主要含有SHV-1 乙內醯胺酶。這些從質體而來的乙內醯胺酶，正如在前面所說的，只破壞第一代抗陰性菌藥物，但對ceftazidime, cefotaxime 等第三代cephalosporin通常無法破壞，並且可以被水解酶抑制劑所抑制。因此不難想像為何像cefazolin等藥物對*E. coli*或*K. pneumoniae*通常都很有效。不過能產生ESBL的*E. coli*或*K. pneumoniae*則可以

表一、Ambler之 β -lactam水解酶分類法

分類	來源	例
A	質體	TEM, SHV, PC1
B	染色體/質體	含金屬之水解酶
C	染色體	AmpC
D	質體	OXA 1-4

表二、Bush之乙內醯胺酶分類法

分類	特性	例
1	Cephalosporin 乙內醯胺酶，不受clavulanate抑制	Amp C
2a	Penicillin乙內醯胺酶，受clavulanate抑制	<i>B.licheniformis</i> 749
2b	一般廣效乙內醯胺酶，受clavulanate抑制	TEM,SHV
2b'	ESBL，受clavulanate抑制	TEM-3~12,14~27,SHV-2~10
2c	Carbenicillin乙內醯胺酶，受clavulanate抑制	PSE-1,3,4
2d	Cloxacillin乙內醯胺酶，受clavulanate抑制	OXA-1~4
2e	Cephalosporin乙內醯胺酶，受clavulanate抑制	<i>B.fragilis</i> G42
3	含金屬之乙內醯胺酶	<i>S.maltophilia</i> GN12873
4	Penicillin乙內醯胺酶，不受clavulanate抑制	<i>B.fragilis</i> G237

對甚至第三代cephalosporin產生抗藥性。大部份ESBL其實都是從TEM-1或SHV-1經過幾個胺基酸的突變而演變而來的。所演變出來的ESBL，不僅可以破壞第一代的抗陰性細菌藥物，並且可以破壞新一代抗陰性細菌藥物如cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime和aztreonam等，但通常不能破壞cephamycin類藥物（如cefmetazone, cefoxitin, moxalactam），及carbapenem類藥物（如imipenem, meropenem）。另外因為它們是從TEM-1或SHV-1乙內醯胺酶演變而來，所以某些特性仍然與這些乙內醯胺酶相似，例如它們通常都可以被乙內醯胺酶抑制劑所抑制。

ESBL是在1983年首先在德國報告，當時發現在此*K. pneumoniae*菌株身上攜帶一些乙內醯胺酶可破壞cefotaxime。後來發現這些乙內醯胺酶的蛋白質序列與SHV-1只有一個胺基酸的差異，所以命名為SHV-2。其後，在1985年法國也從*K. pneumoniae*身上，發現一種由TEM-1乙內醯胺酶演變過來，可以破壞cefotaxime的CTX-1乙內醯胺酶（後來改名為TEM-3），只有三個胺基酸的突變，並且發現這一種產生TEM-3乙內醯胺酶的*K. pneumoniae*在醫院中發生群突發，這是第一篇有關產生ESBL菌株發生群突發的報告。其實根據回溯追蹤，第一株產生ESBL的菌株是1982年出現在阿根廷，也就是cefotaxime剛在美國與阿根廷上市的那一年。所以ESBL的產生，與第三代cephalosporin的大量使用，是有相當關係的。從1983年到現在，有超過40種的ESBL被報告（包括TEM-3~TEM-12, TEM-14

~TEM-27, SHV-2~SHV-10等）。但大部份都是由*K. pneumoniae*菌株所產生，其他可以產生ESBL的細菌包括*E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter spp.*, *Salmonella spp.*，其他*Klebsiella spp.*等。

