

# 可產生廣譜西每(ESBL)之非 *Klebsiella pneumoniae* 及 *Escherichia coli*

---

陳志銘

中國醫藥學院附設醫院 感染科

## 前 言

廣譜西每 Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBLs)是在 1983 年首次被報告。通常 ESBLs 是由先前存在的 narrow-spectrum  $\beta$ -lactamase(例如 TEM-1, TEM-2, SHV-1)變異而來，它們可以水解所有 cephalosporins, penicillins 及 aztreonam。這些酵素最常在 *Klebsiella* 菌種，及 *Escherichia coli* 上發現，但也可以出現在其他的格蘭氏陰性細菌，如 *Enterobacter*, *Salmonella*, *Proteus*, *Citrobacter* 菌種，*Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Shigella dysenteriae* 及 *Pseudomonas aeruginosa*。這些非 *E. coli* 及 *K. pneumoniae* 之腸內菌其染色體可被誘導產生 AmpC  $\beta$ -lactamase。這兩種酵素都跟多重抗生素的抗藥性有關，而目前一般的實驗室敏感性測試並無法偵測出所有細菌的 ESBLs，而同時產生 AmpC  $\beta$ -lactamase 及 ESBL 者，目前也無標準的方法可以偵測，也因此無法預防此類抗藥性菌株的散播，形成在院內細菌抗藥性控制上的一大漏洞。

## 格蘭氏陰性桿菌中 $\beta$ -lactamase

$\beta$ -lactamase 是對  $\beta$ -lactam 藥物產生抗藥性最重要的決定因子，它遠在盤尼西林被用來治療細菌感染之前就已經被發現了[1]。它有許多不同的分型，也有一些不同的分類系統被提出[2]。如果依照氨基酸序列可以把它分為四大類(class A,B,C,D)[3]。由於 1980 年代開始，oxyimino-cephalosporins 的使用增加導致(ESBLs class A)的出現，跟著在 1990 年代早期 cephamycins 類藥物的增加使用，導致增加誘導抗藥性，均是由 ESBLs 及可誘發的 AmpC  $\beta$ -lactamases(class C)及所引起。

## 含有可誘發 AmpC $\beta$ -Lactamases 的腸桿菌

大腸桿菌(*Escherichia coli*)只能產生極少量染色體編碼的(chromosomal-encoded)AmpC  $\beta$ -lactamases,並不足以造成對  $\beta$ -lactam 類藥物的抗藥性。跟大腸桿菌不一樣的，*Pseudomonas aeruginosa* 及其他的腸菌屬，像 *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, *Acinetobacter calcoaceticus* 及 *Enterobacter cloacae* 的 AmpC  $\beta$ -lactamases 是可以被誘導而大量產生。在這些細菌的 AmpC  $\beta$ -lactamases 平常是被抑制因子(repressor)所控制，假如沒有  $\beta$ -lactam 藥物作為誘發因子，這調節基因會使  $\beta$ -lactamases 的產生處在受抑制的狀態，就算有 AmpC  $\beta$ -lactamases 產生，量也相當少。但假如有  $\beta$ -lactam 藥物存在，這調節基因便會允許大量  $\beta$ -lactamases 的產生，因此這種  $\beta$ -lactamases 的製造被稱為“可逆性的去除抑制”(reversible depressed)。

而調節基因的突變，則可能導致持續產生大量的  $\beta$ -lactamases(所謂穩定的去除抑制，stable derepression)。這些去除抑制的變異菌株會對第三代頭孢子素，aztreonam, cephamycins, 廣效性盤尼西林，及  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase 抑制劑的組合有抗藥性。對於 *K. pneumoniae*，這些質體媒介的 AmpC  $\beta$ -lactamase 不僅提供對 cephalosporins 及 cephamycins 類藥物的抗藥性，假如合併有外膜上孔蛋白的喪失，也可能造成對 carbapenem 類藥物的抗藥性[4]。

