

計畫編號：MOHW109-CDC-C-315-144405

衛生福利部疾病管制署 109 年署內科技研究計畫

計畫名稱：多重抗藥腸桿菌重要抗藥基因與質體變化之分析

## 109 年 度 研 究 報 告

執行單位：研究檢驗及疫苗研製中心

計畫主持人：慕蓉蓉

研究人員：林鈺棋、謝佳倫

執行期間：109 年 1 月 1 日至 109 年 12 月 31 日

目	錄	
一、摘要：	中文摘要	3
	英文摘要	5
二、本文		
	(一)、前言	7
	(二)、材料與方法	12
	(三)、結果	14
	(四)、討論	19
	(五)、結論與建議	20
	(七)、參考資料	21
	(六)、圖表	23

共 (32) 頁

計畫中文摘要：

**關鍵詞：**產碳氫黴烯酶，MCR

多重抗藥性病原菌快速大量的增加對人類健康及公共衛生嚴重威脅。特別是，過去十年來，多重抗藥(multidrug-resistant, MDR)、廣泛多重抗藥(extensively-drug resistant, XDR)腸桿菌(Enterobacteriaceae)造成的感染症顯著上升。其中以 carbapenem resistant Enterobacteriaceae (CRE)感染症的出現，其治療更為棘手，因 carbapenem 類抗生素為  $\beta$ -lactam 類的後線用藥，且 CRE 常同時攜帶其他類抗生素的抗藥基因，此時，只剩最後線抗生素如 polymyxin 類抗生素及 tigecycline 類抗生素可有效地治療這些感染症。但不幸的是，2015 年底，Liu et al. 等人發現 E. coli 細菌株攜帶新型 colistin-resistance gene (mcr-1)，且位於可轉移的抗藥質體上。最近，台灣學者相繼報告 mcr-1 腸道菌的發現及 KPC-KP 造成的院內感染疫情的發生，然而，尚無系統性地研究攜帶 carbapenamase 或 MCR-1 的抗藥質體、並其在院感疫情上所產生的影響。

今(109)年完成同時帶有 KPC-2 與 NDM-1 抗藥基因菌株之 KPC-2 質體全基因定序，以及帶有 OXA-48 之全基因定序。藉由定序分析資料，了解帶雙重抗藥基因菌株，可能以抗藥質體轉接合機制進入同一菌株。這些質體攜帶的抗藥基因，對於多重抗藥腸桿菌的致病性、

播散的進一步的研究有其重要性並對發展快速篩檢平台提供有利的  
資訊。

計畫英文摘要：

**Keywords: carbapenemase, MCR**

Rapid and large increase of multi-drug resistant pathogen has threatened human health and public health. In particular, multidrug-resistant (MDR), extensively-drug resistant (XDR) Enterobacteriaceae has been increased significantly in the last decade.

The emergence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) and colistin-resistant Enterobacteriaceae have been reported recently in Taiwan. The most important resistant mechanism is the production of carbapenemase or colistin resistant enzyme which located on mobile genetic elements (such as transposon, integron, plasmid) thereby facilitate their transfer between different species. Plasmid is the major contributor among these elements. However, a systemic investigation of antimicrobial plasmids harboring carbapenemase or *mcr-1* is lacking, and the role of antimicrobial plasmid played in the hospital outbreaks is not well understood.

We have analyzed genetic composition of KPC-2 and NDM-1 coproducing bacteria. by using NGS. The genetic data were compared with that in NCBI. The objective of this study is to establish database of whole genome of antimicrobial plasmids of MDR Enterobacteriaceae. This database will show us the whole panel of all resistance genes targeting different classes of antimicrobial agents. These gene sequences may be important for the survival, replication, and virulence of the resistant bacteria. This information will potentially help us to decipher the

further mechanisms involved in the pathogenicity and the dissemination of these pathogens.

## 本文

### (一)前言

多重抗藥性病原體快速且大量的增加，加上近年來新一代抗生素的研發進展緩慢，導致即將人類面臨多重抗藥病原菌所造成的最緊迫威脅。正如世界衛生組織(World Health Organization, WHO) 2014 年指出，各國政府若不正視這個多重抗藥病原體的議題，並因應產生相關策略，來遏制抗藥病原體急遽的增加。過不多久，21 世紀時，人類將進入 “後抗生素時代 (post-antibiotic era) ”，此時常見感染症和輕傷都將成為致死性的疾病，因為已經不能找到有效的抗生素來治療這些病患(1)

過去十年來，多重抗藥(multidrug-resistant, MDR)、廣泛多重抗藥(extensively-drug resistant, XDR) 腸桿菌(Enterobacteriaceae)，如大腸桿菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)、肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumonia*, *K. pneumonia*, KP)，造成的感染症顯著上升(2, 3)。2015 年底，Liu et al. 等人發現從豬隻分離的 *E. coli* 細菌株攜帶新型 colistin-resistance gene (*mcr-1*)，且位於可轉移的抗藥質體上，實驗證實其抗藥質體可輕易轉移至其他病原菌上，如綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)及 KP(4)。隨後，丹麥、法國等國的學者也報告該國的病患及肉品樣本發現攜帶 *mcr-1* 的 *E. coli*(5, 6)。這些報告顯示出，*mcr-1* 新型抗藥基

