

細菌分型法在院內感染的應用

廖旭方 ●●●

細菌分型法 (bacterial typing) 是利用細菌的各種特性 (生化、外膜、產物或基因) 來把同一種 (species) 的細菌加以分類, 因而可判別出不同菌株 (strain) 間的關聯性。我們之所以要把細菌加以分型, 主要是因為同一種的細菌可以廣泛分佈於我們周圍的環境中, 但並非在同一種細菌中每一菌株都有相同的致病能力, 這就是牽涉到所謂細菌毒性 (Virulence) 的問題, 例如一種可引起出血性腸炎的大腸桿菌 (verotoxic *E. coli*; VTEC), 它的血清型 (serotype) 通常為O157, 但是另一種同是大腸桿菌引起之類痢疾性腸炎, 一般我們稱為腸道侵入性大腸桿菌 (enteroinvasive *E. coli*; EIEC), 其最常見的血清型則為O124。因此細菌分型法可以幫助我們找出某一型的細菌與某疾病之間的關係。

但細菌分型法更重要的功用, 則是在流行病學的研究, 特別是應用在院內感染方面, 所以細菌分型法又稱為流行病學分型法 (epidemiological typing)。利用細菌分型法可以幫助我們找出群突發 (outbreak

) 的共同來源 (common source) 或交互感染 (cross infection)。在我們追蹤某一細菌引起之群突發以前, 我們必須對這些細菌的特性, 有一定程度的瞭解。一般來說, 引起院內群突發的細菌, 最常見的是金黃色葡萄球菌 (*S. aureus*) 及各革蘭氏陰性桿菌, 因為這些細菌常在醫院環境中廣泛分佈。例如金黃色葡萄球菌可在20~30%的正常人鼻腔中分離出來。金黃色葡萄球菌的傳播 (transmission), 主要是經人與人間的皮膚接觸, 或由皮膚脫屑 (skin scales) 散播至醫院的環境中。因為葡萄球菌可在乾燥的環境下生存一段時間, 並且不易在非生物 (inanimate) 的環境下繁殖, 因此金黃色葡萄球菌感染的唯一來源往往是人—醫護人員, 其他病人或病人本人。假如在一個外科病房中發生一由金黃色葡萄球菌引起之傷口感染群突發, 我們可以想像到的共同來源包括:

- a. 在手術檯: 由病人本身或手術房工作人員而來。
- b. 在病房: 由病人本身、其他病人、醫護人員或外來訪客而來。

作者簡介:

國防醫學院畢英國倫敦大學微生物學碩士, 現任台中榮民總醫院感染科主治大夫及感染管制委員會委員, 中部地區院內感染聯誼會會長。

在追蹤一個群突發, 固然我們可以利用流行病學的方法從人、時、地着手找出病源。但要證明我們的假設正確, 便需藉着細菌分型法的幫助: 看看我們從病人身上及從我們假設的病源身上分離出的細菌是

否有關聯性。

但在我們使用細菌分型法來鑑定不同型的細菌以前，我們必須瞭解目前使用的各種細菌分型法：它們的特性、優點、缺點，以至於它們的限制（limitation）。不同種類的細菌，有時候需要使用不同的細菌分型法來分型。基本上我們今天所使用的細菌分型法，可以分成兩大類，第一類為傳統細菌分型法，第二類為新的細菌分型法。

(一)傳統細菌分型法：包括血清分型（serotyping），噬菌體分型法（phage typing），殺菌素分型法（bacteriocin typing），生化分型法（biotyping），抗藥性分型法（resistotyping）等。

a.血清分型法：可以說是目前應用最廣的一種分型法，它的優點是快捷方便，並且對大部份細菌來說其特異性及對不同菌株的分辨能力（discrimination）也相當的好，但其缺點是血清的製造較為困難，所以不能大量生產，並且其品質也不易控制。另外有些細菌的血清型分佈並不平均，例如 *P.aeruginosa*，大部份為O6及O11，所以需要應用其他分型法來幫助分辨。

b.噬菌體分型法（phage typing）：噬菌體其實是一種能侵犯細菌並在細菌體內繁殖的病毒，有時候它可以把細菌分解（lysis），而在培養基上形成所謂plaque，我們就是利用噬菌體的這種特性來把細菌分型，因為不同的噬菌體可溶解不同菌株所產生的菌落（colony）。噬菌體分型法的缺點包括技術上的繁複，特異性較差，並且噬菌體不易長期保存。但有些細菌，

