

計畫編號：DOH102-DC-1508

衛生福利部疾病管制署 102 年委託科技研究計畫

計畫名稱：國內多重抗藥性細菌之基因型變異現況及
臨床相關資料之蒐集與流行病學研究

年度/全程研究報告

執行機構：奇美醫療財團法人奇美醫院

計畫主持人：莊銀清

研究人員：盧柏樑、蕭樑基、林永崇、王振泰、吳竹蘭、
馮長風、王立信、王任賢、李細祥、李禎祥、
班仁知、商仕達、張科、郭正邦、陳昕白、
黃景泰、黃琮興、蘇迎士、盧敏吉、柯文謙、
李聰明、劉昌邦、馬靈、邱勝康、葉國明、
陳宜君、盤松青、盧章智、郭安靜、湯宏仁、
陳郁慧、蔡昱果、李美鳳

執行期間：102 年 1 月 1 日至 102 年 12 月 31 日

本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對媒體發布研究成果應事先徵求本署同意

目錄

封面

目錄

計畫中文摘要

計畫英文摘要

本文

- | | |
|---------------------------|------|
| (1) 前言：包括研究問題之背景與現況及研究目的等 | (1) |
| (2) 材料與方法 | (8) |
| (3) 結果 | (24) |
| (4) 討論 | (49) |
| (5) 結論與建議 | (64) |
| (6) 計畫重要研究成果及具體建議 | (71) |
| (7) 參考文獻 | (82) |
| (8) 圖、表 | (92) |

計畫中文摘要

本計畫之研究目標為：(1) 瞭解臺灣目前重要多重抗藥細菌的流行病學之現況；(2) 找出臺灣感染抗 carbapenem 腸內菌 (CRE) 的病人之危險因子，以提出對 CRE 從抗藥機轉到臨床治療的完整防疫策略；(3) 建置一套合適的抗藥性細菌監測系統提供疾管署作為提昇院內感控措施與效能之參考，以防治 CRE 並減緩其對國人健康之不良影響。為達成以上的目標，本計畫整合了 7 個子計畫團隊來進行，計畫內容探討分析台灣重要多重抗藥細菌，包含 CRE、萬古黴素不敏感或具抗性的金黃色葡萄球菌(VISA/VRSA) 及萬古黴素抗藥腸球菌(VRE)的抗藥現況、表現型與基因型間之關聯性及其抗藥機轉，並針對 CRE 研究其感染病人的危險因子、評估合宜的感控措施與抗生素使用量的調查。本研究之目的為建立一個最新的本土重要多重抗藥細菌之資料庫，並結合 CRE 感染的病人之臨床資料與感控措施之調查，將可提供疾病管制局作為台灣防治多重抗藥細菌的重要參考資料。

由於本計畫 2012 年度計畫合作醫院所處區域之分配與疾管署公告之全省行政劃分區有異，為避免計畫成果發生醫院所在區域與疾管署及其他醫療院所之認知有差距，故 2013 年起調整醫院歸屬區域同疾管署，並重新計算菌株相關統計，所有資料均溯及 2012 年。

本計畫自 2012 年 1 月 10 日開始執行至 2013 年 9 月 30 日止，已由台

灣共計 20 家醫院（層級包括醫學中心和區域醫院），收集包含 CRE 745 株 (*K. pneumoniae* 604 株及 *E. coli* 141 株)、MRSA 845 株、VRE 268 株菌株，與 CRE 感染病人的臨床資料與感控措施。來自各院的 CRE、MRSA 及 VRE 菌株的鑑定資料與抗藥性調查、抗藥機制和分子流行病學分析實驗結果及 CRE 感染病人的病歷相關資料及感控資料都被建檔並加以分析。

本報告為 4 年期整合型計畫第 2 年的成果，7 個子計畫的重要研究成果為：

子計畫 1-3：帶有 KPC carbapenemase 的菌株已於台灣出現，且其數目在醫學中心有增加之勢。而分子定型的研究顯示在 CRE 的 *K. pneumoniae* 中，最盛行的 clone 為 ST11，*E. coli* 則為 ST43(ST131)。

子計畫 4：ST5、ST59 及 ST239 在台灣 MRSA 血液分離株是最盛行的 clone，而部份菌株對 vancomycin、linezolid 及 daptomycin 已經有抗藥性的產生。對 linezolid 與 daptomycin 等新一代的抗 MRSA 抗生素，已有抗藥性菌株出現；並且對 daptomycin 的抗藥性比率，相較於 2012 年的 1.1%，有明顯增加的趨勢（4.8%）。

子計畫 5：VRE 盛行率以北台灣居高，且幾乎都是 *E. faecium* (Efm-VRE) (96.9%)。Efm-VRE 絕大屬於高抗藥型的 *vanA* 基因型 -*vanA* 表現型 (97.3%)，分子分型屬於 CC17，對 tigecycline, daptomycin and linezolid 大多

仍具有感受性(92-100%)。

子計畫 6：CRE 菌株檢出與否，受限於各醫院臨床實驗室之檢測能力；同時抗藥性菌株檢出資訊回饋給臨床單位後之感染管制措施介入處置各院間具有差異。醫院間 CRE 感控訊息的交流及感染 CRE 的長照病人資訊仍較缺乏。

子計畫 7：CR-*E. coli* 最常見的感染部位為腹腔內感染與泌尿道，而在 CR-*K. pneumoniae* 則為泌尿道和下呼吸道感染。CRE 感染的病人死亡率約在 40%左右。使用類固醇，是否在 24 小時使用合適的抗生素，APACHE II 是否高於 20，Charlson score 是否大於等於 4 與 SOFA score 是否大於等於 7 為 *K. pneumoniae* 所造成的感染的死亡獨立危險因子，而 24 小時內選擇合適的抗生素則是影響死亡的獨立危險因子。

總言之，由本計畫第二年期研究結果顯示，已得到初步涵蓋臨床菌株、感染病人、及病人臨床治療與醫院感控等各面向之全國性特殊多重抗藥菌之重要資料，預期持續進行將可累積足量的資料分析而獲得具有代表性的研究成果，特別是在防治 CRE 方面。而全球抗藥性細菌感染及擴散日益嚴重，台灣與國際往來頻繁，本研究所調查的最新監測資料，包含：KPC-CRE 抗藥菌的出現、各院現行的 CRE 感控措施及 CRE 感染病人資料，皆有助於當局及時因應抗藥性細菌流行現況有所作為。但由於目前所收集的資料量

仍不足作為提供政策建議所需，因此藉由明後年度持續性地監測調查研究，預期將可提供政府足夠的資訊，以訂定最合適的感染控制計畫而預防疫情爆發，減低抗藥性細菌對國人健康的不良影響。

關鍵詞：多重抗藥細菌、台灣、感染控制、carbapenem 抗藥腸內桿菌 (CRE)、萬古黴素抗藥金黃色葡萄球菌 (VISA/VRSA)、萬古黴素抗藥腸球菌 (VRE)

計畫英文摘要

The objective of this four-year project is to: (1) investigate the present situation of multidrug-resistant bacteria in Taiwan; (2) to find out the risk factor associated with the emerging of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) ; and (3) to set up the appropriate control strategy of this type of resistance. To achieve the above investigation, the proposal contained 7 integrated sub-projects including: a complete analysis of the mechanisms causing the resistance; prospective analysis of patients risk for resistant bacterial infection; and determines the appropriate infection control strategy and antibiotic usage. Throughout the investigations, a complete database of resistant bacteria and patients' information will be set up simultaneously and those data will be available for all investigators in this program and Taiwan CDC to do any future analysis. These data will also become the first baseline data of carbapenem resistance in Taiwan as well as the data for VISA/VRSA and VRE results.

To avoid the inconsistency due to the allocation of hospitals into four different regions leading to the difference on rate of resistance between the database from CDC and our project, we will re-distribute our hospitals' allocation in according to CDC system and re-organize our data in 2012-3.

In this study, 20 hospitals (either medical centers or regional hospitals) were participated in this program. We collected 745 CRE (including 604 *K. pneumoniae* and 141 *E. coli*), 845 MRSA, and 268 VRE isolates since Jan. 10th, 2012. Clinical isolates and clinical medical records of CRE infected patients

from each hospital were obtained and will be stocked in laboratory and centralized in our data system. For laboratory base analysis, molecular epidemiology and mechanism of CRE, VISA / VRSA, and VRE were investigated by different laboratories.

The report presents the second year progress of our four-year integrated project. Important findings for 7 different sub-projects of this study were included:

Sub-project 1-3: KPC carbapenemase is emerging in Taiwan and spread rapidly in medical centers. Our data also showed that the recent pandemic clone ST11 in *K. pneumoniae* and ST43(ST131) in *E. coli* were the dominant clones in Taiwan.

Sub-project 4: ST5, ST59, and ST239 were dominant clones in Taiwan MRSA blood isolates and shown their non-susceptibility to vancomycin, linezolid and daptomycin. Increasing incidence of linezolid and daptomycin resistant-MRSA was observed especially in daptomycin resistance. The daptomycin resistance was increasing from 1.1% in 2012 to 4.8% in 2013.

Sub-project 5: VRE were largely identified in North Taiwan, and most belonged to *E. faecium* (Efm-VRE) (96.9%). Efm-VRE isolates were largely *vanA* genotype (97.3%) and affiliated with clonal complexes CC17, and shown susceptible to tigecycline, daptomycin and linezolid (92-100%).

Sub-project 6: CRE surveillance activities were limited by the hospital laboratory capabilities. Different recommendations of enhanced infection control measures for patients with CRE infections were observed in our participated hospitals. The information exchange between hospitals and

long-term care facilities of patients colonized with CRE is lacking.

Sub-project 7: Patients with carbapenem-resistant *E. coli* infections were most belonged to intra-abdomen infection and urinary tract infection. Patients with carbapenem-resistant *K. pneumoniae* were most belonged to urinary tract infection and lower respiratory infection. The total mortality rate of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections were around forty percents. The use of steroid, inappropriate antibiotics within 24 hours, APACHE II higher than 20 points, Charlson score higher than 4 points and SOFA score higher than 7 points were independent risk factors for mortality of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* infections. A choice of appropriate antibiotics within 24 hours should have a benefit to prevent patients with carbapenem-resistant *K. pneumoniae* infections from mortality.

In conclusion, our result provided the first preliminary national data and evidence based information for infection control and prevention as well as the patients' management for multidrug-resistant bacterial infections, especially for CRE infections. Since the prevalence and severity of multidrug-resistant bacterial infections is getting worse globally. Taiwan should keep in mind on early preparation and continuous monitor for the situation locally. The present data is yet insufficient to provide a solid data in making suggestion on the purpose of this project but could be consolidated by increasing data collection. The continuity of this project must be proceeded to achieve the final aim of this four years project.

Keywords : Multidrug-resistant bacteria, Taiwan, infection control,

CRE, VISA/VRSA, VRE

(1)前言：包括研究問題之背景與現況及研究目的等

病原菌對抗生素抗藥性的日益提升已引起全球廣泛的關注。抗生素是現代醫學的基石，當它的療效越來越降低的時候勢必造成整體醫療照護水準的降低。而細菌抗藥性之產生及防範其擴散等議題係全球各國一直關注的醫療及公共衛生議題，2006 年 *Clinical Infectious Diseases*¹ 發表帶有抗藥性細菌的病人，將延長住院天數、增加醫療成本支出及病人的死亡率，因此預防抗藥性細菌感染及擴散是醫護過程不可忽視的問題，避免造成醫療成本負擔，影響醫療照護品質，使得世界衛生組織(WHO)特別呼籲各國，應加強抗藥性細菌監測與防治工作，甚至在 2011 年 4 月 7 日世界衛生日的主題即是「抗微生物製劑抗藥性及其全球傳播」，明白揭示各國需加強微生物抗藥性監測體系，了解各國細菌抗藥之現況。故需有效監測抗藥性細菌之流行現況與變遷，及早偵測新興和盛行的抗藥機制。服膺世界衛生組織對抗藥性細菌防疫策略，國內相關研究需求迫切，特別是針對台灣重要多重抗藥細菌（包含 carbapenem 抗藥的腸內菌(CRE)、萬古黴素不敏感或具抗性的金黃色葡萄球菌(VISA/VRSA)及萬古黴素抗藥腸球菌(VRE)）。

2010 年 *The Lancet Infectious Diseases* 期刊²發表帶有 NDM-1 基因之腸道菌感染症案例後，引起各國臨床醫療及公共衛生之關注。據歐盟官方(www.esac.ua.ac.be) 顯示，多重抗藥腸內菌所造成的嚴重感染有持

續成長的趨勢，醫師據為嚴重病人使用最後一線 carbapenem 藥物增加。我國疾病管制局為加強監測 NDM-1 腸道菌感染症 (New Delhi metallo- β -lactamase 1 *Enterobacteriaceae*) 造成的感染事件之發生，並進行必要之防治，更於 2010 年 9 月 9 日正式公告，將「NDM-1 腸道菌感染症」列入第四類法定傳染病，因此各醫療院所和醫師一旦發現疑似病例，必須在 24 小時內通報，同時將菌株送到疾病管制局進行確認。Carbapenem 類的抗生素(ertapenem, imipenem, meropenem, doripenem)在對 *Enterobacteriaceae* 引起的感染一貫以來都保持有相當好的療效。它優於第三及第四代的 cephalosporins 抗生素之處是它不會被細菌產生的 AmpC 或 ESBL 酵素水解。儘管 imipenem 已經上市 20 年，對它的抗藥性仍屬少數。但是由於近年來 ESBL 在全球的廣泛又快速的傳播，使 carbapenem 類的用量直線上升。隨著 CRE 的出現，特別是近年來被稱為超級細菌的帶有 KPC 和 NDM-1³⁻⁵ 酵素之腸內菌在世界各地爆發疫情，對健康照護政策形成重大挑戰。CRE 通常對所有的 β -lactam 類藥物以及其他類的藥物都抗藥，使得感染 CRE 的病人在治療上的選擇變得非常有限。在感控上感染 CRE 的病人通常被認為是一個傳播源，正確診斷出 CRE 的患者並採取及時隔離措施是預防擴散的一個重要步驟。CRE 發生機制主要是菌株得到 carbapenemase 或菌株產生 extended-spectrum cephalosporinase，如 AmpC 型的 β -lactamase 合併細菌

外膜的缺失⁶。在這些抗藥機制中最重要的是 carbapenemase, 因為它不同與其他的 CRE 抗藥機制, 它是可以傳播的(transferable)。當前 CRE 在全球的快速增加已引起了國內外相當大的關注。在臺灣的腸內菌中曾經有 IMP-8 和 VIM-2 爆發的報導⁷, 2011 年臺灣有了 KPC-2 爆發的報導⁸ 以及在克雷白氏肺炎桿菌中有 NDM-1 colonized 的報導⁴。但並沒有全國性的 CRE 之抗藥情形與機制的流行病學調查來提供有效防治具有 carbapenem 抗藥性的腸內菌的感染控制政策的重要資訊, 故我們將依循著上述的研究目標, 整合菌株流行病學及抗藥機轉、感染病人用藥及感控措施三大面向, 共分為五個子計畫建立臺灣 CRE 監測資料庫供防疫所需, 分工的研究內容及目標: 子計畫 1 為國內 CRE 之抗藥現況與分子流行病學分析; 子計畫 2 為國內 CR-*Klebsiella* spp. 之抗藥性機轉研究; 子計畫 3 為國內 CR-*E. coli* 與其他 CRE 之抗藥性機轉研究; 子計畫 6 為院感措施介入對防治 CRE 之成效評估; 子計畫 7 為國內 CRE 感染病人的抗生素使用及其他相關醫療處置之流行病學資料分析。整合這些子計畫的研究結果將建立全國第一個 CRE 防疫資料庫, 有利於政府相關部門運用這個資料庫為將來制定適當的感染控制政策及預防超級細菌基因的入侵, 也可對多重抗藥性細菌研究與防治提供全面且重要的資訊。

在國內抗藥性菌株基因型變異現況與表現型之關聯性與抗藥性機轉上, 我們亦整合了對萬古黴素不敏感或具抗性的金黃色葡萄球菌

(VISA/VRSA)及萬古黴素抗藥腸球菌(VRE)進行研究，以提供政府對重要多重抗藥性菌株防疫最即時的流行病學資訊。

甲氧苯青黴素抗藥性金黃色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 是臨床上重要的致病菌之一，它同時也是高度抗藥的細菌之一。想要成功的治療 MRSA 所造成的感染，及時投予有效的治療藥物是十分關鍵的。因此，長時間追蹤、監測臨床 MRSA 分離菌株（特別是自血液中分離出的菌株）的分子流行病學，包括各種藥物的感受性，是十分重要的。根據衛生署疾病管制局所負責之「台灣院內感染監測系統」的報告所顯示，MRSA 歷年來一直是十大院內感染致病菌株之一⁹。MRSA 可引起各種不同的臨床感染症，其中又以血流感染 (bloodstream infection, BSI) 因能導致嚴重的併發症與死亡率，特別受到重視¹⁰⁻¹²。

相較於 methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA)，MRSA 因自其它細菌（目前懷疑是 coagulase-negative staphylococci）獲得了一段基因，SCCmec element，因而能合成盤尼西林結合蛋白 2a，產生對所有乙內醯胺類(β -lactams) 抗生素之抗藥性，根據 SCCmec element 的結構，目前已知在 MRSA 上主要有五種不同 type 的 SCCmec element¹³。許多的非 β -lactams 抗生素，MRSA 也都有各種不同的抗藥機轉而對之產生抗藥性，而造成治療 MRSA 感染症的一大挑戰，因僅有有限的抗生素可供使

用。自 1960 年代以來，醫界一直仰賴 glycopeptide 類抗生素，特別是 vancomycin，作為治療 MRSA 感染的主要抗生素。然而，使用 vancomycin 來治療 MRSA 感染，存在著某些問題，如：vancomycin-intermediate *S. aureus* (VISA) 與 vancomycin-resistant *S. aureus* (VRSA) 即無法使用 vancomycin 來治療¹⁴。幸而近年來有一些新的抗生素研發上市，如 linezolid、daptomycin、與 tigecycline 等；然而，這些新一代的抗生素，台灣地區分離出的 MRSA 菌株對其感受性到底如何，則比較缺乏大規模、長時間的追蹤監測；對於台灣地區 MRSA 菌株中，有多少比率是 vancomycin MIC $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ 、多少是 VISA、多少是 VRSA，也一樣缺乏大規模、長時間的追蹤監測，是故分工以子計劃 4 進行國內 MRSA 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析。

腸球菌(*Enterococci*)是重要的院內感染病原菌，臨床相關感染以 *Enterococcus faecalis* 及 *Enterococcus faecium* 為主；由於腸球菌對 glycopeptide 類抗生素，如 vancomycin 與 teicoplanin 抗藥性的浮現，使得腸球菌抗藥性菌株的篩檢、菌種的鑑定及瞭解其流行病學上的特性益形重要。第一株抗萬古黴素的腸球菌(vancomycin-resistant *Enterococci*, VRE)的臨床菌株首度在 1988 年於歐洲發現後^{15,16}，已快速的在世界各地的醫院擴散，根據美國 National Nosocomial Infections Surveillance 的報告，VRE 菌株由 1989 年 0.3% 上升至 2003 年 30%，已成為院內感染

的主要菌種¹⁷；另一全球性的監控計劃也發現，有三分之一以上的 *E. faecium* 對萬古黴菌呈抗藥性，並且有 80% 以上帶有 *vanA* 基因¹⁸；同樣的在台灣院內感染監視資訊系統 (TNIS) 歷年的調查的資料顯示，VRE 在台灣全國醫療院所的比例也是逐年增加，由 2007 年平均約 10%，在 2010 年上升為 21%¹⁹，並且台灣北部的盛行率 18-41% 遠高於台灣中南部 5-26%，同時在台灣不同的醫院也有類似的報告²⁰⁻²²。另外，VRE 的血流感染的也隨着 VRE 的流行有明顯增加，在編號 D 醫院的統計資料顯示[未發表之資料]，在 2003 年以前，每年只有小於 10 件的 VRE 血流感染個案，但在 2010 年 VRE 造成的血流感染已高達 58 件。VRE 血流感染症造成的問題很多，有文獻報告指出，VRE 會造成治療期間延長，死亡率上昇及治療費用增加^{23,24}。所以對 VRE 的抗藥機制及抗藥性的監控是非常必要的，這樣才可以採取適當的措施來減少病原體或有某些抗藥機制的進一步擴散或轉移。

造成萬古黴素的抗藥與 *van* 基因的存在有關，目前在 VRE 中發現 *van* 抗藥基因，包括 *vanA*、*vanB*、*vanC*、*vanD*、*vanE*、*vanG*、*vanL*、*vanM* 及 *vanN* 九種²⁵⁻²⁸。*vanA* 及 *vanB* 是 VRE 主要帶有的抗藥基因^{17,29}。在台灣，首株 VRE-AH803 菌株在 1996 年由團隊中的盧章智醫師所發表³⁰，研究證實其帶有對萬古黴素有高度抗藥性 (MIC=512 µg/ml) 的 *vanA* 基因。目前在台灣 VRE 菌株的抗藥性研究結果，也是以帶 *vanA* 及 *vanB*

抗藥基因為主³¹，同時也有 *vanB2* 基因的發現³²。根據 TNIS 的統計結果¹⁹，VRE 菌株在各醫療院所陽性比率居高不下，一直持續在加護病房之病人身上移生，甚至發生 VRE 菌血症，在這種狀況之下，如何控制 VRE 菌株傳遞變成非常重要的話題。故分工以子計畫 5 研究國內 VRE 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析。

綜言之，本 4 年期整合型計畫的研究目的為提出對國內多重抗藥細菌由抗藥機轉到臨床治療的完整防治策略，藉完整分析台灣多重抗藥菌株的多重抗藥機轉、感染病人臨床資料、感染控制及抗生素用量，並縱向貫連 2011 年度的研究結果，以提供足量樣本的研究結果，建立完整的資料庫，分析出具備足夠質量之本土研究結果，以進一步提出對國內抗多重抗藥菌株的防治建言。

(2) 材料與方法

菌株與資料庫

本研究的收菌醫院共計 20 家醫院 (層級為 12 家醫學中心和 8 家區域醫院)，包含北部 8 家醫院(編號 A 醫院、B 醫院、C 醫院、D 醫院、E 醫院、F 醫院、Q 醫院、R 醫院)，中部 3 家醫院(編號 G 醫院、H 醫院、S 醫院)，南部 7 家醫院(編號 I 醫院、J 醫院、K 醫院、L 醫院、M 醫院、N 醫院、T 醫院)，和東部 2 家醫院(編號 O 醫院、P 醫院)。菌株送驗流程，由計畫合作醫院每月固定時間將符合收菌標準之菌株匯送至國家衛生研究院，再由其處理分讓轉送至子計畫實驗執行單位。所收集的菌株有 3 類，收菌標準定義為(1) CRE：腸桿菌科(*Enterobacteriaceae*)具有 carbapenem 類抗藥性之菌株，限 *E. coli* 和 *K. pneumoniae*，不限檢體部位且 Imipenem 或 Meropenem $\geq 2\mu\text{g/mL}$ 之菌株；另，針對沒有作 Imipenem 或 Meropenem，只作 Ertapenem 藥敏性試驗之醫院，則只送對 Ertapenem 具抗藥性之 CRE 菌株；(2)MRSA：無菌部位且 Vancomycin $> 1 \mu\text{g/mL}$ 之 SA 菌株。(3)VRE：血液檢體。截至 2013 年 9 月 30 日止 (1-8 月菌株)，CRE 共收集 304 株(*K. pneumoniae* 238 株及 *E. coli* 66 株)、MRSA 308 株、VRE 119 株。其最初的抗藥性篩選在收菌醫院執行，第二次的 MIC 確認和菌種鑑定由國家衛生研究院進行。計畫執行期間，每個病人只收一株菌株，以採檢之第一株為主 (不重複)。

本研究也同時建立了一個完善的雲端資料庫包含菌株的實驗室分析結果與病歷資料，而各醫院參與計畫的人員可以用設定的帳號及密碼登入網路資料庫，依權限下載及更新資料，再上傳資料共享；雲端管理有助於各計畫主持人及時掌握進度及資料的準確性，發現問題及時聯絡溝通。

研究的材料與方法

子計畫 1 國內 CRE 之抗藥現況與分子流行病學分析

1. 菌屬的鑑定及儲存

使用由 bioMérieux 所生產的 VITEK II system 進行腸內菌屬的鑑定，臨床菌株如經鑑定為腸內菌屬則重新培養並保留在-70°C 含 10% glycerol 的 Luria-Bertani (LB) 培養液裏。

2. 抗生素敏感性試驗

本研究所納入的菌株將利用 Clinical and Laboratory Standards Institute 所建議 broth microdilution method 來檢測下列各抗生素的最小抑菌濃度 (Minimal inhibitory concentrations, MICs)³³：ampicillin, ampicillin-sulbactam, cefazolin, cefuroxime, ceftazidime, ceftriaxone, aztreonam, ertapenem, imipenem, meropenem, gentamicin, amikacin, tetracycline, tigecycline, ciprofloxacin, trimethoprim-sulfonamides,

chloramphenicol, fosfomycin 及 colistin，而 tigecycline 的敏感性試驗將利用 E-test 的方式來取得，本研究的抗生素敏感性試驗將用 *P. aeruginosa* ATCC 27853 和 *E. coli* ATCC 29212 兩株菌株當作標準對照菌株，tigecycline 的判讀標準將以 FDA 所建議的為主³⁴，而其他抗生素的判讀標準則以 CLSI 為標準³⁵。

3. 脈衝式電場膠體電泳分析

依過去所述之方式製備細菌的基因體 DNA 並進行脈衝式電場膠體電泳分析³⁶。依據製造廠所建議之方法使用限制酶 *Xba*I 將 DNA 切為片段，再利用脈衝式電場，以 0.5 倍 TBE 溶液作為脈衝液，在 1% 洋菜膠體進行電泳分離這些片段，電泳時間 22 小時，電壓 200V，設定溫度為 14°C，電場轉換時間為 2 至 40 秒，所使用之儀器為 Bio-Rad CHEF MAPPER apparatus。電泳結束後以 ethidium bromide 進行膠體的染色，在紫外光下照相，所得之基因體 DNA 染色條帶將根據 Tenover 等人所述之方法進行判讀³⁷。

4. 多重基因分析比對 (multilocus sequences typing)

當分離菌株具有相同的 pulstotype 時，這些菌株將進一步進行多重基因分析比對，以利和國際 CRE 菌株進行流行病學分析。本研究使用七個基因(*gapA*, *infB*, *mdh*, *pgi*, *phoE*, *rpoB* 及 *tonB*)來做比對，所有的實驗步

驟將如之前的參考文獻³⁸。Primers 的基因序列如附表 1，PCR 反應的條件為 94°C 3 分鐘，35 循環 94°C 30 秒，50°C 30 秒，72°C 30 秒，然後再 72°C 5 分鐘。利用 PCR 純化 kit 純化所合成的產物，使用 ABI 3700 DNA sequencer 進行定序。

5. 總結當年度實驗資料並加以分析

將分析抗菌譜與分子分型之相關性，以及各醫院間及各醫院內的 CRE 的分子流行病學，配合子計畫七可再進行更詳細之分析，以協助判定 CRE 在醫院內之傳播情形。

子計畫 2 國內 CR-*Klebsiella* spp. 之抗藥性機轉研究

1. CR-*Klebsiella* spp. 抗 carbapenem 相關基因的偵測及定序

對 carbapenem 具有抗藥性的克雷白氏肺炎桿菌臨床菌株進行已知 carbapenem 抗藥性相關基因的偵測，主要針對 carbapenem 類抗生素抗性相關基因，包括 carbapenemase、cephalosporinase (AmpC 及 ESBL) 及外膜孔蛋白基因，如：*bla*_{SHV}，*bla*_{TEM}，*bla*_{CTX-M}，*bla*_{IMI}，*bla*_{SME}，*bla*_{GES}，*bla*_{NMC}，*bla*_{KPC}，*bla*_{OXA}，*bla*_{CMY}，*bla*_{DHA}，*bla*_{IMP}，*bla*_{VIM}，*bla*_{NDM} 等，及外膜孔蛋白 (OmpK35 及 OmpK36) 基因 (引子序列詳如附表 1)，進行聚合酶鏈合反應增幅偵測菌株抗藥性基因的有無，並將增幅產物進行定序分析得知其基因內容及種類。

2. 細胞外膜孔蛋白分析

以 Mueller-Hinton 液體培養基培養至對數期的菌液以超音波震碎菌體後超高速離心，加入醃基肌氨酸鈉洗滌產物後進行丙烯醃胺膠體電泳，為 Limanskey 等學者所使用的方法³⁹。比較對 carbapenem 具有感受性的標準菌株與本研究中具有 carbapenem 抗藥性卻不帶有 carbapenemase 基因的菌株兩者的細胞外膜蛋白。菌株先於 37°C LB 培養液中隔夜培養，利用離心取得細菌，用 ice-cold PBS 清洗後，重新懸浮於 PBS 液體以及 1 mM dithiothreitol，利用超音波打破細菌的細胞膜，低溫離心收集上清液，加入 N-Lauroyl sarcosinate (sodium salt)，最終濃度為 2.2% (wt/vol)，此產物將保存於 20°C 30 分鐘，於 4°C 下 100,000g 離心取得外膜碎片，再次用 2.2% (wt/vol) sodium N-lauroyl sarcosinate 沖洗一次，最後重新懸浮於 20 mM Tris-HCl (pH 8.0)–0.1 mM EDTA–1% SDS。上述產物將用 SDS- PAGE 分析，polyacrylamide gels 的濃度為 12.5%，使用 Coomassie blue staining 染色，所有的產物在執行電泳前須煮沸 5 分鐘。

3. 總結當年度實驗資料並加以分析

子計畫 3 國內 CR-*E. coli* 與其他 CRE 之抗藥性機轉研究

1. CR-*E. coli* 抗 carbapenem 相關基因的偵測及定序

對 carbapenem 具有抗藥性的大腸桿菌臨床菌株進行已知 carbapenem 抗藥性相關基因的偵測，主要針對 carbapenem 類抗生素抗性相關基因，包括 carbapenemase、cephalosporinase (AmpC 及 ESBL) 及外膜孔蛋白基因，如：*bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{IMI}, *bla*_{SME}, *bla*_{GES}, *bla*_{NMC}, *bla*_{KPC}, *bla*_{OXA}, *bla*_{CMY}, *bla*_{DHA}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{NDM} 等、及外膜孔蛋白 (OmpF 及 OmpC) 基因 (引子序列詳如附表 1)，進行聚合酶鏈合反應增幅偵測菌株抗藥性基因的有無，並將增幅產物進行定序分析得知其基因內容及種類。

2. 細胞外膜孔蛋白分析

以 Mueller-Hinton 液體培養基培養至對數期的菌液以超音波震碎菌體後超高速離心，加入醯基肌氨酸鈉洗滌產物後進行丙烯醯胺膠體電泳，為 Limanskey 等學者所使用的方法³⁹。比較對 carbapenem 具有感受性的標準菌株與本研究中具有 carbapenem 抗藥性卻不帶有 carbapenemase 基因的菌株兩者的細胞外膜蛋白。菌株先於 37°C LB 培養液中隔夜培養，利用離心取得細菌，用 ice-cold PBS 清洗後，重新懸浮於 PBS 液體以及 1 mM dithiothreitol，利用超音波打破細菌的細胞膜，

低溫離心收集上清液，加入 N-Lauroyl sarcosinate (sodium salt)，最終濃度為 2.2% (wt/vol)，此產物將保存於 20°C 30 分鐘，於 4°C 下 100,000 g 離心取得外膜碎片，再次用 2.2% (wt/vol) sodium N-lauroyl sarcosinate 沖洗一次，最後重新懸浮於 20 mM Tris-HCl (pH 8.0)–0.1 mM EDTA–1% SDS。上述產物將用 SDS-PAGE 分析，polyacrylamide gels 的濃度為 12.5%，使用 Coomassie blue staining 染色，所有的產物在執行電泳前須煮沸 5 分鐘。

