行政院衛生署疾病管制局九十四年度科技研究計畫

成果報告(期末報告)

（自 94 年 3 月至 94 年 12 月止）

計畫名稱：建立院內感染管制分子生物流行病學中心：統合分子流行病學於特殊單位之群突發調查、預防及抗藥性細菌之監測

計畫編號：DOH 94-DC-1110

研究起訖：94 年 3 月 1 日-94 年 12 月 31 日

申請機構：財團法人奇美醫院

主 持 人：莊銀清

職　　稱：研究員

聯絡電話：06-2812811 ext:52612

電子郵件：chuangkenneth@hotmail.com

聯 絡 人：莊銀清

傳　　真：06-2833351

填表日期： 94-12-10

目錄

目次

中文摘要----------(2)

英文摘要----------(3)

前言----------(4)

材料與方法----------(6)

結果與討論----------(7)

結論與建議----------(11)

參考文獻----------(12)

圖次、表次

圖表一----------(14)

圖表二----------(16)

圖表三----------(18)

圖表四----------(20)

圖表五----------(22)

圖表六----------(23)

表七----------(25)

圖表七-1----------(26)

圖表七-2----------(27)

圖表七-3----------(28)

表八----------(29)

圖八----------(30)

摘要

中文摘要

台灣各醫院現行已建立很好之院內感染個案監控系統與群突發之調查和控制能力。現行院內感染防治方法主要以建立感染率監測方式，達到控制群突發之目的。但是造成群突發之細菌本身可能有其容易傳播之能力，而非單純醫護人員感控措施鬆散之結果。故院內感染監控系統除了感染個案監控外，也應融入病原菌之監控。本研究乃以長遠之觀點，應用分子生物科技方法，以細菌為監控對象，早期偵測群突發或流行菌株(epidemic strain)之傳播現象，以進一步降低院內感染之流行。我們的實施方法是先建立常設性院內感染分子生物流行病學中心 (Regional Molecular Epidemiology Center)，追蹤常見院內感染之多重抗藥性流行菌株，建立其基因指紋(DNA fingerprinting)資料庫，以能隨時輔導醫院菌株流行之鑑定，特別是多重抗藥性流行菌株。本計畫第一年為推廣期，但研究期間已確實對南部多家醫院提供協助，包括成大醫院、台南市立醫院、大林慈濟醫院與奇美醫院等多次提供之菌株，包括 *Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Acinetobacter baumanii* 和 *Stenotrophomonas maltophilia* 等，均能適時分析判斷其流行情況。同時對今年於台南縣市社區流行之類鼻疽疫情，更因本計畫之建立，也能適時發揮供功能，完成類鼻疽基因分型，對社區疫情之分析，提供莫大的幫忙，展現本計畫多功能的一面。

關鍵詞：群突發(outbreak)，流行菌株 (epidemic strain)，基因指紋 (DNA fingerprinting)，

區域性分子生物流行病學中心 (Regional Molecular Epidemiology Center)，

脈衝電泳法 (PFGE)

英文摘要

There have been well-performed infection control programs focusing on case surveillance among hospitals in Taiwan. The current infection control strategy is based on infection rate monitoring in order to detect and control outbreaks. However, outbreaks may be conferred by the organisms that have potential spreading abilities per se, but not due to inadequate infection control practice of medical personnel. Therefore, infection control policy should be integrated with pathogen monitoring in addition to case surveillance. The study designed a long-term system using molecular techniques to monitor nosocomial pathogen with goals to early detect dissemination of epidemic strains or outbreak development, in order to slow down epidemic of nosocomial infections. The methods we used was to set up a permanent Regional Molecular Epidemiology Center, longitudinally monitoring multi-resistant nosocomial epidemic strains, setting up data base of their DNA fingerprinting, in order to identify hospital epidemic clones in time, particularly focusing on epidemic clones with multi-resistance. During the first year of the study program, we intend to educate regional hospitals in southern Taiwan to know about the program, and we really did a lot of help to the surrounding hospitals, including Chen-Kung University Hospital, Tainan Municipal Hospital, Dalin Tsi-Chi Hospital, and Chi-Mei medical Center. We have performed DNA fingerprinting experiments for many organisms, including *Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Acinetobacter baumannii* 和 *Stenotrophomonas maltophilia*, and identify a epidemic clone or not in time. Meanwhile, we came across a major outbreak of melioidosis occurring in Tainan area this year. Our project also performed the DNA genotypes of these epidemic *Burkholdelria pseudomallei* in time and offered a great help to analysis the epidemiology of melioidosis acquired in the community, displaying a multi-functional aspect of our center.

Key words: DNA fingerprinting，epidemic strain，outbreak，pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)，Regional Molecular Epidemiology Center

本文

(1) 前言

根據美國研究以 1985 年之幣值換算，平均每一次院內感染額外支出 1,833 美元(1-2)。但依美國 diagnosis related group (DRG)制度，平均每一次院內感染醫院只能額外申報不到 93 美元, 也就是說醫院需自己吸收 95%的院內感染醫療負擔(3)。台灣過去全民健保制度，依台大研究以 2001 年之幣值換算，平均每一次院內感染額外花費台幣 224,573 元(4)，原則上這全部由健保局負擔。台灣現行總額給付制度與卓越計畫，雖少有健保刪減問題，但醫院如果申報費用超出原先設定之總額，將由醫院自己吸收超額部分。因此，醫院需有效率地自我控制醫療成本。

依報載(94-1-6)監察院認定健保局總額給付制度，缺乏完善配套措施，未提供醫院節制醫療成本之計畫。因此吾人思索如果能**適當控制院內感染之發生**，特別是群突發之調查、控制與預防，應能降低醫療費用。但事實上，除了明顯群突發之控制，醫院並無能力進一步控制院內感染之發生來達到節制醫療成本的目的。因為這個目的並不容易達成，也不是一蹴可幾，需要更科學的方法與有效率的作為來統合多家醫院，共同來執行管控意志。特別是流行菌株是會在不同醫院間不斷重複感染病人的。

台灣各醫院(區域醫院級以上)已建立很好之院內感染監控系統與群突發之控制能力。但對於各醫院之固有感染率(endemic rate), 只要在合理範圍內(2), 各醫院並無能力再進一步改善。但群突發只是院內感染之冰山一角，醫院經常性之固有感染才是院內感染之大本營。現行也沒有醫院對細菌進行長期之監控，醫護人員對於是否面臨具有特殊傳播能力之細菌，也混然不知。

依美國 DRG 制度，由醫院負擔大部份院內感染額外花費，對醫院並不公平，因為即使很好的院內感染監測與管制，只能預防 32%的感染機會(5)。醫院開始與大學醫學中心合作，發展分子生物流病中心(center for molecular epidemiology, CEM)，以建立各醫院分離病菌之 DNA 指紋(fingerprinting)資料庫，若早期監測到兩株細菌為相同

DNA 指紋型態，醫院便提前投入感控人力，以預防細菌進一步擴散感染或產生群突發，減少醫院更進一步之損失。如 Iowa 州立大學醫學中心成立 Emerging Infectious and the Epidemiology of Iowa Organisms (EIEIO)區域性計畫(6)及 Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiologic Importance (SCOPE)全國性整合計畫(7)。Rockefeller 大學更結合 CEM 與抗藥性基因研究，成立區域科學中心(Regional Science Center)，進一步強化區域醫療網之細菌監測能力與密切追蹤抗藥性菌種之散播(8-9)。以「科學辦案」之精神追查致病菌的來源，利用細菌 DNA 指紋資料庫與鑑定技術，對於高流行菌株出現時，由負責中心及時通知相關醫院，加強實施感控措施，以預防群突發產生。

吾人過去研究發現，醫院之固有院內感染，時有相同 DNA 指紋之細菌在傳播(10-12)。在德國也有類似的報導，某泌尿科病房從其中 144 個泌尿道感染病人，以 RAPD 及 PFGE 之 DNA 指紋技術判定 70%感染多來自醫院其他病患之尿液或糞便的細菌，結論是該醫院泌尿科病房之衛生控制方法宜再加強與改善(13)。文獻少有流行株具特殊傳播能力之研究報告，在英國曾針對 Burkholderia cepacia 之流行株與非流行株比較其傳播因子，發現流行株之傳播能力與攜帶 cblA gene (encoding giant calble pilli) 有關，因此建議以 PCR 方式偵測 B. cepacia 是否攜帶 cblA gene，以提供感控措施之參考(14)。他們也試圖用更經確基因分型方法幫忙鑑定有傳播能力之 Acinetobacter baumannii (15)。

