

產生 Carbapenemase 腸內菌屬之 流行概況與感管措施

黃駟榮¹ 施智源^{1,2}

台中榮民總醫院 ¹感染科 ²感染管制室

Carbapenem 類後線抗生素目前正面臨挑戰。Carbapenem 抗藥性的機轉包括 *bla*_{AmpC} 過度表現、extended spectrum β -lactamase (ESBL) 合併膜蛋白改變、以及 carbapenemase 的製造。如同其他的抗藥基因，製造 carbapenemase 的基因相信存在已久，可根據 Ambler 分類分為 class A、B、D，亦可根據 Bush-Jacoby 的功能分類分為 class 2d、2df、2f、3a、3b。目前 carbapenemase 相關基因已超過 100 種，根據功能分類的不同特性，對於單一 carbapenemase 抗藥基因菌株，實驗室可合併使用 EDTA、clavulanic acid 的反應，或根據該菌對 oxacillin、aztreonam 等的表現型 (phenotypic type) 作簡單的歸類，實際的抗藥基因型仍須仰賴分生方法 (如 PCR、基因定序等) 及 IEF 測 PI 值來確認。由於細菌可由 plasmid、integron 傳遞得到抗藥基因，使抗藥性的表現更複雜多元，並增加實驗室的判讀及分類的困難度。經統計顯示許多 Carbapenemase 基因由腸內菌屬鑑定出，使得 carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* 成為感染管制的重要課題。發現菌株、主動篩檢具危險因子之相關單位，病人與醫療照護人員、擬定嚴謹的感管計畫等，皆屬防治計畫之一環。抗生素大量使用引發的篩選壓力為抗藥菌散佈的源頭，知易行難則是抗生素管理的現實寫照，期待藉由合理的抗生素管理計畫來延緩抗藥菌的散佈與流行。
(**感控雜誌 2012:22:124-137**)

關鍵詞： Carbapenemase，抗藥性，腸內菌屬

民國 101 年 2 月 10 日受理
民國 101 年 4 月 18 日接受刊載

通訊作者：施智源
通訊地址：407 台中市西屯區中港路三段160號
連絡電話：(04) 23592525

前言

碳青黴烯類 (Carbapenem)，包括 imipenem、meropenem、doripenem、及 ertapenem，是強效的抗生素。自從帶有 extended spectrum β -lactamase (ESBL) 基因的細菌盛行後，已被建議用於治療產生 ESBL 的腸內菌屬 (*Enterobacteriaceae*) 所造成的嚴重感染，目前常見的治療指引中也將 carbapenem 列為嚴重複雜腹腔內感染及嚴重複雜性泌尿道感染的用藥選擇。

隨著 Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) (Carbapenem 抗藥性的細菌腸內菌屬) 的出現，carbapenem 的治療效果正面臨著挑戰，回顧近 10 年的文獻報告，carbapenem 抗藥細菌於世界各地皆有發現，在這些抗藥菌的報告中，腸內菌屬佔了絕大部分，因為曾經造成疫情爆發，而被研究較多的抗藥性基因是 *bla*_{KPC} (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, KPC) 及 *bla*_{NDM-1} (New Delhi metallo- β -lactamase 1, NDM-1) [1-4]。這些研究同時也顯示出抗藥性基因的累積發生，以及暗示抗藥基因可能會跨種、跨屬傳遞。了解抗藥基因累積及傳遞的機轉，有助於解釋多重抗藥菌株的發生，以及提醒大眾對抗藥性細菌的警覺性。

固然抗生素的大量使用是篩選抗藥性細菌的主要因素，然而根據過去 ESBL 抗藥菌株的散播以及 NDM-1 在

印度的經驗顯示，抗藥性腸內菌屬移生合併環境污染是造成地區性散播的主因[4]，尤其當抗藥基因在大腸桿菌 (*Escherichia coli*) 中被發現後，將會被歸類為社區性傳播，預期增加地區性流行。至於交通的便利，則是抗藥菌株全球散播的推手。在研發出新的有效抗生素之前，全球醫療在 carbapenem 抗藥菌面前，處於幾乎無藥可用的地步，對於抗藥菌的防治仍需仰賴嚴密的感管計劃。

Carbapenemase 基因發現歷史

細菌對 carbapenem 的抗藥性如同對其他抗生素的抗藥性般，相信已存在許久，部分的文獻回顧直接或間接地支持此假設。

1967 年於英國由 *Bacillus cereus* 分離出 metallo- β lactamase [5]，後來被歸類為 subclass B2 carbapenemase，雖然在當時無法提出相對應之基因序列，這仍然可能是最早有關於 carbapenemase 的記載。

1979 年於自然界發現新種黴菌 *Streptomyces cattleya*，此種黴菌製造 thienamycin，這是一種類似 imipenem 結構化合物，可以說是最早的 carbapenem，雖然 thienamycin 非常不穩定，但是仍可推測與此黴菌同環境中的細菌株必需具有對抗 thienamycin 的能力方得以存活，間接證實 carbapenem 抗藥機轉早已存在[6]。

