

# 某醫學中心醫療照護相關感染 ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* 菌株之分子流行病學分析

詹明錦<sup>1</sup> 張靜美<sup>1</sup> 邱玉惠<sup>1</sup> 黃子鳳<sup>1</sup> 王甯祺<sup>1,2</sup> 林永崇<sup>1,2</sup>

三軍總醫院 <sup>1</sup>感染管制室 <sup>2</sup>內科部感染科

## 摘要

廣效性乙內醯胺酶(extended-spectrum  $\beta$ -lactamases; ESBLs) 在1980年代被初次發現以後，很快地遍佈到世界各地，可造成廣泛的cephalosporins與aztreonam類抗生素抗藥性的形成，常見於*Escherichia coli*及*Klebsiella pneumoniae*等腸道菌，並可造成廣泛的cephalosporins與aztreonam類抗生素抗藥性的形成，根據不同地區發表的文獻得知，一種ESBL不只局限在同一地區，可藉由宿主的四處移動而散佈至不同地區及國家。本研究依據某醫學中心專任感染管制護理師以美國疾病管制中心公佈之醫療照護相關感染定義進行全院性監測，收集2007年1月至2008年6月符合醫療照護相關ESBL-producing *K. pneumoniae* 感染定義者相關資料統整及分析菌株分子分型，研究結果顯示醫療照護相關ESBL-producing *K. pneumoniae* 感染部位以泌尿道感染59.5%最多，而病房分佈則以一般病房78.6%較加護病房11.4%高出6至7倍，在抗生素敏感試驗方面可以發現醫療照護相關感染ESBL-producing *K. pneumoniae* 除了對imipenem與ertapenem之感受性分別為100%及94.6%外，對其餘抗生素抗藥性均超過六成以上，以脈衝式電泳(pulsed field gel electrophoresis, PFGE)進行分析結果並無群聚感染情形發生或優勢菌株存在。對於治療醫療照護相關ESBL-producing *K. pneumoniae* 感染之藥物仍以carbapenem類藥物敏感性測試最佳。

**關鍵詞：**廣效性乙內醯胺酶(Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases)  
醫療照護相關感染(Healthcare-associated infection)  
脈衝式電泳(Pulsed field gel electrophoresis)  
克雷伯氏肺炎菌(*Klebsiella pneumoniae*)

## 前言

廣效性乙內醯胺酶(extended-spectrum  $\beta$ -lactamases; ESBLs)是由一些革蘭氏陰性桿菌所產生，並可造成廣泛的cephalosporins與

aztreonam類抗生素抗藥性的形成<sup>1,2,3</sup>。在1980年代廣效性乙內醯胺酶被初次發現以後，很快地遍佈到世界各地，現在已成爲全球性的問題<sup>4</sup>。它是一種突變的且經由質體(plasmid)或內嵌酶(integron)爲媒介、可在不同菌種間基因傳播的

物質，這些酵素經由一或多個氨基酸的改變就能水解更多 cephalosporins 類抗生素，ESBL 常見於 *Escherichia coli* 及 *Klebsiella pneumoniae* (以下簡稱 *K. pneumoniae*) 等腸道菌，並可造成廣泛的 cephalosporins 與 aztreonam 類抗生素抗藥性的形成<sup>1,2,3</sup>。

根據不同地區發表的文獻得知，一種 ESBL 不只局限在同一地區，可藉由宿主的四處移動而散佈至不同地區及國家。且每個國家常見的 ESBL 型有所不同。目前許多國家對其分佈之 ESBL 有不同報告<sup>5,6,7</sup>。可利用 PFGE 將 ESBL-producing *K. pneumoniae* 菌株進一步分型，發現有不少群突發或相同基因型散播 (clone dissemination) 之報告<sup>8,9</sup>。

