

中部某地區醫院微生物實驗室檢體受羅爾斯頓氏菌 (*Ralstonia species*) 汙染之事件調查與改善

林家瑩¹ 陳裕娟¹ 吳美慧¹ 王正惠² 柳俊余² 張志演^{2,3}

員林基督教醫院 ¹檢驗科 ²感染管制室 ³感染科

羅爾斯頓氏菌 (*Ralstonia species*) 為一種伺機性革蘭氏陰性菌，常存在於水、土壤和植物中。在醫療環境中，可以通過污染的溶液引起醫療相關感染或群突發。我們報告了在台灣中部一家地區醫院微生物實驗室中，因生理食鹽水分裝瓶汙染引起的羅爾斯頓氏菌偽群突發 (pseudo-outbreak)。在 2020 年 4 月至 7 月間，在此家醫院共出現 5 例羅爾斯頓氏菌病例。經調查發現，微生物實驗室用來濕潤手術組織培養檢體的生理食鹽水分裝瓶溶液，被羅爾斯頓氏菌所汙染，可能是此次偽群突發發生的原因。經進行改善措施，包括：對微生物實驗室工作人員進行無菌技術的教育訓練與稽核及明文規定，使用一次性生理鹽水小瓶代替生理食鹽水分裝瓶來濕潤手術組織培養檢體等，自 2020 年 7 月 7 日後未發現新的羅爾斯頓氏菌病例。此次羅爾斯頓氏菌偽群突發事件再次提醒我們，及時的群突發辨識機制和發現微生物實驗室運作過程中的缺失，以避免誤導臨床診斷和治療是非常重要的。(**感控雜誌 2023;33:339-347**)

關鍵詞：羅爾斯頓氏菌、偽群突發、檢體汙染、無菌操作

前 言

羅爾斯頓氏菌屬 (*Ralstonia species*) 是一種革蘭氏陰性、氧化酶

陽性、非發酵性細菌，最早被歸類為綠膿桿菌屬 (*Pseudomonas*)，之後被分類到柏克氏菌屬 (*Burkholderia*)，直到 1995 年才更名為羅爾斯頓氏

民國 112 年 2 月 24 日受理
民國 112 年 4 月 14 日修正
民國 112 年 11 月 7 日接受刊載

通訊作者：張志演
通訊地址：彰化縣員林市莒光路 456 號
通訊電話：04-8381456

DOI: 10.6526/ICJ.202312_33(6).0001

中華民國 112 年 12 月第三十三卷六期

菌，目前包括有 *R. pickettii* (*Ralstonia pickettii*)、*R. solanacearum* (*Ralstonia solanacearum*)、*R. insidiosa* (*Ralstonia insidiosa*) 和 *R. mannitolilytica* (*Ralstonia mannitolilytica*) 等菌種 [1,2]。羅爾斯頓氏菌在潮濕的環境中生長良好，常存在水、土壤及植物中，雖然常被視為一種低毒力的環境污染菌，但在醫療環境中，有許多報告指出可以造成患者的伺機性感染，特別在免疫力低下族群，甚至可能導致嚴重或致命性的感染疾病，如菌血症、骨髓炎、腦膜炎等 [3-9]。由於羅爾斯頓氏菌可以適應低營養環境而生存，在醫療環境可以在各種不同的供水管路及溶液中檢測到此菌的污染，包括醫院供水系統、皮膚消毒劑、用於病人或實驗室診斷的生理食鹽水、醫藥產品中的純化/蒸餾水、血液培養瓶以及醫療用化妝品類等 [10]。根據過去的文獻案例，醫院中羅爾斯頓氏菌的感染通常與受污染的溶液、醫療用品或儀器有關，常導致群聚事件發生 [11-14]。例如在國內某醫院曾發生皮氏羅爾斯頓氏菌 (*R. pickettii*) 菌血症群聚事件，經過謹慎之流行病學調查和物品採驗，確認感染來源為在藥物製程中遭到污染的生理食鹽水注射液 [13]。同時也有研究報導微生物實驗室的用物及設備遭受污染，而導致羅爾斯頓氏菌分離件數異常增加 [15,16]。本篇研究即為中部某地區醫院於 2020 年 6 月至 7 月期間，因羅爾斯頓氏菌感染個案增加

