

國立臺灣大學公共衛生學院公共衛生碩士學位學程

碩士論文－實務實習成果報告

Master of Public Health Degree Program

College of Public Health

National Taiwan University


Master Thesis-Practicum Report

廣泛抗藥性鮑氏不動桿菌抗藥性機轉及院內感染危險因子

Drug Resistance Mechanism of Extensively Drug-resistant

Acinetobacter baumannii (XDRAB) and Risk Factors of

Healthcare-associated XDRAB Infections



詹明錦

Ming-Chin Chan

校內單位指導老師：方啟泰 副教授

實習單位指導老師：王志堅 教授

Advisor: Chi-Tai Fang, MD, PhD

Preceptor: Chih-Chien Wang, MD, PhD

中華民國 100 年 7 月

July, 2011

目次

	頁碼
目次.....	2
圖表目錄.....	4
中文摘要.....	5
英文摘要.....	6
第一章 緒論	
一、廣泛抗藥性鮑氏不動桿菌簡介.....	7
二、文獻回顧.....	8
三、研究目的.....	12
四、實習單位特色與簡介.....	13
第二章 方法	
一、研究設計.....	16
二、方法與步驟.....	20
第三章 結果	
如何完成目標與目的.....	30
一、病例分析.....	31
二、抗生素藥物感受性試驗之結果.....	31
三、XDRAB integrase、intregron gene cassette以及OXA typing PCR偵測結果.....	31
四、XDRAB菌株經PFGE分型之鑑定結果.....	32
五、危險因子之單一變項分析結果.....	32
六、危險因子之多變項分析結果.....	33
第四章 討論	

一、國內醫院與實習單位之抗藥性 <i>A. baumannii</i> 院內感染率之比較	35
二、感染病例感染部位分布之討論.....	35
三、感染病例抗藥性基因Integron及OXA typing與國內其他資料 之比較.....	35
四、PFGE電泳分型結果之意義.....	36
五、增加感染風險之危險因子探討.....	37
第五章 結論.....	41
附件一、醫療照護相關感染監測定義.....	55
參考文獻.....	71



圖表目錄

	頁碼
表一、 Oligonucleotide Primer Sequences Used for Amplification of Class 1 and Class 2 Integrase and Variable Regions.....	42
表二、 醫療照護相關感染XDRAB 抗生素感受性試驗結果統計表	43
表三、 醫療照護相關感染XDRAB Integron檢測及OXA typing分型統計結果.....	44
表四、 醫療照護相關感染XDRAB Integron檢測及OXA typing分型統計表.....	45
表五、 病例組對照組單變項統計資料分析.....	46
表六、 病例組與對照組資料多變項統計分析.....	47
表七、 病例組與對照組資料多變項統計分析.....	48
圖一、 XDRAB Integrase PCR result.....	49
圖二、 XDRAB Integron Gene Cassette PCR result.....	50
圖三、 XDRAB OXA-typing PCR result.....	51
圖四、 XDRAB 菌株脈衝式電泳分析圖.....	52
圖五(a) XDRAB 菌株脈衝式電泳分析圖.....	53
圖五(b) XDRAB 菌株脈衝式電泳分析圖.....	54

中文摘要

Acinetobacter baumannii (鮑氏不動桿菌, 簡稱 *A. baumannii*) 抗藥性問題近年來在醫療照護相關感染防治上日益受到重視, 依據 Taiwan Nosocomial Infections Surveillance System (TNIS) 統計資料顯示: 醫學中心及區域醫院加護病房 carbapenem-resistant *A. Baumannii* 的比率從 2003 年不到 20%, 逐年上升至 2010 年第三季已達約 70%, 本研究探討在某醫學中心自 2008 年到 2010 年 (25 個月) 期間, extensively drug-resistant *A. baumannii* (XDRAB) 院內感染菌株的 Integron 抗藥性基因及 OXA(oxacillinases) typing 的分型情形, 以了解其水解酵素種類及抗藥性機制, 並以脈衝電泳分型 (Pulsed-Field Gel Electrophoresis Analysis, PFGE) 釐清院內 XDRAB 菌株間相關性, 配合病例對照研究 (病例組: 對照組=1:4 配對) 探討 XDRAB 院內感染的危險因子。研究結果顯示 25 株 XDRAB 中有 23 株所帶的 Integron 均為 class I, 且其所帶的 Gene cassette 大小皆為 2300 kb。所有 XDRAB 菌株都不帶有 class II Integron。在 OXA typing 的分型部份, 可以看到大部分都帶有 OXA 23 (21 株, 84%) 和 OXA 51 (25 株, 100%)。所有 XDRAB 菌株經過 PFGE 分型鑑定後, 以相似度為 80% 做切點可以分成 14 大類, 並無單一顯著分子型別, 在研究期間發生 XDRAB 院內群聚感染可能性相對較低, 但是考量環境因素仍無法完全排除。病例對照研究結果為: 在單變項分析中, 長期臥床、血液透析、氣切、使用 glycopeptide、使用 imipenem or meropenem、使用 anti-Pseudomonal penicillins、使用第四代 cephalosporins 等均為發生 XDRAB 院內感染之顯著危險因子; 以多變項 conditional logistic regression 調整干擾作用後, 長期臥床 (adjusted odds ratio 5.2, 95%CI: 1.1–24.4) 及使用 imipenem、meropenem、anti-Pseudomonal penicillins、或第四代 cephalosporins (adjusted odds ratio 4.3, 95%CI: 1.4–12.7) 兩變項均為發生 XDRAB 院內感染之獨立危險因子。本研究結論為: 適當管制後線抗革蘭氏陰性菌抗生素的使用, 為防治 XDRAB 院內感染不可或缺的一環。

Abstract

The emergence of drug-resistant *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) is now a serious problem in healthcare-associated infections (HAIs) control. Data from Taiwan TINS showed that, while the percentage of carbapenem-resistant *A. baumannii* (CRAB) in ICU of medical centers/regional hospitals was less than 20% in 2003, it rose to 70% in Q3 2010. The objective of this study is to investigate the distribution of integron drug-resistant gene and OXA typing of carbapenemase in extensively drug-resistant *A. baumannii* (XDRAB) isolates from XDRAB-HAIs cases (2008~2010, 25 months). We also used pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) to investigate the linkage between XDRAB strains. The risk factors of XDRAB-HAIs were investigated using case-control study (case: control=1:4). The result shows that 23 of 25 XDRAB isolates harbored class I integron with a 2300-kb gene cassette. None carries class II integron. Most isolates had carry OXA 23 (n=21, 84%) and OXA51 (n=25, 100%). PFGE showed a genetic diversity among the 25 XDRAB isolates. Univariate analysis showed that long-term bed rest, hemodialysis, tracheostomy, use of glycopeptide, use of imipenem or meropenem, use of anti-pseudomonal penicillins, and use of the fourth generation cephalosporins, are statistically significant risk factors. Multiple conditional logistic regression analysis showed that, after adjusting for the effect of other variables, long-term bed rest (adjusted odds ratio 5.2, 95%CI: 1.1–24.4) and use of imipenem, meropenem, anti-pseudomonal penicillins, or the fourth-generation cephalosporins (adjusted odds ratio 4.3, 95%CI: 1.4–12.7) remain independent risk factors. We concluded that, for XDRAB HAIs control, it is essential to emphasize the prudent use of broad-spectrum antibiotics active against gram-negative bacteria.

第一章 緒論

一、廣泛抗藥性鮑氏不動桿菌簡介：

Acinetobacter baumannii (鮑氏不動桿菌，簡稱 *A. baumannii*) 的抗藥性問題為近年來在醫療照護相關感染防治上日益受到重視的主題。1991 年，美國首度出現了 Carbapenem-resistant *A. baumannii* (CRAB)，自始，*A. baumannii* 的抗藥性問題開始受到重視及研究。在國內則是在 1998 年 5 月，臺大醫院首次於腫瘤科病房一位白血病患者血液培養中分離出 CRAB，同時亦發現此菌幾乎對所有的抗生素產生抗藥性，當時稱之 pandrug-resistant *A. baumannii* (PDRAB)。且在短短的 2 年間，PDRAB 的比率由 0% 驟升為 6.5%，其蔓延之迅速令人驚訝。此外，依據台灣 TNIS 統計資料顯示：醫學中心及區域醫院加護病房 CRAB 的比率從 2003 年不到 20%，逐年上升至 2010 年第三季已達約 70%，可見抗藥性 *A. baumannii* 在台灣醫院內的散佈問題已經十分廣泛且嚴重。於 2000 年及 2002 年所發表、針對紐約布魯克林區的研究中發現，imipenem-resistant *A. baumannii* (IMRAB) 在所有臨床分離菌種中高達 53%，PDRAB 也高居 12%。由於在抗生素感受性測試中並無法全面將所有抗生素納入檢測，所以近年來已將除了 1~2 種抗生素以外都具抗藥性的 *A. baumannii* 改稱為 extensively drug-resistant *A. baumannii* (XDRAB)。由於人類面臨越來越嚴重的抗藥性問題，也使得研究人員投入許多心血進行研究。而在微生物抗藥性的研究過程中，約於 1980 年代發現 Integron 的存在，此外國外有關醫療照護相關感染的研究，也指向這類病人抗藥性細菌的散布可能跟 Integron 有關。

二、文獻回顧：

*A. baumannii*為存在於環境中革蘭氏陰性球桿菌，亦是人類皮膚上的正常菌叢之一，由於可以在環境和醫護人員手部存活很長一段時間，近幾年已成為院內感染的重要病原菌[1-4]，由此菌所引起的常見院內感染包括呼吸器所致之呼吸道感染、血流感染及泌尿道感染。此外，它對於燒傷的病人、具有免疫抑制疾病的病人以及重病的患者而言是引起呼吸器相關感染肺炎、菌血症以及敗血症的主要原因[5]。

在 1970 年代早期認為此菌不具有致病性，且對gentamicin及cephalosporins均呈敏感性，但 1980 年中期發現*A. baumannii*開始對許多的藥物產生抗藥性，包括aminoglycosides、cephalosporins、quinolones、imipenem等[6]。近十年內亦發現多重抗藥性*A. baumannii*經常引起院內感染群突發，且多數發生於加護單位[7-9]，1991年於美國發現的CRAB，引起大家關切抗藥性問題[10]。也因其抗藥性越來越強，多重抗藥性*A. baumannii* (Multidrug-resistant *A. baumannii*, MDRAB)已成最難以控制及治療的革蘭氏陰性菌之一，並已經在世界各地被提出來討論[4]。Sunenshine採用Matched univariate analysis分析發現：受MDRAB感染的病人比起感染抗生素敏感性*A. baumannii*的病人或未感染的病人而言，具有較長的平均住院天數(27.5 天)和ICU住院天數(13.3 天)。在住院死亡率方面，MDRAB感染的病人為 26%，抗生素敏感性*A. baumannii*的病人為 18%，未受感染的病人則為 11%；且經過統計，感染MDRAB與未感染的病人之院內死亡率具有統計上的差異[4]。由於受MDRAB感染的病人會增加住院天數，因此必須執行適當的感染控制措施，以避免其在醫院中傳播，甚至造成群突發。1998 年 5 月國內的臺大醫院於腫瘤科病房一位白血病患者血液培養首次分離出CRAB，同時亦發現此菌幾乎對所有的抗生素產生抗藥性，包括所有的cephalosporins、aztreonam、aminoglycosides、及quinolones，故稱之PDRAB[11]，這是國內PDRAB的首例。目前國內的*A. baumannii*之抗藥性已相當嚴重，就臺大醫院 2000 年的統計中發現，在短短的 2 年間，PDRAB的比率就由

0%驟升為 6.5%[11];於 2000 年發表的一份針對紐約布魯克林區的研究[12]中發現, IMRAB在所有臨床分離菌中高達 53%, PDRAB也高居 12%,並確定了多重性抗藥性*A. baumannii*已經造成該地區的流行。澳洲首次因抗藥性*A. baumannii*造成爆發院內感染的事件則發生在 1996 年;所發現的*A. baumannii*已經對gentamicin, cephalosporins, 和ticarcillin具有抗藥性,其中有些甚至也對quinolones具有抗藥性[13]。在 2002~2004 年間,由 48 間歐洲醫院所進行的研究報告industry-supported surveillance report顯示:分離出的*A. baumannii*菌株中只有 73.1%對meropenem具有感受性(susceptibility), 69.8%對imipenem具有感受性,但對其它抗生素的感受性則非常的低,ceftazidime 為 32.4%、ciprofloxacin為 34.0%, gentamicin則為 47.6%[13],而相信此數據到了 2011 年會降得更低。在拉丁美洲的數據則指出:對於meropenem, imipenem, ceftazidime, piperacillin-tazobactam, ciprofloxacin, 和gentamicin的抗藥性比例則是全球最高的[13]。由以上眾多資料,可見*A. baumannii*的抗藥性已經成為世界性的問題[9, 12, 13],而*A. baumannii*於全球急速地發展出對於所有 β -lactams類抗生素(包含carbapenems)的抗藥性也表示了此細菌對於選擇性環境壓力的改變及抗生素的廣泛使用具有非常敏捷的反應[13]。

根據文獻定義[14],多重抗藥性 (multidrug-resistant, MDR)乃指對三種類型以上的抗生素產生抗藥性者。泛抗藥性(panadrug-resistant, PDR)乃指對所有種類的抗生素產生抗藥性者。近年來由於兩種針對抗藥性革蘭式陰性桿菌(包含以前被分類為PDR的菌株)有效的抗生素colistin與tigecycline進入臨床普遍使用,因此現在將先前被分類為PDR的菌株改稱為XDR (extensively drug-resistance),指除了 1~2 種抗生素以外都具抗藥性者。因此近年來將具多重抗藥性的*A. baumannii*改稱為XDRAB而取代PDRAB一詞。extreme drug-resistant (XXDR)則是對最新一代開發的藥物就已發展出抗藥性者稱之。若是XDRGNB則表示該菌也對colistin和tigecycline具有抗藥性[14]。

由於人類面臨越來越嚴重的抗藥性問題,也使得研究人員投入許多心血進行

這方面的研究。在*A. baumannii*對 β -lactam類藥物產生抗藥性的最主要機制為 β -lactamases將藥物進行酵素性分解(enzymatic degradation)。而且這個酵素分解機制相當複雜，它具有多重機制且通常都會一起作用以產生具有相同功能及表現(phenotype) [15-17]。*blaOXA-23* 基因是一個存在於質體的基因且可以轉移，它會產生具有carbapenemase活性的OXA23 酵素，在英國、愛爾蘭、歐洲、韓國、新加坡、中國的研究都發現抗藥性*A. baumannii*帶有*blaOXA-23*，也因此它被認為與*A. baumannii*對carbapenem產生的抗藥性有關[18-25]。另兩種具有carbapenemase活性的OXA-type gene clusters則是*blaOXA-24-like* 和*blaOXA-58-like* carbapenemase基因。其中，*blaOXA-24-like* 可表現OXA-24, -25, -26, 和-40[13]。而OXA-24的結晶結構則被認為可以提供對此類型的carbapenemases提供未來治療藥物的發展[26]。*blaOXA-58* 是最近於2005年新發現的一種 β -lactamase，它則和*blaOXA-23*較為相似，也常存在於質體[27]，所以也較容易造成廣泛分布[23, 28]。*blaOXA-51-like* 基因 (產生OXA-51, -64, -65, -66, -68, -69, -70, -71, -78, -79, -80, 和-82)較獨特之處則是它為自然存在於*A. baumannii*的chromosome中[25]。它的功能和IS*Aba 1* element有相關[29]，當不存在IS*Aba 1* element時，一些轉殖的研究結果顯示*A. baumannii*對於carbapenem 的感受性很低，即便在overexpressed multidrug efflux pump (AdeABC)的情況下，*A. baumannii*對於carbapenem 的感受性也沒有明顯改變[30]。而比起*blaOXA-58*，*blaOXA-23* 的存在會使imipenem產生較高的MIC。含有*blaOXA-23* 和*blaOXA-58* 的質體，由臨床分離出的細菌質體會比實驗室經由人工重組製成的質體對carbapenems產生較高的抗藥性，這可能是因為臨床分離出的質體會帶有IS elements (insertion sequence element)的關係[31]。IS elements的重要性為轉譯出轉位子酶(transposase)，因此也具有移動性。此外，它也含有啟動子(promoter)的區域，因此可以overexpression 下游的抗藥性基因[13]。

另外，在研究微生物抗藥性的過程中，約在1980年代發現Integron的存在；它是鑲埋在外生性基因卡匣中的open reading frames裡的基因整合平台，一旦經