因不只侷限於中國，全球許多國家如亞洲的寮國、馬來西亞、日本、台灣、泰國、越南；歐洲的比利時、德國、英國、義大利、立陶宛、波蘭、葡萄牙、西班牙、瑞士、荷蘭；非洲的阿爾及利亞、埃及、奈及利亞、南非、突尼西亞；美洲的阿根廷、巴西、加拿大、美國，皆相繼報導發現多種 Enterobacteriaceae (如 *E. coli*、KP、*Enterobacter aerogenes*、*Enterobacter cloacae*、*Shigella sonnei*、*Salmonella spp.*) 攜帶 *mcr-1* 新型抗藥基因(7)。*mcr-1* 抗藥基因已在不同種類的 Inc type 的抗藥質體上如 IncI2、IncHI2、incP、IncX4 被發現(8, 9)。無可避免地，其抗藥質體將會播散至 CRE 上，造成 MDR、XDR、甚至是全抗藥性(Pandrug-resistant, PDR) 腸道菌的出現(10, 11)。考量這些 carbapenemase 及 *mcr-1* 抗藥基因多位於抗藥質體上，進一步抗藥質體基因體研究，有助於了解抗藥質體基因組成、分布及相關基因調控機制。多重抗藥性病原菌快速大量的增加已日益嚴重威脅公共衛生及人類健康。

因 carbapenem 類抗生素已是  $\beta$ -lactam 類的後線用藥，且 CRE 通常同時攜帶其他類抗生素的抗藥基因，此時，只剩最後線抗生素如 polymyxin 類抗生素及 tigecycline 類抗生素可有效地治療這些感染症。而 *mcr-1* 的出現，使得最後線用抗生素 polymyxin 類抗生素的有效使用性無法確保，將造成抗生素治療最後一道防線的一個重



要突破口(12)，而我們也將進入“後抗生素時代 (post-antibiotic era)”，如此，將對全球各國的醫療、公衛、甚至是經濟的影響將是非常嚴重的。本研究結果期快速找出這些含抗藥基因質體的傳遞方式及分布特色，藉以分析抗藥基因之結構，並探討轉移與傳遞之方式，進而提供跨部會抗藥細菌流行與變異結果，共同商討可能之傳播途徑，以利對未來抗藥趨勢擬定解決方針，落實衛生福利部「完備防疫監視系統，強化防疫應變能力」之施政規劃重點，降低多重抗藥性細菌之發生。

造成 carbapenem 抗藥的 carbapenemases 基因位於抗藥質體上(13)，不僅可以水解大部分的  $\beta$ -lactams 及造成較高的 carbapenem minimum inhibitory concentrations ( MICs ) 抗藥濃度，更重要的是攜帶 carbapenemase 的抗藥基因通常位於可移動的質體、transposons、或 integrons 上，可藉由 horizontal gene transfer 的方式，將抗藥基因傳遞至鄰近的同種或不同種的細菌上；加上 carbapenemase 的抗藥基因又常與其他類的抗藥基因連結，一起移動或傳遞。故此種 CRE 抗藥機制是重要的研究課題。

從 1982 年分離出第一個 carbapenemase，SME-1 ( *Serratia marcescens* enzyme )。迄今，已有上百種的 carbapenemases 被發現且登錄於 <http://www.lahey.org/Studies>，並依胺基酸的相似度，區分為

Ambler A、B 及 D 三大類(14)：

1. Ambler A 類 carbapenemase，其酵素活化位置 (active site) 含 serine 胺基酸，故其功能可被 clavulanic acid 等抑制劑抑制。質體上的 carbapenemase 基因則有 KPC(*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase)、GES/IBC (Guiana extended-spectrum/integron-borne cephalosporinase) 等。KPC 是臨床上最常見的，且已在多國(美國、以色列、中國)引發重大的感染疫情(13)。

2. Ambler B 類 carbapenemase 為 metallo- $\beta$ -lactamase (MBL)，主要為 VIM (Verona-integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase)、IMP (active on imipenem) 及 NDM-1 (New-Delhi metallo- $\beta$ -lactamase)。  
MBL 可水解 monobactam(如 aztreonam)外的所有  $\beta$ -lactams。

3. Ambler D 類 carbapenemase 為 extended-spectrum oxacillinase，可水解 oxacillin 及 cloxacillin，但對 carbapenem、ceftazidime、aztreonam 水解功效較弱。OXA-48 為 2003 年首度在土耳其自 *K. pneumoniae* (KP) 分離得到，其傳播與 62.5Kb 的抗藥質體有關。

為了解國內現況，本署自 100 年設置 CRE 陽性菌株通報並提供 carbapenemase 基因型之確認服務。結果顯示，100 年至 104 年收到 3,265 株 CRE 菌株，有 683 株(20%)為產生 carbapenemase 的腸桿菌 (carbapenemase producing Enterobacteriaceae, CPE)，其中以 KPC-KP

最多，在國內醫院散布，也造成了某些醫院的院內感染疫情。

## (二)材料與方法

### 1. 實驗菌株

使用疾病管制署收集之 CRE 送驗菌株。將挑選送至昆陽實驗室的 CRE 菌株經實驗室確認為 carbapenemase、*mcr-1* 基因陽性菌株做進一步的抗藥基因及質體分析。

### 2. 脈衝膠電泳分析(Pulsed field gel electrophoresis, PFGE)

使用限制酶進行菌株分型實驗，以脈衝電泳儀 CHEF-MAPPER (BIO-RAD, USA)，在 0.5x TBE buffer 將切斷的片段以電泳槽 CHEF-Mapper 跑膠質；以 H9812 菌株(XbaI 限制酶切割)當作片段大小指標。使用限制酶之脈衝圖譜，利用電腦將圖片掃描儲存成圖片檔，接著以套裝軟體 Phoretix 1D gel analysis advanced version 5.01 (Nonlinear Dynamics, UK) 對菌株進行親緣性樹狀圖分析，其原理是利用不同 DNA 片段電泳圖譜進行分析，以 UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic averages) 的方式畫出樹狀圖 (dendrogram)，由樹狀圖對應出相似指數，分析菌株間分子關聯性。

