

某區域教學醫院中院內感染 ESBL Klebsiella pneumoniae 的分子流行病學及藥物感受性探討

某區域教學醫院中院內感染 ESBL Klebsiella pneumoniae 的分子流行病學及藥物感受性探討

黃永成¹ 郭榮華² 黃于宸³ 孫幸筠⁴ 林 靜⁵ 王振泰⁶

台大醫院雲林分院 ¹藥劑部 ³臨床病理科 ⁴內科部 ⁵護理部

²嘉南藥理科技大學生物科技系 ⁶台大醫院內科部

雲林地區某區域教學醫院在 2002 及 2003 年培養出 Klebsiella pneumoniae 院內總臨床分離株數分別為 732 及 764 株。其中 ESBL-producing 之院內感染菌株分別為 183(25.0%) 及 184(24.1%) 株，此盛行率遠高於文獻報告。為了探討該醫院 ESBL-producing K.pneumoniae(ESBL-KP) 菌株之抗生素感受性情況，並探討是否有特定菌株出現菌株散播(clonal spread)的現象導致盛行率偏高，我們進行了如下的研究。於 2003 年 10 月到 2004 年 5 月自該區域教學醫院收集共 52 株 ESBL-KP 院內臨床菌株，利用 E-test 測定下列抗生素：ampicillin, cephalothin, cefuroxime, cefotaxime, cefepime, ciprofloxacin, imipenem 對 ESBL-KP 菌株的最低抑菌濃度；並利用脈衝式膠質電泳，進行菌株之分子流行病學之分析。研究結果顯示，此 52 株 ESBL-KP 對 ampicillin, cephalothin, cefuroxime, cefotaxime, cefepime, ciprofloxacin, imipenem 之 MIC₉₀(μ g/mL) 依次為 >256, >256, >256, >256, 32, >32, 0.38 μ g/mL，此顯示即使是第四代頭孢菌素類抗生素，均不適合治療 ESBL-KP 所導致之感染；而 ciprofloxacin 僅對 17 株(32.7%) 菌株有效，也突顯其臨床應用之局限性。至於 imipenem，仍是對抗 ESBL-KP 最有效之抗生素。利用脈衝式膠質電泳進行分子流行病學研究之結果，顯示有 7 株屬於 type A，10 株屬於 type B，其餘 35 株，則屬於 35 個不同的脈衝式膠質電泳型式。此結果說明在此區域教學醫院內，可能已有兩個 ESBL-KP 菌株有水平菌株散播之現象，此現象是否會進一步惡化，值得後續追蹤。(感控雜誌 2005;15:341-51)

關鍵詞：最低抑菌濃度、脈衝式膠質電泳

前 言

超廣效乙內醯胺酶(extended-spectrum β -lactam; ESBL)常見於 Escherichia coli、Klebsiella pneumoniae 等腸道菌，可水解 carbapenem 外的 β -lactamase 類抗生素，使得臨床上的治療倍受挑戰[1]。由於超廣效乙內醯胺酶的抗藥性基因序列一般位於質體，故此一抗藥性基因可在細菌間轉移、傳遞，進一步造成抗藥性的擴散[2,3]。ESBL-producing 的 E. coli 及 K.pneumoniae，其盛行率在國內有越來越高的趨勢[4-8]；由於 ESBL-producing 菌株僅能以 carbapenems 及 fluoroquinolones 來治療，此類菌株已成臨床上的重要課題。雲林地區某區域教學醫院，其來自院內 ESBL-producing K.pneumoniae(ESBL-KP)之分離菌株在 2002 年為 183 株，佔所有 K. pneumoniae 分離菌株的 25.0%；而 2003 年則為 184 株，佔該年所有 K. pneumoniae 的 24.1%。此盛行率與國內、外其它醫院的研究報告[4,5,9]比較之下偏高。考證過去文獻，造成 ESBL-KP 盛行率偏高之因素，包括醫護人員未能遵守隔離防護措施、廣效性頭孢菌素的大量使用及菌株散播(clonal spread)的後果。為進一步了解該醫院 ESBL-KP 對各種抗生素感受性，及是否有菌株散播的情形，我們進行以下的研究。