三軍總醫院在 2006 年 *K. pneumoniae* 全院分離菌株數為 2266 株，其中 ESBL-producing *K. pneumoniae* 分離菌株數為 517 株 (22.8%)，而醫療照護相關感染 *K. pneumoniae* 菌株數為 167 株，其中 ESBL-producing *K. pneumoniae* 總計 72 株，佔醫療照護相關感染 *K. pneumoniae* 總數比例高達 43.1%。考證過去文獻，造成 ESBL-producing *K. pneumoniae* 盛行率性偏高之因素，包括醫護人員未能遵守隔離防護措施、廣效性頭芽孢菌素的大量使用及菌株散播 (clonal spread) 的後果<sup>10,11</sup>。因此爲了了解本院 ESBL-producing *K. pneumoniae* 菌株之分子流行病學，並探討是否有特定菌株出現菌株散播 (clonal spread) 的現象導致盛行率偏高，所以希望藉由此次實驗深入分析原因。

## 材料與方法

### 研究材料

本研究依據該醫學中心專任感染管制護理師以美國疾病管制中心公佈之院內感染定義<sup>12</sup>進行全院性監測，收集 2007 年 1 月至 2008 年 6 月符合醫療照護相關 ESBL producing *K. pneumoniae* 感染定義者相關資料並加以統整分析，予以收案並將菌株保留。資料收集包含病人年齡、性別、潛在疾病因素、侵入性醫療措施、感染部位及抗生素敏感試驗結果。

## 研究方法

### 一、ESBL-producing *K. pneumoniae* 菌株的篩選與鑑定

確定爲 ESBL 的方法有很多，目前較常用的是雙紙錠協同測試法 (double disc synergy test; DDST)，方法爲收集之血液、痰液及尿液等臨床檢體所分離出的 *K. pneumoniae* 檢體，若其 cefotaxime 紙錠法藥物敏感性測試結果爲抑制環小於 27mm，則被初步挑選爲疑似 ESBL-producing 菌株<sup>15</sup>。並依據美國國家臨床檢驗標準委員會 (Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI) 之建議，針對這些疑似菌株進行 ESBL-producing 表現型之確定測試，其測試方法簡要說明如下：挑取疑似 ESBL-producing 菌株 2-3 個菌落，種入含 2 mL TSB (Trypticase Soy Broth) 之試管，培養在 35°C 直至渾濁度相當於 0.5 Mc Farland 硫酸鋇標準液，平均塗抹在 Mueller-Hinton agar 培養基的表面，再分別貼上 ceftazidime (CAZ)、ceftazidime/clavulanic acid (CAZ/CLA)、cefotaxime (CTX) 及 cefotaxime/clavulanic acid (CTX/CLA) 抗生素紙錠於瓊脂的表面，置於 35°C，一般培養箱隔夜培養後判讀。觀察並測量抑制環的直徑大小 (mm)，若 (CAZ/CLA)-CAZ > 5mm 或 (CTX/CLA)-CTX > 5mm 則爲 ESBL-producing 菌株<sup>15</sup>。經此測試判定爲 ESBL-producing 之菌株，配合是否爲醫療照護相關感染收案定義加以收集，並保存於 -80°C 之冰箱中。

二、將收集之醫療照護相關 ESBL-producing *K. pneumoniae* 感染菌株，以 PFGE 進行分子流行病學分析<sup>13</sup>，方法敘述如下：

#### (一) 細菌之包埋、酵素處理與清洗 (Bacterial Embedding, Enzyme Digesting, and Washing)

依據 PFGE 標準操作方法進行菌體之包埋、酵素處理及清洗，其過程簡述如下：第一天挑取單一菌落接種於 MacConkey 培養基於 35°C 溫箱培養 16-18 小時；第二天以棉棒刮取菌體，於 Cell Suspension Buffer (100 mM Tris-Cl, 100 mM EDTA, pH 8.0) 中做成懸浮液，以濁度計

