

# Methicillin抗藥性金黃色葡萄球菌 在燒傷病房引起群突發之調查

李素芬 劉美容 任新菊 黃玉梅 廖旭方 劉有增 劉美芳  
台中榮民總醫院院內感染管制委員會

本研究乃針對83年10月間，本院燒傷病房共有六位病患均發生methicillin抗藥性金黃色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)所引發的傷口及血流院內感染，與過去半年MRSA發生次數相比較，具有統計差異( $p < 0.005$ )，因此視為一群突發事件。利用pulsed-field gel electrophoresis(PFGE)方法作菌株染色體分析，結果發現有一醫護人員和六位病患所分離出的MRSA具有相同菌型，因此不排除為兩者間的共同感染或交叉感染；而環境落塵及水質中未培養出MRSA。其傳染途徑可能為病患作植皮修補手術後，換藥過程因未洗手污染而引發。控制措施採接觸隔離，加強無菌技術，注重洗手，對帶菌者的鼻腔或腋下擦拭mupirocin，病人出院後燒傷病房作終期消毒，最後終於控制此一群突發。利用PFGE可以作為群突發菌株分型並找出傳染源。(感控通訊1995;5:245~8)

## 前 言

金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)，已成為院內感染中的重要細菌，在國外報導中有逐年增加的趨勢[1]。MRSA(methicillin-resistant *S. aureus*)是指對methicillin系列藥物有抗藥性之金黃色葡萄球菌，正常葡萄球菌的PBP(penicillin-binding protein)可與methicillin接合，但MRSA可產生一種不易與methicillin等類藥物結合之PBP2a，致methicillin系列的藥物無法抑制MRSA細胞壁的合成。1975年美國MRSA分離率佔*S. aureus*的2.4%，至1991年增加為19.0%。

最近三年內本院微生物科統計MRSA分離率在所有*S. aureus*中由45.1%增加為66.0%。*S. aureus*在人體皮膚及腸胃道、呼吸道為正常菌落群之一，當它侵入人體時，可產生之疾病有蜂窩組織炎、骨髓炎、心內膜炎、肺炎、敗毒症等。MRSA可造成群突發之事件，常在文獻中被報導[2,3]，例如在某大醫院其MRSA曾造成小兒加護病房群突發之感染[4]，其次北部某醫學中心也發生新生兒皮膚受MRSA感染之群突發[5]，因此其嚴重性已受廣泛的重視。

本研究主要報告我們如何利用脈衝電場電泳法(pulsed-field gel electrophoresis; PFGE)作此次群突發MRSA分離菌株的調

查[6,7]，希望找出感染源，同時實施院內感染管制措施，防止群突發的繼續發生。

## 材料與方法

### 一、群突發發生經過及調查方法：

在83年10月間經由細菌室報告中陸續發現有許多病房分離出MRSA，但主要集中在於燒傷中心，在六位病人中，因為症狀均有發燒且燒傷部位有膿樣分泌物，經細菌培養皆長出MRSA，其中三位病人併有血流MRSA感染；至月底由院內感染小組藉病歷查閱參考細菌報告及臨床症狀符合院內感染定義，因此即予收案。因為發生率較前半年MRSA發生次數，具統計差異( $p < 0.005$ )，故視為一群突發事件，於是著手進行此次調查。我們除了作環境落塵及水質培養外，並且對燒傷中心60名醫護人員進行鼻腔、腋下及手部採檢培養。

### 二、菌種收集：

本院感染科常規性地，由每日細菌室陽性報告中，挑選特殊菌種進行冷凍儲藏，電腦歸檔。我們將燒傷中心群突發期間的菌株（九株）及其它病房分離出的MRSA菌株（二十株），加上從燒傷中心醫護人員身上所收集到的菌株（五株），接種至blood agar和EMB培養基中，在35°C下培養二十四小時，用乳膠凝集試驗(Oxoid, England)測定凝固因子(clumping factor)和protein A來確定是否為*S. aureus*。藥物敏感試驗是利用NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standards)的抗生素紙錠瓊脂擴散法(disk agar diffusion method)，將1  $\mu$ g oxacillin紙錠放在含有2%NaCl之Mueller-Hinton agar中，在35