過正確的基因表現就可以轉換成具功能性的基因[32]。Integron也是一種具有可移動性功能的DNA片段；它可將某些特殊的基因都整合在相同基因結構的相同位置中；它也跟抗生素抗藥性基因、或是相近的質體(plasmid)、或是轉位子(transposon)等等有關；乃屬於一種複合型基因水平移動的單位。在2006年、由歐洲的Eleni Kraniotaki 等發表，利用Integron的特性分析多重抗藥性的*A. baumannii* (MDRAB) 群突發時，發現Integron與該菌所造成的院內感染有相關[33]，該篇文獻表示：於希臘一家醫院內之加護病房(ICU)爆發了為期3個月的MDR *A. baumannii*之群突發，有31個病人數。在調查過程中，除病人外，另收集ICU環境表面和工作人員手上的細菌來辨識可能的污染時，經由分子分型技術(molecular typing)在環境中找到帶有Class 1 Integrons的MDR *A. baumannii*，其中並分別帶有3.1kb、2.5kb 和2.2kb大小之基因卡匣(gene cassettes)，其3.1kb大小的Integron更是首度在*A. baumannii*中被發現帶有五個抗藥性基因卡匣。關於Integron與抗生素抗藥性與院內感染(又稱：醫療照護相關感染)的關係之探討，除Eleni Kraniotaki的研究認為Integron與*A. baumannii*院內感染具有關聯的文章以外，尚有印度的Abhishek Gaur與Laura Rojas[34, 35]等。Abhishek Gaur的研究乃利用聚合酶鏈鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)檢測86株*A. baumannii*的 integrase gene，發現43.02% (37/86) 帶有Integrons，其中81.1% 是Class 1 Integrons。而2005年時*A. baumannii*含Integron的比例則上升到63.6%；因此Abhishek Gaur認為Integron與鮑式不動桿菌的抗生素抗藥性及院內感染也有關聯[34]。此外，在國內也有Hung和Chiu等人的研究都指出：Integron和*A. baumannii*的多重抗藥性有關[36, 37]。2010年發表，於台灣北部某區域教學醫院[38]所執行的研究則發現，在所分離的134株carbapenem susceptibility *A. baumannii*菌株中，54.5%(73株)帶有class I Integrons，並且這73株只攜帶有2種基因卡匣，分別是*aacA4-catB8-aadA1* 和 *aacC1-orfP-orfP-orfQ-aadA1*。且在susceptibility data中顯示出，這些帶有Integrons的菌株除了ampicillan/sulbactam, imipenem以外，對其他所有的測試抗生素都明顯

具有抗性。因此，Integron可能對於和aminoglycosides 及chloramphenicol 抗藥性基因的水平轉移有關，且它也是*A. baumannii*菌是否具有多重抗藥性的一個指標[38]。

台灣發生醫療照護相關感染時的額外住院天數在醫學中心為 20.1 天，區域醫院為 19.2 天，額外的成本則分別為 5335 美金(以 1:30 計則約 16 萬台幣) 和 5058 美金(約 15 萬台幣)，因*A. baumannii*菌所造成的感染人數則分別為 18 人(8%)與 16 人(6%)[39]；依此數據計算，則在該醫學中心，因*A. baumannii*菌造成院內感染的額外總成本將近台幣 288 萬，此金額相當龐大，相信對於醫院的營運影響也很重大。由此可知，如果我們能好好的防治醫院內XDRAB的散佈，將可為醫院節省大筆不必要的支出，也可以節省健保支出，同時謀求病人健康的福利。

三、研究目的

本研究主要目的在偵測從實習單位臨床病人所收集 XDRAB 院內感染菌株的 Integron 抗藥性基因及 OXA typing 的分布情形，以了解其所存在水解酵素的種類，然後可得知其存在的抗藥性機制為何；並進而將收集到的菌株透過脈衝電泳分型 (Pulsed-Field Gel Electrophoresis Analysis, PFGE) 的方法分析 XDRAB 菌種之間的關係，以了解院內 XDRAB 菌株的分佈與流行情形，並以病例對照方式(病例組：對照組=1：4 配對)，以探討 XDRAB 院內感染的危險因子。對照組的選取乃依照病例被判定為 XDRAB 院內感染時，在相同時間、相同病房選取和病例年齡相差五歲以內沒有 XDRAB 院內感染的病人。本研究從 2008 年 11 月至 2010 年 12 月共計收集 25 位符合 XDRAB 院內感染病例與 100 位依上述條件隨機選取配對之對照組病人，進一步收集所有病例組與對照組之臨床資料，包括抗生素使用情形、侵入性醫療處置措施、潛在疾病等等，透過 conditional logistic regression 方式統計分析相關可能危險因子，以探討 XDRAB 院內感染風險因子並進而了解可執行之

感染控制及預防方式，因此希望藉由收集臨床 XDRAB 院內感染病人菌株(strain)與臨床資料，進一步瞭解 *A. baumannii* 的抗藥性基因中 Integron 分布情形與醫療照護相關感染危險因子的評估與預防。

四、實習單位特色與簡介

三軍總醫院成立於民國三十五年，其前身為台灣陸軍八〇一總醫院，組織由台灣陸軍醫院，聯勤第五總醫院，陸海空軍第一總醫院，陸軍第一總醫院依序遞嬗而來。民國五十七年五月，改組為「三軍總醫院」，由小南門遷建於水源地營區（今台北市汀州路三段八號），為我國之軍醫醫療開新紀元。現今編制上屬國防醫學院之教學醫院，負有臨床醫療、教學與研究之責，醫療服務對象為現役軍人、健保民眾及一般民眾，為衛生署評定之醫學中心級教學醫院。為因應醫療環境快速變遷與尋求軍醫教育及醫療作業整體之改進與發展，特將國防醫學院及三軍總醫院，一併考量運用臺北市內湖區實施整建，稱為「國防醫學中心」。工程基地面積約四十三公頃，自七十九年一月開工，八十九年四月完工，並於同年十一月完成搬遷醫療作業移轉。

三總整建搬遷後，雖面臨國軍精簡方案，目前員工(含民聘雇)約 3,300 人，病床數 1,721 床，平均每日門診量 4,800 人，平均每日急診量 220 人，平均每日住院人數為 1,300 人，並將航太醫學、海底醫學及核輻射傷害防治等相關醫療作業，納入服務範圍。

全新的國醫中心不但醫院建築及設備等硬體符合二十一世紀之要求，醫院之環保(廢水、廢氣及廢棄物處理)也符合最新法令之要求，而在護理及藥劑等相關醫院行政管理部分，推行電腦化；為服務廣大病患，每年並選派優秀之醫事人員至

國內外各醫學中心進修學習醫療新知及技能，同時為不斷精進診療技術及配合各科未來發展之重點，持續投資購買先進之儀器設備，並增設正子斷層造影中心、婦女保健中心、血友病防治及研究中心及中醫部等，冀能在軟、硬體的改良及更新下，提高對國軍官兵、眷屬及健保民眾之醫療服務品質與作業能力。

今日三總在醫學教育上，以落實畢業前、後一般醫學訓練及實施問題導向教學為短程目標；持續辦理國際臨床醫學研討會，以吸取醫學教育新知，如標準病人與臨床技能測驗中心等，並應用於本院之教學制度上，以培育醫界人才，冀望立足台灣、放眼世界，穩定本院在台灣醫療界的領導地位，並成為國際級的醫學中心。

在醫學研究上，本院經中央研究院列為國內三大臨床醫學中心，除與國內外各學術研究單位（如國家衛生研究院）合作，以癌症研究嶄露頭角外，近來更積極發展軍陣醫學，以研發成果，落實於教學及醫療服務，並藉醫德教育的落實，強化醫病關係，回饋國軍官兵及社會大眾，建立軍醫院新典範，並秉持著精益求精的態度，持續推動醫學研究、醫學倫理教育的精進與落實，以提昇整體醫護水準。

實習單位提供資源：

三軍總醫院為醫學中心，相關的軟硬體設備已臻完善，院部長官對於感控政策的推展也大力支持，感染管制室目前組織架構設有主任一名、感染管制護理師七名、感染管制醫檢師一名及結核病病例管理師一名，此外還包括感染管制協助醫師共六名，感染管制室每星期三中午有固定的小組會議討論感染管制議題，感管室成員藉由小組會議提出相關議題討論並及時解決，而醫院感染管制委員會也定期每二個月召開一次，會議主席由副院長擔任，委員會成員包含各重要部科主任與行政部門代表，在感染管制室團隊的帶領下，可以進一步了解相關感染管制政策的推展。

預期實習形式：

配合三軍總醫院正常上班時間，在感染管制室進行實務實習，預計從 100 年 2 月 1 日起至 5 月 31 日止，累計實習時間達 200 小時以上，實習內容包含實際參與感染管制業務、對於實務實習主題進行文獻查詢與閱讀、針對所收集醫療照護相關感染 XDRAB(Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*)病人與對照組病人進行臨床資料收集並進行統計分析，此外也對於收集菌株進行分子生物實驗檢測 Integron、OXA typing 及 PFGE 分型。



第二章 方法

一、研究設計：

收集 2008 年 11 月至 2010 年 12 月共計 25 位院內感染 XDRAB 的病人，將收集到的 XDRAB 菌株以 PCR 方式檢測 Integron 及 OXA typing，以期了解所收集之 XDRAB 抗藥性的基因分布情形，並以脈衝式電泳分析(Pulse-Field Electrophoresis)了解各菌株間相關情形，同時以回溯性病例對照方式(1:4 配對)於相同病房、在相同日期，年齡差距在 5 歲以內，將有 XDRAB 院內感染與 100 位非 XDRAB 院內感染之病人透過臨床資料比對，而所需收集的臨床資料包含：潛在疾病(underlying disease)、侵入性醫療措施(invasive procedure)及抗生素使用種類(Antibiotics usage)，以便探討 XDRAB 院內感染的危險因子之用。

1. XDRAB 院內感染病例定義：

納入收案條件病人需為 *A. baumannii* 菌感染病人，符合衛生署疾病管制局於 2009 年 10 月 30 日二版修訂的醫療照護相關感染監測定義[40] (收案標準詳見附件一)，且菌株對 ampicillin (AM)、cefazolin (CZ)、gentamicin (GM)、amikacin (AN)、trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT)、ceftazidime (CAZ)、ceftriaxone (CRO)、imipenem (IPM)、ciprofloxacin (CIP)、cefepime (FEP)、ampicillin/sulbactam (AMS)、piperacillin/tazobactam (TZP)，以及 tigecycline (TG) 抗生素均具有抗藥性者，但是對於 colistin (CL) 抗生素呈敏感性，符合收案條件之病人定義為醫療照護相關感染 XDRAB 病人，研究期間共收集了 25 例病例。

2. 對照組選擇條件：

採用回溯性病例對照方式(配對條件及配對比例為 1:4)於相同病房、在相

同日期，年齡差距在 5 歲以內，以隨機方式選取符合上述配對條件的住院病例 100 位。

3. 本研究對 XDRAB 感染之危險因子係採用 matched case-control study (配對病例對照研究設計) 來探討。然後再透過統計方式分析相關可能危險因子，藉此分析可以找到感染 XDRAB 的危險因子，並希望在藉由感控措施預防此細菌的感染。而所需收集的臨床變項資料如下第 4 點所述。

4. 臨床變項定義：

4.1 潛在疾病(Underlying disease): 此乃依據感染發生日之前的住院病歷診斷記載認定，資料分析顯示共有以下 12 種。

4.1.1 腫瘤(Solid tumor)

4.1.2 惡性血液疾病(Hematologic Malignance)

4.1.3 心血管疾病(cerebral vascular accident,CVA)

4.1.4 糖尿病(DM)

4.1.5 尿毒症(Uremia)

4.1.6 肝硬化(cirrhosis of liver)

4.1.7 紅斑性狼瘡(SLE)

4.1.8 體內有植入物(with Implant)

4.1.9 長期臥床(Long term bed rest)：指臥床天數超過 30 天以上者

4.1.10 使用類固醇(steroid used)

4.1.11 化療/放射線治療(Chemotherapy/Radiotherapy)

- 4.1.12 昏迷(Coma)：失去意識狀態
- 4.2 侵入性醫療措施(invasive procedure)：指病例納入收案定義當時有下列侵入性醫療處置
- 4.2.1 周邊靜脈注射(Peripheral IV),
 - 4.2.2 中心靜脈導管(central venous pressure catheter,CVP)
 - 4.2.3 長期靜脈注射(Long term IV)：有裝置如 PICC、port-A 等裝置
 - 4.2.4 中心靜脈營養給與(central paraental nutrition,CPN)
 - 4.2.5 動脈導管(Arterial line)
 - 4.2.6 肺動脈導管(Swan-Ganz)
 - 4.2.7 HD(A-V fistula/graft),
 - 4.2.8 HD(Perm/Double lumen),
 - 4.2.9 導尿管(Foley catheter)
 - 4.2.10 氣管內管(Endotracheal)
 - 4.2.11 氣管切開(Tracheostomy)
 - 4.2.12 呼吸器(respirator)
 - 4.2.13 引流管(Drainage catheter)
- 4.3 抗生素使用種類(Antibiotics usage)：指病例及對照組從入院至收案當日使用之抗生素。超過 3 個月的使用以三個月計算。
- 4.3.1 Glycopeptide,
 - 4.3.2 Aminoglycoside,
 - 4.3.3 Carbapenem：包含 imipenem, meropenem 及 ertapenem

- 4.3.4 imipenem or meropenem,
- 4.3.5 anti-pseudomonas penicillin,
- 4.3.6 3rd Cephalosporin,
- 4.3.7 4th Cephalosporin,
- 4.3.8 antipseudomonal cephalosporins,
- 4.3.9 Quinolone.

計劃流程:

1. 收集及保留 XDRAB 菌株收集以因應計劃之用。
2. 資料收集
收集所有病人與菌株的抗生素感受性資料
3. Integron 抗藥性基因偵測及 OXA typing
將所收集菌株以 PCR 方式檢測
4. PFGE 電泳分析 (PFGE Analysis)
5. 以 SAS 軟體進行 conditional logistic regression 分析病例組與對照組病人臨床資料，以找出有意義的危險因子。

二、方法與步驟：

1. XDRAB 菌株藥物感受性測試

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 *A. baumannii* 進行敏感性試驗，其測試方法簡要說明如下：挑取 *A. baumannii* 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 硫酸鋇標準液，平均塗抹在 Mueller-Hinton agar 培養基的表面，再分別貼上 ampicillin (AM)、cefazolin(CZ)、gentamicin(GM)、amikacin(AN)、trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT)、ceftazidime (CAZ)、ceftriaxone (CRO)、imipenem (IPM)、ciprofloxacin (CIP)、cefepime (FEP)、ampicillin/sulbactam (AMS)、piperacillin/tazobactam (TZP)、tigecycline(TG)及 colistin(CL) 抗生素紙錠於瓊脂的表面，置於 35°C，一般培養箱隔夜培養 16-18 小時後判讀，觀察並測量抑制環的直徑大小 (mm)，菌株再以 Agar dilution 檢測 tigecycline (TG) 檢測之最低抑菌濃度 (minimal inhibit concentration, MIC)，並保存於 -80°C 之冰箱中，以待之日後進行分子流行病學研究。來自同一病人之菌株，不論臨床檢體為何，並不重覆收集、計算。

2. 偵測 Integron 抗藥性基因及 OXA typing [41]

將所收集菌株於 MacConkey agar 上隔夜培養，取培養之新鮮菌落於 500 µl 無菌水中做成懸浮液，再使用 InstaGene Matrix (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) Kit 做 DNA 萃取，萃取後之 DNA 儲存於 -20°C 冰箱直到需要時取用，DNA 萃取步驟如下：

2.1 DNA 萃取

2.1.1 每個 eppendorf 加 600 µl digestion buffer。

- 2.1.2 將菌落加入，平均打散在 digestion buffer 後，快速離心使瓶蓋液體沉降，放入乾熱器 65°C 加熱 10 分鐘。
- 2.1.3 回溫後，加入 200 μ l 的 5M NaCl 和 200 μ l 的 chloroform (CHCl₃，氯仿)，vortex 20 秒。
- 2.1.4 離心 12000 轉 10min，離心完後液體會分成兩層（下層氯仿，上層溶有 DNA）。
- 2.1.5 取上層 700 μ l，加入 550 μ l 的 2-propanol，將其小心混合均勻，會產生絲狀物，此即為 DNA（用力過猛 DNA 可能會斷裂）。
- 2.1.6 離心 12000 轉 3min，倒掉上清液（可以擦手紙拭乾管口殘餘液，注意檢體間不要互相汙染）。
- 2.1.7 加入 700 μ l 的 70%EtOH（酒精）稍微搖動清洗殘餘液體，再離心 12000 轉 3min。
- 2.1.8 倒掉上清液後再快速離心，以 pipette 吸走多於殘留液，然後乾燥 5min（以擦手紙覆蓋其上避免汙染）。
- 2.1.9 加入 200-500 μ l 的 1.0TE buffer（視 DNA 濃度而定）。
- 2.2 DNA 濃度測定(以分光光度計(Spectrophotometer)測量 DNA 濃度)
- 2.2.1 取出石英管，以 500 μ l 無菌水 pipetting 來清洗管壁，清洗動作重複 3 次，第三次 wash 後將水留在石英管中。
- 2.2.2 以拭鏡紙擦拭偵測試窗，按 set/ref 後待” 嗶” 聲響起，迅速置入石英管作儀器歸零動作，” 嗶” 聲再度響起後迅速取出石英管，完成歸零。
- 2.2.3 吸出第三次 wash 的水，用力甩兩下使管壁內殘留液體流至底部，

