國內外新知

廣泛抗藥性克雷白氏肺炎菌對 Chlorhexidine 敏感性的降低

在過去的十年中，廣泛抗藥性克雷白氏肺炎菌 extremely-drug-resistant (XDR) *Klebsiella pneumonia* 已經出現在美國和世界其他地區。序列類型 258 (ST258) 已經被確定為主要的菌落族群。由於可以經由接觸傳染的結果，不但在美國流行而且也蔓延到其他國家。克雷白氏肺炎菌 ST258 幾乎對所有可用的抗生素都有耐藥性，並且與高發病率和高死亡率息息相關。

ST258 於 2006 年在以色列出現，引起全國性的流行。曾有報告指出，機構中克雷白氏肺炎菌 ST258 和其他可以生產 carbapanemase 克雷白氏肺炎菌共存的現象。雖然這些菌落可能是因為在相同的抗生素選擇壓力 (selective pressure) 下，擁有類似的優勢因而享有共同的 extremely-drug-resistant (XDR) 表現，克雷白氏肺炎菌 ST258 仍然佔超過 95% 的臨床分離菌株。從不同地區的報告顯示，這樣的菌株已經蔓延到其他國家。作者推測這株菌本身有獨特的特性，使其能夠在醫院的環境中持久存在。

Chlorhexidine 是一種具有廣泛抗菌能力的外用消毒劑。在醫院中，普遍地使用於消毒性洗手以及侵入性治療前的皮膚準備。對在醫院環境中的細菌而言，降低其對常用消毒劑的敏感性，是一種可行的生存優勢。

特拉維夫臨床醫學中心 (Tel-Aviv Sourasky Medical Centre) 微生物學實驗室從不同病人和各種的臨床來源，共分離出 126 株耐藥性克雷白氏肺炎菌。這些菌株依其基因型被分配到二組：第一組是 70 株包含 ST258，可產生 carbapanemase 的菌株；而第二組則是 56 株屬於不同菌落的各種非 ST258 菌株，包括具廣泛性 β-lantamase 和其他可產生 carbapanemase 在內的多重抗藥型菌株所組成。

按照 2011 年臨床和實驗室標準協會 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 指引，採用瓊脂稀釋法來決定 Chlorhexidine 的最低抑菌濃度 (MIC)。在含有 0~256 μg/mL Chlorhexidine 的 MH 培養基上，接種以連續生理鹽水稀釋的分離株的單菌落，以進行過夜培養。大腸桿菌 ATCC25922 擔任 Chlorhexidine 敏感度

的菌株控制組。在基因表現方面，採用即時定量聚合酶鏈反應 (qRT-PCR) 決定並且量化三個克雷白氏肺炎菌的排出幫浦表現基因 cepA，acrA 和 kdeA。克雷白氏肺炎菌 ATCC13883 則被列入作為對照菌株。在四個以定量 RT-PCR 實驗檢測出的克雷白氏肺炎菌菌落進行族群分析。並且使用三重複 (triplicate) 的實驗方法，獲得一致的結果。

結果發現 Chlorhexidine 的最小抑菌濃度分布介於 8 到 >256 μg/mL 之間 (平均為 140 μg/mL)，大致上都高於對照組中的克雷白氏肺炎菌 ATCC13883 (16 μg/mL) 和大腸桿菌 ATCC25922 (2 μg/mL)。第一組 70 株 ST258 菌株，呈現較狹窄卻偏高的最小抑菌濃度分佈 (32~256 μg/mL)；相較之下，第二組共 56 株非 ST258 菌株，則明顯呈現較廣但較低的最小抑菌濃度 (8~256 μg/mL)。這樣的分佈差異具有統計學意義 ($P < 0.001$)，其中，最小抑菌濃度 > 32 μg/mL的，佔第一組菌株的 99%，而佔第二組菌株的 52% ($P < 0.001$)。