°C下培養24小時判讀，若無抑制環或抑制環小於/等於10mm，即為MRSA，大於13mm為MSSA。

### 三、細菌分型方法：

參考Kaufmann和Pitt方法[8]。菌株接種於SE buffer(75mM NaCl and 25mM EDTA, pH7.5)使其濃度約 $10^9$ 的9次方，取菌液500  $\mu$ L，再分別加500  $\mu$ L low-melting agarose，混合後加入模型中凝固。再將每個菌株的DNA plug放入瓶子內，加2mL lysis buffer[10mM Tris-HCl pH7.6, 100mM EDTA, 1mM NaCl, 0.5% Brij-58, 0.2% sodium deoxycholate, 0.5% sodium lauryl sarcosine, 0.5 mg/mL of lysozyme(Sigma)and 50  $\mu$ g/mL of lysostaphin(Sigma)]作用24小時，倒出lysis buffer後，再加入proteinase K作用48小時，經TE buffer(10mM Tris-HCl pH7.5, 10mM EDTA)洗三次，加2mL PMSF(phenylmethyl sulfonyl fluoride)37°C1小時，再換成1倍TE buffer 4°C作用1小時，最後將DNA plug加進1mL 0.1倍TE buffer中保存。作DNA digestion時，取三分之一的plug投入100  $\mu$ L的10倍reaction buffer中作用1小時，再加2  $\mu$ L Sma I 在25°C下隔夜，然後將DNA plug放入1.2% Seakem GTG agarose(FMC)進行脈衝電場電泳，在6 v/cm作用23小時，脈衝時間由5秒逐漸增加至40秒，最後用ethidium bromide (5  $\mu$ g/mL)染洋菜膠30分鐘，照相顯影，並分析電泳圖。