而疑為群聚事件，最後發現微生物實驗室所使用的生理食鹽水導致檢體汙染及後續改善措施之調查報告。

材料與方法

一、背景介紹

本研究報告之醫院為中部某地區醫院，有急性病床 216 床，手術室 11 間（含 Hybrid OR 1 間），手術切片組織檢體培養年平均為 155 件。因感染科醫師發現於 2020 年 6 月 17 日及 6 月 30 日有兩位神經外科個案之手術組織檢體培養為解甘露糖羅爾斯頓氏菌 (*R. mannitolilytica*)，疑為群突發 (outbreak)，故於 2020 年 6 月 30 日通報感染管制室進行調查。

二、調查經過

調查小組包括感染科醫師、感管師及感染管制醫檢師，於 2020 年 6 月 30 日啟動調查，除了回溯半年內之手術培養報告外，並持續監測是否有新增臨床個案。因 6 月 17 日及 6 月 30 日間發生之個案皆為接受神經外科手術之患者，調查小組決定先以神經外科手術室環境、器材及溶液遭汙染的假說方向進行調查，針對手術室環境及檢體採集流程中可能造成汙染的器具、醫材、耗材與溶液進行調查與採樣，包含：手術室刀房內生理食鹽水、剩餘消毒溶液、共同使用醫耗材、檢體採檢盒、器械、刷手台水以及浸泡檢體使用之生理食鹽水，分

別於7月6日至7月13日間陸續完成採檢共32件檢體。在針對神經外科手術室之調查過程中，於2020年7月2日及7月7日又分別監測到一位膿胸接受手術之胸腔外科患者的肋膜組織檢體及一位整型外科門診手術患者的皮膚組織檢體，亦分離出羅爾斯頓氏菌。同時手術室環境、醫耗材及溶液之檢體均未檢出羅爾斯頓氏菌，所以調查小組進一步往負責檢體處理及培養之微生物實驗室進行調查。經過瞭解，微生物實驗室在收到手術室送檢的細菌培養檢體，若檢體較乾或份量較小，會在檢體中加入生理食鹽水使其保持濕潤，部份實驗室收檢人員會取用血庫組血清瓶分裝之生理食鹽水做浸泡保濕動作，因此對分裝的血清瓶（1瓶）及同批號之原廠生理食鹽水（庫房內之生理食鹽水均為同一批號，故僅採檢一件）進行採樣，結果同批號之原廠生理食鹽水無細菌生長，而血清瓶內分裝之生理食鹽水檢出解甘露糖羅爾斯頓氏菌 (*R. mannitolilytica*)。調查時序如圖一。