本研究計畫希望建立一區域性院內感染分子生物流行病學中心，以常設型態之實驗室與專職研究助理，幫助區域內醫院建立病菌 DNA 指紋資料庫，並能隨時鑑定區域內醫院送檢之細菌，利用 DNA 分子生物技術，早日判定菌種傳播之潛能或現象，以期提早終止流行菌種傳播感染與預防群突發。防治上，當醫院同一特殊單位出現兩株相同抗藥型態之細菌時，即可視為群突發之臨床警訊，鼓勵醫院提前送檢，若發現 DNA 指紋分型相同或與之前建檔之流行株相同，即由本中心之感控人員通知送檢醫院，醫院才會早期投入管制人力與隔離措施，避免群突發產生。

(2) 材料與方法

檢體的製備：挑取單一菌落培養在 3ml TSB 培養液(standard trypticase soy broth, Becton Dickinson and Co., Cockeysville, Md.)，在 37℃培養 16-18 小時。次日，以 10,000rpm 離心 3mL TSB 培養液、5 分鐘，棄上清液，再以 SE 緩衝液 (75 mM NaCl, pH 8.0; 25 mM EDTA, pH 8.0)清洗。將菌液密度調整為 1.40 (O.D.610nm)。以 TE 緩衝液(10 mM Tris, pH 8.0; 1 mM EDTA, pH 8.0)溶解染 色體級洋菜膠 (chromosomal grade agarose，Bio-Rad Laboratories，Richmond， CA，USA)至 1.2%，維持在 55℃。以 0.5 mL 細胞懸浮液(cell suspension)和 0.5mL 洋菜膠均勻混合，再將混合液加入填充模型(plug mold，Bio-Rad Laboratories)中，4℃靜置 10 分鐘使其凝固。等填充物凝固後，取出填 充物放進 lysis buffer (50 mM Tris, pH 8.0; 50 mM EDTA, pH 8.0; 1% sarcosine; 1 mg of proteinase K per mL)中，在 55℃水浴 16-20 小時。移除 lysis buffer。以 5mL 滅菌水(sterile distilled water)浸泡填充物 5 分鐘；在室溫中以 TE 緩衝液浸泡填充物 5 分鐘。以 TE 緩衝液清洗 4 次，每次 30 分鐘。將填充物浸泡在 200 μL 置於不含限制酵素之反應溶液中 30 分鐘。移除反應溶液。將填充物放在剛混合好的限制酶反應液(50 U restriction enzyme 和 1×restriction buffer)中，培養在 37℃ 16 至 20 小時。完成上述步驟後，將填充物預先浸泡在 0.5×TBE 電泳緩衝液，置室溫備用。

脈衝式電泳：以電泳槽 CHEF-mapper 脈衝式電泳系統跑 1.0%洋菜膠。電泳條件為溫度 14℃、電場角度 120°、變換時間為 2.16 至 54.17 秒、電泳時間 22 小時、電壓 200 V。以 Lambda Ladder PFG marker (BioLabs, New England)當作分子量標記。將電泳膠放在 1L 之 EtBr 溶液(含 100 μL ethidium bromide, 10 mg/mL)中染色 30 分鐘。再以 1 公升蒸餾水退染 3 次，每次 30 分鐘。 拍照紀錄電泳膠上的結果，並儲存成圖檔。利用數位分析軟體分析紀錄圖檔，並進行 PFGE 模式分析。

(3) 結果與討論

一、*Escherichia coli* 泌尿道感染之流行性評估

為釐清台南市立醫院是否有 *Escherichia coli* 院內感染之疑慮，取台南市立醫院 6 株 *Escherichia coli* 菌株(菌種資料詳見表一)，進行 PFGE 細菌 DNA 分型後，以電泳圖呈現結果(圖一)。由電泳圖可見，Lane2 ~ Lane 6 菌體 DNA 切割片段之分布位置皆不相同。其多重抗藥性之機轉主要是分泌 AmpC 之 CMY-2, 及少數 CTX-M。

討論：該院急診處於一週內相繼接到相同抗藥型之 *Escherichia coli* 泌尿道感染病人, 均由安養中心轉診, 該院感控人員擔心安養中心是否有群途發, 因此採菌送檢。經分析基因分型可知，並非流行株造成之感染。但其多重抗藥性之發生也相當普遍, 值的持續觀察與注意。

二、*Klebsiella pneumoniae* 感染同一個體之同一時間不同部位的菌種基因型歧異度分析

為釐清奇美醫院 *Klebsiella pneumoniae* 感染同一個體之不同部位的菌種基因型歧異性，取奇美醫院 27 株 *Klebsiella pneumoniae* 菌株(表二)，進行 PFGE 細菌 DNA 分型後，以電泳圖呈現結果(圖二)。由電泳圖可見，多數個體不同部位感染 *Klebsiella pneumoniae*，其菌種基因型歧異度並無差異；病人 5 (KP302，307)及病人 6 (KP308, 309) 兩組較為例外，*Klebsiella pneumoniae* 菌種基因型歧異度差異性大。

討論：多數同一個體之同一時間不同部位的菌種基因型相同, 代表各部位之感染來自同一來源, 其病有因果關係, 為同一次感染之細菌擴散或轉移, 需加強抗生素之治療；病人 5 (KP302，307)及病人 6 (KP308, 309) 兩組基因型不同, 代表細菌來自不同來源之兩次院內感染, 需加強感控措施。兩者相關之研究探討已發表於國內感染控制

雜誌 (16)。

三、*Actinobacter baumanniii* 院內感染之評估

為釐清大林慈濟醫院是否有 *Actinobacter baumanniii* 院內感染之疑慮，取大林慈濟醫院 25 株 *Actinobacter baumanniii* 菌株(表三)，進行 PFGE 細菌 DNA 分型後，以電泳圖呈現結果(圖三)。由電泳圖可見，Lane2 ~ Lane 26 菌體 DNA 切割片段之分布位置皆相似。

討論：由此可知，該院有院內感染之流行，且時間已長達半年，表示可能已轉為該院固有之感染(endemic infection)，預期將很難控制。

四、*Klebsiella pneumoniae* 感染同一個體同一部位之不同時間反覆感染的菌種歧異度分析

為釐清成大醫院 *Klebsiella pneumoniae* 感染同一個體之不同時間反覆感染的菌種基因型歧異性，取成大醫院 15 株 *Klebsiella pneumoniae* 菌株(表四)，進行 PFGE 細菌 DNA 分型後，以電泳圖呈現結果(圖四)。由電泳圖可見，多數個體不同時間反覆感染的 *Klebsiella pneumoniae*，其菌種基因型歧異度並無差異，；病人 7 (KP 14-15)一組為例外，*Klebsiella pneumoniae* 基因型歧異度差異性大。兩種基因型之臨床意義均有進一步研究探討之價值。

討論：多數個體不同時間反覆感染(recurrent)，均為相同基因型，判斷為復發性感染，可能有潛藏之儲存窩，讓細菌復發感染(relapse)。病人 7 (KP 14-15)為不同基因型，判斷為再次感染，可能病人免疫力弱或有結構之問題，容易讓不同源之細菌重覆感染

(reinfection)。

五、*Actinobacter baumannii* 院內感染之評估

為釐清台南市立醫院醫院是否有 *Actinobacter baumanniii* 院內感染之疑慮，取市立醫院醫院 7 株 *Actinobacter baumannii* 菌株(表五)，進行 PFGE 細菌 DNA 分型後，以電泳圖呈現結果(圖五)。由電泳圖可見，Lane2 ~ 5 與 Lane 7~ 9 菌體 DNA 切割片段之分布位置皆相似。

討論：由此可知，該院此次有院內感染之流行。

六、*Actinobacter baumanniii* 院內感染之評估

為釐清大林慈濟醫院是否有 *Actinobacter baumanniii* 院內感染之疑慮，取大林慈濟醫院 26 株 *Actinobacter baumanniii* 菌株(表六)，進行 PFGE 細菌 DNA 分型後，以電泳圖呈現結果(圖六)。由電泳圖可見，菌體 DNA 切割片段分為 A ~ J 型(10 型)，其中以 B 型居多。