(Turbidity Meter, Dade Microscan™) 測量，調整菌液濃度至 0.68–0.72 (in Falcon 2054 tubes)，取 400 µl 菌液至 1.5 ml 微量離心管，加 20 µl proteinase K (20 mg/ml)，混合後加入 400 µl 融化後回溫至 56°C 的 1% SeaKem® Gold agarose/1% SDS，快速以微量吸管混均勻後注入模具中，放置於室溫 15 min 或 4°C 5 min 使充份凝固，再將膠體自模具中推入 5 ml Cell Lysis Buffer (50 mM Tris. Cl; 50 mM EDTA, pH 8.0; 1% Sarcosine; 0.1 mg/ml proteinase K)，置於 56°C 水浴器振盪 2 小時；膠體經酵素處理後，加 15 ml 預熱至 56°C 的 ddH<sub>2</sub>O，置水浴器振盪 15 min，重覆 ddH<sub>2</sub>O 清洗一次，再以 15 ml 預熱至 56°C 的 TE buffer (10 mM Tris-Cl, pH8.0, 1 mM EDTA, pH 8.0) 清洗四次，膠體最後保存於 5 ml 的 TE 中，置於 4°C 冷藏，以供 PFGE 電泳分析使用。

## (二) PFGE 電泳分析 (PFGE Analysis)

以刀片切取約 2-mm 寬含 chromosome DNA 的膠薄片 (slice)，膠薄片先置入 200µl 的指定之限制酶 (XbaI) 緩衝液，室溫下放置 5 min，以微量吸管吸出緩衝液，再注入 200µl 含 20U 限制酶之緩衝液，置於 35°C 下放置 2 小時，以微量吸管吸出緩衝液再注入 200 µl 的 0.5X TBE buffer (89 mM Tris borate, 2 mM EDTA)，放置 5 min 後，將膠薄片取出，用吸水紙儘量吸乾附著於膠薄片之緩衝液，再將膠薄片依序平貼於孔梳 (coomb) 上，15 孔之膠片於第 1、5、10、15 孔位置，10 孔之膠片於第 1、5、10 孔位置放置以 XbaI 切割之 *S. enterica* serovar *Braendrap* H9812 基因體 DNA 片斷做為標準量測標織 (reference size markers)，之後將孔梳放置於鑄膠台上，倒入融化回溫至 56°C 的 1% SeaKem® Gold agarose，放置室溫 20-30 min，待瓊膠凝固後，即可進行電泳。PFGE 電泳使用 Bio-Rad CHEF Mapper 脈衝式電泳儀 (Bio-Rad Laboratories Inc.)，使用指定之跑膠條件完成跑膠後，膠片以 0.5 µg/ml 的 ethidium bromide 染色 15 min，再以 ddH<sub>2</sub>O 退染 2 h (過程更換水 3-4 次)，DNA 圖譜影像再以數位影像處理系統 AlphaEase™ (Alpha Innotech Corporation, San Leandro, CA) 拍照貯存

成數位檔案，以供後續比對分析。

## (三) 脈衝式電泳法圖譜解讀 (Interpretation of PFGE Patterns)

菌株間任何一 DNA 片斷的差異皆可能具有流行病學上的意義，菌株 PFGE 圖譜只要與既有之圖譜存有一 DNA 片斷的差異，即視為不同的 PFGE 圖譜，給與 PFGE 圖譜編號。有關判讀標準與菌株間相關性之綜合判定依 Tenover 所發表之 PFGE 判定準則<sup>14</sup>判定之。

## (四) 電腦輔助式電泳帶模式分析 (Banding pattern Analysis and Dendrogram Construction by Computer-aided Method)

脈衝場電泳法產出之電泳帶模式以電腦軟體 AlphaEase™ (Applied Math, Kortrijk, Belgium) 數位化後以 Tiff 檔儲存，電泳帶模式隨後可利用 BioNumerics software (Applied Math, Kortrijk, Belgium) 進行菌株間相似度之分析與比對。以 Jaccard-complete linkage 法將欲分析菌株群組化 (clustering)，並以樹狀圖 (dendrogram) 呈現。

