

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2017.02.010

· 论 著 ·

新生儿、医务人员及环境分离耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的同源性

胡 瑛, 文飞球, 刘 犇, 钟春梅, 付雪梅

(深圳市儿童医院, 广东 深圳 518038)

[摘要] **目的** 了解某儿童医院新生儿重症监护病房(NICU)分离的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)同源情况,探讨 MRSA 医院感染途径及防控策略。**方法** 收集 2014 年 10—12 月 NICU 收治新生儿及环境标本中分离的 MRSA 菌株,采用 VITEK 2 全自动微生物分析系统和头孢西丁 K-B 法确认 MRSA,利用脉冲场凝胶电泳(PFGE)对 MRSA 分离株进行同源性分析。**结果** 2014 年 10—12 月 NICU 检出 MRSA 6 株,其中 3 例新生儿(58 床、70 床、100 床)送检标本均检出 MRSA,58 床护士(鼻拭子及手)和新生儿暖箱均检出 MRSA。6 株 MRSA 中 5 株具有同源性,药敏结果显示,1~5 号菌株对克林霉素和阿莫西林/克拉维酸均耐药,6 号菌株的药敏谱与 1~5 号菌株稍有不同,6 号对克林霉素和阿莫西林克拉维酸均敏感。PFGE 结果显示,1~5 号菌株为同一型别,6 号菌株为不同型别。**结论** 此次 MRSA 医院感染主要传播途径为接触传播,尤其是通过医务人员手导致交叉传播,利用 PFGE 技术早期分析鉴定流行菌株是预防医院感染暴发及流行病学研究的有效手段。

[关键词] 新生儿; 新生儿重症监护病房; NICU; 金黄色葡萄球菌; 医院感染; 脉冲场凝胶电泳; 流行病学

[中图分类号] R181.3⁺2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2017)02-0142-04

Homology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from neonates, health care workers, and environment

HU Ying, WEN Fei-qiu, LIU Ben, ZHONG Chun-mei, FU Xue-mei (Shenzhen Children's Hospital, Shenzhen 518038, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the homology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) from the neonatal intensive care unit(NICU) of a children's hospital, and evaluate routes and preventive strategies of MRSA healthcare-associated infection(HAI). **Methods** MRSA strains from neonates and environment of NICU between October and December 2014 were collected, and strains were identified by VITEK-2 microbial analysis system and cefoxitin Kirby-Bauer method, homology of MRSA was analyzed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). **Results** A total of 6 MRSA strains were isolated from NICU between October and December 2014, 3 of which (bed-58, 70, and 100) were detected MRSA from specimens, MRSA were isolated from neonatal incubator and nurse (nasal swabs and hands) who cared for neonate at bed 58. 5 of 6 MRSA strains were homology, antimicrobial susceptibility testing result showed that No. 1-5 strains were resistant to clindamycin and amoxicillin/clavulanic acid, No. 6 strain was slightly different from No. 1-5 strains, No. 6 strain was susceptible to both clindamycin and amoxicillin/clavulanic acid. PFGE results showed that No. 1-5 strains were of the same type, No. 6 strain was a different type. **Conclusion** The main route of this MRSA transmission is contact transmission, especially through the hands of health care workers, identification and analysis of epidemic strains by PFGE technique is an effective measures to prevent HAI outbreak and perform epidemiological study.

[收稿日期] 2016-03-28

[基金项目] 2014 年深圳市科技计划项目(JCYJ20140416141331496)

[作者简介] 胡瑛(1963-),女(汉族),重庆市人,主任医师,主要从事儿童医院感染管理控制研究。

[通信作者] 胡瑛 E-mail:szetyyygk@126.com

[Key words] neonate; neonatal intensive care unit; NICU; *Staphylococcus aureus*; healthcare-associated infection; pulsed-field gel electrophoresis; epidemiology

[Chin J Infect Control, 2017, 16(2): 142-145]

