

Vancomycin 和其他 glycopeptides 抗藥性金黃色葡萄球菌之危機

Vancomycin 和其他 glycopeptides 抗藥性金黃色葡萄球菌之危機

柯如娟¹ 葉國明^{1,2} 彭銘業^{1,2} 張峰義^{1,2}

三軍總醫院 1 院內感染管制委員會 2 內科部感染科

前 言

在美國，大約有 20% 社區與院內感染菌血症由金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*; *S. aureus*)所造成[1]；國內以三軍總醫院 1996 年至 2001 年的統計為例，院內感染菌血症中金黃色葡萄球菌佔 19.6%，顯示此菌在院內感染所扮演之重要角色。然而，自其對 penicillin 產生高程度抗藥性，到對半合成 penicillin(如：methicillin、nafcillin、oxacillin)、macrolides、tetracyclines 和 aminoglycosides 等藥物產生抗藥性的當前，抗生素對金黃色葡萄球菌的治療儼然成為艱鉅的課題。1961-1980 年代開始，由於抗藥性金黃色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA)的盛行，vancomycin 成為經驗療法的首選藥物，在大量使用 vancomycin 的選擇性壓力下，金黃色葡萄球菌和其他葡萄球菌對 vancomycin 及其他 glycopeptides 感受性降低的抗藥性菌株就此衍生。1997 年日本報告全世界第一個被証實為 vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA)的感染個案[1]，2002 年美國亦報告一例確定為 vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*(VRSA)的個案[6]，這表示抗生素治療的黑暗時代已拉起序幕。台灣目前尚未發現對 vancomycin 具抗藥性的金黃色葡萄球菌菌株，但是如何防治 VRSA 與及時的偵測以防止散播，是所有從事感染管制醫護人員應提早正視的課題。

定 義

依據 National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS)對金黃色葡萄球菌 vancomycin 感受性試驗結果的定義，若最小抑制濃度(minimal inhibitory concentration; MIC) $<4 \mu\text{g/mL}$ 稱之為具感受

性(susceptible)；MIC 介於 8-16 μ g/mL 稱之為 intermediate；MIC>32 μ g/mL 則稱之為具抗藥性(resistant)。另一方面，teicoplanin 感受性試驗結果 MIC<8 μ g/mL 稱之為具感受性；MIC 等於 16 μ g/mL 稱之為 intermediate；MIC>32 μ g/mL 則稱之為具抗藥性[3]。因分類上 vancomycin 與 teicoplanin 皆歸為 glycopeptides 類抗生素，NCCLS 也定義該類抗藥性金黃色葡萄球菌的菌株為 VRSA/GRSA(glycopeptides-resistant S. aureus)，所以就學術角度而言，GRSA 是比較準確的簡稱，然而目前臨床上仍以 VRSA 之名稱較廣為使用。

目前國際間對 VRSA 的認定有不同之標準。以美國 NCCLS 與法國 CA-SFM 而言，分離菌株對 vancomycin 或 teicoplanin 的 MICs>32 μ g/mL 稱之為 VRSA，然而依據英國抗微生物化學治療學會(BSAC)的標準，當菌株對 vancomycin MICs>8 μ g/mL，便可稱之為 VRSA[1](如表一)。

在日本，S. aureus 培養於添加 vancomycin(4 μ g/mL)的 brain heartinfusion (BHI)培養基經 24 小時的培養，再利用 vancomycin broth microdilution 測試結果 MIC=8 μ g/mL，則稱為 VRSA[4,12]；MIC<4 μ g/mL，則稱為 heteroresistant VRSA 或是 hetero-VRSA[4]。1997 年日本所報告之第一例 VRSA；S. aureus Mu50(vancomycin MIC=8 μ g/mL，依 NCCLS 定義應稱為 VISA)，然而，日本學者 Hiramatsu 等人認為該個案臨床上對 vancomycin 的治療皆呈抗性，所以，應視 S. aureus Mu50 為 VRSA[12]。

目前 hetero-VRSA 的標準檢測方法尚未有定論，1996 年日本所報告之第一例 hetero-VRSA，其原型為 S. aureus Mu3 (於 broth microdilution 標準檢測方法下) MIC 為 1-2 μ g/mL[13]。然而文獻中提到 hetero-VRSA 的報告菌株常從添加 vancomycin 的培養基中所挑選出，而非來自原始的分離菌，再經 broth microdilution 檢測所得。就此情形 Howe 等人提出評論，這樣的過程容易造成實驗室選擇而非篩檢出真正原始的抗藥性菌株[5]。