再用小 tip(可使用 200 μ l 的 Pipette)吸乾殘留液體。

- 2.2.4 取儀器上放置已知濃度的陽性測定檢體 8 μ l 至石英管中，再取 72 μ l 的無菌水（總體積 80 μ l），pipetting 使混合均勻。
- 2.2.5 以拭鏡紙擦拭，按 sample 後，待”嗶”聲響起迅速置入石英管，”嗶”聲再度響起後迅速取出石英管，完成測定並寫上陽性測定值。（應在 70-80 μ g/ml）。
- 2.2.6 吸出測定液體，取 500 μ l 水清洗一次後甩兩下，用小 tip 吸乾淨。
- 2.2.7 依照陽性測定值測定方式依序測定完所有檢體，並在每次測定完後施行清洗一次的動作。
- 2.2.8 最後一次檢體測定完後，先吸取 1000 μ l（500 μ l x 2）滅菌水徹底清洗管壁，吸除水後更換 tip 再分別吸取 500 μ l 滅菌水清洗兩次。
- 2.2.9 第三次 wash 完後將水留在石英管中，測定並寫上清洗完後的吸光值（最佳為 0.0 μ g/ml），然後將石英管收入盒子，完成 DNA 濃度測定。

2.3 PCR 操作流程

2.3.1 Integrase PCR 流程

- 2.3.1.1 選取 10X running buffer 1 μ L、dNTP 0.8 μ L、Mg²⁺ 0.4 μ L、primer 各 0.5 μ L（integrase 1R、integrase 1F、integrase 2R、integrase 2F）、DNA polymerase (DyNAzyme II) 0.5 μ L 及 ddH₂O 4.3 μ L，依所需的 sample 量配製成每管總體積 10 μ L 之 matrix buffer。使用的 Primers 之 DNA 序列及其參考資料來源詳見表一。
- 2.3.1.2 將 matrix buffer 混合均勻後，分裝至 PCR 專用反應管，此時每管總體積為 9 μ L。

- 2.3.1.3 加入已調整成濃度 $20 \mu\text{g/ml}$ 、所需量之 DNA $1 \mu\text{L}$ 至各 PCR 專用反應管，並 pipetting 使之混合均勻，使每管最後總體積為 $10 \mu\text{L}$ 。
- 2.3.1.4 Blank 管加入所需量之 ddH₂O $1 \mu\text{L}$ 作為空白測試管。
- 2.3.1.5 確實蓋上 PCR 專用反應管之上蓋，並於可書寫處標示前後順序記號。
- 2.3.1.6 Spin down。
- 2.3.1.7 打開 PCR 儀器，並設定所需之 program (Initialization step: 94°C , 5 min; denaturation: 94°C , 30 sec, annealing: 55°C , 30 sec, extension: 72°C , 30 sec, 35 cycle ; final elongation: 72°C for 7 min, and final hold at 4°C)。
- 2.3.1.8 將 PCR 專用反應管放置於 PCR 儀器凹槽中，並確認上蓋是否蓋緊。
- 2.3.1.9 開始進行 PCR。
- 2.3.1.10 待 PCR 結束後，將產物存放於 4°C 以備跑膠。

2.4 Integron (Gene Cassette) PCR 流程

- 2.4.1 選取 10X running buffer $1 \mu\text{L}$ 、dNTP $0.8 \mu\text{L}$ 、 Mg^{2+} $0.4 \mu\text{L}$ 、primer 各 $0.1 \mu\text{L}$ (Integron 3'-CS、Integron 5'-CS)、DNA polymerase (DyNAzyme II) $0.1 \mu\text{L}$ 及 ddH₂O $6.5 \mu\text{L}$ ，依所需的 sample 量配製成每管總體積 $10 \mu\text{L}$ 之 matrix buffer。
- 2.4.2 將 matrix buffer 混合均勻後，分裝至 PCR 專用反應管，此時每管總體積為 $9 \mu\text{L}$ 。
- 2.4.3 加入已調整成濃度 $20 \mu\text{g/ml}$ 、所需量之 DNA $1 \mu\text{L}$ 至各 PCR 專用反應管，並 pipetting 使之混合均勻，使每管最後總體

積為 $10\ \mu\text{L}$ 。

- 2.4.4 Blank 管加入所需量之 ddH₂O $1\ \mu\text{L}$ 作為空白測試管。
- 2.4.5 確實蓋上 PCR 專用反應管之上蓋，並於可書寫處標示前後順序記號。
- 2.4.6 Spin down。
- 2.4.7 打開 PCR 儀器，並設定所需之 program (Initialization step: $96\ ^\circ\text{C}$, 5 min; denaturation: $96\ ^\circ\text{C}$, 30 sec, annealing: $55\ ^\circ\text{C}$, 30 sec, extension: $72\ ^\circ\text{C}$, 30 sec, 35 cycle ; final elongation: $72\ ^\circ\text{C}$ for 7 min, and final hold at $4\ ^\circ\text{C}$)。
- 2.4.8 將 PCR 專用反應管放置於 PCR 儀器凹槽中，並確認上蓋是否蓋緊。
- 2.4.9 開始進行 PCR。
- 2.4.10 待 PCR 結束後，將產物存放於 $4\ ^\circ\text{C}$ 以備跑膠。

2.5 OXA-typing PCR 流程

- 2.5.1 選取 10X running buffer $1\ \mu\text{L}$ 、dNTP $0.8\ \mu\text{L}$ 、 Mg^{2+} $0.4\ \mu\text{L}$ 、primer 各 $0.1\ \mu\text{L}$ (OXA-23R、OXA-23F、OXA-24R、OXA-24F、OXA-51R、OXA-51F、OXA-58R、OXA-58F)、DNA polymerase(DyNAzyme II) $0.1\ \mu\text{L}$ 及 ddH₂O $5.9\ \mu\text{L}$ ，依所需的 sample 量配製成每管總體積 $10\ \mu\text{L}$ 之 matrix buffer。使用的 Primers 之 DNA 序列及其參考資料來源詳見表一。
- 2.5.2 將 matrix buffer 混合均勻後，分裝至 PCR 專用反應管，此時每管總體積為 $9\ \mu\text{L}$ 。

- 2.5.3 加入已調整成濃度 $20 \mu\text{g/ml}$ 、所需量之 DNA $1 \mu\text{L}$ 至各 PCR 專用反應管，並 pipetting 使之混合均勻，使每管最後總體積為 $10 \mu\text{L}$ 。
- 2.5.4 Blank 管加入所需量之 ddH₂O $1 \mu\text{L}$ 作為空白測試管。
- 2.5.5 確實蓋上 PCR 專用反應管之上蓋，並於可書寫處標示前後順序記號。
- 2.5.6 Spin down。
- 2.5.7 打開 PCR 儀器，並設定所需之 program (Initialization step: 96°C , 5 min; denaturation: 96°C , 30 sec, annealing: 52°C , 40 sec, extension: 72°C , 1 min, 40 cycle ; final elongation: 72°C for 7 min, and final hold at 4°C) 。
- 2.5.8 將 PCR 專用反應管放置於 PCR 儀器凹槽中，並確認上蓋是否蓋緊。
- 2.5.9 開始進行 PCR。
- 2.5.10 待 PCR 結束後，將產物存放於 4°C 以備跑膠。

2.6 DNA 膠體電泳

- 2.6.1 水平式膠體電泳 (又稱瓊脂糖膠體電泳，Agarose gel electrophoresis)
- 2.6.1.1 秤量 2.25g LE agarose powder，倒至三角錐瓶。
- 2.6.1.2 加入 150c.c. 的 0.5 倍 TBE buffer 泡製成 1.5% 的 LE agarous。
- 2.6.1.3 將三角錐瓶放至 heater 上加熱，並加入 stir bar 攪拌使之完全溶解至微微沸騰。

- 2.6.1.4 放置約 30 分鐘至手可以握的溫度。
- 2.6.1.5 倒入所需的 well, 插上所需之 comb, 放涼待凝(約 30 分鐘)。
- 2.6.1.6 將凝固好的 gel 安置在清洗過、乾淨的電泳槽中, 並倒入 0.5 倍 TBE 當 running buffer。
- 2.6.1.7 每個 sample 取 5-8 μ l, marker 取 8 μ l, 分別與 1-2 μ l 的染劑混合均勻後, loading 至 well 中。
- 2.6.1.8 蓋上電泳蓋, 開始跑膠。
- 2.6.1.9 結束後, 將 gel 置入 Ethidium Bromide (溴化乙錠, 簡稱 EtBr) 中浸泡約 5 分鐘, 水沖洗約 1-3 分鐘。
- 2.6.1.10 照 UV 看結果, 並且拍照留存。

3. PFGE 操作流程

依據脈衝場電泳分型法(Pulsed-Field Gel Electrophoresis Analysis) [42], 進行 extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* 菌株親源性(clonal relationship)分析, 分析之材料與方法分點敘述如下:

3.1 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:

- 3.1.1 第一天挑取單一菌落接種於指定之培養基與培養條件;
- 3.1.2 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，

- 3.1.3 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) ，
- 3.1.4 取 400 μ l 菌液至 1.5 ml Eppendorf 小管，
- 3.1.5 加 20 μ l proteinase K (20 mg/ml) ，
- 3.1.6 混合後加入 400 μ l 融化後回溫至 56°C 的 1% SeaKem® Gold agarose/1% SDS ，
- 3.1.7 快速以 micropipette 混均勻後注入模具中，
- 3.1.8 放置於室溫 15 min 或 4°C 5 min 使充份凝固，
- 3.1.9 再將膠片自模具中推入 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 hrs ；
- 3.1.10 膠體經酵素處理後，加 15 ml 預熱至 56°C 的 ddH₂O ，置水浴器振盪 15 min ，重覆 ddH₂O 清洗一次，
- 3.1.11 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，
- 3.1.12 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。

3.2 PFGE 電泳分析 (PFGE Analysis)

- 3.2.1 以刀片切取約 2-mm 寬含 chromosome DNA 的膠薄片(slice) ，

- 3.2.2 膠薄片先置入 200 μ l 的指定之限制酶(ApaI)緩衝液，室溫下放置 5 min，
- 3.2.3 以 micropipette 吸出緩衝液，再注入 200 μ l 含指定 units 量之限制酶之緩衝液，置於指定溫度下放置 2 小時，
- 3.2.4 以 micropipette 吸出緩衝液再注入 200 μ l 的 0.5X TBE buffer (89 mM Tris borate, 2 mM EDTA)，放置 5 min 後，
- 3.2.5 將膠薄片取出，用吸水紙儘量吸乾附著於膠薄片之緩衝液，
- 3.2.6 再將膠薄片依序平貼於孔梳(comb)上，
- 3.2.7 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)，
- 3.2.8 之後將孔梳放置於鑄膠台上，倒入融化回溫至 56 $^{\circ}$ C 的 1% SeaKem $^{\circledR}$ Gold agarose，放置室溫 20-30 min，
- 3.2.9 待瓊膠凝固後，即可進行電泳。
- 3.2.10 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，
- 3.2.11 膠片以 0.5 g/ml 的 ethidium bromide 染色 15 min，再以 ddH₂O 退染 2 h (過程更換水 3-4 次)，
- 3.2.12 DNA 圖譜影像再以數位影像處理系統 AlphaEase $^{\text{TM}}$ (Alpha

Innotech Corporation, San Leandro, CA)拍照貯存成數位檔案，以供後續比對分析。

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

3.3.1 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。

3.3.2 有關判讀標準與菌株間相關性之綜合判定依Turnover所發表之 PFGE判定準則[43]判定之。

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

3.4.1 脈衝場電泳法產出之電泳帶模式以電腦軟體 AlphaEase™ (Applied Math, ortrijk, Belgium)數位化後以 Tiff 檔儲存，

3.4.2 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。

4. 統計分析

以 SAS 軟體(SAS Institute, Cary, North Carolina)進行 conditional logistic regression 分析病例組與對照組病人臨床資料。

第三章 結果

如何完成目標與目的：

透過在三軍總醫院感染管制室的實務實習從了解醫療照護相關感染定義到收集符合 XDRAB 感染的病人和菌株，共計 25 個病人(25 株 XDRAB)，病例收案的時間為 2008 年 11 月至 2010 年 12 月。將所收集到的 25 個病例進一步與該單位的人員討論及查閱收案病人的相關資料與統計結果，並依照指導教授所指導及建議，以病例對照(Case control)的研究方法，透過三軍總醫院資訊管理室調閱實驗進行所需對照組的病人資料，共計 100 人(病例組: 對照組為 1:4 配對)。然後，再將所收集的菌株以 PCR 的方式進行偵測 Integron 的分布與 OXA typing 基因型的區別，以及脈衝式電泳分析判定此 25 株細菌之間的關係。在統計分析方面，以 SAS 軟體進行 conditional logistic regression 的分析。而且在實習過程中，對本研究進行所遇到的問題和資料收集方式，不斷的與院內指導教授王志堅主任以及校內指導老師方啟泰副教授針進行討論，所以對於研究方向能更加明確及清晰。

獲得的成果：

一、病例分析：

此次研究病例得到醫療照護相關感染XDRAB的病人中有 10 位來自加護病房，15 位來自一般病房。病例組病人基本資料分布情形為：年齡大於 65 歲(含)以上者佔 21 位，65 歲以下者有 4 位。以性別做區分時，男性為 18 位，女性為 7 位。從感染部位分布情形而言，血流感染佔 8 位，泌尿道感染為 12 位，下呼吸道感染 3 位，手術部位感染及心臟血管系統感染各 1 位。

二、抗生素藥物感受性試驗之結果

將所收集的病例菌株分別以 ampicillin (AM)、cefazolin (CZ)、gentamicin (GM)、amikacin (AN)、trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT)、ceftazidime (CAZ)、ceftriaxone (CRO)、imipenem (IPM)、ciprofloxacin (CIP)、cefepime (FEP)、ampicillin/sulbactam (AMS)、piperacillin/tazobactam (TZP)、tigecycline(TG) 及 colistin(CL)等 14 種抗生素紙錠進行抗生素藥物感受性試驗後，證明 25 個病例菌株對以上測試的所有抗生素除 colistin 以外均呈抗藥性。再進一步以 agar dilution 方式進行對目前新發展的 tigecycline 抗生素進行最低抑菌濃度(MIC)濃度檢測，得到結果為 MIC 濃度在 4ug/ml 以上者共有 20 株。MIC 濃度為 2ug/ml 者有 4 株，另外有一株 MIC 濃度為 0.5 ug/ml，詳見表二。

三、XDRAB integrase、integron gene cassette以及OXA typing PCR偵測結果

第一次實驗完畢但未發現有PCR產物或不清楚的樣本會重複進行PCR實驗以確認結果。圖一為XDRAB Integrase PCR 產物進行電泳的結果照片，可以看到共 23 株菌株帶有class I integrase，沒有任何菌株帶有class II integrase。圖二為XDRAB Integron gene cassette PCR產物的電泳結果照片，可看到有 23 株細菌帶有 2300bp的

Integron gene cassette。圖三為XDRAB OXA-typing PCR產物的電泳結果照片，可以看到OXA-24 (246bp)、OXA-51 (353 bp)、OXA-23 (501 bp)的PCR產物，但並沒有發現任何菌株帶有OXA-58的PCR產物。

將以上PCR產物電泳圖結果整理為表三和表四，經由XDRAB Integron檢測及OXA typing分型統計分析結果可以看出 23 株XDRAB所帶的Integron均為class I，且其所帶的Gene cassette大小皆為 2300kb。另，全部 25 株XDRAB都不帶有class II Integron，也都不具有OXA 58。至於在OXA typing分型的部份，可以看到大部分都帶有OXA 23 (21 株，84%)和OXA 51 (25 株，100%)。在帶有Integron class I的 23 株XDRAB中，全部都帶有OXA 51，此 23 株中只有 1 株具Tigecycline感受性(MIC濃度為 0.5ug/ml)；同時帶有OXA 23 和OXA 51 的有 19 株，同時具有OXA 24 和OXA 51 的有 1 株。不帶有Integron class I或class II的 2 株則都帶有 OXA 51 和OXA 23。

四、XDRAB 菌株經PFGE分型之鑑定結果

圖四為 25 位病人之XDRAB菌株經過PFGE分型鑑定的原始圖檔。圖五(a)及圖五(b)為脈衝場電泳法產出之電泳帶模式(圖四)數位化後利用Bionumerics software (Applied Math, Kortrijk, Belgium) 進行菌株間相似度之分析與比對，以Jaccard-complete linkage法將分析菌株群組化(clustering)，並以樹狀圖(dendrogram)呈現。由圖五可以初步看出此次收集 25 位病人之XDRAB菌株經過PFGE分型鑑定後，若以相似度為 80%做一切點可以分成 14 大類，並無單一顯著分子型別。

五、危險因子之單一變項分析結果

在病例對照統計方面，由表五可以看到，透過 SAS 軟體以 conditional logistic regression 分析的結果顯示，得到 XDRAB 醫療照護相關感染的危險因子為長期臥床(Long term bed rest)、進行血液透析且放置瘻管的病人(HD:Perm/Double lumen) 、

有進行氣切的病人(Tracheostomy)、抗生素使用等等均為造成病人得到 XDRAB 之相關危險因素。長期臥床的病人其危險因子增加 7.0 倍(95% CI: 2.1~23.5)，進行血液透析且放置瘻管的病人其危險因子增加 3.7 倍(95% CI: 1.04~12.8)，進行氣切的病人其危險因子增加 3.2 倍(95% CI: 1.2~8.2)，使用抗生素 Glycopeptide 的病人之危險因子增加 3.6 倍(95% CI: 1.1~11.9)，使用抗生素 imipenem 或 meropenem 的病人之危險因子增加 4.5 倍(95% CI: 1.01~19.7)，使用抗生素 anti-pseudomonal penicillin 類的病人之危險因子增加 5.1 倍(95% CI: 1.9~14.0)，使用抗生素第四代 Cephalosporin(4th Cephalosporin)的病人之危險因子增加 2.8 倍(95% CI: 1.1~6.8)，若有使用下列任何一種抗生素 imipenem 或 meropenem、或 anti-pseudomonal penicillin、或 4th Cephalosporin 的病人之危險因子則增加 5.3 倍(95% CI: 2.0~14.00)。上述的八個危險因子都具有統計上的意義。