在1988年，另一種與ESBL很像，但可以破壞cephamycin（如cefoxitin），並且不能被乙內醯胺酶抑制劑所抑制的乙內醯胺酶開始在美國與韓國的*K. pneumoniae*菌株出現，這一類乙內醯胺酶也是從質體的基因轉錄。後來發現轉錄這類乙內醯胺酶的質體基因與在*Enterobacter cloacae*染色體上的AmpC基因很像，所以認為可能是從*E. cloacae*染色體上所脫落的AmpC基因，跑到質體上，並透過質體傳到*K. pneumoniae*菌株身上，所以這一類乙內醯胺酶又稱為chromosome escape enzyme，其特性與真正的ESBL並不相像，反而較像染色體的Ambler Class C基因所產生的乙內醯胺酶，可以破壞carbapenem（如imipenem）以外的所有 β -lactam抗生素，並且不能被一般的乙內醯胺酶抑制劑所抑制。

二、產生ESBL的肺炎克雷白氏菌的偵測：

產生ESBL的*K. pneumoniae*菌株常常有多重抗藥性—不僅對第三cephalosporin有抗藥性，並且因為在質體或跳躍子上，轉錄ESBL的基因，常與在質體上對aminoglycoside（例如gentamicin, amikacin）有抗藥性的基因或在染色體上對quinolone（例如ciprofloxacin）有抗藥性的基因連在一起，所以常合併有對amikacin或對ciprofloxacin抗藥性。這樣有多重抗藥性的細菌常造成病人治療困

難，因此若能早期偵測出產生ESBL的*K. pneumoniae*菌株，不僅可幫助我們給予病人最好的治療，並且可以因早期發現，我們可以隔離帶有這類細菌的病人，避免這一類細菌在病房中散播。