1982 年於英國倫敦發現第一個

carbapenem 抗藥基因，命名為 SME-1，SME 為 *Serratia marcescens* enzyme 的縮寫，以當時發現的細菌為名。1984 年於美國由 *Eenterobacter cloacae* 發現第二個 carbapenem 抗藥基因，IMI-1，IMI 為 Imipenem-hydrolyzing carbapenemase 的縮寫。1985 年於英國發現 *Acinetobacter baumannii* 另一個 carbapenem 抗藥基因，OXA-23，OXA 指 oxacillin-hydrolyzing。SME-1、IMI-1、OXA-23 的發現皆在 imipenem 於 1985 年取得英國臨床使用執照之前。這些發現除了指出抗藥基因原本的存在之外，也顯示 carbapenem 抗藥不只存在腸內菌屬。

Carbapenem 抗藥菌亦可存在於自然環境中，1999~2001 年於美國河川培養出的革蘭氏陰性菌即被發現帶有 imipenem 抗藥的 IMI-1 基因[7]。由此可推測，自然環境極可能成為抗藥基因的貯存窩。

接著有許多的抗藥基因陸續被發現，包括 1990 年於法國巴黎由 *E. cloacae* 分離出的 NMC-A (non-metalloenzyme carbapenemase-A)，1996 年於新加坡發現 *K. pneumoniae* 的 IMP-1 (active on imipenem)，1996 年於美國北卡羅萊那發現 *Pseudomonas aeruginosa* 的 KPC-1，2000 年於南非共和國發現 *P. aeruginosa* 的 GES-2 (Gunaia extended spectrum)，2001 年於希臘發現 *E. coli* 的 VIM-1 (Verona integron-encoded metallo- β lactamase) [8]，2008 年於印度新德里發現 *K.*

pneumoniae 的 NDM-1[4]。除了 OXA 為原本命名於 oxacillinase，而後再區分出同時有 carbapenemase 之次族群外，其他的抗藥基因皆為新命名，由 1 開始，且逐漸累積當中，例如 KPC-10、GES-15、IMP-26...。亦有部分基因型因為某種原因被註銷，如 GES-1 後來發現水解 imipenem 能力不佳而被剔除於 carbapenemase 之外，KPC-1 與 KPC-2 被證實為相同序列而被註銷[9]。Carbapenemase 在台灣也有報告，2001 年由 *K. pneumoniae* 分離出 IMP-2、IMP-8 基因，2002 年又由 *Citrobacter freundii* 發現 IMP-8 及 VIM-2 基因，2011 年較大型的研究仍然只在 *E. coli*、*K. pneumoniae*、*E. cloacae* 中發現 IMP-8 基因[10-12]，2011 年由中國大陸返國病人分離出 KPC-2, ST11 型(資料付印中)。

Carbapenemase 基因特性及分類

帶有不同抗藥基因的抗藥菌在臨床的表現各異，了解抗藥基因的特性，有助於抗藥菌臨床初步分類及篩選，並考慮是否可作進一步確定試驗，可與全球統計資料比較，以評估是否有外來疫情或新發生之本土疫情；與舊有在地資料比較可評估疫情嚴重度。

分子結構分類(表一)

Ambler 等人於 1980 年根據水解酶的胺基酸分子結構將 β -lactamase

分成 4 類，class A、B、C、D，class A、C、D 於 β -lactamase 結構上利用絲胺酸 (Serine) 為作用標的與 PBP (penicillin-binding protein) 結合而產生抗藥性，而 class B 則是利用與金屬離子 (鋅， Zn^{2+}) 的結合產生抗生素水解效果，例如最早於 1967 年發現的 BcII (*Bacillus cerus* β -lactamase II) 即是此類，由於與金屬離子的相關性，故被稱之為 MBL (metallo- β -lactamase) [12]，metallo- 在拉丁文是金屬的意思，此即為分子結構分類。由於被發現 β -lactamase 數目的累積，後來又根據 class B 中的些微差異，再分為 subclass B1、B2、B3。這三個次項目主要由 class B β -lactamase (MBL) 內含兩個活性金屬結合位置特性而決定，class B1 β -lactamase 或 class B3 β -lactamase 需經由結合兩個金屬鋅離子而達到最大水解效力，但是由於水解酶的胺基酸結構差異，故再分為 B1 及 B3 這兩個次項。而 class B2 β -lactamase 則是結合一個金屬鋅離子後達到最大效力，若再接上第二個鋅離子則效力降低 [13]。各種

Carbapenemase 於分類上分屬 class A, B, D。

功能性分類 (表二)

截至 2009 年末，抗藥基因統計已超過 890 種[14]。如同將所有人分成 12 星座般無法適當解釋人類的特性，若將所有 β -lactamase 抗藥性依 Ambler 分類成四項，亦無法適當解釋抗藥特性。Bush 等人依據各種 β -lactamase 的特性，包括 (1) 可水解之抗生素種類 (2) 與抑制劑 (EDTA、Clavunanic acid) 的反應關係，制訂出功能分類，這個分類最早於 1989 年提出，由 Bush 等人於 1995 年重新修訂，經由 Bush 團隊成員的 Jacoby 所建立的細菌抗藥基因資料庫更新後，於 2010 年又再次公佈最新功能分類 [9]，與 Ambler 分類相較，更能符合抗藥基因的臨床表現。