材料及方法

菌株來源篩選及鑑定

該醫院為雲林地區具有 614 床之區域教學醫院，提供一線病患照護及轉診的功能。於 2003 年 10 月至 2004 年 5 月間，自該醫院病人住院超過 48 小時所收集之血液、痰液及尿液等臨床檢體所分離出的 *K. pneumoniae* 檢體，若其 cefotaxime 紙錠法藥物敏感性測試結果為抑制環小於 27mm，則被初步挑選為疑似 ESBL-producing 菌株[10,11]。並依據美國國家臨床檢驗標準委員會(National Committee Clinical Laboratory Standard; NCCLS)之建議，針對這些疑似菌株進行 ESBL-producing 表現型之確定測試，其測試方法簡要說明如下：挑取疑似 ESBL-producing 菌株 2-3 個菌落，種入含 2 mL TSB 之試管，培養在 35°C 直至渾濁度相當於 0.5 Mc Farland 硫酸鋇標準液，平均塗抹在 Mueller-Hinton agar 培養基的表面，再分別貼上 ceftazidime(CAZ)、ceftazidime/clavulanic acid(CAZ/CLA)、cefotaxime(CTX) 及 cefotaxime/clavulanic acid(CTX/CLA) 抗生素紙綻於瓊脂的表面，置於 35°C，一般培養箱隔夜培養後判讀。觀察並測量抑制環的直徑大小(mm)，若(CAZ/CLA)-CAZ>5mm 或(CTX/CLA)-CTX>5mm 則為 ESBL-producing 菌株[10,11]。經此測試判定為 ESBL-producing 之菌株，則進一步加以收集，並保存於 -80°C 之冰箱中，以待之後進行抗生素敏感性測試與分子流行病學研究。來自同一病人之菌株，不論臨床檢體為何，並不重覆收集、計算。

藥物感受性試驗

礙於本院細菌檢驗室人力及業務的考量，被選定之 ESBL-producing 菌株，利用 E-test(AB Biodisk, Solna, Sweden) 進行下列 7 種抗生素最低抑菌濃度(minimum inhibitory concentration; MIC)之測定：ampicillin、cephalothin、cefuroxime、cefotaxime、cefepime、ciprofloxacin、imipenem 做為參考。在每次之測定中，以 *K. pneumoniae* ATCC 700603 做為測定準度及效度之控制組，以確定結果無誤。而藥物感受性之判定，則依據 NCCLS 所建議之方法加以判讀[11]。

脈衝式膠質電泳分析(pulsed-field gel electrophoresis;PFGE)

脈衝式膠質電泳分析法分型是依據過去我們及其他學者的做法[12-14]。從隔夜培養之羊血平板上挑取 ESBL-KP 單一菌落，以 1mL PIV 溶液(1 mol/L, NaCl, 0.01mol/L Tris PH8.0)清洗一次後，接種到 5mL 的 PIV 溶液中，測波長 620nm，並調整菌液濃度至 OD 值 0.75。取等體積 1.6% 低熔點的洋菜膠(Boehringer GmbH, Mannheim, Germany)與菌液均勻混合，分裝入填充模型(plug mold)，靜置 10 分鐘使其凝固，取出填充物(plug)將之置入 1mL 之 EC buffer(6 mmol/L, Tris, pH8.0, 1mol/L NaCl, 0.1 mol/L EDTA, pH8.0, 0.2%, sodium deoxycholate, 0.5% Sarkosyl, 1mg/mL lysozyme) 在 37°C 4 小時作用，溶解之溶液用 1 mL ESP buffer(0.5 mM EDTA, pH9.0, 0.1% Sarkosyl, 1mg/mL proteinase K)代替後，50°C 隔夜振盪。洋菜膠填充物(plug)以 10mL of Tris EDTA(TE)buffer(10mmol/L Tris-HCl, 0.1 mmol/L EDTA, pH8.0) 清洗 3 次，每次於室溫下靜置 30 分鐘，再移到含 TE 溶液之試管，切下 1.0 到 1.5mm 厚的薄片(slice of plug)置入含 250uL 之限制酶每溶液內含 20 單位 Xba I(Biolab Laboratories, Beverly, MA, USA) 之限制酵素之反應溶液，25°C 下；經 DNA 分解 agarose plugs 放入 1mL of TE buffer 37°C 1 小時，plug 插入 1% agarosegel (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) 在 0.5X TBE buffer(0.089mol/L Boric acid, 2mmol/L EDTA)，切斷的片段以電泳槽 CHEF-Mapper(Bio-Rad Lab Laboratories)跑電泳，起始時間 1 秒、最終時間 35 秒、變換時間為 1-35 秒、電流 6V/cm、角度 120 度、電泳時間 22 小時、溫度 14°C。以 *S. aureus* NCTC 8325(National Collection of Type Cult ure, Public Health Laboratory, London, U.K.) 當作分子量指標，0.5ug/mL ethidium bromide 染色 30 分鐘，清洗 2 小時，以紫外光照射顯像。