調節基因發生突變的機會相當高，大約  $10^7$  菌落會有一個去抑制突變。在受感染的部位，每毫升的膿或每公克受感染的組織細菌數通常大於  $10^8$ 。因此在感染部位的細菌族群裏，對大部分的  $\beta$ -lactam 抗生素是有著不同的感受性，其中大多數的微生物是有感受性，但少部份是有抗藥性。當我們用廣效頭孢子素治療病人時，這些有抗藥性的去抑制變異株比較容易存活下來，假如宿主防禦系統又不能控制這些變異株的生長時，這變異株便會成為受感染部位的主要菌株。這個現象可以解釋為什麼我們用第三代頭孢子素來治療 *E. cloacae* 感染的病人，在治療過程中會遭遇到  $\beta$ -lactam 抗藥性出現的問題[5]。

要偵測一分離菌株攜帶有質體媒介的 AmpC  $\beta$ -lactamase 是比 ESBLs 困難的多，因為很難證明 AmpC 是由質體媒介產生而非染色體，且目前並無很好的方法來偵測 AmpC 存在與否。我們目前可以把對 cephamycin 類藥物感受度的降低當作篩檢試驗，另外陰性的 ESBLs 確定試驗也可以當作 AmpC 產生的間接證據[5]。

#### 有質體編碼(plasmid-encoded) $\beta$ -lactamase 的腸桿菌

格蘭氏陰性桿菌所擁有的質體編碼  $\beta$ -lactamases, TEM-1, TEM-2 及 SHV-1 能水解盤尼西林，窄效的頭孢子素，但不能水解廣效頭孢子素，aztreonam 及 carbapenems。不過這些酵素的變異型，所謂的 ESBLs，在 1980 年代初期在歐洲首次被發現。從那時開始，ESBLs 便在世界各地被發現。各種不同型的  $\beta$ -lactamases 的數目及它們的盛行率均穩定的增加中。其中一些 ESBLs 是源自於原先窄效的  $\beta$ -lactamases(例如 TEM-1, TEM-2 及 SHV-1)，而且大多數是在 *Klebsiella pneumoniae* 及 *E. coli* 中發現的。不過在 *Proteus*，*Providencia*，*Serratia* 及 *Enterobacter* 菌種也可發現。

ESBLs 不僅能水解盤尼西林，及窄效的頭孢子素，也能水解廣效的頭孢子素及 aztreonam。雖然 ESBLs 能被 clavulanate, sulbactam, 及 tazobactam 所抑制，但大量製造 (hyperproduction) 的話還是會產生對  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase 抑制劑組合藥物的抗藥性。唯一對 ESBLs 穩定的  $\beta$ -lactam 藥物是 carbapenems。攜帶有 ESBLs 的微生物，因為常有額外的抗藥性基因鏈結到 ESBLs 基因，常常也對像 aminoglycosides, trimethoprim/sulfamethoxazole 及 tetracyclines 有抗藥性。除此之外，這些攜帶有 ESBLs 的分離株也常常對 fluoroquinolones 類藥物有抗藥性。

#### 偵測格蘭氏陰性桿菌中的 $\beta$ -lactamase

NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standards)有對 *Klebsiella pneumoniae* 及 *E. coli* 的 ESBLs 的偵測提出建議，但對於其他細菌，像 *Serratia*, *Enterobacter*, *Providencia*, *Morganella*, *Citrobacter* 及 *P. aeruginosa* 的 ESBLs 的偵測則沒有 NCCLS 認可