研究^[1]显示,美国每年约有 1.9 万人死于耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)感染。目前,MRSA 感染性疾病已与乙型肝炎、艾滋病同为世界三大感染性疾病^[2]。婴幼儿各系统发育不完善,自身免疫力低下,尤其容易交叉感染,甚至感染暴发流行。研究表明金黄色葡萄球菌是新生儿重症监护病房(NICU)医院感染常见病原菌^[3-4],其中 MRSA 是临床上引起鼻腔、口腔黏膜、皮肤和上皮组织感染的重要病原菌之一^[5]。近年来,脉冲场凝胶电泳(Pulsed Field Gel Electrophoresis, PFGE)在医院感染控制领域的应用越来越广泛,通过对细菌同源性分析,结合流行病学调查,对 MRSA 医院感染预防与控制具有重要作用。

1 对象与方法

1.1 菌种来源 2014 年 10—12 月 NICU 3 例感染新生儿、及其周围 30 份环境标本以及 1 名护士中分离 MRSA 6 株。

1.2 试剂与仪器 GN 鉴定卡(法国生物梅里埃公司),GN13-AST 药敏卡(法国生物梅里埃公司),VITEK 2 Compact 型全自动微生物分析仪(法国生物梅里埃公司),凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司),脉冲场凝胶电泳仪 CHEF-DR III(美国 Bio-Rad 公司),Seakem Gold Agarose(美国 Lonza 公司),蛋白酶 K(美国 NEB 公司),XbaI 酶(美国 NEB 公司),EDTA(美国 Sigma 公司),1M Tris-HCl 缓冲液(美国 Sigma 公司),TBE(美国 Sigma 公司),十二烷基硫酸钠(美国 Sigma 公司),N-月桂酰肌氨酸钠盐(美国 Sigma 公司),核酸染料(美国 Sigma 公司)。

1.3 细菌鉴定及药敏试验 按《临床检验操作规程》进行菌株分离培养、鉴定;根据美国临床实验室标准化协会(CLSI)药敏试验执行标准,用头孢西丁纸片扩散法筛选 MRSA,质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC 25923、ATCC 29213。

1.4 PFGE 将分离到的菌株接种血平板,37 ℃ 培养 16 h,挑取培养物配制成浊度为 3.8~4.0 麦氏单位细菌悬液,取 300 μL 悬液加入 20 μL 10 mg/mL 的蛋白酶 K 溶液,混匀,再加入 400 μL 的 1% Seakem Gold 琼脂糖溶液,立即将混合物加入 plug 模具,室温放置 13 min。胶块凝固后放于 5 mL 细胞裂解液和 25 μL 蛋白酶 K 溶液中,54 ℃ 摇床水浴裂解 22 h。TE 清洗洗胶 2 次,50 ℃ TE 15 mL 于 50 ℃ 水浴摇床洗涤 3 次。切取 2 mm 胶块置于含 200 μL 缓冲体系的 1.5 mL 离心管中,室温放置 10 min,加入 200 μL 酶切体系,37 ℃ 水浴酶切 2 h。用 1% Seakem Gold 胶,在 CHEF-DR III 系统上进行脉冲场电泳。电泳结束后,使用核酸染料染色,凝胶成像分析系统拍照,用 BioNumerics 软件对电泳图谱进行数据分析。

2 结果

2.1 临床资料 2014 年 10—12 月医院感染信息监测系统发现,NICU 短期内 MRSA 检出株数超过阈值,3 例新生儿(58 床、70 床、100 床)送检标本均检出 MRSA,其中 58 床为低体重儿,2014 年 11 月 5 日入院,主要诊断为新生儿肺炎、早产儿,实际住院 45 d;70 床新生儿为正常体重,2014 年 10 月 29 日入院,主要诊断为新生儿黄疸,实际住院 16 d(此期间 58 床仍在院);100 床新生儿为正常体重,2014 年 11 月 15 日入院,实际住院 5 d,主要诊断为新生儿肺炎;结合医院感染诊断标准,58 床及 70 床诊断为医院感染。医院感染管理科立即开展现场流行病学调查,并对新生儿、管床护士及周围环境进行监测,共采样 30 份,分离 MRSA 6 株。新生儿一般情况与住院情况见表 1。MRSA 检出情况见表 2。