PFGE 型態之判讀

電泳圖帶狀片斷的大小、數量相同時可代表為相同類型，例如：以 type A 表示；若分離菌株帶狀片斷與主要型態出現三條不同時則表示為次分類，如 A1, A2, A3 等；若與主要型態出現四條以上不同的帶狀片斷則表另一不同分類如，type B，type C 等[15-18]。分型圖譜相似性比較，主要根據 D 係數(Dice coefficient)計算公式，即兩分離株彼此相對位置相同之帶狀片斷數目乘以 2 再除以兩者片斷數目總合，為 D 係數。當菌株 D 係數 >0.8 時，即被認為來自相關菌源；菌株間僅少數片斷相對位置不同之移位，可能是經由基因的插入、刪除或限制酵素辨認位置之產生或喪失[19]。

結 果

菌株來源篩選及鑑定

自 2003 年 10 月至 2004 年 5 月，從該院住院病患臨床檢體分離出之 *K. pneumoniae* 計有 631 株，經 ESBL-producing 表現型確定測試，有 94 株被判定為 ESBL-producing，比率為 14.9% (94/631)。研究期間之盛行率下降，可能與本院實施抗生素管制措施有關；另於病房推動“手護神運動”，加強醫護人員洗手稽核及感染控制人員教育訓練等措施，因而盛行率降低，但其盛行率仍高於國外的研究報告。此 94 株來自於 52 位病人；因同一病人之菌株不重覆收集，故共有 52 株 ESBL-KP 進行感受性試驗及脈衝式膠質電泳分析。當時此 52 位病患 34.6% 來自於加護病房，65.4% 來自於一般病房。

藥物感受性試驗及最低抑菌濃度

標準測定應該用 agar dilution 進行，因 E-test、MIC 抗藥性太高，且無法定量，濃度難以控制，但由於研究限制，仍以 E-test 來做測定。

利用 E-test 進行藥物 MIC 測定結果，即便單純依據 MIC 之測定結果來加以判讀，52 株對 ampicillin、cephalothin 及 cefuroxime 均不具感受性($>8 \mu\text{g/mL}$)；8 株(15.4%)對 cefotaxime 具感受性；34 株(65.4%)對 cefepime 具感受性；17 株(32.7%)對 ciprofloxacin 具感受性；至於 imipenem，則為 52 株(100%)均具感受性([表一](#))。

脈衝式膠質電泳分析

此 52 株 ESBL-KP 菌株利用脈衝式電泳進行分子分型分析結果如[圖一](#)所示。結果顯示其中有 7 株細菌屬於同一分子分型 type A，而另外 10 株細菌屬於另同一分子分型 type B；其餘的 35 株細菌，則分別屬於其他 35 個不同的分子分型([圖二](#))。

抗生素感受性和分子分型之間的關係

單就 MIC 的結果而言，針對 cefotaxime，type A 及 type B 之菌株中，僅各 1 株具感受性，其餘不同分型之菌株則共有 8 株具有感受性。就 cefepime 而言，屬於 type A 的 7 株菌株均具感受性，但 type B 中只有 6 株具感受性，其餘 35 株不同分型之菌株，則有 21 株具感受性。對 ciprofloxacin 而言，type A 及 type B 的菌株中，僅各 1 株具感受性，其餘則有 15 株具感受性。至於 imipenem，則 52 株均具感受性。結果如([表二](#))。