討論：由此可知，該院仍有院內感染持續在進行, 可能已轉為該院固有之感染。需貫徹感染管制措施。

七、*Stenotrophomonas maltophilia* 環境株與臨床株菌種歧異度分型之評估

協助奇美醫院醫院呼吸照護中心院內 *Stenotrophomonas maltophilia* 環境株與臨床株感染控制之評估，取奇美醫院醫院 32 株 *Stenotrophomonas maltophilia* 菌株(表七之一)，進行 PFGE 細菌 DNA 分型後，以電泳圖呈現結果(圖七之一、七之二、七之三與附表七之二、七之三、七之四)。由電泳圖可見，菌體 DNA 切割片段分為 A ~ N 型(14 型)，其中環境株與臨床株各有相同與相異之分型。

討論：奇美醫院醫院呼吸照護中心因 *S. trophomonas* 培養個案增加，故開始進行調查。發現病人檢體株與其床位附近環境之培養株，確實有交叉污染之事實，但此細比對病人間之菌株並非相同之流行株，也就是說病人應由自我之抗生素篩選株所感染，並非由隔壁床病人之細菌交叉感染。但因已有嚴重環境污染之情形，仍需加強環境消毒工作與醫護人員之洗手動作，否則持續下去，很有可能發生群突發。

八、*Burkholderia pseudomallei* 菌株 DNA 分型歧異度之流行病學調查

協助奇美醫院醫院與市立醫院 *Burkholderia pseudomallei* 菌種歧異度之流行病學調查，取台南市立醫院 30 株，台南奇美醫院 6 株(表八)，進行 PFGE 細菌 DNA 分型後，以電腦軟體圖呈現結果(圖八之一、八之二)。由電腦軟體分析可見，*Burkholderia pseudomallei* 菌種 DNA 分型歧異度具有 90%以上的高度同源性。

討論：此次颱風後造成台南縣市社區性流形之類鼻疽，其 DNA 分型經由電腦比對後確認為相同來源之群突發。其與過去台南縣市所發生之類鼻疽是否相同基因型也正著手進行中。社區型感染症之分子流行病學並非本計畫原先所預期要執行之項目，所幸吾人先有本計畫之準備，剛好可派上用場，適時發揮功能。正是”不恃敵之不來，正恃吾有以待之”。可見設立長遠性質之分子生物流行病學中心之重要性，隨時可以應付各種流行疫情之來臨。其它類鼻疽相關之疫情調查，包括氣候風速雨量之資訊、病人外出情形、病情與微險因子分析與治療預候等，已由台南市醫、奇美醫院和成大醫院分別進行，並由成大感染科負責撰寫論文中，預期將可發表在國際重要之醫學期刊。

(4)結論與建議

1. 南部各縣市安養中心或慢性病院之多重抗藥性細菌感染是否相當普遍? 此問題需持續追蹤與調察，其分子流行病學資料庫與抗藥機轉仍需建立完成。
2. 分子流行病學在臨床應用上，對於同一個體之同一時間不同部位的菌種基因型是否相同，可提供各部位之感染來源因果關係之探討。
3. *Acinetobacter baumannii* 流行株，除了造成群突發外，可能於某些醫院已淪為固有感染，很多個案可能無明顯之流行相關性，但仍屬相同基因型。持續的加強醫院環境消毒與感控措施與細菌的監控均屬必要。如何執行，是另一重要課題。
4. 某些病患於相隔很久之不同時間，卻反覆的感染 *Klebsiella pneumoniae*。其菌種基因型多數無差異；但也有病人是不同基因型重覆感染。兩種基因型態覆發感染之臨床意義均值得探討，其臨床預後與感染原因也已著手調查分析中。
5. 病患之 *Stenotrophomonas maltophilia* 仍可能會高度污染醫院環境。本次調查雖無法證實有病患間交叉感染之分子生物學證據，但若放任不管，早晚會暴出群突發。因吾人適時介入調查，以 DNA 分型證明環境污染之嚴重，要求單位加強環境消毒、人員洗手與感控措施，避免了真正群突發之發生。因為病人株多為不同基因型，表示抗生素篩選壓力很大，因此配合抗生素管制措施，階段性從嚴審核 carbapenem 之使用，也有助於疫情之控制。
6. 分子生物流行病學中心之設立也有助於社區型流行性感染症之調查，如此次協助分析類鼻疽基因型，證實為相同來源之群突發事件。對於未來可能發生的各種細菌性疫情，不管是社區型或醫院內感染，吾人均有充分信心可應付，隨時派上用場。
7. 本計畫是疫情防治之基礎建設，唯有隨時準備與操練，技巧才能再改進。細菌種類繁多，各項基因分型所需條件不盡相同，也需平時多加嘗試揣摩，若臨時才要動員作實驗，並不一定做出好成果。所謂”養兵千日，用在一時”，況且新興菌種，隨時蓄勢待發，建議疾管局持續支持此項計畫之推展，使本分子生物流行病學中心真正成為地區上防疫的尖兵。

參考文獻

1. Haley RW, Schaberg DR, Crossley KB, Von Allmen SD, McGowan JE Jr. Extra charges and prolongation of stay attributable to nosocomial infections: a prospective interhospital comparison. Am J Med. 1981;70:51-8.
2. Haley RW, Culver DH, White JW, Morgan WM, Emori TG. The nationwide nosocomial infection rate. A new need for vital statistics. Am J Epidemiol 1985;121:159-67.
3. Haley RW, White JW, Culver DH, Hughes JM. The financial incentive for hospitals to prevent nosocomial infections under the prospective payment system. An empirical determination from a nationally representative sample. JAMA 1987;257:1611-4.
4. Sheng WH, Wang SW, Chang YY, Wang LH, Lin HC, Chang SC. Evaluation of extra-cost and hospitalization attributable to nosocomial infections. 中華民國醫院感染管制學會第九次學術研討會論文摘要 p56, 91 年 1 月台中榮總.
5. Haley RW, Culver DH, White JW, Morgan WM, Emori TG, Munn VP, Hooton TM. The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections in US hospitals. Am J Epidemiol 1985;121:182-205.
6. Diekema DJ, Messer SA, Brueggemann AB, Coffman SL, Doern GV, Herwaldt LA, Pfaller MA. Epidemiology of candidemia: 3-year results from the emerging infections and the epidemiology of Iowa organisms study. J Clin Microbiol 2002;40:1298-302.
7. Pfaller MA, Jones RN, Marshall SA, Coffman SL, Hollis RJ, Edmond MB, Wenzel RP. Inducible amp C beta-lactamase producing gram-negative bacilli from blood stream infections: frequency, antimicrobial susceptibility, and molecular epidemiology in a national surveillance program (SCOPE). Diagn Microbiol Infect Dis 1997;28:211-9.
8. de Lencastre H, Severina EP, Roberts RB, Kreiswirth BN, Tomasz A. Testing the efficacy of a molecular surveillance network: methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and vancomycin-resistant Enterococcus faecium (VREF) genotypes in six hospitals in the metropolitan New York City area. The BARG Initiative Pilot Study Group. Bacterial Antibiotic Resistance Group. Microb Drug Resist 1996;2:343-51.

9. Roberts RB, de Lencastre A, Eisner W, Severina EP, Shopsin B, Kreiswirth BN, Tomasz A. Molecular epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in 12 New York hospitals. MRSA Collaborative Study Group. J Infect Dis 1998;178:164-71.

10. Yu WL, Winokur PL, Jones RN, Sader HS. Surveillance in Taiwan using molecular epidemiology for extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. Infect Control Hosp Epidemiol 2004;25:812-8.

11. Yu WL, Winokur PL, Von Stein DL, Pfaller MA, Wang JH, Jones RN. First description of *Klebsiella pneumoniae* harboring CTX-M beta-lactamases (CTX-M-14 and CTX-M-3) in Taiwan. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:1098-100.

12. Joseph R,. DiPersio, Lalitagauri M. Deshpande, Douglas J. Biedenbach, Mark A. Toleman, Timothy R. Walshc and Ronald N. Jones. Evolution and dissemination of extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology and molecular report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2003). Diagn Microbiol Infect Dis 2005; 51:1-7.

13. Wagenlehner FM, Krcmery S, Held C, Klare I, Witte W, Bauernfeind A, Schneider I, Naber KG. Epidemiological analysis of the spread of pathogens from a urological ward using genotypic, phenotypic and clinical parameters. Int J Antimicrob Agents 2002;19:583-91.

14. Clode FE, Kaufmann ME, Malnick H, Pitt TL. Distribution of genes encoding putative transmissibility factors among epidemic and nonepidemic strains of Burkholderia cepacia from cystic fibrosis patients in the United Kingdom.
J Clin Microbiol 2000;38:1763-6.

