

計畫編號：DOH101-DC-1204

行政院衛生署疾病管制局 101 年度科技研究發展計畫

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

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、陳宜君、吳竹蘭、
馮長風、王立信、王任賢、王振泰、李細祥、
李禎祥、班仁知、郭正邦、陳昕白、馬 靈、
商仕達、張 科、湯宏仁、黃景泰、黃琮興、
盤松青、盧章智、蘇迎士、郭安靜

執行期間：101 年 1 月 10 日至 101 年 12 月 31 日

本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對外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 | (6) |
| (3) 結果 | (17) |
| (4) 討論 | (31) |
| (5) 結論與建議 | (42) |
| (6) 計畫重要研究成果及具體建議 | (48) |
| (7) 參考文獻 | (57) |
| (8) 圖、表 | (66) |

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) 的病患之危險因子，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局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 研究其感染病患的危險因子、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 感染的病患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。

本計畫截至 101 年 9 月 30 日止已由台灣北、中、南、東區共計 17 家醫院(層級包括醫學中心和區域醫院)收集 1-8 月菌株，包含 CRE 327 株(*K. pneumoniae* 286 株及 *E. coli* 41 株)、MRSA 256 株、VRE 97 株，與 CRE 感染病患的臨床資料與感控措施。來自各院的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 1 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。

子計畫 5：VRE 盛行率以北台灣居高，且幾乎都是 *E. faecium* (Efm-VRE) (98.9%)。Efm-VRE 絕大屬於高抗藥型的 *vanA* 基因型 -*vanA* 表現型 (95.5%)，分子分型屬於 CC17，對 tigecycline, daptomycin and linezolid 大仍具有感受性(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。

子計畫 7：CR-*E. coli* 最常見的感染部位為泌尿道(27%)與腹腔內感染(27%)，而在 CR-*K. pneumoniae* 則為泌尿道(41.5%)和呼吸道感染(36.8%)。

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，由本計畫第一年期計畫的結果，已得到初步的涵蓋臨床菌株、感染病患及醫院治療與感控各面向的全國性重要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 抗藥菌的興起、各院現行的 CRE 感控措施及 CRE 感染病患資料，皆有助於當局及時因應抗藥性細菌流行現況有所作為。因此藉由本計畫的持續監測調查，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.

In this study, 17 hospitals (either medical centers or regional hospitals) were participated in order to establish a sufficient coverage of whole Taiwan for epidemiological survey. Clinical isolates and clinical medical records from each hospital were obtained and will be stocked in laboratory and centralized in our data system. Those collections were copied and sent to the Taiwan CDC for storage. For laboratory base analysis, molecular epidemiology and mechanism of CRE were studied. In addition, the molecular mechanism of drug resistance and epidemiological analysis of VISA / VRSA and VRE were investigated by different laboratories.

The report presents the first 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.

Sub-project 5: VRE were largely identified in North Taiwan, and most belonged to *E. faecium* (Efm-VRE) (98.9%). Efm-VRE isolates were largely *vanA* genotype (95.5%) 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，醫師據為嚴重病患使用最後一線 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 的病患在治療上的選擇變得非常有限。在感控上感染 CRE 的病患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(transmissible)。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、感染病患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詳見圖 1：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 感染病患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 (圖 1)，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，SCC*mec* 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 SCC*mec* element 的結構，目前已知在 MRSA 上主要有五種不同 type 的 SCC*mec* 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 ≥ 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，在林口長庚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、感染病患臨床資料、感染控制及抗生素用量，並縱向貫連 100 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 17 家醫院 (層級為 9 家醫學中心和 8 家區域醫院)，包含北部 6 家醫院 (基隆長庚醫院、台大醫院、三軍總醫院、臺北榮總醫院、林口長庚醫院、國軍桃園醫院)，中部 3 家醫院(中國醫藥大學附屬醫院、國軍台中醫院、嘉義長庚醫院)，南部 5 家醫院(奇美醫院、高雄醫學大學附設醫院、高雄長庚、小港醫院、國軍高雄醫院)，和東部 3 家醫院(慈濟醫院、宜蘭陽明醫院、國軍花蓮醫院)。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總計畫執行單位 (奇美醫院)，再由奇美醫院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 2012 年 9 月 30 日止 (1-8 月菌株)，CRE 共收集 327 株(*K. pneumoniae* 286 株及 *E. coli* 41 株)、MRSA 256 株、VRE 97 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 三十分鐘, 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 三十分鐘，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 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 ul 之限制酶溶液內含 20 單位 Sma I 之限制酵素之反應溶液，25 度下；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和，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 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、SCCmec 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 SCCmec 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 SCCmec 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 (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) 抗藥性型基因的同時，除①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。

2. 「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（奇美醫院），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://wwwn.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畫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 感染病患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 17 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：

病患基本資料：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患的體溫，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 值當病患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，病患意識狀態(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，病患的意識狀態，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)以及病患本次住院的癒後(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的危險因子以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 327 株 CRE 中，有 78 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 249 株 CRE (*K.pneumoniae* 216 株及 *E.coli* 33 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 216 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，對 cephamycins 類中的 cefoxitin，對 carbapenem 類中的 ertapenem 和 imipenem 共 6 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 類的抗藥性也高達 90% 左右，分別是 nalidixic acid (90.7%), ciprofloxacin (90.7%), levofloxacin (89.3%)。對 aminoglycoside 類的抗藥性沒有那麼高，對 gentamicin 和 amikacin 的 non-susceptible 比率分別是 56.9% 和 36.1%。另外一個重要的發現，就是對治療 NDM-1 有效的 tigecycline 也有抗藥菌株的出現 (4 株, 1.85%)。*K. pneumoniae* 在對第四代的 cephalosporin, quinolone 類藥物和 carbapenem 類藥物的抗藥性都比 *E.coli* 來得高，其餘藥物不相上下，所以 *K. pneumoniae* 的抗藥性比 *E. coli* 來的嚴重。

2. 脈衝式電場膠體電泳分析和多重基因分析比對

216 株 *K. pneumoniae* 中有 2 株 nontypeable，另外以基因變異度 70% 為

區分依據，發現大部分的醫院有院內的小型 outbreak，而且北部的多家醫院有同一株 clone 的流行(圖 2)。而 33 株 *E. coli*，經由 PFGE 分型後，皆為基因型相異(圖 3)。為了瞭解 KPC 陽性菌株間的關聯性，我們單獨對 31 株 KPC 做了樹狀圖分析，發現在同一家醫院和不同家醫院間有同一 clone 存在的情形(圖 4)。同時，我們也將我們的 KPC 陽性的菌株與美國的 KPC 陽性的菌株(KPC-2 或 KPC-3)進行 PFGE 後進行樹狀的分析比對，結果並沒有發現相同或相似的 clone。根據 pulsotype，又挑出了屬於不同 pulsotype 菌株進行 MLST 分析。其中 31 株 KPC-2 的均為為 ST 11，非 KPC 的 ST type 亦為 ST 11 占首位，有 16 株為新的 ST type，其餘有複數出現的有 ST15, ST37, ST147, ST378, ST48，另外零星出現的有 ST 590, ST 742, ST 34, ST 276, ST23, ST36, ST709 等。關於 ST11，自從 1997 年在法國被報導之後在全球被發現，包括美洲、歐洲的大部分國家及亞洲都有報導，它和 ST258(與 ST11 只有一個 housekeeping gene 的變異)被認為是多重抗藥肺炎桿菌(multi-drug-resistant *K. pneumoniae*)在全球傳播的 epidemic clone。在我們所做的 MLST 中沒有發現 ST258，但 ST11 占絕大多數，證實 ST11 的確是一個全球傳播的 epidemic clone。目前為止在全球發現的 KPC 不是 ST258 就是 ST11，所以我們的 KPC-2 屬於 ST11 與國際流行的 ST 類型不但吻合，更證實了它的重要性。

在 CR-*E. coli* 的 MLST 部分，完成了全部 33 株的 ST type 分型。ST43(即 ST131，因學派不一而命名號碼不一)在 CTX-M 產生 *E. coli* 菌中是一個目前在全世界流行的 clone。它基因上的特點使它更容易傳播和具有更強毒力，很多 NDM-1 也是 ST43(ST131)。在我們的 33 株 *E. coli* 中，我們發現有 10 株 ST43(ST131)占大多數，其他的 ST 類型都是零星的。結果說明這個在全世界流行的 clone，在臺灣也是一株流行株，需要我們的警惕。另有 6 株是新的 MLST type，我們正與法國 pasteur 研究所申請給予新的編碼。

子計畫 2 國內 CR-*Klebsiella* spp.之抗藥性機轉研究

1. Cabapenemase, 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 216 株 *K. pneumoniae* 中，我們發現了 31 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三家醫學中心，分別有 17 株、7 株和 4 株。南部的一家醫學中心也有發現 2 株，中部有一家醫學中心有發現 1 株。我們通過電話和 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局以便及時追蹤病歷和做好感控和動態掌握疫情的發展。NDM-1 基因沒有被發現。我們也完成了 216 株 *K. pneumoniae* 的 SHV 和 TEM 基因的檢測。SHV 基因有檢測到 213 株，完成了全部的定序，包含有 ESBL 和非 ESBL，目前比對到非 ESBL 的 SHV-1、SHV-11、LEN、OKP-B 共 173 株，屬 ESBL 的 SHV-2A、SHV-5、SHV-12、SHV-120 共 40 株。TEM 基因檢測到 137 株。其他基因的檢測也全部完成，包括 ESBL 基因中的 CTX-M group，我們檢測到 10 株屬於 CTX-M-1 group，138 株屬於 CTX-M-9 group，有 3 株同時擁有 CTX-M-1 group 和 CTX-M-9 group 的基因(表 4)。在屬於 cabapenemase 的基因方面有發現 5 株 IMP-8，7 株 VIM-1，23 株 OXA-1，31 株 KPC-2 (表 5)。在 Plasmidic AmpC 基因方面發現 15 株 CMY-2，134 株 DHA-1 (表 6)。

2. 細胞外膜孔蛋白分析

結果見表 7，說明如下：在 216 株 CRKP 中，共有 142 株 AmpC 產生菌合併有外膜 OmpK35 或 OmpK36 的缺失或兩者都缺失(DHA-1 合併有外膜缺失的有 127 株，CMY-2 合併有外膜缺失的有 15 株)。共有 181 株 ESBL 產生菌合併有外膜的缺失(CTX-M group 的占 142 株)。

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

E. coli 部分已完成 33 株，都沒有檢測到 KPC 和 NDM-1。其他基因的檢測也已全部完成，發現 1 株有 OXA-1，31 株有 CMY-2，1 株有 DHA-1，3 株 SHV 陽性(SHV-11, SHV-12, SHV-120 各 1 株)，9 株 TEM 基因陽性，CTX-M 基因中屬 CTX-M-1Group 的有 6 株，屬 CTX-M-9 Group 的有 5 株。VIM 及 IMP 基因都沒有偵測到 (表 8)。

2. 細胞外膜孔蛋白分析

結果見表 9，在 33 株 CR 大腸桿菌中沒有發現 carbapenemase 基因，有 31 株產生 AmpC cephalosporinase 的菌株合併有 OmpC 或 OmpF 的缺失或兩者都缺失。

(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

自民國 101 年 1 月至 101 年 9 月止共收集 257 株自血液中分離出來的 MRSA。經過進一步鑑定，其中有 7 株並非金黃色葡萄球菌，18 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 25 株分離菌株，被排除在後續的微生物學研究，總計有 232 株 MRSA 菌株。

在藥物的感受性分析上，對 ciprofloxacin 具感受性的為 31.4%，對 clindamycin 為 28.6%，對 erythromycin 為 13.1%，對 gentamicin 為 26.9%，對 rifampin 為 24.6%，對 tetracycline 為 28.0%，對 trimethoprim/sulfamethoxazole 為 49.7%，對 linezolid 為 98.3%，對 daptomycin

為 98.9%，對 teicoplanin 為 98.3% (2 株 MIC 為 4.0 $\mu\text{g/ml}$ ，2 株為 8.0 $\mu\text{g/ml}$ ；此感受性乃依 EUCAST 所定之標準來決定)，對 vancomycin 為 99.1% (2 株 MIC 為 4 $\mu\text{g/ml}$)。

對於 vancomycin 的 MIC 分布，分析如下：MIC 為 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 的佔 4.7%，MIC 為 1 $\mu\text{g/ml}$ 的佔 42.7%，MIC 為 2 $\mu\text{g/ml}$ 的佔 51.3%，MIC 為 4 $\mu\text{g/ml}$ 的為 0.9%。

主要的 MLST 型態為 ST239 (計 90 株)，ST59 (計 32 株)，和 ST5 (計 25 株)；其餘包含 ST6，7，15，22，30，45，97，188，241，338，508，630，672，834，900，943，1054，1149，與 2483 等計 85 株。PFGE 分子分型的結果詳見圖 5，主要可以分為五個 major pulsotypes [(pulsotypes I (12 株)，J (11 株)，S (17 株)，W (57 株)，X (14 株)]；另有 37 個 minor pulsotypes。

在 SCCmec element 的分型分析上，type II 有 31 株，type III 有 115 株，type IV 有 18 株，type V 有 37 株，untypable 的有 31 株。在 PVL 基因有無的偵測上，總計有 19 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 2 株、來自台灣中部的只有 9 株，故摒除臺灣東部與中部不予分析 (圖 6)。由圖 6 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 2 株菌株，均來自於北臺灣；對 teicoplanin 不具感受性的 4 菌株當中，南北臺灣各有 2 菌株；對 linezolid 不具感受性的 5 株菌株中，有 2 株來自北臺灣，2 株來自南臺灣；對 daptomycin 不具感受性的 4 株菌株當中，來自南北臺灣的各 2 株；至於對 ciprofloxacin、clindamycin、erythromycin、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 7（僅分析主要的 MLST types）。相較於 ST5 與 239 菌株，ST59 菌株明顯的對 ciprofloxacin、gentamicin 較具感受性；相較於 ST239，ST5 與 59 的菌株對 trimethoprim/sulfamethoxazole 及 tetracycline 較具感受性；ST5 菌株對 rifampin 的感受性，明顯較其它二者差。至於在後線抗生素方面，特別要注意的是，所有對 vancomycin, teicoplanin 不具感受性的菌株，均屬於 ST239；而對 daptomycin 或 linezolid 不具感受性的菌株，則三種不同 sequence types 的菌株都有；特別值得注意的是 ST5 的菌株，其 daptomycin 不具感受性的比率略高。

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 5 株帶著 type IV 的 SCCmec element，另外 27 株帶著 type V 的 SCCmec element；ST5 的菌株，則均帶著 type II 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 (2/4)，ST45 (1/8)，ST59 (9/32)，ST239 (3/90)，ST508 (1/2)，ST900 (1/8)，ST1149 (1/3)；另外，untypable 的菌株中，也有 1 株帶有 PVL 基因。除了來自 ST239 與 ST900（帶著 type II SCCmec element）外，其餘帶有 PVL 基因的菌株，均攜帶著 type IV 或 V 的 SCCmec elements。在考慮不同 MLST types 中，high vancomycin MIC (>1 µg/ml) 的比率，ST239 菌株有 76.7%，ST59 菌株有 21.9%，而 ST5 菌株則有 44.0%。

來自北臺灣的菌株中，ST239 佔了 46.7%，而南臺灣中只佔 19.8%；北臺灣中 ST59 佔了 13.3%，南臺灣中佔了 16.3%；北臺灣中 ST5 佔了 8.1%，南臺灣中佔了 15.1%。至於 high vancomycin MIC 的部分，來自北臺灣的菌

株，有 50% 是 high vancomycin MIC，而南臺灣中則有 49.1% 是如此。

(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 1~8 月期間，血液培養的 VRE 總共收菌 99 株，其中有 10 株 vancomycin 藥敏結果確認為感受性或菌株污染，因此納入研究共 89 株。在 89 株 VRE 中，經鑑定確認 *E. faecium* 占 88 株(98.9%)，*E. faecalis* 只占 1 株。菌株分佈在 12 家醫院，以北部 5 家醫院(長庚醫療財團法人基隆長庚醫院、台北榮民總醫院、三軍總醫院、國立台灣大學醫學院附設醫院、長庚醫療財團法人長庚醫院林口長庚醫院)最多，共 52 株(58.4%)，中部 1 家醫院(中國醫藥大學附設醫院)14 株(15.7%)、南部 5 家醫院(長庚醫療財團法人嘉義長庚紀念醫院、奇美醫療財團法人奇美醫院、高雄醫學大學附設中和紀念醫院、長庚醫療財團法人高雄長庚醫院、高雄市立小港醫院)17 株(19.1%)、東部 1 家醫院(佛教慈濟綜合醫院)5 株(5.6%)。

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. faecalis*-VRE 菌株檢測結果為 *vanA* 基因型及表現型外，*E. faecium*-VRE (Efm-VRE) 的最低抑菌濃度(MIC)與抗藥基因檢測的結果，如表 10。而 88 株 Efm-VRE 對 vancomycin, teicoplanin, tigecycline, daptomycin 及 linezolid 等 5 種抗生素的敏感性分別為 0%、4.5%、92.0%、100%、100%，未發現對 daptomycin 或 linezolid 二種抗生素呈抗藥的菌株。Efm-VRE 的 *van* 抗藥基因檢測，結果以 *vanA* 基因型為主，共 86 株 (97.7%)，只有在南部一家醫院有發現 2 株帶 *vanB* 基因的 Efm-VRE。*vanA* 基因型對 vancomycin 的 MIC 皆超過 256 $\mu\text{g/ml}$ ，但對 teicoplanin 為高抗藥($\geq 24 \mu\text{g/ml}$)有 80 株，占 93.0%；對 teicoplanin 為中間抗藥(12-16 $\mu\text{g/ml}$)為 4 株，占 4.7%；對

teicoplanin 為感受性($\leq 8 \mu\text{g/ml}$)為 2 株，即 *vanB* 表現型，只占 2.3%，分佈於北部二家醫院中。2 株 *vanB* 型 VRE 對 vancomycin 的 MIC 較低，為中間抗藥(MIC 6-8 $\mu\text{g/ml}$)，且 teicoplanin 為敏感(MIC 0.75-1 $\mu\text{g/ml}$)。

