

DOI:10.3969/j.issn.1671-9638.2014.08.002

· 论 著 ·

一起 MRSA 感染流行病学调查

沈雪莲, 范超云, 许 慧, 熊祝嘉, 钟秀玲

(煤炭总医院, 北京 100028)

[摘要] **目的** 探讨耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)医院感染的传播途径,为防控多重耐药菌医院感染及流行制定有效措施。**方法** 对2012年2月24日—3月29日某院肿瘤内科因气管狭窄而收入院行支气管镜检查治疗的12例MRSA感染患者进行流行病学调查,采用实时荧光定量PCR方法扩增,检测16S rRNA、*femA*、*mecA*和*Spa*基因,前三者进行菌株鉴定,后者进行菌株同源性分析。**结果** 12例MRSA感染患者均为多重耐药菌的易感人群,其中5例为此次住院发生的医院感染,7例可排除此次住院发生的医院感染。医务人员及环境卫生学采样检测结果为阴性;12株MRSA的*Spa*基因分型结果显示均为*t030*型,为亚洲医院主要流行株;分离自护士鼻腔的普通金黄色葡萄球菌*Spa*基因型为*t1425*型。**结论** 此次流行病学调查结果不支持医护间传播,12株MRSA基因型相同,但基因分型结果不能作为此次感染同源的依据;同时,医院应主动对MRSA感染高危患者进行筛查,尽早实施接触隔离,预防和控制医院感染的发生。

[关键词] 金黄色葡萄球菌;耐甲氧西林金黄色葡萄球菌;医院感染;流行病学;感染控制

[中图分类号] R181.3⁺2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2014)08-0454-04

Epidemiological investigation on an epidemic of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection

SHEN Xue-lian, FAN Chao-yun, XU Hui, XIONG Zhu-jia, ZHONG Xiu-ling (Meitan General Hospital, Beijing 100028, China)

[Abstract] **Objective** To investigate transmission routes of healthcare-associated infection(HAI) caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), and make effective measures for preventing and controlling the occurrence and epidemic of HAI caused by multidrug-resistance bacteria. **Methods** From February 24 to March 29, 2012, 12 MRSA-infected patients were performed epidemiological study, these patients underwent bronchoscopy because of tracheal stenosis, strains were identified by amplifying the sequences of 16S rRNA, *femA* and *mecA* with real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR), homology analysis of strains were performed by *Spa* genotyping. **Results** All 12 MRSA-infected patients were susceptible to multidrug-resistance bacterial infection, 5 cases of MRSA infection occurred during this hospitalization. Detection of specimens from health care workers and environment were all negative; *Spa* gene of all 12 MRSA isolates was type *t030*, which was the main epidemic strain in Asia; *Spa* gene of *Staphylococcus aureus* isolated from nurses' noses was type *t1425*. **Conclusion** The assumption of MRSA spread among health care workers aren't supported by the epidemiological investigation results, genotypes of 12 MRSA isolates are identical, but the result of gene typing can't be as the evidence of homology of infection; patients at high risk for MRSA infection should be screened as early as possible, early contact isolation should be performed, so as to prevent and control the occurrence of HAI.

[Key words] *Staphylococcus aureus*; methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; healthcare-associated infection; epidemiology; infection control

[Chin Infect Control, 2014, 13(8): 454-457]

[收稿日期] 2014-03-14

[作者简介] 沈雪莲(1964-),女(汉族),北京市人,副主任医师,主要从事医院感染和传染病预防与控制管理研究。

[通信作者] 许慧 E-mail:2335971040@qq.com

近年来,多重耐药菌感染问题日益严重,已成为医院感染的重要病原菌,预防与控制多重耐药菌的医院感染,是医院感染预防与控制工作的重点内容。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)是卫生计划生育委员会要求监控的多重耐药菌之一。2012 年 2 月 19 日—3 月 29 日本院同一病区发生了 12 例 MRSA 感染,因此,医院感染管理部门对其进行了流行病学调查,并运用分子生物学方法对检出的 MRSA 进行同源性分析,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 12 例 MRSA 感染患者均为 2012 年 2 月 24 日—3 月 29 日本院肿瘤内科因气管狭窄而收入院行支气管镜检查治疗者,均为肺部感染患者,年龄 36~66 岁;男性 7 例,女性 5 例;其中晚期恶性肿瘤患者 8 例,复发性多发性软骨炎 3 例,重症病毒性脑炎 1 例。

1.2 仪器与设备 全自动细菌鉴定仪为德国 Siemen MicroScan WalkAway 40,荧光定量 PCR 仪为美国罗氏 Light cycler480,荧光定量 PCR 所用引物及反应所需 Taqman 探针、SYBR 荧光染料及反应体系所需试剂由北京梓熙生物科技有限公司合成,扩增后的产物由该公司进行测序。