Vancomycin 抗藥性與特性

Vancomycin 與 teicoplanin 皆為 glycopeptides 類之藥物，作用機轉在與細菌的 murein 單體上 peptidoglycan 的 carboxy 端之 D-alanyl-D-alanine 殘基結合[14]。與 glycopeptide 結合的 murein 單體就無法併入初期合成的 peptidoglycan，如此在 glycopeptide 抗生素存在時，peptidoglycan 的合成就被

抑制了。爲了產生抗菌活性，glycopeptide 必須穿越細菌細胞壁內 20 層左右的 peptidoglycan，到達進行 transglycosylation 的細胞膜[14,15]。但是，單一的金黃色葡萄球菌的細胞壁上，依估計就有 10⁷ 個 vancomycin 結合位[15]，此結合位很可能是 PBP 在進行 transglycosylation 時未切除的 D-alanyl-D-alanine 殘基。所以，可預期許多 vancomycin 分子於到達主要活性作用處前就陷在於金黃色葡萄球菌之細胞壁中了。

VRSA 菌株 Mu50 與 hetero-VRSA 菌株 Mu3 之抗藥機轉，目前認爲與 peptidoglycan 的過度合成有關[16]。Mu50 與 Mu3 皆有 N-acetylglucosamine 加入細胞壁增加與細胞質中 murein 單體前趨物增加之情況[16]，但兩者之間就程度上之比較，Mu50 又更甚於 Mu3。除了 N-acetylglucosamine 的加入外，D-glucose 加入細胞壁的速率上，Mu50 也比 Mu3 高出許多倍。此外，於穿透式電子顯微鏡下觀察 Mu50 細胞壁之增厚程度至少爲 Mu3 與 vancomycin-susceptible *S. aureus* (VSSA) 菌株的 2 倍 [17]。Mu50 細胞壁藉由 PBPs 的作用形式交互鍵結的程度比較低，可以解釋爲何單位重量的 peptidoglycan，Mu50 網羅 vancomycin 分子之情形爲 VSSA 的 1.9-2.4 倍。而 Mu3 則是介於 Mu50 與 VSSA 之間。

研究發現，Mu50 與 Mu3 中 PBP2 與 PBP2' 的產量，爲一般 VSSA 的 3-8 倍[16]。然而 PBP2' 過量生產對於 vancomycin 的抗藥性助益不大，因爲失去 *mecA* 基因不會影響 vancomycin 的抗藥性；相反地，PBP2 過度的生產卻可提高 vancomycin 與 teicoplanin 的抗藥性，尤其是 teicoplanin[16]。根據實驗室中的觀察藉由植入基因質體使 PBP2 過度表現的金黃色葡萄球菌，其 teicoplanin 的 MIC 由 1 提高至 8 μ g/mL；vancomycin 的 MIC 由 1 提高至 2 μ g/mL[16]。

依據上述觀察，推測抗藥性機轉如下：Mu50 增厚之細胞壁及結合 vancomycin 能力的加強，藉由網羅 vancomycin 於細胞壁中，使 vancomycin 分子無法抵達細胞質膜。而且因爲 murein 單體的過度製造，需要更多的 vancomycin 分子才能抑制 Mu50 細胞壁的生成。

流行病學

VISA 感染的案例已在日本、美國、法國、德國等國報告，大部份自先前 MRSA 感染個案中分離出。Hetero-VRSA 則在西班牙、香港、蘇格蘭、德國、希臘等等國家皆有文獻報告，大部份菌株來自回溯性調查並採 BHI 培養基(內含 vancomycin=4-90 子 g/mL)；以埃及分離出的 Hetero-VRSA 爲例，其實早在 1981 年已分離出，但直到 1998 年才進一步鑑定爲 Hetero-VRSA[1]。

目前美國所發現的個案皆接受定期洗腎的醫療處置，有些先前感染 MRSA 的個案因腹膜炎、血流或侵入性裝置引起之感染，而長期或反覆使用 glycopeptides 類之藥物，爾後分離出的 VISA 菌株經脈衝凝膠電泳法(pulse-field gel electrophoresis; PFGE)鑑定與先前感染 MRSA 菌株有相同的基因型[9]。

然而單一 MIC 檢測模式並不足以正確的去發現所有 VISA/GISA 菌株，目前美國疾病管制局 (Centers for Disease Control and Prevention; CDC) 採用三種標準檢測方式，分別為：broth microdilution, vancomycin MICs > 8-16 μ g/mL、E-test (AB Biodisk, Piscataway, NJ), vancomycin MICs > 6 μ g/mL 於添加 6 μ g/mL vancomycin 的 BHI 瓊脂培養基內培養 24 小時。