討 論

由本研究發現，雲林地區某區域教學醫院之 ESBL-KP 在 2003 年 10 月至 2004 年 5 月之間的盛行率為 14.9%；藉由 PFGE 對此 52 株 ESBL-KP 菌株進行分子分型，結果顯示有 7 株同屬於 type A，有 10 株屬於 type B，而其餘的 35 株則屬於其他的分型。參照這些病人的臨床資料，這 17 株 ESBL-KP 並非來自於一個群突發；此結果顯示在該醫院中，可能已有兩菌株在醫護人員未能採行完善的感控隔離措施下，形成小規模水平散播 (horizontal transmission) 的現象。當某一特定菌株在醫院中造成水平散播時，可能會進一步形成該醫院的流行菌株；並在感染控制措施不完善時，導致反覆的群突發，而造成院內感染的增加。故對於 type A 及 type B 的兩菌株值得臨床上的高度關注及觀察；對於自其身上分離出此二菌株的病患，應採取更嚴格的感控措施。

本研究報告中 ciprofloxacin MIC₉₀ 大於 $32 \mu\text{g/mL}$ ，52 株 ESBL-KP 中僅 17 株(32.7%)具有感受性，此結果與中部另一家醫院之研究報告明顯不同：在 211 ESBL-KP 菌株中有 172 株(81.5%)對 ciprofloxacin 具感受性，而僅 37 株(17.5%)呈現高度抗藥性($\text{MIC} > 16 \mu\text{g/mL}$)[20]。此二研究中菌株對抗生素感受性的差異，可能歸因於兩者研究年代不同，及各醫院間不同的流行病學背景。但不論如何，本研究發現 ciprofloxacin 在此中南部區域教學醫院中，不適合做為治療 ESBL-KP 的經驗性療法。

Imipenem 的 MIC₉₀ 為 $0.38 \mu\text{g/mL}$ ，相較其他國內的研究報告[4,6,21]仍為對抗 ESBL-KP 最有效之抗生素。然而，imipenem 大量使用的結果，可能造成另一類抗藥性細菌，如 *Stenotrophomonas maltophilia* 及 *pandrug resistant Acinetobacter baumannii*(PDRAB)的盛行[22,23]。本研究發現，單純以 MIC 的觀點來看，65.4% 的 ESBL-KP 對 ceftazidime 具感受性。自 ceftazidime 上市後，針對 ceftazidime 是否可用於治療 ESBL-producing 菌株所引起的感染，已有不少爭議及研究。部份作者認為 ceftazidime 至少可用來治療 ESBL-producing 所引起之單純泌尿道感染[24,25]。Ceftazidime 在 ESBL-producing 菌株感染的治療上，究竟該扮演什麼樣的角色，是否可在某些情況下取代 imipenem 而減少 imipenem 此一極廣效抗生素的使用，實在值得更進一步的研究和探討。脈衝式電泳分子分型法具廣泛鑑定基因型之間的差異能力，且有很好的再現性(reproducibility)。由分子分型及感受性最低抑菌濃度結果分析，屬於 type A 及 type B 的菌株中，對 ciprofloxacin 具感受性者僅有 2 株(2/17)，其他 35 株不同分型的菌株，則有 15 株(15/35)具感受性；相較之下，屬於 type A 及 type B 的菌株對 ciprofloxacin 的感受性明顯較低。至於 ceftazidime MIC 值的比較，type