的方法，也未建議要常去檢測其 ESBL。

用常規抗生素敏感性測試方法，在有 AmpC  $\beta$ -lactamase 存在的情形下，是很難去偵測質體編碼的 ESBLs 的存在與否。因為一般實驗室用 amoxicillin/clavulanate 及廣效頭孢素類的雙紙錠擴散試驗(double disk diffusion test)來篩選 ESBLs 的存在與否，假如在 amoxicillin/clavulanate disk 及另外一廣效性頭孢素中間的抑制區有加大的現象，則顯示有 ESBLs 存在。因為 clavulanate 只能抑制 ESBLs，並不能抑制 AmpC  $\beta$ -lactamase[6,7]，而且 clavulanate 可能誘發 AmpC  $\beta$ -lactamase 的產生，水解掉廣效的頭孢素，因而掩蓋掉對 ESBLs 抑制的協同效應，而造成假陰性。使用 Cefepime 可以克服這一個問題，因為此藥物對 AmpC  $\beta$ -lactamase 較其他廣效性頭孢素穩定，但使用 cefepime 的雙紙錠擴散試驗尚未被 NCCLS 正式核可使用在 ESBLs 的鑑定。雖然等電位聚焦法及 DNA 序列法，可以用來偵測那些攜帶有多種可能干擾 ESBLs 確定試驗的 beta-lactamase 的菌株 ESBLs 的存在與否，但這些方法只有少數實驗室可以進行。

雙紙錠擴散試驗的結果有一些主觀，及偏向定性分析，不過這方法很容易執行及判讀。但正確的鑑定出 ESBLs 仍需要執行進一步的測試，例如轉移對 ceftazidime 的抵抗力到對 ceftazidime 敏感的接受者，等電位聚焦法，或者解讀基因或氨基酸序列。

#### 含有可誘發及體質上(constitutive) $\beta$ -lactamase 的格蘭氏陰性桿菌

原先沒有可誘發染色體的 AmpC  $\beta$ -lactamase 的 Escherichia coli 及 K.pneumoniae 已經可以從質體上獲得 AmpC [8]。攜帶有這些質體的 E. coli 或 Klebsiella pneumoniae 會對所有的  $\beta$ -lactam 類藥物有抗藥性，除了 carbapenems 及 cefepime。不過，藉著得到其他的抗藥性機轉，例如，失去外膜的孔狀通道，這些菌株也有可能對 carbapenems 及 cefepime 產生抗藥性。一般只攜帶有染色體的可誘發的 AmpC  $\beta$ -lactamase 的腸桿菌已經被報告攜帶有 ESBLs，雖然這些報告大多數源自於歐洲，但在 1988 年，美國 Rice 等[9]所報告的一個慢性病照顧中心，由對 ceftazidime 有抗藥性，會產生 ESBLs 的 Klebsiella pneumoniae 引起的院內感染的調查中發現，好幾株 E. cloacae 被意外發現攜帶有可移轉的 ceftazidime 抗藥性基因(質體媒介)。

從 1993 到 1995，維吉尼亞州 Richmond 一家醫院的病人，分離出 31 株 Enterobacter aerogenes 是對廣效性的頭孢素有抗藥性[10]，除了擁有可誘發的 AmpC  $\beta$ -lactamase 外，這 31 株也擁有跟 trimethoprim/sulfamethoxazole 及 gentamicin 抗藥性有相關的 ESBLs。這些 ESBLs 被進一步鑑定，其中有 29 個是跟 SHV-4 相類似，一個跟 SHV-3，另一個跟 SHV-5 相類似。這三種不同的 ESBLs，及對 trimethoprim/sulfamethoxazole, gentamicin 的抗藥性基因都是可轉移的[10]。由於對 gentamicin 或 trimethoprim/sulfamethoxazole 的抗藥性基因是位在跟 ESBL 相同的質體上，所以在已經攜帶有可誘發 AmpC  $\beta$ -lactamase 的微生物，對 gentamicin 或 trimethoprim/sulfamethoxazole 的抗藥性，成為判斷該菌是否獲得 ESBL 的主要決定因子。

從 2000 年 9 月到 2001 年四月，在費城都會區的三家不同醫院，針對連續 30 株對 ceftazidime 有抗藥性的 E. cloacae 做 ESBL 的篩檢[11]。使用 cefepime 及 amoxicillin/clavulanate 藥錠來進行 double disk diffusion test。結果有 14 株(47%)存在有 ESBL，在這 14 株中，它們對 ceftazidime 及 gentamicin 的抗藥性都是可轉移的。