1.3 方法

1.3.1 采样方法 按照《医院消毒卫生标准》GB 15982-2012 要求,在物体表面消毒前对包括护士站和医生办公室电话机、计算机键盘、护士站治疗车、工作人员洗手液按压器、雾化机外表面及旋钮、病房门把手、患者床栏杆、病历夹、病房呼叫器、厕所水龙头进行采样;按照《内镜清洗消毒技术操作规范》中内镜消毒效果监测采样方法对支气管镜内壁进行采样,同时对支气管镜外壁和使用中的支气管镜专用擦布进行采样;按照《医务人员手卫生规范》[WS/T313-2009]中手卫生效果监测方法进行手部采样,其中医护人员于操作后、操作结束洗手后各采样 1 次。

1.3.2 菌株鉴定及药敏试验 菌株经全自动细菌鉴定仪鉴定为 MRSA,经触酶和凝固酶试验确认。药敏试验参照 2012 年美国临床实验室标准化协会(CLSI)指南标准。实时荧光定量 PCR 法检测 16S rRNA 基因中葡萄球菌特异的靶位点、金黄色葡萄球菌特异性靶基因 *femA* 以及耐药决定基因 *mecA*^[1-2]。

1.3.3 DNA 模板制备 采用裂解煮沸法制备模板。挑纯培养菌落 6~8 个置于 1.5 mL 离心管内,38℃ 水浴 30 min,95℃ 煮沸 10 min。15 000 r/min 离心 20 s,吸取上清液作为模板液。

1.3.4 实时荧光定量 PCR 16S rRNA、*femA*、*mecA*、*Spa* 基因分型所用引物参照文献[3-5]进行设计,荧光染料为 SYBR Green I,反应体系 20 μ L。PCR 反应条件为 90℃ 变性 30 s,90℃ 变性 20 s,60℃ 退火 20 s,72℃ 延伸 30 s,40 个循环,72℃ 5 min,95℃ 1 min,60℃ 30 s。

1.3.5 同源性分析 用于 *Spa* 分型的 PCR 产物送北京梓熙生物科技有限公司纯化测序。*Spa* 基因序列按官方网站 Ridom SpaServer(<http://www.ridom.de/spaserver>)的要求编辑后对结果进行比对分析,并确定型别,结果以 t 加 3 位或 4 位阿拉伯数字表示。

2 结果

2.1 MRSA 感染者相关危险因素 12 例患者均为多重耐药菌的易感人群,均患有严重的原发病,并因原发病在全国多所医院先后数次住院治疗;均反复长期使用抗菌药物,均数次接受纤维支气管镜(纤支镜)检查治疗。详见表 1。除病例 12 外,11 例患者患双侧肺炎;1 例患者(病例 10)接受肾上腺皮质激素治疗;3 例患者合并 2 型糖尿病,3 例患者合并低蛋白血症,包括 1 例患者同时合并 2 型糖尿病和低蛋白血症。

2.2 MRSA 的鉴定 同时满足触酶阳性、凝固酶试验阳性,荧光定量 PCR 扩增 16S rRNA 基因、*femA* 基因和 *mecA* 基因全部阳性的菌株判定为 MRSA。

2.3 患者 MRSA 检出时间及空间分布 35 d 时间内共 12 例患者检出 MRSA,其中 2 例在外院即为多重耐药菌感染,1 例在本院上次住院时即检出 MRSA;入院第 2 天检出 MRSA 者 4 例,依据医院感染的定义,此 7 例患者可以排除此次住院发生的医院感染。5 例 MRSA 感染者为接受支气管镜检查治疗 3~5 次后发生 MRSA 肺部感染,可明确诊断为此次住院发生的医院感染。空间分布见图 1。

2.4 环境卫生学采样检测 环境、物体表面以及洁净器械共采集 15 份标本,均未检出 MRSA。6 名医务人员(其中医生、护士各 2 名,保洁、陪护各 1 名)中,仅 1 名护士更换床单后采样,检出 MRSA,洗手

后未再检出;其他人员均未检出 MRSA。6 名医生、4 名护士鼻前庭采样,仅 1 名护士鼻腔检出金黄色葡萄球菌,其他人员均未检出病原体。

2.5 12 株 MRSA 与护士鼻前庭携带的金黄色葡萄球菌 *Spa* 基因分型结果 将 13 株金黄色葡萄球菌的 *Spa* 基因正向测序结果进行基因比对,12 株菌

的序列号均为 15-12-16-02-24-24,将序列号输入相关网站(<http://spa.ridom.de/frequencies.shtml>)进行比对,得到 *Spa* 基因型为“t030”,属于 CC8 克隆复合体。分离自护士鼻腔的普通金黄色葡萄球菌,*Spa* 基因型为“t1425”。