### 3. 抗藥質體的確認：S1-PFGE/Southern hybridization

使用 S1 nuclease 限制酶進行菌株分型實驗，以脈衝電泳儀 CHEF-MAPPER (BIO-RAD, USA)，變換時間：0.5-30 秒，電場

值為 6V/cm<sup>2</sup>，200V 電壓值，20 小時電泳時間，使用 1 % SeaKem Gold agarose (BMA, Rockland, ME, USA) 及 0.5×TBE 電泳液，以 H9812 菌株 (XbaI 限制酶切割) 當作片段大小指標。電泳膠須以 HCl depurination、NaOH denature 以及 Tris-HCl (pH 7.5) neutralization 處理後，轉漬至 NC paper 上。與 DIG 標誌之探針 (Roche Applied Science) 經 hybridization 20 小時，清洗後，以化學冷光偵測儀 (VersaDoc, BioRad) 偵測反應訊息。

#### 4. 建構帶 MCR-1 質體之轉接合大腸桿菌及 NGS 定序

將可抵抗 Azide 的 *E.coli* J53 菌株與帶 MCR-1 質體的 *K. pneumoniae* 菌株混合進行轉接合(transconjugation)試驗後，培養於包含 100 mg/L sodium azide 及 2 mg/L colistin 的 TSA 培養基，以篩選帶 MCR-1 質體之轉接合 *E. coli*。轉接合 *E. coli* 之 MCR-1 質體經使用 Qiagen Plasmid Maxi Kit (Qiagen, Germany) 萃取後，再以 Pacific BioSciences (PacBio) 平台進行定序分析。

#### 5. Bioinformatics 分析

定序資料以 SMRT Portal (Pacific BioSciences software) 軟體進行 de novo assembly 組裝，組裝完成之片段再以 ResFinder 3.2 (Center for Genomic Epidemiology, DTU, Denmark, <https://cge.cbs.dtu.dk/services/>) 進行基因型別及抗藥基因分析。

### (三) 結果

99年至109(本)年，通報疾病管制署之CRE菌株，KPC仍為台灣主要流行的carbapenemase (藍色)，本年度計畫就近年急速增加之carbapenemase 為NDM (紫色) 及OXA-48 (黃色)進行分析。(圖一)

#### 1. 分析台灣帶NDM基因之菌株:

- (1) 目前台灣出現之NDM基因型別為NDM-1、NDM-4、NDM-5、NDM-7及NDM-9。其中有與其他carbapenemase或MCR-1(colistin resistant gene)同時存在於同一菌株的情形，包括NDM-1與VIM-1、NDM-1與KPC-2以及NDM-9與MCR-1。另外、NDM-1、NDM-4及NDM-5均有與OXA-181同時存在於同一菌株之案例(圖二)。
- (2) 去(108)年完成NDM-5可能群聚菌株之全基因定序分析。今(109)年將以帶NDM-1菌株為主，挑選可能群聚之醫院菌株進行全基因定序分析。帶NDM-1菌株共33株，A1及A2菌株來自印度及中國，E-1至E-3來自東部三家醫院，N-1至N-3來自北部三家醫院，S-1至S-8來自南部八家醫院。菌株種類具多樣性，包括*Klebsiella pneumoniae* (K.p)、*Klebsiella oxytoca* (K. oxytoca)、*E. coli*、*Enterobacter cloacae* (E. cloacae)、*Citrobacter freundii* (C.

freundii) (圖三)。

(3) 東部醫院E-2與E-3通報菌株(圖三，橘色標示)包含NDM-1與同時存在之NDM-1與OXA-181。南部S-5醫院通報菌株(圖三，綠色標示) 包含NDM-1與同時存在之NDM-1與KPC-2，而南部S-7醫院通報菌株(圖三，紫色標示) 包含NDM-1與同時存在之NDM-1與VIM-1，顯示抗藥基因可能在院內或醫院間以質體傳遞，進而轉至同一菌株內。

(4) 今年分析南部醫院S-5通報與NDM-1相關之菌株，該院通報NDM-1與KPC-2出現於同一菌株，分別就該院NDM-1、KPC-2菌株與NDM-1+KPC-2菌株進行分析。醫院S-5共有42株KPC-2菌株通報，其中1株為*E. coli*，41株為*Klebsiella pneumoniae*。NDM-1菌株共5株，3株為*Enterobacter cloacae*，2株為*Klebsiella pneumoniae*。NDM-1+KPC-2菌株2株均為*Enterobacter cloacae*。

(圖四)。分析如下：

- I. 帶NDM-1: *Enterobacter cloacae* (1株 En-NDM-107，2株 En-NDM-108) 與 *Klebsiella pneumoniae* (KP-NDM-106，KP-NDM-108各1株)
- II. 帶KPC-2之菌株5株: *E. coli* (1株 EC-KPC) 與 *Klebsiella pneumoniae* (4株 KP-KPC-106，KP-KPC-107，KP-KPC-108，

KP-KPC-109)。

III. 同時帶NDM-1與KPC-2之菌株2株: *Enterobacter cloacae*  
(En-KPC+NDM-108及En-KPC+NDM-109)。

(5) 選取不同年度之菌株，利用S1-PFGE分析NDM-1、KPC-2質體，  
以KPC-2與NDM-1基因之部分片段作為探針進行Southern  
Hybridization，分析結果如圖五:

- I. KPC-2基因偵測:左邊為偵測KPC-2基因所在之質體，存在  
*Klebsiella pneumoniae* 之KPC質體大小約在marker 104.5  
Kb左右(KP-KPC-106，KP-KPC-107，KP-KPC-108，KP-  
KPC-109)，存在 *E. coli* 之KPC質體大小約在marker 33.3至  
54.7 Kb之間(EC-KPC)。
- II. NDM-1基因偵測:右邊為偵測NDM-1基因所在之質體，存  
在 *Klebsiella pneumoniae* 之KPC質體大小均大於marker  
138.9 Kb (KP-NDM-106，KP-NDM-108)，存在 *Enterobacter*  
*cloacae* 之KPC-2質體大小約在marker 33.3至54.7 Kb之間  
(EC-KPC)。
- III. 同時帶NDM-1與KPC-2之*Enterobacter cloacae*，於在marker  
33.3至54.7 Kb之間有兩個大小接近的質體，其中較接近  
54.7 Kb為NDM-1，接近33.3 Kb為 (KPC-2)，如圖五綠色及



藍色雙箭頭所示。

(6) 利用NGS解序帶KPC-2質體:

完整組裝En-KPC+NDM-108菌株之帶KPC-2質體，與EC-KPC之帶KPC-2質體之組裝比對後有高達99%相同度(圖六中間與下方)，該KPC-2質體型別為IncX5，其中僅包括一個抗藥基因KPC-2，以及包含ISKpn6、ISKpn19、ISKpn27等插入序列(insertion sequence)。經NCBI資料庫比對結果，En-KPC+NDM-108菌株之帶KPC-2質體與*K. pneumoniae* p13190-3質體(Accession No. NZ\_CP026020)具高度相似，主要差異僅在是否具ISKpn19(圖六上方)。

2. 分析台灣帶OXA-48基因之菌株:

(1) 目前台灣出現之OXA-48基因型別包括OXA-48與OXA-181。

OXA-48於103年監測出現，此後大量出現，OXA-181於本(109)年急遽出現(圖七)。帶OXA-48基因之菌株具多樣性，但以*K. pneumoniae* 為主，帶OXA-181基因之菌株主要是*E. coli* 與 *K. pneumoniae* (圖八)。

(2) 選取不同醫院之帶OXA-基因48菌株，利用S1-PFGE、OXA-48

探針進行Southern Hybridization，結果顯示*K. pneumoniae*與 *E.*

*coli* 中帶OXA-48基因主要為60 Kb大小質體(圖九)。

- (3) 利用NGS選取1株帶OXA-48之*K. pneumoniae*菌株，以NGS分析帶OXA-48之質體，組裝出2個contig，分別為長度61,144bp的contig-1 (圖十上方)及3,085bp的contig-2 (圖十下方)，經ResFinder及PlasmidFinder分析，該質體型別為IncL，其中僅contig-2包含一個抗藥基因OXA-48，contig-1則不具任何抗藥基因。經NCBI資料庫比對結果，該質體之組裝片段與*K. pneumoniae* pKp\_Goe\_795-2質體(Accession No. NZ\_CP018461)具高相似度(圖十中間)，其中contig-2為 IS1R-*bla*<sub>OXA-48</sub>-*lysR*-IS10A 的基因結構。

#### (四) 討論

1. 由於 En-KPC+NDM-108 之帶 KPC-2 質體與同為 S-5 醫院的 EC-KPC 之帶 KPC-2 質體具高度相似，因此推論可能為帶 KPC-2 質體之平行傳播。此外，該 KPC-2 質體包含 *ISKpn27-bla<sub>KPC-2</sub>-ISKpn6* 基因結構(圖六)，已有研究報導 *ISKpn27-bla<sub>KPC-2</sub>-ISKpn6* 基因結構可能為平行傳播 KPC-2 基因的主要核心結構。
2. 在帶 OXA-48 質體中，IncL 型別具有高穩定性及高平行傳播力，研究發現 *K. pneumoniae* 的 IncL 帶 OXA-48 質體可在感染病人體內將該質體平行傳播至 *E. coli*，因此可能為近年 OXA-48 基因快速增加之主因。

## (五) 結論與建議

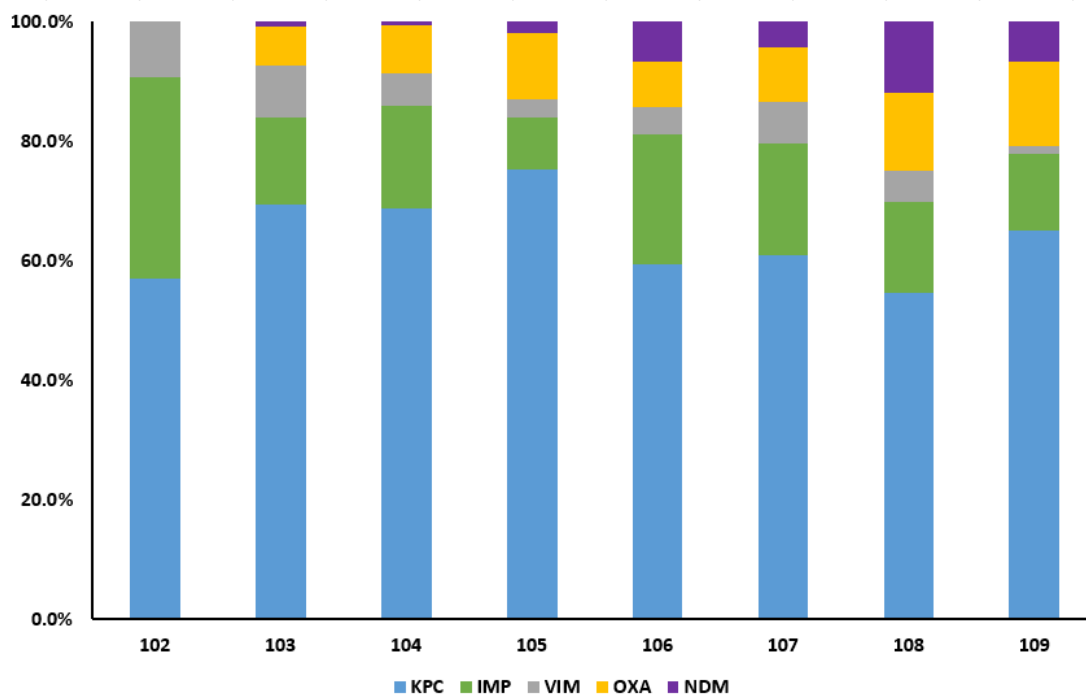
1. 抗藥基因以可藉由菌株攜帶傳播，亦可由質體在院內或醫院間平行傳遞，甚至多種抗藥基因質體轉至同一菌株內。後者之發生，將使多重抗藥性情況增加，倘未來同時帶有 carbapenemase 及 MCR-1 的菌株持續增加，將嚴重衝擊臨床治療，使醫師面臨無藥可用的困境，因此除持續加強監測分析，並需建置抗藥質體基因資料庫以供比對，提供感染管制措施之施行，以避免蔓延實為當務之急。
2. 由於細菌可透過質體交換或 transposon 的易位機制傳播抗藥基因，因此若單以傳統 PFGE 進行菌株分型，僅能掌握同源菌株之傳播方式，難以瞭解其他如抗藥質體或抗藥基因易位等傳播方式。本計畫利用 NGS 解序抗藥基因，可獲得更細緻的分子生物資訊以釐清菌株及抗藥基因之來源，並可掌握抗藥菌株之流行演化趨勢。本計畫建置之流程，在未來面對新型變異之病原，提供全基因序列解密，更可與國際序列進行比對，與國際接軌。