15. Dijkshoorn L, Aucken H, Gerner-Smidt P, Janssen P, Kaufmann ME, Garaizar J, Ursing J, Pitt TL.Comparison of outbreak and nonoutbreak Acinetobacter baumannii strains by genotypic and phenotypic methods. J Clin Microbiol 1996;34:1519-25.

16. 余文良, 陳奇祥, 陳欽明, 黃恆慶, 李青蒨, 莊銀清, 鄭高珍. 以脈衝電泳法檢視同一病人不同部位培養出 *Klebsiella pneumoniae* 之臨床意義. 感控雜誌 2005;15:221-9

圖、表

表一之一、台南市立醫院檢送由急診室採集之尿液培養菌

菌種編號	電泳位置	檢體來源/類別	收集日期
EC 1	Lane 2	台南市立醫院/尿液	930931
EC 2	Lane 3	台南市立醫院/尿液	931010
EC 3	Lane 4	台南市立醫院/尿液	930928
EC 4	Lane 5	台南市立醫院/尿液	930928
EC 5	Lane 6	台南市立醫院/尿液	931012
6EC 6	Lane 7	台南市立醫院/尿液	930927

圖一

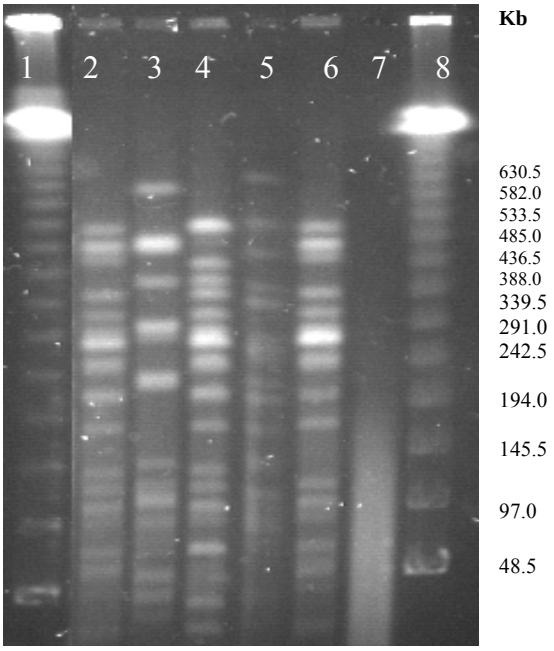


表 1-2、台南市立醫院六株相同多重抗藥型大腸桿菌之乙內醯氨酶之基因型

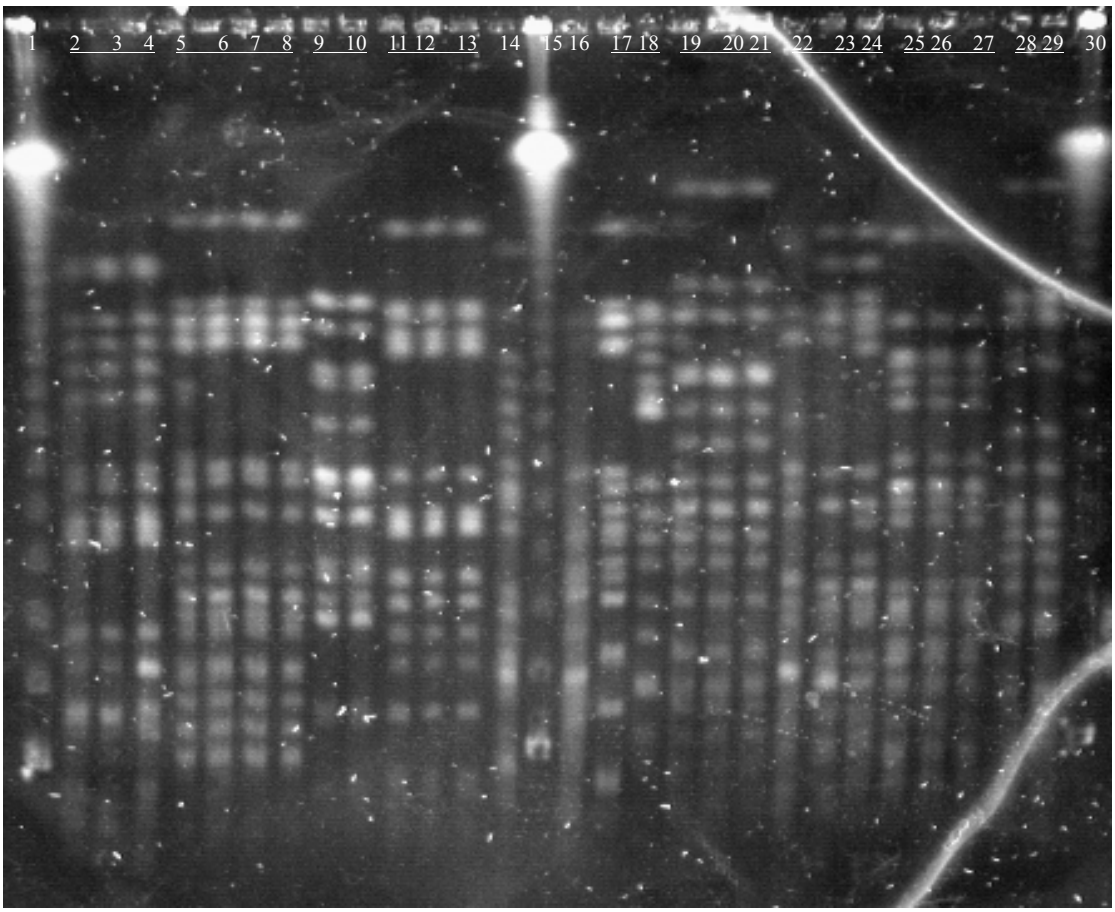
Strain no (Chart no)	No 1 (135360)	No 2 (197386)	No 3 (777918)	No 4 (153811)	No 5 (367443)	No 6 (781289)
Age / sex	71 / F	89 / F	73 / F	85 / F	92 / F	58 / F
檢體	尿液	尿液	尿液	尿液	尿液	尿液
採檢日期	930927	930928	930928	931005	931010	931012
Susceptible*	AN, FEP, IPM, MEM	AN, FEP, IPM, MEM	AN, FEP, IPM, MEM	AN, FEP, IPM, MEM	AN, FEP, IPM, MEM	AN, FEP, IPM, MEM
PFGE	nontypeable	D	C	A1	B	A2
ESBL	-	-	-	-	+	-
CTX-M-3	-	-	-	-	-	+
CTX-M-14	-	-	-	-	+	-
SHV-12	-	-	-	-	-	-
CMY-2	+	+	+	+	-	+

*Resistant to AM, AMC, CAZ, CMZ, CRO, CXM, CZ, GM, LVX, PIP, SXT; intermediate to TZP (AM, ampicillin; AMC, augmentin; AN, amikacin; CAZ, ceftazidime; CMZ, cefmetazole; CRO, ceftriaxone; CXM, cefuroxime; CZ, cefazolin; FEP, cefepime; GM, gentamicin; IPM, imipenem; LVX, levofloxacin; MEM, meropenem; PIP, piperacillin; SXT, TMP/SMX; TZP: tazocin)

表二、同一個體之同一時間不同部位的 *K. pneumoniae* 菌種基因分型

病人/菌號	電泳位置	檢體來源/類別	收集日期
1-KP 276	Lane 2	奇美醫院/痰液	930320
1-KP 284	Lane 3	奇美醫院/痰液	930403
1-KP 290	Lane 4	奇美醫院/血液	930407
2-KP 280	Lane 5	奇美醫院/痰液	930331
2-KP 285	Lane 6	奇美醫院/wound of CV	930406
2-KP 286	Lane 7	奇美醫院/血液	930406
2-KP 287	Lane 8	奇美醫院/Cvp-tip	930407
3-KP 288	Lane 9	奇美醫院/痰液	930407
3-KP 292	Lane 10	奇美醫院/腹水	930412
4-KP 294	Lane 11	奇美醫院/膿	930409
4-KP 295	Lane 12	奇美醫院/膽汁	930409
4-KP 296	Lane 13	奇美醫院/血液	930409
5-KP 302*	**Lane 14**	**奇美醫院/Pancreatic pig tail**	**930420**
5-KP 307*	**Lane 16**	**奇美醫院/腹水**	**930428**
6-KP 308*	**Lane 17**	**奇美醫院/痰液**	**930503**
6-KP 309*	**Lane 18**	**奇美醫院/尿液**	**930504**
7-KP 376	Lane 19	奇美醫院/尿液	930812
7-KP 377	Lane 20	奇美醫院/痰液	930812
7-KP 379	Lane 21	奇美醫院/血液	930812
8-KP 313	Lane 22	奇美醫院/痰液	930525
8-KP 320	Lane 23	奇美醫院/支氣管洗液	930512
8-KP 330	Lane 24	奇美醫院/痰液	930517
9-KP 357	Lane 25	奇美醫院/痰液	930710
9-KP 358	Lane 26	奇美醫院/血液	930710
9-KP 362	Lane 27	奇美醫院/膿	930712
10-KP 394	Lane 28	奇美醫院/血液	940103
10-KP 395	Lane 29	奇美醫院/痰液	940103