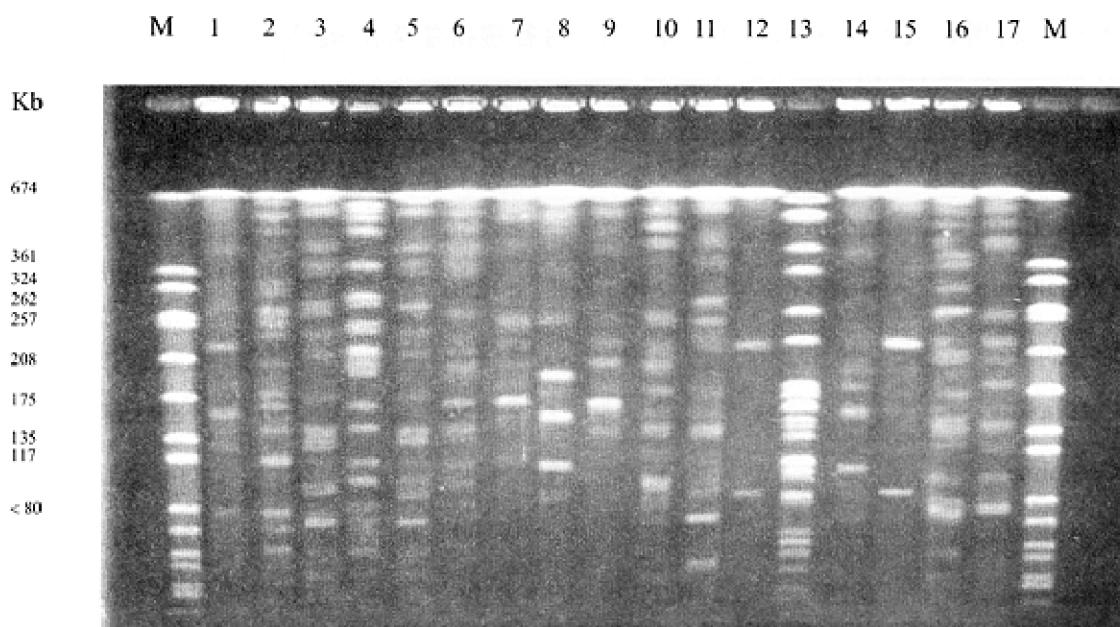
A 的 7 株($1\text{-}3 \mu\text{g/mL}$)ESBL-KP 均具感受性；type B 的 10 株 ESBL-KP 中則有 6 株(60%)對 ceftazidime 具感受性；其餘的 35 株 ESBL-KP 中，則僅有 21 株(60%)具感受性。此顯示屬於 type A 或 type B 的分離株，其抗藥性和不同分型的菌株並無明顯不同。至於 type A、B 之菌株因何得以有水平散播的現象經醫療人員、器材或環境將病菌帶至病人身上，似乎不能單以抗生素選擇壓力來解釋，可能還有其他因素造成。至於是否與醫院中抗生素廣泛使用有關，仍值得後續探討。研究期間，該教學醫院 ESBL-KP 的盛行率不比國內其他醫院低，但是相較國外的研究報告偏高[9]。其可能原因之一為 type A、B 菌株的水平散播；但由於此二種菌株所佔之整體比例仍然不高，影響的層面應不致於過大。過去許多文獻已證實臨床上大量使用 extended-spectrum cephalosporins(如 ceftazidime、ceftriaxone 等)，會加速篩選出 ESBL-producing 的細菌，導致該細菌盛行率偏高[26]。因此，減少 extended-spectrum cephalosporins 的使用，可有效減少篩選出 ESBL-producing 的細菌。雖然無法得知該醫院和其他醫院在 extended-spectrum cephalosporins 使用量上的差異，而無法斷定過量使用 extended-spectrum cephalosporins 是否為造成 ESBL-KP 在該醫院盛行率偏高的主因；但在 ESBL-KP 盛行率已然偏高的既存事實下，extended-spectrum cephalosporins 在醫院中的使用狀況實應加以深入檢討。

綜而言之，本研究結果發現，雲林地區某區域教學醫院其院內感染 ESBL-KP 的盛行率在研究期間為 14.9%，此盛行率不比國內其他醫院低，但遠比國外的研究調查報告高。藥物感受性結果顯示，在所有的 52 菌 ESBL-KP 菌株中，僅 32.7% 對 ciprofloxacin 具感受性，此暗示 fluoroquinolone 已不適合用於 ESBL-KP 的經驗性療法。而全部菌株對於 imipenem 均具感受性，顯示 imipenem 仍是目前對抗 ESBL-KP 最有效之抗生素。至於 cefepime 在治療 ESBL-KP 上的角色，仍值得進一步觀察。利用分子流行病學的研究，我們發現其中有兩個菌株發生小規模的水平散播現象，可能與抗生素的選擇壓力及隔離防護措施未確實遵守有關，此現象應持續追蹤，以避免大規模之院內感染發生。