培養過程中，實驗室應確定菌株經純化的培養與再確認其菌屬與菌種，並重覆抗生素感受性試驗檢測 vancomycin 最低抑制濃度(MIC)，若鑑定出的菌種與 vancomycin 感受性試驗結果一致，在美國規定應與 CDC 聯絡，在國內目前尚無相關規定。

實驗室的篩檢

1. 雖然 NCCLS 提出可利用 disk-diffusion 的標準偵測方法來檢測 vancomycin 的感受性，然而 disk-diffusion 的敏感性卻無法全然地去偵測 vancomycin 感受性下降的 staphylococci，所以不應列入常規檢測 staphylococci 的方式。

2. 目前最正確的檢測 staphylococci 抗生素感受性試驗是最低抑制濃度(MIC)的方式如：broth dilution, agar dilution 或 agar-gradient dilution，經 24 小時的培養而得之結果。

3. 實驗室應確定菌株經純化的培養與再確認其菌屬與菌種，並重覆抗生素感受性試驗檢測 vancomycin 最低抑制濃度(MIC)。

4.重覆的試驗結果若鑑定出的菌種與 vancomycin 感受性試驗結果一致，在美國規定應與疾病管制局(Centers for Disease Control and Prev-ention; CDC)聯絡，在國內目前尚無相關規定。

臨床感染管制措施與流程管理

台灣目前仍未分離出 VISA/VRSA 之菌株，但若實驗室分離出 VISA/VRSA 之菌株，建議之感染管制措施如下：

一、隔離措施

- 1.對於所有證實 VISA/VRSA 移生/感染個案應嚴格執行接觸隔離措施及標準防護措施。
- 2.隔離措施執行之前，所有工作人員、同病房其他病患、接觸者應做鼻腔及手部培養，以建立基準細菌培養資料，確定此感染是否已經散播。
- 3.登錄所有進出該隔離病室人員名單，以備日後採檢鼻腔檢體之依據。
- 4.病患鼻腔與先前感染部位之培養皆為陰性始可解除隔離。

二、病房配置

證實 VISA/VRSA 移生/感染個案需住進單人房間或分區集中同一房間照護。

三、隔離衣

所有進入病室之人員均應穿上隔離衣。

四、手套

所有進入病室之人員強制戴上拋棄式清潔手套。照護過程中若手套遭到污染(例如：個案的血液、體液、分泌物……)應重新更換手套才能接觸清潔部位。離開病室前脫除手套、隔離衣後以消毒性洗手液洗手(例如：4%chlorhexidine 或含酒精成份的消毒性洗手液)。

五、手部衛生

- 1.嚴格執行洗手技術。
- 2.工作人員及訪客照護病患後、脫除手套後與離開病室時皆嚴格規定以消毒性洗手劑洗手。
- 3.設置拋棄式擦手紙，以便洗手後擦乾雙手。洗手檯以感應式為佳，若為一般水龍頭開關裝置之洗手檯時，洗手後應以擦手紙包住水龍頭關閉之。
- 4.接觸病患體液、分泌物、排泄物及其他污染物不論是否已經戴上手套，皆應洗手。
- 5.近來有研究顯示使用乾式消毒洗手液(添加酒精成份)之效果與洗手液相同。然而若已確知遭到污染時，並不建議用以取代消毒性洗手液。

六、口罩、眼罩

執行可能引發飛沫傳染時；例如：抽痰、支氣管鏡檢、誘痰、蒸氣吸入治療等等措施，應戴口罩及防護眼罩。

七、工作人員

1.限制工作人員照護 VISA/VRSA 移生/感染病患的人數。

2.工作人員高危險群；例如：感染皮膚炎者、洗腎患者、使用 insulin 注射的患者、免疫不全者或曾有金黃色葡萄球菌鼻腔帶菌之過去病史者不宜照顧此類 VISA/VRSA 移生/感染病患。