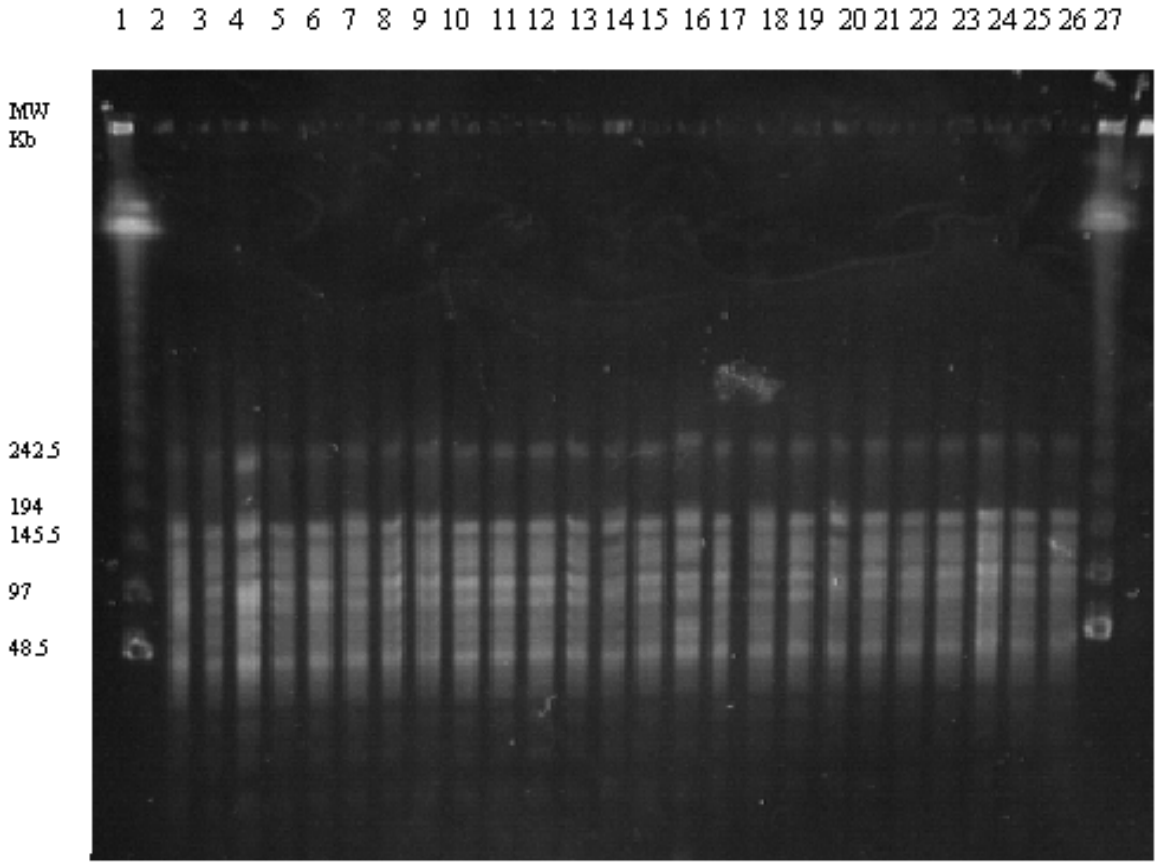
圖二


1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30

表三、大林慈濟醫院檢送 *Acinetobacter baumannii* 之 DNA 分型

菌種編號	電泳位置	檢體來源/類別	收集日期
AB 1	Lane 2	大林慈濟/ Urine	930323
AB 2	Lane 3	大林慈濟/ Sputum	930407
AB 3	Lane 4	大林慈濟/ Sputum	930421
AB 4	Lane 5	大林慈濟/ Sputum	930330
AB 5	Lane 6	大林慈濟/ Wound	930423
AB 6	Lane 7	大林慈濟/ Sputum	930726
AB 7	Lane 8	大林慈濟/ Sputum	030621
AB 8	Lane 9	大林慈濟/ CUP line	030628
AB 9	Lane 10	大林慈濟/ CUP line	930629
AB 10	Lane 11	大林慈濟/ Sputum	930423
AB 11	Lane 12	大林慈濟/ Sputum	930715
AB 12	Lane 13	大林慈濟/ Wound	030707
AB 13	Lane 15	大林慈濟/ Sputum	930708
AB 14	Lane 16	大林慈濟/ Sputum	930224
AB 15	Lane 17	大林慈濟/ Sputum	930316
AB 16	Lane 18	大林慈濟/ Wound	930503
AB 17	Lane 19	大林慈濟/ Sputum	930308
AB 18	Lane 20	大林慈濟/ Blood	930627
AB 19	Lane 21	大林慈濟/ Sputum	930221
AB 20	Lane 22	大林慈濟/ Bronchal washing	930712
AB 21	Lane 23	大林慈濟/ Sputum	930719
AB 22	Lane 24	大林慈濟/ Sputum	930702
AB 23	Lane 25	大林慈濟/ Sputum	930706
AB 24	Lane 26	大林慈濟/ Sputum	930715
AB 25	Lane 27	大林慈濟/ Sputum	930722

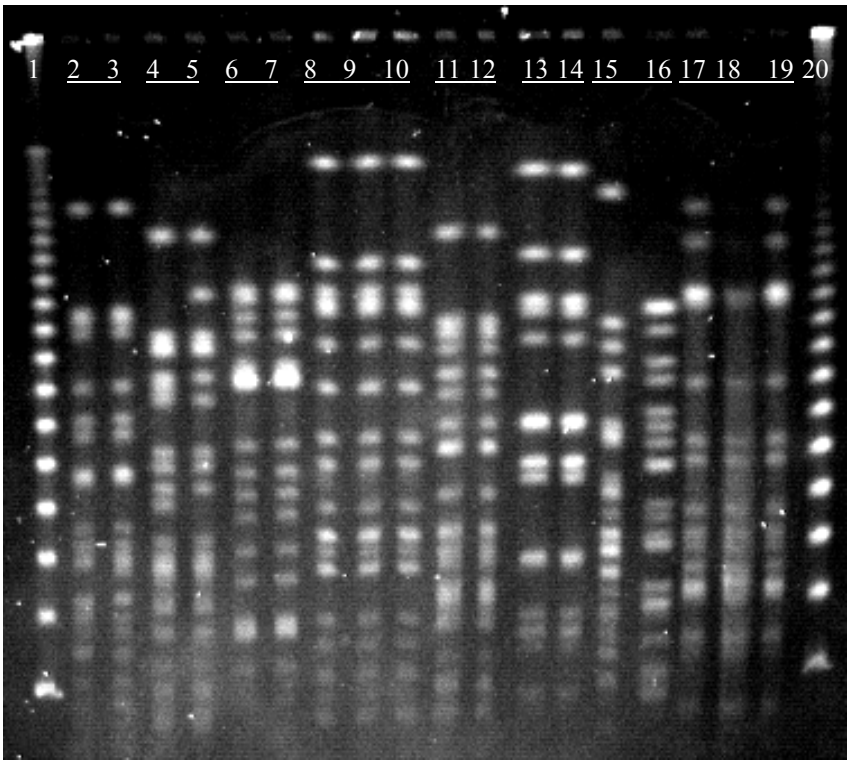
圖三


1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27
MW
Kb
242.5
194
145.5
97
48.5

