

對萬古黴素敏感度下降的金黃色葡萄球菌

對萬古黴素敏感度下降的金黃色葡萄球菌

陳志榮 黃玉成

長庚兒童醫院 兒童感染科

前 言

由於加護照顧進步，越來越多的侵襲性治療和長期導管放置，使得近幾年院內感染的菌株又回到以革蘭氏陽性菌為主。隨著抗藥性增加，治療這類細菌引起的感染更加棘手。在台灣，1990 年院內感染的金黃色葡萄球菌對 methicillin 的抗藥性是 26.7%；到 1996 年，此數值已經增加到 71.3%[1]。在 2000 年，針對國內 12 家醫院的加護病房的調查發現，對 methicillin 有抗藥性的金黃色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA)比例介於 53%至 83%之間[2]，而且大多數是多重抗藥菌株(multidrug-resistant strain)，即對多種不同類別的抗生素均有抗藥性。除了院內感染之外，在社區也可能感染 MRSA，但大多侷限在一些具有與醫療照護相關危險因子(health-care associated risk factors)的人身上，如慢性病人、近期內開過刀或接受抗生素治療等。近幾年，世界各地陸續出現健康兒童遭 MRSA 感染的病例報告[3-9]，在這些兒童身上找不到所謂的醫療照護相關危險因子，這種在社區得到的 MRSA 主要造成皮膚或表層軟組織感染，一般較院內感染輕微，治療上也較簡單，即使不使用具敏感性的抗生素，大部分病人也能痊癒。不過，令人震驚的是，在美國有四個兒童病例，因在社區感染這種新興的 MRSA 而死亡[10]；報告中指出，延遲使用適當的抗生素可能是治療失敗的原因。

VISA 和 VRSA 的出現

抗藥性的增加和新興菌株的出現，迫使臨床醫師在治療這樣的感染時採取更積極的態度—使用萬古黴素(vancomycin)當作經驗性療法(empiric antimicrobial therapy)。在強大的抗生素篩選壓力(selection pressure)下，對萬古黴素敏感度下降，甚至出現高抗藥性的金黃色葡萄球菌(vancomycin-intermediate or vancomycin-resistant *S. aureus*; VISA 或 VRSA)已經不光是警訊，而是已發生的事實。1997 年，日本首先報告第一株對萬古黴素敏感度下降的金黃色葡萄球菌 Mu50 (MIC 8 mg/L)[11]。不久，美國也有兩個病例報告，德、法、香港等也陸續有病例報告。在 2002 年 6 月，全球首例對 vancomycin 具有抗藥性的金黃色葡萄球菌(VRSA)的臨床個案，終於在美國的密

西根州出現了[12]，是從一個長期洗腎的患者身上所培養出來的。這個四十歲的糖尿病患者，從 2001 年 4 月開始，就因糖尿病造成的慢性足部潰爛的感染，而使用了多種包括 vancomycin 在內的抗生素治療。到了 2002 年 4 月，患者的一個腳指因壞死而截肢，隨後因洗腎用的人工血管感染，造成 MRSA 菌血症，於是以 vancomycin 和 rifampin 來治療，並移除感染的人工血管。同年 6 月，患者再度發生疑似導管置入處的皮膚感染，於是先移除暫時性的洗腎導管，再從拔除的導管以及皮膚的傷口做細菌培養，結果均分離出金黃色葡萄球菌，此菌不僅對 oxacillin 具有抗藥性(MIC>16 mg/L)，也對 vancomycin 具有抗藥性(MIC>128 mg/L)。一星期後，導管置入處的皮膚傷口已經癒合，但患者足部的慢性潰爛處又發生感染；此次的患部培養分離出 VRSA、vancomycin-resistant enterococci(VRE) 和 *Klebsiella oxytoca* 三種細菌。從導管置入處的傷口分離出來的菌株，後來經美國疾病管制局以 broth microdilution 的方法，以及 DNA 部分的定序分析，證實是對 vancomycin 具有抗藥性的金黃色葡萄球菌；其對各類藥物的 MIC 分別為 vancomycin>128* mg/L，teicoplanin=32 mg/L，oxacillin>16 mg/L。此菌同時具有抗 vancomycin 的抗藥性基因(vanA gene)以及抗 oxacillin 的抗藥性基因(mecA gene)。接著，同年的 9 月在美國賓州的一家醫院也有病例報告[13]。這也是一個慢性足部潰瘍疑似骨髓炎的病患，從患處培養出的金黃色葡萄球菌，居然可以在含有 6 mg/L 的 vancomycin-screen agar 上生長；進一步以 E test 測試其 vancomycin 的 MIC 結果達 64 mg/L。後來經美國疾病管制局以 broth microdilution 的方法檢測其 MIC，結果達 32 mg/L，果然證實是對 vancomycin 具有抗藥性的金黃色葡萄球菌；此菌株也同時含有抗 oxacillin 的抗藥性基因(mecA gene)和抗 vancomycin 的抗藥性基因(vanA gene)。