2. 脈衝式電場膠體電泳(PFGE)分析和多重基因分析(MLST)比對

Efm-VRE 的脈衝式電場膠體電泳分析結果如圖 8，我們分析 73 株菌株，大部分的菌株皆屬於不同 clone，並無醫院或區域的群聚現象。在 Efm-VRE 菌株的 MLST 分型方面，除 8 株待確認外，80 株的 MLST 分型經 eBURST program 分析結果如圖 9。所有 Efm-VRE 菌株 MLST 分型結果皆屬於 clone complex 17(CC17)，其中以 ST17 及 ST414 型最多，各占 24 株(30.0%)及 18 株(22.5%)；其次 ST18、ST78、ST341 型，皆占 8 株(10.0%)；其他分型依序為 ST252、ST64、ST203、ST262、ST323，各占 5、4、2、2、1 株；另外我們也分別北區二家醫院發現了 2 株(0.3%)新的 ST 型。比較各種 ST 型在各醫院的分佈，多呈散佈性，除四家醫院有部分分離 ST 型比例較高外，包括慈濟醫院 ST78 型占 4 株(80%)、中國附醫 ST341 型占 5 株(45.5%)，台大醫院 ST17 占 5 株(38.5%)以及林口長庚醫院 ST17 及 ST414 各 7 株(31.8%)外，但再比對 PFGE 結果及分離的月份，結果如表 11，並未發現有無群聚的現象。

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 249 株 CRE 菌株於北、中、南、東等各部分佈情況顯示，北部 6 家醫院有 199 株 (CR/*K. pneumoniae* 177 株 & CR/*E. coli* 22 株)，中部 3 家醫院有 27 株 (CR/*K. pneumoniae* 20 株 & CR/*E. coli* 7 株)、南部 5 家醫院有 22 株 (CR/*K. pneumoniae* 18 株 & CR/*E. coli* 4 株)、東部 3 家醫院

有 1 株 (CR/*K. pneumoniae* 1 株 & CR/*E. coli* 0 株)。檢體類別則以尿液 (91 株)、痰液 (78 株) 為最多，其次為血液 (18 株)、膽汁 (12 株)、傷口分泌物 (9 株)、膿 (9 株)、腹水 (5 株) 以及其他 (27 株)。

另，CRE 菌株之抗藥性基因檢測結果顯示，均無檢出具 NDM-1 抗藥性基因之菌株，但另有檢測出 31 株 (31 個案) 含 KPC 抗藥性基因之菌株，其分佈概況為北部 28 株、中部 1 株、南部 2 株、東部 0 株，均為 CR/*K. pneumoniae* (截至 2012 年 9 月 30 日止)。KPC 菌株的檢體類別以尿液 (15 株) 最多，其次為痰液 (10 株)、血液 (2 株)、傷口分泌物 (2 株)、插中心靜脈導管處 (1 株)，以及支氣管肺泡洗液 (1 株)，KPC 菌株之檢體類別於各醫院分佈情形，詳見表 12。

CRE 菌株檢出 KPC 抗藥性基因之總檢出率為 12.5% (31/249)；而分佈於北中南東等各部醫院之 KPC 抗藥性基因檢出率則為北部 11.3% (28/249)、中部 0.4% (1/249)、南部 0.8% (2/249)、東部 0%。另，自 CR/*K. pneumoniae* 檢出 KPC 抗藥性基因之總檢出率為 14.4% (31/216)，而各部 CR/*K. pneumoniae* 之 KPC 抗藥性基因檢出率則分別是北部 13.0% (28/216)、中部 0.5% (1/216)、南部 0.9% (2/216)、東部 0%，各醫院 CR/*K. pneumoniae* 檢出 KPC 抗藥性基因之比例，詳見表 13；截至 2012 年 9 月 30 日止，尚未發現 CR/*E. coli* 有檢出 KPC 抗藥性基因。

經由本計畫所收集的菌株中，共發現有 31 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，但目前僅收集有 28 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 19 例，佔 67.9%，其次為由其他醫院轉入及長期照護機構所佔比例分別為 17.9%、14.3%。個案之住院科別為內科 (一般內科、胸腔科、腎臟科、免疫風濕、神經內科) 共 20 例佔 71.4%，外科 (一般外

科、整形外科、燙傷) 共 8 例佔 28.6% 個案平均年齡為 74 ± 9 歲，年齡層以介於 70~89 歲居多，其中 70-79 歲所佔的比例最高為 39.3%，其次為 80-89 歲佔 35.7%，50 歲以下的則為 0；平均住院天數為 53.5 ± 47.8 天，以住 31-60 天所佔比例最高 (35.7%)。入院日至採檢日天數則以住院後 4-30 天期間內送驗菌株所佔比例 42.9% 為最高，其次是住院後 31-60 天及 0-3 天分別為 25.0%、17.9%，整體而言，入院後檢出 KPC 的平均天數為 31.2 ± 38.6 天，而病人入院後三天內所採檢之 5 個陽性個案中，有 2 個是來自其他醫院轉入，另 3 個則來自家裡。採檢部位以尿液 50.0% 為最多，其它痰液、血液、傷口分泌物、插中心靜脈導管處、支氣管肺泡洗液分別為 28.6%、7.1%、7.1%、3.6%、3.6%。是否使用侵入性裝置 (呼吸器、尿管、中心靜脈導管及其他侵入性裝置) 結果顯示，無使用侵入性裝置的比例為 10.7% (3/28)，使用一種侵入性裝置的比例為 17.9% (5/28)，使用兩種 (含以上) 侵入性裝置的比例為 71.4% (20/28)。該 28 名 KPC 陽性個案自採檢日起，一個月內再度驗出 CRE 高達 92.9% (26/28)。個案動態部分已出院者為 22 例 (出院後返家或轉至其他機構並無此追蹤資料)，往生者為 6 例 (無詳細資料顯示跟 KPC 有關)。其它詳見表 14 說明。

CRE (含 NDM-1 或 KPC) 感染管制措施的標準作業流程評估，目前共匯集有 11 家計劃合作醫院所提供之 CRE 感染管制措施文件，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。

以上述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，逐筆分別鍵入世界衛生組織之 WHONET Software 及美國疾病管制中心 Epi Info 兩統計軟體，來進行數據測試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。初步結果為 Whonet 統計軟體適用於微生物實驗室管理抗生素藥敏試驗結果之相關數據，特點是具有大量數據儲存及具資料分析能力，可允許使用者自行設定監測警訊定義，該程序是一套模組可運用於臨床上，流行病學和感染控制之應用，以 1-5 月份個案明細資料先行鍵入於 Whonet 軟體，可分析各醫院內部或院際間的菌株數相關變化趨勢初步，並將分析後的數據轉為 excel 檔，可自行設定監測警訊定義再依據各醫院的狀況以圖表的呈現結果，如圖 10 所示。Epi Info 是可快速評估群突發的統計軟體，同樣具有讀取數據及分析數據的能力，可依據調查之區域、菌株、時間各項資料，輸入之數據來執行流行病學統計並有表格、圖表和繪製地圖等功能，以 1-8 月份菌株明細資料先行鍵入於 Epi Info 軟體，初步分析結果顯示 CRE 菌株逐月動態趨勢變化，如北部、中部、南部及東部醫院菌株檢出高峰期呈現的月份或抗藥性菌株的監測的模式，如圖 11、12 所示。

III. 感染多重抗藥性細菌（CRE）病患之流行病學研究

子計畫 7 國內 CRE 感染病患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 327 株 CRE 中，有 78 株因為不符收菌標準，應收病歷資料為 249

位 CRE 病患，由於本子計畫必須在菌株的鑑定以及 MIC 完成後才能開始收集病歷資料，並且需要同時尋找對照組，有部分病人在收案時仍處於住院中的狀態，因此本子計畫病歷資料收集的進度比菌株收集的進度要較為延緩，截至資料分析為止共收集了 384 份病歷資料分析，其中 carbapenem-resistant-*K. pneumoniae* 共有 171 份病歷資料，carbapenem-sensitive *K. pneumoniae* 共有 157 份病歷資料，carbapenem-resistant *E. coli* 共有 30 份病歷資料，carbapenem-sensitive *E. coli* 共有 26 份，所收案的感染症分布情況詳如表 15，在抗藥性大腸桿菌的部分，泌尿道感染、膽道和腹腔內感染為常見的感染部位，三者所佔比率(感染部位個數/抗藥性大腸桿菌總個數)為 27%、27%和 23%，而在 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 的部分則以泌尿道、和呼吸道感染最為常見，兩者所佔比率為 41.5%和 36.8%。

在 carbapenem-resistant *E. coli* 部分，有 16.7%(5/30)的感染是在入院內 48 小時發生，定義為社區性的感染，有 56.7%(17/30)的感染是屬於院內感染，而 26.7%(8/30)是屬於醫療機構相關的感染(health-care associated)；在 carbapenem-sensitive *E. coli* 部分有 54.2%(13/24)的感染是屬於社區性的感染，有 25.0%(6/24)是屬於院內感染，而 20.8(5/24)是屬於醫療機構相關感染。

在 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 部分，有 25.3%(43/170)的感染是在入院內 48 小時發生，定義為社區性的感染，有 56.5%(96/170)的感染是屬於院內感染，而 18.2%(31/170)是屬於醫療機構相關的感染(health-care associated)；在 carbapenem-sensitive *K. pneumoniae* 部分有 61.8%(97/157)的感染是屬於社區性的感染，有 27.3%(36/157)是屬於院內感染，而 15.3(24/157)是屬於醫療機構相關感染。

在 *E. coli* 的部分單變相分析發現三個月內曾經住院，或是有多重慢性疾病(Charlson score)，感染前的住院天數長為感染 carbapenem-resistant *E.*

coli 的危險因子(表 16)；在 *K. pneumoniae* 的部分則也同樣發現三個月內曾經住院，或是有多重慢性疾病(Charlson score)，中風，半身癱瘓，三個月內是否接受手術，感染前的住院天數長為感染 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 的危險因子(表 17)。分析各項侵入性治療(感染發生前兩週)是否為感染 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 的危險因子，在單變相分析當中發現放置 A-line、放置胸部引流管，放置中央靜脈導管，放置氣管內管，進行血液透析、放置鼻胃管，放置導尿管都有達到統計學上有意義的差異(表 17)，由於 *E.coli* 的個案數較少，進行多變相獨立因子的分析不容易達到有意義的結論，因此在本報告中無進行多變相分析，針對 *K. pneumoniae* 的感染症作多變相的分析，我們將本研究單變相具有統計學上差異的變數 ($P < 0.05$) 放入分析，並將過去研究認為會增加感染抗藥性菌株的危險因子：感染前的住院天數是否大於 3 週，年紀是否大於 70 歲，Charlson comorbidity score 是否大於 4，感染前一個月是否使用類固醇放入分析後發現，病患是否半身癱瘓、感染前三個月內是否曾經接受手術、放置鼻胃管、感染前住院天數是否超過三週皆有達到統計學上的意義，為感染 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 的危險因子(表 18)。

在 carbapenem-resistant *E. coli* 的感染部分，只有 39.3% 的病人可以在 72 小時內接受合適的抗生素治療，而在 carbapenem-sensitive *E. coli* 的部分則有 60% 的病人可以在 72 小時內接受合適的抗生素治療(表 16)，在 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 的感染部分則 26.4% 的病人可以在 72 小時內接受合適抗生素治療，而 carbapenem-sensitive *K. pneumoniae* 的病人則有 63.5% 的病人可以在 72 小時內接受合適的抗生素治療(表 17)。由於 *E. coli* 的收案數量較少，因此在本次的分析中未進行影響存活率的危險因子分析，分析 *K. pneumoniae* 所造成的感染其死亡危險因子的單變相分析中發現

感染前一個月是否使用類固醇，是否在 24 小時使用合適的抗生素，是否感染 carbapenem-resistant *K. pneumoniae*，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(表 18)在死亡與存活兩組皆有達到統計學上的差異，由於 APACHE II score 的分數包含部分感染時病患的生理數值、實驗室檢查與病患是否有嚴重的慢性疾病，因此將 APACHE II score 與 SOFA score、Charlson co-morbidity score 一起列入多變相分析較不適合，因此本報告將感染前一個月是否使用類固醇，是否在 24 小時使用合適的抗生素，是否感染 carbapenem-resistant *K. pneumoniae*，Charlson score 是否大於等於 4 與 SOFA score 是否大於等於 7 這些變數放入多變相回歸分析發現，感染前一個月是否使用類固醇，是否在 24 小時使用合適的抗生素，Charlson score 是否大於等於 4 與 SOFA score 是否大於等於 7，仍為影響死亡的獨立危險因子(表 19)。

在已收案的病人中共有 17 株 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 帶有 KPC-2 的基因，其感染源分布為呼吸道感染有 4 位，腹腔內感染有 1 位，導管相關感染有 1 位，泌尿道感染有 10 位，傷口感染有 1 位，病人的分布在地點或是時間皆無集中性，在臨床特性部分，無論是慢性病狀態 (underlying disease) 或是得病的嚴重程度 (APACHE II score or SOFA score)，或是感染預後，在帶有 KPC-2 的 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 與不帶有 KPC-2 的 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 兩組是沒有統計學上的差異(表 20)。

(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 β -lactam 類藥物以及其他類的藥物都抗藥。對感染 CRE 的病患在治療上的選擇變得非常有限。在感控上感染 CRE 的病患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。在 CRE 中最多見的是 CRKP(抗藥的克雷白氏肺炎桿菌)。在美國，CRKP 中最重要的抗藥機制是 carbapenemase KPC 基因。由於 KPC 基因在一個可移動的基因片段轉位子(transposon)上，增加了抗藥性基因傳播的風險。CRKP 同時在治療上帶來了很大的挑戰，CRKP 感染與死亡率的增加、住院時間的延長及醫療費用的增加有關。對 carbapenemase 產生的偵測是一件複雜的事情，因為許多菌株在對 carbapenem MIC 的表現為”敏感”，為了避免遺漏對那些 carbapenemase 基因的篩選，CLSI 對 carbapenem 類藥物 MIC 的標準在 2011 年有大幅度的修正。簡單來說 imipenem, meropenem 的標準降低了 4 倍。Ertapenem 的標準降低了 8 倍。同時 CLSI 也公佈了對 doripenem 的 MIC 的標準。CLSI 更改他們的標準有它的原因，因為很多 carbapenemase 例如 IMP-8, KPC, NDM 他們對 carbapenem 的最小抑制濃度都只有 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 或 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，而且他們都是在質粒(plasmid)上，傳播速度相當快，如果不降低標準會遺漏對這些具有潛在威脅性的基因的篩選。

我們的研究結果發現臺灣 CRKP 的主要抗藥機制是 AmpC cephalosporinase DHA-1 和 ESBL(主要是 CTX-M-9 group)合併外膜的缺失。CREC 的主要抗藥機制是 AmpC cephalosporinase CMY-2 合併外膜的缺失造

成。在 CRKP 中只有極少部分菌是由 carbapenemase IMP-8 和 藹 VIM-1 造成。在 CREC 中 carbapenemase 都沒有發現。但是我們在本次的流行病學調查中發現了在 *K. pneumoniae* 中持續不斷感染 KPC 菌株個案的增加，目前絕大部分 KPC 都屬於同一個 cluster，由於 KPC 基因在 transposon 上，它的快速傳播能力不容輕視，各醫院的感控部門務必嚴加防範，以控制不斷擴散的趨勢。因 CLSI 對 carbapenem 類藥物 MIC 的降低而造成的這些落入”抗藥”範圍的菌株，如其抗藥機制又是 cephalosporinase 合併外膜的缺失造成的，並不代表 carbapenem 類藥物完全不能使用。如果照 2010 年的標準的話他們還是屬於對藥物有感受性的。而且 carbapenem 是治療由帶有 ESBL 病原體引起嚴重感染的首選藥物，所以由 cephalosporinase 合併外膜的缺失引起的 carbapenem 的”抗藥”還需結合病患的資料進一步分析，也就是說由這種機制所造成的”抗藥”，在臨床上有無意義還需結合臨床的治療做進一步的分析。另外本次流行病學調查還發現了一個新問題，我們發現在 CRKP 中對 tigecycline 抗藥的有 4 株(1.85%)。在 CREC 則無發現 tigecycline 抗藥菌株。而去年 CRE 的流行病學調查結果，不管是 CRKP 和 CREC 對 tigecycline 都是 100%的敏感，相比之下無疑是一個很大的轉變。由於 tigecycline 用於 carbapenem resistant 菌株的治療，屬最後線用藥的藥物，限用於其它抗生素無效的革蘭氏陰性菌，必須謹慎使用。

從我們的流行病學調查的結果也發現 plasmid AmpC DHA-1 和 CMY-2 基因和 ESBL 基因 SHV 及 CTX-M 的普遍存在。我們發現在 *K. pneumoniae* 中的 AmpC cephalosporinase 絕大部分是 DHA-1，還有 Group 9 的 CTX-M。在 *E. coli* 中則主要是 CMY-2。由於這三個基因都存在於傳播速度很快的質粒上，所以在 *K. pneumoniae* 中很可能有 DHA-1 及 CTX-M 的質粒傳播，在 *E. coli* 間可能有 CMY-2 和 CTX-M 的質粒傳播，需要藉由抽取他們的質

粒並用限制酶切後，以進一步分析這些帶有 DHA-1、CMY-2 或 CTX-M 的質粒是否為同一來源的質粒，以證實這些基因是否有通過質粒傳播。

(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、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，ST5 菌株近年快速增加，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。

本研究計畫的一個重要發現為收集到兩株 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，但這兩株 MRSA 均來自北臺灣、均屬於 ST239 菌株分型；而北臺灣地區的 ST239 菌株分型所佔比例又偏高（46.7%，南臺灣不到 20%），ST239 菌株中 high vancomycin MIC 的比率也高（76.7%），這在在都提出一個可能假設與一個警訊：北臺灣地區的 vancomycin selective pressure 是否過高？北臺灣地區的 vancomycin non-susceptible MRSA 比率是否會愈來愈高？在這兩株 VISA 菌株中，我們並沒有發現任何的 *vanA* 或 *vanB* 基因，其抗藥性機轉是否為先前日本研究者所發現的細胞壁過度增厚所致，有待進一步的實驗驗證。