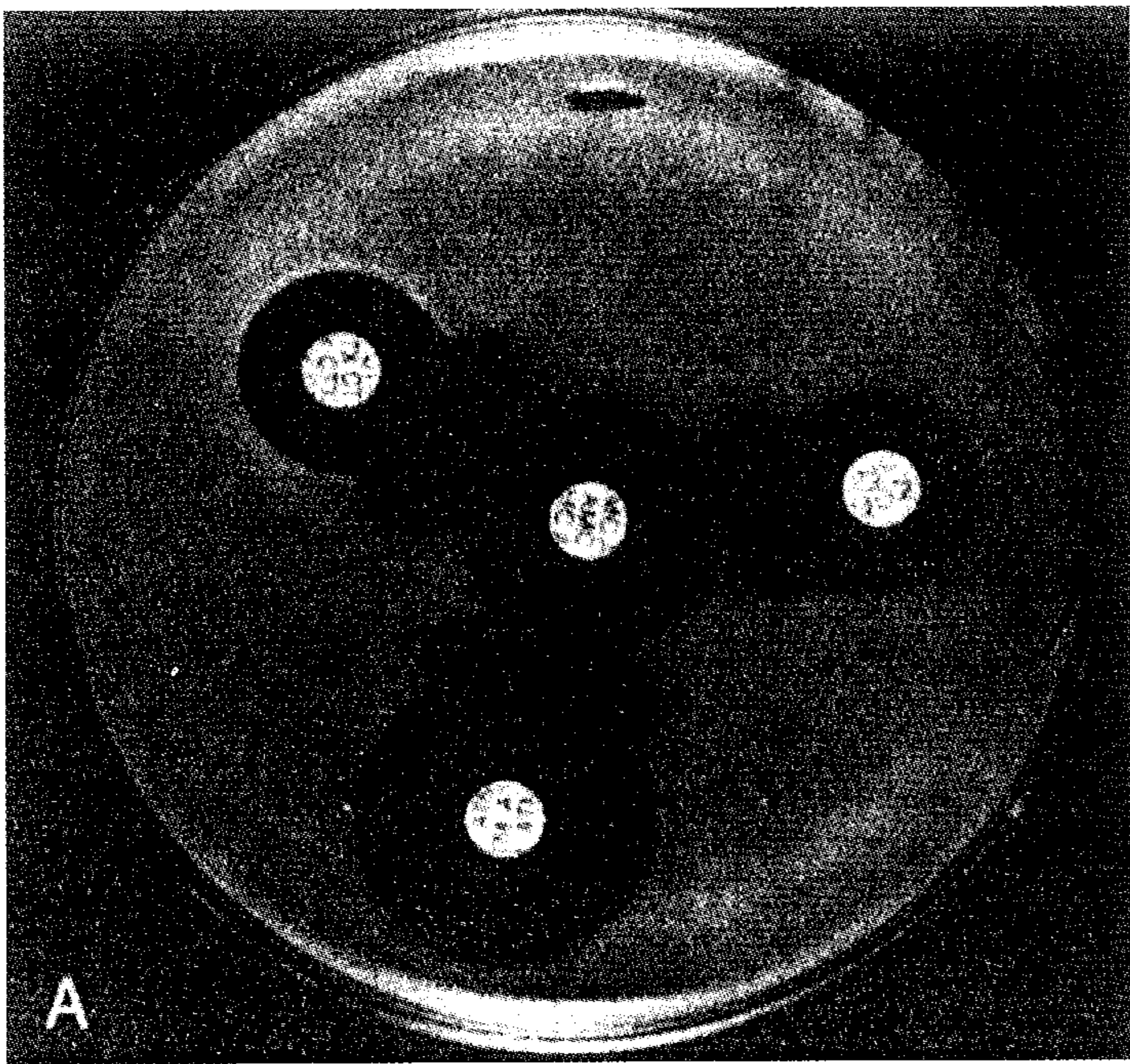
對大部份能產生ESBL的*K. pneumoniae*菌株的偵測，其實並不困難。只要我們用一般的紙錠擴散法(disc diffusion method)，便可發現對任一oxyimino- β -lactam抗生素（包括cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime及aztreonam等）有抗藥性的*K. pneumoniae*菌株。這一類菌株很可能就是產生ESBL的菌株。但問題是有一些*K. pneumoniae*菌株可能對以上藥物有抗藥性，卻不一定是真正的產生ESBL菌株。比方，它可以是因為對抗生素通透性的改變，也有可能是因為產生質體轉錄的AmpC水解酶而對上述藥物產生抗藥性。所以在我們觀察一般細菌室的敏感試驗時，我們必須要同時注意這一類細菌對Unasyn (ampicillin-sulbactam), Augmentin(amoxicillin-clavulanate), cefoxitin與moxalactam的抗藥性。因為理論上，上述合併乙內醯胺酶抑制劑的藥物或cephamycin藥物對產生ESBL的菌株仍然有效。不過，事實上，紙錠擴散法對上述藥物所表現出的抑菌環大小常與細菌所分泌的乙內醯胺酶的量有關。例如一株分泌ESBL的*K. pneumoniae*，當所分泌的ESBL的量很多時，可以在紙錠擴散法中表現為對Unasyn, Augmentin, cefoxitin或moxalactam有抗藥性，這樣便會造成我們判讀的錯誤。有人可能會問，我們只要能偵測出對oxyimino- β -lactam有抗藥性的菌株便够了，何必要區分是產生真正的

ESBL或AmpC乙內醯胺酶的菌株呢？原因是產生ESBL的*K. pneumoniae*菌株，有時我們仍可利用含有乙內醯胺酶抑制劑的藥物（如Unasyn）或cephamycin藥物（如moxalactam, cefoxitin）給予治療，不一定要用imipenem。但產生AmpC乙內醯胺酶的菌株則不然，乙內醯胺酶抑制劑藥物與cephamycin藥物通常無效。另一方面，有一部份能產生ESBL的*K. pneumoniae*菌株，因為所產生的ESBL的量低的關係，在紙錠擴散法中可以表現為對oxyimino- β -lactam抗生素敏感，因此會使我們錯失某些含有ESBL的菌株。

