

某醫學中心成人急診加護病房 困難梭狀桿菌 (*Clostridium difficile*) 偽群聚感染事件調查

湯雅芬^{1,2} 蘇麗香¹ 劉瓊芬¹ 李佳縉² 陳美琴³ 李文輝⁴
蘇玲慧^{5,7} 吳竹蘭^{5,7} 劉建衛^{1,6,7}

長庚醫療財團法人高雄長庚紀念醫院 ¹感染管制委員會

²檢驗醫學科 ³護理部 ⁴急診醫學科 ⁶內科部

林口長庚紀念醫院 ⁵檢驗醫學科

⁷長庚大學 醫學院

困難梭狀桿菌 (*Clostridium difficile*) 為革蘭氏陽性梭狀桿菌，原是人體腸道正常菌叢中的細菌。由於使用抗生素，導致腸道其他正常菌叢減少，*C. difficile* 因而大量繁殖而造成疾病。本院的成人急診加護病房，於常規監視資料發現，於 2007 年 12 月至 2008 年 2 月間共發生 5 例 *C. difficile* 腹瀉的感染個案。為避免擴散造成更多的群聚感染，當時斷然採行接觸隔離防護措施，落實消毒性濕洗手，避免非必要抗生素的使用，加強監控可能感染此菌的腹瀉病人，留意其排泄物的處理，及加強環境消毒 (高濃度漂白水)。這些 *C. difficile*，經以低頻切位聚合酶鏈鎖反應分子分型分析，確認非同一菌株，持續追蹤六個月後並未發生新增個案，故證實本事件乃偽群聚感染。鑑於此單位過去未曾發現 *C. difficile* 相關腹瀉之醫療照護相關感染個案，合理推論這五個案例於住院前 *C. difficile* 已移生在病患的腸道中。此次事件可能源於抗生素使用之選擇性壓力造成，因此應盡量避免抗生素使用。本事件也暗示，社會中可能相當程度的 *C. difficile* 移生於慢性病患腸道中。如果這個假定被確認，其對台灣社區的影響效應則急待評估，以提供衛生主管機關釐定因應對策。(感控雜誌 2013;23:281-289)

關鍵詞：困難梭狀桿菌相關腹瀉、偽群聚感染、分子生物分型、低頻切位聚合酶鏈鎖反應

民國 2012 年 2 月 6 日受理
民國 2012 年 3 月 10 日修正
民國 2013 年 10 月 3 日接受刊載

通訊作者：劉建衛
通訊地址：高雄市鳥松區大埤路 123 號
連絡電話：07-7317123 轉 8427

前言

Clostridium difficile 為革蘭氏陽性梭狀厭氧桿菌，當生長環境惡劣時，以芽胞形式存活，一般消毒劑無法將芽胞殺死。*C. difficile* 原是人體腸道中的正常菌叢之一，由於其他腸道菌叢的競爭及壓抑才不易致病，但長期使用抗生素使得腸道其他正常菌叢減少，導致此菌大量繁殖因而造成疾病[1]。患者可能有腹瀉、發燒、腹痛、白血球上升、結腸炎、巨結腸(megacolon)等，稱作偽膜性結腸炎(pseudomembranous colitis)，可能造成脫水、電解質流失、敗血症、休克甚至死亡。與抗生素使用相關的腹瀉中有10~20%和*C. difficile* 伺機性感染有關。最常引起這樣結果的抗生素包括Penicillins、Fluoroquinolones、Cephalosporins 及 Clindamycin 等抗生素[2-4]。

文獻指出成人*C. difficile* 無症狀之帶原者從1.9%至15.4%不等[5]。近幾年的研究發現，使用抗生素之住院病人，發生*C. difficile* 相關腹瀉(*C. difficile*-associated diarrhea, CDAD)的比率比沒使用抗生素的住院病人來得高。CDAD是造成醫療照護相關感染腹瀉常見的原因之一，在美國每年約有30萬人感染，且近幾年呈現出越來越多的院內感染個案發生，甚至於造成群突發事件[6]。