另外，本研究亦收集到 4 株對 teicoplanin 不具感受性的 MRSA 菌株；其中兩株為上述的 VISA 菌株（來自北臺灣），另兩株對 vancomycin 的 MIC 值為 2 $\mu\text{g/ml}$ （來自南臺灣）。過去並沒有 randomised, controlled trial 來探討 teicoplanin 相對於 vancomycin 對治療 MRSA 感染的成效，但有少數研究者發現在 MRSA 菌株中，又較多比率會對 teicoplanin 產生 tolerance（相比於

vancomycin)；而本研究又發現有較多的菌株對 teicoplanin 不具感受性（相對於 vancomycin），這是否意味臨床使用 teicoplanin 來治療 MRSA 感染，其療效有差於使用 vancomycin 治療的可能性，很值得我們進一步研究探討。

除了對 vancomycin 的感受性外，其餘抗生素的感受性並沒有南、北臺灣的差異。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。在後續的研究中，應該加強改善。

本研究中亦發現，自血液中分離出的 MRSA 菌株，high vancomycin MIC ($> 1 \mu\text{g/ml}$) 的比率為 52.2%。過去的相關研究發現，當 MRSA 菌株對 vancomycin 的 MIC 大於 $1 \mu\text{g/ml}$ 時，特別是菌血症，臨床上若使用 vancomycin 來治療，則失敗的比率會較大；此時若使用 daptomycin 來治療，成功的機會較高。Vancomycin 從過去以來，一直是臺灣地區用以治療 MRSA 感染的主要抗生素；但在有超過 50% 的血液分離 MRSA 菌株對其之 MIC 大於 $1 \mu\text{g/ml}$ 的流行病學狀況下，臨床上使用 vancomycin 來治療 MRSA 感染，特別是針對菌血症，應該特別小心。

針對不同 MLST types 的 MRSA，我們可以發現在某些抗生素的感受性上有明顯的差異；這和先前得研究結果是十分相似的。但要特別注意的是，對於 daptomycin 與 linezolid 這兩個新一代的抗 MRSA 抗生素，本研究中均發現了抗藥性菌株的存在；這無疑的又是一個重大的警訊。有趣的是，linezolid 抗藥性的 MRSA 菌株，分屬於 ST5 和 ST59，並非 ST239；當臨床上有更多的患者使用 linezolid 來治療相關感染時，是否會造成抗藥性的逐漸散播，是十分值得我們關切的。而對 daptomycin 抗藥的菌株，則在三大 sequence types 中均可找到；然而，25 株 ST5 的 MRSA 菌株中，就有兩株是 daptomycin non-susceptible；此一比率明顯高於其它的 sequence types。由

此，針對 ST5 菌株的持續追蹤監測，更有其必要性。

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。本研究中，三大 sequence types 裡的 ST239 菌株，均帶著 type III 的 *SCCmec* element，ST5 均帶著 type II 的 *SCCmec* element，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，這和本研究結果也是相謀合的。不過在本研究中也發現，少數的 ST239 菌株居然也帶著 PVL 基因；ST239 是引起院內 MRSA 感染的極重要菌株、有高比率為 high vancomycin MIC，如果在有高比率的 ST239 菌株帶著 PVL 這樣一個 virulent factor gene，其對臨床的衝擊可能會很大。因此，持續的監測試在所必然的。

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；因此在本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 12 家醫院血流感染的 89 株 VRE 菌株中，北部地區收集菌

株的比例(58.4%)遠高於中南部(15.7%~19.1%)，這與 TINS 調查的結果相似，北台灣是 VRE 相關感染最為嚴重地區。再以菌株鑑定的結果作分析，*E. faecalis* 只占 1 株，其餘 88 株皆為 *E. faecium*，在台大醫院 2003-2010 年同樣以血流感染 VRE 菌株的研究結果⁴⁹，VRE 菌株增加也是以 Efm-VRE 為主，所占比例是由 2007 年 40%增加至 2010 年 85%，在 2012 年我們的結果顯示，Efm-VRE 在血流感染 VRE 中菌株比例已高達 98.9%。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，適當的感染管制手法介入，將有助於此類細菌的控制。

分析此次 88 株 Efm-VRE 的藥物敏感試驗性試驗與抗藥基因檢測結果，在台灣 2005 年以前的 VRE 研究中^{22,47}，約占 25%的 *vanB* 基因型或 *vanA* 基因型-VanB 表現型的 VRE 菌株，在此次研究的的菌株中只占 4.5%，取代的是高抗藥型的 *vanA* 基因型-*vanA* 表現型的 VRE。所幸這類細菌對 daptomycin 及 linezolid 等抗生素，還有 100%的感受性，但另一方面，Efm-VRE 已對 tigecycline 產生 8%的抗藥性，與台灣 Efm-VRE 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 Efm-VRE 對 tigecycline 的抗藥性情況。

在 MLST 分型的研究中，Efm-VRE 菌株共發現 12 種 ST 型，包括 2 種新的 ST 型。在 10 種已知的 ST 型，皆屬於 CC17 譜系，這與世界流行的一致⁵¹。CC17 的 Efm-VRE 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。在 58 株 Efm-VRE 菌株中，ST17 (24;41%)及 ST414(18;31%)是最多的 ST 型，在全台 12 家醫院皆有此兩型的菌株存在。比較台大團隊的研究報告⁴⁹，2003~2006 年台大流行的 ST 型是以 ST17 為主(約 75%)，ST414 型在 2008 年出現，並在 2010 年成為主要流行的 ST 型(約 40%)。然而在此次台大醫院收到的 13 株

Efm-VRE 菌株中，ST414 型只占 2 株，15.3%，所以 ST414 是否未來會成為台灣主要的流行型，將需要再作長期的觀察。

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 2012 年 9 月 30 日止，總共收集有 249 株 CRE 菌株 (CR/*K. pneumoniae* 216 株 & CR/*E. coli* 33 株)，菌株之分佈情況為北部 199 株，中部 27 株、南部 22 株、東部 1 株。因為本計畫“CRE 菌株收菌標準”有別於疾管局「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”對 carbapenem 類抗生素(imipenem、meropenem 或 ertapenem 等)任一種具抗藥性之腸道菌(*Enterobacteriaceae*)，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，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。

249 株 CRE 菌株經過抗藥性基因檢測結果顯示，均無檢出具 NDM-1 抗藥性基因，但卻另檢測出 31 株(31 個案)含 KPC 抗藥性基因之菌株。由 KPC 抗藥性基因菌株之分佈狀況發現，幾乎陽性個案均集中於北部醫院特別是醫學中心，透過抗藥性基因檢測回饋機制立即通知 KPC 個案發生醫院外，且與衛生主管機關合作，迅速蒐集 28 例 KPC 陽性個案之基本資料，我們發現個案來源為醫院本身的病人居多，其次為自長期照護機構及其他

醫院轉入，以內科病人居多，且年齡層偏高介於 70~89 歲間，這些個案使用兩種（含以上）侵入性裝置的比例就佔了 71.4%，且依據轉床資料顯示個案均曾住過加護病房或呼吸照護病房，大部分個案都是住院後約 4-30 天期間內才送驗菌株，所以相對入院後平均 31.2 ± 38.6 天才有可能被驗出 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。該 28 名 KPC 陽性個案自採檢日起，一個月內再度驗出 CRE 更高達 92.9%。這樣的結果顯示如果沒能針對一些特定族群（老人、住加護病房或使用多種侵入性裝置者）或比較與陽性個案居住於同一病室（高風險區）期間的病入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入的來源與動向，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。

機構內抗藥性細菌發生的趨勢，均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，本研究嘗試透過 WHONET Software 及 Epi Info 兩種免費可單機作業，且資料儲存功能龐大的統計軟體，來評估醫院內部及跨院際間常規監測下菌株消長趨勢或設定群突發警訊之適切性。以 Epi Info 統計軟體之統計結果為例，1~8 月份間北部醫院檢出 CRE 的高峰期為 3 月份，檢出 KPC 菌株的高峰期為 4 月份，其它中部、南部及東部等醫院並無法看出明顯趨勢，推估原因本研究可能因為執行初期囿於菌株運送協調及時機問題，導致菌株集中在 3、4 月份且時間未達一年，實無法看出此類抗藥性細菌發生的趨勢為上升或是下降，更遑論群突發 (Outbreak) 之警示，故仍需長期且持續抗藥性細菌的監測，有足夠且穩定的數據才能更進一步的探討分析。

III. 感染多重抗藥性細菌 (CRE) 病患之流行病學研究

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

本計畫收案的菌株發現 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 的數量遠大於 *E. coli*，但兩者在感染症的分布不同，在 carbapenem-resistant *E. coli* 中大部分的感染都與腹腔及泌尿道感染相關，沒有發現肺部的感染，而 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 則是以泌尿道與呼吸道的感染為主，這樣的發現與臨床上的觀察相近。

在病人的慢性病的部分，本研究顯示單一疾病並非感染抗藥性菌株的危險因子，然而當病人具有多項慢性病時(charlson score)，感染抗藥性菌株的機會就會增加，且在感染前三個月是否曾有住院與感染前的住院天數也是增加感染抗藥性菌株的機會，這樣的結果與其他抗藥性菌株的研究類似，carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* 的總死亡率大約在 4 成左右，跟

carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* 所引起的血流感染相比，其他的研究總死亡率約為七成到九成，本研究的總死亡率似乎較低，這是因為本研究是藉由發現臨床菌株後，再回溯性的收集病患的病歷資料，因此跟其他的研究較為不同的是，我們在收集的過程當中，納入許多的呼吸道檢體與泌尿道檢體，然而在呼吸道或是泌尿道如培養出細菌，仍必須考慮病人的整體狀態，有時臨床上感染與移生(colonization)在這兩個部位不易判斷，尤其感染抗藥性菌株的病患大多在感染前已住院一段時間，也大多在之前都有其它的感染症，在這樣的病人是否有深部呼吸道感染的判斷不容易，因此本研究的死亡率較血流感染的死亡率較低是可以理解的。

在台灣過去的研究中發現洗腎與肝硬化是感染 carbapenem-resistant *E. coli* 的危險因子，在本研究當中並未看到這樣的現象，這可能因為洗腎與肝硬化的病人常需要管路的置換，因此較容易發生血流相關感染，在本研究當中因為納入的感染症種類較多，因此無法看到單一疾病的影響。

研究中我們發現使用類固醇，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，在過去的國內外的研究雖認為感染抗藥性菌株的總死亡率雖然較高，但做統計分析往往無法顯示感染抗藥性菌株為死亡的獨立危險因子，在本研究我們加入了在 24、48、72 小時內使用合適的抗生素來分析何者能是死亡的危險因子，結果發現在 24 小時內使用合適的抗生素為影響死亡的獨立危險因子，而在去年的研究與其他國內外的研究也發現當菌株對 Imipenem 或是 Meropenem 產生抗藥性時，可能可以用來治療的抗生素選擇並不多，這也使得這類病人能在 24 小時得到合適的抗生素治療的機會大幅的下降，這可能是這類病人死亡率較高的原因。

(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

本次的流行病學調查有三個重要的發現。第一我們發現當前引起全球關注的 KPC 正在臺灣北、中、南的醫學中心流行，但是 NDM-1 基因並沒有被偵測到。第二個重要的發現是 *K. pneumoniae* 對 tigecycline 的抗藥菌株從無到有。第三，臺灣的 CRE 中有兩個 dominant clone，一個是被認為在全球傳播的多重抗藥 *K. pneumoniae* ST11，另一個是帶有 CTX-M 基因的 *E. coli* ST43(ST131)，此種 clone 具有快速傳播力，且 NDM-1 常被發現位於此種 clone 上。

在臺灣主要引起 carbapenem 抗藥的機制主要是 AmpC 型的 cephalosporinase CMY-2 或 DHA-1 和 CTX-M ESBL 合併外膜 OmpK35/36 的缺失(在 *K. pneumoniae*)或者是 OmpF/C 的缺失(在 *E. coli*)。造成 carbapenem 抗藥的 carbapenemase 中，KPC, IMP-8 和 VIM-1 是主要的三個基因，KPC 有不斷增加的趨勢，但是 IMP-8 和 VIM-1 的盛行率很低。

在本次的調查中，我們發現當菌株對 carbapenem 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。克雷白氏肺炎桿菌對第四代 cephalosporin 的抗藥性比例接近 90%，在大腸桿菌中沒有那麼嚴重但也達到 54.5%。對 trimethoprim/sulfonamide 的抗藥性也相當嚴重，分別達到 79.6% 和 63.6%。對 carbapenem 的抗藥性，克雷白氏肺炎桿菌明顯比大腸桿菌來的嚴重。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 96.3%、68.5% 和 69.4%。大腸桿菌對三者的抗藥性比例則分別為 100%、60.6% 和 54.5%。PFGE 的結果顯示大部分的菌株皆屬於不同 clone，但是主要可分成幾個 cluster，在各醫院內和醫院間仍有部分菌株有小規模的 clone 傳播。另外，我們發現在 *K. pneumoniae* 中的 AmpC cephalosporinase 絕大部分是 DHA-1，還有 CTX-M 的 ESBL。在 *E.coli* 中則主要是 CMY-2。由於這兩個基因都存在於傳播速度很快的質粒上，所以在 *K. pneumoniae* 中很可能有 DHA-1, 別 CTX-M 質粒的廣泛傳播，在 *E. coli* 間可能有 CMY-2 質粒傳播，需要通過抽取他們的質粒並用限制酶切後，以進一步證實這些帶有 DHA-1, CTX-M 或 CMY-2 的質粒是否為同一來源的質粒。總之，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 carbapenem 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患的轉院頻繁，因此嚴格執行此類病患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。在藥物使用的方面，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) 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. 在 232 MRSA 血液分離菌株中，high vancomycin MIC 的比率為 52.2%；因此，在使用 vancomycin 來治療 MRSA 菌血症時，應特別 monitor 臨床療效；若臨床療效不理想，應該將更換更有效抗生素列為考量。
2. VISA 菌株確實存在於台灣地區，目前其盛行率仍不高，以血液分離菌株而言，只有 0.9%。然而這樣的菌株均來自北台灣，均屬於同一個 sequence types (ST239)，仍值得我們持續監測，以釐清是否有 horizontal spread 的現象。
3. 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。有鑑於這樣的報告並不多見，並且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。
4. ST239、ST59、與 ST5 是分離自血液的 MRSA 菌株最主要的 sequence types。ST5 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。
5. Teicoplanin 的感受性略低於 vancomycin，臨床上使用 teicoplanin 來治療 MRSA 感染，是否會造成較不理想的預後（相對於使用 vancomycin 治療），亟待進一步大規模臨床研究來加以釐清。
6. 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；根據本計畫的研究成果，ST59 菌株對 clindamycin 的感受性偏低(6.3%)；因此，台灣地區並不適合以 clindamycin 作為 anti-CA-MRSA 的 empirical therapy。

7. 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 比率偏低。

研究中的 MRSA 菌株，帶有 PVL 基因的絕大部分來自於帶著 SCCmec type IV 或 V 的 MRSA，但有三例來自屬於 ST239 (SCCmec type III) 的菌株。由於 PVL 為重要的 virulent gene，而 ST239 菌株常造成院內感染，帶有 PVL 的 ST239 菌株是否會進一步帶來臨床衝擊，必須持續監測觀察。

(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 12 家醫院血流感染的 89 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 98.9% 皆為 *E. faecium*，由上可知 VRE 菌株增加是以 Efm-VRE 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，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。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 95.5%，*vanB* 基因型或 *vanA* 基因型-*vanB* 表現型的 VRE 菌株，分別各占 2 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 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，Efm-VRE 菌株主要是屬於 CC17 譜系，ST17 及 ST414 是最多的 ST 型，並且在全台 12 家醫院皆有此兩型的菌株存在。所幸在 PFGE 分析的結果，並未發現醫院或區域的群聚現象。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，而除了透過法傳系統檢送抗藥性基因檢測外，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。

而醫院即使收到抗藥性檢測的陽性報告時，如無相關作為例如：依規定進行感染管制措施、或無法針對來自高風險單位的病人進行主動隔離篩檢，恐難避免感染原擴散之風險。依據此次調查結果顯示各醫院對於 CRE 感染管制措施的執行上有差異；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支持之組合式 (bundle) 多重抗藥性細菌感控措施是有必要的。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。

本計畫發現 CRE 菌株 (CR/*K. pneumoniae* & CR/*E. coli*) 檢出 KPC 抗藥性基因之總檢出率為 12.5% (31/249)，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，結果發現建立持續性、運作良好的全國性實驗室監測網絡，確實有助於提昇 KPC 菌株檢出的比例；因此本計畫將延續此模式持續運作監測，同時預定 102 年再邀請北中、南部各新增一間醫學中心納入研究團隊。

III. 感染多重抗藥性細菌 (CRE) 病患之流行病學研究

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

本研究是目前 carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* 臨床資料的大型及多中心的聯合研究計畫，收集的病歷資料數量也是目前數量最大的，已發表的國內研究絕大部分為單一中心的研究結果^{53,54}，或是研究 ESBL 帶有 porin loss 的臨床個案資料研究，或是研究 ertapenem-resistant *Enterobacteriaceae* 的研究，研究 carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (此處的 carbapenem 指的是 imipenem 或是 meropenem) 的臨床資料更為稀少，雖然國外也陸續出現 carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* 的臨床研究文獻，但本國由於全民健保制度的實施，國內的抗藥性菌株與病人的特性與國外不同，因此本研究的結果是相當珍貴且頗具國內代表性的臨床研究。在本研究發現使用類固醇，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，過去的文獻報導 CR-*E.coli* 所造成的感染總死亡率可以高達九成^{55,56}，本研究感染 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 的總死亡率可以高達四成，這類的病人本身有多重慢性疾病，較低的比例在 72 小時內使用合適的抗生素，感染症的疾病嚴重程度也較高，因可使用的抗生素選擇種類較少，因此嚴格的執行接觸隔離措施，避免 carbapenem resistant 的菌株擴散是目前能採取的方

