

自臨床檢體和醫院環境所分離 *Sphingomonas paucimobilis* 菌株之生化和抗藥性分型

陳玉姬¹ 潘惠如¹ 薛博仁¹ 鄧麗珍^{1,2} 何憲武^{1,2} 陸坤泰¹

¹台大醫院檢驗醫學部 ²台大醫學院醫事技術學系

從1995年1月至1996年9月，在某教學醫院，共分離出14株 *Sphingomonas paucimobilis*，其中11株分別由6個院內感染病患之臨床檢體（血液5株，膽汁、膿液，尿液，痰，傷口，和Port-A Cath各一株），3株由醫院內不同環境檢體（腹膜透析液，呼吸器潮濕瓶，自來水）培養分離出。這些菌株以API 20NE系統和Vitek GNI卡分析其生化型，並同時以紙錠擴散法來測定菌株對十種常用抗生素之感受性，並決定其抗藥性分型。結果發現由不同病患和不同環境來源之分離菌株其生化分型，皆不同，但由同一病患分離出之菌株其生化分型相同。這些菌株對cefotaxime，imipenem，minocycline，amikacin，和trimethoprim/sulfamethoxazole大部分均具感受性。部分抗藥型在不同病患之分離菌株是相同的。我們認為常規細菌檢驗室可用生化分型法對由*S. paucimobilis*所引起院內感染之流行病學調查作初步之分型。（感控雜誌1997；7：269~276）

關鍵詞：*Sphingomonas paucimobilis*，生化分型，抗藥性分型

前言

Sphingomonas paucimobilis 舊名 *Pseudomonas paucimobilis*，為一種會產生黃色色素，不發酵葡萄糖之革蘭氏陰

性桿菌[1]。此菌具單一端鞭毛，不太活動，故名“*paucimobilis*”[1]。他們存在於各種自然環境中（水和土壤），且造成各式各樣的社區感染和院內感染[1-5]。據報告，此菌引起之院內感染群突發常和醫用器械，各種治療方式或留置導管之污染有關[2-9]。

本研究針對由六位院內感染病例所分離之11株*S. paucimobilis*菌株和3株由醫院環境所分離之菌株作生化和抗微生物製

民國86年6月14日受理

民國86年6月26日修正

民國86年8月4日接受刊載

聯絡人：陸坤泰

聯絡地址：台北市中山南路7號

台灣大學醫學院附設醫院 檢驗醫學部

聯絡電話：(02) 3562150 傳真：(02) 3224263

劑感受性之分型。探討此二種初步之分型法在常規細菌檢驗室作為*S. paucimobilis*院內感染流行病學調查之可行性。

病例與方法

一、臨床病例收集

自1995年1月至1996年9月，在某教學醫院共發現六名*S. paucimobilis*院內感染病人，並由這些病人之各種臨床檢體共分離出11株菌株。在同時期，由醫院環境中也分離出3株*S. paucimobilis*，分別是EI-1（腹膜透析液），EI-2（呼吸器潮溼瓶）和EI-3（自來水）。考查六位病人之臨床資料，就其性別，年齡，潛在性疾病，臨床診斷，留置導管使用與否，菌株分離之來源和日期等加以分析並與環境分離菌種加以比較。

二、菌株之鑑定

所有14菌株均以傳統方法分離和鑑定，並以Vitek GNI卡（Vitek System, bioMerieux Vitek, Hazelwood, MO, USA）和API 20NE系統（bioMerieux, Marcy-I'Etoile, France）反應結果輔助鑑定，同時以氣相色譜法分析其菌體脂肪酸成份作進一步菌種之鑑定[10,11]。

