

利用分子生物學方法作細菌分型（Ⅱ）

廖旭方

沙鹿童綜合醫院院內感染管制委員會

基因分型法與上一章的蛋白質分析和脂多糖分析分型法最大的不同，在於基因分型法較上述兩種外顯性分型法來得穩定，比較不易受外在細菌培養環境所影響，所以它們的再顯性一般都很高。這就是為甚麼今天我們很喜歡使用基因分型法作為分型工具的原因。在本專欄的分子生物學部份已經跟大家介紹過細菌的基因，一般來說，細菌的基因可以分成兩個部份，一是染色體，另一是質體，所以基因分型法主要也是根據細菌所含的染色體或質體來分型。

質體分型法（plasmid typing or plasmid profile analysis）

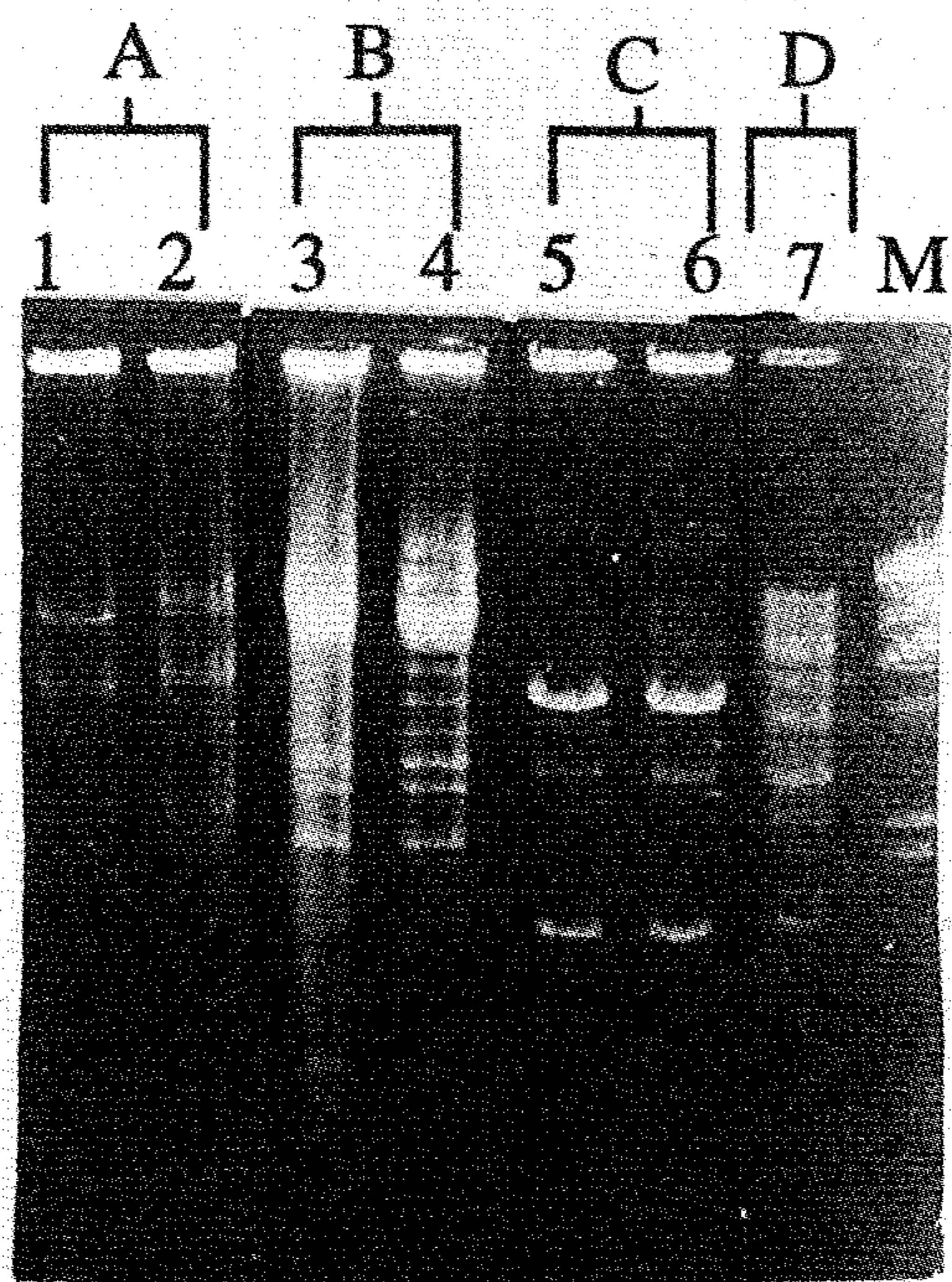
質體是細菌體內比較小的，可以獨立存在，甚至可以複製增殖的遺傳物質。在同種但不同株細菌中，其所含的質體不僅數量可以不一樣，甚至種類，分子量大小也可以不一樣，因此我們可以利用質體作為細菌菌株間的區分。但有一點我們要記得的，就是質體是一種不穩定的遺傳物質，所以有可能在細菌長期保存或反覆次培養（subculture）中失去一個質體或獲得一個新的質體，因而影響質體分型法的