3. 總結當年度實驗資料並加以分析

子計畫 4 國內 MRSA 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析

1. 抗生素感受性測試：

利用 Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) 所提出的 broth dilution 方法，對所分離出的 MRSA 菌株，測試 clindamycin, erythromycin, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole, ciprofloxacin, gentamicin, vancomycin, teicoplanin, linezolid, daptomycin, tigecycline 與 daptomycin 等抗生素的最低抑菌濃度³³。而感受性的判讀標準，也按照 CLSI 所建議的條件加以判讀³⁵。

2. 分子分型研究：

(1) 利用脈場膠電泳分析法來對分離出的 MRSA 進行分子分型研究。其作法簡述如下^{40,41}：從隔夜培養之羊血平板上挑取單一菌落，以 1ml PIV 溶液（1 mol/L，NaCl, 0.01 mol/L Tris pH 8.0）清洗一次後，接種到 0.5 的 PIV 溶液中，測波長 620 nm，並調整菌液濃度至 OD 值在 3.0 之間，取等體積 1.6% 低熔點的洋菜膠與菌液均勻混合，分裝入填充模型（plug mold），靜置 10 分鐘使其凝固，取出填充物（plug）將之在 37°C 4 小時使用 lysostaphin (50 g/mL) 分解，置入 1ml 之 EC buffer（6 mmol/L，Tris, pH 8.0, 1 mol/L NaCl, 0.1 mol/L EDTA, pH 8.0, 0.2% sodium deoxycholate, 0.5% Sarkosyl），溶解之溶液用 1 mL ESP buffer (0.5 mmol/L EDTA, pH 9.0, 0.1% Sarkosyl, 1 mg/mL proteinase K) 代替後，50 °C 隔夜振盪，洋菜膠填充物（plug）以 10 mL TE buffer 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 1.5 mm 厚的薄片（slice of plug），置入含 250 µl 之限制酶溶液內含 20 單位 Sma I 之限制酵素之反應溶液，25°C 下；經 DNA 分解 agarose plugs 放入 1 mL of TE buffer 37°C 1 小時，plug 插入 1% agarose gels，切斷的片段以電泳槽 CHEF-DR III（Bio-Rad）跑膠質，以 *S. aureus* NCTC 8325 當作分子量指標。PFGE 分型圖譜相似性比較，主要根據 D 係數（Dice coefficients）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於 2 再除以

二者片斷數目總合，為 D 係數。當這些菌株 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，可能是經由簡單之基因插入或刪除或限制酵素辨認位置之產生或喪失⁴²。

(2) 利用 MLST 對分離出之 MRSA 進行分子分型研究：按照 Enright et al 等人提出的方法以及引子來進行 MLST 的分型⁴³（引子序列詳如附表 1），細菌染色體 DNA 的抽取，按照我們先前所使用的方法加以進行⁴⁴。使用 Gene Amp PCR system 9600 進行 PCR，對於 PCR 的產物，則使用 377 automated fluorescent DNA sequencing system 進行基因序列分析。再將所得之結果，與 [website:www.mlst.net](http://www.mlst.net) 之資料庫進行比對，對每一 MRSA 菌株，給定一組 7 個數字的序列，而後比對其 MLST 之 sequence type。

(3) SCCmec elements 之型別判定：MRSA 所攜帶的 SCCmec element 之型別判定，乃依照 Zhang et al 等人所提出的聚合酶鏈鎖反應（PCR），來加以判定¹³。PCR 進行的條件為：94 °C 5 分鐘，接著 10 個循環的 94 °C 45 秒鐘，65 °C 45 秒鐘，72 °C 1.5 分鐘；接著再 25 個循環的 94 °C 45 秒鐘，55 °C 45 秒鐘，72 °C 1.5 分鐘；最後 72 °C 10 分鐘。進行 PCR 所需的引子詳如附表 1。

(4) PVL gene 的偵測：依照 Lina et al 等人提出的方法來偵測 PVL gene⁴⁵。

PCR 的條件則為 94 °C 30 秒，55 °C 30 秒，72 °C 1 分鐘，共進行 30 個循環。進行 PCR 所需的引子詳如附表 1。

3. 資料分析：

分析每一分年血液分離出之 MRSA 菌株，對各種抗生素，包含 teicoplanin, vancomycin, linezolid, tigecycline, daptomycin, fusidic acid, clindamycin, erythromycin, ciprofloxacin, minocycline, gentamicin, 以及 trimethoprim/sulfamethoxazole 等的 MIC 分佈；MRSA 菌株中有多少是對 vancomycin 具感受性但 MIC 值偏高 (2 µg/mL)、多少是 vancomycin intermediate (MIC = 4 or 8 µg/mL)、多少是 vancomycin resistant (MIC ≥ 16 µg/mL)；MRSA 菌株 PFGE 分子分型的分佈、PVL 基因的盛行率、SCC*mec* element typing 之分佈、MLST 之分佈。並利用 MLST 與 pulsotype 加以分層，考慮不同的 MLST 分型、pulsotype 下，各種抗生素感受性、vancomycin 抗藥性、PVL 基因之有無、與 SCC*mec* element typing 之分佈；也利用地域來源加以分層，考慮不同的地域來源下，各種抗生素感受性、vancomycin 抗藥性、PVL 基因之有無、pulsotype、MLST typing、與 SCC*mec* element typing 之分佈。最後比較研究期間，上述各參數的逐年狀況。

子計畫 5 國內 VRE 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析

1. 菌屬的鑑定及儲存

使用 Rapid ID 32 STREP (bioMérieux) 進行腸球菌菌種的鑑定，臨床血液培養的菌株如經鑑定為腸球菌屬則重新培養並保留在 -70 °C 含 10% glycerol 的 Luria-Bertani (LB) 培養液裏。

2. 抗生素敏感性試驗

本研究所納入的菌株將利用 E-test 操作 vancomycin, tigecycline, teicoplanin, daptomycin、及 linezolid，另外 vancomycin 的敏感性試驗將另外使用 CLSI 所建議的 broth microdilution method 來檢測最小抑菌濃度 (MICs)³³，本研究的抗生素敏感性試驗將用 *S. aureus* ATCC 29213 和 *E. faecalis* ATCC 29212 兩株菌株當作對照菌株，tigecycline 的判讀標準將以 FDA 所建議的為主³⁴，而其他抗生素的判讀標準則以 CLSI 為標準³⁵。

3. 萬古黴素抗藥 *van* 基因偵測

對萬古黴素具有抗藥性的腸球菌臨床菌株進行已知 vancomycin 抗藥性 7 種 *van* 基因的偵測，包括 *vanA*、*vanB*、*vanC*、*vanD*、*vanE*、*vanG* 基因分型^{46,47}（引子序列詳如表 1），進行聚合酶鏈合反應增幅偵測菌株抗藥性基因的有無，作用條件為 94°C 5 分鐘，35 循環 94°C 60 秒，依不同引子設定 58~60°C 60 秒，72°C 60 秒，然後再 72°C 10 分鐘。產物以

1.5% agarose gel 進行電泳分析，以 *E. faecalis* ATCC 29212 作為陰性對照組。

4. 脈衝式電場膠體電泳分析(PFGE analysis)

依過去所述之方式製備細菌的基因體 DNA 並進行脈衝式電場膠體電泳分析³⁶。依據製造廠所建議之方法使用限制酶 *Sma*I 將 DNA 切為片段，再利用脈衝式電場，以 0.5 倍 TBE 溶液作為脈衝液，在 1% 洋菜膠體進行電泳分離這些片段，電泳時間 22 小時，電壓 200V，設定溫度為 14°C，電場轉換時間為 2 至 40 秒，所使用之儀器為 Bio-Rad CHEF MAPPER apparatus。電泳結束後以 ethidium bromide 進行膠體的染色，在紫外光下照相，所得之基因體 DNA 染色條帶將根據 Tenover 等人所述之方法進行判讀³⁷。

5. 多重基因分析比對(multilocus sequences typing)

本研究使用七個管家基因(housekeeping gene)，包括 *adk* (adenylate kinase), *atpA* (ATP synthase, alpha subunit), *ddl* (D-alanine:D-alanine ligase), *gyd* (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), *gdh*(glucose-6-phosphate dehydrogenase), *purK* (phosphoribosylaminoimidazol carboxylase ATPase subunit), and *pstS* (phosphate ATP-binding cassette transporter) 做比對，所有的實驗步驟將如之前的參考文獻⁴⁸。Primers 的基因序列如附表 1。而 7 組管家基因定

序的結果，會上網比對 MLST 資料庫(<http://efaecium.mlst.net>)，以得到 ST 分型的結果。

子計畫 6 院感措施介入對防治 CRE 之成效評估

1. 抗藥性基因檢測回饋機制：

執行方式為實驗室端檢出 KPC 及 NDM-1 抗藥性基因的時，①除立即直接通知該發生醫院外，②並同步通知子計畫六聯絡窗口，以便立即轉知疾病管制局第五組。透過與衛生主管機關合作，迅速蒐集 KPC 發生個案之基本資料，包含有個案來源、年齡、入院日至出院日天數、住院科別、入院日至採檢日天數、採檢部位、侵入性裝置使用狀況、預後（動態）等。另，建置各醫院之抗藥性基因（如 KPC 檢出率）分析資料庫，據此持續監測當月 KPC 檢出率跟去年(2012)同期比之趨勢變化，如有異常並能即時回饋資訊給該發生醫院，以利該院進行調查並實施感染管制介入措施。

2. 「對 carbapenem 具抗藥性腸道菌(CRE)感染管制措施（含 KPC&NDM-1）」之彙整分析：

資料提供之流程，以計畫合作醫院提供該院現有之感控措施，透過電子郵件傳送至子計畫六執行單位（編號 J 醫院），資料提供之單位分別為感染控制委員會/感染控制中心（室）/感染科。主要目的了解機構內

針對 CRE (含 NDM-1& KPC) 執行感管措施 (含採取之隔離防護措施、處置及隔離條件) 之差異性。

3. 運用世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) WHONET Software (<http://www.who.int/drugresistance/whonetsoftware/en/>) 及美國疾病管制中心 (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) Epi Info (<http://www.cdc.gov/epiinfo/>) 等統計軟體, 比較兩者之於醫院內部及院際間常規監測下菌株消長趨勢或群突發警訊之適切性。

操作方式為來自於各計劃合作醫院所登錄於雲端資料庫的 CRE 個案明細資料, 逐筆依據該軟體格式內容分別鍵入, 如各醫院名稱(代碼)、選擇菌株類型及菌株代碼、輸入實驗室相關數據, 警戒值設定等, 進行相關數據分析並依據不同需求製作圖表。

子計畫 7 國內 CRE 感染病人的抗生素使用及其他相關醫療處置之流行病學資料分析

1. 研究設計

我們將進行多中心的病例對照研究, 病人來源包含參與本計畫的 20 家區域醫院以上等級的醫院。收集的病例為感染 CRE 的住院病人, 我們藉由每天在各自醫院的微生物的細菌培養報告中去收集研究的病例, 每一個病例於其醫院選擇一個對照病例, CRE 的對照組是

carbapenem-susceptible *Enterobacteriaceae* (CSE)、對照組選擇的條件並需同時具備下面的條件：和病例具相同的感染部位、年齡相差 5 歲以內、診斷的時間與病例相距一個月內；符合的對照病例再隨機選擇 1 個來和病例作對照，如有多個個案符合對照條件，則隨機選擇 1 個來和病例作對照，如無符合條件的對照組，則依序放寬條件為診斷時間(診斷的時間距離最近的個案組，但不超過當年年度為原則)及年齡。

2. 病例的追蹤及預後

所有收錄的病人將追蹤至出院或是死亡，我們將分析其感染抗藥性細菌的危險因子、總死亡率、住院天數、抗生素治療的結果以及死亡率的危險因子。

3. 資料的收集

我們將從病歷中收集下列的資料：

病人基本資料：年齡、性別、感染部位、病人的來源(家中，其他醫院或是其他慢性療養機構)及感染型式(社區型、院內感染或是健康照顧機構相關感染)，過去三個月的住院情況。

感染時的嚴重度 (APACH II score、SOFA score、APACHII score 所收集的資料包含病人的體溫，血壓，心跳，呼吸速度，氧氣使用狀況，血中鈉離子，鉀離子，血中肌肝酸，血小板數量，白血球數量，動脈血

的 PH 值，其中動脈血的 PH 值當病人的感染情況非相當嚴重時，臨床常規不一定會執行，當無資料值將以 0 分計算，病人意識狀態 (Glasgowcoma scales, GCS)，年紀，與重大慢性疾病的有無等資料加以計算；而 SOFA score 所紀錄的資料為氧氣使用狀況，病人的意識狀態，血壓與是否適用強心劑，血小板的數量與血中肌肝酸的值來計算，感染是否以嚴重敗血症或是敗血性休克表現可由上述所收集的資料來判斷、感染當時其他與預後相關的實驗室檢驗數據血中的白蛋白、紅血球數量等。

潛在疾病的嚴重度以 Charlson score 評估，收集的資料為病例所記載以下疾病的有無，愛滋病、心肌梗塞，鬱血性心臟病，周邊血管疾病，慢性肺氣腫，過敏免疫風濕科疾病，潰瘍性疾病，白血病，淋巴瘤，腫瘤疾病的轉移，腎臟疾病，腦血管疾病，肝臟疾病與糖尿病。

感染當時身上與感染可能相關的管路：血液透析管路，胸腔與腹腔的引流管，氣管內管，中央靜脈導管的有無。

除上列所列資料外另外收集病人感染時初次所使用的抗生素(超過 3 天以上)以及病人本次住院的癒後(死亡或是存活)與住院天數。

4.統計分析

我們使用 backward, conditional stepwise multivariable logistic regression model 來分析感染抗藥性細菌危險因子及死亡率的危險因子。

(3) 結果

I. 菌株基因型變異現況與表現型之關聯性及抗藥性機轉

(I) CRE

在 304 株 CRE 中，有 44 株因為不符收菌標準(同一病人不同部位重複收菌，菌種鑑定有誤或 MIC 不符收菌標準)而被剔除，因為有些醫院只有用 ertapenem 的 disc 篩選，所以就只能收 ertapenem resistant 的菌株，而很多 ertapenem resistant 的菌株對於 imipenem 或 meropenem 是敏感的，所以最終被剔除而導致數目上有減少。

子計畫 1 國內 CRE 之抗藥現況與分子流行病學分析

1. 菌株和藥物敏感試驗性試驗結果

在被剔除後餘下的 260 株 CRE (*K.pneumoniae* 220 株及 *E.coli* 40 株)，這一批菌對各類藥物的 MIC₅₀ 及 MIC₉₀ 和抗藥性比率見表 2 及表 3。這 220 株 *K. pneumoniae* 對 penicillin 類中的 ampicillin，對 non-extended spectrum cephalosporins 中的第一代藥物 cefazolin 和第二代藥物 cefuroxime，對 extended spectrum cephalosporins 中的第三代藥物 cefotaxime 和 ceftazidime，對 antipseudomonal penicillins + β -lactamase inhibitors 中的 ticarcillin-clavulanic acid，共 4 類藥物中的至少一種藥物的 non susceptible 比率都達 100%，符合國際間對腸內菌定義的多重抗藥標準(大於等於三類藥

物，每一類藥物至少有一種 non susceptible)，所以他們屬於多重抗藥性細菌 (MDR, multidrug-resistant)。對 quinolone 的 non-susceptible rate ciprofloxacin (90.5%)，levofloxacin (88.6%)。對 aminoglycoside 類的抗藥性沒有那麼高，對 gentamicin 和 amikacin 的 non-susceptible rate 分別是 51.4% 和 25.5%。結果還有發現一個重要的發現就是在 *K. pneumoniae* 中 colistin 的抗藥性 (EUCAST guideline, >2mg/L) 比率也相當高達 14.5% (32 株)，其中有 4 株帶有 KPC-2 基因。colistin 用於 carbapenem resistant 的治療，屬最後線用藥的藥物，限用於抗生素無效的革蘭氏陰性菌，國外目前也只有零星的幾個國家有 colistin resistant 的報導，對治療 NDM-1 有效的 tigecycline 也有抗藥菌株的出現 (9 株, 4.1%)。在 *E.coli* 部分，它的抗藥情形雖不如 *K. pneumoniae* 來的嚴重，因為 fosfomycin 也是一個老藥新用，特別是 *E.coli* 引起的(有 ESBL 產生的)尿道感染，所以我們還增加了對 fosfomycin 的抗藥性監測，發現從 2012 年 1 月至 2013 年 8 月收集的有效的 91 株 CREC(剔除不符合收菌標準的菌株後，2012 年 51 株，2013 年 1-8 月 40 株)共有 4 株 fosfomycin 抗藥，其中三株集中於中部的同一家編號 G 醫院，另外一株來自編號 D 醫院。

2. 脈衝式電場膠體電泳分析和多重基因分析比對

K. pneumoniae 共計 220 株，經由 PFGE 分型後，根據 Tenover 等人判讀標準，大約可分為 4 個大 cluster 及小部分的 cluster，以基因變異度 80% 為

區分依據，發現大部分的clone不相同，但在北部A、B、C醫院有部分菌株clone相同(圖 1)。而在*E. coli*共計40株，經由PFGE分型後，除了北區L醫院有兩株為相同菌株，北區B、L及中區D醫院有小clone，其餘皆為基因型相異，(圖 2)。

本次收菌中共計有 52 株 KPC，利用 PFGE 分型後，以基因變異度 80%為區分依據，分為 3 個 clone，G19 與 G25 為同一 clone，B-88 為一個 clone，其餘 49 株為同一 clone，主要在北區醫院有 43 株(A, n=7；B, n=22；C, n=11；F, n=3)，中區 D 醫院有 3 株，南區有 3 株(H, n=1；K, n=2)，指出在北區有群聚的現象，亦指出 KPC 之菌株在 PFGE 分型有相似的 pattern (圖 3)。

根據 pulsotype 80% 相似度為做區分同源性依據，不同 pulsotype 進而做 MLST 分型，同一 pulsotype 也選用一株菌株做 MLST，因此總共有 49 種 pulsotype，除了部分為 New type (13/49, 27%) 以外，其餘 pulsotype 以 ST11 (9/49, 18%) 為主要 ST，其次為、ST15 (5/49, 10%) 及 ST37 (3/49, 6%)，ST656 及 ST661 (2/49, 4%)，其餘為不同 ST，分別為 ST6、ST12、ST14、ST17、ST20、ST34、ST76、ST107、ST307、ST309、ST392、ST421、ST681、ST709、ST711 (1/49, 2%)，如圖 4。

而 *E. coli* 共計有 40 株，全做 MLST 後，除了部分為 New type (4/40, 10%) 以外，其餘菌株以 ST131 (10/40, 25%) 為主，其次為 ST457 (4/40, 10%) 及 ST10、ST88、ST224、ST405 及 ST648 (2/40, 5%)，其餘皆為不同 ST，分別為 ST38、ST44、ST68、ST117、ST167、ST349、ST359、ST410、ST617、ST1410、ST2003 及 ST3329 (1/40, 3%)，如圖 5。

而在不同醫院收到的 KPC 菌株，有三種 pulsotype，利用 MLST 分型後大多皆為 ST11，除了 G19 與 G25 為同一 clone 外，其為 ST15(圖 3)，顯示有某一 clone 特別易帶有 KPC 抗藥基因。

子計畫 2 國內 CR-*Klebsiella* spp. 之抗藥性機轉研究

1. Carbapenemase, AmpC 和 ESBL 基因檢測的結果

首先我們對目前較受注目的 KPC 和 NDM-1 基因進行調查。在 220 株 *K. pneumoniae* 中，我們發現了 52 株 KPC 陽性，經過定序和序列比對之後確認他們都是 KPC-2，他們集中來自於北部的編號 A 醫院 7 株，B 醫院 23 株，C 醫院 2 株，D 醫院 11 株，F 醫院 3 株。中部編號 G 醫院 3 株。南部的編號 I 醫院 2 株，K 醫院 1 株。我們透過電話和 E-mail 的方式在確認後，第一時間將 KPC 基因存在的情形及時通知給各醫院和疾管署，以便及時追蹤病歷和做好感控和動態掌握疫情的發展。為了瞭解這些 KPC 陽性菌株間的關聯性，我們對 52 株已完成了 PFGE (脈衝

式電場膠體電泳分析) 和樹狀圖分析(圖 3), 發現在同一家醫院和不同家醫院間有同一 clone 存在的情形。NDM-1 基因沒有被發現。我們也完成了 220 株 *K. pneumoniae* 的基因的檢測。統計數目如表 4、表 5、表 6。

我們還完成了 220 株的 PFGE 以瞭解醫院內部或不同醫院之間有無同一 clone 株的傳播情形。這 220 株 *K. pneumoniae* 中有 4 株 nontypeable, 另外以基因變異度 80% 為區分依據, 發現大部分的醫院有院內的小型 outbreak(圖 1)。根據 pulsotype, 又挑出了屬於不同 pulsotype 菌株進行 MLST 分析。這些不同 pulsotype 的菌株中有 58 株是 ST11, 可見 ST11 在 CRKP 菌株中存在的普遍。ST11 在 KP 是一個全球流行的 clone。其中 52 株 KPC-2 中的 50 株均為 ST11, 另有 2 株是 ST15。

2. 細胞外膜孔蛋白分析

外膜缺失的調查完成 220 株, Omp35 缺失的有 104 株, Omp36 缺失的也有 5 株, Omp35 和 Omp36 同時缺失的有 105 株。外膜缺失與合併 carbapenemase, 合併 AmpC beta-lactamase 以及 合併 ESBL 的統計顯示於表 7, 由於大部分菌株產生多個 beta-lactamase 我們在統計 carbapenem 抗藥機制時採單一計算為原則(不重複), 優先計算 carbapenemase (順序是 KPC-2 > NDM-1 > IMP-8 > VIM-1), 其次是 AmpC (在 *K. pneumoniae* 菌是優先算 DHA-1 再算 CMY-2)。

子計畫 3 國內 CR-*E. coli* 與其他 CRE 之抗藥性機轉研究

1. Carbapenemase, AmpC 和 ESBL 基因檢測的結果

在 *E. coli* 部分，40 株中 KPC 沒有發現，但有發現 2 株 NDM-1。其他基因的檢測全部完成，有發現 34 株有 CMY-2，4 株有 DHA-1，3 株有 OXA-1，3 株 SHV 陽性，22 株 TEM 基因陽性，CTX-M 基因中屬 CTX-M-1 Group 的有 14 株，屬 CTX-M-9 Group 的有 6 株。VIM 及 IMP 基因都沒有偵測到。

2. 細胞外膜孔蛋白分析

外膜缺失的調查完成 40 株，OmpC 缺失的有 5 株，OmpF 缺失的有 8 株，OmpC，OmpF 全部缺失的有 27 株。在統計 carbapenem 抗藥機制時採單一計算為原則(不重複)，優先計算 carbapenemase (順序是 KPC-2 > NDM-1 > IMP-8 > VIM-1)，其次是 AmpC (在 *E. coli* 則是優先算 CMY 再算 DHA-1)最後是 ESBL，見表 8。40 株 *E. coli* 的 PFGE 有 3 株 nontypeable，以基因變異度 80% 為區分依據，發現都沒有同源性。所有的 *E. coli* 都有做 MLST，結果發現有 25% (10 株) 屬於 ST131，一個全球流行的 clone。

(II) MRSA

子計畫 4 國內 MRSA 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析

自 2013 年 1 月至 2013 年 9 月止共收集 308 株自血液中分離出來的 MRSA。經過進一步鑑定，其中有 11 株並非金黃色葡萄球菌，5 株的 *mecA* 基因檢測為陰性，且其 oxacillin 的感受性經 MIC 檢定、複測為具感受性；這 16 株分離菌株，被排除在後續的微生物學研究，總計有 292 株 MRSA 菌株。

在藥物的感受性分析上，對 ciprofloxacin 具感受性的為 29.5% (2012 年, 31.4%)，對 clindamycin 為 26.7% (2012 年, 28.6%)，對 erythromycin 為 10.6% (2012 年, 13.1%)，對 gentamicin 為 19.2% (2012 年, 26.9%)，對 rifampin 為 81.5% (2012 年, 80.6%)，對 tetracycline 為 34.9% (2012 年, 28.0%)，對 trimethoprim/sulfamethoxazole 為 44.2% (2012 年, 49.7%)，對 linezolid 為 99.7% (2012 年, 98.3%)，對 daptomycin 為 95.2% (2012 年, 98.9%)，對 teicoplanin 為 99.7% (2012 年, 98.3%)，對 vancomycin 為 98.0% (6 株 MIC 為 4 mg/L)。

對於 vancomycin 的 MIC 分布，分析如下：MIC 為 0.5 mg/L 的佔 1.4%，MIC 為 1 mg/L 的佔 53.4%，MIC 為 2 mg/L 的佔 43.2%，MIC 為

4 mg/L 的為 2.1%。

主要的 MLST 型態為 ST239 (計 145 株), ST59 (計 47 株), ST45 (計 30 株), ST5 (計 22 株), 和 ST30 (計 14 株); 其餘包含 ST8, 97, 188, 508, 573, 900, 與 1598 等計 14 株 (有 20 株為 untypable)。PFGE 分子分型的結果詳見圖 6, 主要可以分為六個 major pulsotypes [(pulsotypes J (55 株), L (41 株), P (11 株), AA (15 株), AH (12 株), AQ (20 株)] ; 另有 50 個 minor pulsotypes。

在 SCCmec element 的分型分析上, type II 有 19 株, type III 有 154 株, type IV 有 57 株, type V 有 41 株, untypable 的有 21 株。在 PVL 基因有無的偵測上, 總計有 31 株 MRSA 被測得帶有 PVL 基因。

考慮地域分布與 MRSA 菌株對各種抗生素感受性的關係, 由於來自台灣東部的菌株只有 13 株、來自台灣中部的只有 23 株, 故摒除臺灣東部與中部不予分析 (圖 7)。由圖 7 可知, 在後線抗生素的感受性上, 來自於南北臺灣的菌株並沒有明顯的差異; 對 vancomycin 不具感受性的 6 隻菌株 (散佈於 4 家醫院), 3 株來自於北臺灣 (同 1 家醫院), 2 株來自中台灣 (同一家醫院), 1 株來自於南台灣; 對 teicoplanin 不具感受性的 1 菌株, 來自南臺灣; 對 linezolid 不具感受性的 1 隻菌株中, 來自北臺灣; 對 daptomycin 不具感受性的 14 隻菌株當中, 來自北臺灣的有 9 株 (其中 5 株來自同一家

醫院，佔該院所有 enrolled 菌株的 5/32)，來自中台灣的有 2 株，南台灣有 3 株；至於對 ciprofloxacin、clindamycin、tetracycline、trimethoprim/sulfamethoxazole 等抗生素，則以來自南臺灣的菌株較具有感受性。

依 MLST types 來考慮藥物的感受性，詳見圖 8（僅分析主要的 MLST types，ST239，ST59，ST45，ST5）。相較於 239 菌株，ST5、ST45、ST59 菌株明顯的對非 beta-lactams 類抗生素較具感受性；而 ST45 更明顯對 clindamycin 的感受性高達 80%；ST5 則對 rifampin 的感受性比其他三者來的低。至於在後線抗生素方面，特別要注意的是，所有對 vancomycin，teicoplanin，linezolid 不具感受性的菌株，除 1 菌株屬於 ST5 為 VISA 外，均屬於 ST239；而對 daptomycin 不具感受性的菌株，1 株屬於 ST5，1 株屬於 ST45，2 株屬於 ST59，10 株屬於 ST239。

考慮南、北台灣之分離菌株主要 MLST 分布，ST239、ST59、ST45、及 ST5 分別佔 59.1% v.s. 32.3%，13.6% v.s. 30.0%，11.3% v.s. 13.3%，與 8.5% v.s. 5.0%；可見北台灣相較於南台灣，有較多的 ST239，較少的 ST59。

在不同 MLST types 的 SCCmec 分型之分布中，ST239 的菌株，均帶著 type III 的 SCCmec element；而 ST59 的菌株，則有 6 株帶著 type IV 的 SCCmec element，另外 41 株帶著 type V 的 SCCmec element；ST5 的

菌株，則均帶著 type II 的 *SCCmec* element；ST30 與 ST45 則帶著 type IV 的 *SCCmec* element。在不同 MLST types 的 PVL 基因有無之分布中，帶有 PVL 基因的菌株，分別屬於 ST30 (8/14)，ST59 (17/47)，ST8 (4/4)，ST1598 (1/1)；帶有 PVL 基因的菌株，均攜帶著 type IV 或 V 的 *SCCmec* elements。因為南台灣地區 ST59 的菌株較多，所以 PVL 陽性的菌株（相較於北台灣）也較多（8.0% v.s. 21.1%）。

(III) VRE

子計畫 5 國內 VRE 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析

在 1~9 月期間，血液培養的 VRE 總共收菌 134 株，其中有 5 株經再次檢測後 vancomycin 藥敏結果確認為感受性或重覆送菌，因此納入研究共 129 株。經鑑定確認 *E. faecium* 占 125 株 (96.9%)，其他 *E. faecalis*/*E. avium*/*E. casseliflavus*/*E. gallinarum* 各占 1 株，結果與 2012 年相似 (*E. faecium* 98.5%)。菌株收集來至 11 家醫院，與 2012 年醫院分佈的比較詳見 (圖 9)，同樣以北部家醫院收集 90 株 (69.8%) 最多，中區二家醫院收集 26 株 (20.2%) 次之，以及南區二家院收集 9 株 (7.0%) 及東區一家醫院 3 株 (2.3%)。其編號 B 醫院在 2013 年 VRE 菌株 27 株明顯高於 2012 年 16 株 ($p < 0.05$)。

1. 藥物敏感試驗性試驗與抗藥基因檢測結果分析

除一株 *E. casseliflavus* 為 *vanC2/C3* 基因型外，所有 VRE 菌株皆為 *van A* 基因型。113 株 *van A* 基因型 VRE 的最低抑菌濃度(MIC)檢測的結果，與 2012 年的比較結果如 (表 9)。VRE 對 vancomycin, teicoplanin, tigecycline, daptomycin 及 linezolid 等 5 種抗生素的抗藥性分別為 100%、97.3%、8.8%、0.9%、0%。對於後線的抗 VRE 藥物 linezolid、tigecycline、daptomycin 的 MIC₉₀ 依然在感受性範圍，但對 tigecycline、daptomycin 二種抗生素已有抗藥菌株，分別為 10 株及 1 株。*vanA* 基因型對 vancomycin 的 MIC 皆超過 >32 µg/mL，但對 teicoplanin 藥敏有 3 株為感受性(≤8 µg/mL)，即 *vanB* 表現型，只占 2.7%，分佈於北部三家醫院中。

2. 脈衝式電場膠體電泳(PFGE)分析和多重基因分析(MLST)比對

在 MLST 分型方面，111 株 VRE-fm 菌株經 eBURST program 分析結果如 (圖 10)。所有 VRE-fm 菌株 MLST 分型結果，共可分 13 型，皆屬於 clonal complex 17 (CC17)。其中以 ST17、ST78、ST341、ST414 型最多，各占 50 株 (45.0%)、22 株 (19.8%)、15 株 (13.5%)及 11 株 (9.9%); 其他各型分別占 1-3 株;另外我們也分別北區三家醫院發現了 4 株 (0.4%) 新的 ST 型。各種 ST 型在醫院的分佈如 (圖 11)，研究發現在北及南台灣主要流行為 ST17 型，而中台灣及東台灣為 ST78 型。2012 年與 2013