偵測含有ESBL菌株的標準方法是瓊脂稀釋法(agar dilution method)。我們在一組瓊脂培養皿中放進用兩倍稀釋法稀釋的oxyimino- β -lactam抗生素，而在另一組瓊脂培養皿中，則除了稀釋的oxyimino- β -lactam抗生素外，再加上乙內醯胺酶抑制劑（如clavulanate）。我們利用這種瓊脂稀釋法來測定含有各種oxyimino- β -lactam的最低抑菌濃度(minimal inhibitory concentration, MIC)，並合併乙內醯胺酶抑制劑後的最低抑菌濃度。假如後者之MIC有明顯降低，有作者認為兩者之比超過或等於16即可判定為ESBL陽性。例如當我們用上述方法測定ceftazidime對某菌株的MIC為2ml/L，再用上述方法測定ceftazidime+clavulanate之MIC為0.12ml/L，則兩者之比為16.7，故為ESBL陽性。這一種方法的原理其實是利用ESBL可被乙內醯胺酶抑制劑所抑制的特性：當oxyimino- β -lactam加上clavulanate後，其對會產生ESBL的菌株的MIC會降低。

這一種方法的缺點是麻煩，在臨床實驗室並不實用。

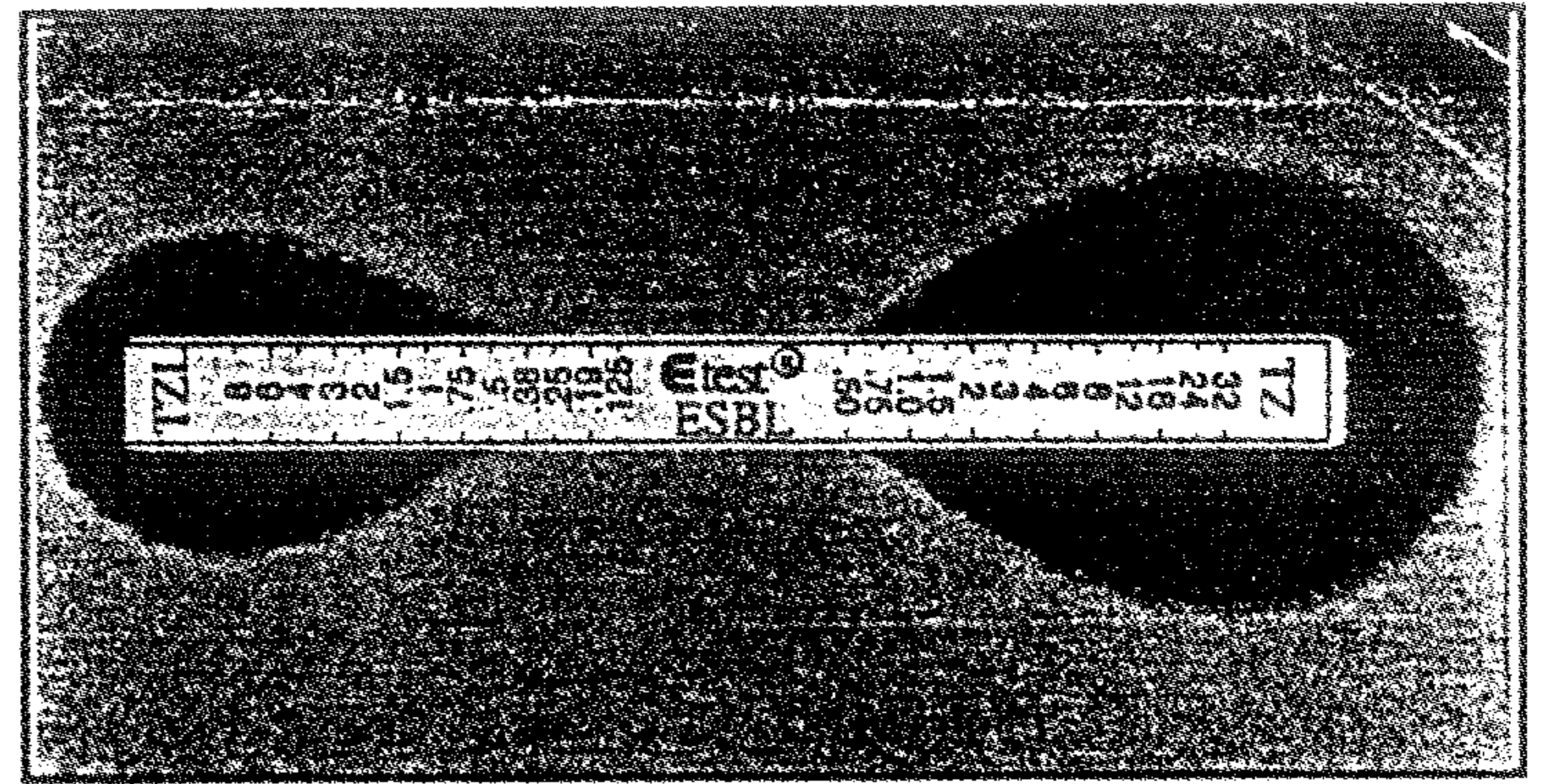
因此又有人發展了雙紙錠法(double disc method)來偵測含有ESBL的菌株。所謂雙紙錠法，是把一片含有ceftazidime, cefotaxime或aztreonam的紙錠如紙錠擴散法一樣，放在瓊脂培養皿上，再把另一含有Augmentin的紙錠放在前者20-30mm