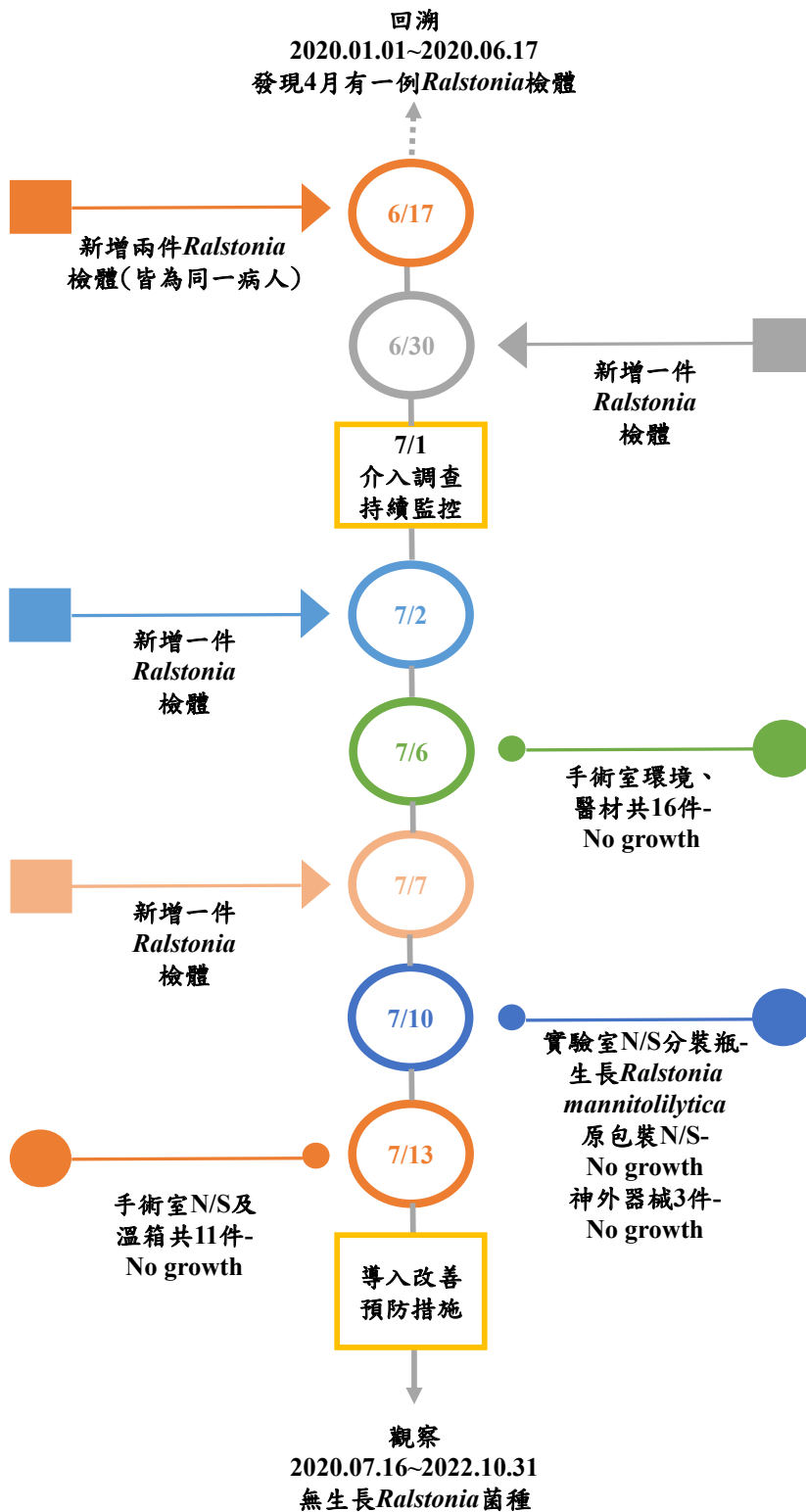
三、檢體採集流程及檢驗方法

手術室環境採檢方法為將溶液倒入非選擇性培養基 thioglycollate broth 中，或用無菌棉棒塗抹器具表面再折進 thioglycollate broth 中，放至 35°C 一般培養箱隔夜培養，觀察 broth，不論混濁與否，皆次培養至 blood agar plate (BAP, 血瓊脂平板) / eosin methylene blue medium (EMB, 伊紅

美藍培養基)，放至 35°C 5%CO₂ 培養箱隔夜培養，觀察細菌生長結果。手術室送檢微生物傷口或組織檢體之培養，醫護人員會將檢體採集於培養拭子或以無菌容器送驗；實驗室人員將檢體接種於血瓊脂平板 (blood agar plate, BAP)、伊紅美藍培養基 (eosin methylene blue medium, EMB) 等滋養或選擇性培養基，放置於 35°C 5%CO₂ 培養箱 16-18 小時後判讀，羅爾斯頓氏菌是一種非發酵性、氧化酶陽性之革蘭氏陰性桿菌，實驗室以自動微生物分析儀 VITEK 2 Compact 進行鑑定。

結 果

此次群突發事件自 2020 年 6 月 17 日起至 2020 年 7 月 7 日止，發現來自 4 位患者的 5 件手術檢體中培養出羅爾斯頓氏菌。另往前回溯半年至 2020 年 1 月 1 日之手術培養檢體資料，發現於 2020 年 4 月 12 日有另一位個案（個案 1）之手術檢體分離出羅爾斯頓氏菌。在全部 5 位患者中，有 4 位患者接受神經外科手術，1 位胸腔外科手術，1 位整形外科手術，患者之臨床資料總結如表一。培養出羅爾斯頓氏菌之 6 件臨床檢體中，有 2 件檢體菌株鑑定為羅爾斯頓氏菌屬 (*Ralstonia* species)，無法進一步鑑定種名，4 件鑑定為解甘露糖羅爾斯頓氏菌 (*R. mannitolilytica*)。有 2 隻菌株（菌株 2 及菌株 3）來自於同一位患



圖一 群突發調查時序表

者（個案 2）在同一天不同部位的手術檢體（disc tissue 及 bone），同時在菌株 3 的檢體中亦分離出少動鞘脂單胞菌 (*Sphingomonas paucimobilis*)。有 2 位病人（個案 1 及個案 2）在細菌培養報告後，更改了抗生素的治療。菌株之臨床資訊及敏感性報告詳列於表二。針對手術室環境、醫耗材及溶液所進行的進行採樣培養，結果皆無細菌生長；而實驗室血清瓶中分裝的