案。

在對照組的部分我們並沒有將 ESBL 的菌株與 wild type 的菌株分組，主要是因為在菌株的部分並未對對照組的菌株做統一的 ESBL 的檢測，僅能參考各家醫院的抗生素敏感性試驗，而各家醫院的所測試的藥物不同，且各醫院的規模亦不相同，因此本研究僅討論是否在感染發生前 72 小時使用有效藥物是否影響預後，而研究結果也顯示在 24 小時內如能使用有效抗生素對病人的存活是有影響的。

本研究的限制為一回溯性的研究，較難評估抗生素的治療對存活率的影響，加上在本研究當中也發現，許多個案的感染並非單一菌株所造成的，因此更難分析抗生素對存活率的影響，然而這可透過未來 3 年的連續研究，篩選其中較具代表性的感染個案且為單一菌株感染的個案，來作分析，或許能初步評估抗生素的治療對存活率的影響。

另外在痰液檢體或是尿液檢體培養出 carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* 的臨床意義是較少被討論到的，由於目前沒有一個客觀的評估系統來區別當尿液或是痰液檢體檢測出抗藥性菌株時，此菌株究竟是移生菌株還是感染症的致病菌無法得知，目前大部分仍需要靠臨床醫師的綜合判斷⁵⁷，因此在本年的研究當中並未加入臨床醫師的判斷，僅收集客觀的實驗室檢查資料，生理數據與臨床診斷，因此在未來可能需要另外設計臨床觀察性研究來探討是否有合適的臨床評估系統來評估病人是否需要接受抗生素的治療，以降低臨床抗生素的使用量。

(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

重要研究成果是明瞭臺灣 CRE 的現況和它們的主要抗藥機制。重要的發現是第一我們發現當前引起全球關注的 KPC 正在臺灣北、中、南的醫學中心的 *K. pneumoniae* 中流行。第二個重要的發現是 *K. pneumoniae* 對 tigecycline 的抗藥菌株從無到有。第三，臺灣的 CRE 中有兩個 dominant clone，一個是被認為在全球傳播的多重抗藥肺炎桿菌 ST11，另一個是帶有 CTX-M 基因的 *E.coli* ST43(ST131)，此種 clone 具有快速傳播力，且 NDM-1 常被發現位於此種 clone 上。

臺灣 CRE 的抗藥機制與美國不同，絕大部分不是由 carbapenemase 造成，主要是由 ESBL/AmpC cephalosporinase 合併外膜的缺失引起的 carbapenem ”抗藥”。但是今年的研究發現，KPC 正在 *K. pneumoniae* 中持續增長，如果沒有及時得到有效的控制，一定會造成 KPC 的爆發。很多的 CRE 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，當看實際情形。另外某些菌對 tigecycline 的抗藥性已經出現，如何控制和減少抗藥在用藥選擇上的是另一個需要注意的問題。從本研究各醫院菌株的分型結果來看，醫院內和醫院間的小型 clone 傳播。從序列型別(Sequence type; ST)來看，在 CRKP 中 ST11 占首要的比例，在 CREC 中則是 ST43 占最大比例，和目前全球流行的 clone 相符。

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 感染病患的抗生素使用及其他相關醫療處置之流行病學資料分析

本計畫是目前國內針對 carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* 數量最大的臨床分析，過去曾有文獻針對 ertapenem-resistant *Enterobacteriaceae* 做臨床的病人分析，然而在去年的研究我們發現很多 ertapenem 達抗藥的菌株對 imipenem, meropenem 和 doripenem 都具有感受性，因此 ertapenem 不適合作為流行病學調查時，carbapenemase-producing 抗藥菌的篩選，而我們在研究中發現感染使用類固醇，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，雖然感染 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 本身在進行多變相分析後並未成為影響

死亡的獨立危險因子，然而根據去年本研究團隊的計畫的體外敏感性試驗與本子計畫 1-3 的資料顯示，當病患感染 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 時體外有效的抗生素選擇僅有 Tigecycline, Colistin 與 Amikacin，而 Amikacin 由於藥物毒性與組織穿透的關係，臨床上大多用來做為合併用藥，因此這類病人在感染 24 小時內選擇合適的抗生素的機會會大幅的下降，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，因此可以解釋為何感染 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* 的病人死亡率較高。

(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 菌株，有低比率的 vancomycin non-susceptible 菌株；但卻有高比率的 high vancomycin MIC 菌株。
2. 對各種抗生素的感受性，南、北台灣差異不大。
3. ST5，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。
5. vancomycin 的 non-susceptibility，與 linezolid 及 daptomycin 的抗藥性，均出現在某些特定的 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。89 株 VRE 菌株鑑定的結果 98.9% 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 95.5%，*vanB* 基因型或 *vanA* 基因型-VanB 表現型的 VRE 菌株，分別各占 2 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 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，Efm-VRE 菌株主要是屬於 CC17 譜系，ST17 及 ST414 是最多的 ST 型，並且在所有收菌醫院皆有此兩型的菌株存在。所幸在 PFGE 分析的結果，並未發現醫院或區域的群聚現象。

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患照護。
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 carbapenem 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患的轉院頻繁，因此嚴格執行此類病患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

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. 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患房間。

(iii) 病患與衛生政策方面

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，因此對於此類的病患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患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，往往臨床醫師病患病情控制後，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，此類病人又是占住院病人的大宗，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患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患的感染狀態(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患做統一的規範，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，如需等病患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。

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。

(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, Tzouvelekis 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.

(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	CCCAACTCGCTTCAGGTCAG	38
	mdh : R : 867	CCGTTTTTCCCCAGCAGCAG	
<i>pgi</i>	pgi : F : 1R	GAGAAAAACCTGCCTGTACTGCTGGC	38
	pgi : R : 1F	CGCGCCACGCTTATAGCGGTTAAT	
<i>phoE</i>	phoE : F : 604.1	ACCTACCGCAACACCGACTTCTTCGG	38
	phoE : R : 604.2	TGATCAGAACTGGTAGGTGAT	
<i>infB</i>	infB : 1F	CTCGCTGCTGGACTATATTCG	38
	infB : 1R	CGCTTTCAGCTCAAGAACTTC	
<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	TTTTCAGAGCCTTACTGCCC	
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	CAAAAGTCCCGCTCCAACGA	
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	CAAGTTTGATTCCCTTGGACTCT	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	AACGGAAGTGAATGAGGCGCT	62
	SHV-R	TCCACCATCCACTGCAGCAGCT	

CTX-M-1 group	CTX-M-1F	GGTTAAAAAATCACTGCGTC	63
	CTX-M-1R	TTGGTGAGATTTTAGCCGC	
CTX-M-2 group	CTX-M-2F	TGGGTACGATTTTCGCCGC	63
	CTX-M-2R	TGGGTACGATTTTCGCCGC	
CTX-M-9 group	CTX-M-9F	ATGGTGACAAAGAGAGTGCA	63
	CTX-M-9R	CCCTTCGGCGATGATTCTC	
TEM	TEM-F	ATGAGTATTCAACATTTCCG	63
	TEM-R	CCAATGCTTAATCAGTGAGG	
Outer membrane protein in <i>E. coli</i>			
OmpF	OmpF-F	GCAGTGGCAGGTGTCATAAA	64
	OmpF-R	TCGGCATTAAACAAAGAGGTG	
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 C</i> (Carbamate kinase)	<i>arcC</i> -Up	TTGATTCACCAGCGCGTATTGTC	43
	<i>arcC</i> -Dn	AGGTATCTGCTTCAATCAGCG	
<i>aroE</i> (Shikimate dehydrogenase)	<i>aroE</i> -Up	ATCGGAAATCCTATTTACATTC	43
	<i>aroE</i> -Dn	GGTGTGTATTAATAACGATATC	
<i>glpF</i> (Glycerol kinase)	<i>glpF</i> -Up	CTAGGAACTGCAATCTTAATCC	43
	<i>glpF</i> -Dn	TGGTAAAATCGCATGTCCAATTC	
<i>gmk</i> (Guanylate kinase)	<i>gmk</i> -Up	ATCGTTTTATCGGGACCATC	43
	<i>gmk</i> -Dn	TCATTAECTACAACGTAATCGTA	
<i>pta</i> (Phosphate acetyltransferase)	<i>pta</i> -Up	GTAAAATCGTATTACCTGAAGG	43
	<i>pta</i> -Dn	GACCCTTTTGTGAAAAGCTTAA	
<i>tpi</i> (Triosephosphate isomerase)	<i>tpi</i> -Up	TCGTTCAITCTGAACGTCGTGAA	43
	<i>tpi</i> -Dn	TTTGCACCTTCTAACAATTGTAC	
<i>yqiL</i> (Acetyl coenzyme A acetyltransferase)	<i>yqiL</i> -Up	CAGCATACAGGACACCTATTGGC	43
	<i>yqiL</i> -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	GCTTTAAAGAGTGTGTTACAGG	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	CCTTAGTTGTGTAACAGATCG	
SCCmec IVa	Type IVa-F	GCCTTATTCGAAGAAACCG	13
	Type IVa-R	CTACTCTTCTGAAAAGCGTCG	
SCCmec IVb	Type IVb-F	TCTGGAATTAATTCAGCTGC	13
	Type IVb-R	AAACAATATTGCTCTCCCTC	
SCCmec IVc	Type IVc-F	ACAATATTTGTATTATCGGAGAGC	13
	Type IVc-R	TTGGTATGAGGTATTGCTGG	
SCCmec IVd	Type IVd-F5	CTCAAATACGGACCCCAATACA	13
	Type IVd-R6	TGCTCCAGTAATTGCTAAAG	
SCCmec V	Type V-F	GAACATTGTTACTTAAATGAGCG	13
	Type V-R	TGAAAGTTGTACCCTTGACACC	

<i>mecA</i>	MecA147-F	GTGAAGATATACCAAGTGATT	13
	MecA147-R	ATGCGCTATAGATTGAAAGGAT	
Class A <i>mec</i>	<i>mecI</i> -F	CCCTTTTATACAATCTCGTT	13
	<i>mecI</i> -R	ATATCATCTGCAGAATGGG	
Class B <i>mec</i>	IS1272-F	TATTTTGGGTTTCACTCGG	13
	<i>mecR</i> 1-R	CTCCACGTTAATTCCATTAATACC	
	<i>ccrAB</i> - β 2	ATTGCCTTGATAATAGCCITCT	13
Type 1 <i>ccr</i>	<i>ccrAB</i> - α 2	AACCTATATCATCAATCAGTACGT	13
Type 2 <i>ccr</i>	<i>ccrAB</i> - α 3	TAAAGGCATCAATGCACAAACACT	13
Type 3 <i>ccr</i>	<i>ccrAB</i> - α 4	AGCTCAAAGCAAGCAATAGAAT	13
Type 5 <i>ccr</i>	<i>ccrC</i> -F	ATGAATTCAAAGAGCATGGC	13
	<i>ccrC</i> -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	GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAAGC	
子計畫五所用的引子序列 (Van 基因的偵測)			
<i>vanA</i>	<i>vanAF</i>	AATGTGCGAAAAACCTTGCG	47
	<i>vanAR</i>	CCGTTTCCTGTATCCGTCC	
<i>vanB</i>	<i>vanBF</i>	CAAATCACTGGCCTACATTC	47
	<i>vanBR</i>	TCTGCATCCAAGCACCCG	
<i>vanC1</i>	<i>vanC1F</i>	GGTATCAAGGAAACCTC	47
	<i>vanC1R</i>	CTTCCGCCATCATAGCT	
<i>vanC2/C3</i>	<i>vanC2/C3F</i>	AATGTGCGAAAAACCTTGCG	47
	<i>vanC2/C3R</i>	CCGTTTCCTGTATCCGTCC	
<i>vanD</i>	<i>vanDF</i>	TTTGTAAGCCTGCCCGTTC	46
	<i>vanDR</i>	CCAAGTAYCCGGTAAATCTTC	
<i>vanE</i>	<i>vanEF</i>	AAATAATGCTCCATCAATTTGCTGA	46
	<i>vanER</i>	ATAGTCGAAAAAGCCATCCACAAG	
<i>vanG</i>	<i>vanGF</i>	TTGGAGGCAATTCAACAGAGT	46
	<i>vanGR</i>	TCGCAGCCAACAACAGGTATT	
子計畫五所用的引子序列 (MLST 的分型)			
<i>adk</i>	<i>adk1</i>	TATGAACCTCATTTTAATGGG	48
	<i>adk2</i>	GTTGACTGCCAAACGATTTT	
<i>atpA</i>	<i>atpA1</i>	CGGTTCATACGGAATGGCACA	48
	<i>atpA2</i>	AAGTTCACGATAAGCCACGG	
<i>ddl</i>	<i>ddl1</i>	GAGACATTGAATATGCCTTATG	48
	<i>ddl2</i>	AAAAAGAAATCGCACCG	
<i>gdh</i>	<i>gdh1</i>	GGCGCACTAAAAGATATGGT	48
	<i>gdh2</i>	CCAAGATTGGGCAACTTCGTCCCA	
<i>gyd</i>	<i>gyd1</i>	CAAACCTGCTTAGCTCCAAGGC	48
	<i>gyd2</i>	CATTCGTTGTCAIACCAAGC	
<i>purK</i>	<i>purK1</i>	GCAGATTGGCACATTGAAAGT	48
	<i>purK2</i>	TACATAAATCCCCCTGTTY	
<i>pstS</i>	<i>pstS1</i>	TTGAGCCAAGTCGAAGCTGGAG	48
	<i>pstS2</i>	CGTGATCACGTTCTACTTCC	

表 2、MIC₅₀, MIC₉₀ and non-susceptible rate of 216 *K. pneumoniae* isolates

Antibiotic ^a	<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	87.9
TIM	≥128	≥128	100
TZP	≥128	≥128	96.3
aztreonam	≥32	≥32	96.8
cefoxitin	≥32	≥32	100
gentamicin	≥16	≥16	56.9
amikacin	≤4	≥64	36.1
nalidixic acid	≥16	≥16	90.7
ciprofloxacin	≥4	≥4	90.7
levofloxacin	≥8	≥8	89.3
SXT	≥4	≥4	79.6
ertapenem	≥8	≥8	100
imipenem	≥8	≥8	96.3
meropenem	4	≥8	68.5
doripenem	≥4	≥4	69.4
colistin	≤0.5	≥4	11.1 (under confirmation)
tigecycline	0.5	1	1.85

^a TIM, ticarcillin/clavulanic acid; TZP, piperacillin/tazobactam; SXT, trimethoprim/sulphamethoxazole

表 3、MIC₅₀, MIC₉₀ and non-susceptible rate of 33 *E. coli* isolates

Antibiotic ^a	<i>E.coli</i>		Non-susceptible rate %
	MIC ₅₀ (μg/mL)	MIC ₉₀ (μg/mL)	
ampicillin	≥32	≥32	100
cefazolin	≥32	≥32	100
cefuroxime	≥32	≥32	100
ceftazidime	≥32	≥32	100
cefotaxime	≥32	≥32	100
cefepime	16	≥32	54.5
TIM	≥128	≥128	100
TZP	≥128	≥128	87.9
aztreonam	≥32	≥32	100
cefoxitin	≥32	≥32	100
gentamicin	≥16	≥32	45.5
amikacin	≤4	16	9.1
nalidixic acid	≥16	≥16	72.7
ciprofloxacin	≥4	≥4	63.6
levofloxacin	≥8	≥8	60.6
SXT	≥4	≥4	63.6
ertapenem	≥8	≥8	100
imipenem	4	≥8	100
meropenem	4	≥8	60.6
doripenem	2	≥4	54.5
colistin	≤0.5	≤0.5	3.0
tigecycline	≤0.25	≤0.25	0 (under confirmation)

^a TIM, ticarcillin/clavulanic acid; TZP, piperacillin/tazobactam;
SXT, trimethoprim/sulphamethoxazole

表 4、ESBL genes detected in 216 carbapenem non-susceptible *K. pneumoniae* isolates

β -lactamases	<i>K. pneumoniae</i> (216)
CTX-M-1 group	10
CTX-M-2 group	0
CTX-M-9 group	138
CTX-M-1/CTX-M-9 group combine	3
CTX-M-2/CTX-M-9 group combine	0
Negative	71

表 5、Carbapenemase genes detected in 216 carbapenem non-susceptible *K. pneumoniae* isolates

β -lactamases	<i>K. pneumoniae</i> (216)
IMP-(IMP-8)	5
IMP negative	211
VIM-(VIM-1)	7
VIM negative	209
NDM-	0
OXA-(OXA-1)	23
KPC-(KPC-2)	31
NMC-	0
SME-	0
IMI-	0

表 6、AmpC genes detected in 216 carbapenem non-susceptible *K.pneumoniae* isolates

β -lactamases	<i>K.pneumoniae</i> (216)
CMY-2	15
CMY- negative	201
DHA-1	134
DHA- negative	82

表 7、Carbapenem resistant mechanisms in 216 *K. pneumoniae* isolates^a

β -lactamases	Outer membrane profile (216)			
	35/36	Δ 35	Δ 36	Δ 35/36
CAR				
KPC-2	1	25	2	3
IMP-8	0	4	0	1
VIM-1	3	4	0	0
AmpC				
DHA-1	7	70	4	50
CMY-2	0	1	0	9
ESBL				
CTX-M-9 group	0	10	0	4
CTX-M-1 group	1	2	0	1
SHV	1	5	1	7

^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、Detection of carbapenemase, AmpC and ESBL in 33 *E. coli* isolates

β -lactamases	<i>E. coli</i> (33)
KPC, NDM, VIM, IMP	0
OXA-1 like	1
CMY-2	31
DHA-1	1
SHV (SHV-12, SHV-120)	2
CTX-M-1 group (CTX-M-3, CTX-M-15 etc.)	6
CTX-M-9 group (CTX-M-14 etc.)	5

表 9、Carbapenem resistant mechanisms in 33 *E. coli* isolates^a

β -lactamases	Outer membrane profile (33)			
	F/C	Δ F	Δ C	Δ F/C
CAR				
IMP-8	0	0	0	0
VIM-1	0	0	0	0
AmpC				
CMY-2	2	4	5	20
DHA-1	0	0	0	0
ESBL				
CTX-M-9 group	0	0	0	0
CTX-M-1 group	0	0	0	1
SHV	0	0	0	0
None detected	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 10、88 株 *E. faecium* 之 MIC 及 *van* 抗藥基因檢測結果