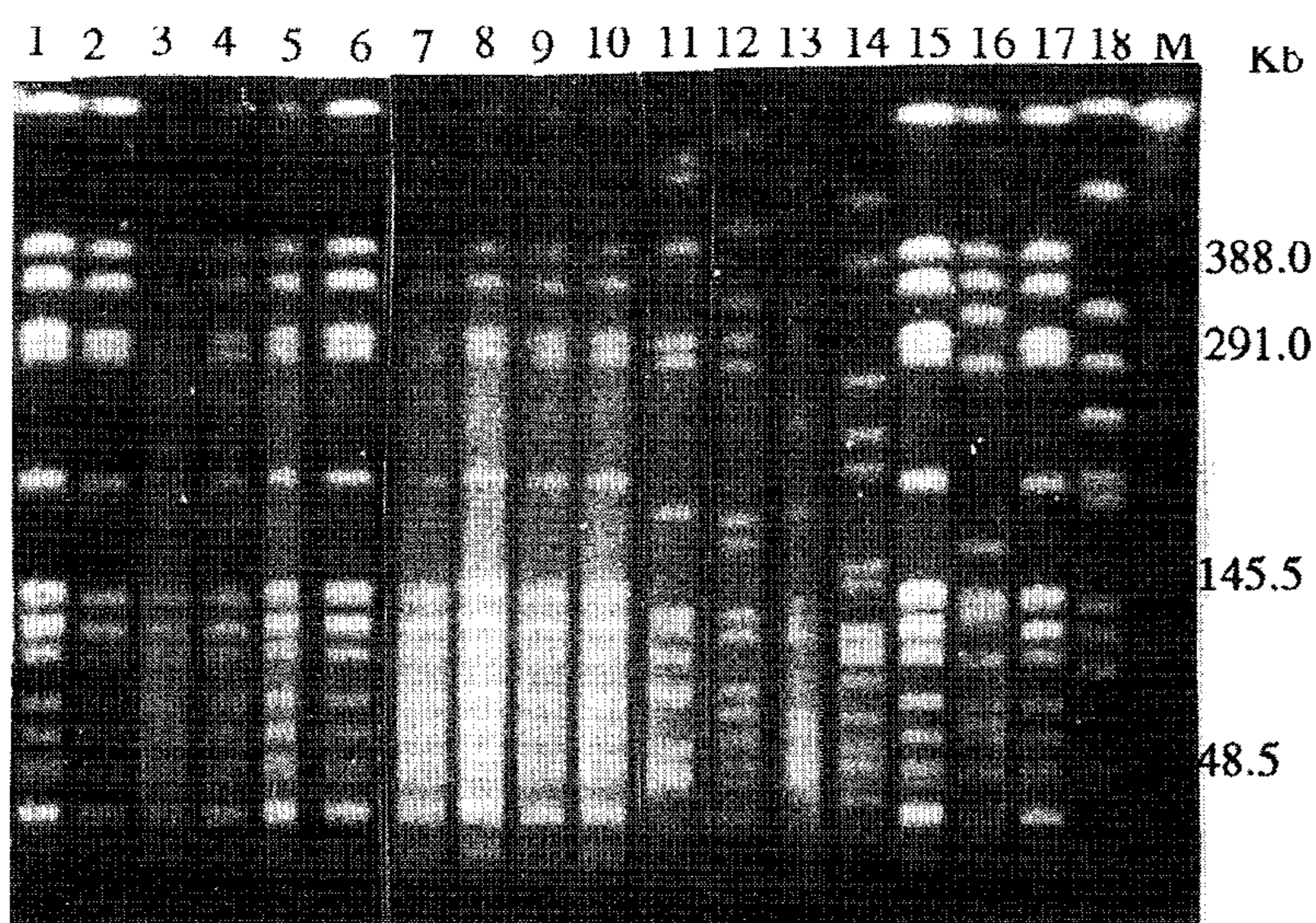
## 結果

### 一、群突發調查結果：

在60位醫護人員中，發現有5位MRSA帶原者，其中有3位在鼻腔中培養出，2位從鼻腔和腋下分離出。從醫護人員身上培養出的MRSA其藥物敏感性與病患身上培養出的菌株相同，只對vancomycin有效，對ampicillin-sulbactam (Unasyn), cephalothin類抗生素均有抗藥性。而環境落塵及水質中則未發現有MRSA菌株。

## 二、細菌分型結果（圖一）：

依據細菌DNA片段的數目及大小不同可區分為七種不同的菌株型(1-10, 15及17;11;12;13;14;16;18)。有12株MRSA的PFGE型相同，除了7株與燒傷中心群突發有關外，其它5株則分佈在其它病房。由於菌株之PFGE型態皆很類似，因此不排除院內有一流行性(epidemic)菌株存在。



圖一 MRSA部份分離菌株的PFGE型

- 1-3：為42病房院內感染分離菌株
- 4,15：為內科加護病房院內感染分離菌株
- 5-9：為燒傷中心院內感染分離菌株
- 10-14：為燒傷中心醫護人員帶菌者分離菌株
- 16-18：為神經加護病房院內感染分離菌株
- M：為分子量標記

## 討 論

燒傷病人因為喪失皮膚的防禦功能，容易被細菌感染或移生(colonization)，此外病患抵抗力弱，而且在植皮，水療過程及使用侵襲性醫療措施時包括：氣管插管、呼吸器及靜脈留置針等，細菌易由醫護人員的手散播，而造成傷口感染或移生。因此燒傷病房的感染率常高於其他病房，根據報告約有30-50%的燒傷病人是因感染而死亡。再者燒傷病人平均住院天數較長，也是易發生院內感染的原因之一。

依本次群突發發生時間推斷，可能是其中一位MRSA帶菌的病人作整形手術時或換藥過程中，藉由醫護人員的手將菌株傳遞給其他病患。我們在其中一位醫護人員身上培養出與病人身上相同菌株型之MRSA，雖不能證明此次MRSA的群突發一定為此醫護人員導致，但我們卻也不能排除這種可能。