2.2 药敏结果 1~5 号菌株对克林霉素和阿莫西林/克拉维酸均耐药,6 号菌株的药敏谱与 1~5 号菌株稍有不同,6 号对克林霉素和阿莫西林克拉维酸均敏感。见表 3。

表 1 3 例 MRSA 感染新生儿一般情况

Table 1 General condition of 3 neonates with MRSA infection

床号	胎龄 (周)	出生时 体重(g)	入院 诊断	住院 日期	实际住院 日数	曾使用 抗菌药物	医院感染 诊断	感染 日期
58 床	34 周	1 125	新生儿肺炎	2014 年 11 月 5—12 月 20 日	45	头孢哌酮/舒巴坦、 哌拉西林他/唑巴坦	新生儿败血症	11 月 8 日
70 床	39 周	2 800	新生儿黄疸	2014 年 10 月 29 日—11 月 14 日	16	头孢哌酮/舒巴坦	新生儿肺炎	11 月 3 日
100 床	38 周	2 750	新生儿肺炎	2014 年 11 月 15—20 日	5	头孢呋辛	无	无

表 2 6 株 MRSA 检出时间及标本来源

Table 2 Detection time and specimen sources of 6 MRSA strains

菌株编号	送检时间	标本	标本来源
1 号	2014 年 11 月 8 日	血	58 床新生儿
2 号	2014 年 11 月 3 日	痰	70 床新生儿
3 号	2014 年 11 月 9 日	门把手表面	58 床暖箱
4 号	2014 年 11 月 9 日	鼻拭子	58 床护士
5 号	2014 年 11 月 9 日	手(随机采样)	58 床护士
6 号	2014 年 11 月 9 日	痰	100 床新生儿

2.3 PFGE 结果 6 株 MRSA 菌株经酶切在脉冲场中电泳成像后,经 Bionumerics 指纹图谱软件分析,1—5 号为同一型别,6 号菌株为不同型别。见图 1。

表 3 6 株 MRSA 对抗菌药物的耐药结果

Table 3 Antimicrobial resistance results of 6 MRSA strains

抗菌药物	1 号	2 号	3 号	4 号	5 号	6 号
苯唑西林	R	R	R	R	R	R
阿莫西林/克拉维酸	R	R	R	R	R	S
庆大霉素	S	S	S	S	S	S
妥布霉素	S	S	S	S	S	S
万古霉素	S	S	S	S	S	S
替加环素	S	S	S	S	S	S
克林霉素	R	R	R	R	R	S
左氧氟沙星	S	S	S	S	S	S
环丙沙星	S	S	S	S	S	S
复方磺胺甲噁唑	S	S	S	S	S	S

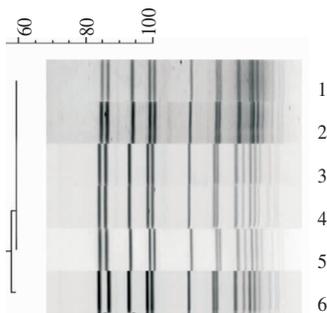


图 1 6 株 MRSA PFGE 结果分析图谱

Figure 1 Pulsed-field gel electrophoresis profiles of 6 MRSA strains

3 讨论

近年来,MRSA 耐药性问题日渐突出。国内大型医院 MRSA 检出率高达 60%~80%^[6],且对多种抗菌药物呈交叉耐药,耐药率达 70%~90%^[7]。儿童 MRSA 医院感染日趋多见,不仅导致治疗失败或住院延长,同时还提高了 MRSA 在患儿体内和医院环境中定植的可能,容易造成医院感染暴发。在医院感染暴发研究中,如何确定感染途径和传播途径,进而采取有针对性的预防和控制措施至关重要,是防止医院感染暴发流行的关键。PFGE 技术具有结果稳定、分辨力强、重复性好等优点,在鉴定细菌感染暴发、确定医院交叉感染、病原菌之间基因同源性等方面有着重要作用,目前主要应用于监测细菌感染性疾病的暴发流行^[8-9],被誉为判定医院感染暴发流行的“金标准”。