## (六) 參考資料

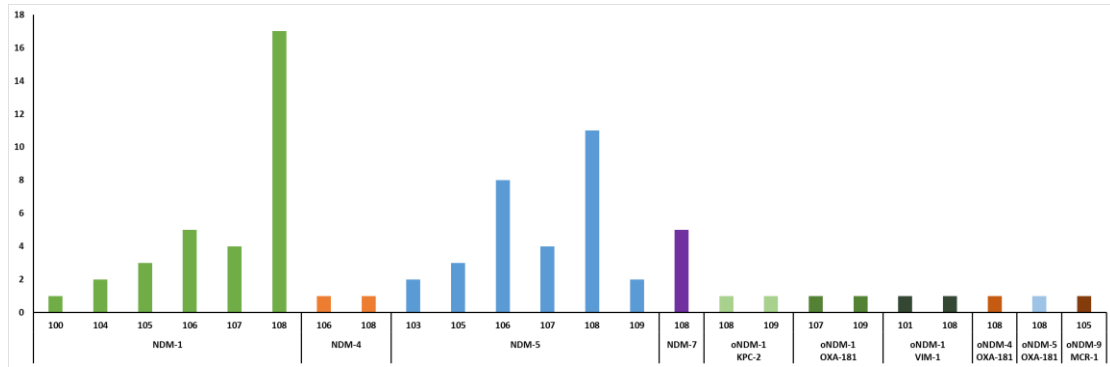
1. Anonymous. WHO. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance 2014. <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>.
2. Nordmann P, Poirel L. 2014. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clin Microbiol Infect* 20:821-30.
3. Walsh TR, Toleman MA. 2012. The emergence of pan-resistant Gram-negative pathogens merits a rapid global political response. *J Antimicrob Chemother* 67:1-3.
4. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B, Huang X, Yu LF, Gu D, Ren H, Chen X, Lv L, He D, Zhou H, Liang Z, Liu JH, Shen J. 2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis* 16:161-8.
5. Hasman H, Hammerum AM, Hansen F, Hendriksen RS, Olesen B, Agerso Y, Zankari E, Leekitcharoenphon P, Stegger M, Kaas RS, Cavaco LM, Hansen DS, Aarestrup FM, Skov RL. 2015. Detection of mcr-1 encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human bloodstream infection and imported chicken meat, Denmark 2015. *Euro Surveill* 20.
6. Perrin-Guyomard A, Bruneau M, Houee P, Deleurme K, Legrandois P, Poirier C, Soumet C, Sanders P. 2016. Prevalence of mcr-1 in commensal *Escherichia coli* from French livestock, 2007 to 2014. *Euro Surveill* 21.
7. Schwarz S, Johnson AP. 2016. Transferable resistance to colistin: a new but old threat. *J Antimicrob Chemother* 71:2066-70.
8. Webb HE, Granier SA, Marault M, Millemann Y, den Bakker HC, Nightingale KK, Bugarel M, Ison SA, Scott HM, Loneragan GH. 2016. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. *Lancet Infect Dis* 16:144-5.
9. Zhi C, Lv L, Yu LF, Doi Y, Liu JH. 2016. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. *Lancet Infect Dis* 16:292-3.
10. Yu H, Qu F, Shan B, Huang B, Jia W, Chen C, Li A, Miao M, Zhang X, Bao C, Xu Y, Chavda KD, Tang YW, Kreiswirth BN, Du H, Chen L. 2016. Detection of the mcr-1 Colistin Resistance Gene in Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae from Different Hospitals in China. *Antimicrob Agents Chemother* 60:5033-5.
11. Du H, Chen L, Tang YW, Kreiswirth BN. 2016. Emergence of the mcr-1 colistin resistance gene in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Lancet Infect Dis* 16:287-8.
12. Paterson DL, Harris PN. 2016. Colistin resistance: a major breach in our last

- line of defence. *Lancet Infect Dis* 16:132-3.
13. Nordmann P, Naas T, Poirel L. 2011. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis* 17:1791-8.
  14. Queenan AM, Bush K. 2007. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 20:440-58, table of contents.
  15. Tseng IL, Liu YM, Wang SJ, Yeh HY, Hsieh CL, Lu HL, Tseng YC, Mu JJ. 2015. Emergence of Carbapenemase Producing Klebsiella Pneumonia and Spread of KPC-2 and KPC-17 in Taiwan: A Nationwide Study from 2011 to 2013. *PLoS One* 10:e0138471.
  16. Li R, Xie M, Lv J, Wai-Chi Chan E, Chen S. 2017. Complete genetic analysis of plasmids carrying mcr-1 and other resistance genes in an Escherichia coli isolate of animal origin. *J Antimicrob Chemother* 72:696-699.
  17. Li R, Xie M, Zhang J, Yang Z, Liu L, Liu X, Zheng Z, Chan EW, Chen S. 2017. Genetic characterization of mcr-1-bearing plasmids to depict molecular mechanisms underlying dissemination of the colistin resistance determinant. *J Antimicrob Chemother* 72:393-401.