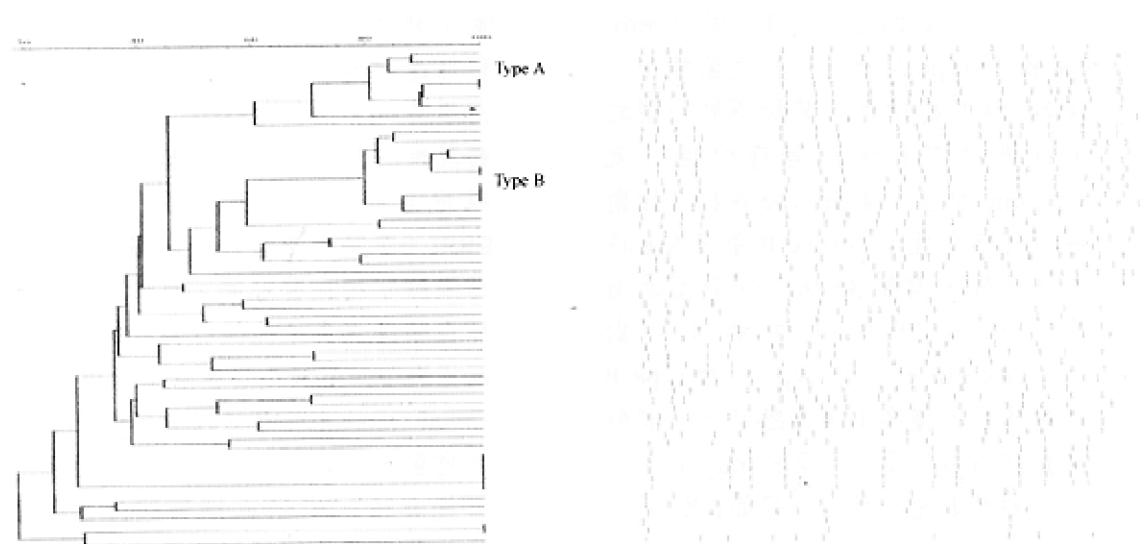
表一 利用 E-test 測試 52 株 ESBL-KP 對各種抗生素的最低抑菌濃度結果

抗生素名稱	最低抑菌濃度 ($\mu\text{g/mL}$)				具感受性的 菌株數 (%)
	MIC 25	MIC 50	MIC 75	MIC 90	
Ampicillin	≥ 256	≥ 256	≥ 256	≥ 256	0
Cephalothin	≥ 256	≥ 256	≥ 256	≥ 256	0
Cefuroxime	48	≥ 256	≥ 256	≥ 256	0
Cefotaxime	12	32	≥ 256	≥ 256	8 (15.4%)
Cefepime	2	4	12	32	34 (65.4%)
Ciprofloxacin	0.47	≥ 32	≥ 32	≥ 32	17 (32.7%)
Imipenem	0.25	0.25	0.38	0.38	52 (100%)