## 三、抗生素敏感性試驗

依據美國臨床實驗室標準機構 (Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI) 之操作指引，以抗生素紙錠擴散法 (disk diffusion) 針對鑑定為 *K. pneumoniae* 操作敏感性試驗，其測試方法簡要說明如下：挑取 *K. pneumoniae* 菌株 2-3 個菌落，種入含 2 mL TSB 之試管，培養在 35°C 直至渾濁度相當於 0.5 McFarland 硫酸銨標準液，平均塗抹在 Mueller-Hinton agar 培養基的表面，再分別貼上 ampicillin (AM)、cephalothin (CF)、gentamicin (GM)、amikacin (AN)、ceftazidime (CAZ)、ceftriaxone (CRO)、imipenem (IPM)、ciprofloxacin (CIP)、cefepime (FEP)、ampicillin/sulbactam (AMS)、piperacillin-tazobactam (TZP)、ertapenem (ETP) 抗生素紙錠於瓊脂的表面，若為尿液檢體則加貼 nalidixic acid (NA)、nitrofurantoin (F/M)，置於 35°C，一般培養箱隔夜培養後判讀，觀察並測量抑制環的直徑大小 (mm)<sup>15</sup>。



## 結果

### 一、臨床菌株之分析

本研究共收集2007年1月至2008年6月符合醫療照護相關ESBL-producing *K. pneumoniae* 感染定義之菌株共44株，經進一步實驗分析時發現編號第33號菌株及第44號菌株有雜菌汙染故予以剔除，其餘42株細菌之病人性別、年齡與住院病房分布(如表一)，資料分析顯示醫療照護相關ESBL-producing *K. pneumoniae* 感染部位以泌尿道感染59.5%最多，而病房分佈則以一般病房78.6%較加護病房11.4%高出6至7倍。

### 二、PFGE 電泳分析

以PFGE對所收集之ESBL-producing *K. pneumoniae* 進行分析所得結果(如圖一)，其中菌株編號1與2在圖譜上可見具有100%相同度，分析檢體來源同一病人不同部位，收集時間為2007年2月5日與2007年2月6日，檢體來源為尿液與血液，可視為此次PFGE之品質保證，編號25與35在圖譜上可見具有100%相同度，編號25來自呼吸照護中心(位於2樓)收集時間為2007年8月19日，編號35來自神經加護

表一：醫療照護相關ESBL-producing *K. pneumoniae* 感染病人之分佈表

性別	男性	24
	女性	18
醫療照護相關感染部位	UTI	25
	BSI	6
	LRI	7
	SSI	2
	SKIN	1
	OTH	1
病房別	一般病房	33
	加護病房	9
年齡	<64	17
	≥ 65	25