(七) 圖表

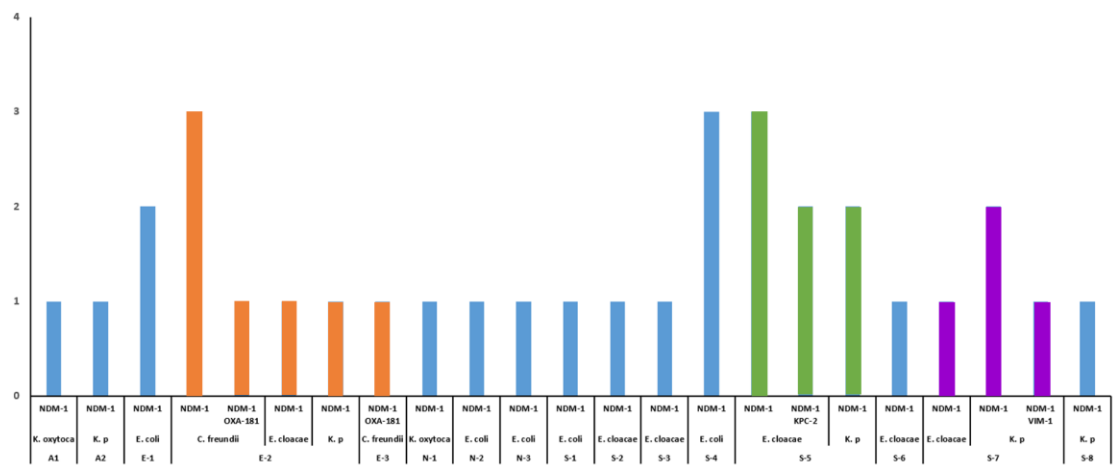


圖一: carbapenemase種類分布情形 (橫座標為年份)