其它的因素，如：腫瘤、惡性血液疾病、心血管疾病、糖尿病、尿毒症、肝硬化、紅斑性狼瘡、體內有植入物、使用類固醇、化療/放射線治療、昏迷、周邊靜脈注射、中心靜脈導管、長期靜脈注射、中心靜脈營養給與、動脈導管、肺動脈導管、HD(A-V fistula/graft)、導尿管、氣管內管、氣管切開、呼吸器使用，引流管，Aminoglycoside, Carbapenem, 3rd Cephalosporin, antipseudomonal cephalosporins, Quinolone 則沒有差異。

六、危險因子之多變項分析結果

將以上有統計意義的因子再經由多變項分析後並整理結果為表六與表七。由表六可看到七個變項為長期臥床、血液透析且放置瘻管、進行氣切、使用抗生素 Glycopeptide，使用抗生素 imipenem 或 meropenem、使用抗生素 anti-pseudomonas penicillin 類、使用抗生素 4th Cephalosporin 時，分析後可看到：病人使用 anti-pseudomonas penicillin 類抗生素時，對於感染 XDRAB 有更明確的關連性，其

危險因子會增加 4.6 倍，95% CI 為 1.5~14.0。

表七為將長期臥床、血液透析且放置瘻管、進行氣切、使用抗生素 Glycopeptide、若有使用任何 imipenem 或 meropenem、或 anti-pseudomonas penicillin、或 4th Cephalosporin 的五個變項進行多變項分析後，可以看到長期臥床的病人其危險因子增加 5.2 倍(95% CI: 1.1~24.4)，若有使用任何 imipenem 或 meropenem、或 anti-pseudomonal penicillin、或 4th Cephalosporin 的病人之危險因子則增加 4.3 倍(95% CI: 1.4~12.7)，上述的兩個危險因子都具有統計上的意義。



第四章 討論

一、國內醫院與實習單位之抗藥性*A. baumannii*院內感染率之比較

近年來 *A. baumannii* 感染已廣泛增加，尤其對於住院病患所造成的威脅日益嚴重，多篇文獻報告 *A. baumannii* 易造成加護中心病患伺機性的感染及群突發。依據台灣 TNIS 統計資料顯示：2010 年第三季國內醫學中心及區域醫院加護病房 CRAB 的比率已達約 70%。而實習單位三軍總醫院之 CRAB 比率也是將近 70%。因此，*A. baumannii* 的抗藥性問題以及所引起的治療困境，不容小覷。

二、感染病例感染部位分布之討論

本研究所收集到的 25 位感染病例，從感染部位分布情形進行分析時，泌尿道感染為 12 位，佔 48%；血流感染佔 8 位(32%)，下呼吸道感染 3 位(12%)，手術部位感染及心臟血管系統感染各 1 位(4%)。不過，根據文獻的結果，在大部分醫療院所，絕大多數的 *A. baumannii* 都是由住院病人的呼吸道所分離出來，也是引起呼吸器相關肺炎(Ventilator-associated pneumonia, VAP)的原因 [13]，不過在本研究期間，只有 3 個病例是患有下呼吸道感染(肺炎)，這可能是因為本研究乃針對院內感染的 XDRAB 病例去收案分析所致。

三、感染病例抗藥性基因 Integron 及 OXA typing 與國內其他資料之比較

對於抗藥性基因 Integron 及 OXA typing 的研究結果(圖一、圖二、圖三、表三、表四)可以看到，此次研究果發現在收集 25 位醫療照護相關感染 XDRAB 的菌株中，有 23 株帶有 class I Integron (佔 92%)，有 2 株並未帶有 class I Integron，所有菌株均無 class II Integron，23 株帶 class I Integron 菌株的 gene cassette 均為 2300bp，國內也有 Hung 和 Chiu 等人的研究都指出：Integron 和 *A. baumannii* 的多重抗藥性有關

[36, 37]。2010 年發表，於台灣北部某區域教學醫院[38]所執行的研究則發現，在所分離的 134 株 carbapenem susceptibility *A. baumannii* 菌株中，54.5%(73 株)帶有 class I Integrons，並且這 73 株只攜帶有 2 種基因卡匣，分別是 *aacA4-catB8-aadA1* 和 *aacC1-orfP-orfP-orfQ-aadA1*。且在 susceptibility data 中顯示出，這些帶有 Integrons 的菌株除了 ampicillin/sulbactam, imipenem 以外，對其他所有的測試抗生素都明顯具有抗性，而從 OXA typing 的結果可看見所有菌株都帶有 OXA-51，這與先前的文獻報導 OXA-51 屬於 *A. baumannii* 天生就存在於其染色體上水解酵素抗藥性基因的結果相同[13, 30]，所以都有偵測到其存在。25 株中 1 株帶有 OXA-24 (4%)；而有 21 株帶有 OXA-23 (84%)，此也與在中國 *A. baumannii* 的抗藥性 OXA typing 分布為 OXA-23 的文獻報告結果相符合[25]；此外，在韓國 Park 的研究[44]中也顯示：30 株中 23 株帶有 OXA 23(77%)，且這 23 株都帶有 ISAbal/OXA-23(77%)，帶有 ISAbal/OXA-51 的則有 7 株(23%)。所以本研究的結果亦支持該文獻[25, 44]所提在亞洲地區鮑氏不動桿菌存有 OXA 23 的水解酵素之抗藥性機轉。

四、PFGE 電泳分型結果之意義

文獻報導醫院中常同時存在多種分子型態之 *A. baumannii*，都有可能造成院內感染，目前最常使用於鑑定是否為群突發之黃金標準為 PFGE，PFGE 分型法的優點為其單一基因的變異具有解釋的標準，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。此次收集 25 位病人之 XDRAB 菌株經過 PFGE 分型鑑定後(圖五)，若以相似度為 80%做一切點可以分成 14 大類，而這 14 大類中，其中有 E1、F1、K1 及 M1 等 4 類菌株間相似度達 100%，進一步分析 E1 代表之兩株菌株來源病房分別為 RCC-002 及 SICU-01(收集時間分別為 97 年 11 月 14 日及 98 年 3 月 9 日)，F1 代表之兩株菌株來源病房分別為 31-052 及 32-181(收集時間分別為 97 年 11 月 20 日及 98 年 6 月 15 日)，K1 代表之兩株菌株來源病房分別為 51-122 及 CICU-04(收集時間分別為 99 年 9 月 24 日及 99 年 11 月 19 日)，M1 代表之三株菌株來源病房分別為 MICU-06、15-191 及 31-031(收集時間分別為 98 年 12 月 01 日、98 年 6 月 15 日及 98 年 7 月 21 日)，以上相似度 100%之菌株間在時間與病房上無明顯相關性，雖然可以解釋為研究期間歸因為醫療工作人員未確實執行感染控制措施而造成的院內感染之相對可能性較低，但是由於並未全面監測環境表面，故仍無法百分之百排除 XDRAB 透過醫療檢查設備而傳播的群聚事件。

五、增加感染風險之危險因子探討

在統計分析部分，從單變項分析結果(表五)，可以看見長期臥床、有進行氣切的病人、血液透析病人(放置瘻管)、抗生素使用(包括Glycopeptide、anti-pseudomonal

penicillin類、imipenem or meropenem及 4th cephalosporin等等均為造成病人得到 XDRAB 醫療照護相關感染的危險因子，而南韓於 2007 年 6~11 月間於 7 間四級醫院執行 XDRAB 危險因子分析的研究報告的 crude analysis 則指出其危險因子為肺部疾病(OR=5.0, 95% CI 1.5~17)、神經疾病(OR=6.4, 95% CI 1.7~23.3)、危險期天數 (time at risk, days)及加護病房住院天數($p < 0.001$)、使用導尿管(OR=12.8, 95% CI 3.8~42.8)、使用呼吸器(mechanical ventilation) (OR=21.4, 95% CI 4.3~107.2)、使用鼻胃管(OR=22.2, 95% CI 5.5~90.5)、使用第三代Cephalosporins抗生素(OR=8.1, 95% CI 2.4~27.0)、使用Carbapenems抗生素(OR=35.3, 95% CI 5.2~ ∞)、使用Glycopeptides 抗生素 (OR=19.1, 95% CI 4.7~77.1)[44]。在本研究中，使用Glycopeptide 抗生素在單變項分析有顯著意義，但在多變項分析(見表六)則變為不顯著，由於多變項迴歸分析的作用即為控制干擾因子，本研究在調整長期臥床及使用後線抗Gram-negative細菌的抗生素兩個變項的作用後，發現Glycopeptide與XDRAB院內感染並無顯著相關。因此Glycopeptide並非XDRAB院內感染之真正危險因子。

而本研究進一步進行multiple logistic regression分析時(表六)，則可以看到使用anti-pseudomonal penicillin類抗生素具統計學顯著意義，危險因子會增加 4.6 倍，95% CI為 1.5~14.0。若特別在觀察使用多種抗生素的因子時(表七)，則長期臥床的病人之危險因子增加 5.2 倍(95% CI: 1.1~24.4)，及若有使用imipenem或meropenem、或anti-pseudomonas Penicillin或 4th Cephalosporin的病人之危險因子增加 4.3 倍(95% CI: 1.4~12.7)，以上因子都具有統計學顯著意義。而Park的研究結果再進行多變項分析後，則使用第三代Cephalosporins抗生素病人的危險因子增加 9.6 倍，95% CI為 1.3~171.3。APACHE II 分數危險因子會增加 1.2 倍，95% CI為 1.1~1.5[44]。

另外，也針對目前新發展的tigecycline抗生素進行最低抑菌濃度(MIC)濃度檢測(表二)，結果可看出MIC濃度在 4ug/ml以上者共有 20 株、MIC濃度為 2ug/ml者

有 4 株，另外有一株 MIC 濃度為 0.5 ug/ml。可見，鮑氏不動桿菌之抗藥性情形值得關注。根據南韓 Park 的研究[44]，其所收集的 XDRAB 菌株，MIC 為 1~8mg/L，MIC₅₀ 為 2，MIC₉₀ 為 4。tigecycline 為美國 FDA 於 2005 年 6 月核准上市的廣效型抗生素，它可以進入細菌的 30S ribosome A site，阻擋帶胺基酸的 tRNA 進入，來達到阻止胜肽鏈合成，進而抑制蛋白質的合成[45]，可廣效的對抗革蘭氏陽性、革蘭氏陰性，及對 tetracycline-resistant 的菌種。不過在本院從 97 年 3 月核准使用 Tigecycline，短短半年內已有 7% *A. baumannii* 對 tigecycline 產生抗藥性(資料不在此呈現)，因此本院針對 *A. baumannii* 之感染管制空間隔離措施從原本對 imipenem 及其他藥物感受性試驗均呈現抗藥性才符合病房差額優免資格(以便實施空間隔離措施)，轉變成對 tigecycline 及 imipenem 及其他藥物感受性試驗均呈現抗藥性才符合病房差額優免資格，而在台大醫院張上淳副院長於 2011 年 2 月在 CID 發表的文章[46] 中也有提到只有約 64% carbapenem 抗藥性 *A. baumannii* 對 tigecycline 呈現感受性，因此可知臨床上治療 XDRAB 的困境有多嚴重。

另，由於 *A. baumannii* 為存在於環境中革蘭氏陰性球桿菌，亦是人類皮膚上的正常菌叢之一，且可以在環境和醫護人員手部存活很長一段時間；因此，手部衛生的遵從率高低也是攸關預防這些病人感染 XDRAB 的重要因素。三軍總醫院從民國 95 年起即響應疾病管制局及醫策會之政策而大力推行洗手運動，全院洗手執行率從 40~50% 逐步上升至目前 80~85%，院內感染率也逐年下降，此外對於 XDRAB 感染或移生的病人也實施空間隔離措施，也就是病人在培養出帶有 XDRAB 的菌株後立即給予病房差額優免資格，以便將病人轉至雙人床(隔壁病床不收療病人或收療同為 XDRAB 的病人)或單人床，照顧此類病人之醫護人員也必須確實遵守相關隔離感控措施，因此院內感染 XDRAB 的病人有可能因此項措施病例較少。

此外，未落實環境清潔也是另一種造成 *A. baumannii* 傳播的可能因素，因為該菌也能在環境中存活很長的時間。根據英國的一篇研究指出[47]，某醫院在 1998~1999 年間爆發長達 14 個月的 19 位病人受 *A. baumannii* 感染的群聚事件。在

調查過程中，發現環境中*A. baumannii*的分離數量越多，則越多病人受到*A. baumannii*感染與移生($p=0.004$)。經過使用 1000ppm的漂白水以及採取新的清潔步驟後，成功地降低環境中分離出*A. baumannii*的數量。

本次研究後續將可探討環境造成*A. baumannii*感染的關聯性，所以病人和醫護人員可能接觸的週遭環境都應該好好制定清潔消毒措施，並應制定有監督計劃及監測方法。美國CDC的Environmental Evaluation Workgroup委員Alice Guh，及Philip Carling於2010年12月所出版的Options for Evaluating Environmental Cleaning[48]指出：鼓勵所有醫院在病人出院或換房的清潔步驟時進行此計劃環境清潔評估計畫，以便有效地使病房之高接觸表面能達到徹底的清潔。該文件亦建議醫院首先至少應執行基本的Level I program，包含教育清潔人員、發展監測方法等。當醫院成功的執行Level I後，應進階到Level II program，此包含執行環境衛生評估與監測、持續教育清潔人員並回饋評估監測的結果...等等。其中並談到一共有5種方法可供選擇以便進行環境是否乾淨的環境衛生評估。該文並建議執行Level II program的醫院一年至少進行環境衛生評估三次，而一病房要檢查潔淨度的地方共22個點。大於150床的醫院，可以採用10-15%的病床數作為合理的採樣數量。若是小於150床的醫院，則至少要有15床的採樣數量。並且在進行監測時，要監測所有的checklist項目的表面(22個位置)。當清潔達成度到達80%時可以降低成5%病房數作為採樣數量，除非清潔措施有變差的情況發生。目前本實習單位三軍總醫院的病房清潔事務和其他醫院一樣，都是交給外包清潔公司執行，品質參差不齊，因此未來也建議建立例行的環境清潔度之監測系統。

第五章 結論

本研究結果顯示 25 株 XDRAB 中有 23 株所帶的 Integron 均為 class I，且其所帶的 Gene cassette 大小皆為 2300kb。而所有 XDRAB 菌株都不帶有 class II Integron。在 OXA typing 的分型部份，可以看到大部分都帶有 OXA 23 (84%) 和 OXA 51 (100%)，顯示在 OXA 型別區分上為亞洲型別。此外所有 XDRAB 菌株經過 PFGE 分型鑑定後，並無單一顯著分子型別，雖然可以解釋為研究期間歸因為醫療工作人員未確實執行感染控制措施而造成的院內感染之相對可能性較低，但是仍無法百分之百排除 XDRAB 透過醫療檢查設備而傳播的群聚事件。而將臨床病歷資料進行 multiple logistic regression 分析統計結果顯示則可以看到使用病例對照研究結果為：在單變項分析中，長期臥床、血液透析、氣切、使用 glycopeptide、使用 imipenem or meropenem、使用 anti-Pseudomonal penicillins、使用第四代 cephalosporins 等均為發生 XDRAB 院內感染之顯著危險因子；以多變項 conditional logistic regression 調整干擾作用後，「長期臥床 (adjusted odds ratio 5.2, 95% CI: 1.1–24.4)」及使用「imipenem 或 meropenem、或 anti-Pseudomonal penicillins、或第四代 cephalosporins (adjusted odds ratio 4.3, 95% CI: 1.4–12.7)」兩變項均為發生 XDRAB 院內感染之獨立危險因子。

本研究結論為：適當管制後線抗革蘭氏陰性菌抗生素的使用，為防治 XDRAB 院內感染不可或缺的一環。在院內感染風險因子經過分析明朗後，建議提供病例來源的實習單位除小心謹慎使用具危險因子的抗生素以外，還應對長期臥床的病人、有進行氣切的病人、放置瘻管進行血液透析的病人更小心防範，以免這些病人感染 XDRAB。

表一：Oligonucleotide Primer Sequences Used for Amplification of Class 1 and Class 2 Integrase and Variable Regions

PCR	Primer	序列	大小(bp)	參考資料來源
Integrase	Int1 F	CAG TGG ACA TAA GCC TGT TC	160	[49]
	Int1 R	CCC GAG GCA TAG ACT GTA		
	Int2 F	TTG CGA GTA TCC ATA ACC TG	288	
	Int2 R	TTA CCT GCA CTG GAT TAA GC		
Integron	5'CS	GGC ATC CAA GCA GCA AG		[36, 50]
	3'CS	AAG CAG ACT TGA CCT GA		
OXA typing	OXA-23 F	GAT CGG ATT GGA GAA CCA GA	501	[51, 52]
	OXA-23 R	ATT TCT GAC CGC ATT TCC AT		
	OXA-24 F	GGT TAG TTG GCC CCC TTA AA	246	
	OXA-24 R	AGT TGA GCG AAA AGG GGA TT		
	OXA-51 F	TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG	353	
	OXA-51 R	TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG		
	OXA-58 F	AAG TAT TGG GGC TTG TGC TG	599	
	OXA-58 R	CCC CTCTGCGCTCTACATAC		