UTI : urinary tract infection ,

BSI : bloodstream infection ,

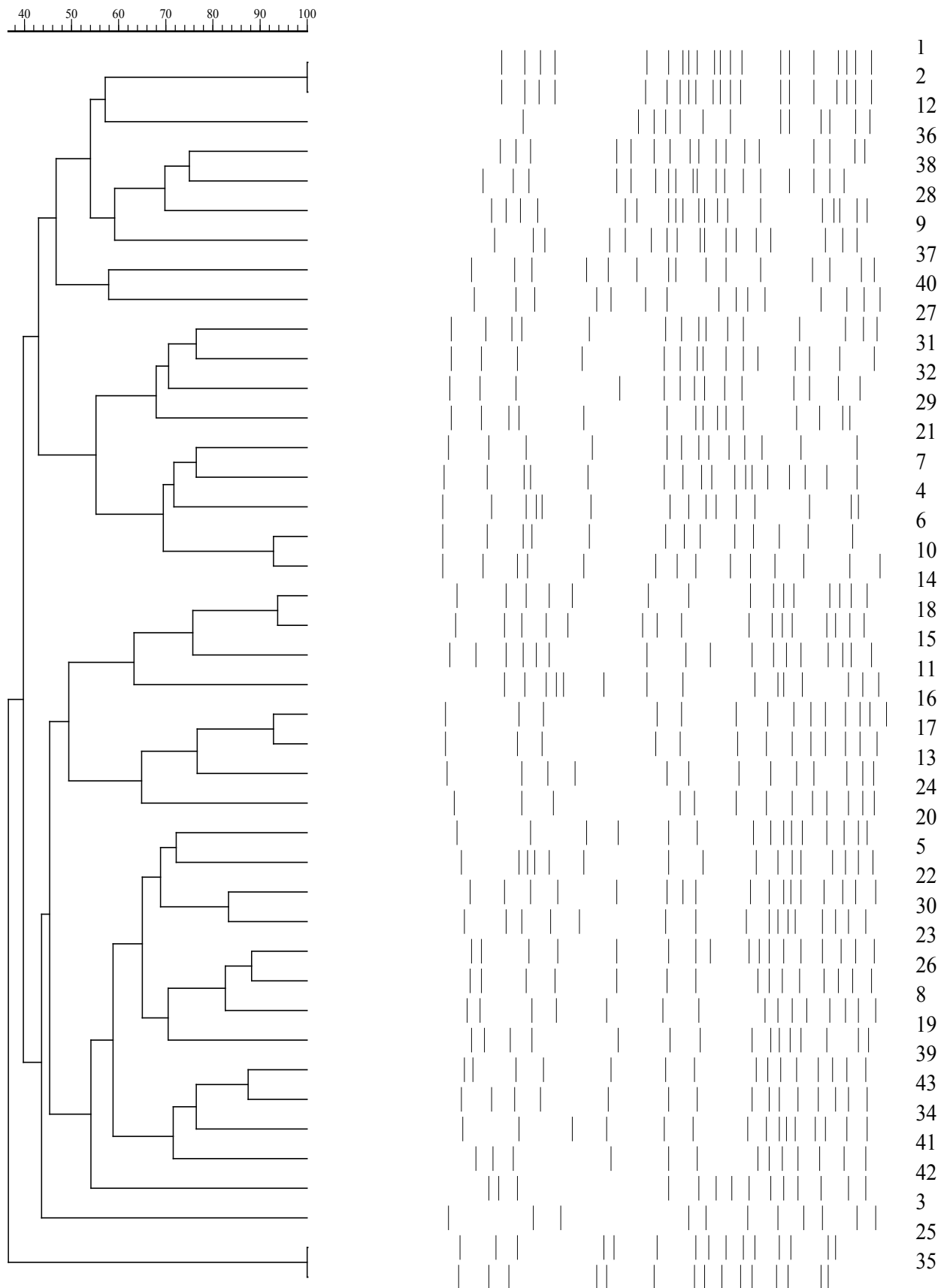
LRI : lower respiratory infection ,

SSI : surgical site infection , OTH : other

中心(位於4樓)收集時間為2007年12月3日，照顧醫護人員也不相同，排除直接關聯性，而編號6、10與編號14、18及編號16、17雖分別具有90%以上相似度但編號6來自呼吸照護中心(位於2樓)收集時間為2007年3月24日，編號10來自65病房(位於6樓)收集時間為2007年4月24日，編號16來自31病房(位於3樓)收集時間為2007年6月26日，編號17來自23病房(位於2樓)收集時間為2007年6月22日照護醫護人員也不相同，排除直接關聯性，但是編號14與18皆來自內科加護中心(位於4樓)收集時間為2007年6月13日與2007年6月16日，抗生素感受性結果也相同，推測可能經由透過醫護人員照顧過程交互傳染，除此之外其餘醫療照護相關ESBL-producing *K. pneumoniae* 感染菌株並不相似，可見並無群聚感染情形發生或優勢菌株存在，雖然病人得到醫療照護相關ESBL-producing *K. pneumoniae* 感染可能與病人本身免疫能力及抗生素使用等諸多因素有關，醫護人員照顧病人是否嚴格執行感控措施對於減少病人得到醫療照護相關感染的機會有一定的相關，由此次研究結果推測經由醫護人員而導致醫療照護相關ESBL-producing *K. pneumoniae* 感染的機會相對不高，與該院醫護人員照顧病人落實執行醫療照護相關感染管制措施及推行洗手運動與洗手稽核等措施有關。