三、生化分型（biotyping）

由氧化酶反應（oxidase reaction），Vitek GNI卡和API 20NE系統所得之結果來決定其生化型。

四、抗微生物製劑感受性測試和抗藥性分型（resistotyping）

使用紙錠擴散法測試十種抗生素之感受性。這十種抗生素包括cephalothin, cefuroxime, cefotaxime, ceftazidime,

imipenem, ciprofloxacin, minocycline, trimethoprim/sulfamethoxazole, tobramycin, 和amikacin。菌液濃度之調整（McFarland standard 0.5），培養基之種類，和培養條件均參照NCCLS（National Committee for Clinical Laboratory Standards）之指引[12]。*Staphylococcus aureus* ATCC 25923，*Escherichia coli* ATCC 25922，和*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853為對照菌株。若菌株間抗生素之感受性結果（resistant, intermediate, susceptible）全部相同，則認定這些菌株之抗藥性分型是相同的（same resistotype）。

結果

一、臨床病例分析

如表一所示，六個病患中，三位男性，三位女性。三個有惡性腫瘤（病例1，2，和6）。六位病患得到*S. paucimobilis*感染均屬於院內感染。四個病例，體內有各種不同留置裝置，而臨床感染均和這些留置裝置有關（indwelling device-related infection）。這些病患經適當的抗生素治療和拔除留置裝置後感染均獲有效之控制。但病例6，其Port-A cath之拔除在血液培養得知為*S. paucimobilis*陽性一個月後。拔除前之血液培養和拔除之導管尖端均長出*S. paucimobilis*。

二、菌株鑑定

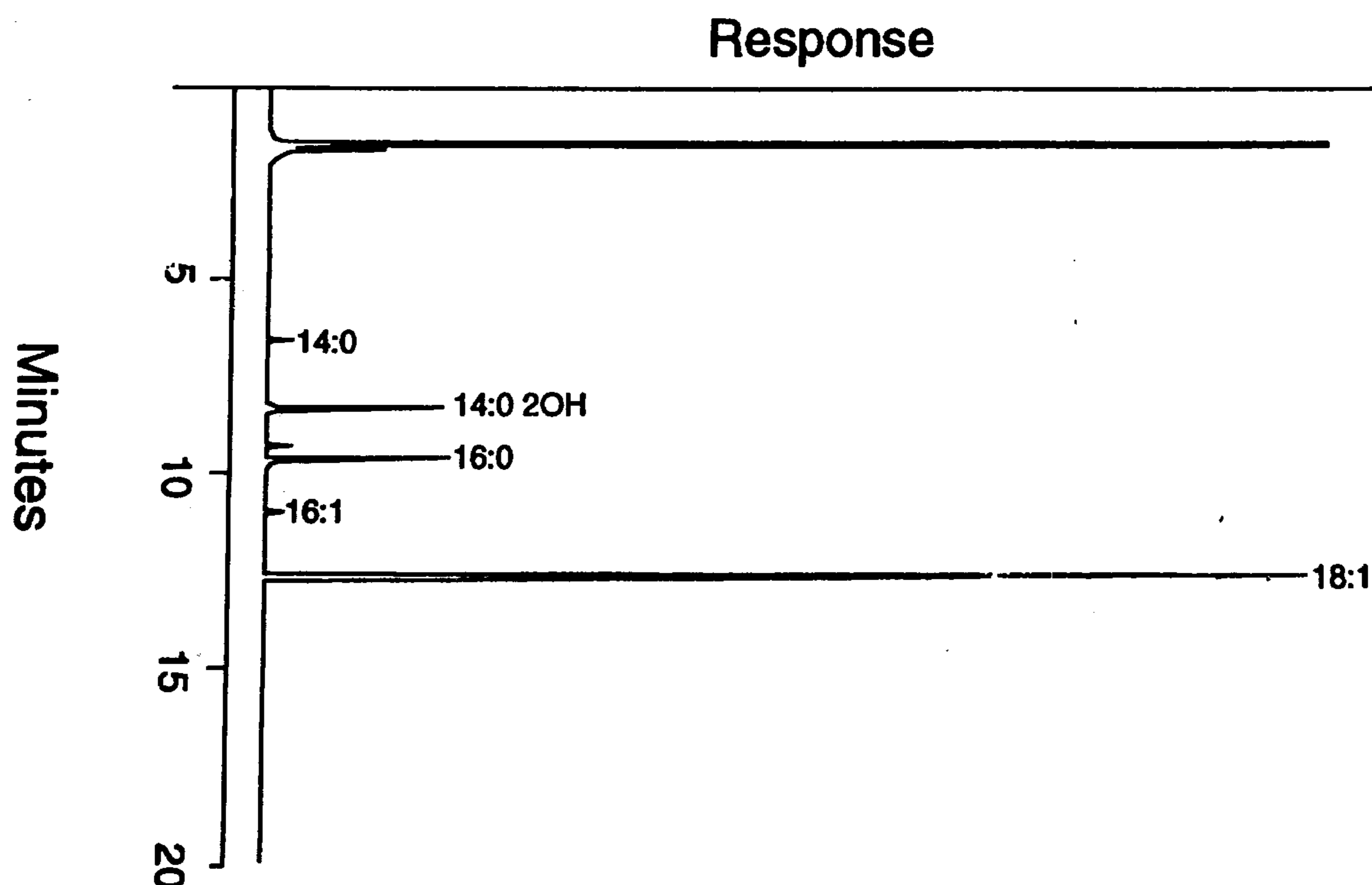
所有分離菌株均是革蘭氏陰性，葡萄糖非發酵性之桿菌。在含5%之羊血培養基（BBL Microbiology System）35°C溫箱上培養48至72小時菌落呈現黃色。氧化酶反應是不一致的（表二）。經Vitek GNI卡