以往的報告指出，cepA 排出幫浦和克雷白氏肺炎菌對於 Chlorhexidine 的耐受性有關，而 acrA 和 kdeA 則是另外兩個主要的克雷白氏肺炎菌的排出幫浦。為了瞭解第一組和第二組菌株對於 Chlorhexidine 的最小抑菌濃度的分佈差異的機制，將針對三種包含了 cepA，acrA 和 kdeA 的排出幫浦的 RNA 表現進行量化。但是，在排出幫浦的表現和細菌序列類型或 Chlorhexidine 最低抑菌濃度之間並沒有任何的相關性 ($P = 0.19$)。在四種克雷白氏肺炎分離菌株中，預先暴露 Chlorhexidine 將導致三種排出幫浦的表現上升 1~1.5 倍，相較於克雷白氏肺炎菌 ATCC13883 上升 2~3 倍，顯示 cepA，acrA 和 kdeA 的表現和偏高的最小抑菌濃度無關。使用四種具有代表性的菌株進行族群分析，都可以發現更具耐藥性的次族群。也就是說，克雷白氏肺炎菌 ST258 和其他序列類型的克雷白氏肺炎菌，存在對 Chlorhexidine 不同程度的敏感性的次族群。

然而，定量 RT-PCR 可以反應各種類型排出幫浦在整體細菌中的表現，較不敏感次族群的排出幫浦卻無法以 qRT-PCR 檢測。於是，族群分析便運用在評估較不敏感的次族群排出幫浦的可能性。而研究結果也展示了次族群的存在。

對抗生素的異質性抗藥性，先前曾在一些像是鮑曼不動桿菌的致病菌中被描述。然而，這是首次有研究表明對消毒劑的異質性。而這些次族群的抗藥性機制，則需要更進一步的調查。

過往的報告也曾經指出這一菌株對 Chlorhexidine 的敏感性是減少的，但經由瓊脂稀釋法，最常報告的最小抑菌濃度是 32 μg/mL。特別注意的事，在 Chlorhexidine 對醫院的菌株最小抑菌濃度顯然高許多。然而，就臨

床意義來說，克雷白氏肺炎菌 ST258 可能如同金黃色葡萄球菌般，具有在 Chlorhexidine 效力後的生存能力。

【譯者評】這是一篇描述臨床廣泛抗藥性克雷白氏肺炎菌對 Chlorhexidine 敏感性的降低的研究。Chlorhexidine 是醫院中最廣泛使用的消毒劑，對 Chlorhexidine 呈現較高的最小抑菌濃度，可提供院內病原菌的生存優勢。本研究比較了克雷白氏肺炎菌 ST258 和其他不同序列類型的克雷白氏肺炎菌關於 Chlorhexidine 的最小抑菌濃度。其中，90% 的 ST258 菌株對 Chlorhexidine 最小抑菌濃度為 128 μg/mL。

細菌對消毒劑敏感性的降低，經常是涉及主動性或過度表現的排出幫浦。在克雷白氏肺炎菌之中，cepA 排出幫浦和對 Chlorhexidine 敏感性降低有關，所以本研究評估其和另外兩個包括 acrA 和 kdeA 幫浦的潛在作用。研究數據顯示，這三種排出幫浦都表現在所有菌株中，但不論是表現的類型或是 RNA 表現的程度都與對 Chlorhexidine 最小抑菌濃度以及序列類型無關。

總的來說，克雷白氏肺炎菌 ST258 菌種這樣廣泛抗藥性對 chlorhexidine 呈現高最小抑菌濃度的臨床表現可以說是全球性的威脅，因為這樣的抗藥性使其能持續存在於醫院環境當中。確實施行感染管制，接觸傳染防護措施，環境清潔，加強手部衛生，並且加強抗生素管理以減少廣效性抗生素的使用，以及縮短住院天數是降低疾病發生率及醫療照護相關感染的最佳方法。【中國醫藥大學附設醫院 王瑞興/王任賢 摘評】

參考文獻

1. Naparstek L, Carmeli Y, Chmelnitsky I, et al: Reduced susceptibility to chlorhexidine among extremely-drug-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*. J Hosp Infect 2012;81:15-9.
2. Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, et al: Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. Antimicrob Agents Chemother 2008;52:1028-33.
3. Leavitt A, Navon-Venezia S, Chmelnistsky I, et al: Emergence of KPC-2 and KPC-3 in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains in an Israeli hospital. Antimicrob Agents Chemother 2007;51:3026-29.
4. Fang CT, Chen HC, Chuang YP, et al: Cloning of a cation efflux pump gene associated with chlorhexidine resistance in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:2024-28.
5. Lee AS, Macedo-Vinas M, Francois P, et al: Impact of combined low-level mupirocin and genotypic chlorhexidine tolerance on persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage after decolonization therapy: a caseecontrol study. Clin Infect Dis 2011;52:1422-30.
6. Poole K: Efflux-mediated antimicrobial resistance. J Antimicrob Chemother 2005;56:20-51.