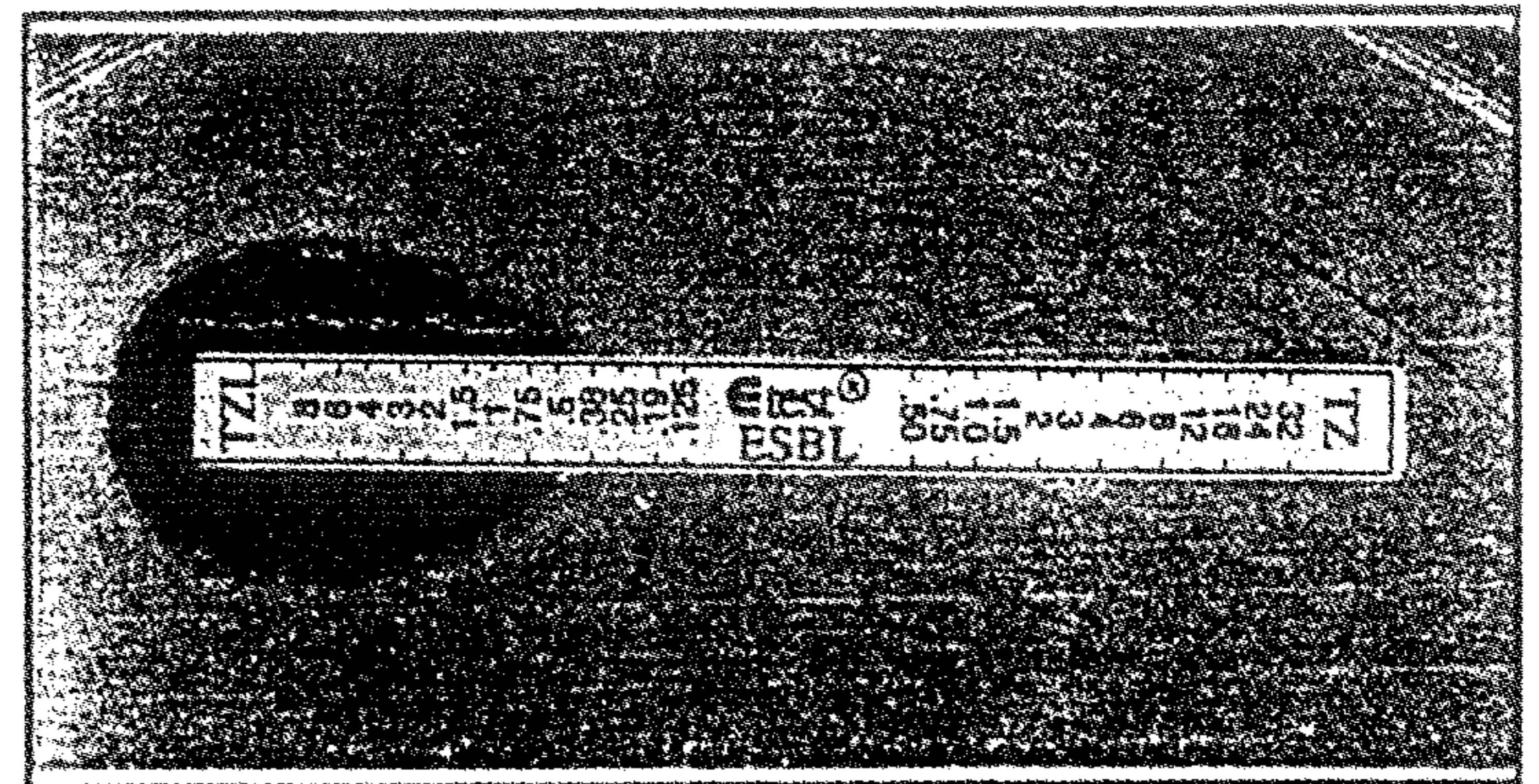
圖二 利用雙紙錠法偵測ESBL：中央紙錠為Augmentin，旁邊三個紙錠為三種oxyimino- β -lactam (ceftazidime, cefotaxime與aztreonam)