表一、六位 *S. paucimobilis* 院內感染病患之臨床表徵

| 病人 | 年齡/性別 | 臨床診斷 | 潛在疾病 | 留置導管 | 分離菌株 | 檢體來源 | 分離日期(日/月/年) |
|----|-------|-----------|------|-------------------|------|----------------|-------------|
| 1 | 48歲/男 | 膽道發炎 | 膽管癌 | PTCD ^a | A-1 | 血液 | 17/2/95 |
| | | | | | A-2 | 膽汁 | 17/2/95 |
| 2 | 40歲/女 | 尿路感染 | 乳癌 | 無 | B | 尿 | 25/2/95 |
| 3 | 28歲/男 | 傷口感染 | 無 | 無 | C | 傷口 | 14/4/95 |
| 4 | 10天/男 | 導管相關感染 | 早產兒 | 動脈導管 | D-1 | 血液 | 25/5/96 |
| | | | | | D-2 | 血液 | 29/5/96 |
| 5 | 64歲/女 | 呼吸器相關肺炎 | 腦中風 | 呼吸器 | E | 痰 | 14/6/96 |
| 6 | 78歲/女 | 血管內導管相關感染 | 卵巢癌 | Port-A Cath | F-1 | 血液 | 22/8/96 |
| | | | | | F-2 | 血液 | 17/9/96 |
| | | | | | F-3 | 膿 ^b | 24/9/96 |
| | | | | | F-4 | Port-A Cath | 24/9/96 |

^aPTCD:經皮穿肝膽道攝影引流

^b由Port-A Cath置入處引流之膿



圖一、*Sphingomonas paucimobilis* 分離菌株之菌體脂肪酸層析圖。

14 : 0=tetradecanoic acid ; 14 : 02-OH=2-hydroxytetradecanoic acid;

16 : 0=hexadecanoic acid; 16 : 1= hexadecenoic acid;

18 : 1=octadecenoic acid;

法和API 20NE系統所得之菌種鑑定可能性 (probability) 均在99%以上。以菌體脂肪酸分析之結果亦證實這些菌株均是*S. paucimobilis* (圖一)。

三、生化分型

如表二所示，依Vitek GNI卡法，API 20NE法，和氧化酶反應結果，在這14株*S. paucimobilis*共有9種生化型。來自相同病患(如病例1, 4, 和6)分離之菌株其生化型是相同的。