再顯性。不過每一種細菌，其所含的質體穩定度都不一樣，比方MRSA其所含質體的穩定度相當的高。另一方面我們要注意的，不是每一菌株都會含有質體，假如在某種細菌中，其菌株中不含有質體的比例比較高時，質體分型法便不能應用於這一種細菌中作細菌分型。不過，因為質體分型法是基因分型法中最簡單的一種分型法，所以仍被廣泛採用作為細菌初步分型的工具，加上其所需設備不多，幾乎所有教學醫院的實驗室皆可設立。另一方面，根據我們觀察，質體分型法對MRSA來說還是一種很好的分型工具。MRSA的演化一般認為來自一共同的老祖宗，所以當其在醫院中散播的時候，其他更穩定的基因分型法往往不易把流行病學沒有相關性的菌株區分出來，因為既是同一個老祖宗，所以每一株MRSA當然都長得很像。反而，較不穩定的質體分型法有時卻可以把這些沒有流行病學相關性的菌株區分出來。對MRSA的分型，目前還是建議多種分型法合併使用，這樣才能增加對菌株的區分能力。

〈例一〉某教學醫院發現在小兒加護病房中，有四位病人血中皆分離出

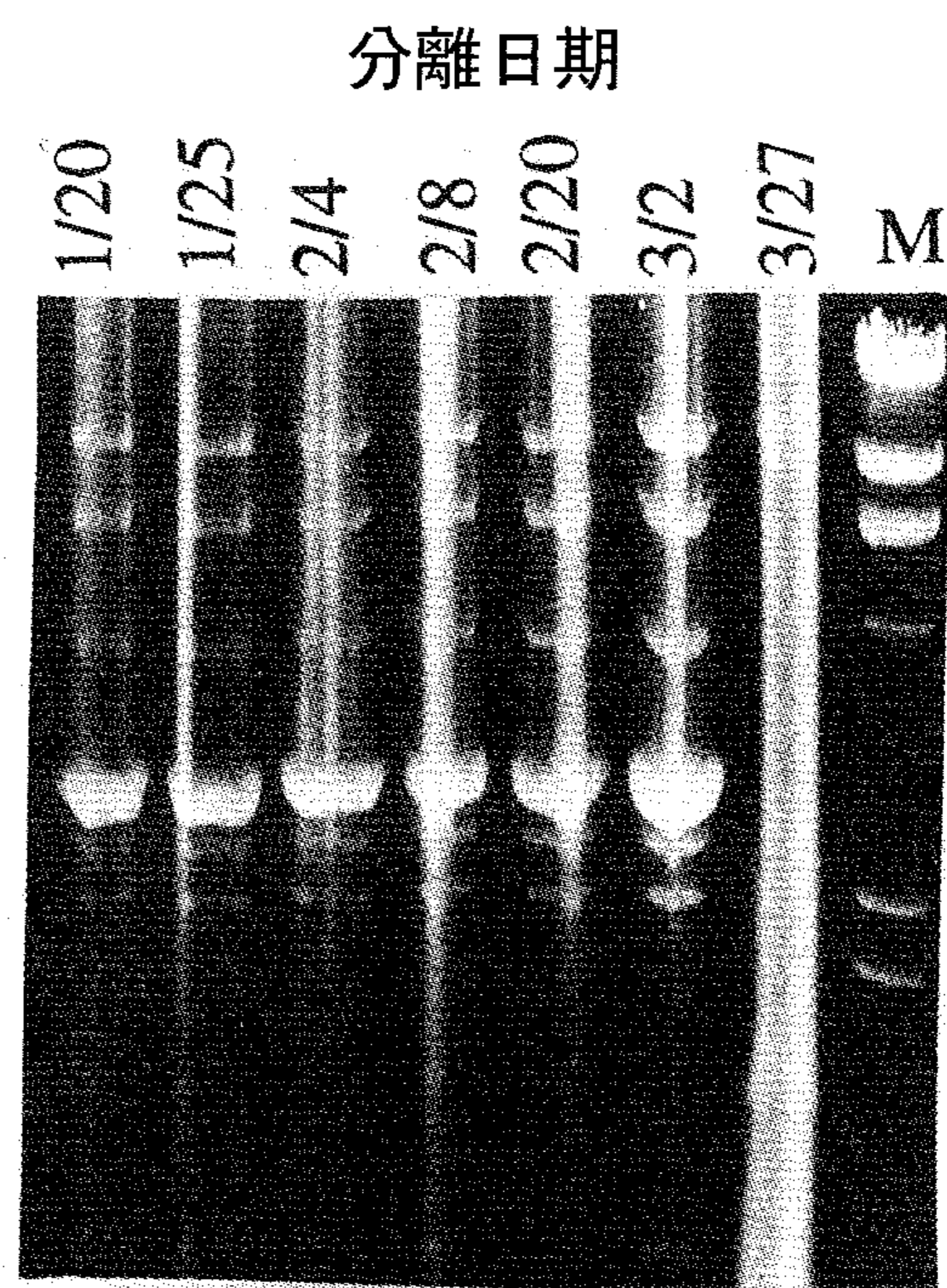
Staphylococcus epidermidis，這是不是一群突發？我們需不需要作流行病學調查？