距離處，假如所培養的菌株會分泌ESBL，則這兩片紙錠間的抑菌環會被放大（圖二）。這一種方法的優點是較瓊脂稀釋法簡單，所以建議用於一般細菌室來偵測產生ESBL的菌株。缺點是有時候這種被放大的抑菌環並不易判讀。

另外一種偵測產生ESBL菌株的方法是利用E-test。E-test是一長條含有累進性抗生素濃度的紙條。一般我們可以用以測定抗生素對細菌的MIC。而偵測ESBL用



ESBL negative, MIC TZ/TZL = 0.75/0.75 = 1



ESBL positive, MIC TZ/TZL = 32/0.5 = 64

圖三、利用E-test偵測ESBL

之E-test紙條是有兩頭，一頭含有ceftazidime，另一頭含有ceftazidime加clavulanate（圖三）。如此一來，我們便可讀出兩邊的MIC，若兩者之比超過或等於8，即為陽性。其原理與偵測ESBL的瓊脂稀釋法大同小異。此方法的優點是與紙錠擴散法一樣的簡單，缺點是在判讀上，其誤差不會比紙錠擴散法來得小。並且因目前出品的這種偵測ESBL的E-test，只有用ceftazidime，若有菌株產生的菌株是專門破壞cefotaxime，而不破壞ceftazidime，則這種E-test有可能偵測不出來，所以有一篇報告認為E-test對ESBL的偵測率只有52%。

正如前面所說，產生ESBL的菌株，有可能在一般細菌敏感試驗（紙錠擴散法）中被忽略掉，所以必須要用上述三種方法之一來偵測。法國Sirot等人發現應用double disc方法在被認為對第三代cephalosporin敏感的菌株中，有一半發現具有ESBL。所

以Medeiros建議，凡cefotaxime或aztreonam對*K. pneumoniae*或*E. coli*菌株的抑菌環少於或等於25mm，必須要用double disc方法來偵測有否ESBL。

三、具有ESBL的肺炎克雷白氏菌與群突發

自從ESBL在1982-1983年間出現以來，產生ESBL的細菌開始在全世界中散播。大部份產生ESBL的菌株都是來自住院的病人，並且可在醫院中產生群突發，正如TEM-3在1985年在法國出現不久，在1986年這株產生TEM-3的*K. pneumoniae*便在法國的醫院造成群突發。這樣的群突發，使具有ESBL的*K. pneumoniae*菌株在法國的盛行率，由1985年的<1%，增加到1988年的14-16%。一般認為盛行率的增加，一方面是因為散在性的院內群突發沒有加以有效控制，另一方面也是與第三代cephalosporin的濫用有關。另外我們需要注意的，ESBL的散播，不僅是透過具有ESBL的菌株，並且可以透過具ESBL基因的質體，把ESBL的基因從一株細菌傳給另一株細菌，所以當具有ESBL的細菌在醫院中造成常駐性感染(endemic infection)時，非常難鏟除。當然具ESBL的菌株或具ESBL基因的質體之所以那麼容易散擴也是與ESBL不易偵測有關。在美國某大醫院發生具TEM-24的*K. pneumoniae*群突發，但一直到該群突發發生超過一年後，才被發現。另外，土耳其在1991至1993年發生具PER-1乙內醯胺酶的*Pseudomonas aeruginosa*的群突發。事實上，後來發現這一株細菌是來自巴黎。原因是在1991年有一位土耳其泌尿道感染病患曾於巴黎治