四、抗藥性分型

所有菌株均對minocycline和imipenem均具感受性，對cephalothin均具抗藥性；對其他七種藥物之感受性見於表三。在14菌株中，共發現8種抗藥型。除了病例4(菌株D-1和D-2)和病例5(菌株E)其抗藥性分型相同外，不同病患和不同環境分離之菌株之抗藥性分型並不相同，而由同一病患分離之不同菌株其抗藥性分型是相同的。

表二、*S. paucimobilis* 臨床和環境分離菌株之生化分型 (Vitek GNI卡法和API 20NE法)

| 分離株 | 生化反應 | | | | | | | | | 生化型 |
|--------|------|-------------------------|-----|-----|-----|-----|------------------------|-----|-----|------|
| | 氧化酉每 | Vitek GNI法 ^a | | | | | API 20NE法 ^b | | | |
| | | ARA | RAF | PXB | MAN | SUC | NAG | MLT | CIT | |
| 臨床分離菌株 | | | | | | | | | | |
| A-1 | + | + | + | + | + | + | + | + | - | I |
| A-2 | + | + | + | + | + | + | + | + | - | I |
| B | - | + | - | - | - | - | - | + | - | II |
| C | + | - | - | - | - | - | + | + | - | III |
| D-1 | - | + | + | + | + | + | + | + | - | IV |
| D-2 | - | + | + | + | + | + | + | + | - | IV |
| E | + | + | - | + | - | + | - | + | - | V |
| F-1 | - | + | + | - | - | + | + | + | + | VI |
| F-2 | - | + | + | - | - | + | + | + | + | VI |
| F-3 | - | + | + | - | - | + | + | + | + | VI |
| F-4 | - | + | + | - | - | + | + | + | + | VI |
| 環境分離菌株 | | | | | | | | | | |
| (EI) | | | | | | | | | | |
| EI-1 | + | + | - | + | - | - | - | + | - | VII |
| EI-2 | - | + | + | + | - | + | - | + | - | VIII |
| EI-3 | + | - | - | - | - | - | - | + | - | IX |

^aARA, arabinose; RAF, raffinose; PXB, polymyxin B; MAN, mannitol; SUC, sucrose.

^bNAG, N-acetyl-glucosamine; MLT, malate; CIT, citrate.

討 論

病人罹患*S. paucimobilis*院內感染之來源，可以是外因性或內因性[5-9]。如本報告中之4個病例，其感染均和使用留置裝置有關，可知留置裝置之植入和使用中之照顧是相當重要的。若有不慎，醫院環境（尤其是水）中之*S. paucimobilis*就會污染這些裝置而導致感染[5-9]。在此研究期間，雖然在隨機採樣醫院內之腹膜透析

液，自來水，呼吸器潮溼瓶，就可以發現*S. paucimobilis*之存在，但這些環境分離菌株和自病患分離之菌株其生化分型和抗藥性分型均不同，可以認為是不同的菌株，故並無此菌感染引起群突發之現象。不過可以確定*S. paucimobilis*存在於醫院之環境中，而且亦證實此菌可造成臨床上嚴重之感染。

在院內感染流行病學研究中以生化分型判斷分離菌株相關性是較不準確的[13]。

表三、*S. paucimobilis* 臨床和環境分離株之體外抗微生物製劑感受性*（紙錠擴散法）

| 分離株 | 感受性試驗結果 | | | | | | | 抗藥分型 |
|------------|---------|-----|-----|----|----|-----|-----|------|
| | CXM | CTX | CAZ | NN | AN | SXT | CIP | |
| 臨床分離菌株 | | | | | | | | |
| A-1 | S | S | I | S | S | S | S | I |
| A-2 | S | S | I | S | S | S | S | I |
| B | R | I | R | R | R | S | I | II |
| C | I | S | S | S | S | R | R | III |
| D-1 | S | S | S | S | S | S | S | IV |
| D-2 | S | S | S | S | S | S | S | IV |
| E | S | S | S | S | S | S | S | IV |
| F-1 | I | S | S | R | S | S | R | V |
| F-2 | I | S | S | R | S | S | R | V |
| F-3 | I | S | S | R | S | S | R | V |
| F-4 | I | S | S | R | S | S | R | V |
| 環境分離菌株(EI) | | | | | | | | |
| EI-1 | S | S | R | I | S | S | S | VI |
| EI-2 | S | S | S | R | S | S | S | VII |
| EI-3 | S | S | S | S | S | S | R | VIII |