註：MIC: minimum inhibitory concentration



圖一 52 株 ESBL-KP 之部份重要的電泳分析膠片圖 (行 1 至 17)
行 M 代表分子量標記



圖二 52 株 ESBL-KP 之電泳分析族譜圖。type A(7 株) , type B(10 株) 如
圖上方標示，其餘 35 株為不同分子分型

表二 PFGE type A 和 B 菌株的藥物感受性測試結果

PFGE type and subtypes	最低抑菌濃度 ($\mu\text{g/mL}$)						
	Ampicillin	Cephalothin	Cefuroxime	Cefotaxime	Cefepime	Ciprofloxacin	Imipenem
A1	≥ 256	≥ 256	12	4	1	≥ 32	0.38
A2	≥ 256	≥ 256	64	12	2	≥ 32	0.38
A3	≥ 256	≥ 256	24	16	2	0.64	0.38
A4	≥ 256	≥ 256	≥ 256	12	3	≥ 32	0.38
A5	≥ 256	≥ 256	≥ 256	12	2	≥ 32	0.38
A6	≥ 256	≥ 256	≥ 256	≥ 256	3	≥ 32	0.25
A7	≥ 256	≥ 256	≥ 256	≥ 256	3	≥ 32	0.5
B1	≥ 256	≥ 256	≥ 256	32	8	0.25	0.25
B2	≥ 256	≥ 256	≥ 256	≥ 256	32	≥ 32	0.25
B3	≥ 256	≥ 256	48	12	3	≥ 32	0.25
B4	≥ 256	≥ 256	16	4	1.5	≥ 32	0.38
B5	≥ 256	≥ 256	48	24	4	≥ 32	0.38
B6	≥ 256	≥ 256	≥ 256	48	12	≥ 32	0.25
B7	≥ 256	≥ 256	64	16	3	≥ 32	0.38
B8	≥ 256	≥ 256	≥ 256	≥ 256	48	≥ 32	0.25
B9	≥ 256	≥ 256	≥ 256	≥ 256	32	≥ 32	0.25
B10	≥ 256	≥ 256	≥ 256	≥ 256	1	≥ 32	0.25

參考文獻

- 1.Lan CK, Hsueh PR, Wong WW, et al: Association of antibiotic utilization measures and reduced incidence of infections with extendedspectrum beta-lactamase-producing organisms. *J Microbiol Immunol Infect* 2004;36:182-6.
- 2.Decre D, Burghoffer B, Gautier V, et al: Out-break of multi-resistant *Klebsiella oxytoca* in-volving strains with extended-spectrum β -lactamases and strains with extended-spectrum activity of the chromosomal β -lactamase. *J Antimicrob Chemother* 2004;54:881-8.
- 3.Moustaoui N, Soukri A, Elmdaghri N, et al: Molecular biology of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae responsible for digestive tract colonization. *J Hosp Infect* 2004;57:202-8.
- 4.Yan JJ, Wu SM, Tsai SH, et al: Prevalence of SHV-12 among Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* Producing Extended-Spectrum-Lactamases and Identification of a Novel AmpC Enzyme (CMY-8) in Southern Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:1438-42.
- 5.Lin MF, Huang ML, Lai SH: Risk fctors in the acquisition of extended-spectrum β -lactamase *Klebsiella pneumoniae*: a case-control study in a district teaching hospital in Taiwan. *J Hosp Infect* 2003;53:39-45.
- 6.Yu WL, Winokurt PL, Von Stein DL, et al: First description of *Klebsiella pneumoniae* harboring CTX-M β -lactamases (CTX-M-14 and CTX-M-3) in Taiwan. *Antimicrob Agent Chemother* 2002;46:1098-100.
- 7.Hsueh PR, Liu CY, Luh KT: Current status of antimicrobial resistance in Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2002;8:132-7.
- 8.Yu WL, Pfaller MA, Winokurt PL, et al: Cefepime MIC as a predictor of the extendedspectrum β -lactamase type in *Klebsiella pneumoniae*, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2002;8:522-4.
- 9.Diekema DJ, BootsMiller BJ, Vaughn TE, et al:Antimicrobial resistance trends and outbreak frequency in United States hospitals. *Clin Infect Dis* 2004;38:78-85.
- 10.National Committee for Clinical Laboratory Standards, Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing; Approved standard M2-A8, National Committee for Clinical Laboratory Standards 2004, Wayne Pa.
- 11.National Committee for Clinical Laboratory Standards, Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing; Fourteenth Informational Supplement M100-S14, National Committee for linical Laboratory Standards 2004, Wayne Pa.
- 12.Chen ML, Chang SC, Pan HJ, et al: Longitudinal analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates at a teaching hospital in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 1999; 98:426-32.
- 13.Wang JT, Chen YC, Yang TL, et al: Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;42: 199-203.