註：膠體電泳使用100 bp marker (Bio-100 Ladder Cat # M1-100T, PRO TECH)

表二：醫療照護相關感染 XDRAB 抗生素感受性試驗結果統計表

編號	收案編號	菌株編號	AM	CZ	GM	AN	SXT	CAZ	CRO	IPM	CIP	FEP	AMS	TZP	TG	CL	TG MIC (ug/ml)
1	33	90	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	0.5
2	34	92	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	16.0
3	35	96	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	8.0
4	36	98	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	4.0
5	37	134	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	16.0
6	38	158	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	4.0
7	39	169	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	4.0
8	40	173	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	8.0
9	41	179	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	8.0
10	43	182	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	16.0
11	44	201	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	8.0
12	45	205	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	8.0
13	46	210	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	4.0
14	47	213	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	4.0
15	49	250	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	2.0
16	51	269	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	4.0
17	53	272	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	2.0
18	54	299	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	8.0
19	55	315	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	16.0
20	56	340	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	8.0
21	57	342	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	2.0
22	58	343	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	2.0
23	59	353	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	8.0
24	60	357	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	8.0
25	61	364	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	8.0

註：ampicillin (AM)、cefazolin (CZ)、gentamicin (GM)、amikacin (AN)、trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT)、ceftazidime (CAZ)、ceftriaxone (CRO)、imipenem (IPM)、ciprofloxacin (CIP)、cefepime (FEP)、ampicillin/sulbactam (AMS)、piperacillin/tazobactam (TZP)、tigecycline (TG)、colistin(CL)、resistant(R)、sensitive(S)、minimal inhibit concentration(MIC)

表三：醫療照護相關感染 XDRAB Integron 檢測及 OXA typing 分型統計結果

編號	收案 編號	菌株 編號	integrase		integron gene cassette	OXA-typing			
			class 1	class 2	2300bp	OXA-24	OXA-51	OXA-23	OXA-58
						246 bp	353 bp	501 bp	599 bp
1	33	90	+	-	+	-	+	-	-
2	34	96	+	-	+	-	+	+	-
3	35	92	+	-	+	-	+	+	-
4	36	98	-	-	-	-	+	+	-
5	37	134	+	-	+	-	+	+	-
6	38	169	+	-	+	-	+	+	-
7	39	158	+	-	+	-	+	+	-
8	40	173	+	-	+	-	+	+	-
9	41	182	+	-	+	-	+	+	-
10	43	179	+	-	+	-	+	+	-
11	44	205	+	-	+	-	+	-	-
12	45	201	+	-	+	-	+	+	-
13	46	210	+	-	+	-	+	+	-
14	47	213	+	-	+	-	+	+	-
15	49	250	+	-	+	-	+	+	-
16	51	269	-	-	-	-	+	+	-
17	53	299	+	-	+	-	+	+	-
18	54	315	+	-	+	-	+	+	-
19	55	272	+	-	+	-	+	-	-
20	56	340	+	-	+	-	+	+	-
21	57	343	+	-	+	-	+	+	-
22	58	353	+	-	+	-	+	+	-
23	59	342	+	-	+	-	+	+	-
24	60	357	+	-	+	-	+	+	-
25	61	364	+	-	+	+	+	-	-

註1：“+”表PCR結果有產物出現

註2：“-”表PCR結果並無產物出現

表四：醫療照護相關感染XDRAB Integron檢測及OXA typing分型統計表

Integrase distribution	No.	OXA-51 (+)	OXA-51, 23 (+)	OXA-24, 51 (+)
class 1 + class 2 -	23	23	19	1
class 1 - class 2 -	2	2	2	0



表五：病例組對照組單變項統計資料分析

Variables	Case Numbers		Control Numbers		Univariate Logistic regression	
	Yes	No	Yes	No	Odds Ratio (95% CI)	P value
Age ≥ 65	21	4	84	16	0.8(0.7-1.0)	0.09
Sex: Male/Female	18	7	51	49	2.4(1.0-6.0)	0.07
Underlying disease						
Solid tumor	8	17	24	76	1.5 (0.6-4.0)	0.41
Hematologic Malignance	0	25	1	99	—	
CVA	3	22	29	71	0.4 (0.1-1.2)	0.10
DM	6	19	35	65	0.6 (0.2-1.6)	0.29
Uremia	3	22	3	97	4.0 (0.8-19.8)	0.09
cirrhosis of liver	2	23	4	96	2.0 (0.4-10.9)	0.42
SLE	1	24	2	98	2.5 (0.1-42.6)	0.54
Implant	1	24	9	91	0.4 (0.1-3.5)	0.43
Long term bed rest	8	17	6	94	7.0(2.1-23.5)*	<.01
steroid	2	23	6	94	1.4 (0.3-7.2)	0.72
Chemotherapy/Radiotherapy	0	25	4	96	—	—
Coma	0	25	1	99	—	—
Invasive procedure						
Peripheral IV	17	8	81	19	0.4 (0.2-1.3)	0.13
CVP	10	15	34	66	1.4 (0.5-3.6)	0.55
Long term IV	0	25	2	98	—	—
CPN	5	20	10	90	2.4(0.7-8.2)	0.17
Arterial line	5	20	27	73	0.5 (0.1-2.0)	0.31
Swan-Ganz	1	24	4	96	1.0 (0.1-10.1)	1.00
HD(A-V fistula/graft)	2	23	3	97	2.7(0.5-16.0)	0.28
HD(Perm/Double lumen)	5	20	6	94	3.7(1.01-12.8)*	0.04
Foley catheter	14	11	45	55	1.9(0.7-5.3)	0.25
Endotracheal	5	20	25	75	0.7(0.3-2.2)	0.60
Tracheostomy	13	12	27	73	3.2 (1.2-8.2)*	0.02
Respirator	11	14	38	62	1.3 (0.5-3.1)	0.58
Drainage catheter	1	24	22	78	0.2(0.0-1.2)	0.07
Antibiotics						
Glycopeptide	7	18	11	89	3.6(1.1-11.9)*	0.03
Aminoglycoside	3	22	15	85	0.7(0.2-3.2)	0.67
Carbapenem	7	18	12	88	3.1(1.0-9.59)	0.05
imipenem or meropenem	5	20	7	93	4.5 (1.01-19.7)*	0.05
anti-Pseudomonal Penicillin	13	12	19	81	5.1(1.9-14.0)*	<.01
3rd Cephalosporin	8	17	23	77	1.5(0.6-3.9)	0.37
4th Cephalosporin	10	15	18	82	2.7(1.1-6.8)*	0.03
antipseudomonal cephalosporins	10	15	28	72	1.7(0.7-4.3)	0.25
Quinolone	10	15	39	61	1.0(0.4-2.6)	0.93
imipenem or meropenem+anti-Pseudomonal Penicillin+4th Cephalosporin	10	15	42	58	5.3(2.0-14.0)*	<.01

* p<0.05

表六：病例組與對照組資料多變項統計分析

Variables					Univariate Logistic regression		Multivariate Logistic regression	
	Case (N=25)		Controls (N=100)		Odds Ratio (95% CI)	P value	Odds Ratio (95% CI)	P value
	Yes	No	Yes	No				
Long term bed rest	8	17	6	94	7.0(2.1-23.5)	<.01	5.8(1.0-26.2)	0.05
HD(Perm/Double lumen)	5	20	6	94	3.7(1.0-12.8)	0.04	2.0(0.4-9.6)	0.39
Tracheostomy	13	12	27	73	3.2(1.2-8.2)	0.02	1.9(0.6-6.4)	0.31
Glycopeptide usage	7	18	11	89	3.6(1.1-11.9)	0.03	1.4(0.3-7.8)	0.71
imipenem or meropenem usage	5	20	7	93	4.5(1.0-19.7)	0.05	3.2(0.5-20.7)	0.24
Penicillin(anti-pseudomonas) usage	14	11	18	82	5.1(1.9-14.0)	<.01	4.6(1.5-14.0)*	0.01
4th Cephalosporine usage	10	15	18	82	2.8(1.1-6.8)	0.03	1.8(0.6-5.3)	0.32
* p<0.05								

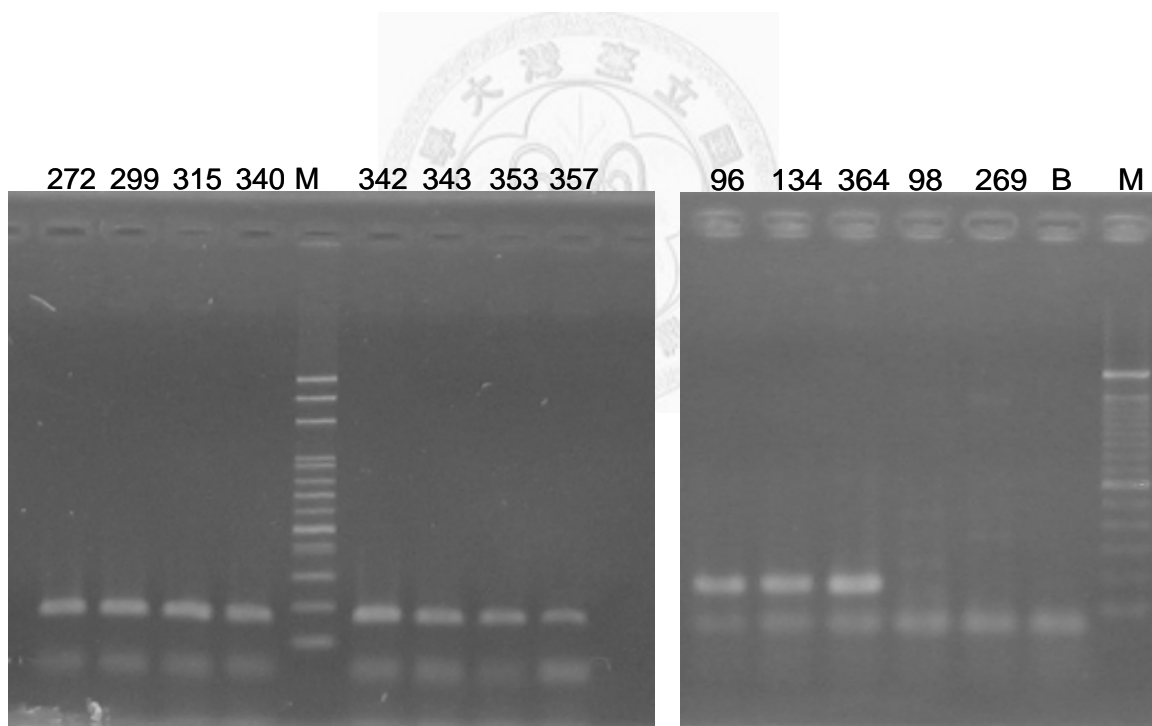


表七：病例組與對照組資料多變項統計分析

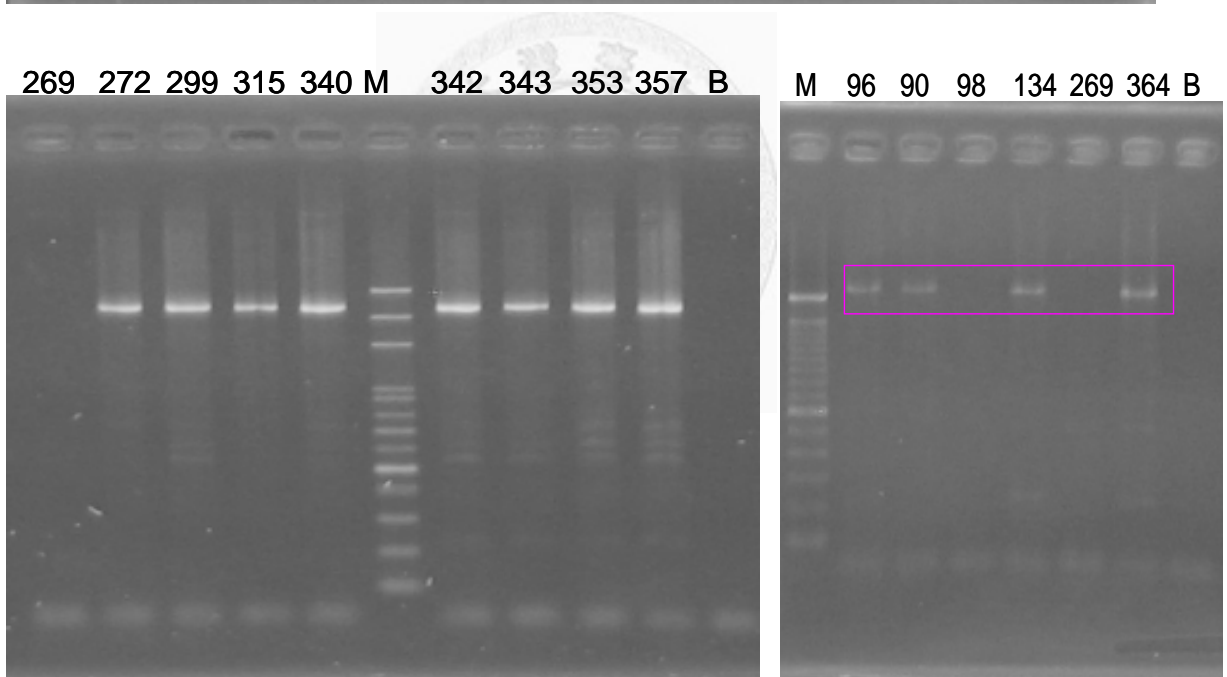
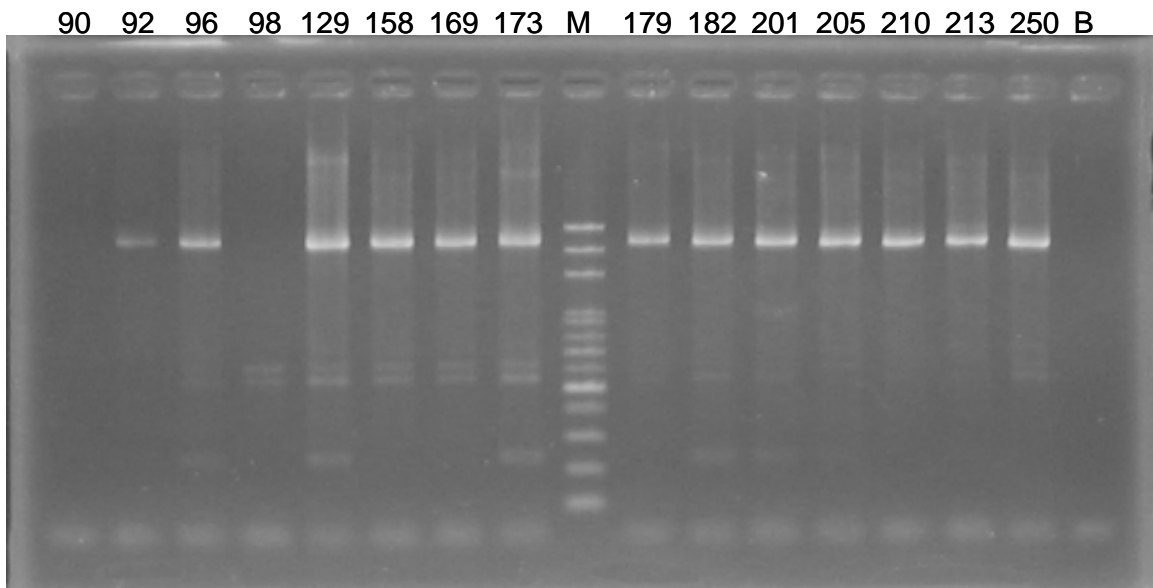
Variables					Univariate Logistic regression		Multivariate Logistic regression	
	Case (N=25)		Controls (N=100)		Odds Ratio (95% CI)	P value	Odds Ratio (95% CI)	P value
	Yes	No	Yes	No				
Long term bed rest	8	17	6	94	7.0(2.1-23.5)	<.01	5.2(1.1-24.4)*	0.04
HD(Perm/Double lumen)	5	20	6	94	3.7(1.0-12.8)	0.04	1.6(0.4-7.3)	0.54
Tracheostomy	13	12	27	73	3.2(1.2-8.2)	0.02	1.8(0.6-5.8)	0.32
Glycopeptide usage	7	18	11	89	3.6(1.1-11.9)	0.03	2.2(0.5-9.5)	0.29
imipenem or meropenem+Penicillin(anti-pseudomonas)+4th Cephalosporin	10	15	42	58	5.3(2.0-14.0)	<.01	4.3(1.4-12.7)*	<.01
* p<0.05								