表四、同一個體之不同時間反覆血流感染 *K. pneumoniae*

病人/菌種	電泳位置	檢體來源/類別	收集日期
1-KP 1	Lane 2	成大醫院/ Blood	880925
1-KP 2	Lane 3	成大醫院/ Blood	910810
2-KP 3	Lane 4	成大醫院/ Blood	881009
2-KP 4	Lane 5	成大醫院/ Blood	881206
3-KP 5	Lane 6	成大醫院/ Blood	890316
3-KP 6	Lane 7	成大醫院/ Blood	890725
4-KP 7	Lane 8	成大醫院/ Blood	890626
4-KP 8	Lane 9	成大醫院/ Blood	890720
4-KP 9	Lane 10	成大醫院/ Blood	890807
5-KP 10	Lane 11	成大醫院/ Blood	890424
5-KP 11	Lane 12	成大醫院/ Blood	890704
6-KP 12	Lane 13	成大醫院/ Blood	890821
6-KP 13	Lane 14	成大醫院/ Blood	891116
7-KP 14	Lane 15	成大醫院/ Blood	890915
7-KP 15	Lane 16	成大醫院/ Blood	900118
8-KP 16	Lane 17	奇美醫院/ Urine	940411
8-KP 17	Lane 18	奇美醫院/ Sputum	940414
8-KP 18	Lane 19	奇美醫院/ Blood	940417

附圖四

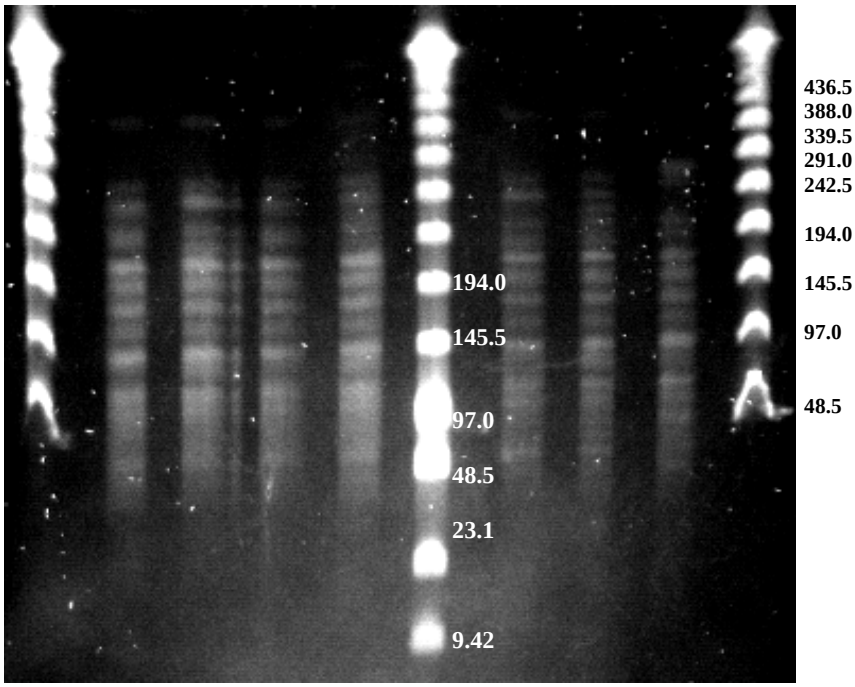


Fragment	Lambda Ladder (MK = Maker, Size, kb)
21	1018.5
20	970.0
19	921.5
18	873.0
17	824.5
16	776.0
15	727.5
14	679.0
13	630.5
12	582.0
11	533.5
10	485.0
9	436.5
8	388.0
7	339.5
6	291.0
5	242.5
4	194.0
3	145.5
2	97.0
1	48.5

表五、台南市立醫院檢送 *Acinetobacter baumannii* 之 DNA 分型

菌種編號	電泳位置	檢體來源/類別	收集日期
AB 2-1	Lane 2	市立醫院/Sputum	940320
AB 2-2	Lane 3	市立醫院/Sputum	940323
AB 2-3	Lane 4	市立醫院/Sputum	940324
AB 2-4	Lane 5	市立醫院/Sputum	940326
AB 2-5	Lane 7	市立醫院/Sputum	940406
AB 2-6	Lane 8	市立醫院/Sputum	940409
AB 2-7	Lane 9	市立醫院/Sputum	940412

圖五

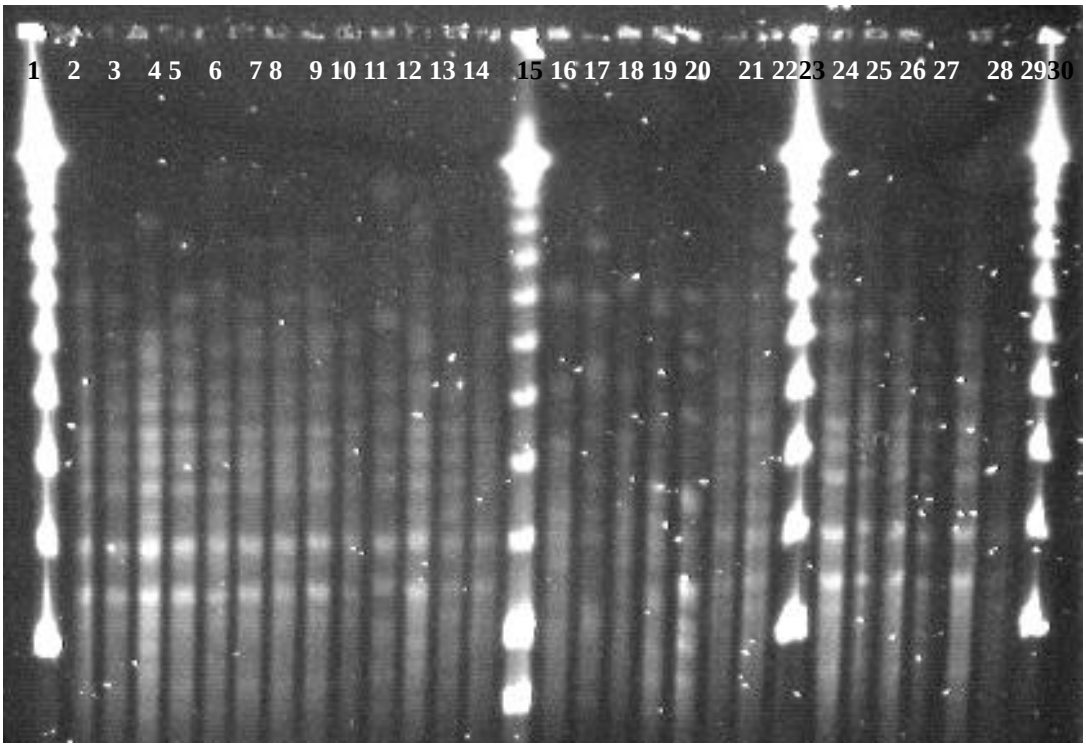


Lambda Maker　　Low range Maker　　Lambda Maker

表六、大林慈濟醫院檢送 *Acinetobacter baumannii* 之 DNA 分型

菌種編號	電泳位置	檢體來源/類別	分型結果
AB1-35	Lane 2	大林慈濟	/
AB1-36	Lane 3	大林慈濟	A 型
AB1-37	Lane 4	大林慈濟	B 型
AB1-38	Lane 5	大林慈濟	A 型
AB1-39	Lane 6	大林慈濟	B 型
AB1-40	Lane 7	大林慈濟	B 型
AB1-41	Lane 8	大林慈濟	B 型
AB1-42	Lane 9	大林慈濟	B 型
AB1-43	Lane 10	大林慈濟	B 型
AB1-44	Lane 11	大林慈濟	E 型
AB1-45	Lane 12	大林慈濟	B 型
AB1-46	Lane 13	大林慈濟	F 型
AB1-47	Lane 14	大林慈濟	/
AB1-48	Lane 16	大林慈濟	14-1 G 型
AB1-49	Lane 17	大林慈濟	14-2 H 型
AB1-50	Lane 18	大林慈濟	I 型
AB1-51	Lane 19	大林慈濟	J 型
AB1-52	Lane 20	大林慈濟	C 型
AB1-53	Lane 21	大林慈濟	C 型
AB1-54	Lane 22	大林慈濟	D 型
AB1-26	Lane 24	大林慈濟	/
AB1-27	Lane 25	大林慈濟	D 型
AB1-14	Lane 26	大林慈濟	/
AB1-29	Lane 27	大林慈濟	/
AB1-17	Lane 28	大林慈濟	D 型
AB1-23	Lane 29	大林慈濟	/