在這些病例報告出現的同時，對於如何定義敏感度下降(decreased susceptibility)和抗藥性(resistance)出現了不同的看法，各種非標準化的實驗室檢測方法也相繼出籠，這些混亂使得在作臨床治療評估和流病調查出現困難，所以有必要儘速釐清。

定義 VISA 和 VRSA

美國 2000 年對 NCCLS (The National Committee for Clinical Laboratory Standards)定義葡萄球菌對萬古黴素的 MIC<4 mg/L 是"susceptible"，MIC 8-16 mg/L 是"intermediate resistant"，MIC>32 mg/L 則訂為"resistant"，VISA 這個名詞即是由此定義而來。至於 VRSA，在不同國家有不同定義，如英國 BSAC (British Society for Antimicrobial Chemotherapy)把 VRSA 定義為對 vancomycin 的 MIC>8 mg/L [14]，日本的研究者也將 24 小時內可在 vancomycin 濃度 4 mg/L 的 BHI(brain heart infusion) screening agar 生長的菌株訂為 resistant，如此 broth dilution MIC 至少是在 8 mg/L [15]。所以，在回顧文獻時應仔細看看作者下的定義，以免混淆。

Heteroresistant VRSA 或 Hetero-VRSA 是另一個容易混淆的名詞，它是指金黃色葡萄球菌菌株中有對 vancomycin 抗藥的菌落，母菌株(parent strains)的 vancomycin MIC 介於 1-4 mg/L 之間，經選擇、繁殖和測試後發現可能有萬分之一的子代(daughter strains) MIC 可達到 8 mg/L。代表性的原型菌株(prototype strains)是由日本學者 Hiramatsu 等人所發表的 Mu3，它的 vancomycin MIC 是介於 1 mg/L 至 2 mg/L 之間。一般來說，這些 Hetero-VRSA 都不是直接由臨床採集的檢體所分離出來的菌株，而是在實驗室裡經 selective medium 篩選出來的，所以 hetero-VRSA 在臨床的重要性不得而知，是否能以此解釋臨床 vancomycin 治療失敗的 *S. aureus* 感染，也還有待評估。

抗藥機轉

之前發現 VRE 帶有 vanA 基因的質體(plasmid)，在實驗室裡，此質體可以由腸球菌轉移到葡萄球菌，使得葡萄球菌也是具有 vancomycin 抗藥性[16]，但至目前為止，在 VISA 還未發現有腸球菌的 vanA，vanB，vanC，vanD，vanE 基因，在 2002 年美國報告的兩例 VRSA 則都同時帶有 vanA 和 mecA 基因。電子顯微鏡的觀察發現，VISA 的細胞壁是其他金黃色葡萄球菌的兩倍厚，分泌較多的細胞壁物質如 peptidoglycan，且自體溶解(autolysis)的速度較快[17]。因此目前的假說皆以此為基礎，認為細胞壁增厚和壁上交互連結(cross-linking)較為疏鬆，D-alanyl-D-alanine dipeptide 含量增加，這樣的改變可使得 VISA/VRSA 的細胞壁將 vancomycin 隔離開來，以此解釋 VISA/VRSA 對 vancomycin 的抗藥機轉[11,18]。