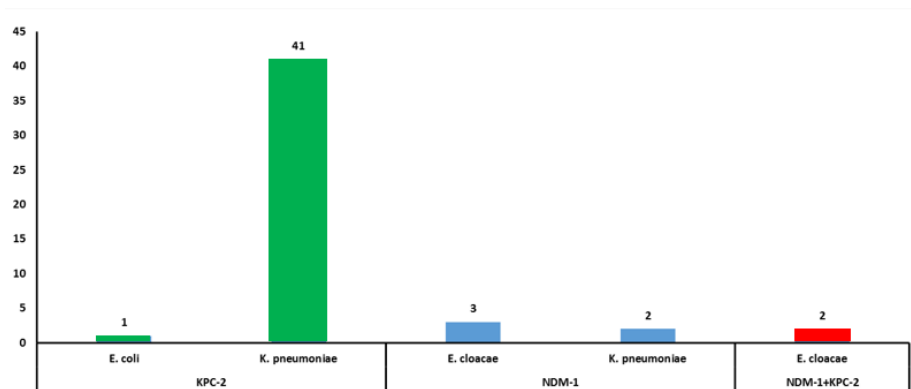


圖二: NDM 基因型別分布情形

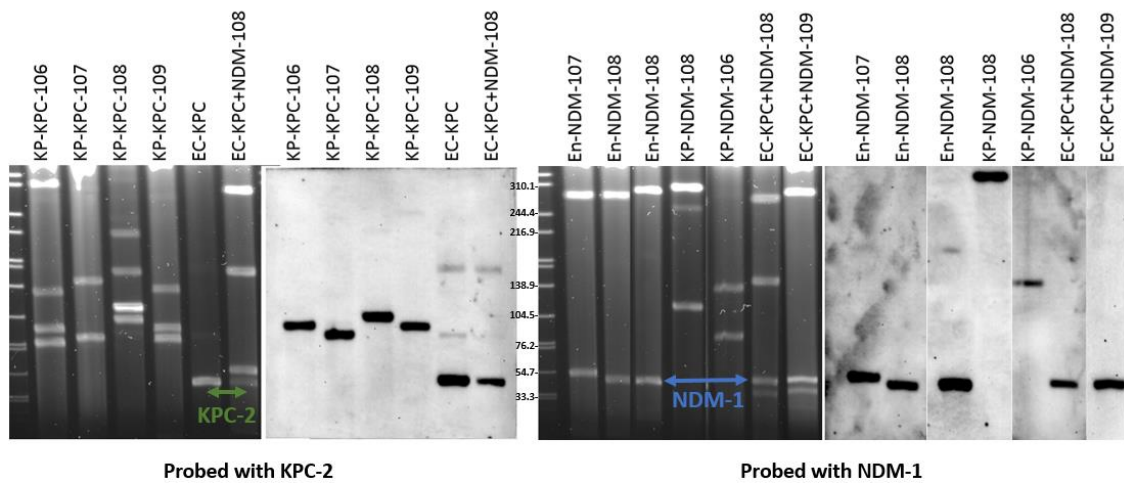




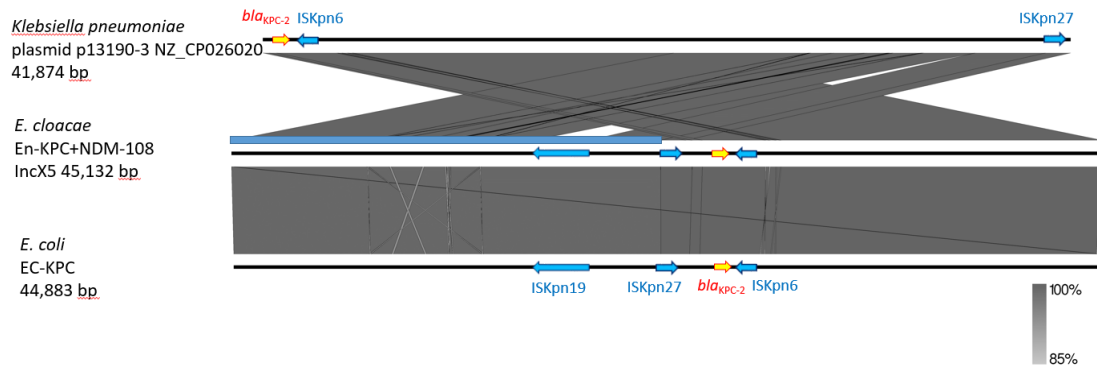
圖三:通報 NDM-1 醫院中菌種種類分布情形



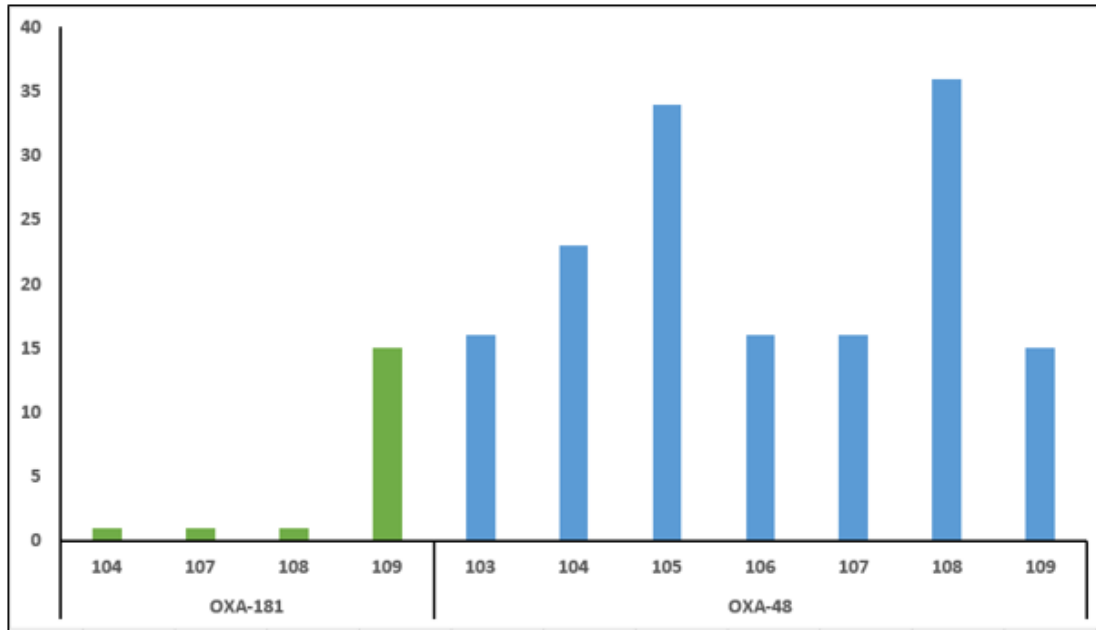
圖四:S-5醫院NDM-1、KPC-2菌株與NDM-1+KPC-2菌株種類



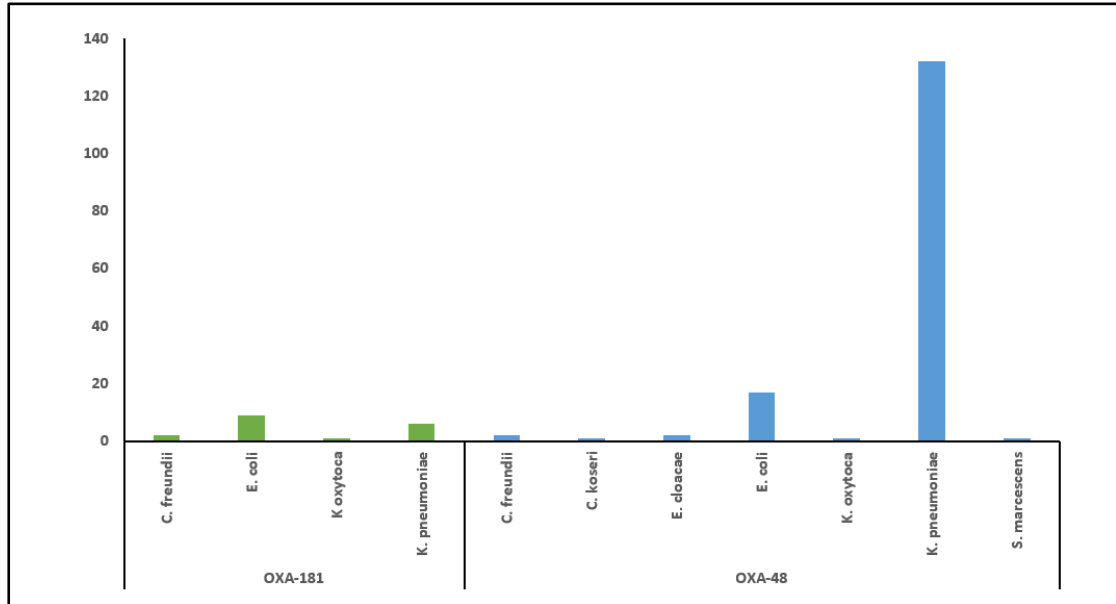
圖五、KPC-2 與 NDM-1 質體分析



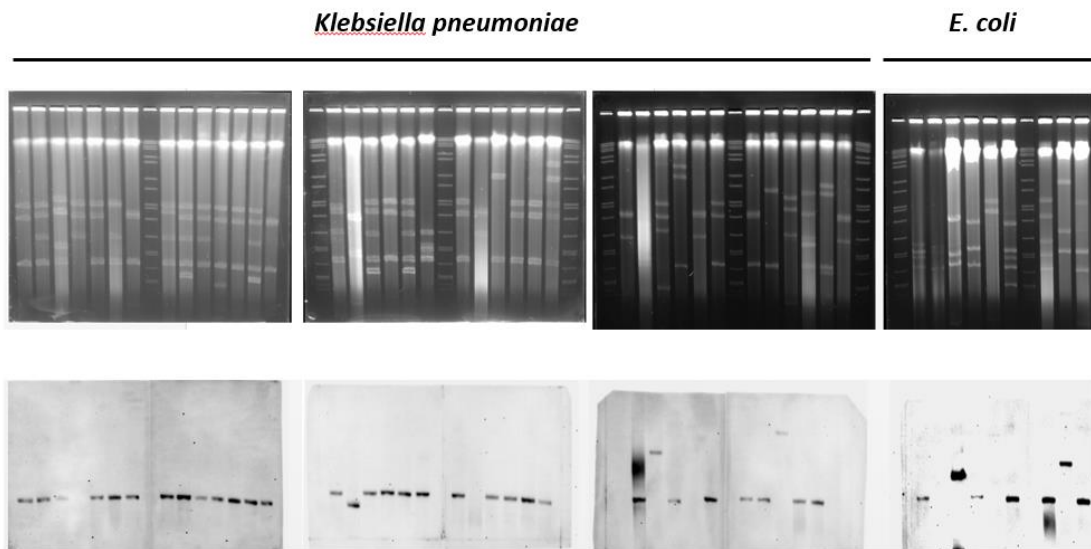
圖六、帶 KPC-2 質體之比較分析



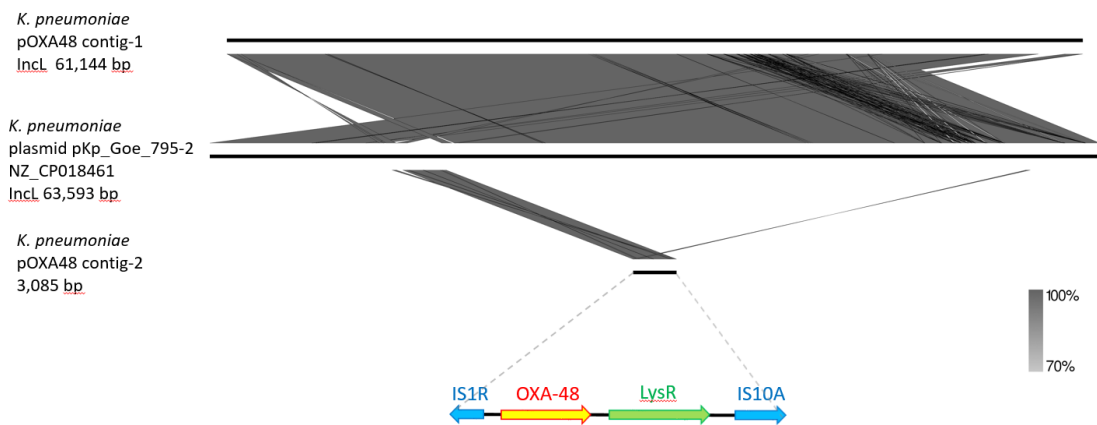
圖七:台灣歷年出現之 OXA48 基因型別



圖八：帶有 OXA48 與 OXA-181 之菌種分布



圖九:帶 OXA8-48 之質體大小分析



圖十：帶 OXA-48 質體之比較分析