3.照護人員應每二週追蹤鼻腔 VISA 培養直到病患解除隔離。

4.鼻腔帶菌期間不應再照護其他病患；鼻腔帶菌者可使用 mupirocin 軟膏塗抹，一天兩次，連續五天；完成療程後 3 天與 5 天應該再作鼻腔培養[11]。

(1)兩次培養結果皆為陰性，則可解除照護限制。

(2)兩次培養結果皆為陽性，則工作人員應持續 mupirocin 軟膏之療程。

(3)兩次培養結果其中一次為陽性者，應接受第三次鼻腔培養，若第三次仍為陽性則同上(b)處理；若為陰性則可解除照護限制。

八、設備與儀器

- 1.VISA/VRSA 感染或移生病患須有專屬聽診器、血壓計、體溫計、輪椅、點滴架。
- 2.VISA/VRSA 感染或移生病患之醫療處置、診斷與治療儘量於隔離室內執行；離開病室之所有儀器設備皆須立即以 1:10 漂白水徹底擦拭消毒。
- 3.VISA/VRSA 感染或移生病患合併肺炎需使用呼吸機者，須於呼吸管路之吐氣端加入過濾器(filter)或集水瓶(condensate trap)之裝置。
- 4.VISA/VRSA 感染或移生病患合併尿毒症需洗腎治療時應於隔離室內完成，若為門診洗腎病患則應安排於當日最後一檯，並於其他病患分隔的特定區域中，由固定工作人員為其服務。

九、環境清潔

- 1.污染物應丟棄於感染性廢棄物垃圾袋內，並於病室內包裹完成後集中處理。
- 2.具傳染性之布單、衣物應放入雙層黃色標示“感染性事業廢棄物”塑膠袋內，再放入污衣車。
- 3.每日常規 1:10 漂白水徹底清潔環境表面；1:100 漂白水清潔地面。抹布不可與其他病室共用，用畢置感染性垃圾袋丟棄。
- 4.病患出院後，丟棄所有可拋棄式用物，病室需作終期消毒及環境採檢，待結果確定為陰性始可收容病患。

十、實驗室感染管制措施

1.無論檢體之來源，實驗室應採全面防護措施；醫檢人員應戴手套處理檢體，事後嚴格規定以消毒性洗手劑洗手。

2.所有 VRSA 感染個案之檢體應以夾鍊袋立即運送至實驗室之生物安全防護箱中，直到檢體被接種至培養基。

3.切勿依循一般檢體輸送流程堆滯於檢體收集站。

4.實驗室技術人員種菌前應檢視送驗單需求，排除不必要的 VRSA 培養過程。

5.檢體接種應由兩個人操作，技術人員甲操作生物安全防護操作箱，技術人員乙從旁協助。

6.生物安全防護操作箱內應備：

(1)填充消毒液(70%酒精)的噴霧槍。

(2)填充消毒液(70%酒精)的燒杯以浸泡拋棄式的接種環(loops)。

(3)備厚質、乾淨的生物安全防護袋，以收納可拋棄的檢體與其他廢棄物。

(4)準備乾淨的檢體袋，以用來包裹接種好的培養皿。

(5)接種的數量如非必要，儘可能的減少。

7.接種的過程中，所有接種後的培養皿應迅速放入檢體袋中，並加以密封，於袋子的外緣噴灑消毒液，並以紙巾擦拭乾淨後，由技術人員乙持著沒有催化劑及會產生氣體的厭氧瓶接下技術人員甲自生物安全防護操作箱中密封好的檢體袋，封瓶迅速放入細菌培養機中。

8.完成接種工作後，技術人員甲應以消毒劑噴灑生物安全防護操作箱的工作檯面、側邊與玻璃窗，待十分鐘後再以 70%酒精擦拭所有表面的消毒液殘留物。

9.上述過程所有的廢棄物及剩下檢體應丟入生物安全防護袋中，由技術人員甲於箱內密封後，由技術人員乙持著另一生物安全防護袋接下已密封好生物安全防護袋，並再一次密封後送高壓蒸氣鍋滅菌 30 分鐘(所有進入生物安全防護操作箱的物質取出時應再一次被包裹與密封)。