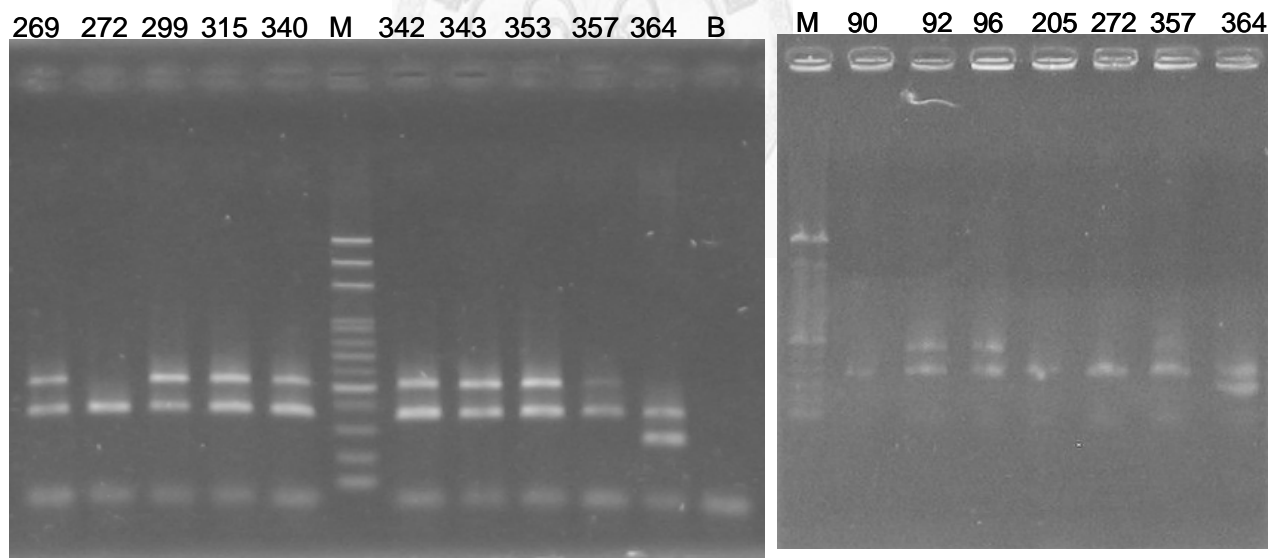
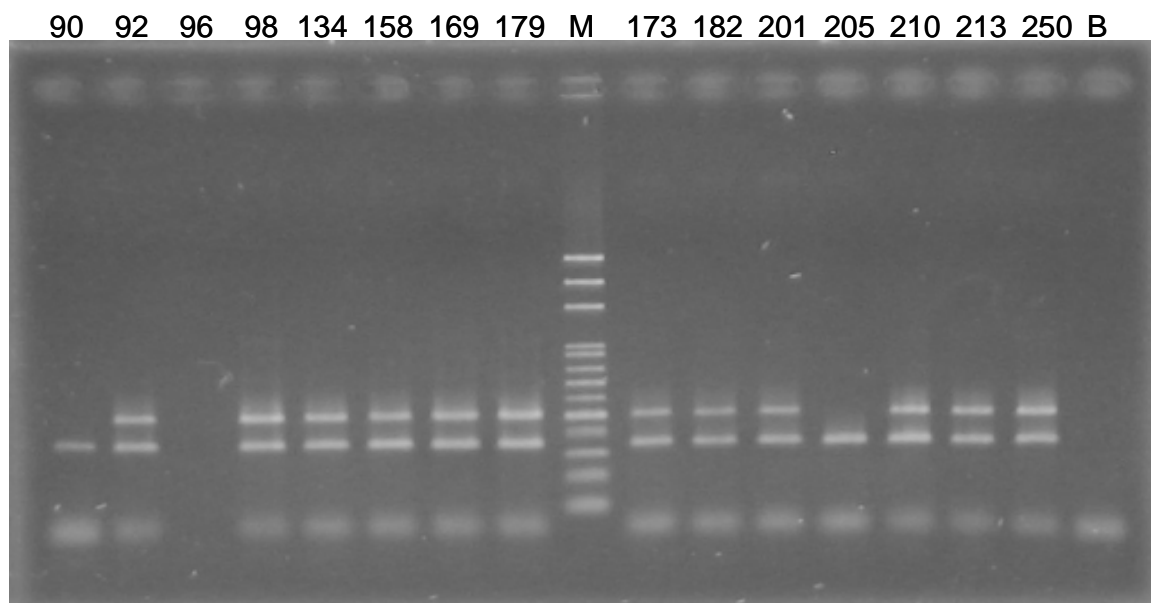
圖一：XDRAB Integrase PCR result



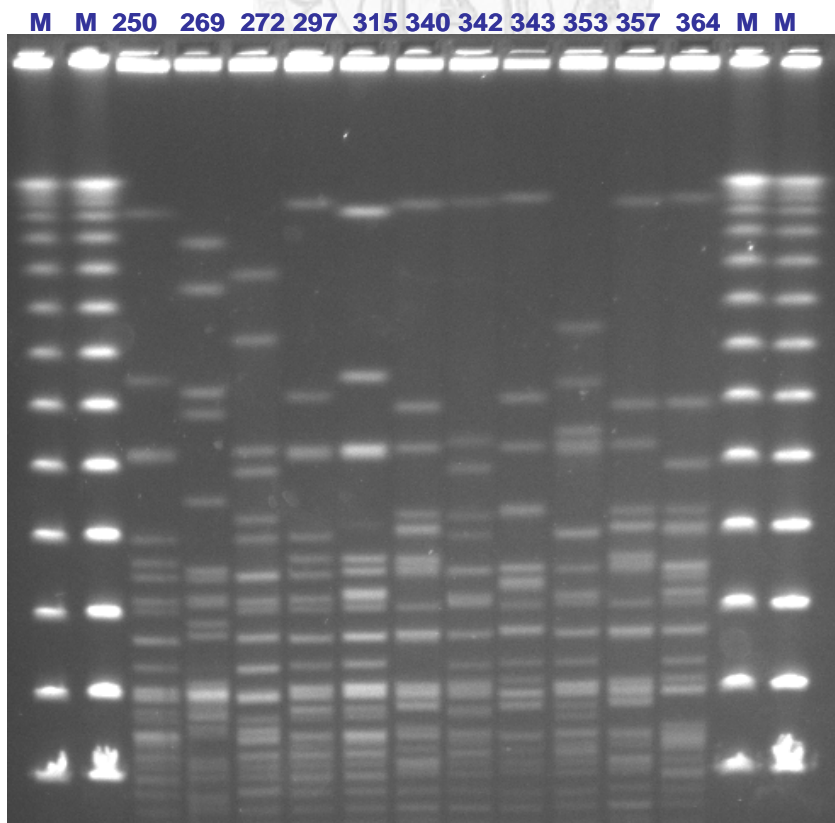
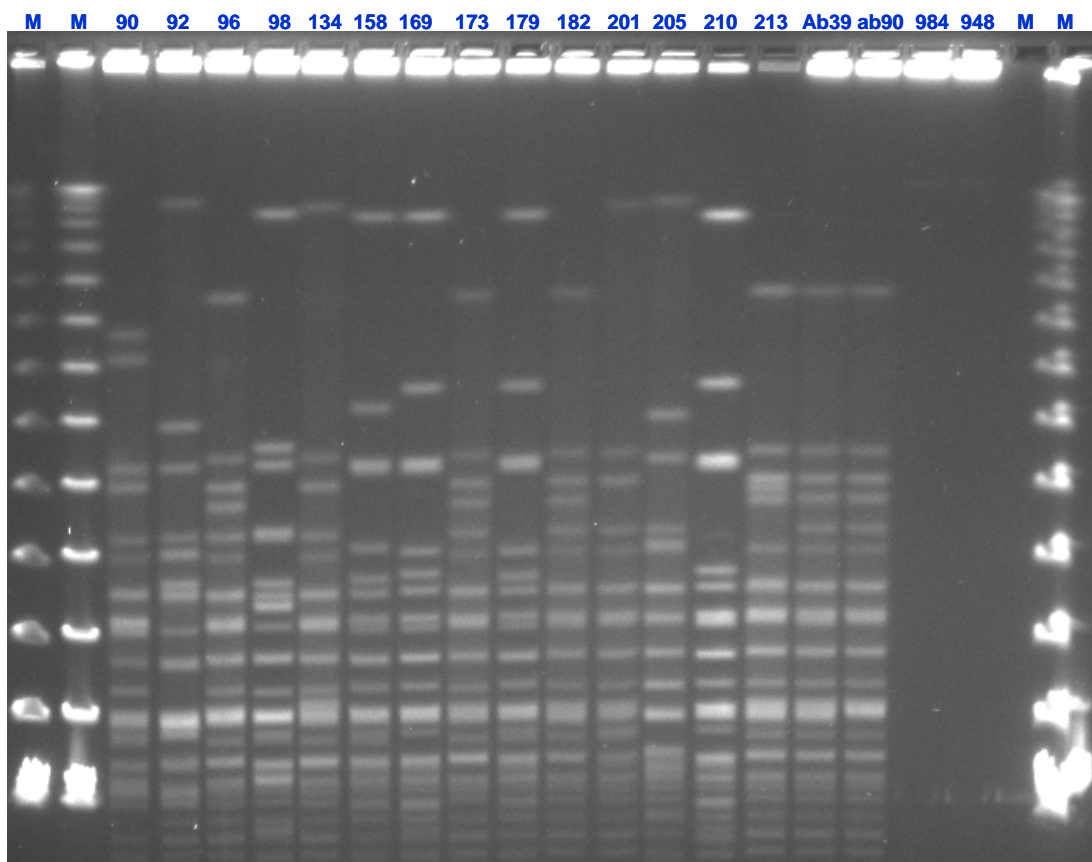
圖二：XDRAB Integron Gene Cassette PCR result



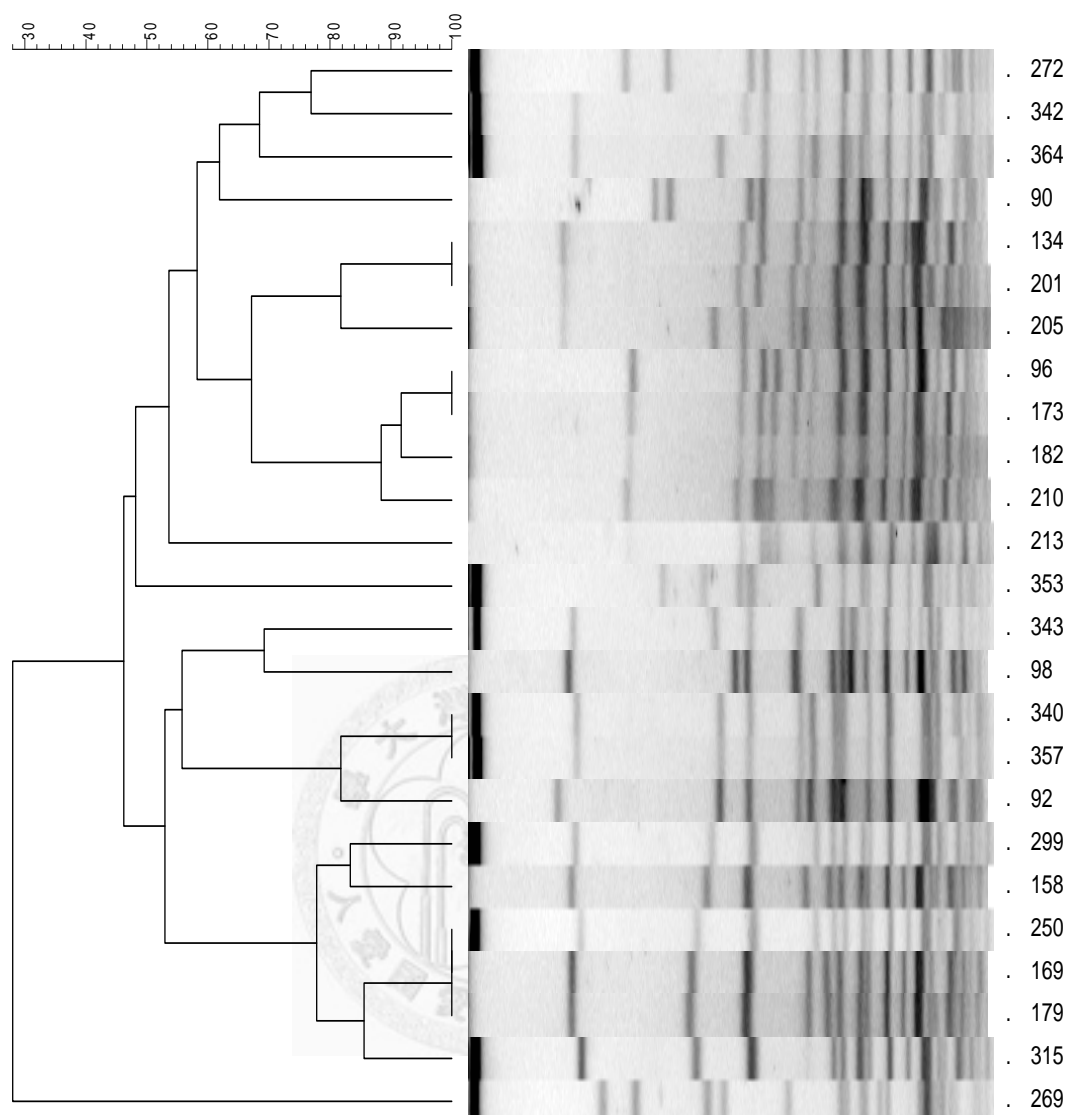
圖三：XDRAB OXA-typing PCR result



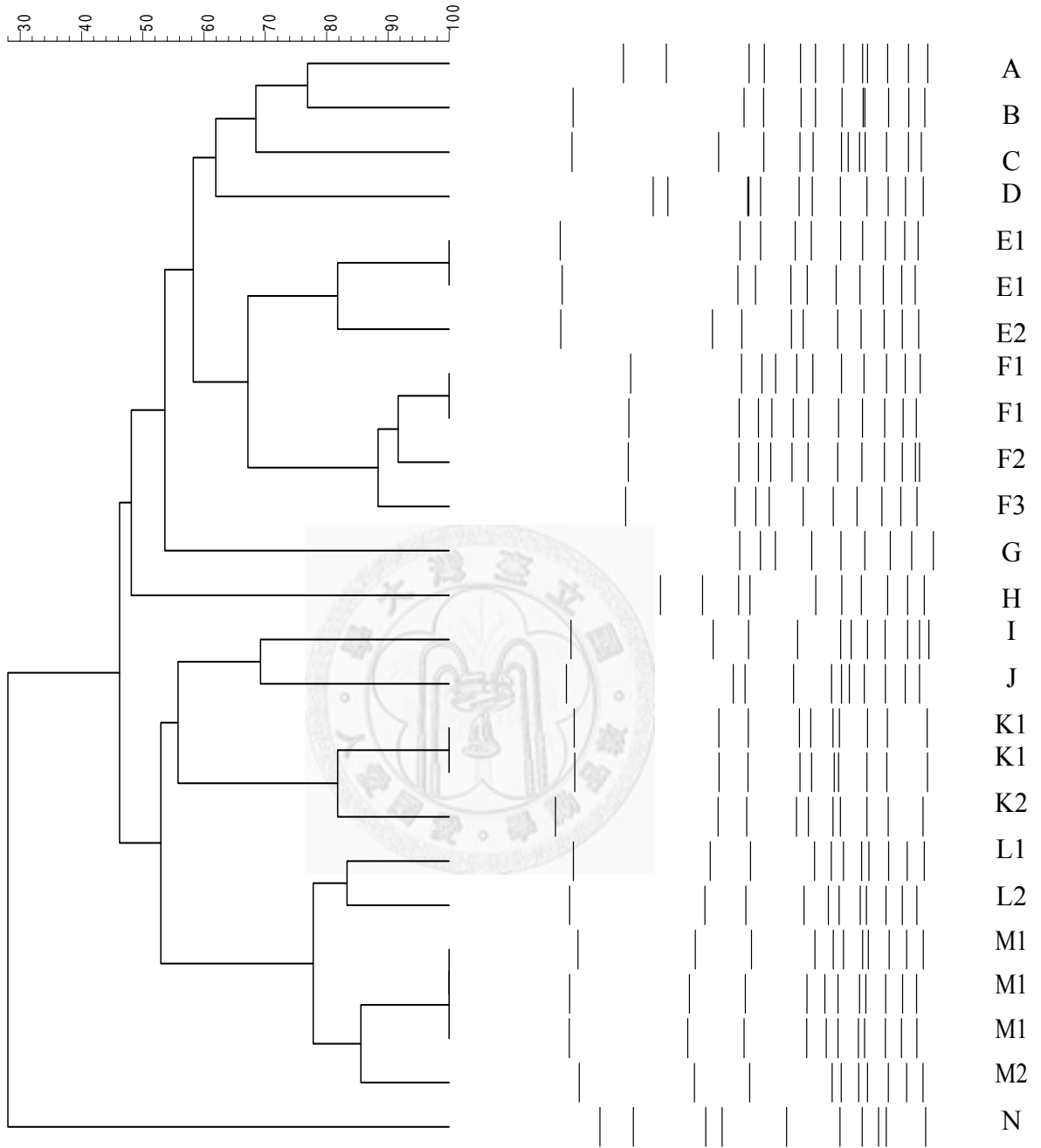
圖四：XDRAB 菌株脈衝式電泳分析圖



圖五(a)：XDRAB菌株脈衝式電泳分析圖



圖五(b)：XDRAB 菌株脈衝式電泳分析圖



附件一：醫療照護相關感染監測定義

1. 醫療照護相關泌尿道感染收案標準

醫療照護相關泌尿道感染可細分為：(1)有症狀的泌尿道感染(symptomatic)。(2)無症狀菌尿症(asymptomatic)。於2009年新改版收案定義中，不論病人是否放置導尿管，病人沒有任何症狀或徵象，但尿液培養陽性，且血液培養出至少一套相同的尿道致病原，才能符合收案定義。(3)其他之泌尿系統感染(other infections of the urinary tract)。包含腎臟、輸尿管、膀胱、尿道、後腹膜周圍組織或腎周圍組織之感染(tissues surrounding the retroperitoneal or perinephric spaces)。