根據 Bush-Jacoby 最新分類，carbapenemase 分屬於 2df、2f、3a、及 3b[34]。

2df 為新的分類，從原本的 2d 中區分出，2d 指水解 oxacillin 或

表一 β -lactamase 分子結構分類

Ambler 分類	結構特性	類別
A	絲胺酸 Serine	Penicillinase Carbapenemase
B	金屬輔助因子 (鋅離子)	Carbapenemase
C	絲胺酸 Serine	Cephalosporinase
D	絲胺酸 Serine	Oxacillinase Carbapenemase

摘自 Ambler Molecular classification

表二 carbapenemase 功能性分類

Bush-Jacoby 分類 (2009)	對應分類	特殊受質	EDTA 抑制反應	β -lactamase inhibitor (clavulanic acid) 抑制反應	水解能力	代表基因型
2df	D	Oxacillin (OXA-50 例外) Carbapenem (能力弱)	否	不定	否	OXA-23, OXA-48
2f	A	Penicillin、Cephalosporin (SME、IMI-1 水解廣效頭孢黴素能力較弱) Carbapenem (不包括 oxacillin)	否	不定 (Tazobactam 抑制能力較佳)	可 (GES-3 GES-4 無法水解 Aztreonam)	SME-1 IMI-1 KPC-2
3a	B1 B3	全部 β -lactam (除 Aztreonam 外；FEZ-1 水解 carbapenem 較弱)	可抑制	否	否	IMP-1 VIM-1 L1 CAU-1, GOB-1 FEZ-1
3b	B2	Carbapenem	可抑制	否	否	CphA, Sfh-1

摘自 (1) Bush-Jacoby Functional classification 2010 [9]

(2) Queenan AM Carbapenemases: the versatile β -lactamase [7]

cloxacillin 的能力，f 指水解 carbapenem 能力，合併後即為可水解 oxacillin 又可水解 carbapenem 的抗藥性之意，代號為 OXA (oxacillin-hydrolyzing)。相對應的 Amlber 分類為 class D，這是目前最多樣的 carbapenemase group [9]。此抗藥性較常見於 *A. baumannii*，且通常是在該菌的染色體上[15]。雖然報告較少，但是在腸內菌屬則有發現質體相關的 OXA-23、OXA-48 等抗藥基因[15-16]。根據 Jacoby 統計，目前 2df 至少

有 48 種，依胺基酸序列被分為 9 群 (cluster) [9]。並非每個 2df 都會水解 oxacillin，OXA-50 即是例外。2df 水解 carbapenem 的能力較弱，約為水解 benzylpenicillin 或 oxacillin 速度的 1/50 至 1/40，但是水解 imipenem 的能力較 meropenem 強[36]，此特性造成 OXA 抗藥基因在臨床上的檢測困難，通常是由胺基酸序列分析結果來決定新的發現或分類。另一個特性為 clavulanic acid 無法抑制 2df 類的水解作用[9]。另外雖然大腸桿菌 (*E. coli*) 經由

transformans 或 transconjugates 得到 OXA 基因，但對 Carbapenem 水解能力不強，因此對 Carbapenem 仍有感受性[16]。

2f 類，由代號暗示其水解 carbapenem 的能力，同時也具有水解 extended-spectrum cephalosporins 之能力，相對應之 Ambler 分類為 class A。其臨床特性尚有 (1) 可被 β -lactamase inhibitor 抑制，而且被 tazobactam 抑制之反應較 clavulanic acid 佳 (2) 可水解 monobactam (aztreonam)。其中仍有些例外，如 SME、IMI-1 無法有效水解 extended-spectrum cephalosporins，例如 ceftazidime)；GES-3 GES-4 無法有效水解 aztreonam [17]。但是 2f 並無水解 oxacillin 的能力。部分的 class 2f 基因潛藏於染色體中 (如 SME、IMI-1、NMC-1)，令人擔心的是潛藏於質體中的 2f 類基因 (如 KPC、部分 GES) [9]。

第 3 類，包括 3a、3b，相對應之 Ambler 分類為 class B (包括 B1、B2、B3)，亦稱之為 MBL (metallo- β -lactamase)。基本特性為 (1) 無法水解 aztreonam (2) 不被 clavulanic acid 等 β -lactamase inhibitor 抑制 (3) 會被 EDTA 等金屬螯合劑抑制[9]。1967 年於 *B. cereus* 發現 BcII MBL[5]，1983 年被認為基因潛藏於染色體中[38]，但是在目前主要族群 IMP、VIM 顯示抗藥基因多潛藏於質體中[17]，近年熱門的 NDM-1 亦存在於質體中[4]。