例如金黃色葡萄球菌，噬菌體分型法仍是最好的傳統分型法，另外因為這方法相當敏感，所以可幫助利用血清分型法仍無法分辨的菌株來分型，例如 *P.aeruginosa*。

c.殺菌素分型法（bacteriocin typing）

：殺菌素（bacteriocin）是一種由細菌所分泌具有殺菌（包括對其他不同型的同種菌株）能力的物質。所以殺菌素分型法可以分成兩類：一類是以測試菌株（tested strain）所分泌的殺菌素來抑制指示菌株（indicator strains）的生長，不同型的測試菌株可抑制不同的指示菌株生長。第二類是以指示菌株所分泌的殺菌素來抑制測試菌株的生長，同樣不同型的測試菌株可受不同的指示菌株所抑制。這一種分型法的優點是便宜，花費少、很敏感、但缺點則與噬菌體分型法相同：技術較麻煩，特異性較差，並且細菌分泌殺菌素的特性較不穩定。殺菌素分型法應用最多的是 *P.aeruginosa*：利用Pyocin來分型。

d.生化分型法（biotyping）及抗藥性分型法（resistotyping）：此兩種分型法雖然簡單，但因在細菌的特性中較不穩定很容易受外界因素影響，並且敏感度低，因此皆不是很好的分型法。

(二)新的分型法：隨着細菌學及分子生物學的進步，其他新的分型法也發展出來。不過一般來說，新的分型法只是對傳統分型的補充工具，也就是說新的分型法只是在傳統分型仍無法把菌株加以區分時才使用，因為所有新的分型法，都是比較性的分型法（comparative），而

無法像傳統分型法一樣，能確定的分型（definitive）。

a. 細胞外膜分型法：革蘭氏陰性細菌的細胞外膜（outer membrane）包括脂肪多糖化合物（Lipopolysaccharide），及外膜蛋白。我們可用化學或物理方法把這兩種物質從細菌身上分離出來，然後再利用電泳法按分子量大小，把各種外膜蛋白或外膜脂肪多糖化合物分列出來。這樣我們便可按照其分列出來的pattern，來加以比較。但這兩種分型法只能應用在革蘭氏陰性菌，因為陽性菌並無外膜存在。

b. 細菌質體分型法（plasmid typing）：有些細菌體內會攜帶一些可以傳遞（transfer）的小型基因體，稱為質體（plasmid），這些質體也可作為不同菌株的分型。但因質體可以在菌株間傳遞或消失，因此利用質體分型法所得到的結果，有時候並不準確。

c. 染色體分型法：其中應用最廣，並認為最準確的是核糖體基因分型法（ribotyping）。16s核糖體一般認為在演化過程中沒有太大改變（conservative），但另一方面在同種細菌的不同菌株間又有所不同，因此產生16s RNA的染色體基因便可用來作分型，特異度與敏感度皆很高。其方法是利用一些能把DNA切段的酶（restrictive endonuclease）來把染色體基因切成固定的一段段，經過電泳法分離後，再用encoded 16s核糖體的cDNA探針與這些被分切的DNA雜交（hybridisation）。因為這些探針都帶有放射性或非放射性標記（label），能與

cDNA探針雜交的片段DNA便會在尼龍膜（nylon membrane）上顯影出來並形成一pattern，我們便可以此pattern來比較不同菌株的細菌。這種分型法可以廣泛應用於所有細菌中。

參考資料：

1. Ayliffe GAJ. The Application of Typing method to Nosocomial infection. The method on microbiology Vol. 10, ed. Bergan T & Novis JR, Academic press, London. 1978: pp39-168
2. Aker RC, Mackel DC. Epidemiologic Typing of Nosocomial microorganisms, Am J Med 1981;70 : p 899-905.
3. Fyfe JAM, Harris G, Govan JRW. Revised pyocin typing method for *Pseudomonas aeruginosa* J Clin Micro. 1984;20:47-50.
4. Pitt TL. Epidemiological typing & *Pseudomonas aeruginosa*. Eur J Clin Micro. Infect Dis 1988; 7:238-247
5. Garaizar J, Kaufmann ME, Pitt TL. Comparison of ribotyping with conventional methods for the type identification of *Enterobacter cloacae*. J Clin Micro 1991;29:1303-1307
6. Ayling-smith B, Pitt TL. State of the art in typing: *Klebsiella* spp. J Hosp Infect. 1990; 16:287-295
7. Owen RJ. Chromosomal DNA fingerprinting—a new method of species and strains identification applicable to microbial pathogens J Med Micro 1989;30:89-99.