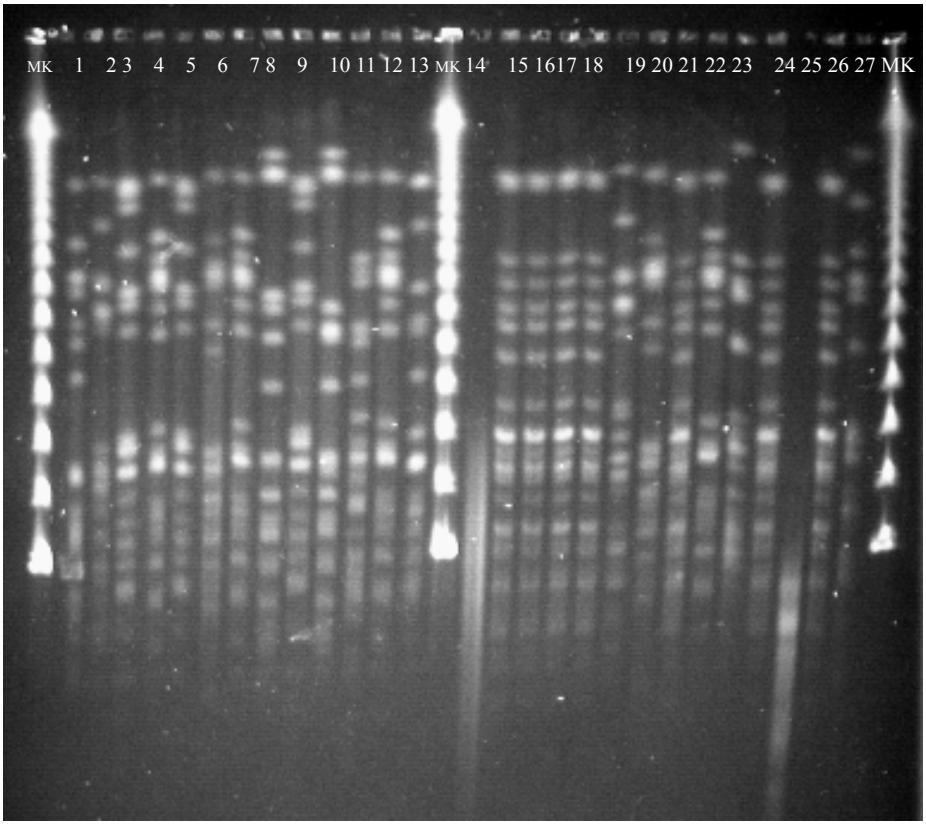
圖六


1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30

表七 *Stenotrophomonas maltophilia* 環境株與臨床株菌之 DNA 分型

菌種編號	檢體來源/類別	分型結果
STM-10	奇美醫院/環境株 Bed-10 置物櫃	J 型
STM-11	奇美醫院/環境株 Bed-10 水槽	G 型
STM-22	奇美醫院/環境株 Bed-2 床欄	A 型
STM-25	奇美醫院/環境株 Bed2-Bed3 間水槽	B 型
STM-23	奇美醫院/環境株 Bed-3 床欄	A 型
STM-29	奇美醫院/環境株 Bed-3 suction 瓶 tube(N 拿處)	**C** 型
STM-26	奇美醫院/環境株 Bed-3 Tr ロ	B 型
STM-17	奇美醫院/環境株 Bed-6 RTO_2 表	D 型
STM-18	奇美醫院/環境株 Bed-6 患者監視器	K 型
STM-19	奇美醫院/環境株 Bed-6 患者痰表	D 型
STM-21	奇美醫院/環境株 Bed-6 置物櫃(右)	L 型
STM-27	奇美醫院/環境株 Bed-19 右洗手台	B 型
STM-28	奇美醫院/環境株 Bed-19 suction 瓶 tube(N 拿處)	M 型
STM-12	奇美醫院/環境株 Bed-21 垃圾桶	/
STM-14	奇美醫院/環境株 Bed-21 Water trap (水)	E 型
STM-15	奇美醫院/環境株 Bed-21 患者端 L 管	E 型
STM-16	奇美醫院/環境株 Bed-21 溫度計	E 型
STM-20	奇美醫院/環境株 Bed-21 Water trap (水) (吐)	E 型
STM-13	奇美醫院/環境株 護理站後小桌	N 型
STM-30	奇美醫院/環境株 藥車	**C** 型
STM-24	奇美醫院/環境株 Bed-3 Ambu	B 型
STM-31	奇美醫院/環境株 CD 車	E 型
STM-32	奇美醫院/環境株 陳麗娥(環保員)	F 型
STM-1	奇美醫院/環境株 床號 RCC 21	B 型
STM-2	奇美醫院/臨床株 床號 RCC 06	D 型? *
STM-3	奇美醫院/臨床株 床號 RCC 12	H 型
STM-4	奇美醫院/臨床株 床號 RCC 10	I 型
STM-5	奇美醫院/臨床株 床號 RCC 03	E 型
STM-6	奇美醫院/臨床株 床號 RCC 19	/
STM-7	奇美醫院/臨床株 床號 RCC 02	G 型? *
STM-8	奇美醫院/臨床株 床號 RCC 13	E 型
SSTM-9	奇美醫院/臨床株 床號 RCC 07	F 型

圖七之一



表七之一【圖七之一：結果分析】

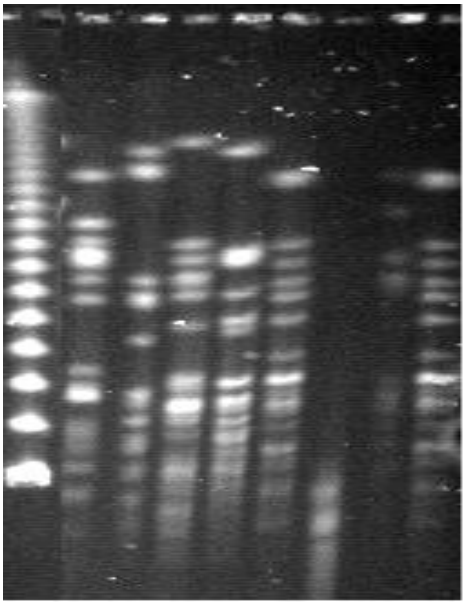
Lane	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
臨床株	10	11	22	25	23	29	26	17	18	19
結果	×	×	A	B	A	C	B	D	×	D
Lane	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
臨床株	21	27	28	12	14	15	16	20	13	30
結果	×	B	×	?	E	E	E	E	×	C
Lane	21	22	23	24	25	26	27			
臨床株	31	24	32	5	6	8	9			
結果	E	B	F	E	?	E	F			

表七之二

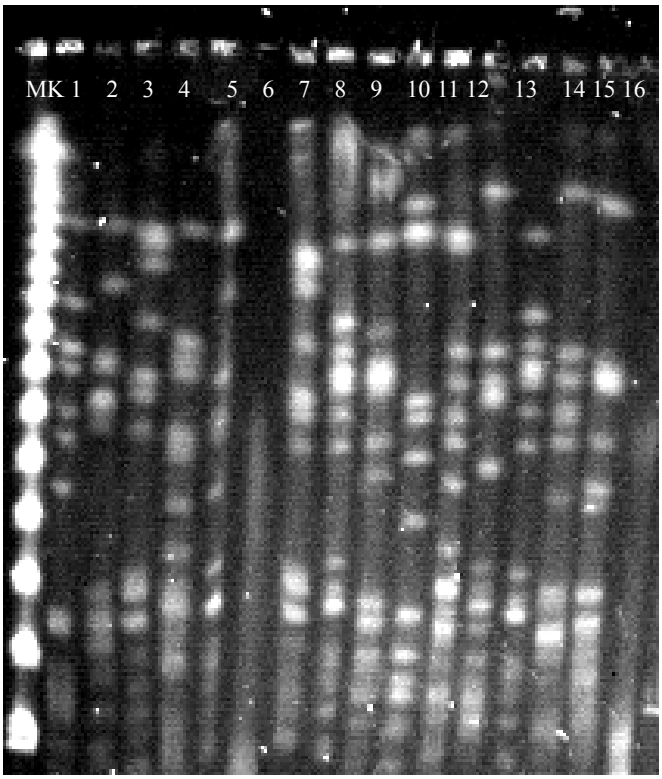
Lane	1	2	3	4	5	6	7	8
臨床株	1	2	3	4	5	6	7	8
結果	X	X	X	X	E	\	X	E