3a，對應 Ambler class B1、B3。基因潛藏於質體為此群主要型式 (如 IMP、VIM、NDM-1)，早期發現菌種為非發酵革蘭氏陰性菌 (如 *P. aeruginosa*，*A. baumannii*)，但是近來的統計資料顯示腸內菌屬為主要的發現族群[17]。雖然 3a 號稱水解全部 β -lactam 類抗生素，但是其中 FEZ-1 (B3) 似乎於 cephalosporin 的表現較強的水解能力[18]。

3b，這是個較小的族群，有可能是低估的結果，相對應 Ambler class B2。存在染色體中，表現較強的 carbapenem 水解能力，對於 penicillin 或 cephalosporin 則能力不如 3a [17]。

Carbapenemase 抗藥菌株之分佈統計

根據 Queenan [17] 等人對近年來 carbapenemase 報告的統計，class A carbapenemase 除了 KPC-2 (於哥倫比亞) 及 GES-2 (於南非) 曾在 *P. aeruginosa* 發現外，其餘發現菌株均為腸內菌屬 (包括 *Citrobacter spp.*、*Enterobacter spp.*、*E. coli*、*Klebsiella spp.*、*S. marcescens* 等)，其中最常見的報告菌種為 *K. pneumoniae*，約佔了 1/3，報告數量最多的基因型為 KPC-2，集中在 2000 年之後。潛藏位置除了早期發現的 SME-1~3、IMI-1、NMC-A 位於染色體上，其餘幾乎都與質體相關，較值得注意的是於哥倫比亞於 *P. aeruginosa* 發現的 KPC-2 基

因，同時存在於染色體及質體中 [19]。而近 10 年主要的 class B carbapenemase 基因型 (VIM、IMP) 亦幾乎都於腸內菌屬分離出，其中除了 IMI-1、VIM-1、VIM-2 曾經於染色體中發現，其餘幾乎皆由質體分離出。同為 class B 的 NDM-1 基因亦多發現於腸內菌屬 (*E. coli*, *K. pneumoniae*)，大部分也存在於質體上 [20]。另外根據 Walther-Rasmussen [15] 等人對 Class D carbapenemase 的研究統計，絕大部分 OXA 抗藥基因存在於非發酵革蘭氏陰性菌，尤其是 *A. baumannii*，其次則為 *P. aeruginosa*，且絕大部分的 OXA 抗藥基因潛藏於染色體中，僅 1985 年於蘇格蘭由 *A. baumannii* 的質體中分離出 OXA-23、2001 年於土耳其由 *K. pneumoniae* 的質體中分離出 OXA-48、以及 2004 年於大溪地由 *A. baumannii* 的質體中分離出 OXA-23。

即使產生 carbapenemase 的菌株逐年增多，並非全部的基因型皆曾爆發疫情。在 class A 及 class B 的部分除了 KPC-2、KPC-3 [1,3] 及 NDM-1 [1] 曾有全球散播傾向之外，大部分的抗藥性報告皆為偶發事件，若有較多人數的單次報告亦大多為群聚事件 [15,17]。Class D carbapenemase 亦是如此，即使目前分離菌株超過 40 株，除了 OXA-23 數目較多外其餘皆為零星報告，而 OXA-23 (共 8 株) 報告時間介於 1985~2004 年，無地域性相關性 [15]。

KPC-2 於近 10 年於紐約、中南

美洲、以色列、以及中國大陸盛行 [3]，若以脈衝電泳 (pulse-field gel electrophoresis, PFGE) 及多位置序列分析 (multilocus sequence typing, MLST) 進一步作 DNA 序列 (sequence type, ST) 分析，結果顯示全球主要為 ST 258 型 [2]，中國大陸則以 ST 11 型為主 [21]。NDM-1 基因型於兩年內於南亞、東南亞、歐洲、美洲皆有報告 [3]。

抗藥菌散播與抗藥基因傳遞

分析 KPC-2 及 NDM-1 等盛行基因型，其共通點為 (1) 抗藥基因位於質體 (2) 主要散播菌株為腸內菌屬，尤其是 *K. pneumoniae*。根據之前 *K. pneumoniae* 助長 ESBL 抗藥基因的普及性，令人擔心未來該菌對 carbapenemase 抗藥基因傳播的影響力 [3]。使得 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae 成為感管的重要議題。

但是單由質體或 *K. pneumoniae* 的參與皆無法完整說明抗藥基因的快速傳播，因為 GES 基因亦由 *K. pneumoniae* 的質體發現。單由基因所具有的抗藥性似乎也不能全盤解釋，因為除了 GES-1 之外的其他 GES 基因對 carbapenem 的水解能力並無減低。另外若只由基因型亦無法預測何種基因型會導致全球散播，以 KPC 為例，KPC 4-10 型目前並無疫情報告。這些細菌因缺乏全球性監視系統、部分國

家無足夠警覺性或臨床技術等原因[1]，而導致存在卻未發現隱憂。產生 Carbapenemase 腸內菌屬的散佈歸諸於多重因素。Nordmann 等人[3]認為過度或濫用抗生素篩選抗藥菌株、地區抗藥菌腸內移生合併環境衛生不良、*E. coli* 與 *K. pneumoniae* 的社區流行以及流行區旅遊頻繁等，皆應列入考慮。部分研究並指出住院過久、加護病房或安養中心的患者皆可能是 carbapenem 抗藥菌發生之危險因子[22]。