年菌株 ST 分型的比較(如圖 12)，發現 ST414 (22 株比 11 株)及 ST18 (11 株比 2 株， $p < 0.05$)型的數目是下降，而 ST78 (16 株比 23 株)及 ST341 (13 株比 15 株)是上升。VRE-fm 的脈衝式電場膠體電泳分析結果如(表 10)，我們共分析 109 株菌株，共分成 42 種 pulsotype 型。其中有 6 型主要的 pulsotype，包括 ST17 的 pulsotype 1~3 (與 2012 年的 ST17 三個主要的 pulsotype 相同)、ST78 的 pulsotype 20、ST341 的 pulsotype 25、及 ST414 的 pulsotype 30 (與 2012 年的 ST414 主要的 pulsotype 相同)。其中 pulsotype 1 主要在編號 B 醫院出現，pulsotype 20 及 25 主要在編號 G 醫院出現。其他 pulsotype 則無醫院或區域的群聚現象。

II. 院感措施介入對防治國內多重抗藥性細菌 (CRE) 之成效

子計畫 6 院感措施介入對防治 CRE 之成效評估

本計畫所收集 260 株 CRE 菌株於北、中、南、東等各部分佈情況顯示，北部 8 家醫院有 190 株 (CR/K. *pneumoniae* 168 株 & CR/E. *coli* 22 株)，中部 3 家醫院有 24 株 (CR/K. *pneumoniae* 20 株 & CR/E. *coli* 4 株)、南部 7 家醫院有 40 株 (CR/K. *pneumoniae* 30 株 & CR/E. *coli* 10 株)、東部 2 家醫院有 6 株 (CR/K. *pneumoniae* 2 株 & CR/E. *coli* 4 株)。檢體類別則以尿液 (92 株)、痰液 (74 株) 為最多，其次為血液 (27 株)、

膿（13株）、傷口分泌物（11株）、膽汁（7株）、腹水（7株）以及其他（29株）。

(1) 抗藥性基因檢測回饋機制

CRE 菌株之抗藥性基因檢測結果顯示，兩年度共檢出 4 株具 NDM-1 抗藥性基因之菌株（CR/*K. pneumoniae* 1 株、CR/*E. coli* 3 株），及 106 株含 KPC 抗藥性基因之菌株（CR/*K. pneumoniae* 104 株、CR/*E. coli* 2 株）；包括 2013 年度 2 株具 NDM-1 抗藥性基因之菌株（CR/*E. coli*），及 52 株（52 個案）含 KPC 抗藥性基因之菌株，均為 CR/*K. pneumoniae*。

這 52 株（52 個案）含 KPC 抗藥性基因之菌株，各分佈於北部 46 株（編號 A 醫院 7 株、B 醫院 23 株、C 醫院 2 株、D 醫院 11 株、F 醫院 3 株）、中部 3 株（編號 G 醫院 3 株）、南部 3 株（編號 I 醫院 2 株、K 醫院 1 株）。檢體類別以痰液（23 株）最多，其次為尿液（18 株）、膿（3 株）、血液（3 株）、關節液（1 株）、支氣管灌洗液（1 株）、傷口分泌物（1 株）、膽汁（1 株）、胸水（1 株）。

兩年度（截至 2013 年 9 月 30 日止）CRE 菌株之 KPC 抗藥性基因總檢出率為分別為 15.8%（54/341）及 20.0%（52/260）；而 2013 年度北部、中部、南部、東部之 KPC 抗藥性基因檢出率，則依序為 24.2%（46/190）、12.5%（3/24）、7.5%（3/40）、0%（0/6），整體而言，有逐年逐月升高趨勢且以北部居高，其次為中部。另，自 CR/*K.*

pneumoniae 檢出 KPC 抗藥性基因之總檢出率為 23.6% (52/220)，其分佈狀況為北部 27.4%(46/168)、中部 15.0% (3/20)、南部 10.0%(3/30)、東部 0% (0/2)；各醫院 CR/*K. pneumoniae* 檢出 KPC 抗藥性基因之比例，詳見表 11。截至 2013 年 9 月 30 日止，尚未發現 CR/*E. coli* 有檢出 KPC 抗藥性基因。

由本計畫所建置之各醫院抗藥性基因(如 KPC 檢出率)分析資料庫的資料顯示，發現 *K. pneumoniae* 中持續不斷感染 KPC 菌株的個案增加，而以 2013 年度跟去年(2012)同期比之 KPC 變化趨勢顯示，20 家計劃合作醫院共有 7 家(五家醫學中心及兩家區域醫院)出現警訊，比例達 35%，依據本計畫之回饋通知機制，均立即通知該院提醒儘早介入調查或轉知相關單位處理，藉以釐清是否有關連或為單一事件。各醫院 KPC 檢出率趨勢分析結果，分述如下：

編號 A 醫院，2012 年度 1~12 月之 KPC 檢出率為 10.7%(11/103)，而以 2013 年度 1~8 月份跟去年(2012 年度)同期比，2013 年度 KPC 檢出率 21.2% (7/33) 相較於 2012 年度 1~8 月份 KPC 檢出率 8.5% (8/94)，增加了 12.7%，且跟去年一樣高峰均出現在 1 月及 3 月，2013 年度另一次則出現於 5 月且檢出率增為 50.0%，6 月份檢出率降至 0%，但 7、8 月又有新增檢出 KPC 個案(檢出率分別 14.3 及 25.0%)；整體而言，雖然送驗菌株較去年的少，但 KPC 檢出率似乎漸有升高趨勢，如圖 13。

編號B醫院，於2012年度1~12月之KPC檢出率為13.5%(5/37)，平均每二到三個月檢出一株KPC。而2013年度KPC檢出率卻顯見有逐月升高的趨勢，每個月至少檢出三株(含)以上之KPC。以2013年度1~8月份跟去年(2012年度)同期比，2013年度KPC檢出率33.8%(23/68)相較於2012年度1~8月份KPC檢出率18.2%(4/22)，增加了15.6%，且1月到4月每單月均有持續檢出3~6株KPC菌株，有逐漸上升的趨勢，但經由醫院內部疫調並進行感染控制措施後，檢出率自5月份雖已降到14.3%；但6、7、8月份檢出率分別為25.0、33.3%、33.3%，相較於去年同期比，無論是送驗菌株數或檢出率似乎仍有增加趨勢，如圖 14。

編號C醫院，2012年度1~12月該院KPC個案為零檢出(0/16)，而2013年度3月及4月各檢出一例KPC個案，以2013年度1~8月份跟去年(2012年度)同期比，2013年度KPC檢出率14.3%(2/14)相較於2012年度1~8月份KPC檢出率0%(0/16)，增加了14.3%，目前5月~8月顯示無新增檢出個案，如圖 15。

編號D醫院，2012年度1~12月之KPC檢出率為35.2%(32/91)，該院自2月初檢出一例KPC個案後，由趨勢圖顯示個案數及檢出率逐月增加，高峰期自4、5月起延續到10月，而以10月份檢出率為最高達62.5%(5/8)，疑似有KPC群聚發生；經由醫院內部疫調並進行感染控制措施後，雖然直到2013年度1~5月份之檢出率跟去年(2012年度)

同期比仍有增加，但除了3月檢出率42.9% (3/7) 較之前(含去年)其他月份高外，自4月後檢出率已逐月下降，直到6月為零檢出，但7月份又新增檢出兩例，檢出率20.0% (2/10)，8月份目前KPC個案為零檢出；而2013年度1~8月份跟去年(2012年度)同期比，2013年度KPC檢出率20.0% (11/55) 相較於2012年度1~8月份KPC檢出率27.9% (17/61)，減少了7.9%。整體而言，無論是送驗菌株數或檢出率均有下降趨緩，如圖16。

編號F醫院，2012年度1~12月該院KPC檢出率為20%(1/5)，而以2013年度1~8月份跟去年(2012年度)同期比，2013年度KPC檢出率50.0% (3/6) 相較於2012年度1~8月份KPC檢出率0% (0/3)，增加了50.0%，雖然2013年度1、3、7月各檢出1例個案後，且4~6月均無新個案檢出，8月份亦無新檢出個案，所以無論是送驗菌株數或檢出率均比去年增加，如圖17。

編號G醫院，2012年度1~12月之KPC檢出率為8.7%(2/23)。2013年度1~8月份跟去年(2012年度)同期比，2013年度KPC檢出率23.1% (3/13) 相較於2012年度1~8月份KPC檢出率5.6% (1/18)，增加了17.5%。本年度繼6月份新增2例個案後【檢出率33.3% (2/6)】，7月份又新增檢出1例【檢出率100% (1/1)】。整體而言，雖然送驗菌株較去年的少，但KPC檢出率較去年的高，如圖18。

編號 I 醫院，2012 年度 1~12 月該院 KPC 個案為零檢出 (0/11) ，2013 年度 1~8 月份跟去年 (2012 年度) 同期比，2013 年度 KPC 檢出率 28.6% (2/7) 相較於 2012 年度 1~8 月份 KPC 檢出率 0% (0/9) ，增加了 28.6%，依據趨勢圖顯示，目前只有 2013 年 1、2 月有 KPC 個案檢出，但自 3 月至 8 月間沒有新增檢出陽性個案，如圖 19。

(2) KPC 個案分析

經由本計畫所收集的菌株中，2013 年度共發現有 52 個 KPC 個案，透過抗藥性基因檢測回饋機制與衛生主管機關合作，迅速蒐集 KPC 陽性個案之基本資料，但截至 9 月 30 日止僅收集有 42 例個案資料，進一步分析結果顯示，個案來源以醫院本身的病人居多共 33 例，佔 78.6%，其次是其他醫院轉入的，所佔比例分別為 21.4%。男、女性比例分為 69.0% (29 例)及 31.0% (13 例)；個案平均年齡為 79 ± 11 歲 (48~97 歲)，年齡層介於 70~90 歲(含以上)居多，共有 33 例佔 78.6%，其中 90 歲以上佔 19.0% (8 例)，80-89 歲佔 33.3% (14 例)，70-79 歲所佔的比例為 26.2% (11 例)；年齡層介於 50~69 歲也有 8 例佔 19.0%，50 歲以下佔 2.4% (1 例)。此次住院之前三個月曾經住院的有 26 例佔 61.9%，不曾住院的有 16 例佔 38.1%。平均住院天數為 61.6 ± 58.2 天 (0-286)，住院超過 30 天以上的有 27 例佔 64.3%，小於(含)30 天的有 15 例佔 35.7%。入院後平均檢出 KPC 天數為 31.1 ± 46.3 天(0-271)；入院日至採檢日天數(檢出 KPC)

部份，住院超過 30 天(含)以上才採檢並檢出 KPC 抗藥性基因的 CRE 菌株有 15 例佔 35.7%。其中住院小於 30 天(含)檢出 KPC 抗藥性基因的 CRE 菌株有 27 例佔 64.3%，31-60 天為 28.6% (12 例)、61-90 天為 2.4% (1 例)、91 天以上為 4.8% (2 例)。檢出 KPC 後至出院的天數，小於(含)30 天的有 26 例佔 61.9%，31-60 天為 21.4% (9 例)、61-90 天為 7.1% (3 例)、91 天以上為 9.5% (4 例)。病人動態部分，往生者有 12 例，病危出院的有 6 例，已出院者為 24 例；病危出院及出院後返回家的佔 54.8% (23 例)，返回人口密集機構者佔 11.9% (5 例)，未知病人動態的有 2 例，詳見表 12。

檢體類別以痰液的 42.9% 為最多，其次尿液 (38.1%)、膿、血液、關節液、支氣管灌洗液、傷口分泌物、膽汁等。菌種類型均為 CR/K. *pneumoniae* 有 42 株，其中含 1 株 CR/K. *pneumoniae* (ESBL)。另尚無檢出 CR/*Escherichia coli*。

個案疾病史部份，40 例具有疾病史佔 95.2%，2 例無疾病史(4.8%)。其中有 3 個 (含) 以上疾病診斷的病人佔 71.4% (30 例)，有 2 個疾病診斷的病人佔 16.7% (7 例)，有 1 個疾病診斷的病人佔 7.1% (3 例)，疾病類型詳見表 13 說明。在接受侵入性導管裝置的部份，有 39 個病人接受侵入性導管裝置，其中使用三種 (含) 以上侵入性裝置佔 47.6%，使用兩種侵入性裝置佔 31.0%，使用一種侵入性裝置佔 14.3%。侵入性導管

類型部分，使用鼻胃管的比​​例最高佔 37 例（88.1%），尿管次之佔 26 例（61.9%），其他依序為呼吸器佔 15 例（35.7%）、其它裝置（如，胸腔引流管、腹部引流管、動脈導管）佔 9 例（21.4%）、中央靜脈導管佔 7 例（16.7%）。KPC 個案在感染前一個月(CRE 檢出之前)，未曾使用抗生​​素的佔 19.0%（8 例），曾使用 3 天以上抗生​​素的佔 81.0%（34 例）；在使用種類的部份，同時使用三種(含)以上抗生​​素佔 52.4%（22 例），同時使用二種抗生​​素佔 23.8%（10 例），使用一種抗生​​素佔 4.8%（2 例）。KPC 個案感染後使用抗生​​素未超過 3 天以上者有 3 例（7.1%），感染後使用抗生​​素超過 3 天以上的則有 39 例佔 92.9%（其中同時使用三種(含)以上抗生​​素佔 47.6%，同時使用二種抗生​​素佔 26.2%，使用一種抗生​​素佔 19.0%）。

(3) CRE（含 NDM-1 或 KPC）感染管制措施之現況分析

對 carbapenem 具抗藥性腸道菌(CRE)感染管制措施（含 NDM-1&KPC）」之彙整分析：資料提供之流程，以計畫合作醫院提供該院現有之感控措施，透過電子郵件傳送至子計畫六執行單位（編號 J 醫院），資料提供之單位分別為感染控制委員會/感染控制中心（室）/感染科。主要目的了解機構內針對 CRE（含 NDM-1&KPC）執行感管措施（含採取之隔離防護措施、處置及隔離條件）之差異性。目前已匯整 20 家計畫合作醫院提供之 CRE 或 KPC 或 NDM-1 相關感染管制措施文件，並完

成初步歸類。

經初步差異性分析比較結果顯示，目前各家醫院對於此類抗藥性細菌的臨床照護，相同點是均採用標準措施(standard precaution)以及接觸隔離的防護措施，相異點是各家醫院的對於病人病室的隔離安置有所不同及解除隔離條件亦不一；病室的隔離安置部分，採就地隔離的有一家，大部分醫院均先以單人房或一般隔離病室為原則，或將有相同抗藥性菌株移生或感染之病人集中於同一房間 (cohort)。解除隔離條件部分，大多數醫院均以連續採集 3 次培養陰性才解除隔離 (肛門拭子或原感染部位)，但間隔時間不一，有些是一週後複驗且採檢間隔有一天、三天或一週等條件，有些是不同日即可，少部分醫院則以一次肛門拭子陰性結果為解除隔離條件。

整體而言，在預防 CRE (含 NDM-1 或 KPC) 感染管制措施部分，建立有書面感控措施政策為 95% (19/20)，未提供為 5% (1/20)。相關規範及實施要項均獲有院方支持。而醫護人員的教育與訓練之執行面，也有定期舉辦相關研討會，並與病人、家屬進行相關衛教。在審慎的使用抗微生物製劑部分，均有感染科醫師進行抗生素管理，但在此份文件上並無清楚載明該類病人使用抗生素的規範。在環境措施部分，大部份文件內容並未特別闡述清楚，且消毒劑類別跟使用濃度不一。

(4) 世界衛生組織 WHONET Software 及美國疾病管制中心 Epi Info

兩統計軟體評估

運用 WHONET(WHO)& Epi Info(CDC)之統計軟體，建置 CRE 個案資料庫，目前已登錄完成 2012 年 1~12 月及 2013 年 1~9 月之 CRE 個案菌株資料並進行各菌株抗生素藥敏試驗結果，多重抗藥性型態，醫院及社區群突發偵測的分析，將分析後的數據轉為 excel 檔，並可因應不同需求製作圖表來呈現分析結果。“CRE 抗生素藥敏試驗結果”及“KPC 菌株的動態趨勢”兩年度分析結果，2012 年度有來自 17 家醫院之 341 株 CRE 菌株，分別為 CR/*K. pneumoniae* 290 株及 CR/*Escherichia coli* 51 株。Carbapenem 類的抗生素對 CR/*K.p* 藥敏試驗結果：非感受性 (non susceptible) 比率 Ertapenem 95.5%、Imipenem 96.9%、Meropenem 72.4%、Doripenem 73.8%，顯示具高度抗藥性，而 Tigecycline 及 Colistin 對 CR/*K.p* 非感受性 (non susceptible) 比率則分別為 14.1%、16.9%。Carbapenem 類的抗生素對 CR/*E.coli* 的藥敏試驗結果，亦顯示有高度的抗藥性，其非感受性 (non susceptible) 比率分別是 Ertapenem 98.0%、Imipenem 90.0%、Meropenem 76.0%、Doripenem 68.0%，但對 Tigecycline 及 Colistin 其非感受性 (non susceptible) 比率分別為 8.0%、4.0%，(如圖 20)。2013 年度 (1~9 月) 總共收集 20 家醫院之 260 株 CRE 菌株，分別為 CR/*K. pneumoniae* 220 株及 CR/*Escherichia coli* 40 株。Carbapenem 類的抗生素

對 CR/*K.p* 藥敏試驗結果：非感受性 (non susceptible) 比率為 Ertapenem 88.6%、Imipenem 99.1%、Meropenem 79.5%、Doripenem 80%，顯示具高度抗藥性，而 Tigecycline 及 Colistin 對 CR/*K.p* 藥敏試驗結果：非感受性 (non susceptible) 比率為分別為 4.1%、20%。Carbapenem 類的抗生素對 CR/*E.coli* 的藥敏試驗結果：非感受性 (non susceptible) 比率分別是 Ertapenem 100%、Imipenem 97.5%、Meropenem 92.5%、Doripenem 77.5%，顯示具高度抗藥性，但對 Tigecycline 及 Colistin 其非感受性 (non susceptible) 比率分別為 0%、2.5% (如圖 21)。2012 年度各醫院 KPC 菌株的動態趨勢分析發現，均集中在北部醫院，特別是編號 D 醫院有高檢出量 (如圖 22)，而 2013 年度 (1~9 月) 也是以北部醫院居多，但以編號 B 醫院有較高的檢出量，編號 D 醫院 KPC 菌株檢出量相較於去年則有下降，詳見圖 23 所示。

III. 感染多重抗藥性細菌 (CRE) 病人之流行病學研究

子計畫 7 國內 CRE 感染病人的抗生素使用及其他相關醫療處置之流行病學資料分析

一、收案情況

2012 年度各醫院收案狀況如表 14，全部應收案組數為 442 組(各醫院

送菌總數)，扣除菌數與 MIC 不符合與重複送菌個案後應收組數為 344 組，扣除臨床不符合與部分個案無法找到對照組，總計共收集 666 份病歷資料可供分析，2013 年 1 月至 8 月份各醫院收案狀況如表 15，全部應收案組數為 267 組(各醫院送菌總數)，扣除菌數與 MIC 不符合與重複送菌個案後應收組數為 227 組，扣除臨床不符合，應收集 211 組，部分個案無法找到對照組，總計應收個案數為 408 分病歷，報告截止前所收集個案數為 373 份，總計完成率為 91.4%。

二、 感染症的分布情形

個案感染症分布情形如表 16，在 *E. coli* 最常見的感染源為泌尿道感染(24/74，32.4%)，其次為膽道的感染(15/74，20.3%)，在 *K. pneumoniae* 的部分，最常見的感染部位是呼吸道感染(167/439，38.0%)，其次是泌尿道感染(160/439，36.4%)。

三、 感染抗藥性菌株的危險因子分析

在單變相分析 carbapenem resistant *E. coli* 與 carbapenem sensitive *E. coli* 本研究發現，兩組病人在最近三個月再入院、慢性腎衰竭，近期手術，鼻胃管與尿管留置有明顯的不同(皆達統計學意義 $p < 0.05$)，兩組各慢性疾病，感染發生前的侵入性治療分布如表 17，進行多變相分析時，研究發現三個月內再度入院，慢性腎衰竭，導尿管留置，近期接受手術，與感染前住院

天數超過 14 天者為感染 carbapenem resistant 菌株的獨立危險因子(表 18)。

在單變相分析 carbapenem resistant *K. pneumoniae* 與 carbapenem sensitive *K. pneumoniae* 本研究發現、慢性呼吸衰竭，慢性腎衰竭，近期手術，半身癱瘓，心衰竭，使用類固醇，使用中央靜脈導管，使用氣切管，鼻胃管與尿管留置有明顯的不同(皆達統計學意義 $p < 0.05$)，兩組各慢性疾病，感染發生前的侵入性治療分布(如表 19)，進行多變相分析時，研究發現三個月內再度入院，住院大於 14 天，半身癱瘓，心衰竭，鼻胃管留置，使用類固醇為感染 carbapenem resistant 菌株的獨立危險因子。(表 20)

四、造成病人死亡的獨立危險因子分析

在死亡的危險因子分析部分，感染 *E. coli* 的病人中，是否感染抗藥性菌株(carbapenem resistant)，惡性腫瘤疾病，肝硬化、呼吸衰竭，使用類固醇，使用全靜脈營養，多重慢性疾病 charlson score >4 、SOFA score >7 ，APACHE II score >20 皆具有統計學上的意義，進行多變項迴歸分析後發現否感染抗藥性菌株(carbapenem resistant)，惡性腫瘤疾病，肝硬化，使用類固醇，使用全靜脈營養、SOFA score >7 ，APACHE II score >20 為獨立危險因子。(表 21)

在感染 *K. pneumoniae* 的病人中，是否感染抗藥性菌株(carbapenem resistant)、是否有使用類固醇、肝硬化、呼吸衰竭、多重慢性疾病 charlson

score >4、SOFA score >7 以及 APACHE II score >20 皆具有統計學上的意義，進行多變項迴歸分析後發現使用類固醇，感染抗藥性菌株、多重慢性疾病 charlson score >4、SOFA score >7 為獨立危險因子。(表 22)

(4) 討論

I. 菌株基因型變異現況與表現型之關聯性及抗藥性機轉

(I) CRE

子計畫 1-3 國內 CRE 之抗藥現況與分子流行病學及抗藥性機轉研究

具有 carbapenem 抗藥性的腸內菌(CRE)主要集中於和克雷白氏肺炎桿菌和大腸桿菌，CRE通常對所有的beta-lactam類藥物以及其他類的藥物都抗藥，對感染CRE的病人在治療上的選擇變得非常有限，且對一些藥物的抗藥性比率相較於去年度有上升的趨勢。在感控上感染CRE的病人通常被認為是一個傳播源，正確診斷出CRE的患者並採取及時隔離措施是預防擴散的一個重要步驟。

本研究利用基因分子分型實驗亦發現北區部分醫院有單一醫院內或不同醫院的小型 clonal 傳播，且在北區醫院有 KPC 之群聚爆發現象，可能因為各醫院之間病人的轉院頻繁所導致，因此嚴格執行此類病人的接觸隔離措施以及流行病學是必要的，以免此類抗藥性菌株在不同醫院的傳播導致臨床治療的困難。本研究也利用基因分子分型實驗進一步監控各醫院感控及是否有院內流行的爆發，以及了解台灣 CRE 菌株的多變性及地區移動性。

從今年的監測結果來看，*E. coli* 的抗藥性沒有 *K. pneumoniae* 嚴重。

NDM 雖有發現(2 株, *E. coli*)但沒有爆發的發生, OXA-48 也始終沒有被發現。在臺灣 CRE 的主要抗藥機制仍是外膜缺失合併 AmpC beta-lactamase。KPC 產生 *K. pneumoniae* 菌在今年有持續並較去年的情形略為加劇(2012 年 1-12 月共 52 株, 今年 1-8 月就有 52 株), 所以持續的監測和感染控制的介入是當務之急, 此外對 colistin 和 tigecycline 及 fosfomycin 等一些用於 CRE 或 ESBL 產生菌治療的後線藥物的抗藥性也將持續在我們的警惕監測之中。

(II) MRSA

子計畫 4 國內 MRSA 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析

在本研究中, 我們發現了 ST5、ST45、ST59、及 ST239 是臺灣地區主要的 MRSA 菌株分型, 這和先前國內許多的研究相符合。值得注意的是, 相較於 2012 年, ST45 菌株快速增加, 目前已成為台灣地區第三常見的臨床 MRSA 菌株分型, 這是否會對台灣地區 MRSA 的臨床感染症造成衝擊, 必須要小心觀察。

本研究計畫今年度收集到 6 株 vancomycin-intermediate *S. aureus*。雖然相較於來自美國得研究, VISA 所佔比率可能達 3.3%以上, 臺灣地區的

VISA 比率仍不高；但這 6 株 MRSA 來自北臺灣、中臺灣與南臺灣，相較於 2012 年(2 株 VISA)僅來自於北臺灣有地域上的差別。並且，除了 ST239 外，ST5 也出現 VISA 菌株；而來北臺灣的 VISA 菌株，來自同 1 家醫院，中臺灣的 VISA 菌株也來自同 1 家醫院；這些在在顯示，VISA 菌株似乎在台灣地區有逐步擴散開來的趨勢，並且有 intra-hospital spread 之跡象，十分值得注意。

本研究發現，對 daptomycin 抗藥的菌株有 14 株；相較於 2012 年 (1.1%)，有增加之趨勢。在這 14 株菌株當中，有 10 株屬於 ST239；而 ST5、ST45、與 ST59 也都有 daptomycin 抗藥性出現。其中有 5 株菌株來自同一家醫院，佔該醫院所提供之菌株的 11.6%，應該進一步注意是否有 intra-hospital spread 之狀況。本研究計畫主要收集對 vancomycin MIC > 1 mg/L 的 MRSA 菌株；對於這些高 vancomycin MIC 的菌株，daptomycin 是很重要的 alternative agents；而 6 株 VISA 菌株中，daptomycin 的感受性更只有 66.7%；一旦 daptomycin 的抗藥性在高 vancomycin MIC 的 MRSA 菌株上升到一定程度，將對台灣地區治療 MRSA 感染產生極大的衝擊。因此，持續監測 daptomycin 抗藥性的狀況，是十分的必要的。

今年度的菌株收集，僅發現一株 linezolid 抗藥的 MRSA (屬於 ST239)，並沒有比去年度 (2 株) 更多。

抗生素的感受性之南、北臺灣的差異，主要發生在 ciprofloxacin、clindamycin、tetracycline、和 trimethoprim/sulfamethoxazole 上；主要原因為南台灣地區有較多 ST59、ST45 菌株。然而由於本研究最終收集到、來自中臺灣與東臺灣的菌株實在過少，對於中臺灣與東臺灣的 MRSA 微生物學特性（藥物感受性、PVL 基因有無、MLST 分型等），無從真切瞭解。這在後續得研究中，應該加強改善。

在 *SCCmec* element types 的分布研究中，本研究結果均相似於先前的研究報告：不同的 MLST types，攜帶著不同的 *SCCmec* elements，並且有一定的一致性。我們得研究中，四大 sequence types 裡的 ST239 菌株，均帶著 type III 的 *SCCmec* element，ST5 均帶著 type II 的 *SCCmec* element，ST45 帶著 type IV 的 *SCCmec* element，而 ST59 則帶著 type IV 或 V 的 *SCCmec* element；這些結果均與先前臺灣地區的相關研究互相呼應、不相違背。

在 1990 年代中期後，有所謂的 community-associated MRSA (CA-MRSA) 的興起；研究者發現，不同於過往的、常在院內環境分離出來的 healthcare-associated MRSA (HA-MRSA)，CA-MRSA 常帶有 PVL 基因，帶著 type IV 或 V 的 *SCCmec* elements。也就是說，帶有 PVL 基因的 MRSA，經常都是帶著 type IV 或 V 的 *SCCmec* elements，這和我得研究結果也是相謀合的。而南臺灣的分離菌株有較高的比率為 PVL 陽性（2012

及 2013 均如此)，由於 PVL 為 virulent factor，應該注意南台灣的 MRSA 感染，是否造成比較嚴重的後果。

原本的研究構思中，相針對不同的 pulsotypes，分析其藥物感受性的分布、PVL 基因有無、SCCmec element 分型等，但由於 pulsotypes 的分型過多，造成在分析上面臨所謂 sparse data 的困境；因此在此報告中並未呈現此一部份的分析。

(III) VRE

子計畫 5 國內 VRE 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析

在此次收集 11 家醫院血流感染的 129 株 VRE 菌株中，北部地區收集菌株的比例 (69.8%)遠高於中南部 (7.0%~20.2%)，這與我們第一年(2012 年)及 TINS 的調查的結果相似，北台灣依舊是 VRE 相關感染最為嚴重地區。再以菌株鑑定的結果作分析，VRE 菌株主要還是 *E. faecium* (2012 年 VRE-fm 占 98.5%)。比較抗藥性結果，對 5 種抗生素的抗藥性並無明顯差異，VRE-fm 對 tigecycline 抗藥性 6.7%~8.8%的，與台灣 VRE-fm 對 tigecycline 的抗藥性的研究報告^{49,50}，感受性介於 90%~100%一致，應該持續監測 VRE-fm 對 tigecycline 的抗藥性情況。

在 MLST 分型的研究中，VRE-fm 菌株皆屬於 CC17 譜系，這與世界流

行的是一致⁵¹。CC17 的 VRE-fm 一般認為是高抗藥的菌株，對 ampicillin 及 ciprofloxacin 呈抗藥，這也增加 VRE 治療上的困難。

MLST 的分型結果發現，主要的 ST 型由 2012 年 ST17、ST414、ST78、ST341 改變為 2013 年的 ST17、ST78、ST341、ST414。除了 ST17 仍為最多的 ST 型外，ST414 的排序由與 2012 年的第二名下降為第四名，比較台大團隊的研究報告⁴⁹，血液培養菌株中 ST414 型在 2008 年出現，並在 2010 年成為主要流行的 ST 型(約 40%)，以及基隆長庚 2009 年的住院病人檢體的報告 ST414 是主要的分型⁶⁶，但在我們 2013 年的結果，ST414 的 VRE 菌株似乎已開始減少。MLST 及 PFGE 的結果分析，我們發現在 2012 年及 2013 年間，共同有 4 個 pulsotype 在台灣各醫院內及醫院間流行，包括 ST17 的 pulsotype 1-3 及 ST414 的 pulsotype 30(表 10)。其中 pulsotype 1(與 2012 年 pulsotype C 相似)在北台灣 3 家醫院皆有發現，8 株中有 5 株在編號 B 醫院發現，雖無月份集中，但 2013 年此醫院 VRE 的血流感染菌株數有明顯增加 ($p < 0.05$)，仍應提醒此醫院提高警覺。Pulsotype 20 及 pulsotype 25 在 2012 年只發現 4 株 (pulsotype H) 及 1 株(pulsotype I)，但在 2013 年已增加為 19 及 9 株，且有集中在編號 G 醫院，也應提醒此醫院提高警覺。

II. 院感措施介入對防治國內多重抗藥性細菌 (CRE) 之成效

子計畫 6 院感措施介入對防治 CRE 之成效評估

本研究計畫執行期間，截至 2013 年 9 月 30 日止，兩年度符合收菌標準的菌株為 601 株 CRE 菌株(*CR/K. pneumoniae* 510 株 & *CR/E. coli* 91 株)，菌株之分佈情況為北部 464 株，中部 47 株、南部 81 株、東部 9 株。因為本計畫“CRE 菌株收菌標準”有別於疾管署「法定傳染病監視通報系統」(以下簡稱法傳系統)之“CRE 抗藥性檢測之送驗條件”(a) 對 carbapenem 類抗生素(*doripenem*、*imipenem*、*meropenem* 或 *ertapenem* 等)任一種不具感受性(*nonsusceptible*)之腸道菌(*Enterobacteriaceae*)。且 (b) 對以下任一第三代頭孢子菌素類 (*third-generation cephalosporins*) 具有抗藥性: *ceftriaxone*, *cefotaxime*, and *ceftazidime*。所以相對計畫內所收集之菌株數與法傳系統接收的菌株數(含菌種類別)必定有所差異；更進一步發現 2013 年度本計畫參與醫院，同時也循法傳系統進行通報的有 5 家，其菌株數與抗藥性基因檢驗結果有落差，推論可能有 CRE 菌株重複，或遺漏送驗抗藥性菌株之情形發生。為減少檢驗資源浪費或 CRE 資訊的不完整，也為了讓全國 CRE 菌株抗藥性基因資料庫能臻完整，除維持原本每月定期將所發現的抗藥性基因陽性個案數、所有菌株提供給疾管署(感染管制及生物安全組與研究檢驗及疫苗研究中心)的作業模式外，更建立與疾管署的合作平台，定期分享討論檢驗資源，進