抗生素	菌株數	抗藥基因	表現型	MIC (µg/ml)			
				範圍	MIC ₅₀	MIC ₉₀	感受性%
vancomycin	84	<i>vanA</i>	VanA	>256	>256	>256	0
	2	<i>vanA</i>	VanB	>256	>256	>256	0
	2	<i>vanB</i>	VanB	6-8	6	8	0
teicoplanin	84	<i>vanA</i>	VanA	12->256	32	64	0
	2	<i>vanA</i>	VanB	8	8	8	100
	2	<i>vanB</i>	VanB	0.75-1	0.75	1	100
tigecycline	88			0.016-12	0.094	0.19	92
daptomycin	88			0.064-4	1.5	2	100
linezolid	88			0.25-2	1	1.5	100

表 11、醫院血流培養 Efm-VRE 的主要四種 ST 型與 PFGE 的分析結果

MLST	PFGE type	cgmhkl ³	ntuh	tsgh	tpevgh	cgmhkl	cmuh	cgmhcy	kmuhsk	cgmhkh	kmuh	tzuchi	Total
ST17	1	5 ^{01,02,05,06*}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
	7	0	0	1	0	0	2	2	0	0	0	0	5
	8	2	2	1	1	0	1	0	0	0	0	0	7
	9	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	12	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	13	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	16	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	24	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	?	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
Total	7	6	2	2	0	3	2	1	0	1	0	24	
ST414	5	1	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	4
	14	2	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	4
	15	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	4
	20	2	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0	5
	?	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Total	7	2	2	1	1	2	0	2	1	0	0	18	
ST341	2	1	0	0	0	0	5 ^{01,03,05*}	0	0	0	0	0	7
	?	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	Total	1	2	0	0	0	5	0	0	0	0	0	8
ST78	10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	11	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3 ^{03,04*}	3
	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	?	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2
Total	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	4	8	
Total		16	10	5	4	1	11	2	3	1	1	4	58

^a 醫院代碼

*表格內上標的數字代表分離的月份

表 12、KPC 菌株之檢體類別於各醫院分佈情形

醫院代碼	檢體類別	檢體類別						小計
		尿液	痰液	血液	傷口分泌物	中心靜脈導管	支氣管肺泡洗液	
北部	A(台大)	3	2	1	0	1	0	7
	B(北榮)	1	2	0	1	0	0	4
	D(林口長庚)	9	5	1	1	0	1	17
中部	G(中國附醫)	1	0	0	0	0	0	1
南部	J(奇美)	1	1	0	0	0	0	2
總計		15	10	2	2	1	1	31

表 13、各醫院 CR/*K. pneumoniae* 檢出 KPC 抗藥性基因之比例

醫院代碼	CR/ <i>K. pneumoniae</i>	KPC	百分比(%)
北部	A(台大)	79	8.9
	B(北榮)	20	20.0
	D(林口長庚)	52	32.7
中部	G(中國附醫)	13	7.7
南部	J(奇美)	8	25.0

表 14、KPC 陽性個案之基本資料分析

項目	個案數(n=28)	百分比(%)
年齡(平均值±標準差)	74 ± 9	
平均住院天數(平均值±標準差)	53.5 ± 47.8	
入院後平均檢出 KPC 天數(平均值±標準差)	31.2 ± 38.6	
個案來源		
醫院個案	19	67.9
長期照護機構轉入	4	14.3
其他醫院轉入	5	17.9
住院科別		
內科(免疫風濕、神經內科、一般內科)	20	71.4
外科(整外、燙傷、一般外科)	8	28.6
年齡層		
50-59 歲	2	7.1
60-69 歲	5	17.9
70-79 歲	11	39.3
80-89 歲	10	35.7
91 歲以上	0	0.0
入院日至出院日天數		
0-3 天	0	0.00
4-30 天	9	32.1
31-60 天	10	35.7
61-90 天	5	17.9
91 天以上	4	14.3
入院日至採檢日天數		
0-3 天	5	17.9
4-30 天	12	42.9
31-60 天	7	25.0
61-90 天	3	10.7
91 天以上	1	3.8
採檢部位		
尿液	14	50.0
痰液	8	28.6
血液	2	7.1
傷口分泌物	2	7.1
插中心靜脈導管處	1	3.6
支氣管肺泡洗液	1	3.6

表 14、KPC 陽性個案之基本資料分析 (續)

項目	個案數(n=28)	百分比 (%)
侵入性裝置		
無使用侵入性裝置	3	10.7
使用一種侵入性裝置	5	17.9
氣切管路	3	10.7
中心靜脈導管	2	7.1
使用兩種 (含以上) 侵入性裝置	20	71.4
中心靜脈導管、其他侵入性裝置: Double lumen, hemosplit catheter / 周邊導管	2	7.1
尿管、Colonscopy	1	3.6
尿管、中心靜脈導管	4	14.3
尿管、中心靜脈導管、其他侵入性裝置: Double lumen, Hickman	3	10.7
呼吸器、中心靜脈導管	2	7.1
呼吸器、尿管、中心靜脈導管	2	7.1
呼吸器、尿管、其他侵入性裝置: Double lumen	1	3.6
呼吸器、尿管、中心靜脈導管、其他侵入性裝置: PICCO	4	14.3
呼吸器、尿管、中心靜脈導管、其他侵入性裝置: PICCO, Double lumen	1	3.6
個案現況		
住院中	0	0.0
出院	22	78.6
死亡	6	21.4

表 15、已收案的感染症分布情形

Strain	Infection site	CRE (n)	CSE (n)
<i>E. coli</i>	intra-abdominal infection	7	3
	Catheter related infection	2	0
	Urinary tract infection	8	9
	Biliary tract infection	8	10
	others	5	4
	Total	30	26
<i>K. pneumoniae</i>	respiratory tract	63	66
	intra-abdominal infection	3	8
	catheter related infection	7	1
	UTI	71	60
	Biliary tract infection	8	10
	Others	13	10
	Wound infection	6	2
	Total	171	157

表 16、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)	16/30(53.3)	12/26(46.2)	0.592
Age	66.8±2.3(46-87)	60.7±3.5(23-93)	0.183
Admission in recent 3 months	18/30 (60.0)	4/26(46.0)	0.01
Hospital Days before infection	39.5±10.9(1-287)	20.6±13.8(-5-330)	0.001
Cormorbidity			
Malignant tumor	12/30(40.0)	6/26(23.1)	0.143
Stroke	4/30(13.3)	2/26(7.7)	0.407
Hemiplegia	3/30(10.0)	1/26(3.8)	0.362
Dementia	3/30(10.0)	0/26(0)	0.146
Gastric ulcer	5/30(16.7)	3/26(11.5)	0.143
Liver cirrhosis	5/30(16.7)	1/26(3.8)	0.12
Chronic hepatitis	3/30(10.0)	2/26(7.7)	1.000
DM	9/30(30)	9/26(34.6)	0.779
CHF	1/30(3.3)	2/26(7.7)	0.592
CAD	3/30(10.0)	1/26(3.8)	0.615
PAOD	2/30(6.7)	0/26(0)	0.494
COPD	2/30(6.7)	1/26(3.8)	1.000
Chronic respiratory failure	2/30(6.7)	0/26(0)	0.494
Chronic renal failure	5/30(16.7)	1/26(3.8)	0.200
Steroid	3/30(10.0)	1/26(3.8)	0.615
Recent operation	10/30(33.3)	4/26(15.4)	0.215
Invasive procedure			
A line	4/30(13.3)	1/26(3.8)	0.358
Abdominal drainage	11/30(36.7)	5/26(19.2)	0.150
Thoracic drainage	1/30(3.3)	0/26(0)	1.000
Central venous catheter	9/30(30)	4/26(15.4)	0.196
TPN	5/30(16.7)	3/26(11.5)	0.712
Tracheostomy	1/30(3.3)	0/26(0)	1.000
Intubation	3/30(10)	0/26(0)	0.24
Hemodialysis	6/30(20)	1/26(3.8)	0.108
NG	16/30(53.3)	5/26(19.2)	0.009
Foley	19/30(63.3)	4/26(15.4)	0.000
Disease severity			
Charlson score	4.4±0.7(0-12)	2.5±0.6(0-10)	0.057
SOFA score	6.0±0.7(0-15)	3.4±0.9(0-18)	0.006
APACHE II score	17.6±1.8(0-37)	13.9±2.0(0-37)	0.15
Treatment			
Appropriate ABx in 24 hours	8/29(27.6)	14/25(56.0)	0.034
Appropriate ABx in 48 hours	9/26(31.0)	15/25(60.0)	0.033
Appropriate ABx in 72 hours	11/30(39.3)	15/26(60.0)	0.132
Total Mortality	10/27(37.0)	2/24(8.3)	0.016
Hospital days	61.4±43(-48-302)	39.6±15.4(0-459)	0.002

表 17、 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)	108/172(62.8)	82/158(51.9)	0.046
Age	73.6±1.2(12-103)	68.4±1.5(0-95)	0.013
Admission in recent 3 months	87/172(50.6)	62/156(39.7)	0.043
Hospital Days before infection	29.4±3.1(-23~241)	10.4±1.5(-8~96)	0.000
Cormorbidity			
Malignant tumor	48/172(27.9)	35/158(22.2)	0.229
Stroke	58/172(33.7)	38/158(24.1)	0.053
Hemiplegia	43/172(25.0)	12/158(7.6)	0.000
Dementia	28/171(16.4)	17/158(10.8)	0.151
Gastric ulcer	38/172(22.1)	30/158(19.0)	0.486
Liver cirrhosis	17/172(9.9)	5/158(3.2)	0.115
Chronic hepatitis	13/172(7.6)	7/158(4.4)	0.234
DM	73/172(42.4)	75/158(47.5)	0.359
CHF	34/172(19.8)	20/157(12.7)	0.086
CAD	30/172(17.4)	24/158(15.2)	0.581
PAOD	14/172(8.1)	8/158(5.1)	0.280
COPD	23/172(13.4)	21/158(13.3)	0.983
Chronic respiratory failure	20/172(11.6)	9/158(5.7)	0.057
Chronic renal failure	28/172(16.3)	20/158(12.7)	0.351
Steroid	17/172(9.9)	12/157(7.6)	0.561
Recent operation	50/172(29.1)	30/158(19.0)	0.040
Invasive procedure			
A-line	44/170(25.9)	20/157(12.7)	0.003
Abdominal drainage	10/170(5.9)	12/158(7.6)	0.536
Thoracic drainage	13/170(7.6)	3/158(1.9)	0.016
Central venous catheter	58/169(34.3)	34/158(21.5)	0.014
TPN	9/169(5.3)	8/158(5.1)	1.000
Tracheostomy	10/170(5.9)	4/158(2.5)	0.174
Intubation	38/170(22.4)	28/158(17.7)	0.336
Hemodialysis	41/170(24.1)	19/158(12)	0.005
NG	128/170(75.3)	63/158(39.9)	0.000
Foley	112/170(65.9)	60/158(38)	0.000
Disease severity			
Charlson score	4.5±0.2(0-13)	3.3±0.2(0-13)	0.000
SOFA score	5.9±0.3(0-24)	3.7±0.3(0-16)	0.000
APACHE II score	21.7±0.7(3-55)	17.1±0.8(0-49)	0.000
Treatment			
Appropriate ABx in 24 hours	21/163(12.9)	83/156(53.2)	0.000
Appropriate ABx in 48 hours	27/163(16.6)	91/156(58.3)	0.000
Appropriate ABx in 72 hours	43/163(26.4)	99/156(63.5)	0.000
Total Mortality	61/157(38.9)	31/150(20.7)	0.001
Hospital days	57.1±4.7(-4~318)	30.2±2.6(-2~143)	0.000

表 18、Independent risk factor for acquiring carbapenem resistant *K. pneumoniae* infection

Variable	Adjusted OR (95% CI)	<i>p</i>
Charlson co-morbidity score ≥ 4	0.75(0.43-1.30)	0.309
Previous Steroid therapy	0.61(0.24-1.53)	0.293
Age more than 70	0.85(0.48-1.52)	0.590
Hemiplegia	0.33(0.15-0.71)	0.005
Recent-op	0.53(0.29-0.98)	0.043
A_line	1.11(0.55-2.27)	0.772
Thoracic drainage	0.29(0.06-1.45)	0.130
Hemodialysis	0.50(0.24-1.04)	0.062
NG	0.48(0.24-0.95)	0.035
Foley	0.83(0.45-1.5)	0.541
Admission Days before isolation more than 3 weeks	0.53(0.29-0.98)	0.042

表 19、Independent risk for mortality among patients with *K. pneumoniae* infection

Variable	Adjusted OR(95% CI)	<i>p</i>
Steroid	3.00(1.16-1.51)	0.024
Appropriate antibiotics tx within 24 hours	0.48(0.23-0.94)	0.034
CRE	0.81(0.43-1.51)	0.503
Charlson score ≥ 4	1.95(1.08-3.52)	0.026
SOFA ≥ 7	6.36(3.43-11.79)	< 0.001

表 20、Univariable analysis of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* with KPC gene and carbapenem-resistant *K. pneumoniae* without KPC gene

	KPC- n/total (%) mean±SD(range)	KPC+ n/total (%) mean±SD (range)	<i>p</i>
Demographic data			
Gender (male)	98/155(63.2)	10/17(58.8)	0.721
Age	73.2±2.3(56-86)	73.6±1.3(12-103)	0.411
Admission in recent 3 months	79/154(51.3)	8/17(47.1)	0.740
Hospital Days before infection	13.7±2.8(0-35)	31.2±3.4(-23-241)	0.275
Comorbidity			
Malignant tumor	45/155(29.0)	3/17(17.6)	0.404
Stroke	52/155(33.5)	6/17(35.3)	0.885
Hemiplegia	40/155(25.8)	3/17(17.6)	0.567
Dementia	26/154(16.9)	2/17(11.8)	0.742
Gastric ulcer	34/155(21.9)	4/17(23.5)	1.000
Liver cirrhosis	16/155(10.3)	1/17(5.9)	1.000
Chronic hepatitis	12/155(7.7)	1/17(5.9)	1.000
DM	65/155(41.9)	8/17(47.1)	0.685
CHF	32/155(20.6)	2/17(9.9)	0.530
CAD	26/155(16.8)	4/17(23.5)	0.503
PAOD	13/155(8.4)	1/17(5.9)	1.000
COPD	21/155(13.5)	2/17(11.8)	1.000
Chronic respiratory failure	18/155(11.6)	2/17(11.8)	1.000
Chronic renal failure	25/155(16.1)	3/17(17.6)	1.000
Steroid	16/155(10.3)	1/17(5.9)	1.000
Recent operation	45/155(29.0)	5/17(29.4)	1.000
Invasive procedure			
A-line	39/153(25.5)	5/17(29.4)	0.772
Abdominal drainage	9/153(5.9)	1/17(5.9)	1.000
Thoracic drainage	11/153(7.2)	2/17(11.8)	0.622
Central venous catheter	50/152(32.9)	8/17(47.1)	0.243
TPN	9/153(5.9)	0/16(0)	1.000
Tracheostomy	9/153(5.9)	1/17(5.9)	1.000
Intubation	33/153(21.6)	5/17(29.4)	0.539
Hemodialysis	34/153(22.2)	7/17(41.2)	0.130
NG	115/153(75.2)	13/17(76.5)	1.000
Foley	98/153(64.1)	14/17(82.4)	0.131
Disease severity			
Charlson score	4±0.5(0-7)	4.6±0.2(0-13)	0.556
SOFA score	6.2±1.0(0-14)	5.86±0.4(0-24)	0.625
APACHE II score	20.1±1.8(10-38)	21.9±0.8(3-55)	0.441
Treatment			
Appropriate ABx in 24 hours	19/146(13)	2/17(11.8)	1.000
Appropriate ABx in 48 hours	24/146(16.4)	3/17(17.6)	1.000
Appropriate ABx in 72 hours	37/146(25.3)	6/17(35.3)	0.391
Total Mortality	56/144(38.9)	5/13(38.5)	0.976
Hospital days	29.5±4.2(6-51)	59.8±5.1(-4-318)	0.114