1.1 有症狀的泌尿道感染(Symptomatic urinary tract infection) (CODE: UTI-SUTI)

收案標準

有症狀的泌尿道感染之收案標準至少須符合下列標準其中之一者：

標準一：病人在留取尿液培養時有留存導尿管；且沒有其他確認的原因下，必須符合至少下列一項徵象或症狀：發燒($>38^{\circ}\text{C}$)#、恥骨上壓痛、或肋脊角疼痛/壓痛(costovertebral angle pain or tenderness)；且尿液培養出菌落數 $\geq 105/\text{ml}$ ，且微生物不超過2種。

或者；

標準一：病人在留取尿液培養檢體前48小時內移除導尿管；且沒有其他確認的原因下，必須符合至少下列一項徵象或症狀：發燒($>38^{\circ}\text{C}$)#、急尿、頻尿、解尿困難、恥骨上壓痛或肋脊角疼痛/壓痛；且尿液培養出菌落數 $\geq 105/\text{ml}$ ，且微生物不超過2種。

或者；

標準一：病人在留取尿液培養時或採檢前48小時內沒有留存導尿管；且沒有其他確認的原因下，必須符合至少下列一項徵象或症狀：發燒($>38^{\circ}\text{C}$ ，此項僅適用 ≤ 65 歲病人)、急尿、頻尿、解尿困難、恥骨上

壓痛或肋脊角疼痛/壓痛；且尿液培養出菌落數 $\geq 10^5/\text{ml}$ ，且微生物不超過2種。

標準二：病人在留取尿液培養時有留存導尿管；且沒有其他確認的原因下，至少有下列任一項徵象或症狀：發燒($>38^\circ\text{C}$)、恥骨上壓痛或肋脊角疼痛/壓痛，且尿液檢驗至少有下列任一項：

1. 對白血球酯酶(leukocyte esterase)或亞硝酸鹽(nitrite)呈陽性反應。
2. 膿尿(未離心尿液常規檢查之 $\text{WBC} \geq 10/\text{mm}^3$ 或 $\geq 3/\text{HPF}$)。
3. 未經離心之新鮮尿液，經革蘭氏染色檢查，在油鏡下發現有微生物。

且尿液培養出菌落數介於 $\geq 10^3/\text{ml}$ 及 $<10^5/\text{ml}$ ，且微生物不超過2種。
或者；

標準二：病人在留取尿液培養前48小時內移除導尿管；且沒有其他確認的原因下，至少有下列任一項徵象或症狀：發燒($>38^\circ\text{C}$)、急尿、頻尿、解尿困難、恥骨上壓痛或肋脊角疼痛/壓痛，且尿液檢驗至少有下列任一項：

1. 對白血球酯酶(leukocyte esterase)或亞硝酸鹽(nitrite)呈陽性反應。
2. 膿尿(未離心尿液常規檢查之 $\text{WBC} \geq 10/\text{mm}^3$ 或 $\geq 3/\text{HPF}$)。
3. 未經離心之新鮮尿液，經革蘭氏染色檢查，在油鏡下發現有微生物。

且尿液培養出菌落數介於 $\geq 10^3/\text{ml}$ 及 $<10^5/\text{ml}$ ，且微生物不超過2種。
或者；

標準二：病人在留取尿液培養時或採檢前48小時內沒有留存導尿管；且沒有其他確認的原因下，至少有下列任一項徵象或症狀：發燒($>38^{\circ}\text{C}$ ，此項僅適用 ≤ 65 歲病人)、急尿、頻尿、解尿困難、恥骨上壓痛或肋脊角疼痛/壓痛，且尿液檢驗至少有下列任一項：

1. 對白血球酯酶(leukocyte esterase)或亞硝酸鹽(nitrite)呈陽性反應。
2. 膿尿(未離心尿液常規檢查之 $\text{WBC} \geq 10/\text{mm}^3$ 或 $\geq 3/\text{HPF}$)。
3. 未經離心之新鮮尿液，經革蘭氏染色檢查，在油鏡下發現有微生物。

且尿液培養出菌落數介於 $\geq 10^3/\text{ml}$ 及 $<10^5/\text{ml}$ ，且微生物不超過2種。

標準三： ≤ 1 歲之嬰兒，不論有無留置尿管，在沒有其他確認的原因下，至少有下列任一項症狀或徵象：發燒(肛溫 $>38^{\circ}\text{C}$)、低體溫(肛溫 $<36^{\circ}\text{C}$)、呼吸暫停、心跳徐緩、解尿困難、嗜睡、嘔吐，且尿液培養出菌落數 $\geq 10^5/\text{ml}$ ，且微生物不超過2種。

標準四： ≤ 1 歲之嬰兒，不論有無留置尿管，在沒有其他確認的原因下，至少有下列任一項症狀或徵象：發燒(肛溫 $>38^{\circ}\text{C}$)、低體溫(肛溫 $<36^{\circ}\text{C}$)、呼吸暫停、心跳徐緩、解尿困難、嗜睡、嘔吐，且至少有下列任一項：

1. 尿液常規檢查以dipstick試紙檢測尿液，其白血球酯酶(leukocyte esterase)或亞硝酸鹽(nitrite)呈陽性反應。
2. 膿尿(未離心尿液常規檢查之 $\text{WBC} \geq 10/\text{mm}^3$ 或 $\geq 3/\text{HPF}$)。
3. 未經離心之新鮮尿液，經革蘭氏染色檢查，在油鏡下發現有微生物。

且尿液培養出菌落數介於 $\geq 10^3/\text{ml}$ 及 $<10^5/\text{ml}$ ，且微生物不超過2種。

本文中所指的體溫是以「口溫」測得之數值表示之。

1.2 無症狀的菌尿症(Asymptomatic bacteriuria) (CODE: UTI-ASB) 之收案標準須

符合下列標準：

1. 不論病人在留取尿液培養時是否有留置導尿管，病人無任何症狀或徵象(如任何年齡的病人，沒有發燒($>38^{\circ}\text{C}$)、急尿、頻尿、解尿困難、恥骨上壓痛或肋脊角疼痛/壓痛，或 ≤ 1 歲之嬰兒，沒有發燒(肛溫 $>38^{\circ}\text{C}$)、低體溫(肛溫 $<36^{\circ}\text{C}$)、呼吸暫停、心跳徐緩、解尿困難、嗜睡、嘔吐)；且
2. 1套尿液培養之微生物菌落數 $\geq 10^5/\text{ml}$ ，且泌尿道致病原(uropathogen)不超過2種(泌尿道致病原包括：Gram-negative bacilli, Staphylococcus spp., yeasts, beta-hemolytic Streptococcus spp., Enterococcus spp., Gardnerella vaginalis, Aerococcus urinae, and Corynebacterium (urease positive))；且
1. 血液培養陽性，且培養出的微生物至少有一種與尿液培養出的泌尿道致病原相同。

1.3 其他之泌尿系統感染(Other infections of the urinary tract) (CODE: UTI-OUTI)

其他之泌尿系統感染，感染部位如腎臟、輸尿管、膀胱、尿道、後腹膜周圍組織或腎周圍組織，其收案標準至少須符合下列標準其中之一者：

標準一：從病人患處的體液(尿液除外)或組織培養出微生物。

標準二：經由直接檢視、手術過程或病理切片檢查發現有膿瘍或其他感染之證據者。

標準三：在沒有其他確認的原因下，至少有下列任二項症狀或徵象：發燒($>38^{\circ}\text{C}$)、局部疼痛、局部壓痛之症狀；且至少有下列任一項：

1. 病灶處有膿性引流物。

2. 血液培養出微生物，且與疑似感染之病灶處所培養出之微生物吻合。
3. 放射線學檢查(如超音波、電腦斷層、核磁共振、核醫掃描等)發現有感染之證據者。

標準四：≤1歲之嬰兒，在沒有其他確認的原因下，至少有下列任一項症狀或徵象：發燒(肛溫 $>38^{\circ}\text{C}$)、低體溫(肛溫 $<36^{\circ}\text{C}$)、呼吸暫停、心跳徐緩、嗜睡、嘔吐；且至少有下列任一項：

1. 病灶處有膿性引流物。
2. 血液培養出微生物，且與疑似感染之病灶處所培養出之微生物吻合。
3. 放射線學檢查(如超音波、電腦斷層、核磁共振、核醫掃描等)發現有感染之證據者。

2. 血流感染收案標準

2.1 檢驗證實之血流感染(Laboratory-confirmed bloodstream infection) (CODE: BSI-LCBI)

檢驗證實之血流感染之收案標準至少須符合下列標準其中之一者：

標準一：至少1套的血液培養出確認之致病原，且此致病原與其他感染部位無關。

標準二：

1. 在與其他感染部位無關的條件下，須有下列任一項症狀或徵象：發燒($>38^{\circ}\text{C}$)、寒顫、低血壓(收縮壓 $\leq 90\text{mmHg}$)；且
2. 至少2套不同時段之血液培養分離出皮膚上常見的微生物(如

diphtheroids 【*Corynebacterium* spp】, *Bacillus* 【not *B. anthracis*】 spp, *Propionibacterium* spp, coagulase-negative staphylococci 【including *S. epidermidis*】 , viridians group streptococci, *Aerococcus* spp或*Micrococcus* spp)。

標準三：

1. 在與其他感染部位無關的條件下， ≤ 1 歲之嬰兒具有下列任一項症狀或徵象：發燒(肛溫 $> 38^{\circ}\text{C}$)、低體溫(肛溫 $< 36^{\circ}\text{C}$)、呼吸暫停、心跳徐緩；且
2. 至少2套不同時段之血液培養分離出皮膚上常見的微生物(如 diphtheroids 【*Corynebacterium* spp】 , *Bacillus* 【not *B. anthracis*】 spp, *Propionibacterium* spp, coagulase-negative staphylococci 【including *S. epidermidis*】 , viridians group streptococci, *Aerococcus* spp或*Micrococcus* spp)。

2.2 臨床敗血症 (Clinical sepsis) (CODE: BSI-CSEP)

臨床敗血症之收案標準須符合下列標準：

≤ 1 歲之嬰兒，沒有其他確認的原因下，至少有下列任一項症狀或徵象：發燒($> 38^{\circ}\text{C}$)、低體溫($< 36^{\circ}\text{C}$)、呼吸暫停、心跳徐緩。且沒有做血液培養或血液培養陰性或血液微生物檢驗陰性；且其他部位未有明顯之感染；且醫生針對此敗血症給予抗生素治療。

3. 下呼吸道感染收案標準

3.1 依據臨床表現確認之肺炎(Clinically defined pneumonia) (CODE：PNU1)

標準一：依據臨床表現確認之肺炎必須同時符合下列放射線學檢查、症狀/徵象之條件：

1. 放射線學檢查：至少2次的胸部放射線影像有下列任一變化：

(1) 新產生或漸進性且持續的浸潤(infiltration)。

(2) 實質化(consolidation)。

(3) 形成空洞(cavitation)。

附註：如果病人沒有潛在的心肺疾病，僅有一張確定性的胸部X光亦可作為收案之依據。

2. 症狀/徵象：且至少有(1)的一項加上(2)的兩項：

(1)

a. 發燒($>38^{\circ}\text{C}$)且沒有其他確認之原因。

b. 白血球偏低($<4,000\text{ WBC}/\text{mm}^3$)或偏高($\geq 12,000\text{BC}/\text{mm}^3$)。

c. ≥ 70 歲的病人心智狀態改變且沒有其他確認的原因。

(2)

a. 新產生膿痰或痰液性狀改變或呼吸道的分泌物增加或需抽痰的次數增加。

b. 新發作的咳嗽或咳嗽加劇或呼吸困難或呼吸過快。

c. 濕囉音(rales)或支氣管音(bronchial sounds)。

d. 氣體交換障礙(如動脈氧氣飽合度下降【如 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 240$ 】或氧氣需求增加或換氣需求增加)。

標準二： ≤ 1 歲的嬰兒之肺炎收案標準必須同時符合下列放射線學檢查、症狀/徵象之條件：

1. 放射線學檢查：至少2次的胸部放射線影像有下列任一變化

(1) 新產生或漸進性且持續的浸潤(infiltration)。

(2) 實質化(consolidation)。

(3) 形成空洞(cavitation)。

(4) 肺泡擴大(pneumatoceles)。

附註：如果病人沒有潛在的心肺疾病，僅有一張確定性的胸部X光亦可作為收案之依據。

2. 症狀/徵象：且有氣體交換障礙(如動脈氧氣飽合度下降或氧氣需求增加或換氣需求增加)，以及下列至少任三項：

(1) 體溫不穩且沒有其他確認之原因。

(2) 白血球偏低($< 4,000 \text{ WBC/mm}^3$)或白血球偏高($\geq 15,000 \text{ WBC/mm}^3$)及左移($\geq 10\% \text{ band forms}$)。

(3) 新產生膿痰或痰液性狀改變或呼吸道的分泌物增加或需抽痰的次數增加。

(4) 呼吸暫停、呼吸過快、鼻翼煽動併胸壁內縮或呼吸有咕嚕音。

(5) 喘鳴(wheezing)、濕囉音(rales)或水泡音(rhonchi)。

(6) 咳嗽。

(7) 心跳徐緩($< 100 \text{ beats/min}$)或心跳過快($> 170 \text{ beats/min}$)。

標準三：1歲以上，12歲(含)以下兒童之肺炎收案標準必須同時符合下列放射線學檢查、症狀/徵象之條件：

1. 放射線學檢查：至少2次的胸部放射線影像有下列任一變化：

(1) 新產生或漸進性且持續的浸潤(infiltration)。

(2) 實質化(consolidation)。

(3) 形成空洞(cavitation)。

附註：如果病人沒有潛在的心肺疾病，僅有一張確定性的胸部X光亦可作為收案之依據。

2. 症狀/徵象：且須有下列至少任三項：

(1) 發燒($>38.4^{\circ}\text{C}$)或低體溫($<36^{\circ}\text{C}$)，且沒有其他確認之原因。

(2) 白血球偏低($<4,000\text{ WBC}/\text{mm}^3$)或偏高($\geq 15,000\text{ WBC}/\text{mm}^3$)。

(3) 新產生膿痰或痰液性狀改變或呼吸道的分泌物增加或需抽痰的次數增加。

(4) 新發作的咳嗽或咳嗽加劇或呼吸困難或呼吸暫停或呼吸過快。

(5) 濕囉音(rales)或支氣管音(bronchial sounds)。

(6) 氣體交換障礙(如動脈氧氣飽合度下降【如pulse oximetry $<94\%$ 】或氧氣需求增加或換氣需求增加)。

3.2 常見細菌或菌絲型黴菌感染及實驗室證實之肺炎(Pneumonia with common bacterial or filamentous fungal pathogens and specific laboratory findings) (CODE : PNU2)

常見細菌或菌絲型黴菌感染之肺炎必須同時符合下列放射線學檢查、症狀/徵象、實驗室檢查之條件：

1. 放射線學檢查：至少2次的胸部放射線影像有下列任一變化：

(1) 新產生或漸進性且持續的浸潤(infiltration)。

(2) 實質化(consolidation)。

(3) 形成空洞(cavitation)。

(4) ≤ 1 歲的嬰兒出現肺泡擴大(pneumatocoles)。

附註：如果病人沒有潛在的心肺疾病，僅有一張確定性的胸部X光亦可作為收案之依據。

2. 症狀/徵象：且至少有(1)的任一項加上(2)的任一項：

(1)

a. 發燒($> 38^{\circ}\text{C}$)且沒有其他確認之原因。

b. 白血球偏低($< 4,000 \text{ WBC/mm}^3$)或偏高($\geq 12,000 \text{ WBC/mm}^3$)。

c. ≥ 70 歲的病人心智狀態改變且沒有其他確認的原因。

(2)

a. 新產生膿痰或痰液性狀改變或呼吸道的分泌物增加或需抽痰的次數增加。

b. 新發作的咳嗽或咳嗽加劇或呼吸困難或呼吸過快。

c. 濕囉音(rales)或支氣管音(bronchial sounds)。

d. 氣體交換障礙(如動脈氧氣飽合度下降【如 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 240$ 】或氧氣需求增加或換氣需求增加)。

3. 實驗室檢查：且至少有下列任一項：

(1) 血液培養陽性且與其他部位感染無關。

(2) 肋膜液培養陽性。

(3) 以支氣管肺泡灌洗術(brocheoalveolar lavage)或保護性檢體刷取術

(PSB)等方式採檢下呼吸道幾未遭污染的檢體，經定量培養分離出的微生物數量，達表 3-1的閾值，具診斷上之意義。

(4) 以支氣管肺泡灌洗術的方式所取得之檢體，有 $\geq 5\%$ 之細胞內可以顯微鏡直接觀察(如革蘭氏染色)含有細菌。

(5) 病理組織學檢查至少發現下列任一項肺炎相關之證據：

a. 膿瘍形成或氣管、肺泡實質化之病灶有高密度之多核球(PMN)聚積。

b. 肺部組織定量培養分離出的微生物數量，達表 3-1的閾值，具診斷上之意義。

c. 肺部組織有被黴菌菌絲或假菌絲侵入之證據。

3.3 病毒、退伍軍人桿菌、披衣菌、黴漿菌和其他不常見之致病原感染且伴隨特定實驗室發現之肺炎(Pneumonia with viral, Legionella, Chlamydia, Mycoplasma, and other uncommon pathogens and specific laboratory findings) (CODE : PNU2) 病毒、退伍軍人桿菌、披衣菌、黴漿菌和其他不常見之致病原感染且伴隨特定實驗室發現之肺炎必須同時符合下列放射線學檢查、症狀/徵象、實驗室檢查之條件：