行資料比對與維護，期待能藉此更了解 CRE 相關抗藥性機制。另，為避免計畫檢出“KPC 發生醫院及其所在區域”與疾管署及其他醫療院所之認知有所差距，故 2013 年起調整醫院歸屬區域同疾管署，並重新計算菌株相關統計，所有資料均溯及 2012 年。

但我們同時也發現根據 2012 年衛生福利部資料庫顯示，全國尚有 350 多家醫療院所未參與本計畫及循法傳系統通報，其中不乏醫學中心、區域醫院及地區醫院（不含人口密集機構）。但因為目前抗藥性基因檢測係採志願通報，且醫院是否具有菌株鑑定及驗證抗藥性基因能力，得視醫院規模而異，這也是值得思考關注的方向。但無論如何透過此科技計畫方式擴大監視的範圍，來蒐集具抗藥性之特定菌株並透過專業實驗室進行抗藥性基因檢測，同時利用這些抗藥性菌株彼此間 PFGE 之分析結果，可以清楚得知該抗藥性菌株是否有跨院區之流行趨勢，儘早回饋檢視該 KPC 發生醫院之感控措施是否完善，同時介入調查，如此不僅能及時遏制該院內的流行，亦可降低院際間抗藥性基因流竄之風險。

601 株 CRE 菌株經過抗藥性基因檢測結果顯示：（一）抗藥基因檢測共檢出有 NDM-1 4 株（CR/*K. pneumoniae* 1 株、CR/*E.coli* 3 株），及 KPC 106 株（CR/*K. pneumoniae* 104 株、CR/*E.coli* 2 株）。其中北部編號 D 醫院於 2012 年及 2013 年不同月份各驗出有 NDM-1 菌株兩株，經該院分析比對個案無

相關聯，屬單一發生。KPC菌株經過定序和序列比對之後，除了2012年有株KPC-15外，其他都是KPC-2，且以基因變異度80%為區分依據，進行KPC陽性菌株間關聯性分析，發現在同一家醫院和不同家醫院間有同一clone存在的情形。(二)兩年度(截至2013年9月30日止)CRE菌株之KPC抗藥性基因檢出率為分別為15.8%(54/341)及20.0%(52/260)，整體而言，有逐年逐月升高趨勢且以北部居高，其次為中部。進一步發現 *K. pneumoniae* 中持續不斷感染KPC菌株的個案增加，而以2013年度跟去年(2012)同期比之KPC變化趨勢顯示，20家計劃合作醫院共有7家(五家醫學中心及兩家區域醫院)出現警訊，比例達35%。依據本計畫之回饋通知機制，且經院方積極評估調查且介入處置後，均呈現有下降趨勢或零檢出，顯見成效。

在抗藥性基因檢測的部分，由於絕大部分KPC都屬於同一個cluster，且KPC基因在transposon上，它的快速傳播能力不容輕視，所以透過「抗藥性基因檢測回饋機制」，一檢出KPC陽性菌株時，立即通知KPC個案發生醫院，且與疾病管制署合作，同時介入調查，確實能減緩醫院內抗藥性基因的流行，及降低院際間抗藥性基因流竄之風險。

以2013年度所匯集的KPC發生個案基本資料分析結果顯示，我們發現個案來源跟2012年度一樣仍是以來自於醫院本身的病人居多，這些個案在此次住院之前三個月不曾住院的有16例佔38.1%；平均年齡為79±

11歲相較於2012年度的 74 ± 12 歲，KPC個案的年齡層更顯有偏高情況，且90歲以上者就有8位達19.0%，平均住院天數為 61.6 ± 58.2 天亦較去年長。這些個案在疾病史部份，40例具有疾病史佔95.2%，其中有3個（含）以上疾病診斷的病人即佔了71.4%(30例)；且使用兩種（含以上）侵入性裝置的比例就佔了84.6%，比去年的71.4%還高；KPC個案無論是感染前一個月(CRE檢出之前)或感染後使用抗生素超過3天以上的比例均偏高，分別為81.0%及92.9%；且使用種類超過三種(含)以上抗生素的比例亦高，分別為52.4.0%及47.6%。大部分個案都是住院後約4-30天期間內才送驗菌株(45.2%)，所以相對入院後平均 31.1 ± 46.3 (0-271)才有可能被驗出KPC，這就有可能解釋為何這些KPC個案來源為醫院本身的病人居多了，這樣的結果跟去年是一樣的。

所以如果沒能針對一些特定族群（老人、使用多種侵入性裝置者或長期同時使用多種類抗生素）或比較與陽性個案居住於同一病室（高風險區）期間的病人之彼此間重疊性或時序上關連性調查，來進行主動篩檢、加強環境清潔及介入相關照護的感染管制措施等防治政策，則極易有可能造成感染擴散導致瀕臨群突發之風險。另，這些KPC個案出院後的動態追蹤並未能為醫療人員所掌握或記錄交班，本研究限制並未能追蹤帶有這類抗藥性細菌的病人的來源與動向，因此急性照護機構及慢性養護機構之間，是否會因著病人轉移的常態，而可能造成機構間此類抗

藥性菌株跨院區傳播成為潛在的散播源是值得更進一步探討的。

反觀，計劃合作醫院所提供之 CRE 感染管制措施文件中，並未特別針對具抗藥性基因菌株的感染管制措施特別處置；對於 CRE 抗藥性細菌的臨床照護，相同點是均採用標準措施以及接觸隔離的防護措施；相異點是各家醫院的對於病人病室的隔離安置有所不同及解除隔離條件亦不一。以臨床實務面而言，隔離病室的差額費用及隔離防護用具的耗費，因涉及醫院行政管理面及受限於非健保支付的範圍，再加上受到床位需求壓力的影響，可能也會影響解除隔離條件之設定執行。這些因素是否會影響病人隔離照護的落實面，亦是值得更進一步的了解。但因為參與本計劃的 12 家醫學中心中就有 5 家（編號 B 醫院、D 醫院、G 醫院、J 醫院、O 醫院）自 2013 年開始成為抗生素管理計畫示範中心，並需執行抗生素管理及多重抗藥性細菌防治相關之感染管制措施，其中兩項分別為①必須針對入住加護病房病人執行 VRE、CRE、CRAB 及 MRSA 之檢測（任一或全部），並採取必要之接觸隔離感控措施；②針對環境清潔人員執行病房(室)內環境清消之標準作業流程（含加護病房、一般病房），製作數位教學影片、終期消毒之查核清單，並訂定相關之稽核機制，所以上述所提到若干會影響病人隔離照護實務操作的因素，或許會有具體改善。

而機構內抗藥性細菌發生的趨勢，亦為醫院常規監測的項目之一，但各機構間抗藥性細菌的轉移就很難被偵測到，依據本研究所建置於 WHONET Software 及 Epi Info 兩種免費可單機作業的統計軟體，持續累積近兩年資料量的分析顯示，2013 年度 CRE 菌株數仍以北部醫院送菌率最高達 87.5% (7/8 家)，其次為南部 85.7% (6/7 家)、中部 66.7% (2/3 家)、東部 50.0% (1/2 家)，且都集中於中、大型的醫療機構，這可能受到醫院規模、醫院體系、人力、醫療環境資源及病人嚴重度等因素而有所差異；相對亦有可能影響到 KPC 抗藥性基因菌株分布區域的差異性，故仍需長期且持續進行抗藥性細菌的監測，並累積有足夠且穩定的數據才能更進一步的探討分析達即時偵測群突發 (Outbreak) 之警示。

而目前藉由『抗藥性基因檢測回饋機制』，每月通知 KPC 陽性檢測結果給發生醫院，同時提供『本年度當月跟去年同期比之趨勢圖及分析』給該院參考，以利該院針對異常進行調查並實施感染管制介入措施，藉以釐清是否有關連或為單一事件。但本研究限制是目前為單向回饋，僅能就趨勢圖變化，來呈現該院 CRE/KPC 個案逐月增減的現象，來推估該院執行感控措施介入成效，無法具體追蹤該院實際執行狀況。

III. 感染多重抗藥性細菌 (CRE) 病人之流行病學研究

子計畫 7 國內 CRE 感染病人的抗生素使用及其他相關醫療處置之流行病學資料分析

本計畫收案發現收集病例數的部分，今年同期與去年同期比較數量較少是因為今年我們加入了較多的排除條件，對於在培養後 48 小時內未住院的病人不進行資料的收集，因此今年的可供收集的個案數相對 2012 年而言有減少的趨勢，在收集病歷資料的部分由於 2013 年有新增醫院，由於本研究是屬於病例回溯的收集資料，因此我們也發現每家醫院收集資料的品質與速度不同，這與各醫院是否能找到人力來進行此部分的資料收集有很大的關聯，有了這兩年的合作經驗，對於未來要進行的前瞻性觀察研究我們將選擇較有人力可以負擔未來研究醫院當作繼續合作的對象，以確保研究的品質。在感染抗藥性 *E. coli* 的部分，研究發現三個月內再度入院，慢性腎衰竭，導尿管留置，近期接受手術，與感染前住院天數超過 14 天者為感染 carbapenem resistant 菌株的獨立危險因子，這與我們在今年的期中報告所發現的危險因子相似，在感染抗藥性 *K. pneumoniae* 的部分，我們發現三個月內再度入院，住院大於 14 天，半身癱瘓，心衰竭，鼻胃管留置，使用類固醇為感染 carbapenem resistant 菌株的獨立危險因子。

在培養發生後的 14 天，病人的臨床情況在 CR-*E. coli* 感染的部分有 22.5% (16/71) 的病人死亡，在 CR-*K. p.* 感染的部分有 20% (82/410) 的病人死亡，在培養後 30 天病人的臨床情況在 CR-*E. coli* 的部分有 33.8% (24/71) 的病人死亡；而在 CR-*K. p.* 的病人則是有 30.6% (125/409) 的病人死亡，而在出院總死亡率的部分 CR-*E. coli* 的病人為 53.3% 而 CR-*K. p.* 為 40.2%，由此可見感染抗藥性菌株的死亡率很高而且 2/3 的死亡發生在感染後的 2 周內。

在 *E. coli* 的感染部分，我們發現在感染抗藥性 *E. coli*、有惡性腫瘤、使用全靜脈營養、SOFA >7 與 APACHE II >20 為影響死亡的獨立危險因子而在 *K. pneumoniae* 感染的部分則是感染抗藥性菌株、使用類固醇、Charlson >4、SOFA >7 與 APACHE II >20 為影響死亡的獨立危險因子，研究設計原先將病人的來源區分為社區性、院內與醫療照顧相關機構，然而在研究的過程當中我們發現國內的慢性安養機構的種類繁多，有的安養中心的住民行動自如，有的安養中心的住民為長期臥床，有的病人雖住家裡但可能因為治療的關係(例如洗腎)經常往返醫院與住家，因此很難單用醫療照顧相關機構將這類病人放在一起，而且本研究為回溯性的收集資料，有時從病歷的基本資料很難判斷病人究竟是住在家裡還是安養中心，因此會有資料遺漏的現象，且本研究的重點在於因急性問題住院的病人，因此無法分析安養機構是否在 CRE 的感染占有重要角色。

由於本研究的設計為一多中心回溯性的研究，因此對於抗生素的種類對預後的影響很難由這個研究去得到有效的結論，同時各家醫院選擇的治療藥物不同，我們是由培養的結果去找病人，而收集的檢體是全部的檢體，因此會有移生菌或是真正感染的病原菌的問題產生，此現象在 carbapenem resistant *K. p.* 更為嚴重(泌尿道感染與呼吸道感染的比率為 $327/439=74.5\%$)，所以在抗生素使用的部分僅用體外抗生素敏感性試驗的結果來區分是否為合理使用抗生素較難反映實際臨床治療病人的情況，因此在未來的研究中我們希望能以前瞻性的方式收集較為明確的感染，因此在明年的下半年度我們將把個案限制在有血流感染（可以是原發性的血流感染也可以是續發性的血流感染）或是無菌技術取得的感染檢體(例如開刀)，以降低 Colonization 病人的干擾。

(5) 結論與建議

I. 菌株基因型變異現況與表現型之關聯性及抗藥性機轉

(I) CRE

子計畫 1-3 國內 CRE 之抗藥現況與分子流行病學及抗藥性機轉研究

在本次的流行病學調查中，我們發現當菌株對 carbapenems 有抗藥性時，對其他類的抗生素的抗藥性比例也相當的高(包括第三代的 cephalosporin, quinolone 類 和 cephamycins 類)。這一現象在克雷白氏肺炎桿菌和大腸桿菌中有共同性。在 2013 年度 1-8 月中克雷白氏肺炎桿菌對第四代 cephalosporin 的抗藥性比例接近 81%，而在大腸桿菌中相較於 2012 年度 1-8 月的 48%，在 2013 年度抗藥性上升至 60%。克雷白氏肺炎桿菌和大腸桿菌對 trimethoprim/sulfonamide 的抗藥性也相當嚴重，分別達到 97.27%和 100%相較於 2012 年度 1-8 月的 78.7% 和 69.7%有明顯的增加。在對 carbapenem 的抗藥性，在 2012 年度 1-8 月中克雷白氏肺炎桿菌明顯比大腸桿菌來的嚴重，但在 2013 年度 1-8 月中大腸桿菌的抗藥性比克雷白氏肺炎桿菌還要嚴重。2013 年度 1-8 月中克雷白氏肺炎桿菌中對 imipenem, meropenem 和 doripenem 三者的抗藥性比例分別為 79.5%、65% 和 70%亦比 2012 年度的 63.80%、58.33%和 53.70%有大幅的上升。而大腸桿菌對三者的抗藥性比例則分別為 82.5%、65%和 52.5%

相較 2012 年度 1-8 月之 63.64%、51.52%和 36.36%抗藥性亦有明顯上升。另外，在 2012 年度 1-8 月中這兩種菌對 colistin 及 tigecycline 的抗藥性比例皆低，但 2013 年度 1-8 月中克雷白氏肺炎桿菌的 tigecycline 抗藥性約有 4%。

利用基因分子分型實驗亦發現還是醫院內及醫院間的小型 clone 傳播，由於目前醫院之間病人的轉院頻繁，因此嚴格執行此類病人的接觸隔離措施是必要的，以免此類抗藥性菌株在不同醫院的傳播導致臨床治療的困難。

(II) MRSA

子計畫 4 國內 MRSA 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析

經由本研究，我們歸納出下列幾點結論與建議：

1. VISA 菌株確實存在於台灣地區，雖然目前其盛行率仍不高，以血液分離菌株且高 vancomycin MIC 族群而言，只有 2.1%。然而這樣的菌株來自北台灣、中台灣與南台灣，且絕大部分(5/6)屬於同一個 sequence types (ST239)，似乎有 horizontal spread 的現象；而北台灣、中台灣的 VISA 菌株，均源自 1 家醫院，此無法排除 intra-hospital spread 之可能，這些都值得持續注意與監測。

2. 對於 linezolid、daptomycin 這兩個新一代的抗 MRSA 抗生素來說，本研究證實血液分離 MRSA 菌株對其感受性仍高，但是抗藥性卻是存在的。特別是對 daptomycin 的抗藥性升高至 4.8%，明顯高於 2012 年（1.1%），並且應進一步釐清是否有 intra-hospital spread 之狀況。這樣的抗藥性一旦散播開來之後，對臨床的衝擊不可謂不大，因此後續的監測與抗藥性機轉的研究，是必須進行的。
3. ST239、ST59、ST45、與 ST5 是分離自血液的 MRSA 菌株最主要的 sequence types。ST45 為 new emerging 的 sequence type，其對 MRSA 臨床感染症是否有所衝擊，是否會增加臨床感染的 incidence，值得我們進一步探討。
4. 在來自美國的報告中，CA-MRSA 對 clindamycin 的感受極高，因而 clindamycin 被推薦為治療藥物選擇之一。台灣地區的 CA-MRSA 菌株，主要為 ST59 及 ST45；根據本計畫的研究成果，ST59 菌株對 clindamycin 的感受性偏低（10.6%），僅 ST45 菌株之感受性較高（80.0%）；因此，台灣地區並不適合以 clindamycin 作為 anti-CA-MRSA 的 empirical therapy。
5. 雖然研究中的 MRSA 菌株對各種抗生素的感受性並無區域性上的差別，但以 MLST 進行分子分型則發現現南、北台灣在分子分型的結果

上有明顯的不同：南台灣的 ST239 比率較低，ST59 則比率較高；這也連帶造成北台灣與南台灣菌株在某些抗生素感受性、PVL 的陽性率上的不同。

6. 研究中的 MRSA 菌株，帶有 PVL 基因的均來自於帶著 SCCmec type IV 或 V 的 MRSA。

(III) VRE

子計畫 5 國內 VRE 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析

在此次收集 11 家醫院血流感染的 129 株 VRE 菌株中，顯示北台灣是 VRE 相關感染較為嚴重地區。菌株鑑定的結果 96.9% 皆為 *E. faecium*，由上可知 VRE 菌株增加是以 VRE-fm 為主。有研究顯示這類細菌的出現可能與醫院中抗生素(如 imipenem 或 clindamycin 等)的使用增加有關²²，如果有適當的感染管制措施介入，將有助於此類細菌的控制。VRE-fm 的藥物敏感試驗性試驗與抗藥基因檢測結果，以高抗藥型的 *vanA* 基因型-*vanA* 表現型的 VRE 為主，占 97.3%，*vanA* 基因型-*vanB* 表現型的 VRE 菌株，只占 3 株。在這些 Efm-VRE 細菌中，tigecycline，daptomycin 及 linezolid 等抗生素，還有 92-100% 的感受性，應該是治療此菌感染的首選藥物。但對 tigecycline 及 daptomycin 已開始產生抗藥性，是一警訊，

應小心的用藥以減少此類抗藥性的增加。在 MLST 分型的研究中，VRE-fm 菌株主要是屬於 CC17 譜系，ST17 及 ST78 是最多的 ST 型，並比對 PFGE 分析的結果，有 6 個 pulsotype 在台灣各醫院內及醫院間流行，其中 pulsotype 1 及 pulsotype 20、25 分別主要在編號 B、G 醫院出現，應提醒醫院提高警覺檢視，是否有群聚產生。透過此分子流行病學的調查及抗藥性狀態的分析，對台灣 VRE 的菌株特性已有初步的了認識，未來應持續收集菌株納入研究，讓我們持續監控本土 vancomycin 抗藥性腸球菌的傳播狀況及菌株關聯性，以協助擬定最佳之感染控制措施及治療方針。

II. 院感措施介入對防治國內多重抗藥性細菌（CRE）之成效

子計畫 6 院感措施介入對防治 CRE 之成效評估

在本次的抗藥性細菌的監測與感染管制措施的調查中，我們發現抗藥性細菌的監測必需更要受到重視，才能夠及時發現並儘速採取介入措施。

醫院自身必須建立有抗藥性細菌的監測系統，且落實執行監測作業外，而除了期待全面透過法傳系統檢送菌株以作抗藥性基因檢測外，另依一方面，應可尋求區域內機構間的合作，特別是有實驗室限制能力的

醫院（含人口密集機構）更應主動加入，建立全面化的監測資訊聯繫網絡，藉以提高監測的時效性及完整性，俾利掌握抗藥性細菌（基因）變化的流行病學資訊，特別是當醫院發生有群突發事件可為介入處置措施之參考。依據我們的研究資料顯示，兩年度（截至 2013 年 9 月 30 日止）CRE 菌株（CR/*K. pneumoniae* & CR/*E. coli*）之 KPC 抗藥性基因總檢出率為分別為 15.8%（54/341）及 20.0%（52/260），高於黃等人發表之 2011 年 KPC 群突發調查報告的 CRE 菌株（CR/*K. pneumoniae* & CR/*E. coli*）檢出 KPC 抗藥性基因之總檢出率為 4.2%（27/650）⁵²，腸道菌（*Enterobacteriaceae*），對 carbapenem 類抗生素產生抗藥性的比例確實日益增加，因此更需要高度關注，同時期待完整收集國內菌株藉以了解相關抗藥性機制，為政府制定相關政策之參考。

而醫院即使收到抗藥性檢測的陽性報告時，如無相關作為，並依規定進行感染管制措施時，或無法針對來自高風險單位的病人進行主動隔離篩檢，恐難避免有感染原擴散之風險；加上依據之前調查各醫院對於 CRE 感染管制措施的執行上顯示有差異，故建立一套依據行政管理、環境控制及醫療照護等不同面向且具有設計良好的實驗、臨床或流行病學研究的強力支持之組合式（bundle）多重抗藥性細菌感控措施是有必要的，而此措施亦應包括加強抗生素的合理使用，亦即推動抗生素管理計畫以減緩細菌抗藥性的產生。

III. 感染多重抗藥性細菌 (CRE) 病人之流行病學研究

子計畫 7 國內 CRE 感染病人的抗生素使用及其他相關醫療處置之流行病學資料分析

在這兩年的追蹤研究當中我們發現 CRE 在各醫院的發生次數有增加的趨勢，而過去三個月曾住院的病人，鼻胃管放置的病人，與住院超過 14 天的病人為感染此類菌株的重要危險因子，過去我們的感染管制政策是當發現有抗藥性菌株時才開始進行隔離，然而較好的方式應該是對所有的病人進行主動隔離與監測，在目前資源有限的狀況下要對所有的病人進行主動隔離等確認不帶抗藥性菌株時才解除隔離將耗費大量的資源，因此本研究找出感染 CRE 的重要危險因子，在 CRE 發生率高的地方可以建議針對風險較高的病人進行主動監測，另如過去三個月曾住院的病人，鼻胃管放置的病人，與住院超過 14 天的病人等以降低 CRE 傳播的風險。

(6) 計畫重要研究成果及具體建議

I. 重要研究成果

(I) CRE

子計畫 1-3 國內 CRE 之抗藥現況與分子流行病學及抗藥性機轉研究

本計畫的重要研究成果是明瞭臺灣 CRE 的抗藥現況和病人的感染來源。臺灣 CRE 的抗藥機制與美國不同，絕大部分不是由 carbapenemase 造成(雖然也有兩個主要的 carbapenemase IMP-8 和 VIM-1)，主要是由 ESBL/AmpC cephalosporinase 合併外膜的缺失引起的 carbapenem ”抗藥”。雖然抗藥，但 MIC 尚在低的水準，如果以 2010 年 CLSI 的標準來看的話，對 carbapenem 仍屬於敏感的範圍，所以治療上除 ertapenem 之外的其他 carbapenem 是不是完全不能使用，然而實務上醫院的臨床微生物室無法測定每一種 carbapenem 的抗藥性，因此需要有這研究以瞭解這種抗藥性菌株對各種 carbapenem 的抗藥性流行病學。另外這些菌對 colistin 和 tigecycline 的抗藥性比率低，是治療上的另一個選擇。從本研究各醫院菌株的分型結果來看，北區醫院內部都沒有大 outbreak 的發生，然確有少數病人有相同 clone，有些許北部醫院有相同的 clone，應為病人轉院所導致。從序列型別(Sequence type; ST)來看，雖然 ST11 有相當的比例，但因為 ST 顯示的是他們是否為同一來源或演化上非常的

接近。

子計畫 6 院感措施介入對防治 CRE 之成效評估

經由此研究結果我們發現 CRE 菌株檢出與否（含抗藥性基因），受限於各醫院臨床實驗室之檢測能力；同時抗藥性菌株檢出資訊回饋給臨床單位後之感染管制措施介入處置的差異。

重要發現一，是區域級以上的醫院，普遍均具有檢測 CRE 菌株的能力，但地區醫院或長期照護機構則卻未必有該檢測能力，可能仰賴外包檢驗機構，這樣的結果相對會影響到 CRE 菌株檢出資訊回饋給各醫院臨床單位之時效性。

重要發現二，區域級以上的醫院，大部份均建立有多重抗藥性菌株之感染管制措施，少部分醫院有特別針對 CRE(含抗藥性基因)或 NDM-1 另行規範。臨床執行面之落實性及嚴謹度受限於各醫院的行政管理及成本因素而有差異，特別是在隔離病室的安排、隔離時間及解除隔離條件等方面。

重要發現三，針對帶有 CRE 菌株的病人來源與動態，含追蹤轉介之執行，各醫院並未有特殊關注。本研究發現住院一段時間後才檢出 CRE 菌株的病人佔多數，該病人但是否來自其他醫院或長期照護機構轉入之病人，則無法得知；同時病人出院之後的動態及追蹤交班，亦無法得知。

子計畫 7 國內 CRE 感染病人的抗生素使用及其他相關醫療處置之流行病學資料分析

病人感染抗藥性腸內菌的死亡率極高，研究發現三個月內再度入院，慢性腎衰竭，導尿管留置，近期接受手術，與感染前住院天數超過 14 天者為感染 carbapenem resistant *E. coli* 菌株的獨立危險因子，在感染抗藥性 *K. pneumoniae* 的部分，我們發現三個月內再度入院，住院大於 14 天，半身癱瘓，心衰竭，鼻胃管留置，使用類固醇為感染 carbapenem resistant 菌株的獨立危險因子；在感染抗藥性 *E. coli*、有惡性腫瘤、使用全靜脈營養、SOFA >7 與 APACHE II >20 為影響死亡的獨立危險因子而在 *K. pneumoniae* 感染的部分則是感染抗藥性菌株、使用類固醇、Charlson >4、SOFA >7 與 APACHE II >20 為影響死亡的獨立危險因子。

(II) MRSA

子計畫 4 國內 MRSA 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析

1. 台灣地區的血液分離 MRSA with high vancomycin MIC (>1mg/L) 菌株，有 2.1% 的 vancomycin non-susceptible 菌株；此比率雖低，但比起 2012 年高；且分布區域由 2012 年的北台灣，擴大為 2013 年的北、中、南台灣，值得警惕與持續監測。

2. 對各種新抗生素的感受性，南、北台灣差異不大；但南台灣菌株對 ciprofloxacin、clindamycin、tetracycline、trimethoprim/sulfamethoxazole 有較高的感受性。
3. ST5，ST45，ST59，ST239 為最主要的菌株分型。
4. 對 linezolid 與 daptomycin 等新一代的抗 MRSA 抗生素，已有抗藥性菌株出現；並且對 daptomycin 的抗藥性比率，相較於 2012 年的 1.1%，有明顯增加的趨勢（4.8%）；而初步資料更擔心會有所謂 intra-hospital spread 的狀況，必須持續監測。
5. vancomycin 的 non-susceptibility，與 linezolid 及 daptomycin 的抗藥性，主要出現在某些特定的 sequence types（ST5，ST59，ST239）中。

(III) VRE

子計畫 5 國內 VRE 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析

1. 北台灣是 VRE 相關感染較為嚴重地區。111 株 VRE 菌株鑑定的結果 96.9% 皆為 *E. faecium*，由上可知 VRE 菌株增加是以 Efm-VRE 為主。
2. Efm-VRE 的藥物敏感試驗性試驗與抗藥基因檢測結果，以高抗藥型

的 *vanA* 基因型-VanA 表現型的 VRE 為主，占 97.3%，*vanB* 基因型或 *vanA* 基因型-VanB 表現型的 VRE 菌株，分別各占 3 株。在這些 Efm-VRE 細菌中，tigecycline，daptomycin 及 linezolid 等抗生素，還有 92-100% 的感受性，應該是治療此菌感染的首選藥物。但對 tigecycline 及 daptomycin 已開始產生抗藥性，是一警訊，應小心的用藥以減少此類抗藥性的增加。

3. 在 MLST 分型的研究中，VRE-fm 菌株主要是屬於 CC17 譜系，ST17 及 ST78 是最多的 ST 型，並比對 PFGE 分析的結果，有 6 個 pulsotype 在臺灣各醫院內及醫院間流行，其中 pulsotype 1 及 pulsotype 20、25 分別主要在編號 B、G 醫院出現，應提醒醫院提高警覺檢視，是否有群聚產生。

II. 具體建議

(I) 防治 CRE

(i) 實驗室部份

1. 由於 *K. pneumoniae* ST11 和 *E. coli* ST43 目前在臺灣已出現流行情形，我們建議加強實驗室檢查，確保每個醫院的臨床實驗室都有一套合適的方法來偵測 CRE。醫院內包括實驗室、感控部門、藥局及所有醫護人員對 CRE 的認知有一個標準的定義，一旦 CRE 陽性患者出現的時

候，能夠及時相互配合提供病人照護。

2. 不管是 AmpC 基因和 ESBL 基因通過質粒傳播造成在臺灣腸內菌的廣泛存在，外加外膜的缺失導致 cabapenem 的抗藥，還是醫院內及醫院間的小型 clonal 傳播，由於目前醫院之間病人的轉院頻繁，因此嚴格執行此類病人的接觸隔離措施是必要的，以免此類抗藥性菌株在不同醫院的傳播導致臨床治療的困難
3. 從 MIC 結果可以知道目前剛在臺灣上市的新一代 carbapenem 類藥物 doripenem，其抗藥性比例已達到 7 成，因此這些菌株對 imipenem, meropenem 及 doripenem 的抗藥機轉可能有部分相同，而 tigecycline 的抗藥已經出現，本研究顯示當臨床面臨此類抗藥性細菌感染時，選擇用藥更要謹慎。在 *E. coli* 部分，較為特別的是 amikacin 的感受性仍有 91%，顯示本藥物可能可以在臨床上與其他藥物合併使用，以增加治療的成功率。

(ii) 感染控制部份

基於上述之研究結果結論與建議，對於感染控制部份，我們提供以下幾點建議：

1. 應建立醫院及機構內抗藥性細菌全面化的監測資訊聯繫網絡

尋求區域內機構間的合作，提昇或補足醫院的臨床實驗室偵測 CRE 的

能力，包括對 CRE 的標準定義的認知，針對感控部門、實驗室、藥局及所有醫護人員等進行教育訓練，期望能了解並掌握抗藥性基因的流行病學資訊，一旦發生異常可及時介入處置，這同時必須有衛生主管機關的合作協助及提供必要資源。

2. 故建立一套標準化的多重抗藥性細菌感控措施供遵循。

依據行政管理、環境控制及醫療照護等不同面向且具有設計良好的實驗、臨床或流行病學研究的強力支持之組合式 (bundle) 多重抗藥性細菌感控措施病人的處置，此措施亦應包括加強抗生素的合理使用，亦即推動抗生素管理計畫以減緩細菌抗藥性的產生。

3. 高危險族群之主動篩檢

主動性監測(active surveillance testing, AST)目的是為了發現那些潛在的可能獲得並傳播 CRE 的人。醫院如能針對可能攜帶有抗藥性細菌之高危險族群，進行抗藥性細菌的主動篩檢，同時在結果未被報告之前，對疑似個案應先採取合宜之隔離措施，將有助於其他人遭受感染的機率。

4. CRE 發生時，機構內及機構間的聯絡

當 CRE 被偵測到或 AST 的培養是陽性的時候，無論是機構內病人的轉床運送或檢查，之前均要確實將該訊息及應注意事項交班給對方；或 CRE 的病人要被移送至另外一個健康照護機構，接受機構必須被明確告知。

5. 持續的教育訓練

CRE 的預防和控制策略的教育訓練。對於各類醫療機構的工作人員須定及給予關於 CRE 的預防和控制策略的教育訓練，探視者必須穿手術衣、戴手套和口罩，進入和離開隔離病房之前都要洗手，避免在病房內漫步和進入別的病人房間。