Aubron 等人[7]對 *bla*_{KPC-2} 的分析發現，*K. pneumoniae* 所帶的抗藥基因中，*bla*_{KPC-2} 皆與轉位子 Tn4401 有關。轉位子的存在，可使基因片段作染色體-質體、質體-質體間的傳播，使抗藥基因片段的散播更廣泛。這可藉以說明 *K. pneumoniae* 參與抗藥性基因傳播的潛力。

多重抗藥的不一致性

在抗藥性產生的主要八項機轉中，細菌對 β -lactam 類抗生素的抗藥性除了產生 β -lactamase 之外尚有 (1) 加強抗生素排出 (2) 改變抗生素作用標的結構 (3) 在革蘭氏陰性菌還可改變細胞膜通透度[23]。即使是不產生 carbapenemase 的細菌也有報告對 carbapenem 具有抗藥性，有報告過的包括 AmpC 過度表現、AmpC 過度表現合併細胞膜蛋白 (porins) 改變、或 CTX-M2 合併其他抗藥基因及 porins

的改變[1,24]，於本國近幾年對 carbapenem 非感受性腸內菌的研究亦提出細胞外膜 (outer membrane protein, Omp) 改變佔有重要地位[25]。顯示了合併 porins 改變可能是加強抗藥性的主要原因。

目前對 carbapenem 抗藥之腸內菌屬的研究顯示這些細菌對 ertapenem、imipenem、meropenem 及 doripenem 最小抑菌濃度 (minimal inhibitory concentration, MIC) 並無一致性[2-3,24,25]，即使是帶有 NDM-1 基因的 *K. pneumoniae*，其對 aztreonam 的 MIC 仍大於 256 ug/ml [26]，而對 carbapenem 應表現弱水解性的 OXA，各種 carbapenem 的 MIC 亦有報告高達 64 ug/ml；然而某部分對 carbapenem 的 MIC 是落在敏感性的範圍內 [3, 24]。這暗示除了 carbapenemase 之外，極可能合併存在其他的抗藥基因或 porins 的改變。

Pasteran [24,27]等人於 2009~2010 年對 carbapenem 抗藥菌株確認研究所選取的菌株即顯示部分 class A 及 class B carbapenemase 基因有合併其他抗藥基因存在，其中還包括了 AmpC 或 CTX-M (ESBL-producing gene)。Lascols [28]於 2009 年對印度帶有 NDM-1 基因的菌株分析，顯示幾乎所有的 NDM-1 皆合併有 CTX-M15 (印度盛行的 ESBL 主要基因型)，有部分還同時帶有 CMY-2 (一種 AmpC) 或 OXA-48[28]。Cuzon[7] 等人對不同國家帶有 KPC-2 的 16 隻菌株的研究亦

顯示不同抗藥基因片段的的存在，而且這些合併的抗藥基因似乎與地域性有關，例如 KPC-2 合併 CTX-M2，哥倫比亞 KPC-2 則是合併 CTX-M12 或 CTX-M15，幾乎全部的菌株皆帶有產生 penicillinase 的 TEM-1 弱抗藥基因。這些研究結果雖然無法顯示抗藥基因的累積順序及方法，但確認了抗藥基因的可累加性以及同一區域的盛行基因累加傾向。

Queenan[17]等人對統計分析顯示 class B 中的 *bla_{IMP}*、*bla_{VIM}* 幾乎都與整合子 (Integron) 相關，而部分的 *bla_{GES}* (GES-7, GES-8) 由舊有的名稱 IBC (integron-born cephalosporinase) 也可得知其與整合子的相關性，整合子上附的基因片匣可讓一組基因在不同菌株間整組傳遞。目前已於各種菌種發現整合子 [29]，包括 *E. coli* 及 *K. pneumoniae*。由整合子所帶之基因片匣組合，內容除了 *bla_{GES}*、*bla_{VIM}*、*bla_{IMP}* 等 carbapenemase 之外，尚有 *bla_{OXA}*、*bla_{TEM}*、*bla_{AmpC}*、*bla_{CTX-M}* 等 β -lactam 抗藥基因片段，還包括其他造成 aminoglycoside、quinolone、chloramphenicol 等藥物抗藥基因，因而造成多重抗藥性。

實驗室篩選及確認

美國疾病管制局提出 carbapenem 抗藥腸內菌之防治計畫 [32] 強調以下兩件事項：

1. 腸內菌屬為散播抗藥基因的主

力。尤其是 *K. pneumoniae*，根據之前它對 ESBL 的傳播經驗以抗藥基因的菌株統計，使得篩檢 carbapenem 抗藥 *K. pneumoniae* 應列為重要任務。*E. coli* 則是被歸類為抗藥基因經社區散播的指標。故 CRE 成為篩檢重點項目。