## 結 論

在格蘭氏陰性桿菌的病原菌中，因為質體媒介的 AmpC  $\beta$ -lactamase 及 ESBLs 所引起的抗藥性正逐漸增加，這是一嚴重的問題，而且這問題跟廣效性的頭孢子素的廣泛使用有密切相關。這些抗藥性菌株及基因，藉著病人在區域內的各個機構移動，而散播開來。 $\beta$ -lactamase 的編碼基因常跟其它類抗生素抗藥性基因有相關，因此使用任何一類的抗生素都可能導致對其他類抗生素抗藥性的產生。治療這些多重抗藥性病原菌引起的感染常常是有問題的。有一個方法可以限制  $\beta$ -lactamase 的產生，那就是使用  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase 抑制劑的組合，但是 AmpC  $\beta$ -lactamase 及大量製造(hyperproduction)的 ESBLs 會躲避這治療策略。假如使用  $\beta$ -lactam 抗生素中對 ESBLs 及 AmpC  $\beta$ -lactamase 的水解作用最穩定的藥物，carbapenem 及 cefepime，則無可避免終將造成對這些藥物抗藥性的產生。

傳統上的隔離方法，例如在接觸那些受到產生 ESBLs 之 *E. coli* 或 *K. pneumoniae* 感染或移生的病人時，手套及長袍的使用，已經證實可以有效的避免細菌散播。不過，假如感染控制的努力只有針對那些實驗室能偵測出來的 ESBLs 的製造者，則在醫院裏面，除了 *E. coli* 及 *K. pneumoniae* 以外，那些沒有被偵測到，擁有質體編碼 ESBLs 的腸桿菌，已成為流行病學調查的一大阻礙。質體編碼的抗藥性基因可以在不同的腸桿菌中轉移，而一個受到這些細菌感染的病人，可能是這質體編碼抗藥性基因的潛在儲藏窩。因此發展一快速的方法來偵測是否有抗藥性基因存在是一重要的工作。目前所有人的手套使用及手部衛生；早期偵測任何腸桿菌 ESBLs 的存在與否，特別是 *Enterobacter* 屬及 *P. aeruginosa*，可考慮加作 Cefepime 與 amoxicillin/clavulanate 雙紙錠試；及最重要的，管制不必要及不適當的抗生素使用，仍是最有效控制措施。

## 參考文獻

1. Abraham EP, Chain E: An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature* 1940;146:837.
2. Bush H, Jacoby GA, Meideros AA: A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1211-33.
3. Pitout JDD, Sanders CC, Sanders WE Jr: Antimicrobial resistance with focus on beta-lactam resistance in gram-negative bacilli. *Am J Am J Med* 1997;103:51-9.
4. Bradford PA, Urban C, Mariano N, et al: Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC beta-lactamase and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:563-9.

5. Chow JW, Fine MJ, Shlaes DM, et al: Enterobacter bacteremia: clinical features with emergence of antibiotic resistance during therapy. *Ann Intern Med* 1991;115:585-90.
6. Thomson KS: Controversies about extended spectrum and AmpC beta-lactamases. *Emerg Infect Dis* 2001;7:333-6.
7. Tzelepi E, Giakkoupi P, Sofianou D, et al: Detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*. *J Clin Microbiol* 2000;38:542-6.
8. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA: Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:1-11.
9. Rice LB, Willey SH, Papanicolaou GA, et al: Outbreak of ceftazidime resistance caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamases at a Massachusetts chronic care facility. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:2193-9.
10. Pitout JD, Thomson KS, Hanson ND, et al: Plasmid-mediated resistance to expanded-spectrum cephalosporins among *Enterobacter aerogenes* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:596-600.
11. Levison ME, Mailapur YV, Pradhan SK, et al: Frequency of ESBLs conferring transferable resistance in *Enterobacter cloacae* in Philadelphia teaching hospitals [abstract 561]. In: Program and Abstracts of the 39th IDSA Annual Meeting. October 25-28, 2001. San Francisco.