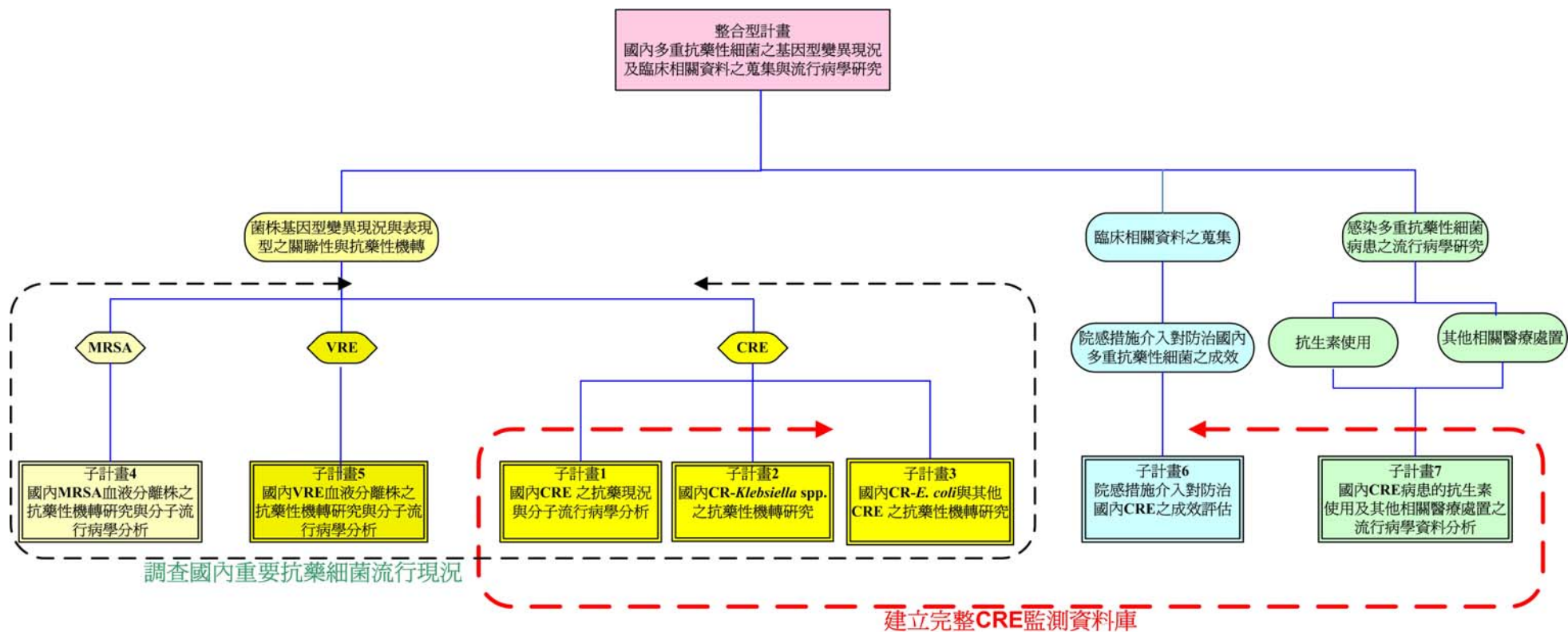


圖 1 本研究的目的是及分工

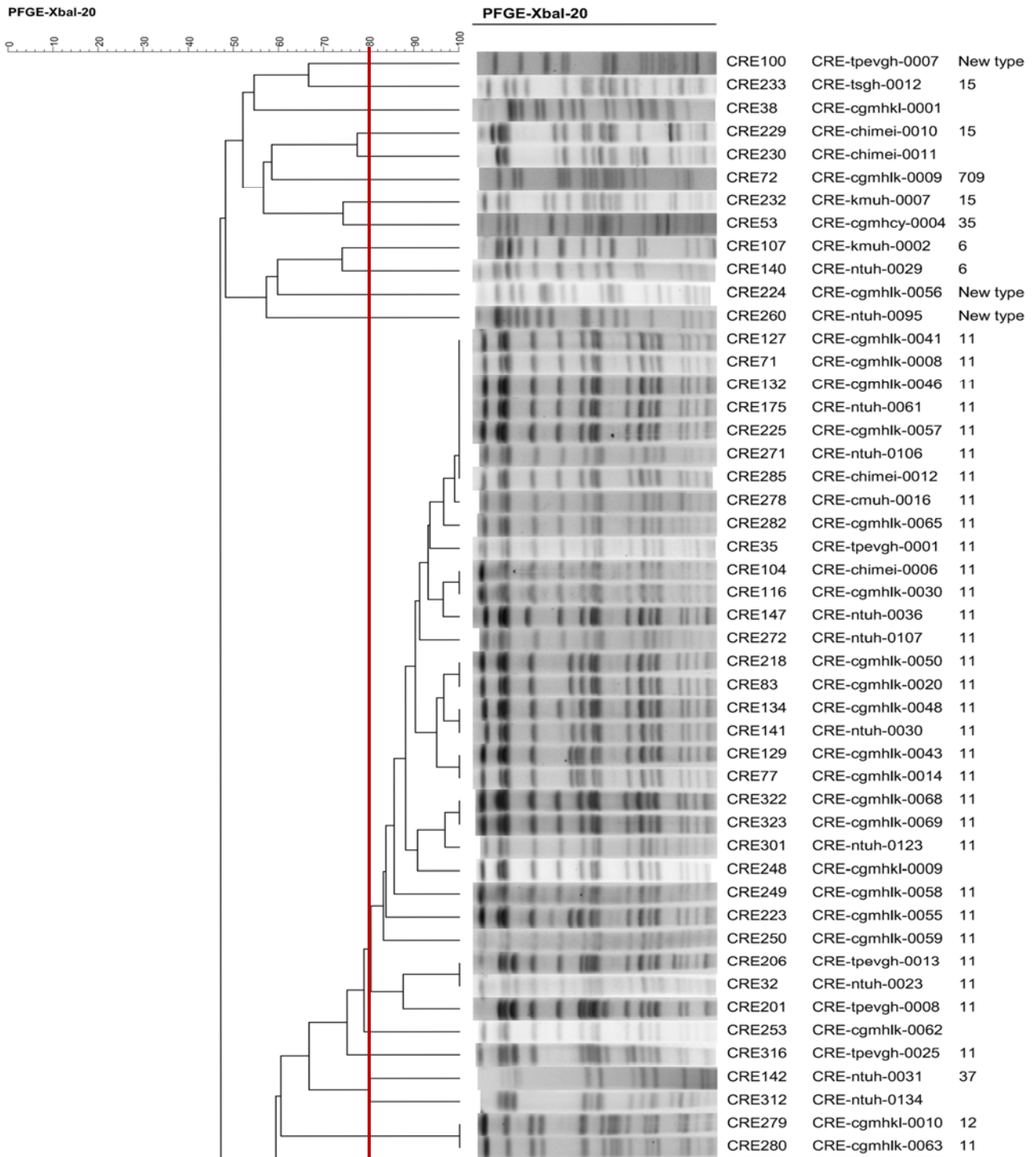


圖 2、PFGE of 216 *K.pneumoniae* isolates

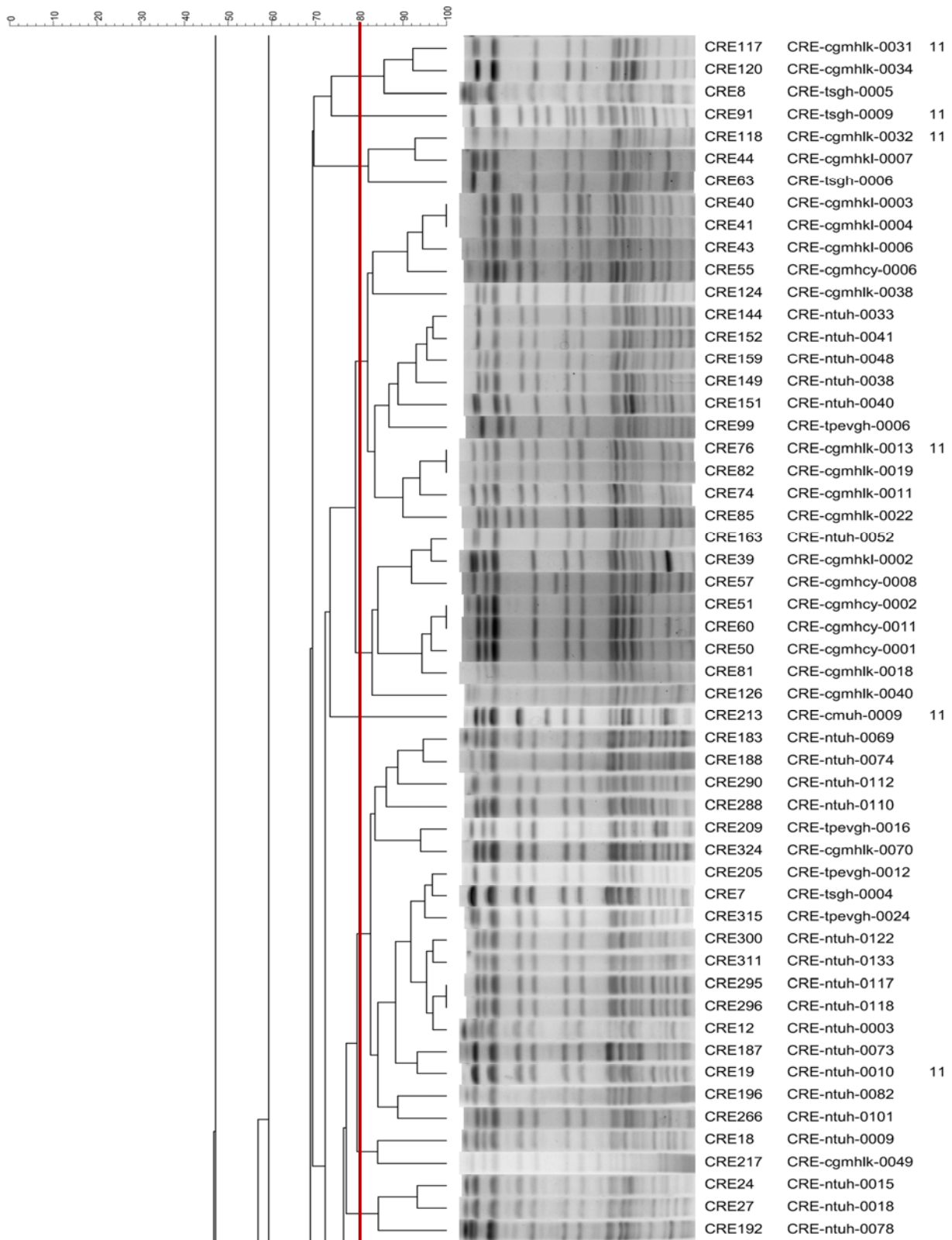


圖 2、PFGE of 216 *K.pneumoniae* isolates (續)

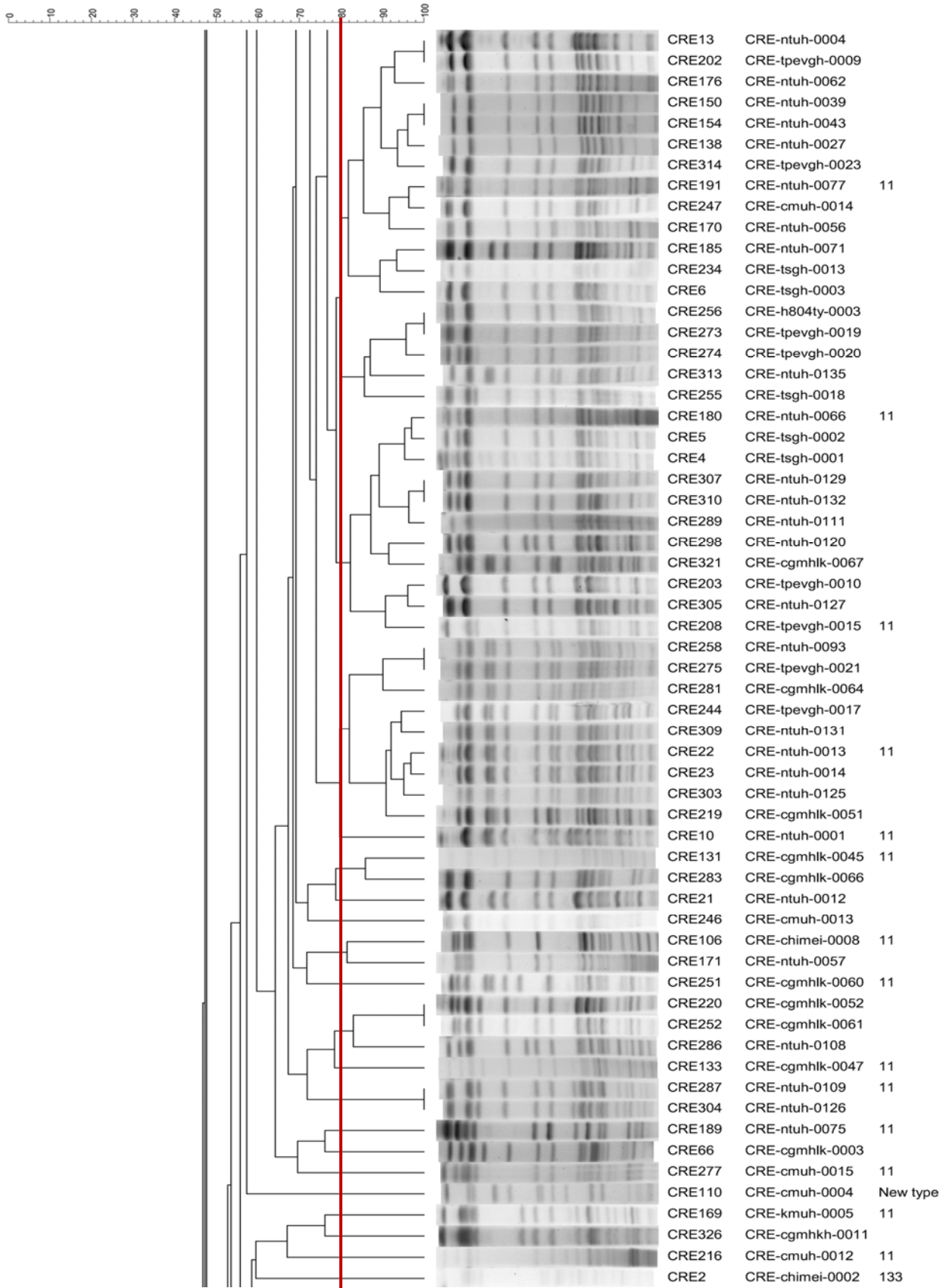


圖 2、PFGE of 216 *K.pneumoniae* isolates (續)

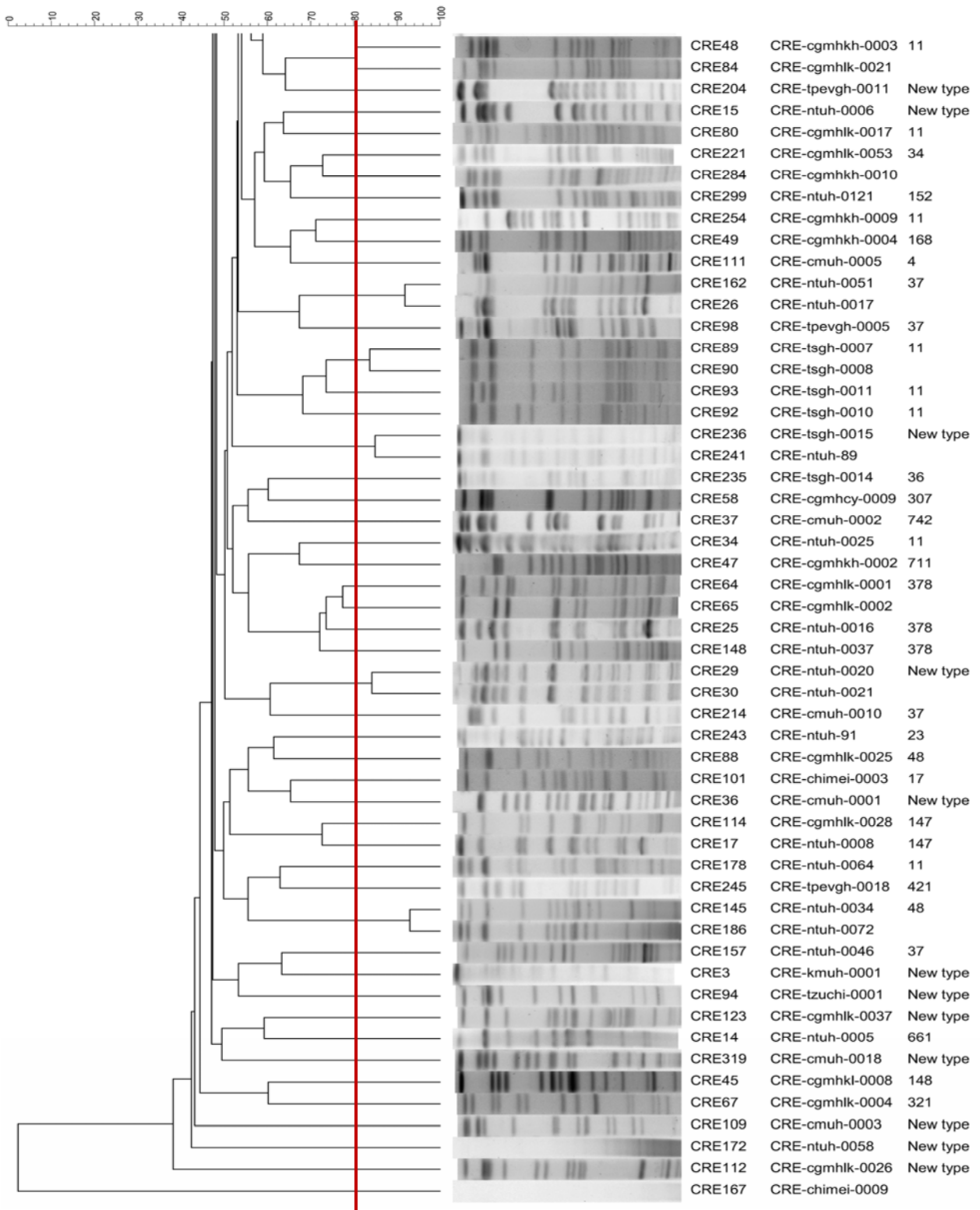


圖 2、PFGE of 216 *K.pneumoniae* isolates (續)

PFGE-XbaI-20

PFGE-XbaI-20



CRE164	CRE-ntuh-0053	315
CRE210	CRE-cmuh-0006	43
CRE199	CRE-ntuh-0085	378
CRE70	CRE-cgmhIk-0007	New type
CRE75	CRE-cgmhIk-0012	New type
CRE195	CRE-ntuh-0081	New type
CRE212	CRE-cmuh-0008	567
CRE226	CRE-cgmhcy-0014	New type
CRE9	CRE-h804ty-0001	43
CREH2	CRE-h804ty-0002	43
CRE113	CRE-cgmhIk-0027	43
CRE136	CRE-cgmhkh-0006	43
CRE215	CRE-cmuh-0011	43
CRE318	CRE-cmuh-0017	
CRE108	CRE-kmuh-0003	8
CRE68	CRE-cgmhIk-0005	44
CRE165	CRE-ntuh-0054	527
CRE293	CRE-ntuh-0115	477
CRE222	CRE-cgmhIk-0054	New type
CRE325	CRE-cgmhIk-0071	39
CRE96	CRE-tpevgh-0003	
CRE231	CRE-kmuh-0006	43
CRE79	CRE-cgmhIk-0016	New type
CRE190	CRE-ntuh-0076	New type
CRE135	CRE-cgmhkh-0005	3
CRE292	CRE-ntuh-0114	2
CRE69	CRE-cgmhIk-0006	39
CRE125	CRE-cgmhIk-0039	43
CRE95	CRE-tpevgh-0002	58