### 三、抗生素感受性試驗

在抗生素敏感試驗方面可以發現醫療照護相關ESBL-producing *K. pneumoniae* 感染對抗生素ampicillin、cephalothin、ceftriaxone、ceftazidime、ciprofloxacin、cefepime、ampicillin/sulbactam皆呈抗藥性，但對gentamicin之抗藥性大於六成以上，而對amikacin、piperacillin-tazobactam則約有六成左右感受性，對於治療醫療照護相關ESBL-producing *K. pneumoniae* 感染之藥物仍以carbapenem類藥物敏感性測試最佳，imipenem與ertapenem之感受性分別為100%及94.6%，如表二。



圖一：ESBL-producing *K. pneumoniae* 醫療照護相關感染菌株脈衝電泳 (PFGE) 分析圖。

表二：醫療照護相關 ESBL-producing *K. pneumoniae* 感染抗生素感受性統計表

	AM	CF	GM	AN	CAZ	CRO	IPM
抗生素感受性 %	0	0	35.7	59.5	0	0	100
	CIP	FEP	ETP	AMS	TZP	NA	F/M
	2.4	0	94.6	0	56.1	4.5	26.9

ampicillin(AM)、cephalothin(CF)、gentamicin(GM)、amikacin(AN)、ceftazidime(CAZ)、ceftriaxone(CRO)、imipenem(IPM)、ciprofloxacin(CIP)、cefepime(FEP)、ertapenem(ETP)、ampicillin/sulbactam(AMS)、piperacillin-tazobactam(TZP)、nalidixic acid(NA)、nitrofurantoin(F/M)

## 討論

過去文獻已證實臨床上大量使用廣效型 cephalosporins (如 ceftazidime、ceftriaxone 等)，會加速篩選出 ESBL-producing 的細菌，導致該細菌盛行率偏高<sup>16</sup>，而最近的文獻報導也指出使用 piperacillin-tazobactam 是產生 ESBL-producing *K. pneumoniae* 或 ESBL-producing *E. coli* 菌血症的危險因子<sup>17</sup>，ESBL 的產生會讓接受不當抗生素治療的病人無可避免的治療失敗，也有文獻報導當病人被 ESBL 菌株感染經 cephalosporins 治療其死亡率自 42% 到 100% 不等，cephalosporins 用於 ESBL-producing *K. pneumoniae* 多重感染的個案失敗率也大於 50%，用於治療 ESBL-producing *K. pneumoniae* 及 ESBL-producing *E. coli* 之醫療照護相關感染菌血症，其死亡率也高且癒後差<sup>18</sup>，如果偵測到細菌有 ESBL，則所有的 cephalosporins; penicillins 及 aztreonam 都應報告為無感受性，甚至連在藥物敏感性試驗結果呈感受性者也要報告為無感受性，此次實驗藥物感受性結果顯示，在所有的 ESBL-producing *K. pneumoniae* 菌株中，僅 2.4% 對 ciprofloxacin 具感受性，此暗示 fluoroquinolone 已完全不適合用於治療 ESBL-producing *K. pneumoniae*。而全部菌株對於 carbapenem 類藥物如 imipenem 與 ertapenem 均具高度感受性，顯示 cabapenem 類抗生素仍是目前對抗 ESBL-producing *K. pneumoniae* 最有效之抗生素。

而在美國臨床實驗室標準機構(CLSI)最新指引中<sup>19</sup>，對分離菌株進行篩選及確認是否為 ESBL 的方法分別有雙紙錠協同測試法(DDST)及最低抑菌濃度測試法(Minimal inhibitor concentration, MIC)，不論使用何種方法都需要

先對測試菌株進行篩選，以紙錠擴散法來看，若菌株為 *K. pneumoniae*、*E. coli* 及 *K. oxytoca* 時，抗生素感受性試驗 ceftazidime (CAZ) 抑制環的直徑大小  $\leq 22\text{mm}$ 、ceftriaxone (CRO)  $\leq 25\text{mm}$ 、aztreonam (ATM)  $\leq 27\text{mm}$ 、cefotaxime (CTX)  $\leq 27\text{mm}$  則懷疑為 ESBL-producing 菌株，需要再進行雙紙錠協同測試法(DDST)確認。然而隨著 CLSI 對於 CAZ 及 CRO 抗生素感受性試驗結果“感受性(S)”之抑制環的直徑大小分別將 CAZ  $\geq 18\text{mm}$  更改為 CAZ  $\geq 21\text{mm}$  及 CRO  $\geq 21\text{mm}$  更改為 CRO  $\geq 23\text{mm}$ ，臨床微生物檢驗室若使用新更改之判讀標準，CLSI 已建議不再針對 ESBL 進行篩選，若要進行 ESBL 篩選也僅是配合感染管制與流行病學的調查。