實驗室檢測 VISA/VRSA

NCCLS 定義 VISA 和 VRSA 的同時，也將 disc-diffusion method 判讀的標準定出來，不過此方法不夠敏感，不能當作常規檢測 VISA 的工具。快速自動化的方法，如 MicroScan rapid panels 也無法區分 VISA 和 VRSA。最近改版的 Vitek 系統，據稱已改善對 VISA 的偵測敏感度，可用來檢測 VISA。事實上直接檢測所有的 *S. aureus* 菌株是相當不經濟的，檢測 MRSA 菌株可能是較有效且較容易成功的方法，因大多數的 VISA 和 hetero-VRSA 都是 MRSA。這裡必須強調的是，不管用甚麼方法偵測到的 VISA 菌株，都必須再以標準的方法確認，例如標準的 MIC 測試方法(包括 broth dilution、agar dilution、或 agar gradient diffusion)並培養 24 小時。在 1998 年美國 CDC 的一個偵測 VISA 的研究計畫中發現，美國的實驗室都有能力偵測 VISA，但大多不知道需要進一步作確認。

目前比較方便準確的 VISA 篩選，也是美國 CDC 所採用的方法是：將 MRSA 用市售含 6 mg/L vancomycin 的 BHI agar 培養 24 小時，如果長出菌落，再以 broth microdilution 和 E test 定 MIC，若 broth microdilution 測出的 MIC=8-16 mg/L 且 E test 測出的 MIC>6 mg/L，符合以上三種標準，就定義為 VISA。

要篩選 hetero-VRSA 可能更加困難，美國 CDC 選擇用濃度 10⁶ CFU/mL 的菌液接種在含 6 mg/L vancomycin 的 BHI screening agar 來篩選，日本 Hiramatsu 等人則建議用濃度 10⁸ CFU/mL 的菌液接種在含 4 mg/L vancomycin 的 BHI agar，再加進細胞壁的前趨物(稱做 Mu3 precursor)來篩選 hetero-VRSA[13]，不管用甚麼方法，如前面所說，這些篩出來的 hetero-VRSA 臨床重要性仍不得而知，目前這些方法都只在研究的 protocol 中提出，即使美國也還未將此列入常規檢測。

VISA/VRSA 感染的危險因子

由於實驗室檢測困難，且臨床 VISA/VRSA 引起的感染仍然極少，VISA/VRSA 感染的發生率與危險因子目前無法得知，但從現有的病例報告中，我們可以根據其共通性找到一些可能的危險因子。報告中大多數的病人為長期或最近接受透析治療的病患，且大多有因中央靜脈導管或其他植入體內的醫學材料，引起多次的菌血症並接受 vancomycin 治療的病史，他們常在 VISA/VRSA 感染發生的前 3-6 個月內，接受長期的 vancomycin 治療(長達 6-18 個禮拜)。目前至少有四個病例報告指出，VISA 是從之前存在的 MRSA 菌株發展而來，這些 VISA 菌株和之前存在的 MRSA 菌株有著相似的 PFGE(pulsed-field gel electrophoresis)基因型。所以，這些 MRSA 可能從頭到尾都沒有被消滅，或是被消滅後又從家裡或透析中心感染的病人，在 vancomycin 的 selection pressure 下，終於產生 VISA 菌株。所以，如果要篩選 VISA 菌株，最可能成功的檢測對象，應是這些長期暴露在 vancomycin 下的透析治療患者。