1. 放射線學檢查：至少2次的胸部放射線影像有下列任一變化：

(1) 新產生或漸進性且持續的浸潤(infiltration)。

(2) 實質化(consolidation)。

(3) 形成空洞(cavitation)。

(4) ≤ 1 歲的嬰兒出現肺泡擴大(pneumatoceles)。

附註：如果病人沒有潛在的心肺疾病，僅有一張確定性的胸部X光亦可作為收案之依據。

2. 症狀/徵象：且至少有(1)的任一項加上(2)的任一項：

(1)

a. 發燒($> 38^{\circ}\text{C}$)且沒有其他確認之原因。

b. 白血球偏低($< 4,000 \text{ WBC}/\text{mm}^3$)或偏高($\geq 12,000 \text{ WBC}/\text{mm}^3$)。

c. ≥ 70 歲的病人心智狀態改變且沒有其他確認的原因。

(2)

a. 新產生膿痰或痰液性狀改變或呼吸道的分泌物增加或需抽痰的次數增加。

b. 新發作的咳嗽或咳嗽加劇或呼吸困難或呼吸過快。

c. 濕囉音(rales)或支氣管音(bronchial sounds)。

d. 氣體交換障礙(如動脈氧氣飽合度下降【如 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 240$ 】或氧氣需求增加或換氣需求增加)。

3. 實驗室檢查：且至少有下列任一項：

(1) 從呼吸道的分泌物培養出病毒或披衣菌。

(2) 以酵素免疫分析法(EIA)、抗原利用抗體附著螢光染色法 (FAMA)、載玻片培養法(shell vial assay)或聚合酶連鎖反應(PCR)的方法自呼吸道的分泌物檢測出病毒的抗原或抗體。

- (3) 抗體四倍上升。
- (4) 披衣菌或黴漿菌的PCR檢測為陽性。
- (5) 披衣菌的micro-IF test呈陽性。
- (6) 呼吸道分泌物或組織的退伍軍人桿菌屬培養陽性或micro-IF test陽性反應。
- (7) 藉由放射免疫分析法(RIA)或酵素免疫分析法(EIA)檢測出病人尿液中退伍軍人桿菌第一型血清型之抗原陽性。
- (8) 藉由免疫螢光抗體測定法(IFA)檢測出急性期與恢復期之退伍軍人桿菌第一型血清型之抗體效價四倍上升至 $\geq 1:128$ 。

3.3 免疫不全病人之肺炎(Pneumonia in immunocompromized patients) (CODE : PNU3)

免疫不全病人之肺炎必須同時符合下列放射線學檢查、症狀/徵象、實驗室檢查之條件：

4. 放射線學檢查：至少兩次的胸部放射線影像有下列任一變化：

- (1) 新產生或漸進性且持續的浸潤(infiltration)。
- (2) 實質化(consolidation)。
- (3) 形成空洞(cavitation)。
- (4) ≤ 1 歲的嬰兒出現肺泡擴大(pneumatoceles)。

附註：如果病人沒有潛在的心肺疾病，僅有一張確定性的胸部X光亦可作為收案之依據。

5. 症狀/徵象：且至少有下列任一項：

- (1) 發燒($>38^{\circ}\text{C}$)且沒有其他確認之原因。
- (2) ≥ 70 歲的病人心智狀態改變且沒有其他確認的原因。
- (3) 新產生膿痰或痰液性狀改變或呼吸道的分泌物增加或需抽痰的次數增加。
- (4) 新發作的咳嗽或咳嗽加劇或呼吸困難或呼吸過快。
- (5) 濕囉音(rales)或支氣管音(bronchial sounds)。
- (6) 氣體交換障礙(如動脈氧氣飽合度下降【如 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 240$ 】或氧氣需求增加或換氣需求增加)。
- (7) 咳血。
- (8) 肋膜炎性的胸痛。

6. 實驗室檢查：且至少有下列任一項：

- (1) 血液和痰液培養出一致的*Candida* spp，但二種檢體的採檢時間間隔不超過48小時。痰液可經深度咳嗽、誘痰、抽吸或灌洗取得，定量、半定量或非定量的培養結果皆可，但以定量培養較佳。
- (2) 以支氣管肺泡灌洗術或保護性檢體刷取術等方式，從下呼吸道取得幾未遭污染的檢體，經直接顯微鏡檢視發現黴菌或肺囊蟲，或是黴菌培養陽性。

(3) 符合PNU2之其他實驗室檢查項目任何一項者。

4.外科部位感染收案標準

4.1 表淺切口之外科部位感染(CODE：SSI-SIP/SIS)

表淺切口之外科部位感染之收案標準必須符合下列條件：

1. 感染發生在手術後30天內；且
2. 影響範圍僅包括皮膚和皮下組織之切口；且
3. 至少有下列任一項：
 - (1) 表淺切口處有膿性引流物。
 - (2) 以無菌技術方法由表淺切口處取得之體液或組織，經培養分離出微生物者。
 - (3) 至少有下列任一項感染症狀：疼痛或壓痛、局部腫脹、紅、熱，且表淺切口經外科醫師蓄意打開並培養陽性或未做培養；但若切口處培養為陰性者則不符合此項標準。
 - (4) 外科醫師或其主治醫師診斷為表淺切口之外科部位感染者。

4.2 深部切口之外科部位感染(CODE：SSI- DIP/DIS)

深部切口之外科部位感染之收案標準必須符合下列條件：

1. 如果沒有植入物時，感染發生在手術後30天內；有植入物時，感染發生在手術後1年內；且感染與該手術有關；且
2. 感染範圍包括深部軟組織(如肌膜、肌肉層)之切口；且
3. 至少有下列任一項：

- (1) 深部切口處有膿性引流物，且引流物不是從手術部位之器官或腔室流出。
- (2) 深部切口自行裂開或由外科醫師蓄意將其打開且培養陽性，或未進行培養但病人至少有下列任一項症狀：發燒($>38^{\circ}\text{C}$)、局部疼痛或壓痛；但若切口之培養為陰性者則不符合這項標準。
- (3) 經由醫師直接檢視、再次手術、病理組織切片或者放射線影像學之檢查，發現深部切口有膿瘍或其他感染之證據者。

4.3 器官/腔室之外科部位感染(CODE：SSI-(specific site of organ/space))

器官/腔室之外科部位感染之收案標準必須符合下列條件：

1. 如果沒有植入物時，感染發生在手術後30天內；有植入物時，感染發生在手術後1年內；且感染與該手術有關；且
2. 感染範圍包括任何經由外科手術打開或者處理過的身體結構(皮膚切口、筋膜及肌肉層除外)；且
3. 具有下列任何一項者：
 - (1) 經由貫穿皮膚的切口置入該器官/腔室內的引流導管，引流出膿性引流物者。
 - (2) 以無菌方法由該器官/腔室取得之體液或組織，經培養分離出微生物者。
 - (3) 經由醫師直接檢視、再次手術、病理組織切片或者放射影像學之檢查，發現有該器官/腔室有膿瘍或者其他感染之證據者。
 - (4) 經外科醫師或其主治醫師診斷為該器官/腔室之外科部位感染者。

參考文獻：

1. Baraibar J, Correa H, Mariscal D, Gallego M, Valles J, Rello J. Risk factors for infection by *Acinetobacter baumannii* in intubated patients with nosocomial pneumonia. *Chest* 1997;112:1050-4.
2. Scerpella EG, Wanger AR, Armitige L, Anderlini P, Ericsson CD. Nosocomial outbreak caused by a multiresistant clone of *Acinetobacter baumannii*: results of the case-control and molecular epidemiologic investigations. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995;16:92-7.
3. Seifert H, Strate A, Pulverer G. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*. Clinical features, epidemiology, and predictors of mortality. *Medicine (Baltimore)* 1995;74:340-9.
4. Sunenshine RH, Wright MO, Maragakis LL, Harris AD, Song X, Hebden J, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter* infection mortality rate and length of hospitalization. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:97-103.
5. Joly-Guillou ML. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:868-73.
6. McGowan JE, Jr. Antimicrobial resistance in hospital organisms and its relation to antibiotic use. *Rev Infect Dis* 1983;5:1033-48.
7. Aygun G, Demirkiran O, Utku T, Mete B, Urkmez S, Yilmaz M, et al. Environmental contamination during a carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak in an intensive care unit. *J Hosp Infect* 2002;52:259-62.
8. Corbella X, Montero A, Pujol M, Dominquez MA, Ayats J, Arquerich MJ, et al. Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin*

- Microbiol 2000;38:4086-95.
9. Landman D, Quale JM, Mayorga D, Adedeji A, Vanqala K, Ravishankar J, et al. Citywide clonal outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in Brooklyn, NY: the preantibiotic era has returned. *Arch Intern Med* 2002;162:1515-20.
 10. Go ES, Urban C, Burns J, Kreiswirth B, Eisner W, Mariano N, et al. Clinical and molecular epidemiology of *Acinetobacter* infections sensitive only to polymyxin B and sulbactam. *Lancet* 1994;344:1329-32.
 11. Hsueh PR, Teng LJ, Chen CY, Chen WH, Yu CJ, Ho SW, et al. Pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2002;8:827-32.
 12. Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydna E, Lal H, Quale J. Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis* 2000;31:101-6.
 13. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:538-82.
 14. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Pandrug resistance (PDR), extensive drug resistance (XDR), and multidrug resistance (MDR) among Gram-negative bacilli: need for international harmonization in terminology. *Clin Infect Dis* 2008;46:1121-2; author reply 2.
 15. Bou G, Cervero G, Dominguez MA, Quereda C, Martinez-Beltran J. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the

- presence of beta-lactamases. J Clin Microbiol 2000;38:3299-305.
16. Fernandez-Cuenca F, Martinez-Martinez L, Conejo MC, Ayala JA, Perea EJ, Pascual A. Relationship between beta-lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 2003;51:565-74.
 17. Quale J, Bratu S, Landman D, Heddurshetti R. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* endemic in New York City. Clin Infect Dis 2003;37:214-20.
 18. Boo TW, Walsh F, Crowley B. First report of OXA-23 carbapenemase in clinical isolates of *Acinetobacter* species in the Irish Republic. J Antimicrob Chemother 2006;58:1101-2.
 19. Coelho JM, Turton JF, Kaufmann ME, Glover J, Woodford N, Warner M, et al. Occurrence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clones at multiple hospitals in London and Southeast England. J Clin Microbiol 2006;44:3623-7.
 20. Jeon BC, Jeong SH, Bae IK, Kwon SB, Lee K, Young D, et al. Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 beta-lactamase in Korea. J Clin Microbiol 2005;43:2241-5.
 21. Jeong SH, Bae IK, Park KO, An YJ, Sohn SG, Jang SJ, et al. Outbreaks of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing carbapenemases in Korea. J Microbiol 2006;44:423-31.
 22. Koh TH, Sng LH, Wang GC, Hsu LY, Zhao Y. IMP-4 and OXA beta-lactamases in *Acinetobacter baumannii* from Singapore. J Antimicrob Chemother 2007;59:627-32.
 23. Marque S, Poirel L, Heritier C, Brisse S, Blasco MD, Filip R, et al. Regional

- occurrence of plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-58 in *Acinetobacter* spp. in Europe. J Clin Microbiol 2005;43:4885-8.
24. Turton JF, Kaufmann ME, Glover J, Coelho JM, Warner M, Pike R, et al. Detection and typing of integrons in epidemic strains of *Acinetobacter baumannii* found in the United Kingdom. J Clin Microbiol 2005;43:3074-82.
 25. Zhou H, Pi BR, Yang Q, Yu YS, Chen YG, Li LJ, et al. Dissemination of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains carrying the ISAba1 blaOXA-23 genes in a Chinese hospital. J Med Microbiol 2007;56:1076-80.
 26. Santillana E, Beceiro A, Bou G, Romero A. Crystal structure of the carbapenemase OXA-24 reveals insights into the mechanism of carbapenem hydrolysis. Proc Natl Acad Sci U S A 2007;104:5354-9.
 27. Poirel L, Marque S, Heritier C, Segonds C, Chabanon G, Nordmann P. OXA-58, a novel class D beta-lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2005;49:202-8.
 28. Peleg AY, Bell JM, Hofmeyr A, Wiese P. Inter-country transfer of Gram-negative organisms carrying the VIM-4 and OXA-58 carbapenem-hydrolysing enzymes. J Antimicrob Chemother 2006;57:794-5.
 29. Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM, et al. The role of ISAba1 in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. FEMS Microbiol Lett 2006 May;258:72-7.
 30. Heritier C, Poirel L, Fournier PE, Claverie JM, Raoult D, Nordmann P. Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2005;49:4174-9.
 31. Heritier C, Poirel L, Lambert T, Nordmann P. Contribution of acquired carbapenem-hydrolyzing oxacillinases to carbapenem resistance in

- Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2005;49:3198-202.
32. Mazel D. Integrons: agents of bacterial evolution. Nat Rev Microbiol 2006;4:608-20.
 33. Kraniotaki E, Manganelli R, Platsouka E, Grossato A, Paniara O, Palu G. Molecular investigation of an outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, with characterisation of class 1 integrons. Int J Antimicrob Agents 2006;28:193-9.
 34. Gaur A, Prakash P, Anupurba S, Mohapatra TM. Possible role of integrase gene polymerase chain reaction as an epidemiological marker: study of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from nosocomial infections. Int J Antimicrob Agents 2007;29:446-50.
 35. Rojas L, Vinuesa T, Tubau F, Truchero C, Benz R, Vinas M. Integron presence in a multiresistant *Morganella morganii* isolate. Int J Antimicrob Agents 2006;27:505-12.
 36. Huang LY, Chen TL, Lu PL, Tsai CA, Cho WL, Chang FY, et al. Dissemination of multidrug-resistant, class 1 integron-carrying *Acinetobacter baumannii* isolates in Taiwan. Clin Microbiol Infect 2008;14:1010-9.
 37. Chiu CH, Lee HY, Tseng LY, Chen CL, Chia JH, Su LH, et al. Mechanisms of resistance to ciprofloxacin, ampicillin/sulbactam and imipenem in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Taiwan. Int J Antimicrob Agents 2010;35:382-6.
 38. Lin MF, Chang KC, Yang CY, Yang CM, Xiao CC, Kuo HY, et al. Role of integrons in antimicrobial susceptibility patterns of *Acinetobacter baumannii*. Jpn J Infect Dis 2010;63:440-3.
 39. Sheng WH, Wang JT, Lu DC, Chie WC, Chen YC, Chang SC. Comparative impact of hospital-acquired infections on medical costs, length of hospital stay

- and outcome between community hospitals and medical centres. *J Hosp Infect* 2005;59:205-14.
40. 行政院衛生署疾病管制局. 醫療照護相關感染監測定義. 2 ed: 行政院衛生署疾病管制局
<http://www.cdc.gov.tw/ct.asp?xItem=15825&ctNode=1887&mp=1>, 2009.
41. Roe MT, Vega E, Pillai SD. Antimicrobial resistance markers of class 1 and class 2 integron-bearing *Escherichia coli* from irrigation water and sediments. *Emerg Infect Dis* 2003;9:822-6.
42. Kaufmann ME, Pitt TL. Pulsed-field gel electrophoresis of bacterial DNA. In : Henrik Chart, editor. *Methods in practical laboratory bacteriology*. CRC Press, Boca Raton, Fla ; 1994 : 83-92.
43. 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. *J Clin Microbiol* 1995;33:2233-9.
44. Park YS, Lee H, Lee KS, Hwang SS, Cho YK, Kim HY, et al. Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors for acquisition and prevalent OXA-type carbapenemases--a multicentre study. *Int J Antimicrob Agents* 2010;36:430-5.
45. Pankey GA. Tigecycline. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:470-80.
46. Chuang YC, Sheng WH, Li SY, Lin YC, Wang JT, Chen YC, et al. Influence of genospecies of *Acinetobacter baumannii* complex on clinical outcomes of patients with *Acinetobacter* bacteremia. *Clin Infect Dis* 2011;52:352-60.
47. Denton M, Wilcox MH, Parnell P, Green D, Keer V, Hawkey PM, et al. Role of environmental cleaning in controlling an outbreak of *Acinetobacter baumannii*

- on a neurosurgical intensive care unit. *J Hosp Infect* 2004;56:106-10.
48. Guh A, Carling, P. Options for Evaluating Environmental Cleaning. CDC <http://www.cdc.gov/HAI/toolkits/Evaluating-Environmental-Cleaning.html>, 2010.
 49. Chang CY, Chang LL, Chang YH, Lee TM, Chang SF. Characterisation of drug resistance gene cassettes associated with class 1 integrons in clinical isolates of *Escherichia coli* from Taiwan, ROC. *J Med Microbiol* 2000;49:1097-102.
 50. Koeleman JG, Stoof J, Van Der Bijl MW, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. Identification of epidemic strains of *Acinetobacter baumannii* by integrase gene PCR. *J Clin Microbiol* 2001;39:8-13.
 51. Brown S, Amyes S. OXA (beta)-lactamases in *Acinetobacter*: the story so far. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:1-3.
 52. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents* 2006;27:351-3.