- 14.Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, et al: Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet* 1997;350:1670-3.
- 15.Bannerman TL, Hancock GA, Tenover FC, et al: Pulsed-field gel electrophoresis as a replacement for bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1995;33:551-5.
- 16.Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al: Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995;33:2233-9.
- 17.Walker J, Borrow R, Goering RV, et al: Subtyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the North-West of England: a comparison of standardized pulsed-field gel electrophoresis with bacterio-phage typing including an inter-laboratory reproducibility study. *J clin Microbiol* 1999;48:297-301.
- 18.Waller TMA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* typing methods: which should be international standard? *J Hosp infect* 2000;44: 160-172.
- 19.Jorgensen M, Givney R, Pegler M, et al: Typing multidrug resistant *Staphylococcus aureus*: conflicting epidemiological data produced by genotypic and phenotypic methods clarified by phylogenetic analysis. *J Clin Microbiol* 1996;34:398-403.
- 20.Yu WL, Jones RN, Hollis RJ, et al: Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing, fluoroquinolone-resistant isolates of <i>Klebsiella pneumoniae</i> in Taiwan. *J Clin Microbiol* 2002;40:4666-9.
- 21.Yu WL, Cheng KC, Wu LT, et al: Emergence of Two *Klebsiella pneumoniae* isolates harboring plamid-mediated CTX-M-15 β -lactamase in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:362-3.
- 22.Paterson DL, Rossi F, Baquero F, et al: In vitro susceptibilities of aerobic and facultative Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide: the 2003 Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *J AntimicrobChemother* 2005;55:965-73.
- 23.Hsueh PR, Teng LJ, Chen CY, et al: Pandrugresistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2002;8:827-32.
- 24.Derevianko II: Cefepime(maxipime) in the treatment of severe urinary tract infection. *Antibiot Khimioter* 2003;48:24-8.
- 25.Turnidge J, Bell J, Biedenbach DL, et al: Path-ogen occurrence and antimicrobial resistance trends among urinary tract infection isolates in the Asia-Western Pacific Region: report from the SENTR Y Antimicrobial Surveillance Program, 1998-1999. *Int J Antimicrob Agents* 2002;20:10-7.

26.Rice LB, Eckstein EC, DeVente J, et al: Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates recovered at the Cleveland Department of Veterans Affairs Medical Center. Clin Infect Dis 1996;23:118-24.

Molecular epidemiology and susceptibility of extended-spectrum β -lactamaseproducing *Klebsiella pneumoniae* at a teaching hospital in Taiwan

Yung-Cheng Huang¹, Jung-Hua Kao², Ju-Chen Huang, Hsin-Yun Sun⁴, Ching Lin⁵, Jann-Tay Wang⁶

¹Department of Pharmacy, ³Clinical Pathology, ⁴Internal Medicine, and ⁵Nursing, Yun-Lin branch, National Taiwan University Hospital, Yun-Lin; ²Department of Biotechnology, Chia Nan University of Pharmacy & Science, Yun-Lin; ⁶Department of Internal Medicine,National Taiwan University Hospital, Taipei, Taiwan

The prevalence rate of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* (ESBL-KP) among all nosocomial clinical isolates of *K.pneumoniae* at a regional teaching hospital in Yun-Lin, Taiwan, were 25.0% and 24.1% in 2002 and 2003, respectively. These prevalence rates were higher than those reported from other hospitals. The following study was conducted to investigate the drug susceptibility of these isolates and whether there was a phenomenon of clonal spread among them. From October 2003 to May 2004, a total of 52 nosocomial clinical isolates of ESBL-KP collected at the regional teaching hospital was enrolled for further microbiologic study. Drug susceptibilities to ampicillin, cephalothin, cefuroxime, cefotaxime, cefepime, ciprofloxacin and imipenem were determined by minimum inhibitory concentration (MIC) using E-test, and the molecular epidemiology was determined by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). The results showed the MIC₉₀ value of ampicillin, cephalothin, cefuroxime, and cefotaxime was $> 256 \mu\text{g/mL}$, that of cefepime and ciprofloxacin was $> 32 \mu\text{g/mL}$, and that of imipenem was $0.38 \mu\text{g/mL}$. Ciprofloxacin was only effective for 17 strains (32.7%), therefore ciprofloxacin was not the best choice for treatment of ESBL-KP infection. Imipenem was still the most effective antibiotic to inhibit ESBL-KP. The molecular epidemiology showed that there were 7 strains belonging to type A, 10 strains to type B, and the remaining 35 strains to different minor PFGE types. Whether isolates belonging to type A or type B will lead to major clonal spread in the future should be closely followed.

(Infect Control J 2005;15:341-51)

Key words: extended spectrum β -lactamase, minimum inhibitory concentration, Pulsed-field gel eletrophores