(iii) 病人與衛生政策方面

1. 在尚未有新的有效抗生素問世前，嚴格的執行院內的感染措施與各醫院的 carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* 是有其必要性，因此對於此類的病人除了在醫院內需要嚴格的執行接觸隔離照顧之外，在慢性養護機構也需要注意其對此類病人的照顧是否可能造成此類菌株在慢性養護機構的擴散。
2. 國人的就醫觀念認為在醫院治療的時間越久病人的健康狀況會更理想，尤其國人常誤認為體力尚未恢復為住院的適應症之一，往往臨床醫師病人病情控制後，討論合適出院時間時常常會有很大的阻力，而國人也較不喜歡將治療延續到家中，降低病人的住院天數，然而本研究提出一個客觀的研究結果顯示當住院天數超過三週，病人得到 carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* 的機會就會增加，研究也指出半身癱瘓的病人，或是需要更換鼻胃管以及尿管的病人也是容易感染 carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* 的危險族群，而目前人口老

化，此類病人又是佔住院病人的大宗，因此宣導此類病人在疾病獲得控制，無須點滴注射藥物、傷口無須開刀清瘡時應儘早離開醫院，降低感染此類院內抗藥性菌株的機會。然而目前國內對於此類 carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* 在慢性養護機構照顧情況的研究甚少，未來仍應發展一主動監測系統來觀察此類病人轉至慢性養護中心後菌株的發展情形。

3. 在降低抗藥性細菌產生的策略中，以降低抗生素使用量與嚴格執行傳播途徑為基準之防護(Transmission-based Precaution) 兩大策略是目前最廣為接受的，在本研究的收案過程當中，我們發現各家醫院的菌株數量似乎有隨著時間開始慢慢的上升，尤其是 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 在小便與痰液的培養，雖然在這兩處的培養結果並不能全然代表病人的感染狀態(可能為移生 colonization 或是感染)，然而站在防疫的概念上，此類病人更要採取嚴格的接觸隔離，根據疾病管制局於 2007 年所公佈的醫療(事)機構隔離措施建議，目前對於此類抗藥性細菌的臨床照護除了標準措施(standard precaution)外應採取嚴格的接觸隔離，而有效的標準防護措施包含洗手及手套、隔離衣、護目鏡、用具及設備的消毒，與環境的清潔等，而接觸隔離措施則需考慮盡可能單獨房間或將感染相同病原菌的病人放置於同一房間。

4. 目前的衛生政策對於慢性照顧的醫療單位並未對這些帶有抗藥性細菌

的可出院病人做統一的規範，由各慢性照顧單位自行決定對這些抗藥性細菌的病人採取何種照顧的措施，如慢性機構為附屬於醫院，則對於抗藥性細菌病人的入住會採取較為嚴格的措施，如需等病人的抗藥性菌株消失後才准許病人入住，然而病人在等待的過程當中，也暴露在院內感染的風險當中，因此對於這些慢性養護機構仍應訂定標準照顧隔離措施，以避免此類菌株在慢性養護中心造成擴散。

5. 醫院必須建制抗生素管理的綱領來明智而審慎的使用抗生素。

(II) 防治 MRSA

子計畫 4 國內 MRSA 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析

1. 持續監測臨床 MRSA 分離菌株對 vancomycin 的 MIC 分布。
2. 對於 high vancomycin MIC 的 MRSA 菌株，進行臨床研究，瞭解在這樣的狀況下，是否有其他抗生素作為更好的治療選擇。
3. 持續對 MRSA 帶菌者/感染者進行必要的感染控制措施，以免抗藥性的水平散播。
4. 持續對抗生素使用進行合理的感染管制措施，以避免過度、專一的 selective pressure 出現，造成某些特殊的抗藥性菌株大量增殖。

5. 持續監測臨床 MRSA 菌株對 linezolid 及 daptomycin 的感受性，並對其抗藥性機轉進行研究。特別是北、中台灣的 MRSA 菌株，VISA 比率似乎較高，應該進一步釐清。
6. 持續對臨床 MRSA 分離菌株的分子分型（如利用 MLST 進行分型）進行監測，以瞭解是否有新的菌株分型出現、出現後是否對整個 MRSA 的臨床流行病學、抗藥性狀況造成影響（今年度發現 ST45 菌株增加）。

(III) 防治 VRE

子計畫 5 國內 VRE 血液分離株之抗藥性機轉研究與分子流行病學分析

1. 持續監測臨床菌血症 VRE 分離菌株 PFGE 及 MLST 分型，以監控是否有群突發。
2. 持續對 VRE 感染者進行必要的感染控制措施，以免抗藥性的水平散播。
3. 持續對抗生素使用進行合理的感染管制措施，以避免過度、專一的 selective pressure 出現，造成某些特殊的抗藥性菌株大量增殖。
4. 持續監測臨床菌血症 VRE 分離菌株對後線藥物 tigecycline, daptomycin 及 linezolid 之感受性變化，提供治療用藥的參考。

(7) 參考文獻

1. Cosgrove SE. The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs. *Clinical Infectious Diseases* 2006;**42**:S82-S9.
2. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancet infectious diseases* 2010;**10**:597-602.
3. Andrade LN, Curiao T, Ferreira JC, Longo JM, Climaco EC, Martinez R, et al. Dissemination of *bla*_{KPC-2} by the spread of *Klebsiella pneumoniae* clonal complex 258 clones (ST258, ST11, ST437) and plasmids (IncFII, IncN, IncL/M) among *Enterobacteriaceae* species in Brazil. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2011;**55**:3579-83.
4. Wu HS, Chen TL, Chen IC, Huang MS, Wang FD, Fung CP, et al. First identification of a patient colonized with *Klebsiella pneumoniae* carrying *bla*_{NDM-1} in Taiwan. *Journal of the Chinese Medical Association : JCMA* 2010;**73**:596-8.
5. Rolain JM, Parola P, Cornaglia G. New Delhi metallo- β -lactamase (NDM-1): towards a new pandemic? *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2010;**16**:1699-701.
6. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *The Lancet infectious diseases* 2009;**9**:228-36.
7. Yan JJ, Ko WC, Chuang CL, Wu JJ. Metallo- β -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*. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2002;**50**:503-11.
8. Lee CM, Liao CH, Lee WS, Liu YC, Mu JJ, Lee MC, et al. Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-2-producing *K. pneumoniae* sequence type 11 in Taiwan in 2011. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2012;**56**:5016-22.
 9. 李聰明，蘇秋霞，周偉惠等。2009 年台灣院內感染監視系統分析報告。感染控制雜誌 (2011) 21:195-201.
 10. Fang CT, Shau WY, Hsueh PR, Chen YC, Wang JT, Hung CC, et al. Early empirical glycopeptide therapy for patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: impact on the outcome. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2006;**57**:511-9.
 11. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2003;**36**:53-9.
 12. Whitby M, Mclaws ML, Berry G. Risk of death from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a meta-analysis. *Med J Aust* 2001;**175**:264-7.
 13. Zhang K, McClure JA, Elsayed S, Louie T, Conly JM. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome *mec* types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical*

- microbiology* 2005;**43**:5026-33.
14. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, et al. Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of america for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *Clin Infect Dis* 2011;**52**:e18-55.
 15. Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant *enterococci*. *Lancet* 1988;**1**:57-8.
 16. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med* 1988;**319**:157-61.
 17. Rice LB. Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. *Am J Med* 2006;**119**:S11-9; discussion S62-70.
 18. Jones RN. Global epidemiology of antimicrobial resistance among community-acquired and nosocomial pathogens: a five-year summary from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). *Semin Respir Crit Care Med* 2003;**24**:121,34.
 19. 中華民國疾病管制局, 台灣院內感染監視系統 (TNIS). 2010.
 20. Lai C, Wang C, Chu C, Tan C, Lu C, Lee Y, et al. Correlation between antimicrobial consumption and resistance among *Staphylococcus aureus* and *enterococci* causing healthcare-associated infections at a university hospital in Taiwan from 2000 to 2009. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2011;**30**:265-71.
 21. Chang CM, Wang LR, Lee HC, Lee NY, Wu CJ, Ko WC. Characterisation of vancomycin-resistant *enterococci* from hospitalised patients at a tertiary centre over a seven-year period. *J Hosp Infect*

- 2010;**74**:377-84.
22. Chiang PC, Wu TL, Su JY, Huang YC, Chiu YP, Chia JH, et al. Unusual increase of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* but not *Enterococcus faecalis* at a university hospital in Taiwan. *Chang Gung Med J* 2007;**30**:493-503.
 23. Vergis EN, Hayden MK, Chow JW, Snyderman DR, Zervos MJ, Linden PK, et al. Determinants of vancomycin resistance and mortality rates in enterococcal bacteremia. a prospective multicenter study. *Ann Intern Med* 2001;**135**:484-92.
 24. Montecalvo MA, Jarvis WR, Uman J, Shay DK, Petrullo C, Horowitz HW, et al. Costs and savings associated with infection control measures that reduced transmission of vancomycin-resistant *enterococci* in an endemic setting. *Infection control and hospital epidemiology : the official journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America* 2001;**22**:437-42.
 25. Lebreton F, Depardieu F, Bourdon N, Fines-Guyon M, Berger P, Camiade S, et al. D-Ala-D-Ser VanN-type transferable vancomycin resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2011;**55**:4606-12.
 26. Xu X, Lin D, Yan G, Ye X, Wu S, Guo Y, et al. *vanM*, a new glycopeptide resistance gene cluster found in *Enterococcus faecium*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2010;**54**:4643-7.
 27. Boyd DA, Willey BM, Fawcett D, Gillani N, Mulvey MR. Molecular characterization of *Enterococcus faecalis* N06-0364 with low-level vancomycin resistance harboring a novel D-Ala-D-Ser gene cluster, *vanL*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2008;**52**:2667-72.

28. Courvalin P. Vancomycin resistance in gram-positive cocci. *Clin Infect Dis* 2006;**42 Suppl 1**:S25-34.
29. Bourdon N, Fines-Guyon M, Thiolet JM, Maugat S, Coignard B, Leclercq R, et al. Changing trends in vancomycin-resistant enterococci in French hospitals, 2001-08. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2011;**66**:713-21.
30. Ben RJ, Lu JJ, Young TG, Chi WM, Wang CC, Chu ML, et al. Clinical isolation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 1996;**95**:946-9.
31. Hsieh YC, Ou TY, Teng SO, Lee WC, Lin YC, Wang JT, et al. Vancomycin-resistant enterococci in a tertiary teaching hospital in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2009;**42**:63-8.
32. Lu JJ, Perng CL, Ho MF, Chiueh TS, Lee WH. High prevalence of VanB2 vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Taiwan. *Journal of clinical microbiology* 2001;**39**:2140-5.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard – 9th ed. CLSI document M07-A9, 2012. .
34. Pankey GA. Tigecycline. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2005;**56**:470-80.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 22nd Informational Supplement. CLSI document M100-S22, 2012. .
36. D'agata EM, Gerrits MM, Tang YW, Samore M, Kusters JG. Comparison of pulsed-field gel electrophoresis and amplified fragment-length polymorphism for epidemiological investigations of common

- nosocomial pathogens. *Infection control and hospital epidemiology : the official journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America* 2001;**22**:550-4.
37. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *Journal of clinical microbiology* 1995;**33**:2233-9.
38. Diancourt L, Passet V, Verhoef J, Grimont PA, Brisse S. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *Journal of clinical microbiology* 2005;**43**:4178-82.
39. Limansky AS, Mussi MA, Viale AM. Loss of a 29-kilodalton outer membrane protein in *Acinetobacter baumannii* is associated with imipenem resistance. *Journal of clinical microbiology* 2002;**40**:4776-8.
40. Wang JT, Chen YC, Yang TL, Chang SC. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;**42**:199-203.
41. Chen ML, Chang SC, Pan HJ, Hsueh PR, Yang LS, Ho SW, et al. Longitudinal analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates at a teaching hospital in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 1999;**98**:426-32.
42. Jorgensen M, Givney R, Pegler M, Vickery A, Funnell G. Typing multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*: conflicting epidemiological data produced by genotypic and phenotypic methods clarified by phylogenetic analysis. *Journal of clinical microbiology* 1996;**34**:398-403.
43. Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus

- sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology* 2000;**38**:1008-15.
44. Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, Fosheim GE, Mcdougal LK, Carey RB, et al. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med* 2006;**355**:666-74.
45. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, et al. Involvement of Pantone-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis* 1999;**29**:1128-32.
46. Domingo MC, Huletsky A, Giroux R, Boissinot K, Picard FJ, Lebel P, et al. High prevalence of glycopeptide resistance genes *vanB*, *vanD*, and *vanG* not associated with enterococci in human fecal flora. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2005;**49**:4784-6.
47. Lu JJ, Perng CL, Chiueh TS, Lee SY, Chen CH, Chang FY, et al. Detection and typing of vancomycin-resistance genes of enterococci from clinical and nosocomial surveillance specimens by multiplex PCR. *Epidemiol Infect* 2001;**126**:357-63.
48. Homan WL, Tribe D, Poznanski S, Li M, Hogg G, Spalburg E, et al. Multilocus sequence typing scheme for *Enterococcus faecium*. *Journal of clinical microbiology* 2002;**40**:1963-71.
49. Lu CL, Chuang YC, Chang HC, Chen YC, Wang JT, Chang SC. Microbiological and clinical characteristics of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteraemia in Taiwan: implication of sequence type for prognosis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2012;**67**:2243-9.

50. Huang YT, Liao CH, Teng LJ, Hsueh PR. Comparative bactericidal activities of daptomycin, glycopeptides, linezolid and tigecycline against blood isolates of Gram-positive bacteria in Taiwan. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2008;**14**:124-9.
51. Hammerum AM. Enterococci of animal origin and their significance for public health. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2012;**18**:619-25.
52. 黃繼慶，慕蓉蓉，朱建華，顏哲傑，張峰義：2011 年醫院碳青黴烯 (carbapenem)類抗生素抗藥性肺炎克雷伯氏菌群突發調查報告。疫情報導月刊 2012；28：152-162。.
53. Yan JJ, Lee NY, Chen HM, Wang MC, Ko WC, Tsai LH, et al. Bloodstream infections caused by IMP-8-producing *Enterobacteriaceae* isolates: the need for clinical laboratory detection of metallo- β -lactamases? *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 2012.
54. Chia JH, Su LH, Lee MH, Kuo AJ, Shih NY, Siu LK, et al. Development of high-level carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* among patients with prolonged hospitalization and carbapenem exposure. *Microbial drug resistance (Larchmont, NY)* 2010;**16**:317-25.
55. Ben-David D, Kordevani R, Keller N, Tal I, Marzel A, Gal-Mor O, et al. Outcome of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Clinical microbiology and infection : the official publication*

- of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2012;**18**:54-60.
56. Chang HJ, Hsu PC, Yang CC, Kuo AJ, Chia JH, Wu TL, et al. Risk factors and outcomes of carbapenem-nonsusceptible *Escherichia coli* bacteremia: a matched case-control study. *J Microbiol Immunol Infect* 2011;**44**:125-30.
57. Orsi GB, Bencardino A, Vena A, Carattoli A, Venditti C, Falcone M, et al. Patient risk factors for outer membrane permeability and KPC-producing carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolation: results of a double case-control study. *Infection* 2012.
58. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile b-lactamases. *Clinical microbiology reviews* 2007;**20**:440-58, table of contents.
59. Chia JH, Siu LK, Su LH, Lin HS, Kuo AJ, Lee MH, 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.
60. Giakkoupi P, Tambic-Andrasevic A, Vourli S, Skrlin J, Sestan-Crnek S, Tzouveleki LS, et al. Transferable DHA-1 cephalosporinase in *Escherichia coli*. *International journal of antimicrobial agents* 2006;**27**:77-80.
61. Poirel L, Heritier C, Tolun V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;**48**:15-22.
62. Chia JH, Chu C, Su LH, Chiu CH, Kuo AJ, Sun CF, et al. Development of a multiplex PCR and SHV melting-curve mutation detection system for detection of some SHV and CTX-M b-lactamases of *Escherichia coli*,

- Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter cloacae* in Taiwan. *Journal of clinical microbiology* 2005;**43**:4486-91.
63. Eckert C, Gautier V, Saladin-Allard M, Hidri N, Verdet C, Ould-Hocine Z, et al. Dissemination of CTX-M-type b-lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Paris, France. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2004;**48**:1249-55.
64. Oteo J, Delgado-Iribarren A, Vega D, Bautista V, Rodriguez MC, Velasco M, et al. Emergence of imipenem resistance in clinical *Escherichia coli* during therapy. *International journal of antimicrobial agents* 2008;**32**:534-7.
65. Kallman O, Motakefi A, Wretling B, Kalin M, Olsson-Liljequist B, Giske CG. Cefuroxime non-susceptibility in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* overexpressing *ramA* and *acrA* and expressing *ompK35* at reduced levels. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2008;**62**:986-90.
66. Lee S.C., Wu M.S., Shih H.J., Huang S.H., Chiou M.J., See L.C., and Siu L.K. Identification of vancomycin-resistant enterococci clones and inter-hospital spread during an outbreak in Taiwan. *BMC Infect Dis.* 2013;**13**:163.

(8) 圖、表

表 1、 Primers used in this study

目標基因/分群	引子名稱	引子序列 (5'-3')	參考文獻
子計畫一所用的引子序列 (MLST 的分型)			
<i>gapA</i>	gapA : F : 173	TGAAATATGACTCCACTCACGG	38
	gapA : R : 181	CTTCAGAAGCGGCTTTGATGGCTT	
<i>mdh</i>	mdh : F : 130	CCCAACTCGCTTCAGGTTTCAG	38
	mdh : R : 867	CCGTTTTTCCCCAGCAGCAG	
<i>pgi</i>	pgi : F : 1R	GAGAAAAACCTGCCTGTAAGTGTGGC	38
	pgi : R : 1F	CGCGCCACGCTTTATAGCGGTTAAT	
<i>phoE</i>	phoE : F : 604.1	ACCTACCGCAACACCGACTTCTTCGG	38
	phoE : R : 604.2	TGATCAGAAGTGGTAGGTGAT	
<i>infB</i>	infB : 1F	CTCGCTGCTGGACTATATTCG	38
	infB : 1R	CGTTTTCAGCTCAAGAAGCTTC	
<i>tonB</i>	tonB : 1F	CTTTATACCTCGGTACATCAGGTT	38
	tonB : 2R	ATTCGCCGGCTGRGCRGAGAG	
子計畫二及三所用的引子序列 (抗藥基因的偵測)			
Class A carbapenemases			
NMC	NMC-F	GCATTGATATACCTTTAGCAGAGA	58
	NMC-R	CGGTGATAAAATCACACTGAGCATA	
SME	SME-F	AGATAGTAAATTTTATAG	58
	SME-R	CTCTAACGCTAATAG	
IMI	IMI-F	ATAGCCATCCTTGTTTAGCTC	58
	IMI-R	TCTGCGATTACTTATCCTC	
KPC	KPC-F	ATGTCACTGTATCGCCGTCT	58
	KPC-R	TTTTTCAGAGCCTTACTGCC	
GES	GES-F	GTTTTGCAATGTGCTCAACG	58
	GES-R	TGCCATAGCAATAGGCGTAG	
Class B metalloenzymes			
IMP-1	IMP-1-F	TGAGCAAGTTATCTGTATTC	58
	IMP-1-R	TTAGTTGCTTGGTTTTGATG	
IMP-2	IMP-2-F	GGCAGTCGCCCTAAAACAAA	58
	IMP-2-R	TAGTTACTTGGCTGTGATGG	
VIM-1	VIM-1-F	TTATGGAGCAGCAACCGATGT	58
	VIM-1-R	CAAAGTCCCGCTCCAACGA	
VIM-2	VIM-2-F	AAAGTTATGCCGCACTCACC	58
	VIM-2-R	TGCAACTTCATGTTATGCCG	
NDM	NDM-F	TCTCGACAATGCCGGGTTT	In this study
	NDM-R	GAGATTGCCGAGCGACTT	
AmpC β -lactamases			
CMY	CMY-F	CAAGTTTGATTCCTTGGACTCT	59
	CMY-R	CTCATCGTCAGTTATTGCAGCT	
DHA-1	DHA-1-F	CTGATGAAAAAATCGTTATC	60
	DHA-1-R	ATTCCAGTGCCTCAAATA	
Class D oxacillinases			
OXA-48	OXA-48-F	TTGGTGGCATCGATTATCGG	61
	OXA-48-R	GAGCACTTCTTTTGTGATGGC	
ESBL genes			
SHV	SHV-F	AACGGAACTGAATGAGGCGCT	62
	SHV-R	TCCACCATCCACTGCAGCAGCT	

CTX-M-1 group	CTX-M-1F	GGTAAAAAATCACTGCGTC	63
	CTX-M-1R	TTGGTGAGATTTTAGCCGC	
CTX-M-2 group	CTX-M-2F	TGGGTTACGATTTTCGCCGC	63
	CTX-M-2R	TGGGTTACGATTTTCGCCGC	
CTX-M-9 group	CTX-M-9F	ATGGTGACAAAGAGAGTGCA	63
	CTX-M-9R	CCCTTCGGCGATGATTCTC	
TEM	TEM-F	ATGAGTATTC AACATTTCCG	63
	TEM-R	CCAATGCTTAATCAGTGAGG	
Outer membrane protein in <i>E. coli</i>			
OmpF	OmpF-F	GCAGTGGCAGGTGTCATAAA	64
	OmpF-R	TCGGCATTTAACAAAGAGGTG	
OmpC	OmpC-F	GCAGGCCCTTTGTTTCGATA	64
	OmpC-R	GCCGACTGATTAATGAGGGTTA	
Outer membrane protein in <i>K. pneumoniae</i>			
OmpK35	OmpK35-F	GAAGGTTCCCAGACCACAAA	65
	OmpK35-R	ACGGCCATAGTCGAATGAAC	
OmpK36	OmpK36-F	GCCGACTGATTAGAAGGGTAA	54
	OmpK36-R	GCGTGCTTAGAACTGGTAAAC	
子計畫四所用的引子序列 (MLST 的分型)			
<i>arc</i> C (Carbamate kinase)	arcC-Up	TTGATTCACCAGCGCGTATTGTC	43
	arcC-Dn	AGGTATCTGCTTCAATCAGCG	
<i>aroE</i> (Shikimate dehydrogenase)	aroE-Up	ATCGGAAATCCTATTTACATTC	43
	aroE-Dn	GGTGTTGTATTAATAACGATATC	
<i>glpF</i> (Glycerol kinase)	glpF-Up	CTAGGAACTGCAATCTTAATCC	43
	glpF-Dn	TGGTAAAATCGCATGTCCAATTC	
<i>gmk</i> (Guanylate kinase)	gmk-Up	ATCGTTTTATCGGGACCATC	43
	gmk-Dn	TCATTA ACTACAACGTAATCGTA	
<i>pta</i> (Phosphate acetyltransferase)	pta-Up	GTTAAAATCGTATTACCTGAAGG	43
	pta-Dn	GACCCTTTTGTTGAAAAGCTTAA	
<i>tpi</i> (Triosephosphate isomerase)	tpi-Up	TCGTTCAATTCTGAACGTCGTGAA	43
	tpi-Dn	TTTGCACCTTCTAACAATTGTAC	
<i>yqiL</i> (Acetyl coenzyme A acetyltransferase)	yqiL-Up	CAGCATA CAGGACACCTATTGGC	43
	yqiL-Dn	CGTTGAGGAATCGATACTGGAAC	
子計畫四所用的引子序列 (SCCmec elements 之型別判定)			
SCCmec I	Type I-F	GCTTTAAAGAGTGTGCGTTACAGG	13
	Type I-R	GTTCTCTCATAGTATGACGTCC	
SCCmec II	Type II-F	CGTTGAAGATGATGAAGCG	13
	Type II-R	CGAAATCAATGGTTAATGGACC	
SCCmec III	Type III-F	CCATATTGTGTACGATGCG	13
	Type III-R	CCTTAGTTGTCGTAACAGATCG	
SCCmec IVa	Type IVa-F	GCCTTATTCGAAGAAACCG	13
	Type IVa-R	CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG	
SCCmec IVb	Type IVb-F	TCTGGAATTACTTCAGCTGC	13
	Type IVb-R	AAACAATATTGCTCTCCCTC	
SCCmec IVc	Type IVc-F	ACAATATTTGTATTATCGGAGAGC	13
	Type IVc-R	TTGGTATGAGGTATTGCTGG	
SCCmec IVd	Type IVd-F5	CTCAA AATACGGACCCCAATACA	13
	Type IVd-R6	TGCTCCAGTAATTGCTAAAG	
SCCmec V	Type V-F	GAACATIGTTACTTAAATGAGCG	13
	Type V-R	TGAAAGTTGTACCCTTGACACC	

<i>mecA</i>	MecA147-F	GTGAAGATATACCAAGTGATT	13
	MecA147-R	ATGCGCTATAGATTGAAAGGAT	
Class A <i>mec</i>	mecI-F	CCCTTTTTATACAATCTCGTT	13
	mecI-R	ATATCATCTGCAGAATGGG	
Class B <i>mec</i>	IS1272-F	TATTTTTGGGTTTCACTCGG	13
	mecR1-R	CTCCACGTTAATTCCATTAATACC	
	ccrAB-β2	ATTGCCTTGATAATAGCCITCT	13
Type 1 <i>ccr</i>	ccrAB-α2	AACCTATATCATCAATCAGTACGT	13
Type 2 <i>ccr</i>	ccrAB-α3	TAAAGGCATCAATGCACAAACACT	13
Type 3 <i>ccr</i>	ccrAB-α4	AGCTCAAAGCAAGCAATAGAAT	13
Type 5 <i>ccr</i>	ccrC-F	ATGAATTCAAAGAGCATGGC	13
	ccrC-R	GATTTAGAATTGTCGTGATTGC	
子計畫四所用的引子序列 (PVL gene 的偵測)			
PVL gene	luk-PV-1	ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA	45
	luk-PV-2	GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAAAGC	
子計畫五所用的引子序列 (Van 基因的偵測)			
<i>vanA</i>	vanAF	AATGTGCGAAAAACCTTGCG	47
	vanAR	CCGTTTCCTGTATCCGTCC	
<i>vanB</i>	vanBF	CAAATCACTGGCCTACATTC	47
	vanBR	TCTGCATCCAAGCACCCG	
<i>vanC1</i>	vanC1F	GGTATCAAGGAAACCTC	47
	vanC1R	CTTCCGCCATCATAGCT	
<i>vanC2/C3</i>	vanC2/C3F	AATGTGCGAAAAACCTTGCG	47
	vanC2/C3R	CCGTTTCCTGTATCCGTCC	
<i>vanD</i>	vanDF	TTTGTAAGCCTGCCCGTTC	46
	vanDR	CCAAGTAYCCGGTAAATCTTC	
<i>vanE</i>	vanEF	AAATAATGCTCCATCAATTTGCTGA	46
	vanER	ATAGTCGAAAAAGCCATCCACAAG	
<i>vanG</i>	vanGF	TTGGAGGCAATTCAACAGAGT	46
	vanGR	TCGCAGCCAACAACAGGTATT	
子計畫五所用的引子序列 (MLST 的分型)			
<i>adk</i>	adk1	TATGAACCTCATTTTAATGGG	48
	adk2	GTTGACTGCCAAACGATTTT	
<i>atpA</i>	atpA1	CGGTTTCATACGGAATGGCACA	48
	atpA2	AAGTTCACGATAAGCCACGG	
<i>ddl</i>	ddl1	GAGACATTGAATATGCCTTATG	48
	ddl2	AAAAAGAAATCGCACCG	
<i>gdh</i>	gdh1	GGCGCACTAAAAGATATGGT	48
	gdh2	CCAAGATTGGGCAACTTCGTCCCA	
<i>gyd</i>	gyd1	CAAAGTGTAGCTCCAAGGC	48
	gyd2	CATTCGTTGTCATACCAAGC	
<i>purK</i>	purK1	GCAGATTGGCACATTGAAAGT	48
	purK2	TACATAAATCCCCCTGTTY	
<i>pstS</i>	pstS1	TTGAGCCAAGTCGAAGCTGGAG	48
	pstS2	CGTGATCACGTTCTACTTCC	

表 2、MIC₅₀, MIC₉₀ and non-susceptible rate of 220 *K. pneumoniae* isolates

	<i>K. pneumoniae</i>		
	MIC ₅₀ (μg/mL)	MIC ₉₀ (μg/mL)	non susceptible rate %
ampicillin	≥32	≥32	100
cefazolin	≥32	≥32	100
cefuroxime	≥32	≥32	100
ceftazidime	≥32	≥32	100
cefotaxime	≥64	≥64	100
cefepime	≥32	≥32	84.5
TIM ^a	≥128	≥128	100
TZP ^b	≥128	≥128	97.3
aztreonam	≥32	≥32	95.9
cefoxitin	≥32	≥32	99.5
gentamicin	≥16	≥16	51.4
amikacin	≤4	≥64	25.5
ciprofloxacin	≥4	≥4	90.5
levofloxacin	≥8	≥8	88.6
SXT ^c	≥4	≥4	82.3
ertapenem	≥8	≥8	88.6
imipenem	≥8	≥8	99.1
meropenem	4	≥8	79.5
doripenem	≥4	≥4	80
colistin	≤0.5	≥4	20
tigecycline	0.5	1	4.1

a: ticarcillin/clavulanic acid; b : piperacillin/tazobactam

c: trimethoprim/sulphamethoxazole

表 3、MIC₅₀, MIC₉₀ and non susceptible rate of 40 *E. coli* isolates

	<i>E.coli</i>		
	MIC ₅₀ (μg/mL)	MIC ₉₀ (μg/mL)	non susceptible rate %
ampicillin	≥32	≥32	100
cefazolin	≥32	≥32	100
cefuroxime	≥32	≥32	100
ceftazidime	≥32	≥32	100
cefotaxime	≥32	≥32	100
cefepime	16	≥32	80
TIM ^a	≥128	≥128	100
TZP ^b	≥128	≥128	100
aztreonam	≥32	≥32	100
cefoxitin	≥32	≥32	100
gentamicin	≥16	≥32	55
amikacin	≤4	16	7.5
ciprofloxacin	≥4	≥4	80
levofloxacin	≥8	≥8	72.5
SXT ^c	≥4	≥4	55
ertapenem	≥8	≥8	100
imipenem	4	≥8	97.5
meropenem	4	≥32	92.5
doripenem	2	≥4	77.5
colistin	≤0.5	≤0.5	2.5
tigecycline	≤0.25	≤0.25	0

TIM^a: ticarcillin/clavulanic acid; TZP^b: piperacillin/tazobactam

SXT^c: trimethoprim/sulphamethoxazole

表 4、ESBL genes detected in 220 carbapenem non susceptible *K. pneumoniae* isolates

<i>K. pneumoniae</i> (220)	
CTX-M-1 group	18
CTX-M-2 group	1
CTX-M-9 group	93
CTX-M-1/CTX-M-9 group combine	1
CTX-M-2/CTX-M-9 group combine	1
Negative	110

表 5、Carbapenemase genes detected in 220 Carbapenem non susceptible *K. pneumoniae* isolates

<i>K. pneumoniae</i> (220)	
IMP-(IMP-8)	6
IMP negative	214
VIM-(VIM-1)	6
VIM negative	214
NDM-	0
OXA-(OXA-1)	41
KPC-(KPC-2)	52
NMC-	0
SME-	0
IMI-	0

表 6、AmpC genes detected in 220 carbapenem non susceptible *K.pneumoniae* isolates

<i>K.pneumoniae</i> (220)	
CMY-2	3
CMY- negative	217
DHA-1	133
DHA- negative	87

表 7、Mechanisms of Carbapenem non-susceptible KP in 2013

β -lactamases ^a	Outer membrane profile			
	2013 (N = 220)			
	35/36	Δ 35	Δ 36	Δ 35/36
Carbapenemases				
KPC-2	0	50	2	0
NDM-1	0	0	0	0
IMP-8	1	3	0	2
VIM-1	2	3	1	0
AmpC				
DHA-1	1	35	1	84
CMY-2	0	0	0	2
ESBLs				
CTX-M-9 group	1	2	0	4
CTX-M-1 group	0	0	0	5
SHV-type (SHV-2,5,12,2A,31,120)	0	2	1	4
Others	1	9	0	4