通过药敏结果对比及菌株同源性分析,探讨病例间病原菌或与周围环境分离菌株之间的相关性,更适用于追溯感染来源,明确传播途径,早期采取有效措施控制医院感染暴发。本研究中 6 号菌株的药敏谱不同于 1~5 号菌株,药敏结果与 PFGE 图谱结果相符。通过流行病学调查分析发现,70 床新生儿 MRSA 感染先于 58 床,推测 70 床新生儿可能为本次医院感染的传染源,此外 58 床新生儿管床护士的鼻拭子和手也分离出 MRSA,推测医护人员手是造成本次医院感染的重要传播媒介,通过接触传播途径传播至 58 床新生儿。

多重耐药菌医院感染主要通过医务人员手、衣物及医疗物品等传播^[10]。Snyder 等^[11]研究显示,接触过 MRSA 定植或感染患者的医务人员,11.6%~24.4%可以从其手套、工作服上分离到相同细菌。此外,医疗机构环境或诊疗物品(如听诊器、腕带、吸氧面罩、键盘等)上均可分离出多重耐药菌,可见环境病原体可能为医院感染暴发来源或储菌源。本次研究也证实了 MRSA 在环境、医务人员手及患者之

间存在交叉传播,尤其是医务人员手极易造成医院感染交叉传播。本次事件,医院感染科通过多重耐药菌监测,对 MRSA 感染新生儿采取早期隔离措施,怀疑医院感染暴发时,迅速收集临床及环境标本并通过现场流行病学调查及 PFGE 同源性分析,追踪医院感染来源,明确传播途径,采取快速有效的控制手段及消毒隔离措施,此外还对相关科室医务人员进行了鼻咽拭子携菌情况筛查,对存在 MRSA 定植的医护人员采取消除定植的措施,并强调医务人员应严格执行标准预防,最终控制 MRSA 流行株在 NICU 的交叉传播。

[参 考 文 献]

- [1] Boucher HW, Corey GR. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Clin Infect Dis, 2008, 46 (Suppl 5): S344 - S349.
- [2] 杨长顺,刘文恩. MRSA 耐药机制与分子生物学检测方法研究新进展[J]. 中华医院感染学杂志,2007,17(3):356 - 358.
- [3] 中华医学会肝病学会、中华医学会感染病学会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志,2005,13(12):881 - 891.
- [4] 中华医学会传染病与寄生虫病学会,肝病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(续一)[J]. 医药导报,2006,25(5):421 - 431.
- [5] 于森,赵白云,刘成玉,等. 医院获得性耐甲氧西林金黄色葡萄球菌中 PSM- α 基因检测及相关研究[J]. 中国感染控制杂志, 2015,14(7):443 - 446.
- [6] Javidnia S, Talebi M, Saifi M, et al. Clonal dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients and the hospital environment[J]. Int J Infect Dis, 2013, 17(9): e691 - e695.
- [7] 董春雷,朱长太. 医院分离病原菌分布及药物敏感性分析[J]. 检验医学,2011,26(11):658 - 661.
- [8] Rivoal K, Fablet A, Courtillon C, et al. Detection of *Listeria spp.* in liquid egg products and in the egg breaking plants environment and tracking of *Listeria monocytogenes* by PFGE[J]. Int J Food Microbiol, 2013, 166(1): 109 - 116.
- [9] ParkSH, Kim SY, Lee JH, et al. Community-genotype strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with high-level mupirocin resistance in a neonatal intensive care unit[J]. Early Hum Dev, 2013, 89(9): 661 - 665.
- [10] 胡瑛,文飞球,梁静,等. 新生儿重症监护病房医院感染肺炎克雷伯菌耐药性与同源性分析[J]. 儿科药学杂志,2013,19(11): 7 - 10.
- [11] Snyder GM, Thom KA, Furuno JP, et al. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococci* on the gowns and gloves of healthcare workers[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2008, 29(7): 583 - 589.

(本文编辑:曾翠)