2. 雖然 AmpC 製造過多，或細菌帶 ESBL 基因且 porin 改變皆會造成 carbapenem 抗藥性，但是根據統計 *bla_{NDM-1}* 及 *bla_{KPC-2}* 有較顯著的全球散播趨勢。使得 CRE 成為篩檢重點項目。

於是 CRE 成為目前的篩檢重點。但是抗藥菌經由整合子基因片匣及質體獲得多重抗藥性後，抗藥性益加複雜，導致干擾以藥敏試驗區分表現型的可行性。即使由功能性分類 (Bush-Jacoby classification) 提到的各項 β -lactamase 特色，亦有可能無法辨別功能分類。例如：Bush class 3a 合併 class 2be 即無法由 aztreonam 指示可能為 class 3a，Bush class 2br 合併 class 2f 即無法由 clavulanic acid 指示可能為 class 2f，諸如此類皆可能在質體或整合子的存在下發生。

由於 *bla_{NDM-1}* 等 Class B carbapenemase 作用上較特殊，需藉由結合鋅離子得以發揮作用，由此單獨特性得以合併金屬螯合劑 (EDTA) 測試達到良好篩選效果 [26,35-36]。

目前對於其他 carbapenemase 的檢驗，則根據臨床實驗室測試標準制定單位 (CLSI) [36] 的建議，在新的判

讀工具出現之前，若有感染管制或地域性流病調查之需求時，應施作 modified Hodge test (MHT)。但 MHT 不應作為其他用途。而同時合併第 3 代頭孢黴素抗藥及 carbapenem 抗藥的情況，CLSI 未提到 MHT 的定位。CLSI 於 2011 年將 carbapenem 紙錠測試 (disk diffusion) 及 MIC 下修，藉由提高篩選率以提升 carbapenemase 的陽性偵測率。即使 MHT 用於 *bla_{KPC}* 的確認具有 90% 以上的敏感性及特異性，在其他抗藥基因確認則效果不確定[37]；若加入其他的 carbapenem 抗藥機轉，MHT 陽性對於 carbapenemase 的特異性及陽性預測率約僅 75%[27]。

Pasteran[27] 等提出以 MHT 合併 baronic acid 及 oxacillin 可提高 MHT 對 carbapenemase 的特異性及陽性預測率至 100%，而敏感性亦有 92%。主要機轉為利用 baronic acid 可同時抑制 *bla_{AmpC}* 及 class A carbapenemase，但 oxacillin 只抑制 *bla_{AmpC}* 的特性，因此得以排除製造過多而產生 AmpC carbapenem 抗藥性。但是審視該實驗內容，帶有 *bla_{AmpC}* 的菌株都沒有合併 *bla_{OXA}*，故推測此方法於實際的應用上可能會面臨假陽性的問題。

即使 EDTA MBL、及 MHT 測試對於 *bla_{KPC}* 有較佳的鑑別力，最終的鑑定可由聚合酵素鏈鎖反應 (PCR) 來執行。非屬此兩項的 carbapenemase，亦需靠 PCR 完成鑑定。較嚴謹的方式為先篩選非 carbapenemase 造成的

carbapenem 抗藥，再加以 PCR 分析，但是依照目前的方法較能排除的為不合併 *bla_{OXA}* 的 *bla_{AmpC}* 菌株，對於 porins 的改變並無有效區分方式，因此增加鑑定的困難度。

如何阻止 carbapenem 抗藥菌散播

Carbapenem 抗藥菌能經由質體、整合子暨基因片匣、合併 efflux 機轉、或 porin 改變膜通透度等，在臨床上造成幾乎無藥可用及感染後高死亡率的情況。既然無絕對有效治療藥物，則預防即成為重要課題。

顯然多種抗生素使用與 carbapenem 抗藥細菌呈正相關性 [22,29-30]，減少抗生素使用與合理的抗生素管理計畫，實為阻止抗藥菌繼續擴大的重要一環。

Perry[31] 等人於巴基斯坦軍醫院的研究顯示 *bla_{NDM-1}* 的比率已超過 20%，若能及早發現抗藥性細菌並作好感管工作，實為抗藥菌防治的重要課題。於目前資源有限，且並無充分資料顯示全面性篩檢的可行性，如何「有計畫地選擇性篩檢」是感管面臨的問題。由於安養中心、住院天數過久、免疫功能差等已被報告與 carbapenem 抗藥菌具有相關性 [22,29]，這些地方或許可以考慮為主要篩檢目標。根據美國疾病管制局於 2009 年對 carbapenem 抗藥菌的處理建議[32]，順序如下：

1. 預防的第一步為儘量發現可能

的抗藥菌株，對於未曾發現抗藥菌的地區，具危險因子之相關機構應作 6~12 個月的菌株回顧，若有發現可疑抗藥菌株則需加以確認。

2. 對於曾報告過抗藥菌株的區域或經由初步篩選而確定有抗藥菌株存在時，建議應主動對該機構具危險因子之區域作一輪全面性篩檢，較建議的方法為肛門周圍或直腸細菌培養，再經由實驗室鑑定，發現帶原者。