感染控制

美國 CDC 為控制 VISA 感染，已在 1997 年提出一份指導方針(Interim Guidelines for Prevention and Control of Staphylococcal Infection Associated with Reduced Susceptibility to Vancomycin)，其中對防止 VISA 在院內擴散有詳細規範，隸屬於 CDC 的一個委員會 HICPAC (Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee)也對於已證實的 VISA 或 VRSA 感染提出院內感控建議(見附註)[19]，雖然至目前為止仍無 VISA/VRSA 由原來的病人(index case)轉移至第二個病人的病例報告，但有鑑於 MRSA 的高傳染性，VISA/VRSA 應該也有類似的特性，若萬一出現 VISA/VRSA 感染，院內

感控必須比照 VRE 患者的隔離政策來執行，以杜絕傳播。要防止繼續出現 VISA 或 VRSA，最重要的還是合理的使用抗生素，特別是 vancomycin，儘量縮短經驗性抗生素的使用時間，避免不必要的使用中心靜脈導管，諮詢感染症專家來處理金黃色葡萄球菌感染，這些方式都能幫助防止 VISA 和 VRSA 的發生。

治療 VISA/VRSA

美國的六例 VISA 感染中，有一例是死後才培養出 VISA，其他五例皆在六個月後死亡，有兩例是可能直接死於 VISA 感染。由此看來，VISA 的確是具有致病力，也需要積極治療。從德國、法國和美國報告的 VISA 菌株看來，這些菌株對一些常見的抗生素，如 trimethoprim-sulfamethoxazole，和新開發的抗生素如 linezolid 和 quinupristin-dalfopristin 仍然有效 [20]。治療這些菌株引起的感染，通常繼續使用 vancomycin 一段時間，並加上 aminoglycoside、rifampin 或 ampicillin-sulbactam。最近的 VISA 治療研究，建議使用 β -lactam 加上 vancomycin 來治療，在 in vitro 的研究發現，若同時加上 nafcillin 或 cefazolin，低濃度的 vancomycin 即可以抑制 VISA 生長[21,22]，而且菌株對 vancomycin 的 MIC 愈高，對抗生素合併治療的效果愈好[23]。在動物實驗也有類似發現，單獨使用 vancomycin 或 nafcillin 治療兔子的心內膜炎無效，合併使用這兩種藥物則可減少細菌量。

總 結

VISA/VRSA 感染病例已經陸續出現，也的確有因使用 vancomycin 治療失敗的病例，雖然新開發的抗生素對 VISA/VRSA 在體外測試有效，在臨床使用治療 VISA/VRSA 經驗仍有限。台灣至目前還沒有 VISA 相關的文獻報告，可能不代表沒有 VISA/VRSA，而是微生物實驗室缺少完整且敏感的檢驗流程和方法。為防止 VISA/VRSA 的產生和散播，臨床醫師應遵循抗生素使用原則，合理的使用 vancomycin，遇 MRSA 感染但對 vancomycin 治療反應不佳，應將 VISA/VRSA 列入考慮，萬一出現 VISA/VRSA，院內感控系統應立即啟動，防止 VISA/VRSA 進一步擴散。

附 註

防止 VISA/VRSA 院內散播的感控措施[19]：

1. 病人於單人房隔離
2. 以可接受的最少人力照護此病人（例如：指定專門醫護團隊照護 VISA/VRSA 病人）
3. 照護時採取適當的防護措施
 - i. 使用接觸傳染防護措施(進病房前戴手套和穿隔離衣)