^a 多數菌株產生多個 β -lactamase，統計時採單一計算為原則（不重複），優先計算 carbapenemase，其次是 AmpC，最後是 ESBL，詳細順序如表所列，由上而下

表 8、Mechanisms of Carbapenem non-susceptible *E.coli* in 2013

β -lactamases ^a	Outer membrane profile (40)			
	F/C	Δ F	Δ C	Δ F/C
CAR				
NDM-1	0	1	1	0
IMP-8	0	0	0	0
VIM-1	0	0	0	0
AmpC				
CMY-2	0	6	4	24
DHA	0	1	0	1
ESBL				
CTX-M or SHV-	0	0	0	1

^a 多數菌株產生多個 β -lactamase，統計時採單一計算為原則（不重複），優先計算 carbapenemase，其次是 AmpC，最後是 ESBL，詳細順序如表所列，由上而下

表 9、2012 及 2013 年含 *vanA* 抗藥基因的 VRE 菌株之各種抗生素抗藥性比較

抗生素	2012 年(132 株)				2013 年(113 株)			
	範圍	MIC ₅₀	MIC ₉₀	抗藥性%	範圍	MIC ₅₀	MIC ₉₀	抗藥性%
Vancomycin	>256	-	-	100	>256	-	-	100
Teicoplanin	6~>256	-	-	97.7	4~>256	-	-	97.3
tigecycline	0.016~12	0.094	0.19	6.7	0.047~3	0.094	0.19	8.8
daptomycin	0.064~4	2	3	0	0.25~6	2	3	0.9
linezolid	0.25~2	1	2	0	0.5-2	1	1.5	0

表 10、VRE-Efm 的 ST 型與 PFGE 的分析結果

MLST	PFGE type	編號 D [@]	編號 A	編號 B	編號 C	編號 R	編號 F	編號 G	編號 S	編號 K	編號 T	編號 O	Total	2012 年 PFGE type (株數)
ST17	1	1	2	5 ^{1,4,7*}	0	0	0	0	0	0	0	0	8	C (7)
	2	2	0	2	0	0	0	3	2	0	0	0	9	B(11)
	3	2	3	0	1	0	1	0	0	0	0	0	7	A(13)
	4	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	3	
	5	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
	6	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
	7~19	4	4	5	0	1	0	1	1	2	0	0	18	
	小計	10	13	14	1	1	1	4	3	2	1	0	50	
ST78	20	2	0	1	0	2	0	10 ^{1,3,6,7}	2	0	0	2	19	H (4)
	21~24	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	4	
	小計	3	0	2	1	2	0	10	2	0	0	3	23	
ST341	25	0	0	0	0	2	0	7 ^{1,2,4,5,6}	0	0	0	0	9	I (1)
	26	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	D(11)
	27~29	0	3	1	0	1	0	0	0	0	0	0	5	
	小計	0	4	1	0	3	0	7	0	0	0	0	15	
ST414	30	1	1	1	0	0	0	3	0	1	0	0	7	E (9)
	31	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	F (7)
	31~33	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
	小計	2	2	2	0	0	0	3	0	2	0	0	11	
ST18	34	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	G (5)
	35	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
	小計	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	
other	36~42	4	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	8	
總計		19	22	21	2	6	1	24	5	5	1	3	109	

[@]醫院代碼

*表格內上標的數字代表分離的月份

表 11、2013 年度各計畫合作醫院 CR/K. pneumoniae 檢出 KPC 抗藥性基因之比例

分佈	株數	醫院編號	CR/K. pneumoniae	KPC	百分比(%)
北部(8)		A	27	7	25.9
		B	64	23	35.9
		C	14	2	14.3
		D	46	11	23.9
		E	7	0	0.0
		F	6	3	50.0
		R	4	0	0.0
		Q	0	0	0
小計			168	46	27.4
中部(3)		G	11	3	27.3
		H	0	0	0
		S	9	0	0.0
小計			20	3	15.0
南部(7)		I	7	2	28.6
		J	4	0	0.0
		K	8	1	12.5
		L	2	0	0.0
		M	2	0	0.0
		N	0	0	0
		T	7	0	0.0
小計			30	3	10.0
東部(2)		O	2	0	0.0
		P	0	0	0
小計			2	0	0.0
總計			220	52	23.6

表 12、2013 年度 42 例 KPC 個案基本資料分析

項目	個案數(n=42)	百分比(%)
年齡(平均值±標準差)	79 ± 11 (48-97)	
平均住院天數(平均值±標準差)	61.6 ± 58.2 (0-286)	
入院後平均檢出 KPC 天數(平均值±標準差)	31.1 ± 46.3 (0-271)	
病人來源		
醫院個案	33	78.6
人口密集機構〔長期照護機構、護理之家、呼吸照護病房、安養院〕		0.0
其他醫院	9	21.4
性別		
男性	29	69.0
女性	13	31.0
年齡層		
50 歲以下	1	2.4
50-59 歲	1	2.4
60-69 歲	7	16.7
70-79 歲	11	26.2
80-89 歲	14	33.3
90 歲以上	8	19.0
此次住院之前三個月是否曾經住院		
是	16	38.1
否	26	61.9
住院天數		
0-3 天	3	7.1
4-30 天	12	28.6
31-60 天	11	26.2
61-90 天	8	19.0
91 天以上	8	19.0
入院日至採檢日天數 (KPC)		
0-3 天	11	26.2
4-30 天	16	38.1
31-60 天	12	28.6
61-90 天	1	2.4
91 天以上	2	4.8

檢出 KPC 後至出院的天數

0-3 天	7	16.7
4-30 天	19	45.2
31-60 天	9	21.4
61-90 天	3	7.1
91 天以上	4	9.5

病人動態

住院中	0	0.0
死亡	12	28.6
病危出院	6	14.3
家中	5	11.9
人口密集機構（呼吸照護病房）	1	2.4
出院	24	57.1
家中	18	42.9
人口密集機構（安養院、榮家）	4	9.5
未知	2	4.8

表 13、2013 年度 42 例 KPC 個案疾病資料分析

項目	個案數(n=42)	百分比(%)
疾病史		
有	40	95.2
1 個疾病診斷	3	7.1
2 個疾病診斷	7	16.7
3 個 (含) 以上疾病診斷	30	71.4
無	2	4.8
疾病類型		
糖尿病	19	45.2
冠狀動脈疾病	14	33.3
腦中風	13	31.0
心臟衰竭	13	31.0
癡呆	11	26.2
慢性阻塞性肺部疾病	9	21.4
其他心血管疾病	8	19.0
胃潰瘍	8	19.0
周邊動脈阻塞性疾病	7	16.7
洗腎	6	14.3
半身不遂	6	14.3
其他神經學疾病	6	14.3
惡性腫瘤	4	9.5
其他胃腸疾病	4	9.5
血液透析	3	7.1
使用類固醇	3	7.1
實質固態瘤	3	7.1
免疫功能低下	3	7.1
肝硬化	1	2.4
C 肝病毒	1	2.4
B 肝病毒	1	2.4

表 14、2012 年度子計畫七收案狀況

(2012 年) 醫院名稱	全部應 收個案 組數	去除菌 種, MIC 不 符合, 重覆 個案後之應 收個案組數	去除臨床不符 合後之 應收個案組數 (年齡不 符, OPD 個案)	應收 CRE/CSE 筆數	實收 CSE 個 案筆數	實收 CRE 個 案筆數	已送回個案 筆數 CRE/CSE
編號 I	16	11	11	22	11	11	22
編號 L	17	14	11	22	11	11	22
編號 J	12	8	8	16	8	8	16
編號 G	24	23	23	46	23	23	46
編號 K	16	11	11	22	11	11	22
編號 C	18	16	16	32	16	16	32
編號 F	5	5	5	10	5	5	10
編號 E	23	22	22	44	22	22	44
編號 D	101	91	91	182	91	91	182
編號 A	152	103	103	206	91	101	192
編號 B	54	37	37	74	37	37	74
編號 O	4	3	3	6	2	2	4
總數	442	344	341	682	338	328	666

表 15、2013 年 1 月至 8 月(收案菌株時間)收案狀況

(2013 年) 醫院名稱	全部應 收個案 組數	去除菌種 ,MIC 不符合, ,重覆個案後之 應收個案組數	去除臨床 不符合後應收 個案組數 (年齡不符,OPD)	實收 CRE 個案筆數	實收 CSE 個案筆數	子七應收 CRE/CSE 筆數	已送回個 案筆數 CRE/CSE
編號 I	7	7	7	7	7	14	14
編號 L	12	7	7	4	4	14	8
編號 J	6	5	5	5	5	10	10
編號 G	18	13	12	12	12	24	24
編號 K	12	7	5	5	5	10	10
編號 C	13	13	13	9	8	26	17
編號 F	10	5	5	5	5	10	10
編號 E	7	7	7	6	6	14	12
編號 D	52	49	45	45	45	90	90
編號 A	30	25	21	21	17	34	34
編號 B	69	61	58	58	55	110	110
編號 O	2	2	2	2	2	4	4
編號 T	10	9	9	7	3	18	10
編號 S	12	11	9	9	9	18	18
編號 R	5	4	4	0	0	8	0
編號 M	2	2	2	1	1	4	2
總數	267	227	211	196	184	408	373
						完成率(%)	91.4

表 16、2013 年-103-10 月收案病人感染症的分布情形

	<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>	
	CRE	CSE	CRE	CSE
Respiratory tract infection	7	5	167	150
Intra-abdominal infection	9	8	24	22
Catheter related infection	5	2	18	10
Urinary tract infection	24	26	160	148
Bilillary tract infection	15	14	16	18
Wound infection	1	1	11	5
Others	13	8	43	43
Total	74	64	439	396

表 17、Univariable analysis of carbapenem-resistant *E. coli* and carbapenem-sensitive *E. coli*

	CRE n/total (%) mean±SD(range)	CSE n/total (%) Mean±SD (range)	<i>P</i>
Demographic data			
Gender (male)	42/76(55.3)	36/64(56.3)	0.907
Age	67.3±14.4	64.1±15.3	0.208
Admission in recent 3 months	42/77(54.5)	18/63(28.6)	0.002
Hospital Days before infection	38.3±46.4	7.4±12.9	0.000
Cormorbidity			
Malignant tumor	28/77(36.4)	22/64(34.4)	0.806
Stroke	16/77(20.8)	17/63(27.0)	0.389
Hemiplegia	7/57(12.3)	5/46(10.9)	0.824
Dementia	6/77(7.8)	5/53(7.9)	1.000
Gastric ulcer	10/77(13.5)	9/64(14.1)	0.852
Liver cirrhosis	12/77(15.6)	5/63(7.9)	0.168
Chronic hepatitis	8/77(10.4)	6/63(9.5)	0.865
DM	29/77(37.7)	22/64(34.4)	0.686
CHF	4/77(5.2)	8/64(12.5)	0.122
CAD	5/77(6.5)	3/64(4.7)	0.728
Hypertension	12/76(15.8)	7/64(10.9)	0.404
PAOD	0/64(0)	3/77(3.9)	0.251
COPD	8/77(10.4)	2/64(3.1)	0.112
Chronic respiratory failure	11/77(14.3)	7/64(10.9)	0.553
Chronic renal failure	14/77(18.2)	4/64(5.3)	0.035
Steroid	6/77(7.8)	3/64(4.7)	0.511
Recent operation	25/77(32.5)	10/64(15.6)	0.021
Invasive procedure			
Abdominal drainage	22/77(28.6)	11/64(17.2)	0.112
Thoracic drainage	1/77(1.3)	1/64(1.6)	1.000
Central venous catheter	16/72(22.2)	7/59(11.9)	0.121
TPN	11/77(14.3)	4/64(6.3)	0.123
NG	48/77(62.3)	22/64(34.4)	0.001
Foley	46/77(59.7)	22/64(34.4)	0.003
Disease severity			
Charlson score	4.03±3.1	3.45±3.0	0.271
SOFA score	6.1±3.3	3.8±3.7	0.000
APACHE II score	20.6±15.9	9.3±8.3	0.002
Treatment			
Appropriate ABx in 24 hours	17/75(22.7)	34/63(54.0)	0.000
Appropriate ABx in 48 hours	20/75(26.7)	32/63(50.8)	0.004
Appropriate ABx in 72 hours	25/74(33.8)	36/63(57.1)	0.006
Total Mortality	40/75(53.3)	7/61(11.5)	0.000
Hospital days	60.0±50.8	26.2±21.0	0.000

表 18、Independent risk factor for acquiring carbapenem resistant *E. coli* infection

Variable	Adjusted OR (95% CI)	<i>p</i>
Admission in recent 3 months	4.415(1.847-10.555)	0.001
Uremia	4.588(1.328-15.849)	0.016
Urine catheterization	4.178(1.738-10.044)	0.001
Recent operation	2.315(0.869-6.166)	0.093
Days before isolation more than 14 days	2.422(0.976-6.011)	0.056

表 19、Univariable analysis of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* and carbapenem-sensitive *K. pneumoniae*

	CRE n/total (%) mean±SD (range)	CSE n/total (%) mean±SD (range)	<i>p</i>
Demographic data			
Gender (male)	282/445(63.4)	253/414(61.1)	0.495
Age	74.1±14.1	71.5±14.5	0.008
Admission in recent 3 months	199/445(44.7)	161/413(39.0)	0.089
Hospital Days before infection	33.6±38.2	13.4±20.9	0.000
Cormorbidity			
Malignant tumor	120/447(26.8)	118/414(28.5)	0.496
Stroke	135/446(30.3)	113/414(27.3)	0.336
Hemiplegia	69/352(19.6)	37/318(11.6)	0.005
Dementia	70/446(15.7)	59/414(14.3)	0.554
Peptic ulcer	90/447(20.1)	82/414(19.8)	0.904
Liver cirrhosis	38/447(8.5)	29/414(7.0)	0.413
Chronic hepatitis	24/447(5.4)	19/414(4.6)	0.600
DM	206/447	177/414	0.326
CHF	87/446(19.5)	49/413(11.9)	0.002
CAD	80/446(17.9)	56/414(13.5)	0.077
HTN	123/444(27.7)	109/411(26.5)	0.698
PAOD	29/445(6.5)	20/414(4.8)	0.287
COPD	58/447(13.0)	52/414(12.6)	0.855

Respiratory failure	115/446(25.8)	80/414(19.3)	0.024
Chronic renal failure	67/446(15.0)	38/414(9.2)	0.009
Steroid	50/446(11.2)	29/412(7.0)	0.035
Recent operation	147/445(33.0)	89/414(21.5)	0.000
Invasive procedure			
Abdominal drainage	41/447(9.2)	40/414(9.7)	0.806
Thoracic drainage	31/447(6.9)	19/413(4.6)	0.144
Central venous catheter	140/415(26.8)	73/380(19.2)	0.000
TPN	24/446(5.4)	19/414(4.6)	0.594
NG	330/447(73.8)	185/413(44.8)	0.000
Foley	279/447(62.4)	174/414(42.0)	0.000
Disease severity			
Charlson score	4.14+2.77	3.59+2.51	0.322
SOFA score	5.94+4.63	4.05+3.91	0.000
APACHE II score	21.88+9.30	18.1+9.06	0.884
Treatment			
Appropriate ABx in 24 hours	52/427(12.2)	217/409(53.1)	0.000
Appropriate ABx in 48 hours	61/428(14.3)	228/409(55.7)	0.000
Appropriate ABx in 72 hours	96/430(22.3)	248/411(60.6)	0.000
Total Mortality	171/425(40.2)	97/402(24.1)	0.000
Hospital days	60.0+54.1	33.1+34.0	0.000

表 20、Independent risk factor for acquiring carbapenem resistant *K. pneumoniae* infection

Variable	Adjusted OR (95% CI)	<i>p</i>
Recent_operation within 3 months	2.027(1.347-3.050)	0.001
住院天數大於14天	1.609(1.068-2.422)	0.023
Hemiplegia	1.669(1.031-2.702)	0.037
CHF	2.028(1.260-3.265)	0.004
MV_B	0.654(0.401-1.066)	0.089
Steroid	1.955(1.016-.3758)	0.045
CVC_insertion	1.526(0.987-2.360)	0.057
NG	3.142(2.121-4.654)	0.000

表 21、Independent risk for mortality among patients with *E. coli* infection

Variable	Adjusted OR(95% CI)	<i>p</i>
CRE_CSE	6.859(2.260-20.818)	0.001
Maligancy	5.583(1.862-16.743)	0.002
Liver_cirrhosis	6.169(1.000-38.066)	0.050
Steroid	4.732(0.808-27.703)	0.085
TPN	6.702(1.375-32.665)	0.019
SOFA_7	3.226(1.034-10.069)	0.044
APACH II >20	4.420(1.459-13.393)	0.009

表 22、Independent risk for mortality among patients with *K. pneumoniae* infection

Variable	Adjusted OR(95% CI)	<i>p</i>
CRE_CSE	1.360(0.966-1.913)	0.078
Steroid	2.154(1.231-3.771)	0.007
Charlson_4	1.513(1.079-2.121)	0.016
SOFA_7	4.317(2.991-6.231)	0.000
APACHE_II_20	2.625(1.829-3.766)	0.000

2013 1-8 KP (220 entries)

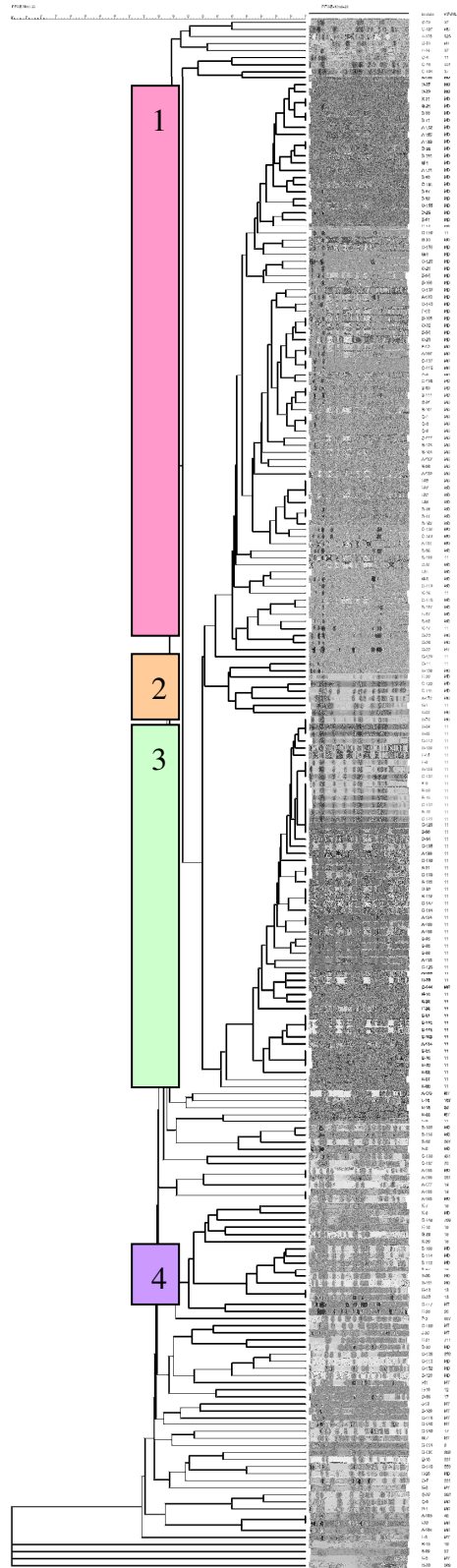


圖 1、PFGE patterns and ST of *K. pneumoniae*

2013 1-8 EC (40 entries)

PFGE-XbaI-20

PFGE-XbaI-20

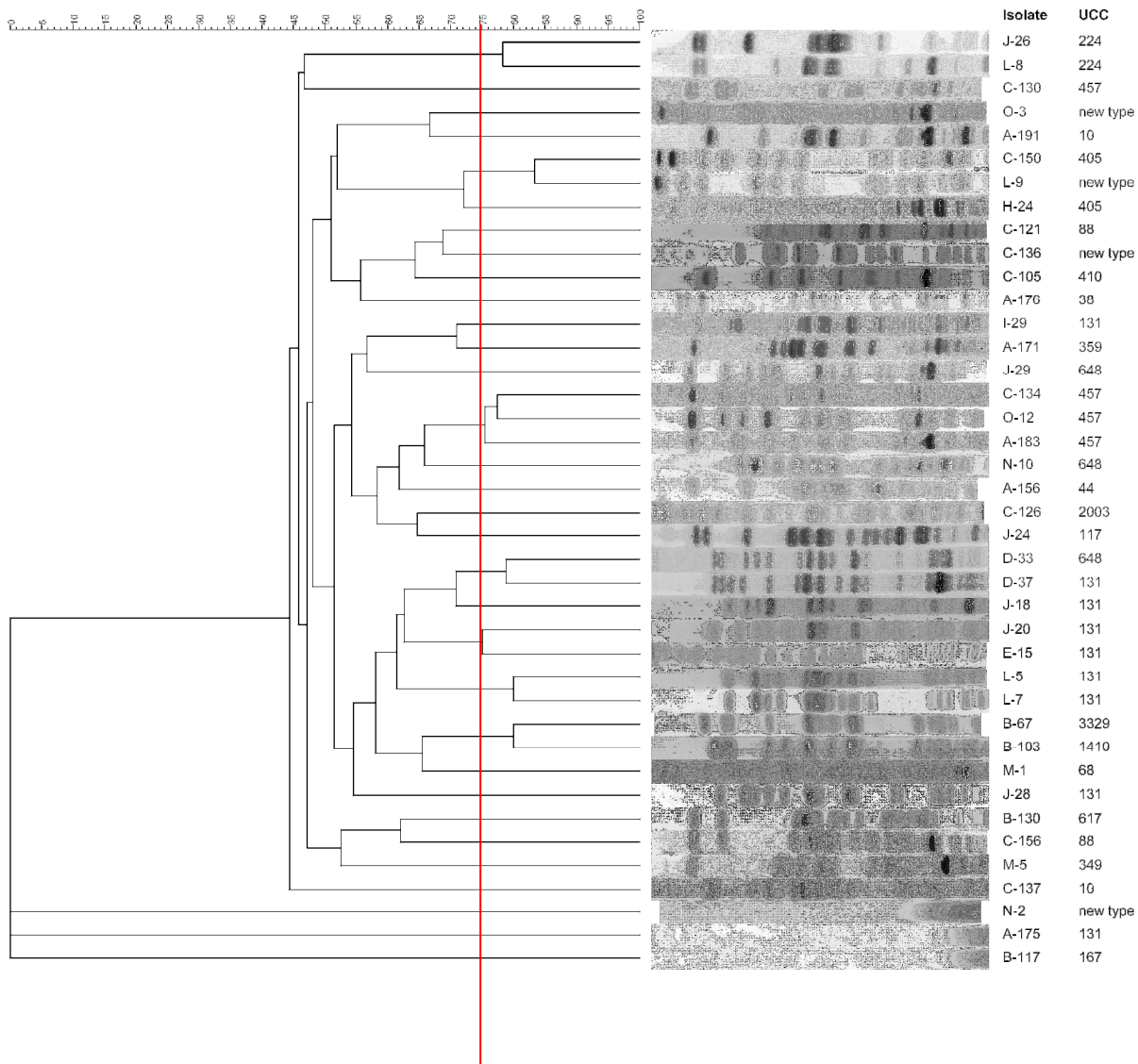


圖 2、PFGE patterns and ST of *E. coli*

2013 1-8 KPC (52 entries)

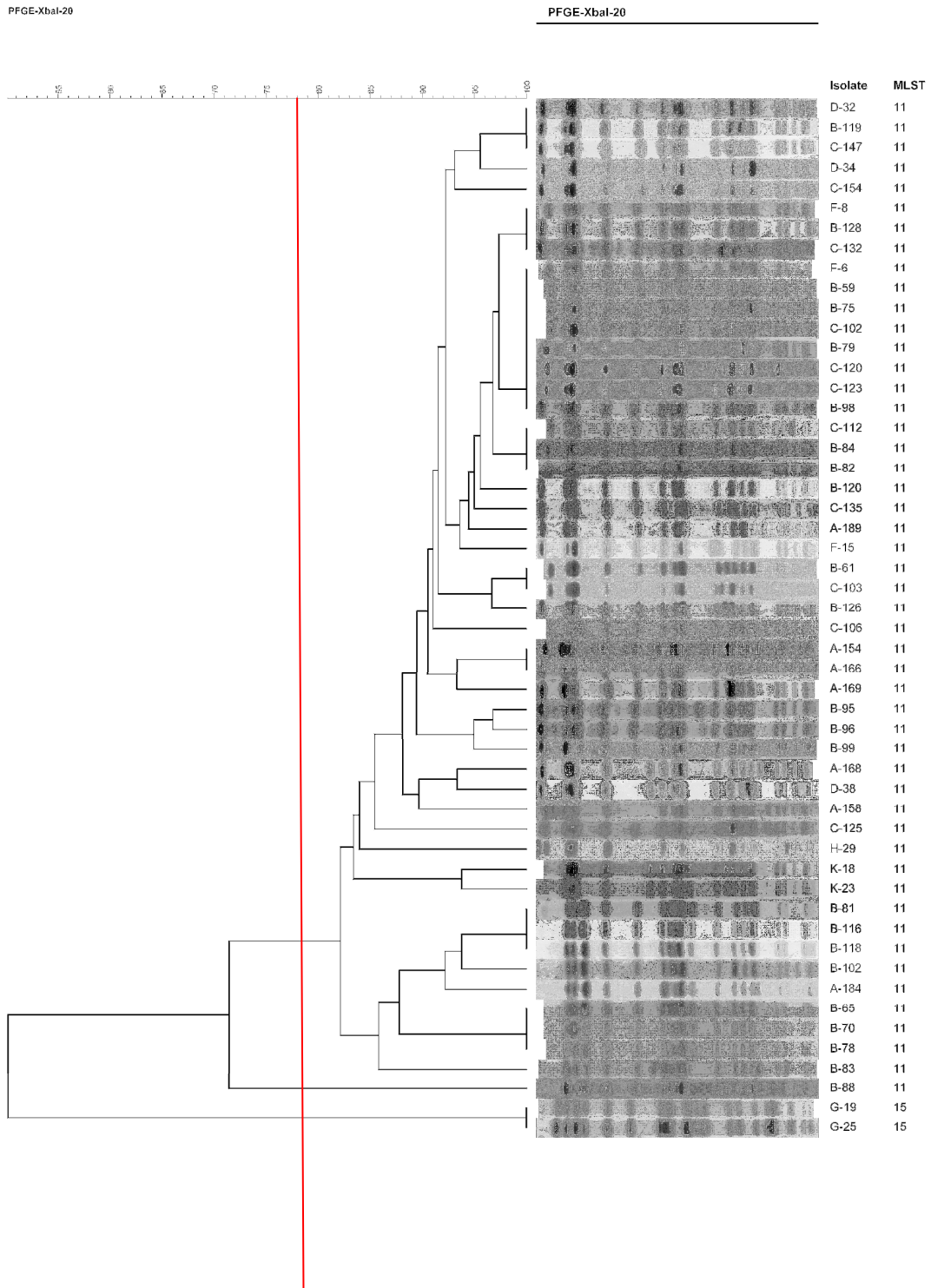


圖 3、PFGE patterns and ST of KPC

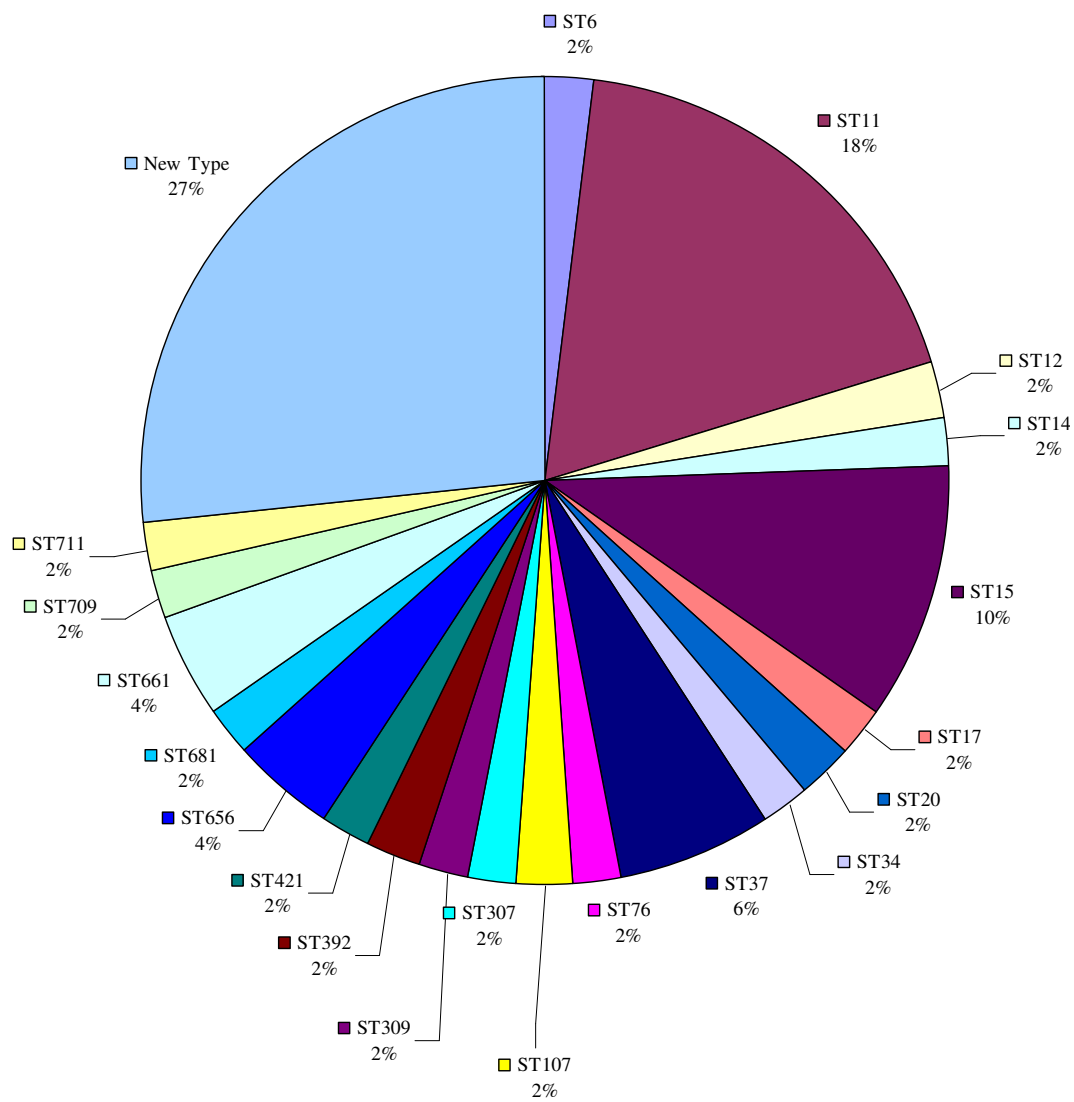
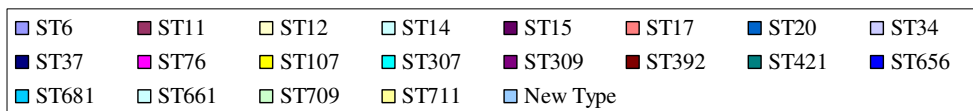