3. 對於 1 及 2 項發現之人員，應予接觸隔離。

4. 對於 1 及 2 項之發現人員，應再主動篩檢可能與之有流行性相關之人員 (如密切接觸或地域相關等)，以統計社區帶原比率及追蹤未來發展趨勢。

如何清除抗藥性細菌是另一個實際的問題。考慮於腸道吸收較差的藥物以避免全身性副作用，Gentamicin 似乎是個不錯的選擇[33]。於義大利米蘭舉辦的第 21 屆歐洲微生物及感染症年會 (European Congress of clinical Microbiology and infection disease, ECCMID) 對 carbapenem 抗藥菌腸內帶菌清除的研究[34]指出，腸內帶菌自動清除 (spontaneous eradication) 時間平均約 87.3 日 (60~450 日)，而根據藥敏試驗給予口服 gentamicin 80 mg 一日四次、或口服 colistin 100 mg 一日四次，約有 35% 左右的清除日期比 60 日短，顯示口服不吸收藥物的使用可列為另一項選擇。

結 論

Carbapenemase 抗藥性的機轉頗為複雜，藥物敏感性試驗的判讀標準，尚待更多的實驗室與臨床數據來建立更好的判讀方法與標準。腸內菌屬若具有 Carbapenem 抗藥性，進而在社區內、醫院間與國際間散佈，將是感染症診斷與治療的最大困難與挑戰。確實執行 CRE 的感管政策實是刻不容緩，這也考驗大家的智慧、能力與決心。

參考文獻

1. Gupta N, Limbago BM, Patel JB, et al: Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: Epidemiology and Prevention. Clin Infect Dis 2011;53:60-7.
2. Cuzon G, Naas T, Truong H, et al: Worldwide Diversity of *Klebsiella pneumoniae* That Produces β -Lactamase bla_{KPC-2} Gene. Emerg Infect Dis 2010;16:1349-56.
3. Nordmann P, Naas T, Poirel L: Global Spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Emerg Infect Dis 2011;17:1791-8.
4. Nordmann P, Poirel L, Toleman MA: Does broad-spectrum b-lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria? J Antimicrob Chemother 2011;66:689-92.
5. Kuwabara S, Abraham EP: Some properties of two extracellular β -lactamases from *Bacillus cereus* 569/H. Biochem J 1967;103:27-30.
6. Walther-Rasmussen J, Høiby N: Class A carbapenemases. J Antimicrob Chemother 2007;60:470-82.
7. Aubron C, Poirel L, Ash RJ, et al: Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*, U.S. rivers. Emerg Infect Dis 2005;11:260-4.
8. Miriagou V, Tzelepi E, Gianneli D, et al:

- Escherichia coli* with a self-transferable, multiresistant plasmid coding for metallo-, β -lactamase VIM-1. Antimicrob Agents Chemother 2003;47:395-7.
9. Bush K, Jacoby GA: Updated Functional Classification of β -Lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2010;54:969.
 10. Yan JJ, Ko WC, Wu JJ: Identification of a plasmid encoding SHV-12, TEM-1, and a variant of IMP-2 metallo-beta-lactamase, IMP-8, from a clinical isolate of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:2368-71.
 11. Yan JJ, Ko WC, Chuang CL, et al: Metallo-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolates in a university hospital in Taiwan: prevalence of IMP-8 in *Enterobacter cloacae* and first identification of VIM-2 in *Citrobacter freundii*. J Antimicrob Chemother 2002;50:503-11.
 12. Liao IC, Chen HM, Wu JJ, et al: Metallo- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolates at a Taiwanese hospital: lack of distinctive phenotypes for screening. APMIS 2011;119:543-50.
 13. Galleni M, Lamotte-Brasseur J, Rossolini GM, et al: Standard numbering scheme for class B $_2$ -lactamases. Antimicrob. Agents Chemother 2001;45:660-3.
 14. Jacoby G, Bush K, <http://www.lahey.org/Studies/> [a site that contains additional literature and GenBank accession number references for β -lactamases in various functional groups].
 15. Walther-Rasmussen J, Hoiby N. OXA-type carbapenemases. J Antimicrob Chemother 2006;57:373-83.
 16. Poirel L, Heritier C, Tolun V, et al: Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:15-22.
 17. Queenan AM, Bush K: Carbapenemases: the versatile β -lactamases. Clin Microbiol Rev 2007;20:440-58.
 18. Mercuri PS, Bouillenne F, Boschi L, et al: Biochemical characterization of the FEZ-1 metallo- β -lactamase of *Legionella gormanii* ATCC 33297T produced in *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:1254-62.
 19. Villegas MV, Lolans K, Correa A, et al: First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing β -lactamase. Antimicrob Agents Chemother 2007;51:1553-5.
 20. Karthikeyan KK, Toleman MA, Walsh TR, et al: Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. Lancet Infect Dis 2010;10:597-602.
 21. Yan Qi, Wei Z, Ji S, et al: ST11, the dominant clone of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in China. J Antimicrob Chemother 2011;66:307-12.
 22. 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.
 23. 英文書目 Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and practice of infectious disease 7th edition p282 t19-1.
 24. Pasteran F, Mendez T, Guerriero L, et al Sensitive Screening Tests for Suspected Class A Carbapenemase Production in Species of *Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol 2009;47:1631-9.
 25. Chia JH, Siu LK, Su LH, et al: Emergence of carbapenem-resistant *Escherichia coli* in Taiwan: resistance due to combined CMY-2 production and porin deficiency. J Chemother 2009;21:621-6.
 26. Yong D, Toleman MA, Giske CG, et al: Characterization of a New Metallo-beta-Lactamase Gene, *blan*_{NDM-1}, and a Novel Erythromycin Esterase Gene Carried on a Unique Genetic Structure in *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 14 from India. Antimicrob Agents Chemother 2009;53:5046-54.
 27. Pasteran F, Mendez T, Rapoport M, et al: Controlling false-positive results obtained with the Hodge and Masuda Assays for detection of class A carbapenemase in species of *Enterobacteriaceae* by incorporating boronic acid. J Clin Microbiol 2010;48:1323-32.
 28. Lascols C, Hackel M, Marshall SH, et al: Increasing prevalence and dissemination of NDM-1 metallo-beta-lactamase in India: data from the SMART study (2009). J Antimicrob Chemother 2011;66:1992-7.
 29. Moura A, Soares M, Pereira C, et al: Integrall