圖 3、PFGE of 33 *E.coli* isolates

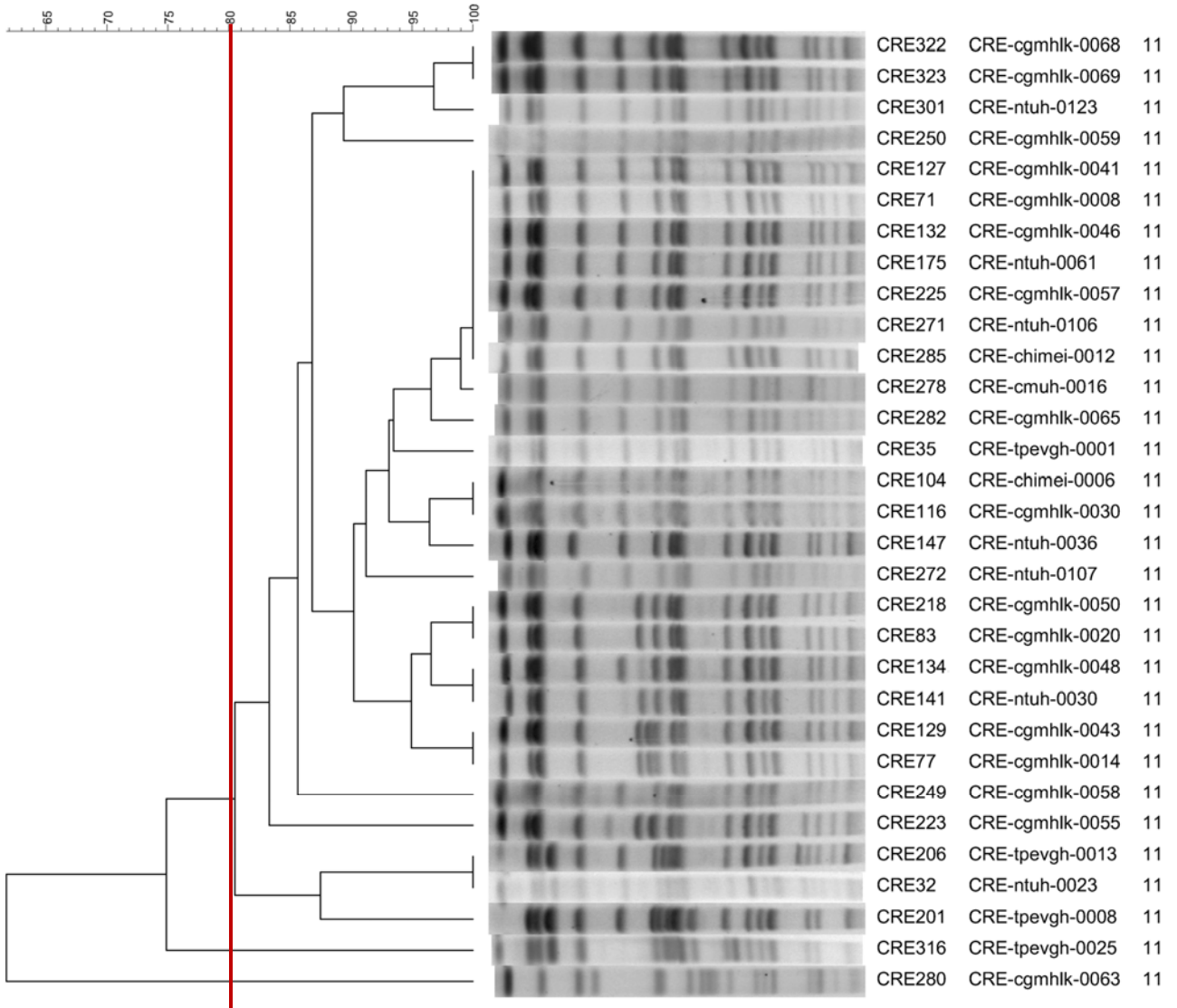


圖 4、PFGE of 31 KPC positive isolates from five medical centers

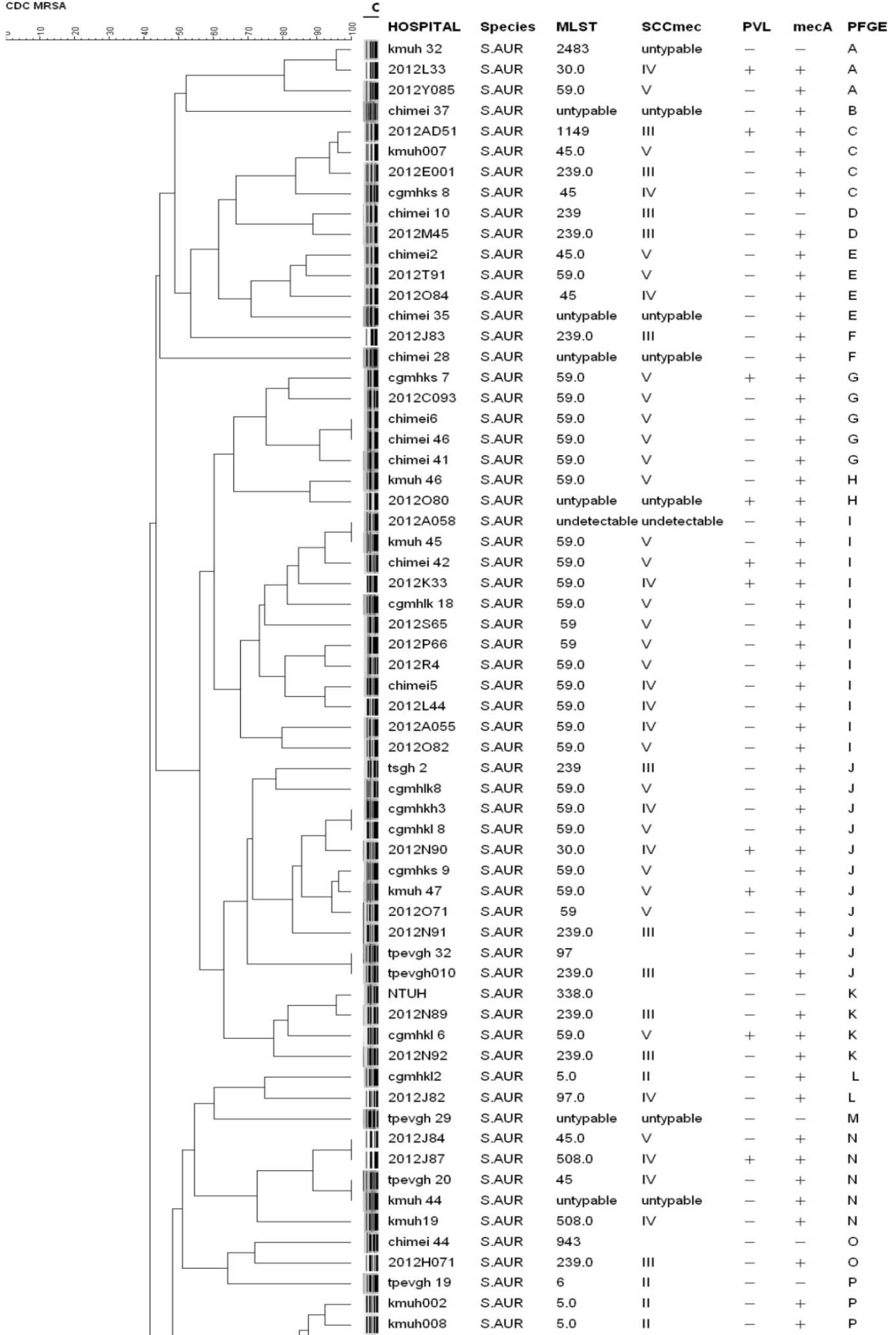


圖 5、Pulsotypes of collected MRSA isolates

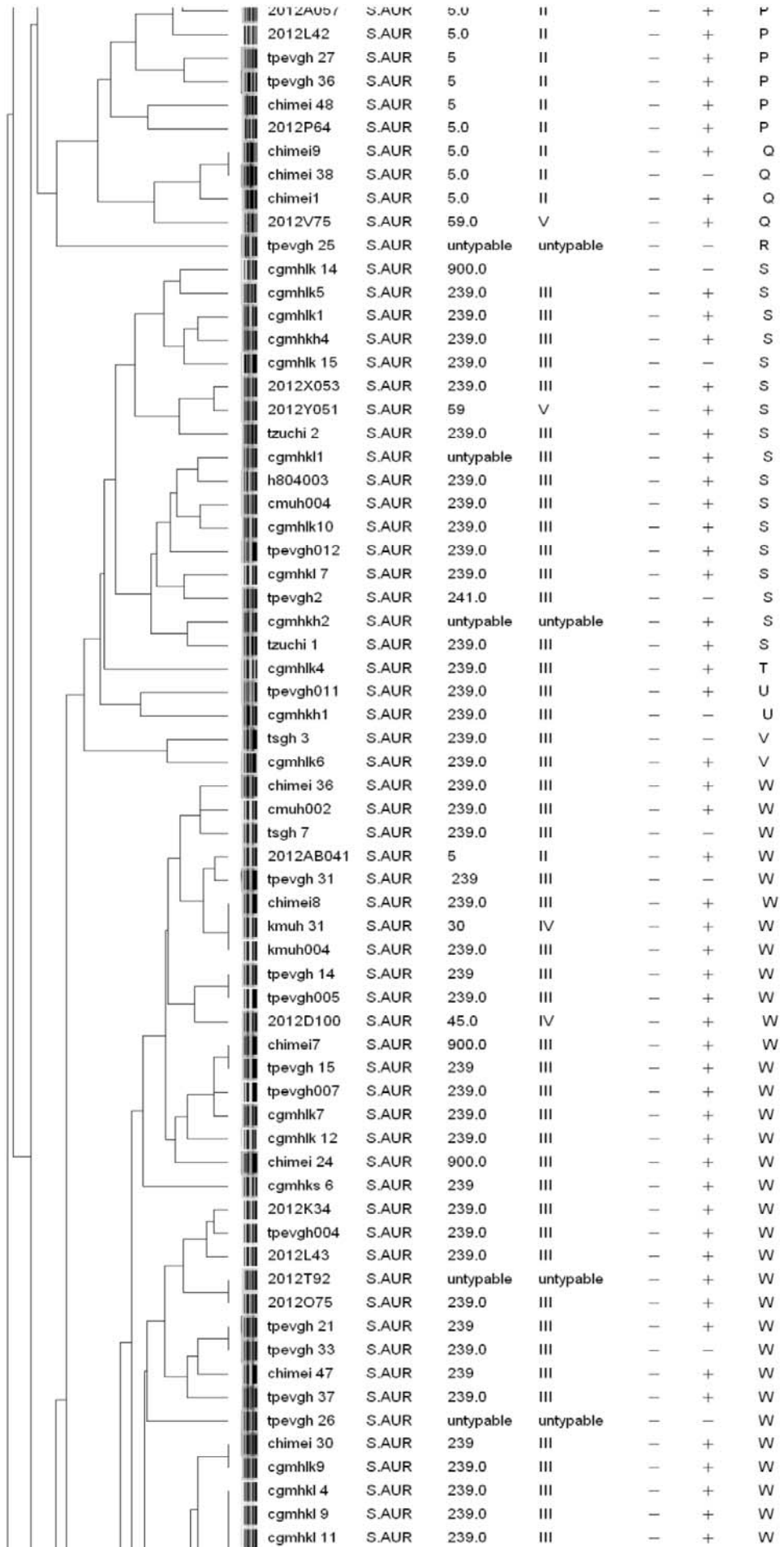


圖 5、Pulsotypes of collected MRSA isolates (續)

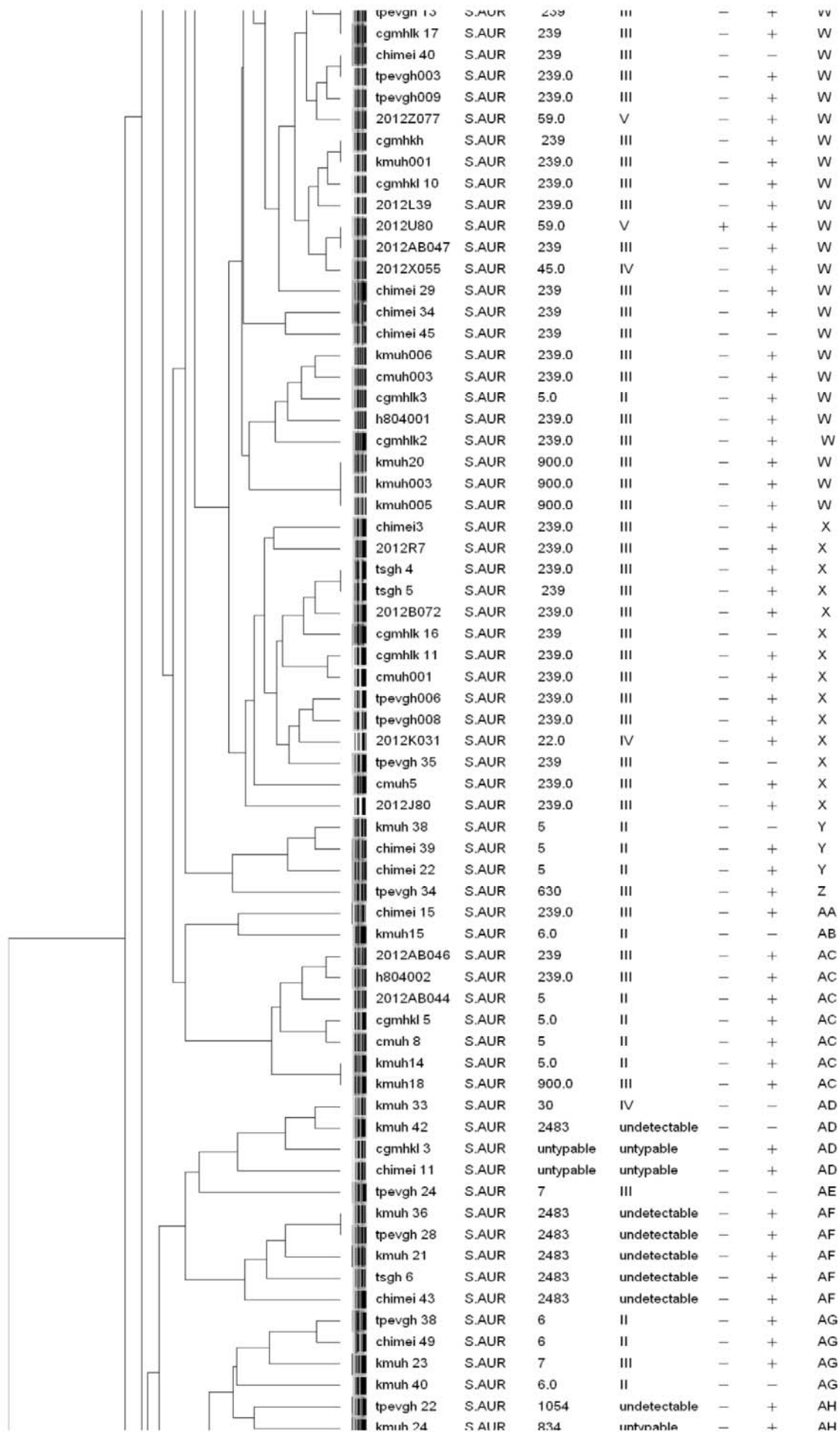


圖 5、Pulsotypes of collected MRSA isolates (續)

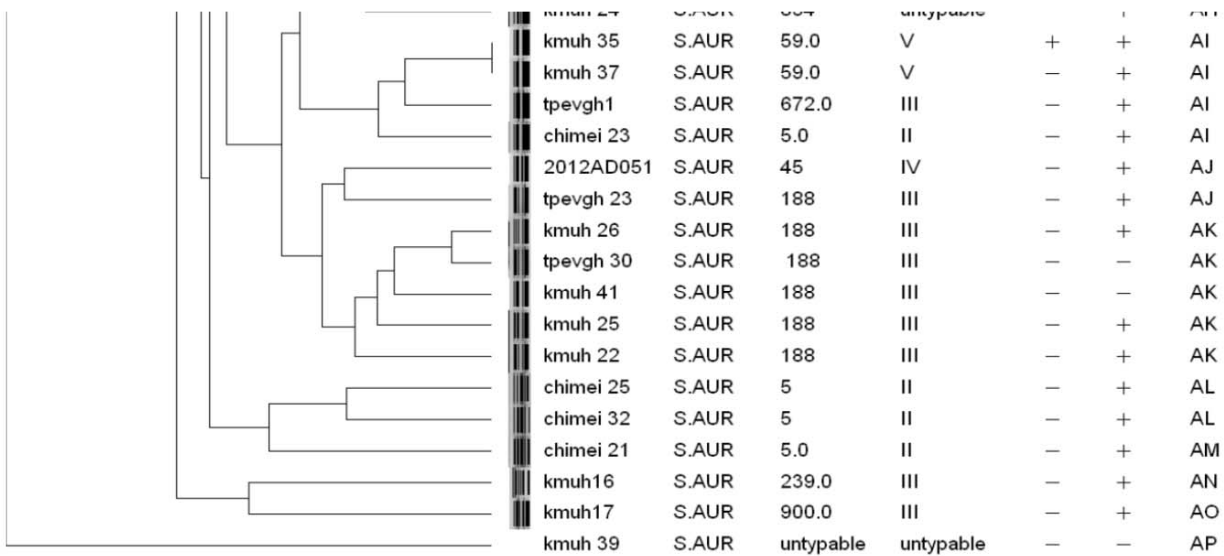


圖 5、Pulsotypes of collected MRSA isolates (續)