生理食鹽水培養鑑定結果為解甘露糖羅爾斯頓氏菌 (*R. mannitolilytica*)，但檢測同批號原包裝之生理食鹽水無細菌生長（表二）。

介入措施與改善

經小組調查訪談發現，實驗室收檢人員收到乾的組織塊時，會浸泡生理食鹽水以保持濕潤，大部分的醫檢

表一 群突發個案臨床資料

個案編號	性別	年齡	手術年/月	臨床診斷	抗生素治療	是否根據培養更改抗生素治療
1	男	57	2020/4	第 12 節胸椎 / 第 1 節腰椎間盤炎	Cefuroxime, Cefepime, Ciprofloxacin	是
2	男	69	2020/6	第 3 及第 4 節腰椎間盤炎及骨髓炎併膿瘍	Oxacillin, Teicoplanin, Ciprofloxacin, Cefepime	是
3	男	46	2020/6	第 4、5 節腰椎間盤破裂併脊髓及神經根壓迫	Oxacillin	否
4	女	57	2020/7	右側膿胸	Levofloxacin, Ampicillin-sulbactam, Amoxicillin-clavulante	否
5	男	36	2020/7	皮膚良性腫瘤	無	否

表二 手術室及實驗室之器械、醫耗材與溶液採樣培養結果

單位別	採檢日期	檢體備註	培養結果
手術室	2020/7/6	生理食鹽水 *8 件	No growth
手術室	2020/7/6	其它溶液 *4 件	No growth
手術室	2020/7/6	醫耗材 *4 件	No growth
手術室	2020/7/10	器械 *3 件	No growth
實驗室	2020/7/10	血清瓶分裝之生理食鹽水 *1 件	<i>Ralstonia mannitolilytica</i>
實驗室	2020/7/10	與分裝瓶同批號之生理食鹽水 *1 件	No growth
手術室	2020/7/13	生理食鹽水 *10 件	No growth
手術室	2020/7/13	其他溶液 *1 件	No growth

師以單包裝的生理食鹽水進行濕潤，但有少數醫檢師會取用血庫組血清瓶中的生理食鹽水。在血庫作業中，血清瓶之生理食鹽水不需達到無菌狀態，僅需保持清潔即可，故血清瓶未經滅菌即重複用來分裝生理食鹽水。小組對受理此 6 件檢體之醫檢師進行個別訪談，確認醫檢師為保持檢體的濕潤度，使用了血清瓶之生理食鹽水，故而研判分離出羅爾斯頓氏菌之檢體，遭受血清瓶之生理食鹽水的汙染。

調查結果研判此事件起因於實驗室人員忽略無菌操作程序而導致檢體汙染，故導入以下改善預防措施：

(1) 無菌觀念教育訓練：由微生物技術組長執行單位內醫檢師兩場無菌觀念相關教育課程，內容包含「無菌物品操作原則」與「實驗室無菌操作作業」。內容新增微生物培養檢體為乾燥類型之檢體如 Tissue、Bone 等，專責負責人員應於生物安全操作櫃內，每個檢體皆以單包裝無菌生理食鹽水執行無菌浸泡作業，並將此教育課程納入新進醫檢師必修訓練。(2) 修訂實驗室無菌操作標準作業程序：將上述微生物培養檢體前處理操作步驟書面化。(3) 實施稽核作業：由微生物技術組長以觀察法，定期稽核收檢人員微生物培養檢體前處理無菌作業的落實，每月執行 1 件，以持續教育及審查人員之無菌操作，以達到無菌作業之落實與精進。經導入上述預防措施後，追蹤自 2020 年 7 月 16 日

至 2022 年 10 月 31 日期間，手術外科檢體皆無培養出羅爾斯頓氏菌。

討 論

羅爾斯頓氏菌雖然是存活於環境中的細菌，但近年來報告被認為是造成院內群聚感染的新興病原體，可透過醫院中使用於病患的溶液、醫材及設備，造成病患的感染疾病 [6,10]。過去的研究亦發現在微生物實驗室中，可能因細菌培養時所使用的溶液、物品及設備受汙染，而使臨床檢體分離出羅爾斯頓氏菌，造成臨床治療的影響。在 Ne'vine Boutros 等人的報告中，作者所在的醫院在 2000 年 3 月至 11 月共 9 個月的期間內，從接種在血液培養基中的各種生物樣本中分離出 14 株皮氏羅爾斯頓氏菌 (*R. pickettii*)，汙染源被證明來自血液培養瓶的瓶蓋 [15]。而 Edwards, B. D. 也報告了 3 例從人工關節和骨科植入物在微生物實驗室進行超音波震盪處理後，培養出皮氏羅爾斯頓氏菌 (*R. pickettii*) 的案例 [16]。本篇研究則為實驗室人員取用受汙染的溶液來濕潤手術檢體後進行培養，而導致檢出羅爾斯頓氏菌 (*Ralstonia species*)。