療，然後再把此一菌株帶回土耳其造成群突發。所以具ESBL的細菌可以跨越國界的散播。

在醫院中發生具ESBL菌株的群突發，有時可以好幾種ESBL同時散播。例如在法國就發生過TEM-3, SHV-4, TEM-24，同時散播的情況。為何具ESBL基因的質體那麼容易散播？有人認為可能因為轉錄ESBL的基因是在大質體上，而大質體在細菌中常是相當穩定，所以不易失去(curing)，並可隨宿主散播。根據研究發現，產生ESBL的危險因子包括住在加護病房太久，曾使用侵略性醫療器具或曾作過侵略性治療，和曾給予廣效抗生素（特別是第三代cephalosporin）等。

目前，具ESBL菌株在歐洲的盛行率約為14-16%（1992年數據），美國為8%（1994年數據）。在台灣則沒有明確的數據，不過據中部某醫學中心最近的研究發現具ESBL菌株在*K. pneumoniae*中的分離率約為10%。另外在各地流行的ESBL種類也不完全一樣，例如在歐洲特別是法國流行TEM-3，而在美國流行TEM-10與TEM-12。這可能與抗生素使用的習慣有關，因法國較喜歡用cefotaxime，但TEM-3可以破壞cefotaxime。而在美國，ceftazidime的用量可能較多，因為TEM-10與TEM-12主要是破壞ceftazidime。但某些ESBL在全世界流行的情況可能都差不多，例如SHV-2, SHV-4, SHV-5。到底台灣流行的ESBL是那一種，目前還不清楚。在1992年，三軍總醫院王志堅醫師曾報告過在小兒加護病房引起群突發的ESBL是SHV-5。1996年台南市立醫院也曾報告

具ESBL的*K. pneumoniae*在醫院中造成群突發，但到底是那一種ESBL，目前還沒有報告。根據中部某醫學中心的初步研究，在該院所流行最常見的ESBL為SHV-5，與三軍總醫院所報告的相同。因此有可能SHV-5為台灣最常見的ESBL，不過還需進一步研究確定。

具ESBL的*K. pneumoniae*造成的院內感染其致病轉機與一般*K. pneumoniae*沒有兩樣。所以對其所造成的院內感染或群突發的控制，也與對一般抗藥性細菌的控制一樣，主要是要加強洗手，注意各種無菌技術，與器具的消毒，並對寄生有此類細菌的病人作接觸隔離等。但也有人提出第三代cephalosporin的限制使用，可以降低具ESBL的菌株或具ESBL基因的質體的散播速度。我們知道抗藥性菌種的產

生，與抗生素的濫用有絕對關係，因此對抗生素的嚴格管制實為降低院內感染細菌的抗藥性的不二法門。

參考文獻

1. Sirot D: Extended-spectrum plasmid-mediated β -lactamases. J Antimicrob Chemother 1995; 36 (Suppl A); 19-34
2. Medeiros AA: Evolution and dissemination of β -lactamases accelerated by generation of β -lactam antibiotics. Clin Infect Dis 1997; 24 (Suppl 1): S19-45
3. Goldmann DA and Huskins WC: Control of nosocomial antimicrobial-resistant bacteria. Clin Infect Dis 1997; 24 (Suppl 1): S139-45
4. Jacoby GA: Genetics of extended-spectrum β -lactamases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994 (Suppl 1): 2-11
5. Livermore DM and Yuan M: Antibiotic resistance and production of extended-spectrum β -lactamase amongst *Klebsiella* spp. from intensive care units in Europe. J Antimicrob Chemother 1996; 38: 409-424