我們把從這四位病人身上所分離出來的*S. epidermidis*收集，然後抽取其質體，再用限制酶EcoR1切成片段跑電泳，結果發現這四株細菌的限制酶切割質體分析（restrictive endonuclease analysis of plasmid; REAP）圖型（patterns）都不一樣（圖一），因而可以認定此次事件並非真正的群突發，所以沒有花費太多人力、物力、時間進行調查的必要，只請醫護人員加強洗手及無菌技術。



圖一 某教學醫院小兒加護病房分離出之*S. epidermidis*，作限制酶切割質體分析。第一、二列為病人A分離出之菌株，第三、四列為病人B分離出之菌株，第五、六列為病人C分離出之菌株，第七列為病人D分離出之菌株。

〈例二〉某尿毒症並長期作血液透析病人，每隔一段時間，其血液培養便長出MRSA，雖用vancomycin治療仍然沒有效。到底這是一復發性感染（relapse），還



圖二 一血液透析病患反覆感染之MRSA菌株，作限制酶切割質體分析。

是一再次感染（reinfection）？

同樣，我們把在這位病人血中所分離出的MRSA菌株作限制酶切割質體分析，發現除最後一株是沒有質體以外，其餘菌株的圖型皆是一樣（圖二），所以這次事件很可能是MRSA的復發性感染。區分同一菌株引起的復發性感染與非同一菌株（同種或不同種細菌）引起的再次感染，是細菌分型的另一功用。當一個病人反覆被同一種細菌感染時，這可能是復發，也有可能是再次感染，這兩者的意義並不一樣。就以上述病人為例，其血液中每隔一段時間反覆培養出MRSA，它可以是因為病人身上有一持續性的感染病灶，造成細菌鏟除不易，故每隔一段時間便復發，如此一來，每次感染的細菌必定是同一株的細菌；但是這位病人的反覆MRSA感染，也有可能是因為這位病人常常要作血液透析，由於醫護人員沒有注意無菌技術，因而引起不同菌株的MRSA再次感染。復發

感染與再次感染的治療並不一樣：復發感染必須要把細菌所潛伏的病灶鏟除，細菌才能根絕，（就上述個案而言，其持續感染病灶可能是作血液透析的AV fistula）；反之，再次感染，可能只需加強醫護人員的無菌技術即可。

總而言之，質體分型法由於方便、簡單，還是一種很好的分型工具，特別是MRSA。因為很少MRSA沒有質體，並且在MRSA中的質體也較革蘭氏陰性菌來得穩定，所以我們建議在MRSA的群突發發生時，可以先用質體分型法對MRSA菌株分型，並追蹤其來源。

參考文獻

1. Towner KJ, Cockayne A: Analysis of nucleic acid profiles. In: Towner KJ, Cockayne A, eds. Molecular methods for microbial identification and typing. London: Chapman & Hall. 1993: 28-63.
2. Schaberg DR, Zervos M: Plasmid analysis in the study of the epidemiology of nosocomial gram-positive cocci. Rev Infect Dis 1986; 8: 705-12.
3. Lacey RW, Grinsted J: Genetic analysis of methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*: evidence for their evolution from a single clone. J Med Microbiol 1973; 6: 511-26.
4. Zuccarell AJ, Roy I, Harding GP, et al: Diversity and stability of restriction enzyme profiles of plasmid DNA from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 1990; 28: 97-102.
5. Kreiswirth B, Kornblum J, Arbeit RD, et al: Evidence for a clonal origin of methicillin-resistance in *Staphylococcus aureus*. Science 1993; 259: 227-30.
6. Liu PYF, Shi ZY, Lau YJ, et al: Use of endonuclease restriction analysis of plasmids and pulsed-field gel electrophoresis to investigate outbreaks of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis 1996; 22: 86-90.
7. Liu PYF, Shi ZY, Lau YJ, et al: Molecular analysis of *Burkholderia cepacia*: Differentiation of relapse or reinfection in a case of recurrent bacteremia. Clin Infect Dis 1996; 22: 584-6.
8. Wang CC, Chu ML, Ho LJ, Hwang RC: Analysis of plasmid pattern in pediatric intensive care unit outbreaks of nosocomial infection due to *Enterobacter cloacae*. J Hosp Infect 1991; 19: 33-40.