本院的成人急診加護病房(Emergency Department's Intensive Care

Unit, EDICU)，於常規醫療照護相關感染(Healthcare-associated infections, HAIs) 監視資料發現，該單位於2007年12月至2008年2月共發生5例，回溯過往皆未發現CDAD醫療照護相關感染個案。以Fisher exact test 檢定($P < 0.01$)，上述五例CDAD疑為群聚感染。為儘快控制感染個案增加及避免事件擴大，本院感染管制組於2008年1月介入調查處理，以避免情況繼續惡化。

材料與方法

一、流行病學調查

本院EDICU病床數有12床，是暫時收住病情嚴重預轉內科加護病房之病人。空間配置皆為獨立區隔單人房間，每房皆有一個標準的洗手台。護理人員照護病人的比例為1:2~3，照護病人分配以鄰近床位固定同一護理人員照護。本調查是感染管制師依據衛生署疾病管制局2009年醫療照護相關感染監測定義收案[7]，收集2007年12月至2008年2月間所有在EDICU發生*C. difficile* 醫療照護相關感染個案資料，包括床號、年齡、住院日、抗生素使用種類、照護人力床位分配等。

二、感染管制措施

為避免個案藉由工作人員或污染的環境導致更多的感染個案，當案三於1月3日培養出*C. difficile* 後，參照

Abdul [13]等的作法，將入住 EDICU 之所有病患皆採接觸隔離防護措施，手部衛生由常規的酒精性乾洗手更改為消毒性濕洗手、病患解於尿布之排泄物，視同感染性廢棄物採焚化處理、每日環境由低濃度漂白水改為高濃度漂白水 (5,000 ppm) 清潔等政策，以避免情況繼續惡化。另由本院之感染管制醫師協助監控抗生素使用，對於異常使用者提出建議，且協助監控可能感染之可疑個案。

三、微生物學鑑定

腹瀉病人，其糞便利用 *Brucella* agar (BBL™, WI, USA) 及 cycloserine-cefoxitin-fructose agar (BBL™, MD, USA) 在 37°C 厭氧缸中培養 48 小時。長出之 *Clostridium* 以 RapID™ ANAII System (Remel, KS, USA) 鑑定為 *C. difficile*，再利用聚合酶鏈鎖反應 (PCR) 偵測培養出之 *C. difficile* 菌株毒素基因。PCR 方法分別選取含 *tcdA* 及 *tcdB* 基因序列的片段作為引子 (primer)。*tcdA* 引子為 TA1 (5'-ATGATAAGGCAACTTCAGTGG-3') 及 TA2 (5'-TAAGTTCCTCCTGCTCCATCAA-3')；*tcdB* 引子為 TB1 (5'-GAGCTGCTTCAATTGGAGAGA-3') 及 TB2 (5'-GTAACCTACTTTCATAACAACAG-3') [8]。

四、基因分型鑑定

以低頻切位聚合酶鏈鎖反應 (infrequent-restriction-site PCR, IRS-

PCR) 作分子生物分型[9]。將培養在 *Brucella* agar 兩天的菌落調成懸浮液，37°C 作用 30 分鐘，以每分鐘 13,000 rpm 轉速在 4°C 下離心。將沉澱物回溶於 proteinase K，先在 56°C 作用 2 小時，再於 94°C 作用 10 分鐘，以 8,000 rpm 離心 5 分鐘取上清液，加入限制酶切割去氧核糖核酸 (DNA)，連接上經過設計的 adaptors，利用 PCR 增幅，產物做電泳、染色產生條紋圖。條紋圖型 (banding pattern) 完全相同的菌株屬於同一基因型。若有三個條紋 (含) 以下的差異，則歸類為該型的亞型 (subtype)；若條紋差異超過四個 (含) 以上，則屬於不同型 [10]。