脈衝式電泳法(PFGE)為目前細菌基因分型公認的標準方法，擁有最佳分型能力，已被廣泛應用於醫療照護相關感染群突發之調查，主要是提供判定傳播於病人間、醫護人員或醫院環境間之同種細菌是否源自同一基因型，也是建立細菌分子流行病學很重要的工具，PFGE 分型法的優點，即為其單一基因的變異具有解釋的標準<sup>14</sup>，PFGE 分型法具有四種單一的基因變異，會分別造成 PFGE 型別的微小(1-3 個 band)差異，分別為：1. 產生限制酶切割位(gain of restriction site)；2. 失去限制酶切割位(loss of restriction site)；3. 插入一段 DNA 片段(insertion of a DNA fragment)；與 4. 刪除一段 DNA 片段(deletion of a DNA fragment)。此外，PFGE 分型法亦有與流行病學資料結合的四種判定準則(The criteria for interpreting PFGE patterns)：1. 當此菌株之 PFGE 型別與群突發菌株(outbreak strain)之 PFGE 型別完全相同時，則判定為無差異(indistinguishable)，

而應將此菌株歸為群突發菌株 (isolate is part of the outbreak)；2. 當此菌株之 PFGE 型別與群突發菌株 (outbreak strain) 之 PFGE 型別相差 2-3 個 bands 時，則判定為與群突發菌株極相似 (closely related)，而應視此菌株極可能為群突發菌株 (isolate is probably part of the outbreak)；3. 當此菌株之 PFGE 型別與群突發菌株 (outbreak strain) 之 PFGE 型別相差 4-6 個 bands 時，則判定為與群突發菌株可能相似 (possibly related)，而應視此菌株為可能是群突發菌株 (isolate is possibly part of the outbreak)；4. 當此菌株之 PFGE 型別與爆發流行菌株 (outbreak strain) 之 PFGE 型別相差 6 個 bands 以上時，則判定為與群突發菌株不同 (different)，而應視此菌株不是群突發菌株 (isolate is not part of the outbreak)。因此，基因變異的解釋標準與流行病學結合的判讀準則構成了 PFGE 分型法被廣泛使用的重要因素。

此次調查發現 ESBL-producing *K. pneumoniae* 醫療照護相關感染其基因型並未有集中趨勢亦無優勢菌株存在，由研究結果推測經由醫護人員而導致 ESBL-producing *K. pneumoniae* 醫療照護相關交互感染的機會相對不高，探討原因應與醫護人員落實執行感染控制措施及抗生素使用管制的執行有關，除此之外與感控人員持續在職教育及感控措施稽核等因素亦有關。