微生物實驗室在臨床細菌感染的治療及抗生素中管理扮演一個重要的角色，及時、可信、且可重複驗證的培養結果可提供醫師臨床治療的依據，而檢體的汙染造成的錯誤報告，可能誤導臨床醫師判斷，造成不必要

的抗生素治療，故細菌培養檢體的無菌操作相當重要。此次檢體污染事件在啟動調查之前，有兩位患者因細菌培養結果而更改了抗生素的治療，雖經病歷回顧，未發現這兩位病人有因此產生感染疾病的惡化或因藥物相關的副作用，但仍可能讓患者使用了不必要的抗生素治療。因此此事件應視為一系統性缺失，若非因羅爾斯頓氏菌為非常見之致病菌且異常增加，此項缺失可能持續造成檢體污染一段時

間而未被察覺。

本篇報告仍有許多不足之處：因本院菌株保存空間有限，僅針對來自於血液培養及重要無菌體液培養（腦脊髓液）之菌株進行保存，故此事件在進行調查之前的臨床菌株未被留存，且因本院實驗室未具備將菌株進一步分型的設備與能力，所以我們無法確認臨床菌株是否源於環境菌株。而臨床菌株之間亦有鑑定及藥物敏感性的差異（表三），可能非屬於同一

表三 臨床分離菌株感受性一覽表

菌株編號	1	2	3	4	5	6
檢體來源	個案 1	個案 2	個案 2	個案 3	個案 4	個案 5
分離日期	2022/4/12	2022/6/17	2022/6/17	2022/6/30	2022/7/2	2022/7/7
檢體別	Tissue	Tissue:disc	Bone	Bone	Tissue: pleural peel	Tissue: skin tumor
菌株鑑定名稱	<i>Ralstonia</i> <i>spp.</i>	<i>Ralstonia</i> <i>mannitolilytica</i>	<i>Ralstonia</i> <i>mannitolilytica</i>	<i>Ralstonia</i> <i>mannitolilytica</i>	<i>Ralstonia</i> <i>mannitolilytica</i>	<i>Ralstonia</i> <i>spp.</i>
藥物 / 敏感性測試 結果						
Piperacillin	R	I	I	S	R	R
Piperacillin- tazobactam	I	I	I	S	R	R
Ceftazidime	S	I	I	S	S	S
Cefepime	S	S	S	S	S	S
Imipenem	S	S	I	S	S	S
Gentamicin	S	S	S	S	S	S
Amikacin	S	S	S	S	S	S
Trimethoprim- sulfamethoxazole	S	S	S	S	S	S
Ciprofloxacin	S	S	S	S	S	S
Tigecycline	S	S	S	S	S	S

菌株造成之群突發。不過因血清瓶中之生理食鹽水為唯一之環境中陽性來源，且經介入改善之後經長時間監測無新增之個案，故懷疑這段期間羅爾斯頓氏菌增加來自微生物實驗室污染是合理的。

透過此次實驗室微生物檢體污染之事件與檢討改善，實驗室已針對無菌作業與感染管制觀念持續強化與訓練、定期審視與持續更新文件規範、舉辦無菌操作教育訓練課程與實施稽核作業，持續教育及審查人員之無菌操作，透過說、寫、做合一，期能有效管控微生物實驗室之檢驗品質，以避免檢體污染事件再次發生。另外，臨床端、實驗室與感管室對於短期內持續發生不常見之微生物報告，應有警覺心，經過系統性檢視，迅速且正確找到群聚事件發生原因，並介入適當之感染管制措施，進一步防止群聚感染事件的發生。