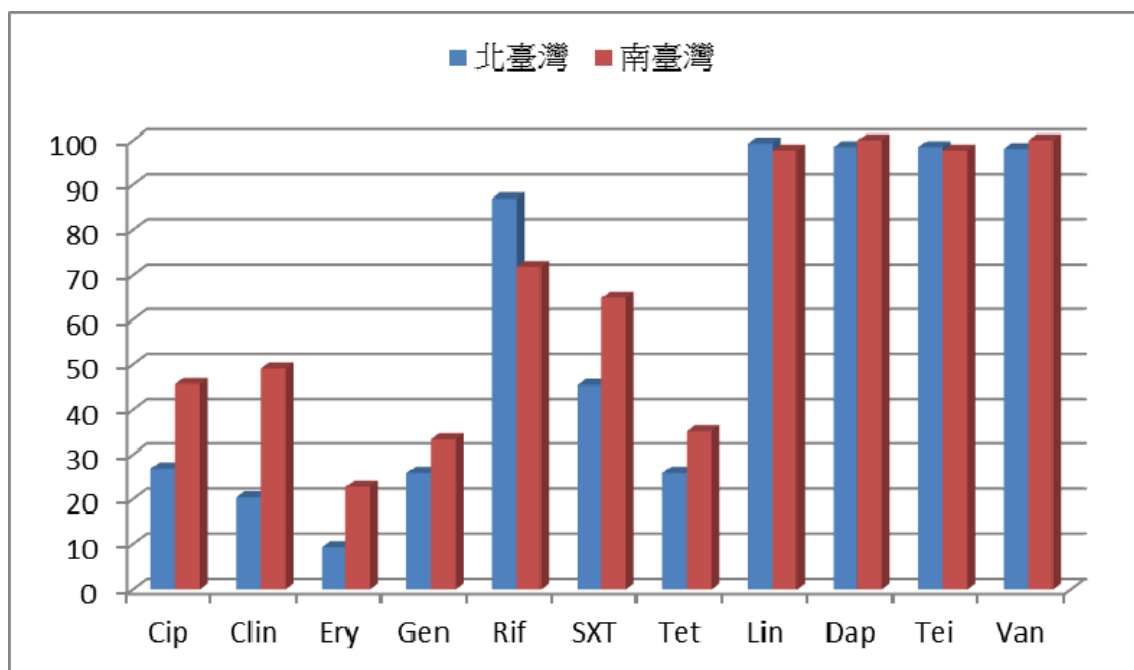


圖 6、依地理分布考慮 MRSA 菌株對各種抗生素的感受性

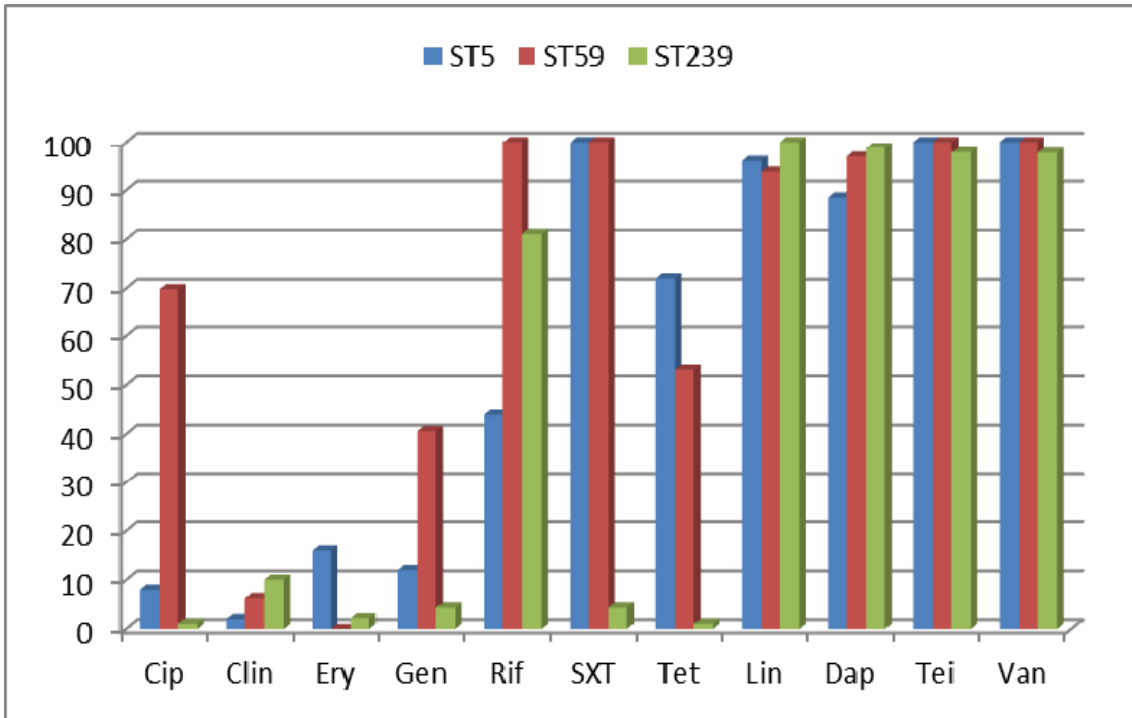


圖 7、依主要的 MLST types，考慮 MRSA 菌株對各種抗生素感受性

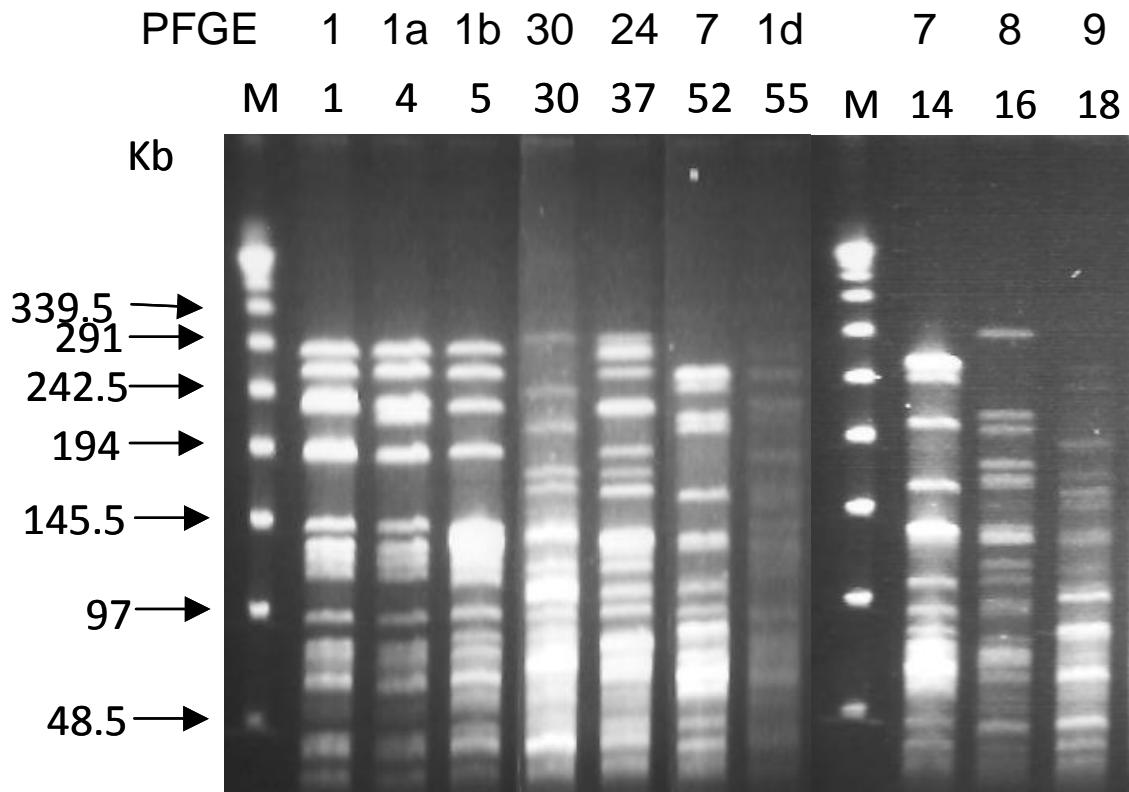


圖 8、ST17 型之 Efm-VRE 經 SmaI 切割之 PFGE 結果 * Lanes M, Lambda DNA-PFGE marker

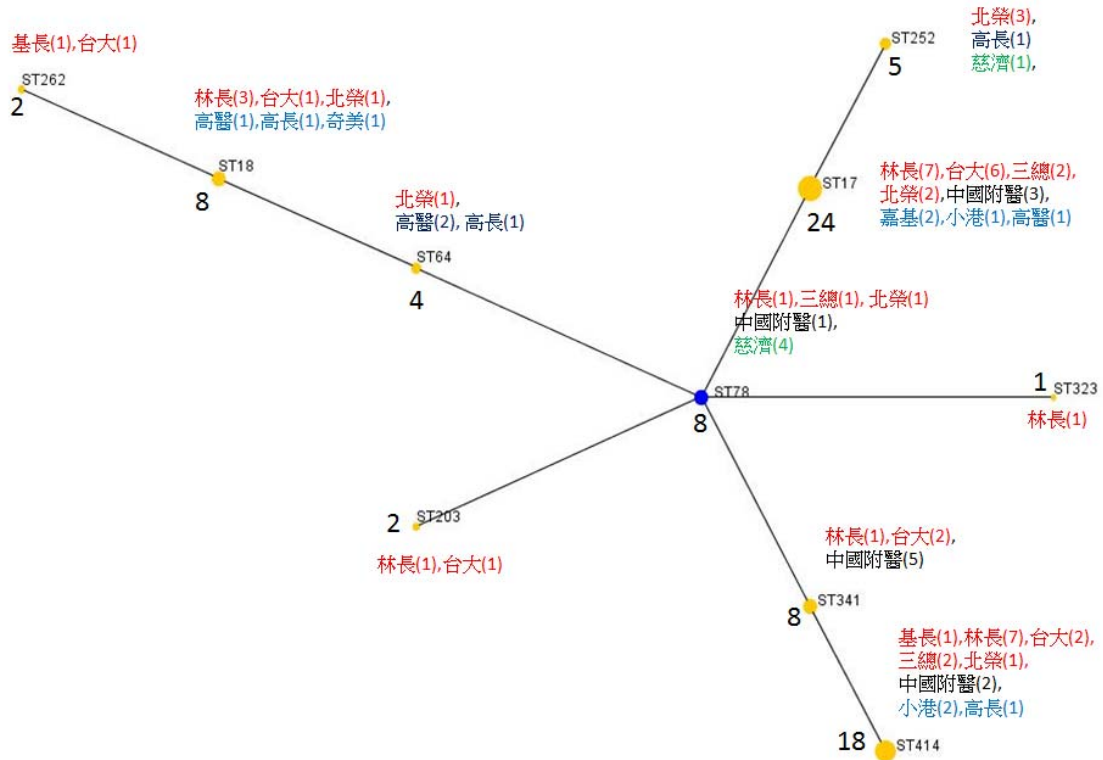


圖 9、80 株 Efm-VRE 菌株經 eBRUST program 分析的結果及各醫院分佈的情況 ST 型旁及括號內的數字為分佈的菌株數

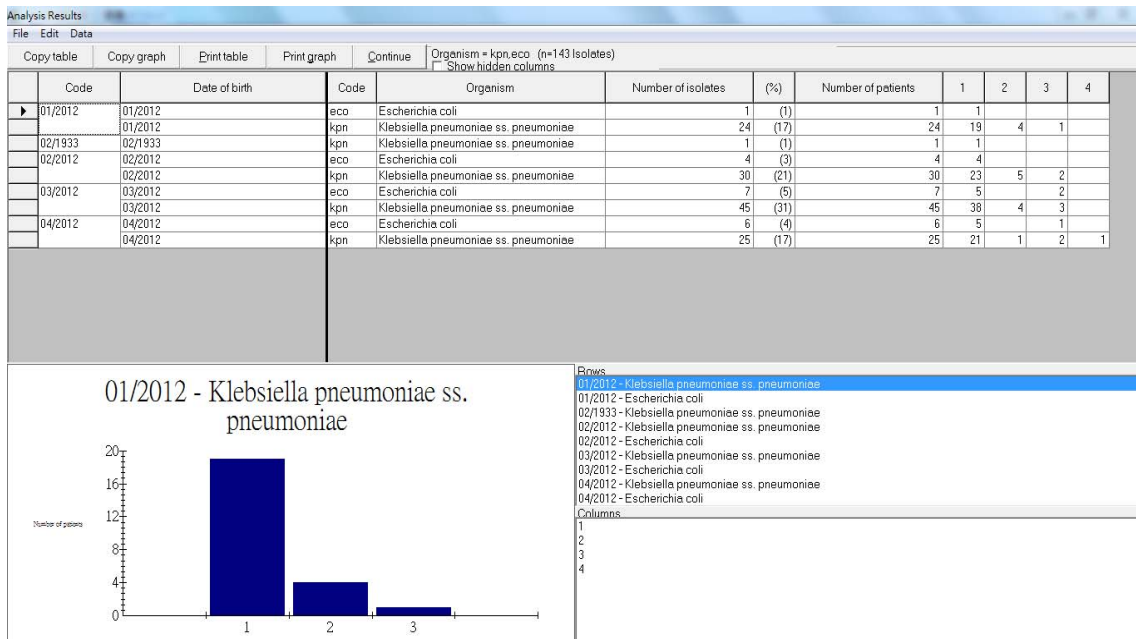


圖 10、Whonet 軟體分析各醫院內部或院際間的菌株數相關變化趨勢

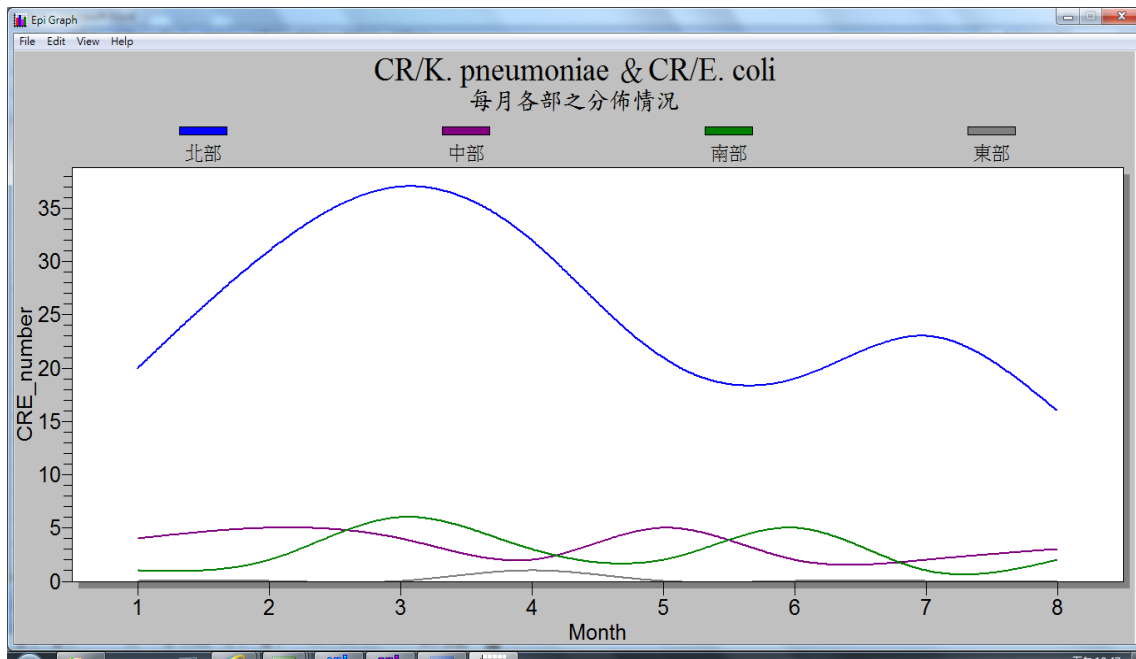


圖 11、 Epi Info 軟體分析 1-8 月份 CRE 菌株逐月動態趨勢及各部的分佈情況。
*說明：CRE 菌株的動態趨勢，可顯示北部檢出 CRE 的高峰期為 3 月份，
其它中部、南部及東部尚未有呈現明顯趨勢變化的現象。

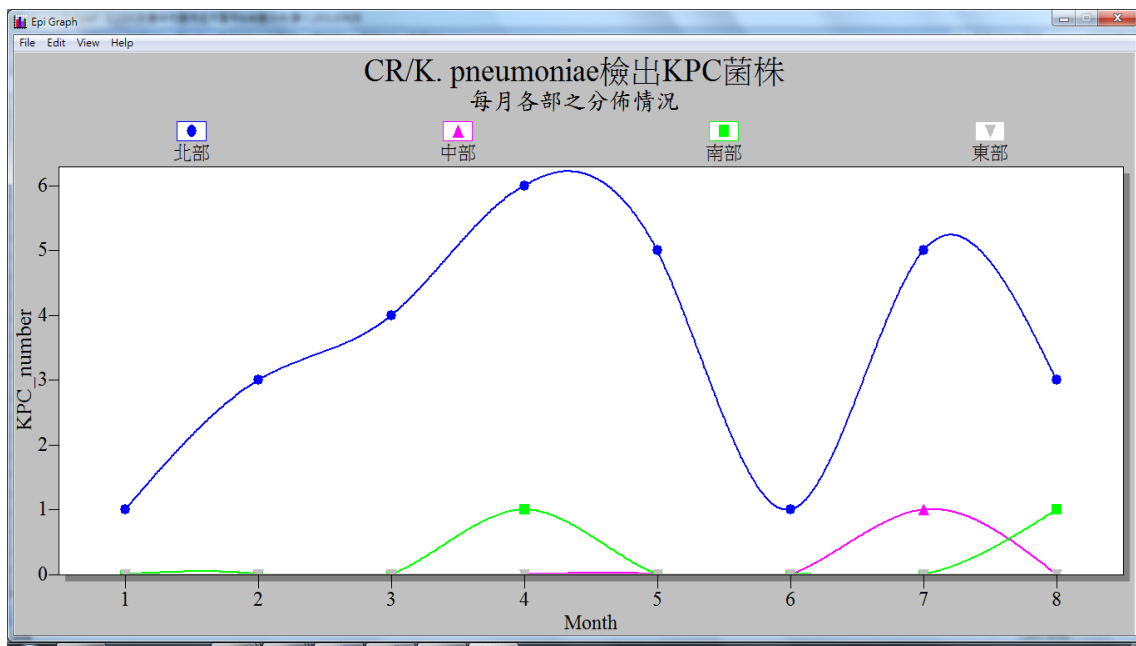


圖 12、 Epi Info 分析 1-8 月 CR/K. pneumoniae 檢出 KPC 菌株逐月動態趨勢及各部的分佈情況
*說明：KPC 菌株的動態趨勢，可顯示北部區域檢出 KPC 菌株的高峰期為 4 月份，
其它中部、南部及東部尚未有呈現明顯趨勢變化的現象。