*所有分離菌株對minocycline, cephalothin, 和imipenem均具感受性。

CXM : cefuroxime, CTX : cefotaxime, CAZ : ceftazidime, NN : tobramycin,

AN : amikacin, SXT : trimethoprim/sulfamethoxazole, CIP : ciprofloxacin.

S : susceptible, I : intermediate, R : resistant

現今大多建議以一些分子生物學方法如隨機增殖PCR(random amplified polymorphic DNA,RAPD),核糖核酸分型(ribotyping),脈衝電泳分型(pulse-field gel electrophoresis, PFGE)等來分型[10,13]。但這些方法操作相當繁瑣,並不適用於常規細菌檢驗室。不過生化分型在常規細菌鑑定,尤其是以生化試驗套組做輔助(參考)鑑定時,就可得知。故此法在初步篩檢分離菌株之間相關性時仍不失為簡易方法。本研究之菌株,其*S. paucimobilis*生化反應之差別性相當大,在14菌株中,除了由相同病患所分離的8株外,其生化型皆不同。此結果顯示這些菌株在微生物學上是沒有相關性的(microbiologic unrelatedness)。但在這9株不相關之菌株當中,有兩株抗藥性分型相同者。此結果表示,以紙錠擴散法作抗藥性分型,其分型能力並不足夠,必需進一步以分子生物學方法來確定這些菌株基因之相關性。

血管內導管感染之治療一般建議拔除導管較為適當[14]。但文獻上曾有人報告有些菌株引起之此種感染,若長期給予適當之抗生素,即使不拔除導管也可治癒[8,10]。本報告中*S. paucimobilis*引起血管內導管相關感染之病人,只有拔除導管(病例4和6)才能有效的控制感染,此結果和Saltissi等人之報告不同[8]。

依據過去有關*S. paucimobilis*體外抗微生物製劑感受性試驗結果,有人建議併用quinolone及aminoglycoside當作治療此菌引起嚴重感染之首選藥物[15]。不過此次本院所分離之14菌株中卻有6株對ciprofloxacin具抗藥性。表示在本院以

quinolone來治療此菌引起之感染可能不適當,而要考慮併用第三代cephalosporin(或imipenem)及aminoglycoside來治療。雖然所有分離菌株對minocycline均具感受性,但此藥屬於抑菌(bacteriostatic)藥物,並不建議用來治療免疫功能不全患者因此菌引起之嚴重感染。

雖然在台灣很少有人提及*S. paucimobilis*導致院內感染之事,但本報告顯示此菌在院內感染佔不可忽視之席位。對免疫功能不全之患者,和長期使用留置裝置之住院病人需注意此菌之感染。

參考文獻

1. von Graevenitz A: *Acinetobacter, Alcaligenes, Moraxella*, and other nonfermentative gram-negative bacteria. In: Murray PR, Barron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds, Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. Washington, D. C: American Society for Microbiology. 1995:520-32.
2. Decker CF, Hawkins RE, Simon GL: Infections with *Pseudomonas paucimobilis*. Clin Infect Dis 1992; 14:783-4.
3. Phillips G, Fleming LW, Stewart WK, et al: *Pseudomonas paucimobilis* contamination of haemodialysis fluid. J Hosp Infect 1991; 17:70-1.
4. Reina J, Bassa A, Llompert I, et al: Infections with *Pseudomonas paucimobilis*: report of four cases and review. Rev Infect Dis 1991; 13:1072-6.
5. Salazar R, Martino R, Sureda A, et al: Catheter-related bacteremia due to *Pseudomonas paucimobilis* in neutropenic cancer patients: report of two cases. Clin Infect Dis 1995; 20:1573-4.
6. Crane LR, Tagle LC, Palutke WA: Outbreak of *Pseudomonas paucimobilis* in an intensive care facility. J Am Med Assoc 1981; 246:985-7.
7. Faden H, Britt M, Epstein B: Sinus contamination with *Pseudomonas paucimobilis*: a pseudoepidemic due to contaminated irrigation fluid. Infect Control 1981; 2:233-5.
8. Saltissi D, MacFarlane DJ: Successful treatment of *Pseudomonas paucimobilis* haemodialysis catheter-related sepsis without catheter removal. Postgrad Med J 1994; 70:47-8.