參考文獻

- 張雅媛、鄭正威、顧文璋：皮氏羅爾斯頓氏菌 (*Ralstonia pickettii*) 與血液透析相關感染。感控雜誌 . 2021;31:67-72。
- Yabuuchi E, Kosako Y, Yano I, et al: Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. Nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. Nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. Nov. Microbiol Immunol. 1995;39:897-904.
- Vanechoutte M, De Baere T, Wauters G, et al: One case each of recurrent meningitis and hemoperitoneum infection with *Ralstonia mannitolilytica*. J Clin Microbiol 2001;39:4588-90.
- Coenye T, Vandamme P, LiPuma JJ: Infection by *Ralstonia* species in cystic fibrosis patients: identification of *R. pickettii* and *R. mannitolilytica* by polymerase chain reaction. Emerg Infect Dis 2002;8:692-6.
- Dotis J, Printza N, Orfanou A, et al: Peritonitis due to *Ralstonia mannitolilytica* in a pediatric peritoneal dialysis patient. New Microbiol 2012;35:503-6.
- Ryan MP, Adley CC: *Ralstonia* spp.: emerging global opportunistic pathogens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2014;33:291-304.
- Boattini M, Bianco G, Biancone L, et al: *Ralstonia mannitolilytica* bacteraemia: a case report and literature review. Infez Med 2018;26:374-8.
- Aldhafeeri WF, Habalrih F, Al Omar AH, et al: Postoperative cerebrospinal fluid infection by *Ralstonia mannitolilytica*: Two case reports and a literature review. Surg Neurol Int 2022;13:602.
- Papagrigorakis E, Vavourakis M, Vlachos C, et al: Osteomyelitis Caused by *Ralstonia mannitolilytica*, a Rare Opportunistic Pathogen. Cureus 2022;14:e24151.
- 陳瑛瑛、王復德：環境無所不在之 *Ralstonia pickettii* 菌。感控雜誌 2015;25:176-82。
- Liu CX, Yan C, Zhang P, et al: *Ralstonia mannitolilytica*-Induced septicemia and homology analysis in infected patients: 3 case reports. Jundishapur J Microbiol. 2016;9:e34373.
- Said M, van Hougenhouck-Tulleken W, Naidoo R, et al: Outbreak of *Ralstonia mannitolilytica* bacteraemia in patients undergoing haemodialysis at a tertiary hospital in Pretoria, South Africa. Antimicrob Resist Infect Control. 2020;9:117.
- Chen YY, Huang WT, Chen CP, et al: An outbreak of *Ralstonia pickettii* bloodstream infection associated with an intrinsically contaminated normal saline solution. Infect Control Hosp Epidemiol. 2017;38:444-8.
- Lucarelli C, Di Domenico EG, Toma L, et al: *Ralstonia mannitolilytica* infections in an oncologic day ward: description of a cluster among high-risk patients. Antimicrob Resist Infect Control. 2017;6:20.
- Boutros N, Gonullu N, Casetta A, et al: *Ralstonia pickettii* traced in blood culture bottles. J Clin Microbiol. 2002;40:2666-7.
- Edwards BD, Somayaji R, Missaghi B, et al: Prosthetic joint and implant contamination caused by *Ralstonia pickettii*: a report of three cases. SICOT J. 2017;3:32.

Pseudo-outbreak of *Ralstonia* species Infections by Laboratory Contamination of Saline Solution at a District Hospital in Central Taiwan

Jia-Ying Lin¹, Juh-Jyuan Chen¹, Mei-Hui Wu¹, Cheng-Hui Wang²,
Chun-Yu Liu², Chin- Yen Chang^{2,3}

¹Department of Laboratory, ²Department of Infection Control and Prevention,

³Divisions of infectious diseases, Department of Internal medicine,

Yuanlin Christial Hospital, Yuanlin, Taiwan

Ralstonia species is an emerging pathogen, and an opportunistic gram-negative bacterium that often exists in water, soil, and plants causing healthcare-associated infections or outbreaks through contaminated solutions. We report a pseudo-outbreak of *Ralstonia* species infections resulting from a contaminated saline dispenser in the microbiological laboratory at a hospital in central Taiwan. A cluster of five cases with *Ralstonia* species infections was noted from April to July in 2020. The investigation revealed that contamination of the dispensed saline solution by the *Ralstonia* species used for damping desiccated surgical specimens in the microbiological laboratory may have caused the pseudo-outbreak. After using single-used saline vials instead of dispensed saline solution for the laboratory procedure and implementation of education program on sterile technique for the microbiological laboratory staffs, no new case of infection by *Ralstonia* species was identified. Thus, rapid identification and correction of flaws in running processes in a microbiological laboratory is crucial to avoid misdiagnoses and treatments in clinical patients.

Keywords: *Ralstonia*, pseudo-outbreak, sample contamination, aseptic technique