圖七之二：結果分析	X：STM-1、2、3、4、7 皆不相同 E 型：STM-5、8 經限制酶切割，呈現 DNA 片段相同

圖七之二



圖七之三



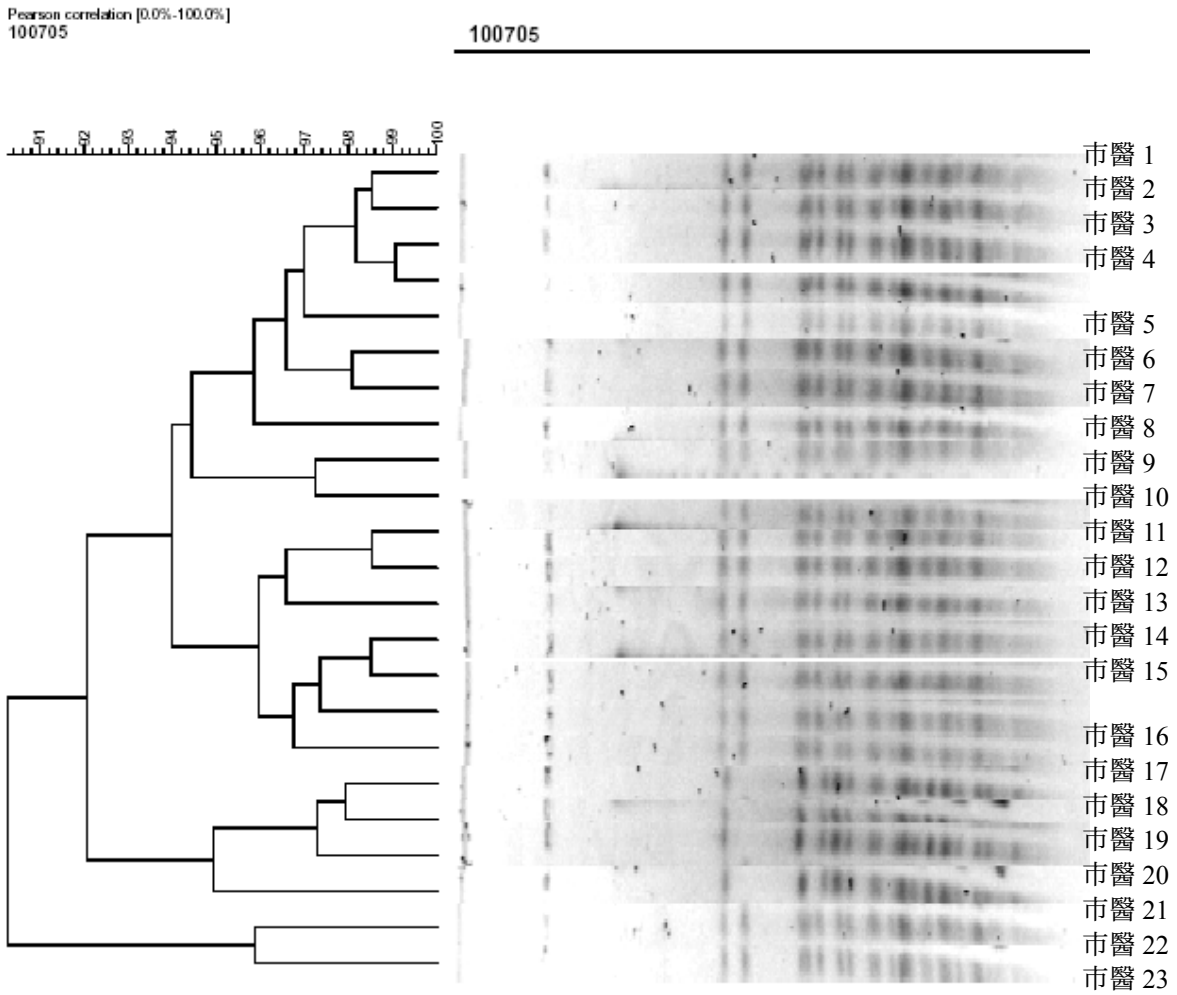
表七之三 【圖七之三：結果分析】

Lane	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
臨床株	10	11	18	21	28	12	22	25	29	17	14	32	1	3	4	6
結果	×	×	×	×	×	?	×	B	×	×	×	×	B	×	×	?

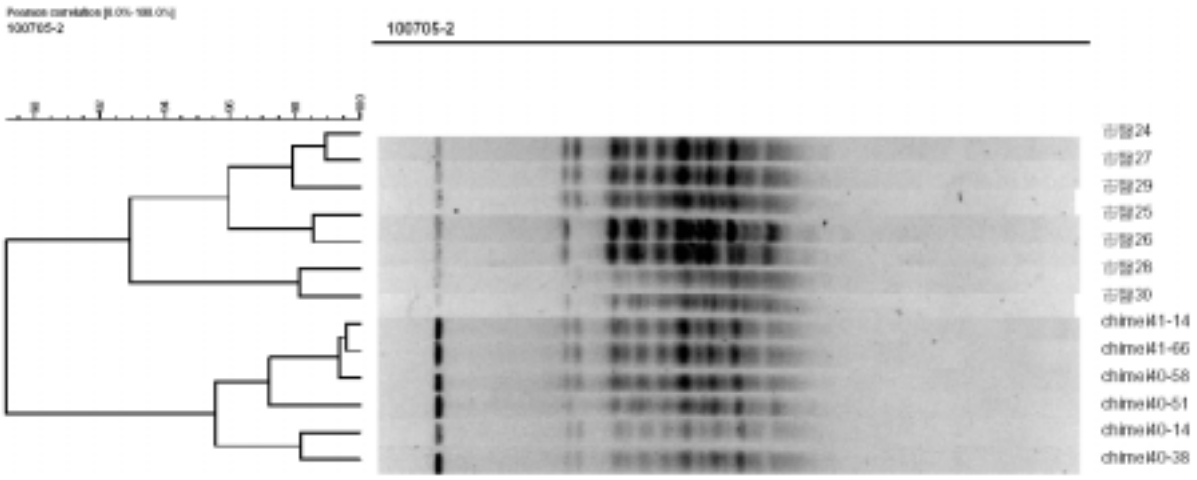
附表八

菌種編號	檢體來源	分型結果	菌種編號	檢體來源	分型結果
市醫-1	市立醫院	相同型	市醫-17	市立醫院	相同型
市醫-2	市立醫院	相同型	市醫-18	市立醫院	相同型
市醫-3	市立醫院	相同型	市醫-19	市立醫院	相同型
市醫-4	市立醫院	相同型	市醫-20	市立醫院	相同型
市醫-5	市立醫院	相同型	市醫-21	市立醫院	相同型
市醫-6	市立醫院	相同型	市醫-22	市立醫院	相同型
市醫-7	市立醫院	相同型	市醫-23	市立醫院	相同型
市醫-8	市立醫院	相同型	市醫-24	市立醫院	相同型
市醫-9	市立醫院	相同型	市醫-25	市立醫院	相同型
市醫-10	市立醫院	相同型	市醫-26	市立醫院	相同型
市醫-11	市立醫院	相同型	市醫-27	市立醫院	相同型
市醫-12	市立醫院	相同型	市醫-28	市立醫院	相同型
市醫-13	市立醫院	相同型	市醫-29	市立醫院	相同型
市醫-14	市立醫院	相同型	市醫-30	市立醫院	相同型
市醫-15	市立醫院	相同型	Ch-mei41-14	奇美醫院	相同型
市醫-16	市立醫院	相同型	Ch-mei41-66	奇美醫院	相同型
Ch-mei40-58	奇美醫院	相同型	Ch-mei40-51	奇美醫院	相同型
Ch-mei40-14	奇美醫院	相同型	Ch-mei40-38	奇美醫院	相同型

圖八之一


Pearson correlation [0.0%-100.0%]
100705
100705
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
市醫 1
市醫 2
市醫 3
市醫 4
市醫 5
市醫 6
市醫 7
市醫 8
市醫 9
市醫 10
市醫 11
市醫 12
市醫 13
市醫 14
市醫 15
市醫 16
市醫 17
市醫 18
市醫 19
市醫 20
市醫 21
市醫 22
市醫 23

圖八之二


100705-2
100705-2
市醫24
市醫27
市醫29
市醫25
市醫26
市醫28
市醫30
chimeiI1-14
chimeiI1-66
chimeiI0-58
chimeiI0-51
chimeiI0-14
chimeiI0-38