圖 4、MLST of *K. pneumoniae*

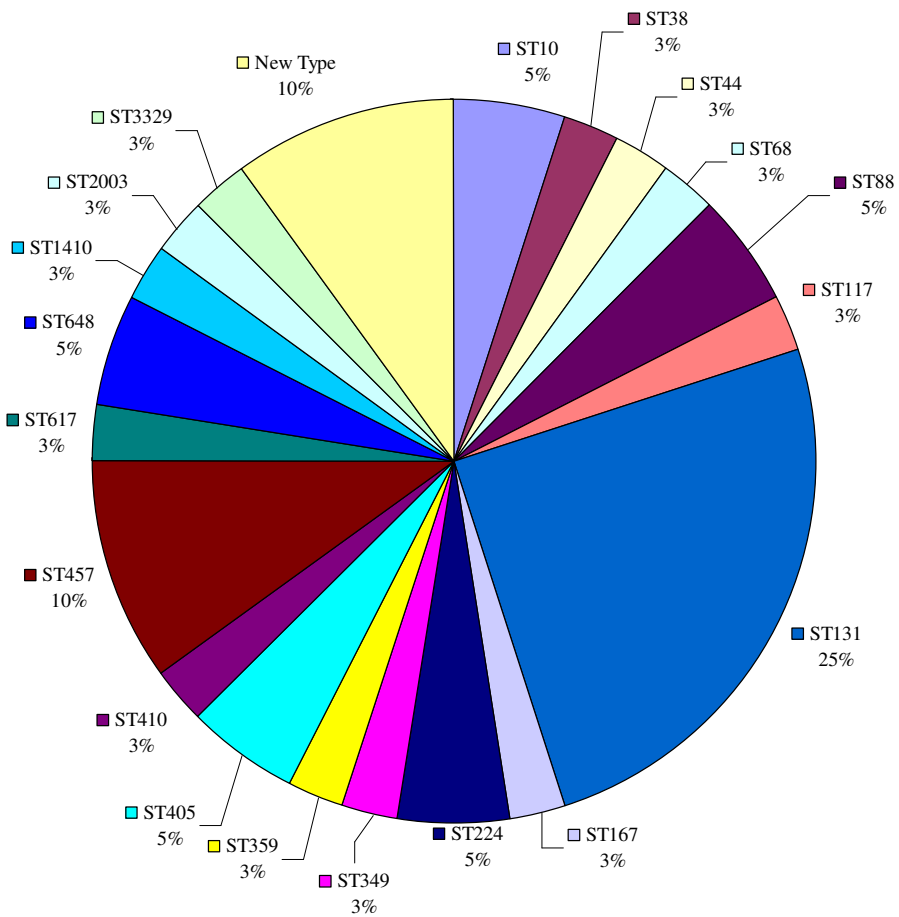
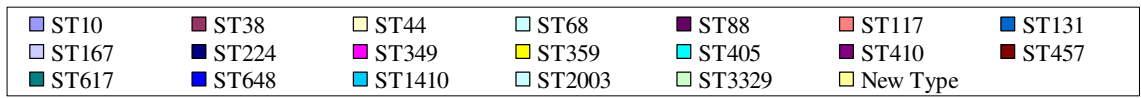
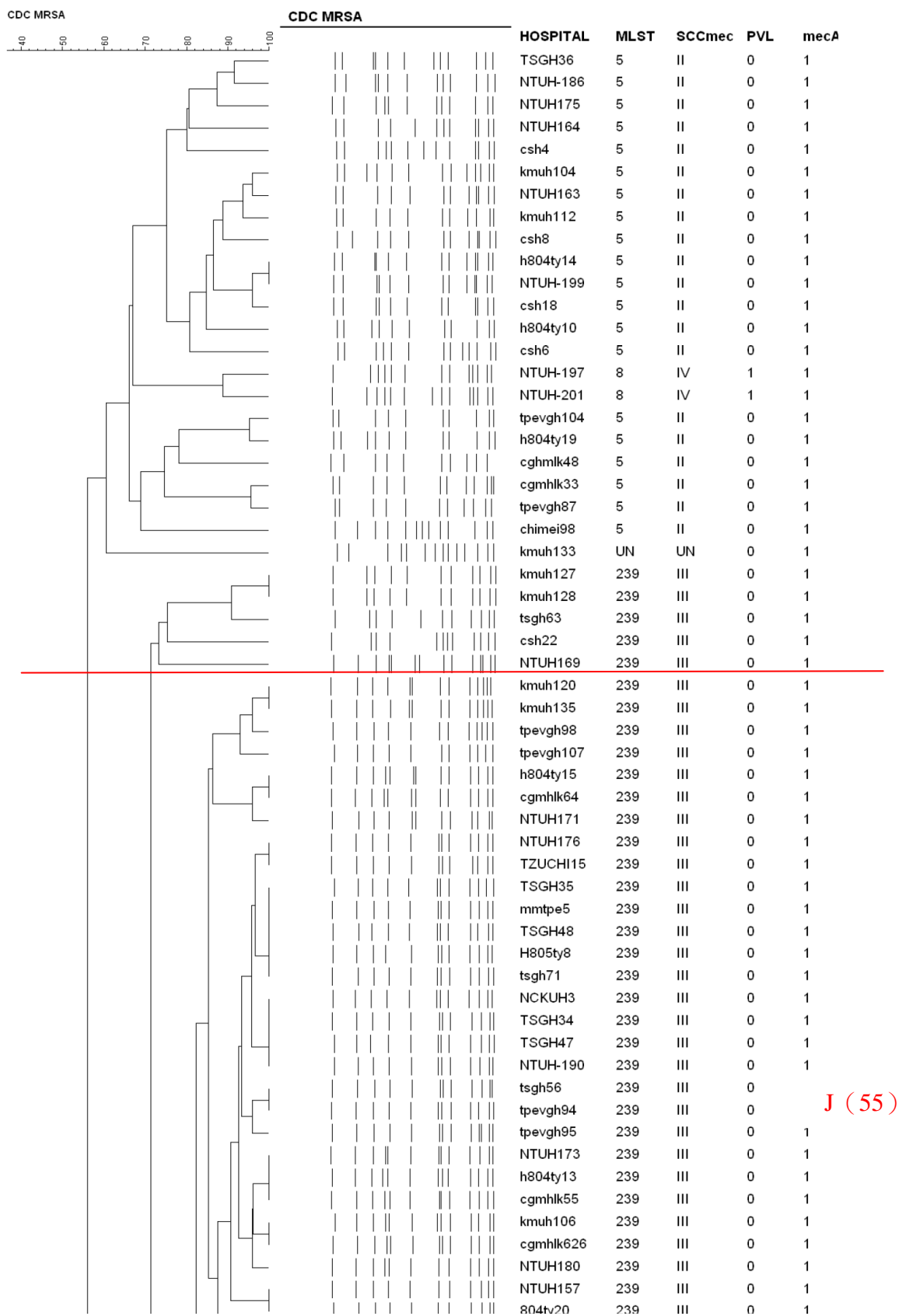
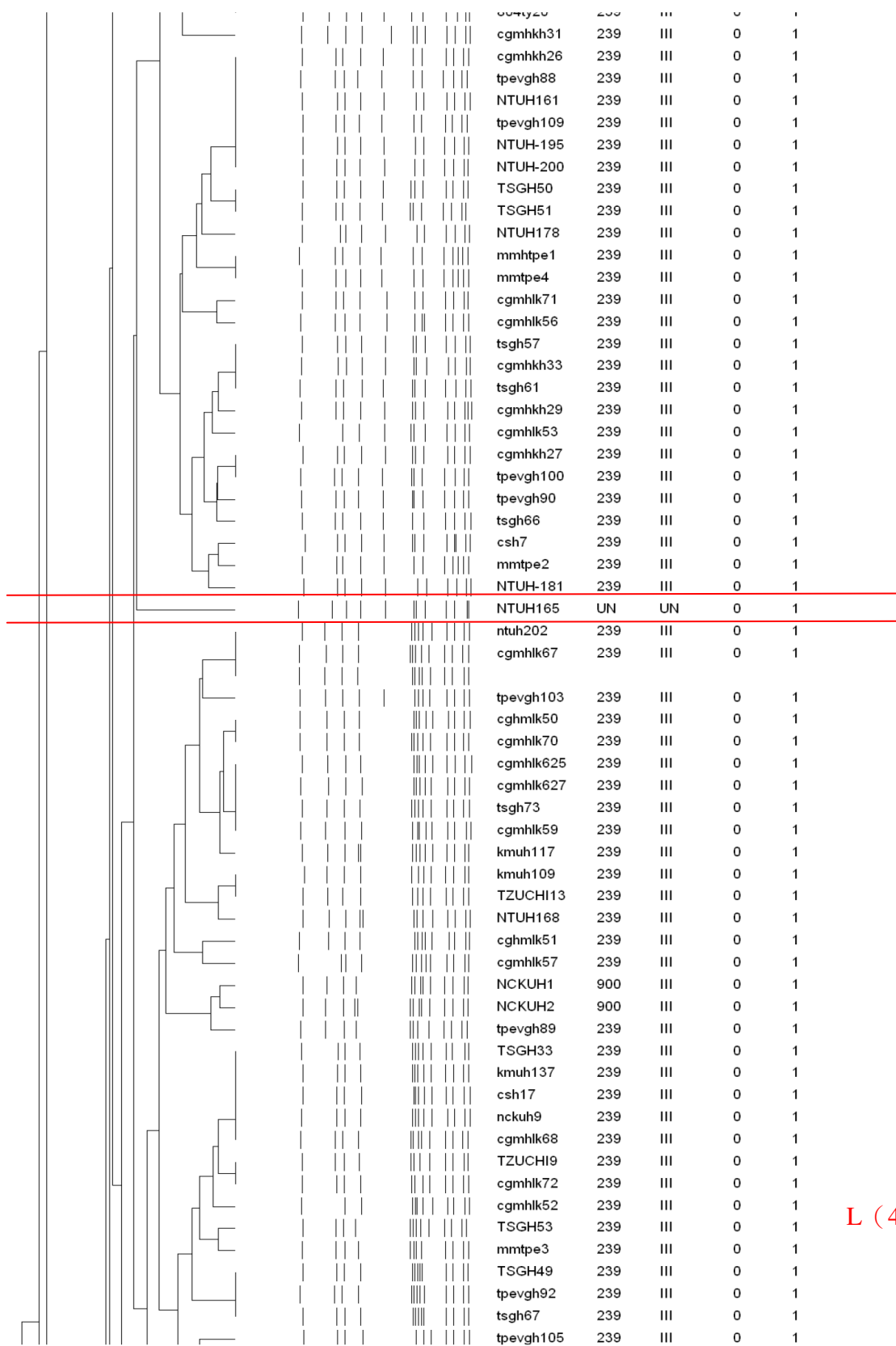


圖 5、MLST of *E. coli*



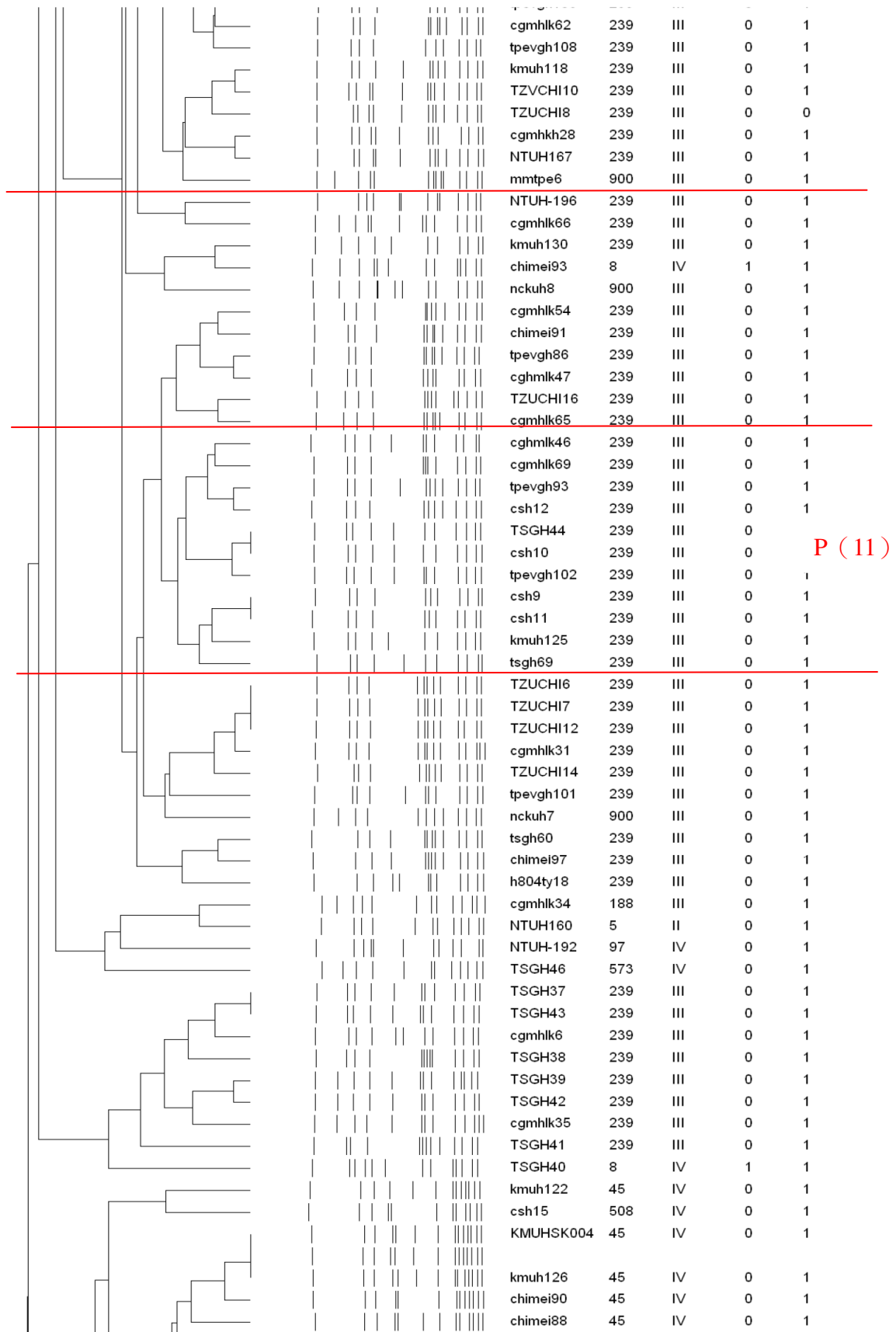
J (55)

圖 6、Pulsotypes



L (41)

圖 6、繼續



P (11)

圖 6、繼續

		TSGH52	45	IV	0	1
		tsgH59	45	IV	0	1
		cgmhkh30	45	IV	0	1
		tsgH64	45	IV	0	1
		NTUH159	45	IV	0	1
		NTUH-188	45	IV	0	1
		tpevgh106	45	IV	0	1
		csh19	45	IV	0	1
		NTUH166	45	IV	0	1
		NTUH179	45	IV	0	1
		NTUH174	45	IV	0	1
		NTUH-198	45	IV	0	AA (15)
		NTUH158	45	IV	0	,
		tsgH62	45	IV	0	1
		NTUH-194	45	IV	0	1
		h804ty12	45	IV	0	1
		tsgH68	45	IV	0	1
		NTUH-191	45	IV	0	1
		csh20	45	IV	0	1
		csh2	1598	UN	1	1
		cgmhkh35	45	IV	0	1
		ntuh203	UN	UN	0	1
		NTUH-187	UN	UN	1	1
		cgmhkh36	45	IV	0	1
		ntuh147	UN	UN	0	1
		ntuh149	45	IV	0	1
		ntuh151	45	IV	0	1
		KMUHsk002	30	IV	1	1
		ntuh204	30	V	1	1
		KMUHsk001	30	IV	1	1
		KMUHsk003	30	IV	1	1
		kmuHsk6	30	IV	1	1
		kmuHsk8	30	IV	1	AH (12)
		h804ty11	30	IV	0	.
		cgmhkh34	30	IV	0	1
		NTUH-193	30	IV	1	1
		h804ty009	30	IV	0	1
		tpevgh91	30	IV	0	1
		h804ty17	30	IV	0	1
		kmuH113	30	IV	0	1
		chimeI92	30	IV	1	1
		chimeI95	59	V	0	1
		H804ty7	UN	UN	0	1
		cgmhkh39	5	II	0	1
		TSGH54	59	V	1	1
		cgmhkh25	59	V	1	1
		csh13	59	V	0	1
		csh16	59	V	0	1
		kmuH124	59	V	0	1
		chimeI94	59	V	0	1
		NCKUH6	UN	UN	0	1
		cgmhkh58	59	V	0	1
		NTUH-189	59	V	0	1
		NTUH-183	59	V	0	1
		kmuHsk9	59	V	1	1
		kmuHsk7	59	V	1	1
		tpevgh97	59	V	1	1
		kmuH116	59	IV	0	1
		kmuH129	59	V	0	AQ (20)
		cgmhkh49	59	V	0	1

圖 6、繼續

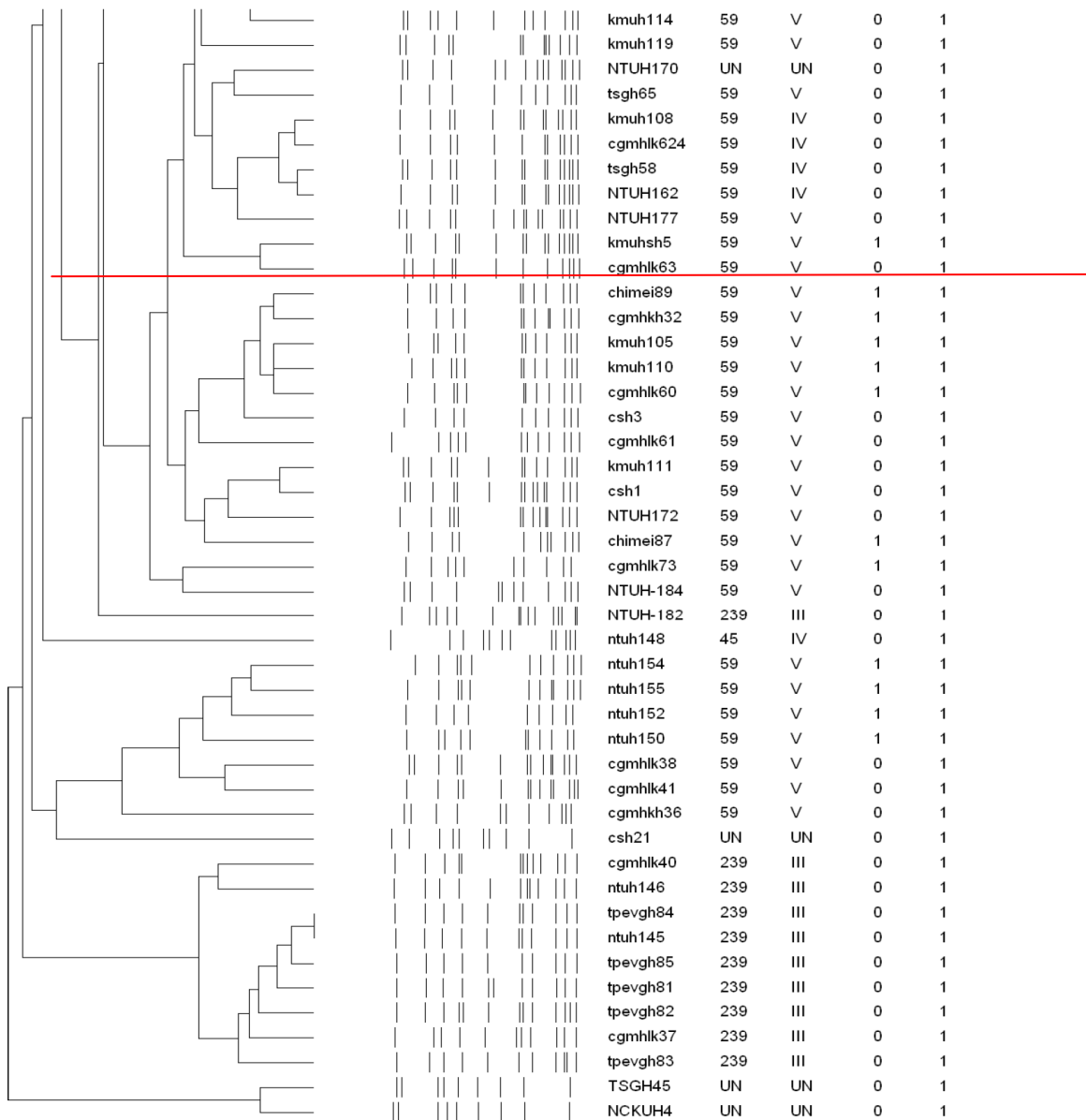


圖 6、繼續

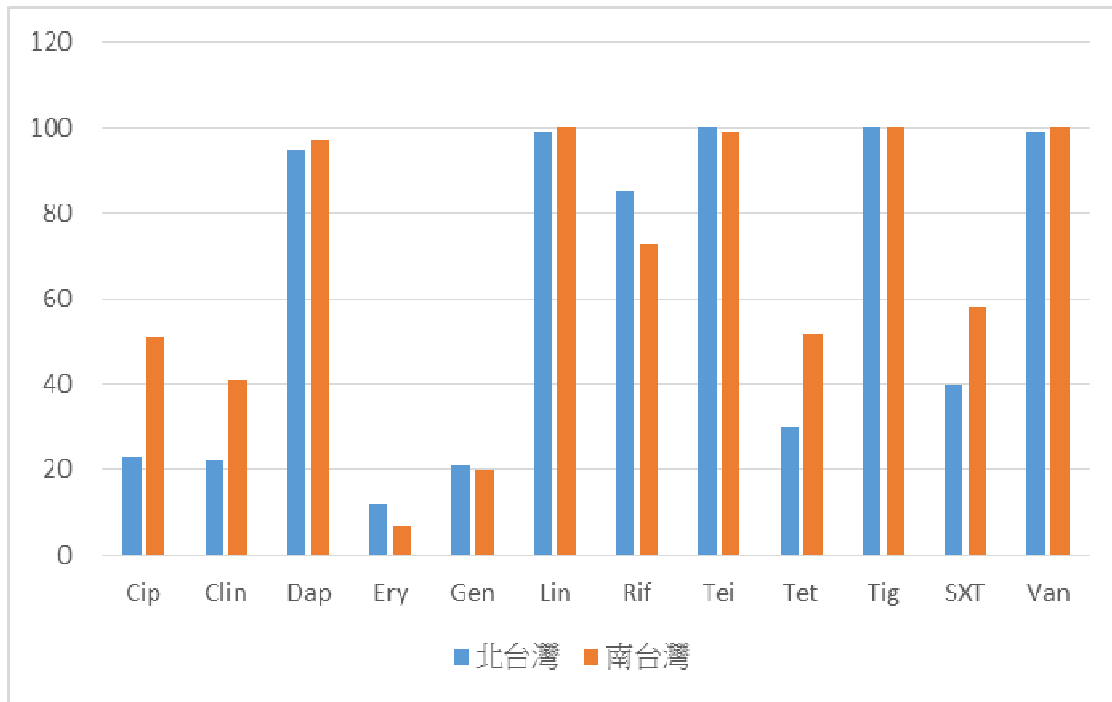
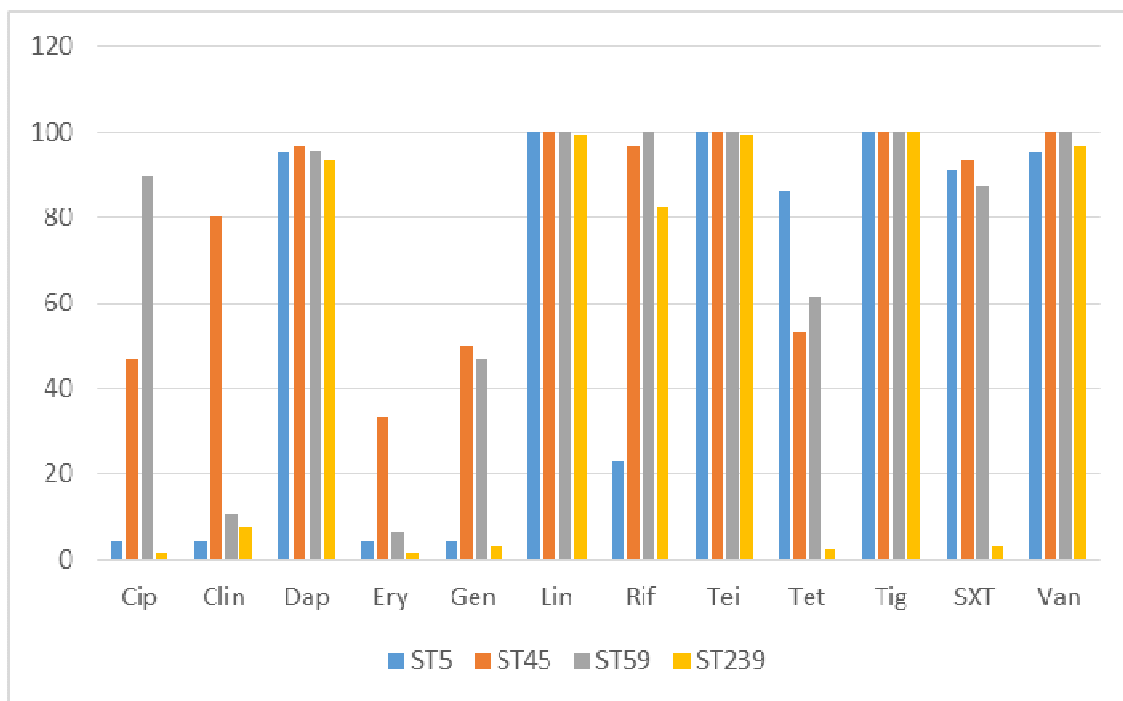
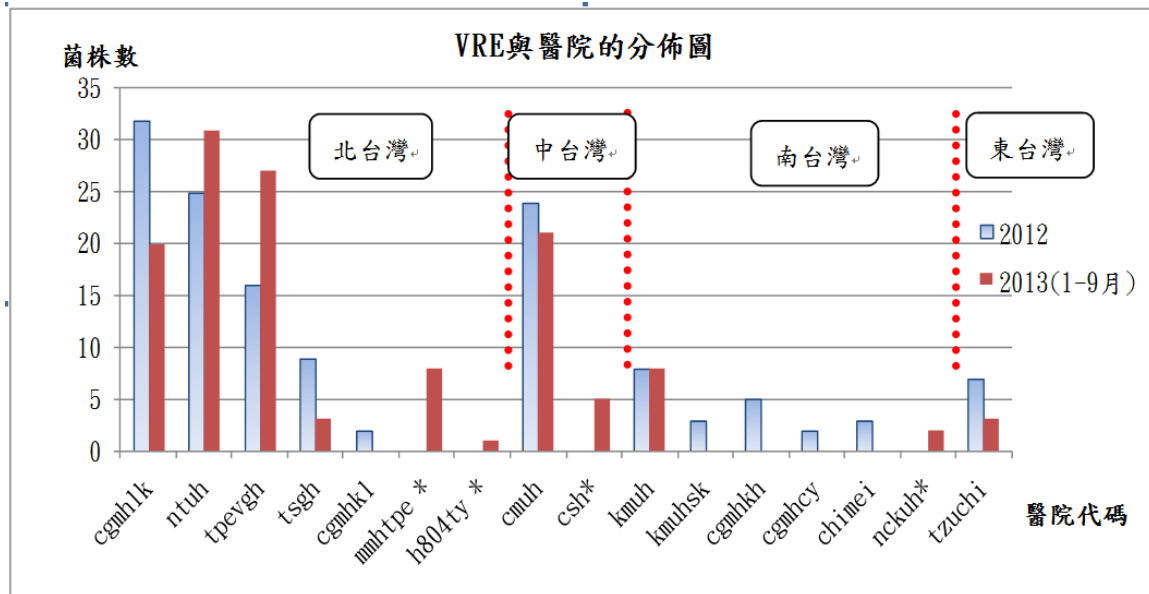


圖 7、依地理分布考慮 MRSA 菌株對各種抗生素的感受性



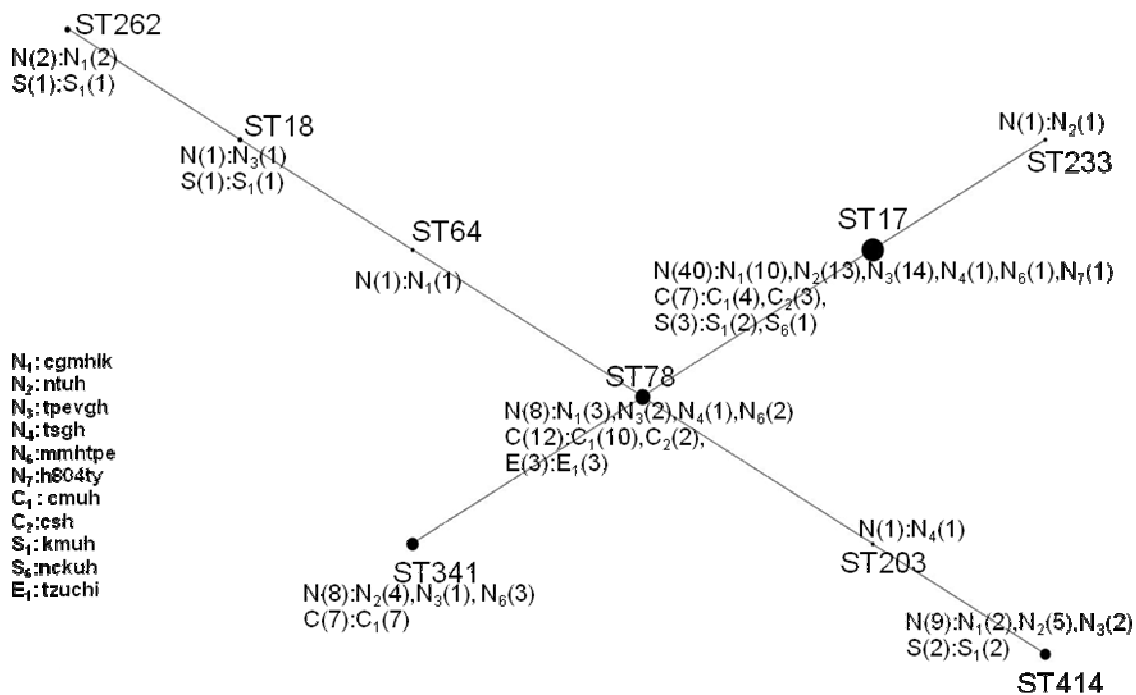
Abbreviation: Cip, ciprofloxacin; Clin, clindamycin; Dap, daptomycin; Ery, erythromycin; Gen, gentamicin; Lin, linezolid; Rif, rifampin; Tei, teicoplanin; Tet, tetracycline; Tig, tigecycline; SXT, trimethoprim/sulfamethoxazole; Van, vancomycin.