十一、針對醫院各單位間之聯繫流程，建議 **Vancomycin 敏感性降低之金黃色葡萄球菌感染管制流程**如次頁所示。

十二、群突發的控制

1.詳查所有工作人員接觸疑似或確定罹患 GISA/GRSA 病患之流病關聯。

2.感染管制人員應追蹤、厲行絕對接觸隔離與其他相關感染管制措施。

3.VISA/VRSA 個案應有固定照護人員。

4.實驗室應將菌株保留於-70°C的凍箱中。

5.所有相同病房之其他患者應詳查鼻腔和開放性傷口的培養，並暫時安置於隔離區內。

6.展開流行病學研究；焦點放在收集及追蹤 VISA/VRSA 個案之訊息；

(1)單位中病患的動線(之前和之後的分區)。

(2)記錄病患最原始到最近住院之日期。

(3)轉床或自其他急性/慢性機構轉入的日期與單位。

(4)該 VISA/VRSA 個案之照護人員最近於單位中接觸過的病患名單。

(5)VISA/VRSA 感染/移生的部位。

(6)給予病患的治療過程。

7.避免 VISA/VRSA 感染/移生個案轉床或轉病房，假如轉出是必要的，則須交班予收容機構或單位 VISA/VRSA 感染/移生個案之情況與特有的防護。

結 語

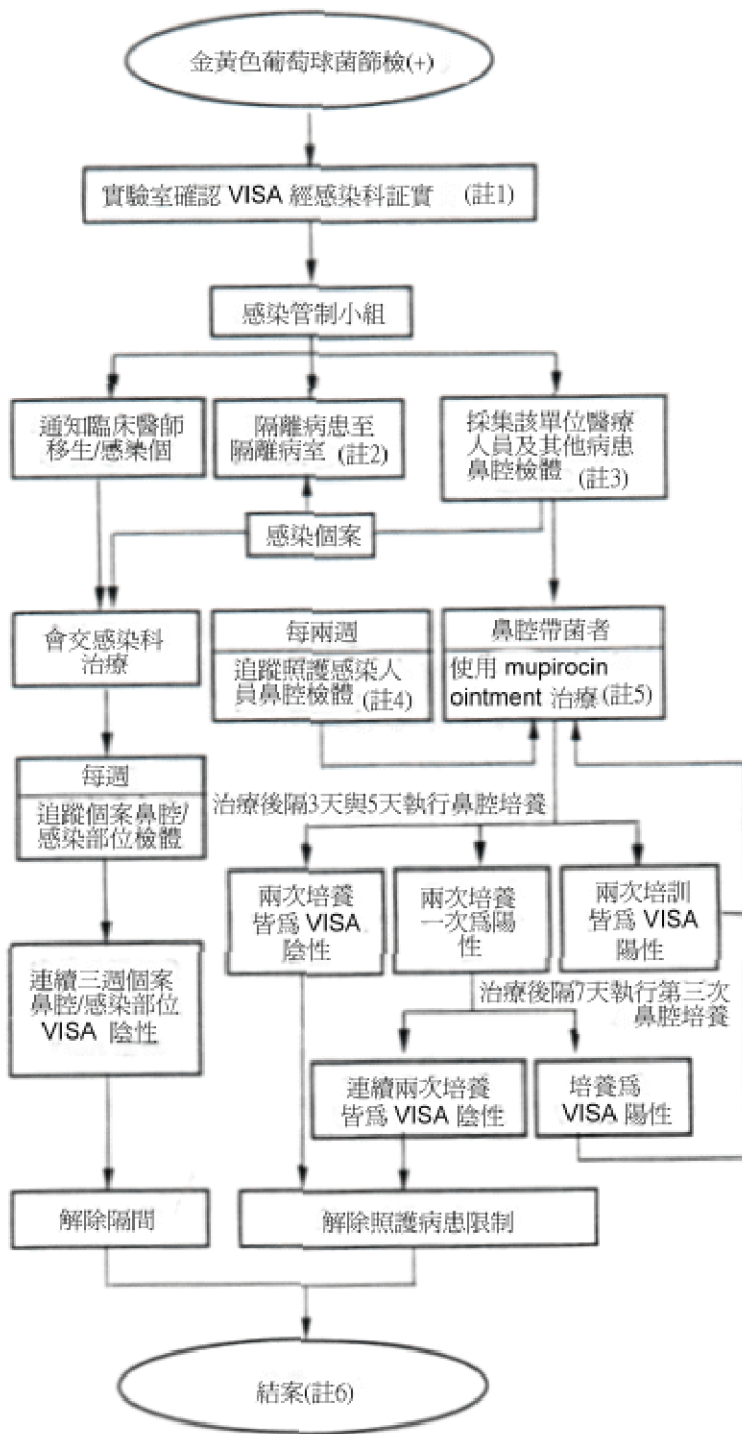
「物競天擇，適者生存」，細菌在抗生素濫用的大環境下，得以萃煉精選出超級抗藥性菌株，人類若一直沉醉於發明新一代抗生素來當作武器的迷思中，抗藥性菌株代代反撲人類的問題將無法解決。唯有醫藥界慎用抗生素與畜牧業管制濫用抗生素的問題，抗藥性細菌的問題才能有效的控制。