- Database. Available <http://integrall.bio.ua.pt/>
30. Patel G, S, Factor SH, et al: Outcomes of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection and the Impact of Antimicrobial and Adjunctive Therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29:1099-106.
 31. Perry JD, Naqvi SH, Mirza IA, et al: Prevalence of faecal carriage of *Enterobacteriaceae* with NDM-1 carbapenemase at military hospitals in Pakistan, and evaluation of two chromogenic media. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:2288-94.
 32. Centers for Disease Control and Prevention. Guidance for control of infections with carbapenem-resistant or carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in acute care facilities. *MMWR* 2009;58:256-60.
 33. Zuckerman T, Benyamini N, Sprecher H, et al: SCT in patients with carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae*: A single center experience with oral gentamicin for the eradication of carrier state. *Bone Marrow Transplant* 2011;46:1226-30.
 34. Oren I, Sprecher H, Finkelstein R, et al: Eradication of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* colonisation with non-absorbable oral antibiotic treatment. Abstracts of 21st ECCMID/27th ICC, 2011.
 35. Pitout JD, Gregson DB, Poirel L, et al: Detection of *Pseudomonas aeruginosa* Producing Metallo-beta-Lactamases in a Large Centralized Laboratory. *J Clin Microbiol* 2005;43:3129-35.
 36. Lee K, Lim YS, Yong D, et al: Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase-producing isolates of *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.* *J. Clin. Microbiol* 2003;41:4623-9.
 37. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth informational CLSI document M100-S21 Vol 31 No1. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011.

Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae

Sz-Rung Huang¹, Zhi-Yuan Shi^{1,2}

¹Division of Infection Diseases, Department of Internal Medicine, Taichung Veterans General Hospital;

²Department of Infection Control, Taichung Veterans General Hospital, Taichung, Taiwan

Presently, carbapenems are one of the last lines of defense, but their effective use is now under threat. The mechanisms of carbapenem resistance include hyperproduction of AmpC, ESBL production with porin alteration, and carbapenemase production. Carbapenemase-encoding genes, similar to other drug-resistance genes, have existed since long. According to the Ambler classification of β -lactamases, these genes are categorized as A, B, or D class genes. Moreover, according to the updated Bush-Jacoby functional classification, they are classified as the groups 2df, 2f, 3a, and 3b. Theoretically, laboratory tests can help identify the specific mechanism involved in carbapenem resistance by evaluating either their specific response to EDTA and clavulanic acid or their phenotypic response to monobactam and oxacillin. Further highly technical methods such as PCR are needed to accurately identify such carbapenem-resistant strains. However, in reality, drug-resistant phenotypes and their clinical responses are complicated as these strains obtain the drug-resistance genes from plasmids or integrons, making their clinical identification more difficult. Furthermore, blaKPC-2 was found to be associated with a transposon (Tn4401), and this increases the probability of spreading resistance genes. To date, more than 100 carbapenemase-encoding genes have been isolated and identified. Previous statistical resources reveal that numerous carbapenemase-encoding genes have been isolated from Enterobacteriaceae members and *Klebsiella pneumoniae*. This shows that the study of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae is important in preventing the spread of drug-resistant genes. A prevention strategy should be based on finding resistant strains, screening probable high-risk groups, and adopting a well-knit antibiotic stewardship program. Undoubtedly, selection pressures exerted by antibiotic overuse increases the chances of developing drug resistance. For most clinicians, however, the reasonable use of antibiotics is difficult to achieve. Hopefully, there will be a suitable antibiotic stewardship program to ease the current conditions.

Key words: Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, KPC, NDM-1, ambler, Bush-Jacoby, modified Hodge test