- ii.在進行可能造成體液飛濺的醫療行為時(如抽痰、傷口處理)，應戴口罩眼罩或面罩
 - iii.使用適當的消毒劑洗手(如含酒精或殺菌劑的洗手液)
 - iv.非拋棄式也無法作滅菌處理的物品(如量血壓的 cuff)應讓 VISA/VRSA 病人自己使用一套，不可與其他病患共用
 - v.嚴格遵守接觸傳染的防護措施，也要有專人監督
- 4.與當地衛生單位或疾管局合作，作流病調查和實驗室研究
- 5.教育並告知院內員工(如下列)有 VISA/VRSA 的病人，並要求作接觸傳染的防護措施
- i.照護病人的醫師
 - ii.安排病人住院或急診室的人員
 - iii.安排病人住進某特定單位的人員
 - iv.病人轉院時的輸送人員
- 6.以下的人員採前鼻腔和手部檢體作培養，確定是否有傳播情形
- i.跟此病患身體接觸者
 - ii.此病患的照護者
-
- iii.此病患的室友
- 7.專門監督的人員評估這些防護措施的成效
- 8.在讓病人轉院或出院時，照會當地衛生單位或疾管局人員

參考文獻

- 1.Chen ML, Chang SC, Pan HJ, et al: Longitudinal analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates at a teaching hospital in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 1999;98:426-32.
- 2.Hsueh PR, Liu YC, Yang D, et al: Multicenter surveillance of antimicrobial resistance of major bacterial pathogens in intensive care units in 2000 in Taiwan. *Microb Drug Resist* 2001;7:373-82.

3. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, et al: Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a metaanalysis. *Clin Infect Dis* 2003;36:53-9.
4. Fergie JE, Purcell K: Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in south Texas children. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:860-3.
5. Frank AL, Marcinak JF, Mangat PD, et al: Community-acquired and clindamycin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:993-1000.
6. Gorak EJ, Yamada SM, Brown JD: Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitalized adults and children without known risk factors. *Clin Infect Dis* 1999;29:797-800.
7. Herold BC, Immergluck LC, Maranan MC, et al: Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. *JAMA* 1998;279:593-8.
8. Hussain FM, Boyle-Vavra S, Daum RS: Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in healthy children attending an outpatient pediatric clinic. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:763-7.
9. Salmenlinna S, Lyytikäinen O, Vuopio-Varkila J: Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Finland. *Emerg Infect Dis* 2002;8:602-7.
10. From the Centers for Disease Control and Prevention. Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*- Minnesota and North Dakota, 1997-1999. *JAMA* 1999;282:1123-5.

11. 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.
12. CDC: *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin - United States, 2002. *MMWR* 2002;51:565-7
13. CDC: Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* Pennsylvania, 2002. *MMWR* 2002;40:902.
14. Anonymous: Breakpoints in in-vitro antibiotic sensitivity testing. Report by a working party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *J Antimicrob Chemother* 1988;21:701-10.
15. 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.
16. Noble WC, Virani Z, Cree RG: Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 1992;72:195-8.
17. Cui L, Murakami H, Kuwahara-Arai K, et al: Contribution of a thickened cell wall and its glutamine nonamidated component to the vancomycin resistance expressed by *Staphylococcus aureus* Mu50. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:2276-85.

18. Avison MB, Bennett PM, Howe RA, et al: Preliminary analysis of the genetic basis for vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* strain Mu50. *J Antimicrob Chemother* 2002;49:255-60.

19. CDC: Health department and infection control guidance. March 11, 2003.
http://www.cdc.gov/ncidod/hip/ARESIST/vrsa_guide.pdf

20. Tenover FC, Lancaster MV, Hill BC, et al: Characterization of staphylococci with reduced susceptibilities to vancomycin and other glycopeptides. *J Clin Microbiol* 1998;36:1020-7.

21. Howe RA, Wootton M, Bennett PM, et al: Interactions between methicillin and vancomycin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains displaying different phenotypes of vancomycin susceptibility. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3068-71.

22. Sieradzki K, Tomasz A: Gradual alterations in cell wall structure and metabolism in vancomycin-resistant mutants of *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 1999;181:7566-70.

23. Climo MW, Patron RL, Archer GL: Combinations of vancomycin and beta-lactams are synergistic against staphylococci with reduced susceptibilities to vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:1747-53.