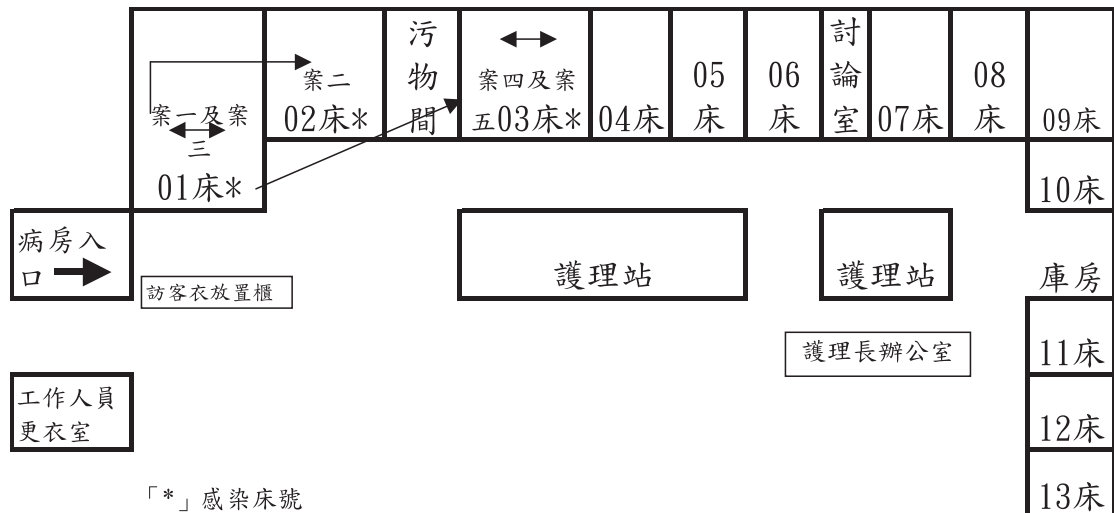
結 果

一、臨床調查結果

EDICU 中自 2007 年 12 月至 2008 年 2 月被分離出 *C. difficile* 的個案數共 5 例 (編號 1-5)，包含 3 位男性和 2 位女性，平均年齡 71 歲 (59~77 歲)，除案四在本次住院前的一年內有過一次住院，其餘個案在本次住院前一年內皆有住過院二次，病人基本資料明細表 (表一)，EDICU 病床分佈的平面 (圖一)。所有病人住院後皆接受至少一種以上之抗生素，培養陽性前抗生素平均使用天數為 19 天 (11~25 天)。菌株培養出來前平均住院天數 18 天 (10~24 天)。由病人感染地緣性及照護人力來看，集中於 01~03 床，

表一 EDICU 病房 2007 年 12 月至 2008 年 2 月 *C. difficile* HAIs 個案明細表

編號	年 齡	性 別	感染前 住院天數	本次住院日期 (年/月/日)	本次住院前一年 的住院日期 (年/月/日)	感染前曾使用抗生素種類	分子 分型
1	75	女	22	07/11/12	(1) 07/06/14 (2) 07/09/18	ampicillin/sulbactam, cefpirome	A
2	65	男	24	07/11/27	(1) 07/03/27 (2) 07/05/02	ceftazidime, vancomycin, cefepime	B
3	77	男	10	07/12/24	(1) 07/10/04 (2) 07/11/21	levofloxacin, flomoxef, amikacin	C
4	77	女	13	08/01/03	07/08/09	ampicillin/sulbactam, levofloxacin	D
5	59	男	22	08/01/09	(1) 07/09/18 (2) 07/11/09	levofloxacin, ertapenem, cefepime, imipenem	E



圖一 EDICU 病房地理位置分佈圖

案一 (01 床) 於 2007 年 12 月 3 日開始腹瀉，其糞便經培養長出 *C. difficile*，是為此次事件的指標個案，案二 (02 床) 及案四 (03 床) 與案一為同一組醫療照護人員，案三是接續住到案一之床位 (01 床)，案五則是接續住案四床位而疑似遭受感染。在單位參照感染