圖 8、依主要的 MLST types，考慮 MRSA 菌株對各種抗生素感受性



*代表 2013 年加入之醫院

圖 9、2012 年及 2013 年收集之 VRE 菌株在各醫院的分佈圖



註 1：ST 型旁及括號內的數字為分佈的菌株數。

註 2：醫院代號: $N_1 \sim N_7$ 代表北台灣醫院； $C_1 \sim C_2$ 代表中台灣醫院； $S_1 \sim S_6$ 代表南台灣醫院；

E_1 代表東台灣醫院

註 3：不含 4 株新的 ST 型

圖 10、107 株 VRE-fm 菌株經 eBRUST program 分析的結果及各醫院分佈的情況。

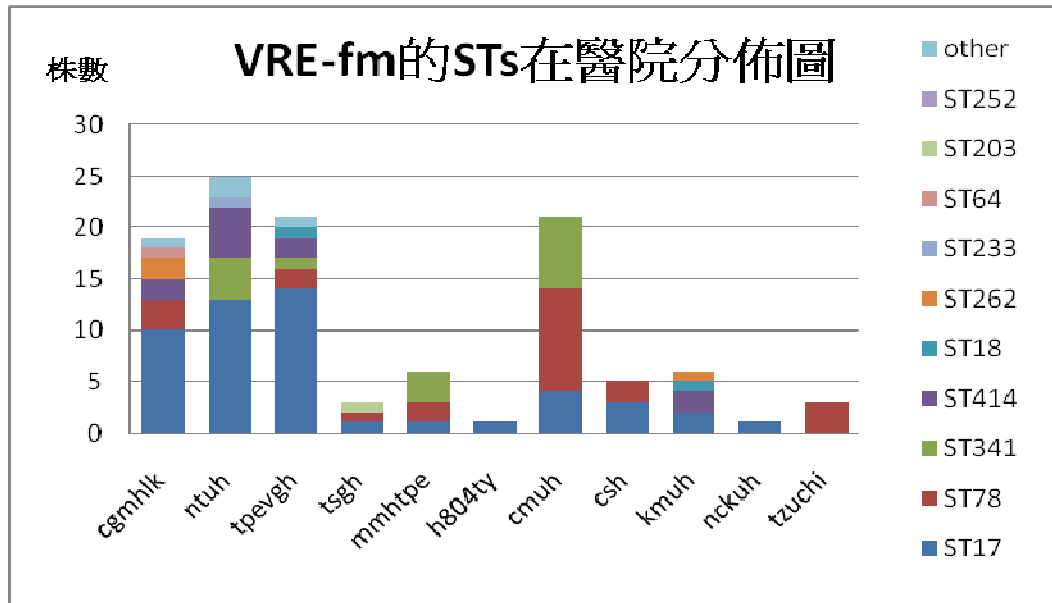


圖 11、VRE-fm 菌株的 STs 型在各醫院的分佈圖

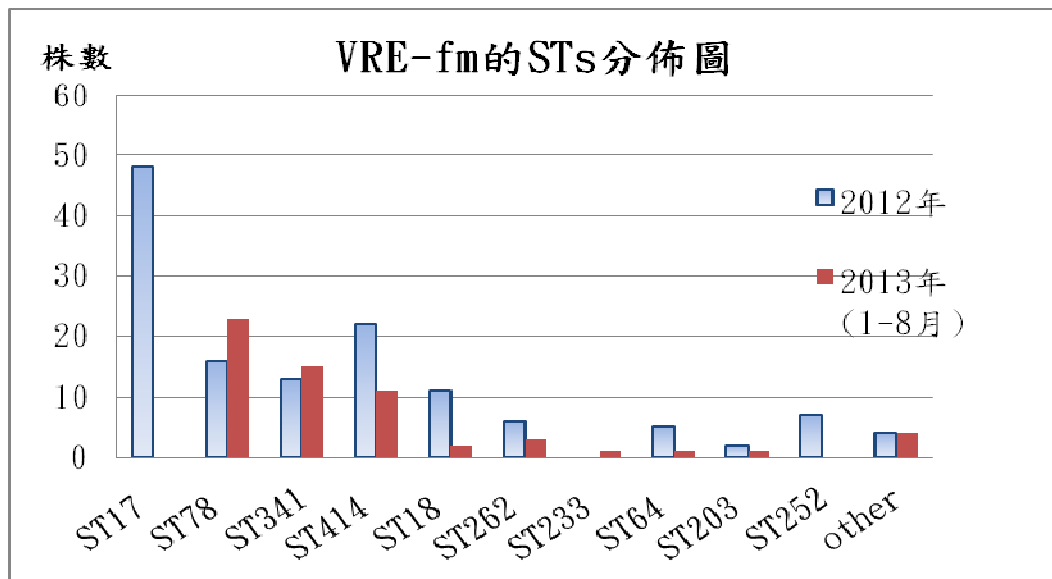


圖 12、2012 年及 2013 年 VRE-fm 菌株的 STs 型流行的分佈圖

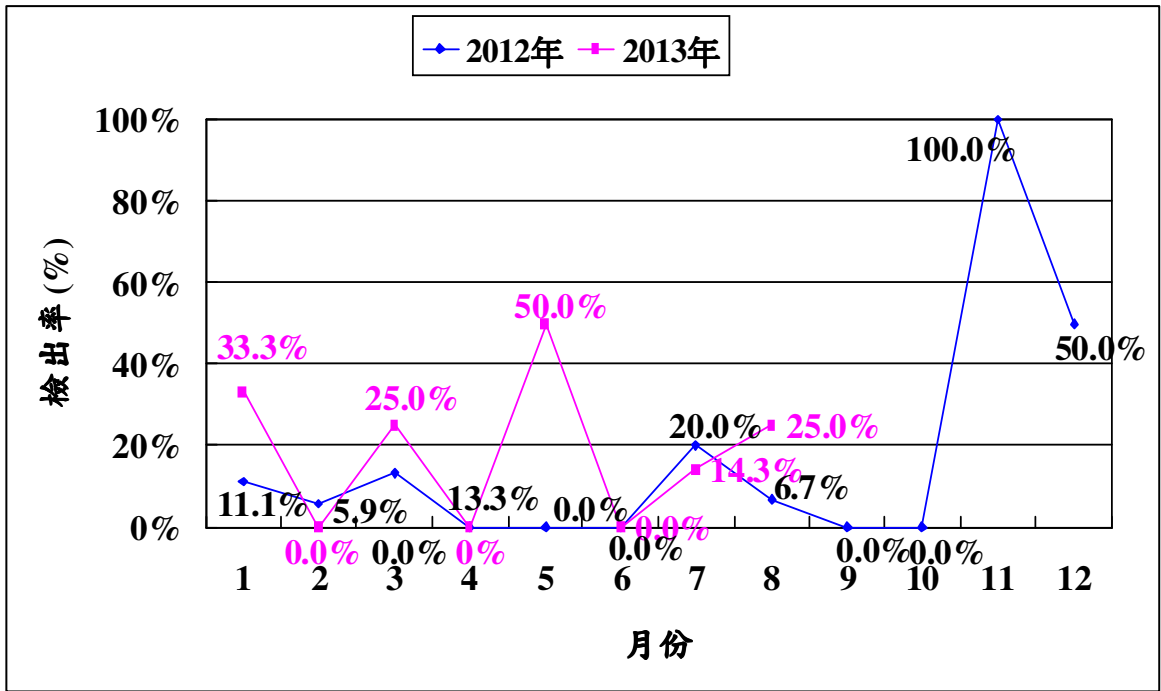


圖 13、編號 A 醫院 KPC 檢出率之趨勢分析圖

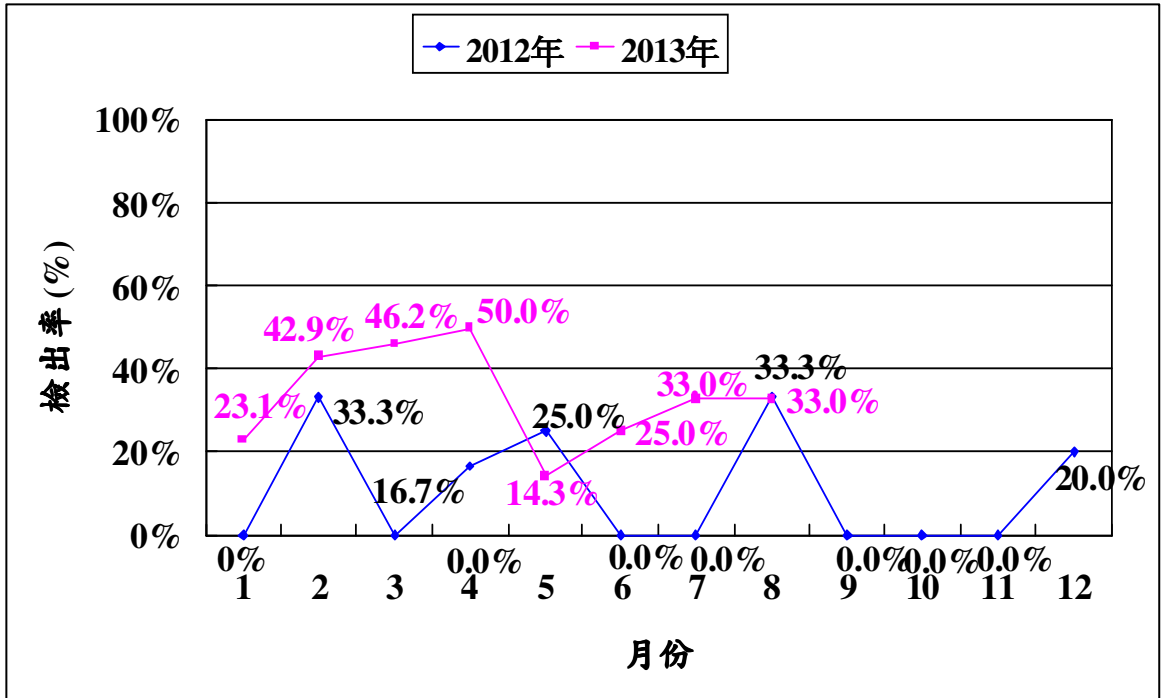


圖 14、編號 B 醫院 KPC 檢出率之趨勢分析圖

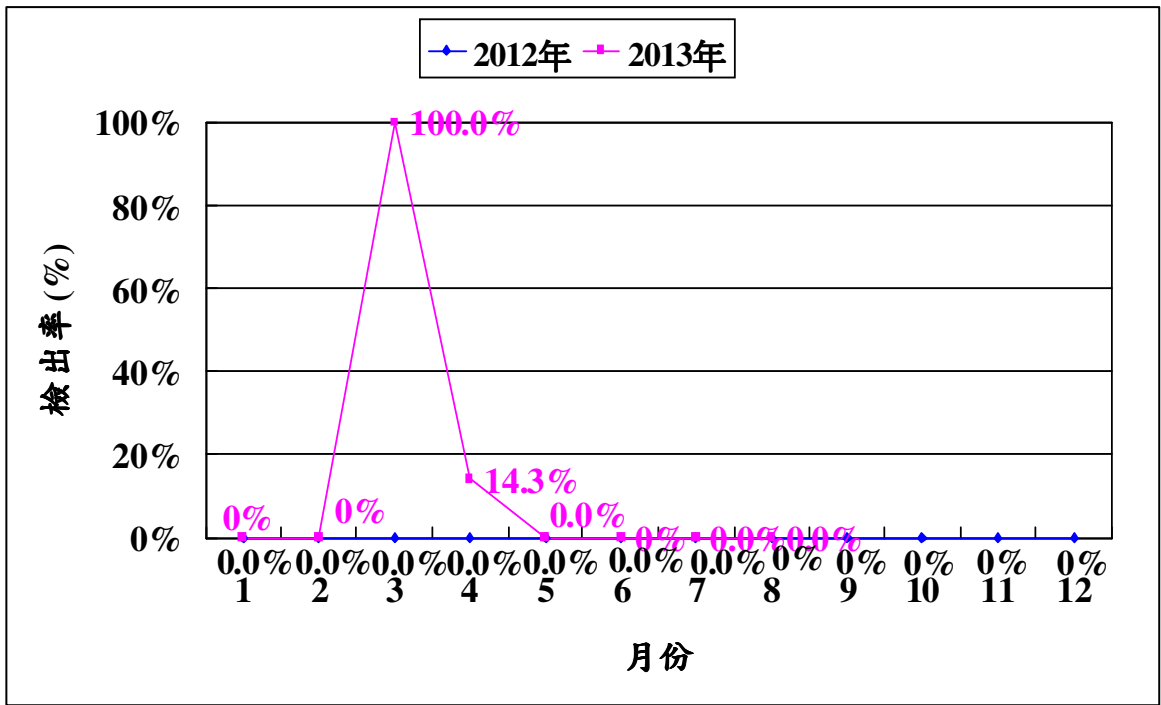


圖 15、編號 C 醫院 KPC 檢出率之趨勢分析圖

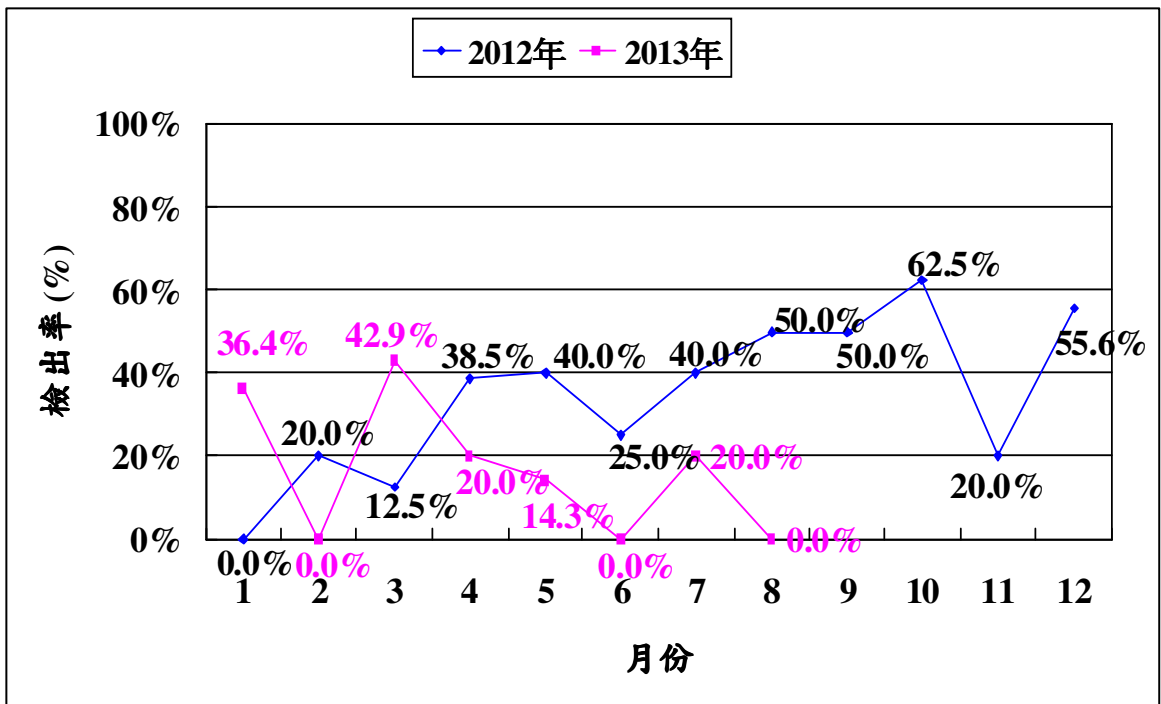


圖 16、編號 D 醫院 KPC 檢出率之趨勢分析圖

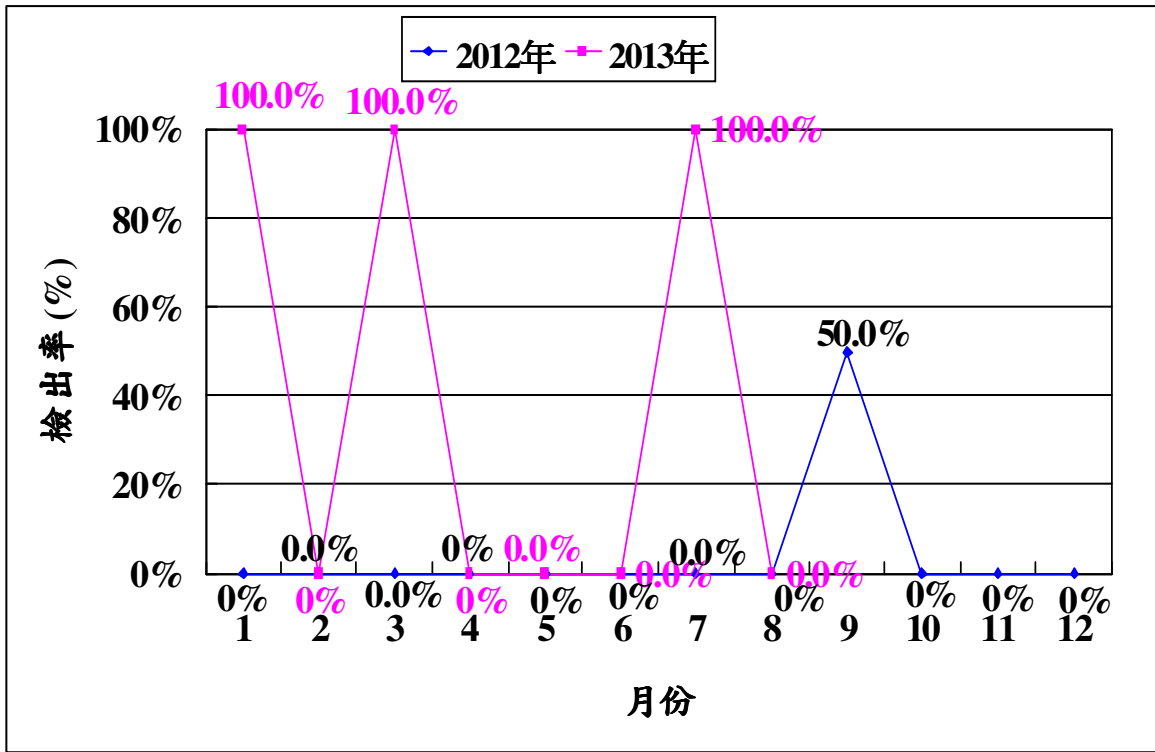


圖 17、編號 F 醫院 KPC 檢出率之趨勢分析圖

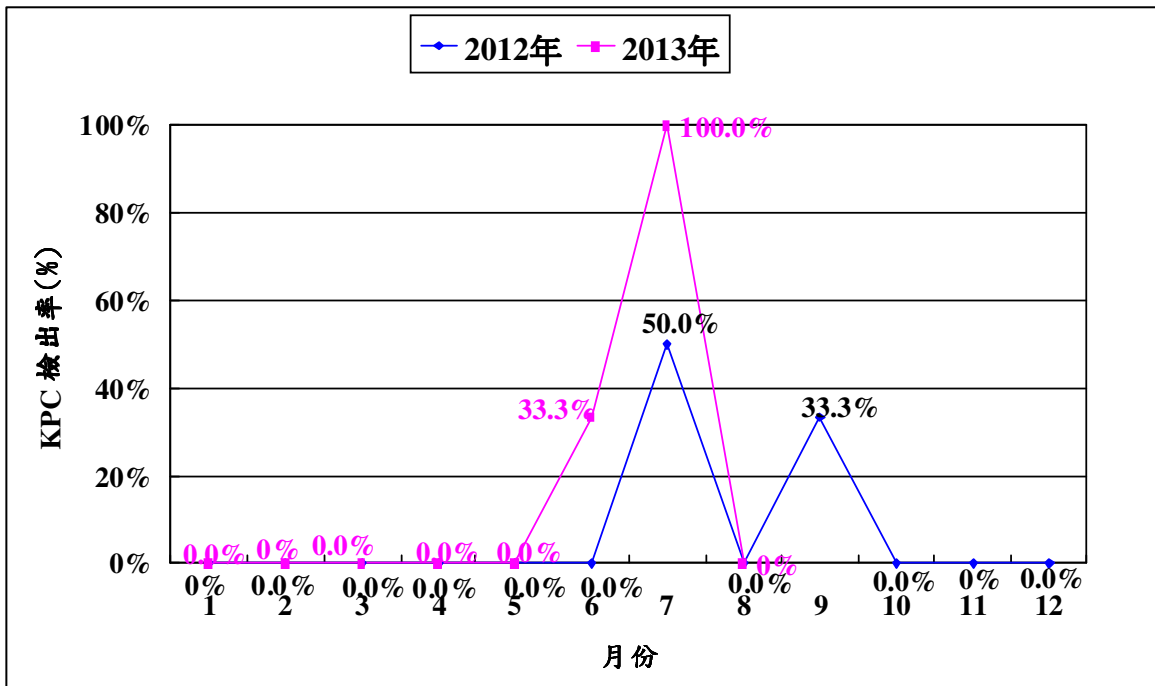


圖 18、編號 G 醫院 KPC 檢出率之趨勢分析圖

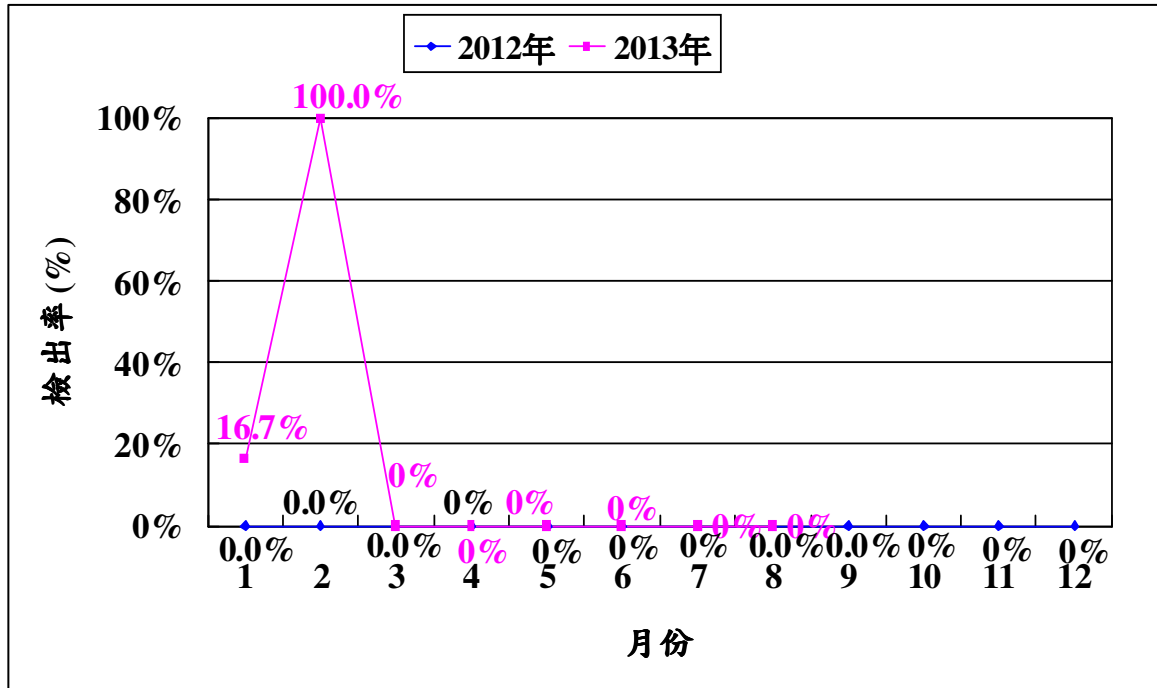


圖 19、編號 I 醫院 KPC 檢出率之趨勢分析圖

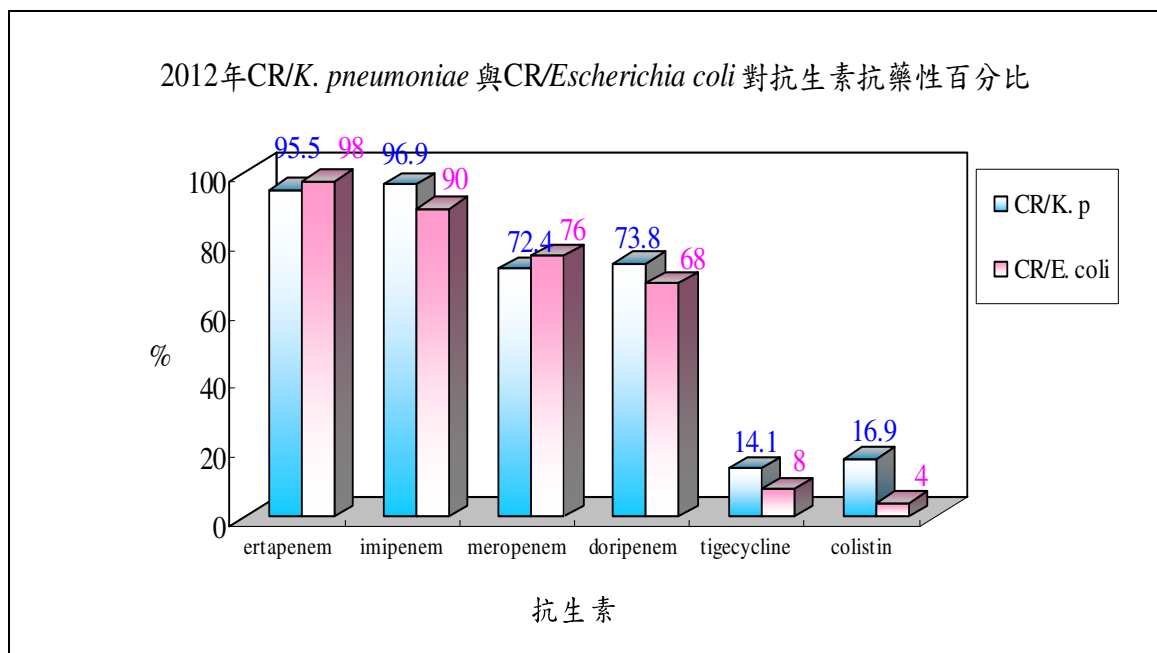


圖 20、WHONET 統計軟體分析圖_2012 年度 CR/K. pneumoniae 與 CR/Escherichia coli 抗生素藥敏試驗結果

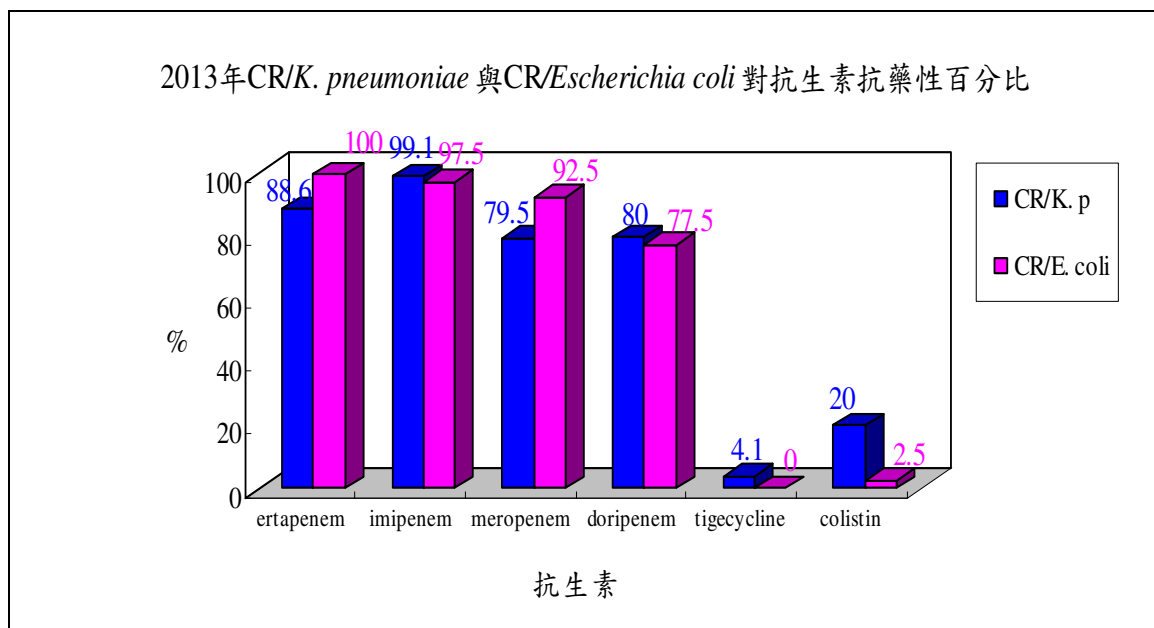


圖 21、WHONET 統計軟體分析圖_2013 年 (1~9 月) CR/*K. pneumoniae* 與 CR/*Escherichia coli* 抗生素藥敏試驗結果

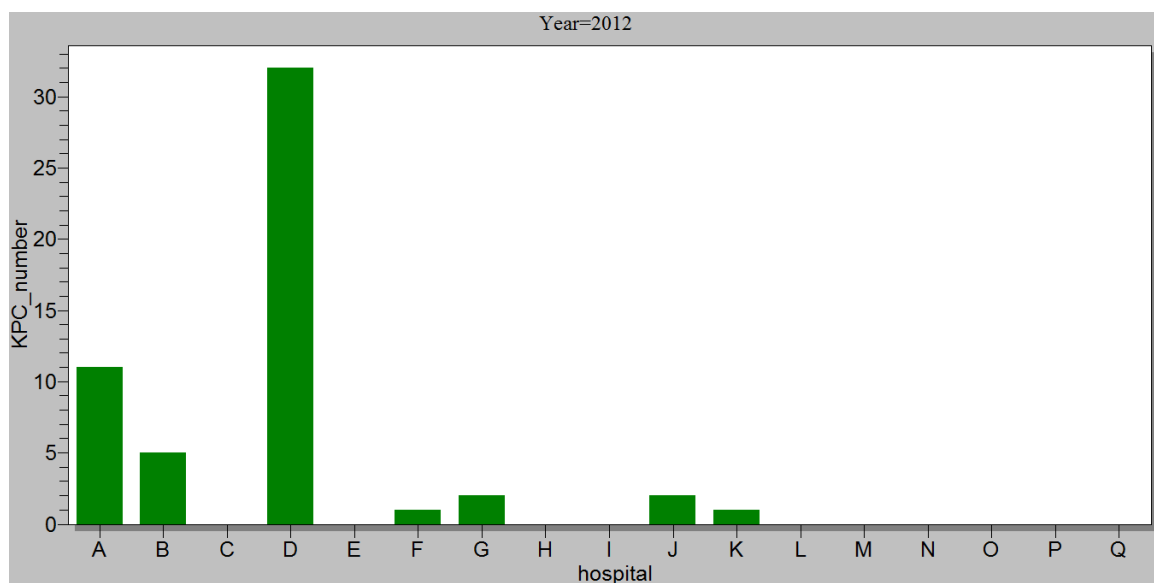


圖 22、Epi Info 統計軟體分析圖_2012 年度 KPC 菌株的動態趨勢 (17 家)

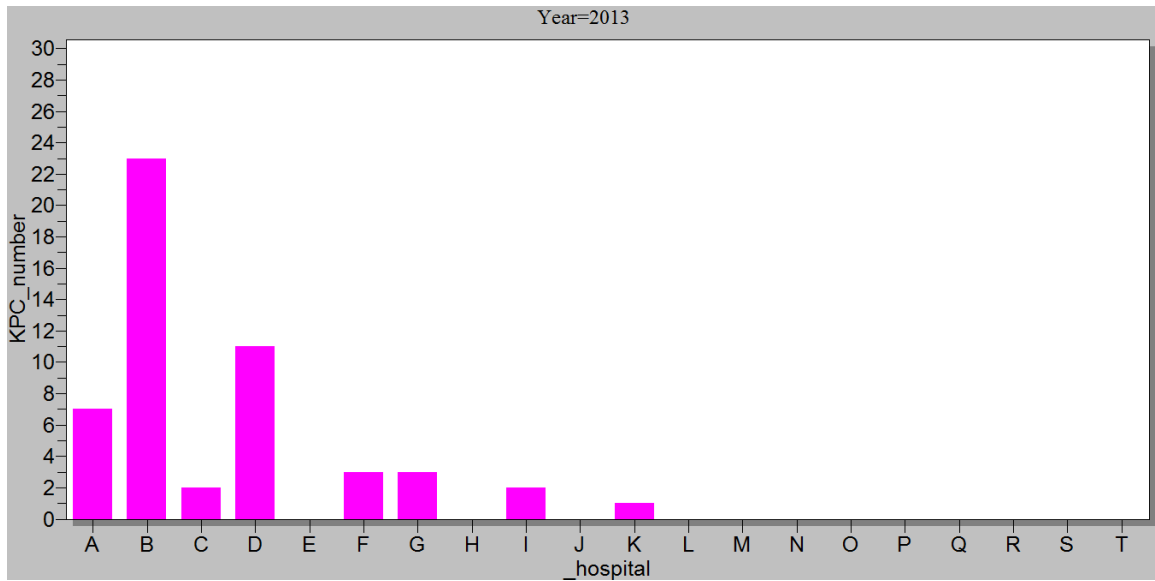


圖 23、Epi Info 統計軟體分析圖_2013 年度 (1~9 月) KPC 菌株的動態趨勢 (20 家)