## 109 年度科技研究計畫期末執行進度審查意見回復表

計畫名稱：多重抗藥腸桿菌重要抗藥基因與質體變化之分析

計畫主持人：慕蓉蓉

填報日期：109.12.18

序號	審查意見	辦理情形說明	修正處 頁碼
1	多重抗藥性腸桿菌之散播是國內重大問題。	謝謝委員肯定。	
2	分析抗藥基因、質體之變化方法合適，結論正確。	謝謝委員肯定。	
3	菌株取得，研究成果回饋醫界。	本計畫收集之菌株均開放各界申請使用，研究成果將努力呈現，使各界均能參採。	
4	更突顯感染管制、預防措施與抗生素管理之重要性。此為我國威脅國人健康之重要且急迫之問題。	謝謝委員肯定。	
5	KPC、NDM 在 Carbapenemase 的比例增加與否，需要與醫院合作才能知道全貌。	未來將加強與各醫院合作，以了解全貌。	
6	是否已應用於流病調查群聚或流病上時序相關之分析？並應用於醫院或群聚內之防治措施？	以往發現群聚現象，均提供相關資料予權責組及醫療單位，加強防治措施後，獲得不錯的成果。	
7	NDM 自 106 年起有增加趨勢，其可能原因為何？	目前仍以醫院內及醫院間傳播為主，加上抗藥質體平行傳播，加速其散播能力。	

備註：如有修正期末報告內容，請註明頁碼，並務必於 109 年 12 月 23 日前至 GRB 系統完成資料抽換。