為控制這次群突發，我們在病患間採接觸隔離，在接觸病人前後需洗手，強調無菌技術，病患每天以chlorhexidine洗澡，換藥時戴手套，污染敷料包紮送焚化爐，換藥器具送高壓滅菌。侵襲性導管定期更換，病人集中護理；換置衣物床單馬上放入水溶性污衣袋，外套紅色感染性塑膠袋，防止工作人員再感染，限制探訪者時間及人數，與病人接觸需穿隔離衣，床頭不准放置雜物，維持環境乾燥整潔。等病人出院後，燒傷病房單位作終期消毒。經以上控制措施實施後，到目前為止均未有MRSA的感染個案發生。

對帶菌的病患及醫護人員，其鼻腔或

腋下塗抹mupirocin藥膏[9]。mupirocin (pseudomonic acid A)為*Pseudomonas fluorescense*產生的抗生素，可抑制細菌蛋白質的合成。據Doebelling等人[10]的研究，mupirocin連續使用五天（一天三次）的治療，可安全有效地使四分之三帶菌者的鼻腔內MRSA消失，且可長達四週之久。而本院對帶菌者塗mupirocin五天後再複檢，發現帶菌者沒有再培養出MRSA。對菌型與燒傷病人相同之護士在使用mupirocin後，連續採檢三次，也未培養出MRSA。

此次調查造成院內感染的MRSA菌株，所採用的P F G E 菌型分析是利用rarecutting endonuclease把細菌染色體切成數片段，再利用pulse field轉移角度的原理，把這些片段由洋菜膠中分離，為比較性分析法(comparative)，比傳統之分析法如：抗生素感受性分型及血清分型等，更具穩定性，並且能有效區分菌株間的差異性；對往後追蹤調查群突發事件提供很好之範例。為早期偵測群突發之發生，每日應有感染管制人員，閱讀細菌室陽性報告，將特殊菌種保留及電腦歸檔儲存，以免群突發發生後卻找不到菌株，因而無法完整判斷感染的途徑及來源。

對這次處理過程，院內感染管制小組對事件調查及防制措施，發揮了極大功能，且各相關單位也全力配合；使此次事件能儘早落幕，醫院資源不致浪費，減少醫護人員工作量並維護病患的健康。根據國外文獻指出約有30%之院內感染是可以

預防的[11]，所以一專業感染管制小組的設立，將是每一醫院刻不容緩的事。

## 參考文獻

1. Bouret A, Fournier JM, Sudurier A, et al: Epidemiological markers for epidemic strain and carrier isolated in an outbreak of nosocomial oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 1990; 28:1338-41.
2. 吳怡慧，劉清泉，陳俊達等：嬰兒室methicillin抗藥性金黃色葡萄球菌院內感染群突發調查。感控通訊 1995;5:91-6。
3. 孫春轉，楊麗瑟，張上淳等：北部某教學醫院methicillin抗藥性金黃色葡萄球菌院內感染之回顧。感控通訊1993;3(4):6-11。
4. 王志堅，朱夢麟，何令君等：利用分子生物學方法調查MRSA在小兒加護病房所引起的院內感染。感控通訊 1993;3(3):4-6。
5. 林金絲，周明淵，陳依雯等：新生兒皮膚感染群突發之調查。感控通訊1993;3(2):5-9。
6. Carles-Nurit MJ, Christophle B, Broche S, et al: DNA polymorphisms in methicillin-susceptible and methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 1992;30:2092-6.
7. Goetz MB, Mulligan ME, Kwok R, et al: Management and epidemiologic analysis of an outbreak due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Am J Med 1992;92:607-14.
8. Kaufmann ME, Pitt TL: Pulsed-field electrophoresis of bacterial DNA. In: Chart H, ed. Methods in Practical Laboratory Bacteriology. Boca Raton: CRC Press. 1994:83-92.
9. Working Party of the Hospital Infection Society and British Society for Antimicrobial Chemotherapy: Revised guidelines for the control of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Hosp Infect 1990;16:351-77.
10. Doebelling BN, Breneman DL, Neu HC, et al: Elimination of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in health care workers. Analysis of six clinical trials with calcium mupirocin ointment. Clin Infect Dis 1993;17:466-74.
11. Haley RW, Culver DH, White JW, et al: The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections in US hospitals. Am J Epidemiol 1985;121:182-205.