

台灣腸內菌屬細菌的廣效性乙內醯胺酶出現新的CTX-M基因型

徐麒洋¹、廖辰軒¹、林鴻圖²、吳瑞裕³、林秀真²、陳怡光⁴

臺北縣立醫院 三重院區 臨床病理科¹、臺北醫學大學附設醫院 實驗診斷科²、
臺北醫學大學 醫學系生化學科³、臺北縣立醫院 三重院區 泌尿科

Objectives

具有廣效性乙內醯胺酶(ESBL)的菌株會分解 Penicillin類和第一代到第三代的Cephalosporin類的抗生素，最後只能用到Carbapenem類的抗生素才能治療。而造成ESBL的抗藥性基因是由質體(plasmid)所攜帶的且會產生新突變而持續地演化並在病人之間傳播，目前已成為全球各級醫療照護機構的棘手問題。ESBL的存在主要是以腸內菌屬為主，特別是以*K. pneumoniae*和*E. coli*菌為多。ESBL的九種基因型中目前以CTX-M基因型為盛行率最高的。根據基因序列的不同，又把CTX-M基因型的廣效性乙內醯胺酶分成五類族群，共有八十多種CTX-M次族群。因呼吸照護病房的病人免疫力差，兼有多種慢性病、而且大多身上帶有呼吸器、導尿管、鼻胃管等侵襲性醫療管路，並在各大醫學中心及醫院間轉院頻繁，為細菌感染的高危險族群。所以我們想研究在台灣地區這類病人是否已出現有新的CTX-M基因型？

Methods

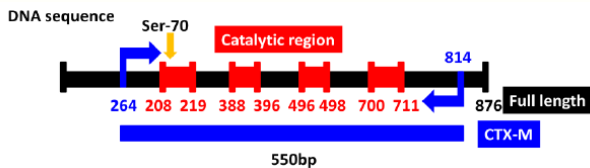
此研究時間為95年9月至96年3月，收集台北縣二家呼吸照護病房醫院的疑似尿道感染病人之尿液檢體，共收集109名病人的240個檢體。以Phoenix自動鑑定儀做細菌鑑定後，再依CLSI的雙紙錠擴散測驗法(Double disk diffusion test)確認ESBL的存在。用PCR方法先測定CTX-M的存在(Primer: CTX-MA 與CTX-MB)，共發現全體腸內菌種有71.88%具有CTX-M型的ESBL。再使用CTX-M multiple primers (CTX-M-1、CTX-M-2、CTX-M-8、CTX-M-9、CTX-M-25)偵測五種次族群。利用DNA序列的比對，使用Invitrogen軟體中的Align X去比對定序，與NCBI現存的基因型去做比對。

Results

共發現到兩個新型的CTX-M ESBL基因型。

第一類新型為：(Glu)E274Q(Gln)；

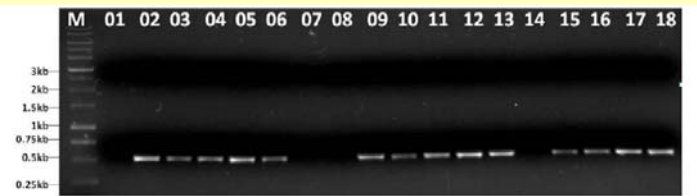
第二類新型為：(Pro)P18L(Leu)，(Ala)A273P(Pro)，(Glu)E274K(Lys)，(Ser)S275R(Arg)，(Arg)R276A(Ala)，(Arg)R277P(Pro)，(Val)V279L(Leu)。



CTX-MA、CTX-MB 這一組 primer 放大 CTX-M 基因的位置

Target gene	Primer name	Primer sequence(5'-3')	Position	Product size(bp)	Annealing temp(°C)
CTX-M	CTX-M-A	CGTTTGCGATGTGCG	264-280	550	55.0
	CTX-M-B	ACCGGATATCGTTGGT	814-798		
CTX-M multiple	CTX-M1mF	AAAAATCACTGGCCAGTTC	21202-21221	415	52.0
	CTX-M1mR	AGCTTATCATGCCACGTT	20807-20826		
	CTX-M2mF	GGACGCTACCCCTGCTATT	49-67		
	CTX-M2mR	CCAGCGTCAGATTTTTCAGG	581-600		
	CTX-M8mF	TCGCGTTAAGCGGATGATGC	285-304		
	CTX-M8mR	AACCCACGATGTGGGTAGC	954-973		
	CTX-M9mF	CAAGAGAGTGTCAACGGATG	6343-6364		
	CTX-M9mR	ATTGGAAGCGTTTCAACC	6528-6547		
	CTX-M25mF	GCAGGATGACATTCGGG	2673-2689		
	CTX-M25mR	AACCCACGATGTGGGTAGC	954-973		

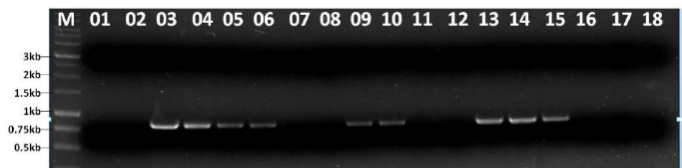
偵測 CTX-M 基因所用的 PCR 引子 (primers)



CTX-M PCR product 之電泳膠圖



Invitrogen 軟體中的 Align X 比對定序後得到的 DNA 序列



CTX-M-9 PCR product 之電泳膠圖

Conclusion

由此研究得知，因國內的細菌之抗藥性顯然高於其他國家，可能有新浮現的抗藥性基因需要大家去發掘。