表一 國際間使用於金黃色葡萄球菌對 Vancomycin 感受性之報告標準

機構	對 Vancomycin 感受性之報告標準 ($\mu\text{g/mL}$)			
	Susceptible	Intermediate	Resistant	Hetero-VRSA
NCCLS	≤ 4	8-16	≥ 32	—
CA-SFM	≤ 4	8-16	≥ 32	—
BSAC	≤ 4	-----	≥ 8	—
日本	-----	-----	8	≤ 4

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards; CA-SFM: Comite' de l'Antibiogramme de la Societe Francaise Microbiologie; BSAC: British Society for Antimicrobial Chemotherapy. 摘自參考文獻 [1]

Vancomycin 感受性降低之金黃色葡萄球菌感染管制流程：



(註1) NCCLS breakpoint :
Vancomycin-intermediate S. aureus
MIC=8~16 µg/mL

(註2) *管制人員進出，進入病室人員均應穿戴清潔手套、口罩、隔離衣；離開病室前脫掉手套、隔離衣，並用消毒洗手液（4% chlorhexidine）洗手。
*採一對一或分區照顧。
*工作人員感染皮膚炎者不宜照顧此類病患。
*病人須有專屬聽診器、血壓計、體溫計、輪椅、點滴架。
*每天以 1:10 漂白水徹清潔環境表； 1:100 漂白水清潔地面。
*具傳染性之布單、衣物應放入雙層黃色標示“感染性事業廢棄物”塑膠袋內，再放入污衣車。

(註3) 群突發
*定義：2-3 個病患於同一病房發生移生/感染之情況應懷疑群突發。
*懷疑群突發時實驗室應保留菌株，置於恆溫-70℃的冰箱中。

(註4) *照護人員應每二週追蹤鼻腔 VISA 培養直病患解除隔離。

(註5) *鼻腔帶菌期間不應再照護其他病患。
*鼻腔帶菌者可使用 mupirocin 塗抹，一天兩次，連續五天；完成療程後3天與5天應再作鼻腔培養。

(註6) *病患出院後病室需作終期消毒及環境採檢，待結果確定為陰性始可收容病患。

参考文献

1. Tenover FC, Biddle JW, Lancaster MV: Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 2001;7:327-32
2. Anonymous: Interim guidelines for prevention and control of staphylococcal infection associated with reduced susceptibility to vancomycin. *MMWR* 1997;46:626-35.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 5th ed. Approved standard M7-A5. Wayne (PA): The Committee;2000.
4. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, et al: Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet* 1997;350:1670-3.
5. Howe RA, Bowker KE, Walsh TR, et al: Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 1998;351:602.
6. Siever DM, Boulton ML, Stoltman G, et al: *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin. *MMWR* 2002;51:565-7.
7. Hanaki H, Kuwahara-Arai K, Boyle-Vavra S, et al: Activated cell-wall synthesis is associated with vancomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains Mu3 and Mu50. *J Antimicrob Chemother* 1998;42:199-209.

8.Hanaki H, Labischinski H, Inaba Y, et al: Increase in glutamine-non-amidated mucopeptides in the peptidoglycan of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strain Mu50. *J Antimicrob Chemother* 1998;42:315-20.

9.Sieradski K, Roberts RB, Haber SW, et al: The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *N Eng J Med* 1999;340:517-23.

10.Massachusetts Department of Public Health. *Staphylococcus aureus* with resistant to vancomycin (VISA/VRSA)-infection control guidelines for long-term care facilities 2001.

11.Michael B, Richard P, Pascalle William A: vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: perspectives on measures needed for control. *Ann Intern Med*.1996;124:329-34.

12.Hiramatsu K, Ito T, Hanaki H: Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) *Eng J Med* 1999;340:493-501.2001.

13.Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, et al: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother* 1997;40:135-6.

14.Reynolds PE: Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptide antibiotics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989;8:943-50.

15.Hiramatsu K: Vancomycin resistant in *Staphylococci*. *Drug Resist Updates* 1998;1:135-50.

16.Hanaki H, Kuwahara-Arai K, Boyle-Vavra S, et al: Activated cell-wall synthesis is associated with vancomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains Mu3 and Mu50. *J Antimicrob Chemother* 1998;42:199-209.

17.Hanaki H, Labischinski H, Inaba Y, et al: Increase in glutamine-non-amidated mucopeptides in the peptidoglycan of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strain Mu50. *J Antimicrob Chemother* 1998;42:315-20.