## 誌謝

本研究由三軍總醫院民診研究計畫(計畫編號 TSGH-C97-85、TSGH-C100-030、DOD-C13-02) 經費補助。

## 參考文獻

- Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 933-51.
- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 1211-33.
- Livermore DM. beta-Lactamases in the clinical laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995; 8: 557-84.
- Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorff-Neutzling RM, Wiedemann B. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother 1985; 28: 302-7.
- Yu WL, Cheng KC, Wu LT, Pfaller MA, Winokur PL, Jones RN. Emergence of two *Klebsiella pneumoniae* isolates harboring plasmid-mediated CTX-M-15  $\beta$ -lactamase in Taiwan. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 362-3.
- Yu WL, Wu LT, Pfaller MA, Winokur PL, Jones RN. Confirmation of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Serratia marcescens*: preliminary report from Taiwan. Diagn Microbiol Infect Dis 2003; 45: 221-4.
- Wu LT, Tsou MF, Wu HJ, Chen HE, Chuang YC, Yu WL. Survey of CTX-M-3 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) among cefotaxime-resistant *Serratia marcescens* at a medical center in middle Taiwan. Diagn Microbiol Infect Dis 2004; 49: 125-9.
- Yu WL, Winokur PL, Von Stein DL, Pfaller MA, Wang JH, Jones RN. First description of *Klebsiella pneumoniae* harboring CTX-M  $\beta$ -lactamases (CTX-M-14 and CTX-M-3) in Taiwan. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 1098-100.
- Yu WL, Jones RN, Hollis RJ, et al. Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing, fluoroquinolone-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan. J Clin Microbiol 2002; 40: 4666-9.
- Yan JJ, Wu SM, Tsai SH, Wu JJ, Su IJ. Prevalence of SHV-12 among Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* Producing Extended-Spectrum-Lactamases and Identification of a Novel AmpC Enzyme (CMY-8) in Southern Taiwan. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 1438-42.
- Lin MF, Huang ML, Lai SH. Risk factors in the acquisition of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase *Klebsiella pneumoniae*: a case-control study in a district teaching hospital in Taiwan. J Hosp Infect 2003; 53: 39-45.
- Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections. Am J Infect Control 1988; 16: 128-40.
- Kaufmann ME, Pitt TL. Pulsed-field gel electrophoresis of bacterial DNA. In: Henrik Chart, Methods in practical laboratory bacteriology. CRC Press, Boca Raton, Fla. 1994; 83-92.
- Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995; 33: 2233-9.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing; Approved standard M2-A8, National Committee for Clinical Laboratory Standards 2004, Wayne Pa.
- Rice LB, Eckstein EC, DeVente J, Shlaes DM. Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates recovered at the Cleveland Department of Veterans Affairs Medical Center. Clin Infect Dis 1996; 23: 118-24.
- Superti SV, Augusti G, Zavascki AP. Risk factors and mortality of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* nosocomial bloodstream infections. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2009; 51: 211-6.

18. Colodner R. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a challenge for clinical microbiologists and infection control specialists. *Am J Infect Control* 2005; 33: 104-7.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 22th informational supplement M100-S22. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.



# A Molecular Epidemiology Analysis on Healthcare-associated Infection Extended-spectrum $\beta$ -lactamases Producing *Klebsiella Pneumoniae* in A Medical Center

Ming-Chin Chan<sup>1</sup>, Ching-Mei Chang<sup>1</sup>, Yu-Hui Chiu<sup>1</sup>, Tzu-Feng Huang<sup>1</sup>,  
Ning-Chi Wang<sup>1,2</sup>, and Jung-Chung Lin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Infection Control Office, <sup>2</sup>Division of Infectious Diseases,  
Department of Internal Medicine, Tri-Service General Hospital

Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) was first found in 1980's, and they spread to worldwide very soon. ESBLs generally distributed in *Enterobacteriaceae* such as *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, contributed to the resistance of cephalosporins and aztreonam. From publications in the English literature, ESBLs spreaded to different regions or countries via the traveling host. This study was focused on the definition of ESBL-producing *K. pneumoniae* related healthcare-associated infections, executed the hospital-wide surveillance, data analysis, and assay the bacteria genotype from Jan 2007 to June 2008. Results showed the highest incidence of ESBL-producing *K. pneumoniae* related healthcare-associated infections was UTI (59.5%). Infection rate in general ward was 78.6% as higher as 6~7 folds than intensive care unit 11.4%. From antibiotic susceptibility test, sensitive of imipenem and ertapenem for ESBL-producing *K. pneumoniae* were 100% and 94.6% respectively and resistance to other antibiotics were over 60%. Result of pulse-field gel electrophoresis showed there was not outbreak or existence of dominant strain during the surveillance. Our study demonstrated that carbapenem was still the best choice for treatment of ESBL-producing *K. pneumoniae* infections. (J Intern Med Taiwan 2012; 23: 206-214)