9. Swann RA, Foulkes SJ, Holmes B, et al: "Agrobacterium yellow group" and *Pseudomonas paucimobilis* causing peritonitis in patients receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Clin Pathol* 1985; 38: 1293-9.
10. Hsueh PR, Teng LJ, Ho SW, et al: Clinical and microbiological characteristics of *Flavobacterium indologenes* infections associated with indwelling devices. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1908-13.
11. Veys A, Callewaert W, Waelkens E, et al: Application of gas-liquid chromatography to the routine identification of nonfermenting gram negative bacteria in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1989; 27:1538-42.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. approved standard M7-A3. Villanova, Pa: NCCIS, 1995.
13. Arbeit RD: Laboratory procedures for the epidemiologic analysis of microorganisms. In: Murray PR, Barron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, eds, *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed. Washington, D. C.: American Society for Microbiology, 1995: 190-208.
14. Dickinson GM, Bisno AL: Infections associated with indwelling-devices: concepts of pathogenesis: infections associated with intravascular devices. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 597-601.
15. Smalley DL, Hansen VR, Baselski VS: Susceptibility of *Pseudomonas paucimobilis* to 24 antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 23: 161-2.

Biotyping and Resistotyping of *Sphingomonas paucimobilis* Isolated from Clinical Specimens and Hospital Environment

Yu-Chi Chen¹, Hui-Ju Pan¹, Po-Ren Hsueh¹, Lee-Jene Teng
Shen-Wu Ho^{1,2}, Kwen-Tay Luh¹

¹Department of Laboratory Medicine, National Taiwan University Hospital;

²School of Medical Technology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

Sphingomonas paucimobilis (formerly, *Pseudomonas paucimobilis*) is widely distributed in the natural environment (especially water and soil) and has been implicated in a variety of community-acquired and nosocomial infections. A total of 14 isolates of *S. paucimobilis* were collected from January 1995 to September 1996 in a teaching hospital. They included 11 from clinical specimens of six patients with nosocomial infection and three from environmental sources (one each from peritoneal dialysate, humidifier fluid, and tap water). We reviewed clinical features of these patients and studied the isolates on biotypes using the API 20NE system and Vitek GNI card; the cellular fatty acid composition by gas liquid chromatography; and resistotypes by using disk diffusion method. Clinical syndromes of these patients included two patients with intravascular catheter-related bacteremia and one each with bacteremic biliary tract infection, urinary tract infection, ventilator-associated pneumonia, and wound infection. The biochemical profiles and the characteristic cellular fatty acid chromatogram of these isolates were in accord with the identification of *S. paucimobilis*. Nine biotypes and eight resistotypes were identified. Isolates recovered from different patients and environmental sources possessed different biotypes. Cefotaxime, imipenem, minocycline, trimethoprim/sulfamethoxazole, and amikacin exerted good in vitro activity against the majority of the isolates. The present study highlights the wide distribution of various clones of *S. paucimobilis* in hospital environments. *S. paucimobilis* should be considered as an important pathogen causing nosocomial infections in immunocompromised hosts, especially those with the use of indwelling devices. (Nosocom Infect Control J 1997;7:269~276)

Key words: *Sphingomonas paucimobilis*, biotype, resistotype.