管制組建議之感控措施後，持續追蹤六個月，皆未有其他個案產生。

二、微生物學結果

本院微生物組一直常規保存血液培養出的菌株及某些特殊菌株，其中包括 *C. difficile*。此次群聚事件中收集

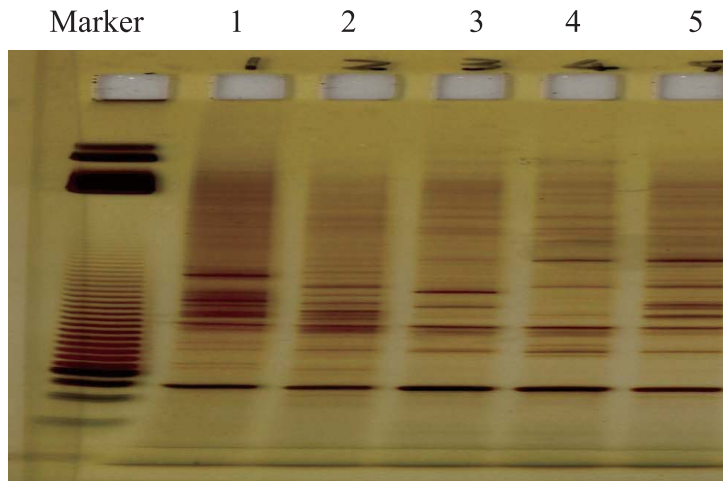
的 5 株 *C. difficile*，其中有 4 株具有毒素 (佔 80%)。此次菌株的條紋圖形差異皆超過四個條紋以上 (圖二)，故五株來自不同病患的 *C. difficile* 屬不同的分型 (圖二)。雖然流行病學調查發現具有高度之人、時、地相關性，但結果顯示，由感染病人身上培養出的 *C. difficile* 彼此之間並無基因學上的關聯性，證實本事件乃偽群聚感染。

討 論

C. difficile 是人體的正常菌叢，帶菌率由 1.9% 到 15.4% 不等。住院病人因為無症狀移生或因而污染環境表面，或經工作人員直接接觸病人後未確實執行消毒性洗手再傳播給下一位病人，為重要的感染途徑[11-12]。另因細菌會產生芽孢的特性，若環境遭受污染，再加上清潔不徹底，容易

間接感染下一位住院病人，因此醫療照護相關感染通常發生在同一病房的病人。

病患發生 CDAD 的直接原因，是帶有 *C. difficile* 菌株又經暴露於抗生素篩選的結果，嚴重者會發生偽膜性大腸炎[14-17]。Baxter 等的研究發現，高齡、住院天數、曾使用 Proton pump inhibitor 及 Imipenem、Clindamycin、Cefuroxime、Moxifloxacin、Ceftazidime、Ceftizoxime 和 Ceftriaxone 等抗生素的病人是感染 CDAD 之高危險群[14]。在 Owens 等報告指出雖然所有的抗生素皆與造成 *C. difficile* 的感染有關，尤以 Clindamycin、第三代的 Cephalosporins、Penicillins 為然，最近的研究也發現 Fluoroquinolone 與之有關[17]。在台灣的報告指出，住院期間病患倘若服用 glycopeptide 合併



M：分子量標誌；1 到 5 是菌株序號，請參考表一。

圖二 *Clostridium difficile* 菌株以 IRS-PCR 分析所得到的條紋圖形

Cephalosporins (或 Penicillin)，或單獨使用 Cephalosporins 及 Carbapenem 的藥物，可能使自身帶有的 *C. difficile* 菌株產生毒素[18]。在台灣腹瀉病患具 *C. difficile* 毒素的比率從 16.7~59.5% 不等，研究中也發現，具毒素的 *C. difficile* 菌株帶原者，後來發生 CDAD 的機率比無毒素菌株帶原者來得高[18-20]。本調查個案發現，菌株培養前病患皆曾使用過 2~4 種抗生素，平均年齡為 71 歲，*C. difficile* 毒素的比率為 80%，故屬於好發之高感染危險群。

有報告指出，社區中 CDAD 的增加與某些動物腸道內存在著 *C. difficile* 菌株有關，這些動物包括了馬，狗，貓，鳥類，鼠類，尤其是在新生豬隻，暗示著動物有可能是感染源[11]。英國的一篇報告指出，每年社區相關 CDAD 的發生率每十萬人口最少就有 7.6 個病患，及每 5,000 筆門診抗生素處方箋會發現一件 CDAD [21]，每年診斷出具有 *C. difficile* 的病患，從 1994 年的每十萬人口有 1 位病患，增加到 2004 年的 22 個患者 [21]。另，2005 年美國北卡羅來納州調查的 1,046 位 CDAD 病患中，有 604 位來自於社區 (約佔 58%) [22]。隔年在康乃迪州三家醫院的調查發現 456 位門診或住院 2 天內的病患被診斷為 CDAD，研究者提醒臨床醫師倘若門診病患有嚴重腹瀉時應考慮是否為社區型 CDAD [23]。

一篇收集 113 株 *C. difficile* 的研

究發現，台灣雖未發現 NAP1 (ribotype O27)，但卻有一株優勢的 *C. difficile* 在台灣的南北端存在[24]。本院此次 EDICU 中之群聚事件 *C. difficile* 非同一菌株，且持續追蹤監測該單位六個月後並未有其他 *C. difficile* 感染個案產生，證明未讓細菌持續散播。本次群聚調查中未做環境培養，殊屬美中不足。但鑑於此單位過去未曾發現 CDAD 醫療照護相關感染個案，合理推斷這五個案例於住院前已移生在病患的腸道中。此次事件可能源於抗生素使用之選擇性壓力造成，因此應減少不必要的抗生素使用，盡量避免 CDAD 發生。

綜觀國內外文獻，CDAD 的趨勢明顯增加，唯目前健保尚未給付 *C. difficile* 毒素檢驗費用，期待健保局可重視此項檢驗。

致 謝

感謝長庚研究計畫 (CMRPG890511) 經費支持本研究。

參考文獻

1. George WL, Sutter VL, Finegold SM: Antimicrobial agent-induced diarrhea-a bacterial disease. *J Infect Dis* 1977;136:822-8.
2. Samore MH: Epidemiology of nosocomial *Clostridium difficile* diarrhoea. *J Hosp Infect* 1999;43 Suppl:S183-90.
3. McDonald LC: *Clostridium difficile*: responding to a new threat from an old enemy. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26:672-5.
4. Owens RC, Donskey CJ, Gaynes RP, et al:

- Antimicrobial-associated risk factors for *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis 2008; 46 Suppl 1:S19-31.
5. Murray PR, Baron EJ, Pfallier MA, et al: *Clostridium*. In: Allen SD, Emery CL, Siders JA, eds. Manual of clinical microbiology. 7th. ed. Washington, DC: American Society for Microbiology. 2005:654-71.
 6. Muto CA, Blank MK, Marsh JW, et al: Control of an outbreak of infection with the hypervirulent *Clostridium difficile* BI strain in a university hospital using a comprehensive “bundle” approach. Clin Infect Dis 2007;45:1266-73.
 7. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, et al: CDC definitions for nosocomial infections. Am J Infect Control 1988;16:128-40.
 8. Patrizia S, Paola M: Molecular analysis of the pathogenicity locus and polymorphism in the putative negative regulator of toxin production (TcdC) among *Clostridium difficile* clinical isolates. J Clin Microbiol 2002;40:3470-5.
 9. Su LH, Leu HS, Chiu YP, et al: Molecular investigation of two clusters of nosocomial bacteraemia caused by multiresistant *Klebsiella pneumoniae* using pulsed-field gel electrophoresis and infrequent-restriction-site PCR. J Hosp Infect 2000;46:110-7.
 10. Su LH, Chiu CH, Wu TL, et al: Molecular epidemiology of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolated in Taiwan. Microbiol Immunol 2000; 46:833-40.
 11. Kuijper Ed, Poxton L, Brazier J: Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in Canada, the United States of America and Europe: European Study Group for *Clostridium difficile* (ESGCD) and European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Second concept, March 3th, 2006.
 12. McMaster-Baxter NL, Musher DM: *Clostridium difficile*: recent epidemiology finding and advances in therapy. Pharmacotherapy 2007;27:1029-39.
 13. Abdul Z, Larry G, William F, et al: Effectiveness of infection control program in controlling nosocomial *Clostridium difficile*. Am J Infect Control 1998;26:588-93.
 14. Baxter R, Ray T, Fireman H: Case-control study of antibiotic use and subsequent *Clostridium difficile*-associated diarrhea in hospitalized patients. Infect Control Hosp Epidemiol 2008;29:44-50.
 15. Loo VG, Poirier L, Miller MA: A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality. N Engl J Med 2005;353:2442-9.
 16. Levin PD, Fowler RA, Guest C: Risk factors associated with resistance to ciprofloxacin in clinical bacterial isolates from intensive care unit patients. Infect Control Hosp Epidemiol 2007;28:331-6.
 17. Owens RC, Donskey CJ, Gaynes RP, et al: Antimicrobial-associated risk factors for *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis 2008;46 (suppl 1):s19-31.
 18. Hung YP, Tsai PJ, Hung KH, et al: Impact of toxigenic *Clostridium difficile* colonization and infection among hospitalized adults at a district hospital in southern Taiwan. PLoS One. 2012;7:e42415.
 19. Lin YC, Huang YT, Lee TF, et al: Characteristics of patients with *Clostridium difficile* infection in Taiwan. Epidemiol Infect 2012;6:1-8.
 20. Liao CH, Ko WC, Lu JJ, et al: Characterizations of clinical isolates of *Clostridium difficile* by toxin genotypes and by susceptibility to 12 antimicrobial agents, including fidaxomicin (OPT-80) and rifaximin: a multicenter study in Taiwan. Antimicrob Agents Chemother 2012;56:3943-9.
 21. Dial S, Delaney JAC, Barkun AN, et al: Use of gastric acid-suppressive agents and the risk of community-acquired *Clostridium difficile*-associated disease. JAMA 2005;294:2989-95.
 22. Kutty PK, Benoit SR, Woods CW, et al: Assessment of *Clostridium difficile*-Associated Disease Surveillance Definitions, North Carolina, 2005. Infect Control Hosp Epidemiol 2008;29:197-202.
 23. CDC. Surveillance for Community-Associated *Clostridium difficile* Connecticut, 2006. MMWR 2008;57:340-3.
 24. Lin YC, Huang YT, Tsai PJ, et al: Antimicrobial susceptibilities and molecular epidemiology of clinical isolates of *Clostridium difficile* in taiwan. Antimicrob Agents Chemother 2011;55:1701-5.

A Pseudo-Outbreak of *Clostridium difficile*-Associated Diarrhea in Patients Admitted at Intensive-Care Unit of the Emergency Department: Genetic Analysis of the Microbes and Implications of this Pseudo-Outbreak

Ya-Fen Tang^{1,2}, Li-Hsiang Su¹, Chiung-Fen Liu¹, Chia-Chin Li²,
Mei-Chin Chen³, Wen-Huei Lee⁴, Lin-Hui Su^{5,7}, Tsu-Lan Wu^{5,7}, Jien-Wei Liu^{1,6,7}, and
Infection Control Team, Kaohsiung Chang Gung Memorial Hospital

¹Committee of Infection Control, and Departments of ²Clinical Pathology, ³Nursing,

⁴Emergency Medicine, and ⁶Internal Medicine, Kaohsiung Chang Gung Memorial Hospital;

⁵Department of Clinical Pathology, Chang Gung Memorial Hospital, Lin-Kou Medical Center, Taiwan; and

⁷Chang Gung University Medical College

Clostridium difficile is part of the normal flora of the gut and may lead to development of *C. difficile*-associated diarrhea (CDAD) in patients with prior antibiotic exposure. Between December 2007 and February 2008, a cluster of CDAD involving 5 patients admitted from the community to the intensive care unit of Emergency Department (EDICU) of Kaohsiung Chang Gung Memorial Hospital was identified. All of them were elderly, experiencing sepsis with respiratory failure and with prior antibiotic exposure. To contain a presumed CDAD outbreak, infection control measures immediately taken by the EDICU included implementation of contact precautions, hand washing instead of dry-cleaning hand hygiene among staff, minimizing antibiotic use, closely monitoring possible emerging CDAD cases and environmental cleaning. However, subsequent DNA analysis using infrequent-restriction-site PCR (IRS-PCR) disclosed different DNA macro-fragment patterns among these 5 *C. difficile* isolates, indicating that this was a pseudo-outbreak of CDAD. This pseudo-outbreak suggested the widespread

existence of multiclonal *C. difficile* isolates in the community, Evaluation of the amplitude of *C. difficile* carriers (especially in elderly with multiple co-morbidities) and impacts of this epidemiologic findings in southern Taiwan is in urgent need, so that the health authorities can map out an effective combat strategy accordingly.

Key words: *Clostridium difficile*-associated diarrhea, pseudo-outbreak, genetic analysis, infrequent-restriction-site PCR