表 1 12 例 MRSA 感染患者相关危险因素基本情况
Table 1 Risk factors for MRSA infection in 12 patients

| 患者编号 | MRSA 检出时间 (月-日) | 主要诊断 | 恶性肿瘤 | 其他合并症 | 肿瘤手术治疗(次) | 气管置入术 | 外院气管镜治疗史 | 放射治疗/化学疗法 | 曾住医院 | 其他 |
|-------|-----------------|--------------|---------|-------------------|-----------|---------|----------|-----------|---------------|--------|
| 病例 1 | 02-24 | 气管狭窄 | 腺样囊性癌 | - | 2 | 气管切开置管 | - | 是 | 北京某三甲医院 | - |
| 病例 2 | 02-25 | 复发性多软骨炎 | - | - | - | 支架置入 | 有 | - | 北京某三甲医院 | - |
| 病例 3 | 03-02 | 气管狭窄 | 甲状腺癌 | 2 型糖尿病 | 1 | 支架置入 | 有 | 是 | 山东某医院 | - |
| 病例 4 | 03-06 | 食管气管漏 | 乳腺癌 | 2 型糖尿病 | 2 | - | - | 有 | 河南省数家医院 | 氩气刀 |
| 病例 5 | 03-08 | 气管狭窄 | 肺癌腺癌 | - | - | - | 有 | 是 | 北京某三甲医院、河北某医院 | 氩氦刀 |
| 病例 6 | 03-06 | 喉癌复发 气管侵犯 | 声带高分化鳞癌 | 2 型糖尿病和 低蛋白血症 | - | - | - | 是 | 北京某三甲医院 | - |
| 病例 7 | 03-09 | 食管气管漏 | 食管癌 | 低蛋白血症 | 2 | 支架置入 | 有 | 是 | 河南某医院 | - |
| 病例 8 | 03-15 | 气管狭窄 | 肺癌 | 低蛋白血症 | 1 | - | 有 | 是 | 辽宁某医院 | γ 刀 |
| 病例 9 | 03-19 | 气管狭窄 | 腺样囊性癌 | - | - | - | 有 | - | 河北某医院 | 食道支架置入 |
| 病例 10 | 03-21 | 复发性多软骨炎 | - | - | - | - | - | - | 河北某医院 | - |
| 病例 11 | 03-24 | 复发性多软骨炎 | - | - | - | - | 有 | - | 北京某三甲医院 | - |
| 病例 12 | 03-29 | 气管狭窄 | - | 1 周前外院 ICU 住院并放支架 | - | 气管切开、置管 | 有 | - | 哈尔滨某医院 | 病毒性肺炎 |

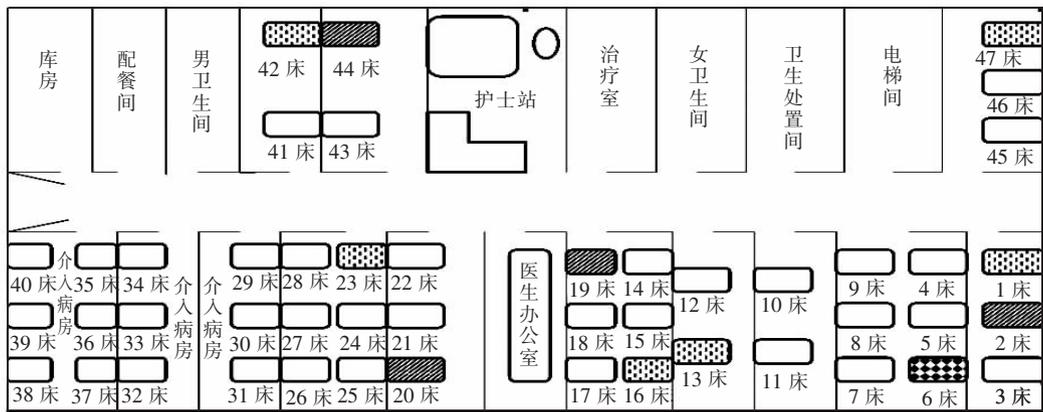


图 1 病区床位分布图
Figure 1 Bed distribution of wards

3 讨论

2012 年 2 月 19 日—3 月 29 日本院发生 12 例 MRSA 感染,其中 5 例为此次住院发生的医院感染,7 例可排除此次住院发生的医院感染。从发病时间

看,12 例 MRSA 感染较均匀分布在 35 d 内;从居住房间看,分散至多个病房,无明显的聚集现象。为寻找医院感染传播途径,我们采集了医护人员手、办公设施、环境物体表面及医疗器械表面的标本进行培养,结果不支持医护人员在诊疗过程导致的传播。

用分子生物学方法,对 12 例感染者及本院一位

护士鼻前庭检出的金黄色葡萄球菌进行基因型分析,结果护士来源的金黄色葡萄球菌基因型为 *t1245*, 12 例患者感染的 MRSA 均为 *t030* 基因型,不支持医护间传播。MRSA 的分型方法包括脉冲场凝胶电泳分型、SCCmec 分型、*Spa* 分型及 MLST 分型等。现应用广泛的主要是 MLST 和 *Spa* 分型, MLST 基因分型以 MRSA 的 7 个管家基因测序为基础,可以长期追踪菌株间遗传关系和宏观进化过程。*Spa* 基因编码的蛋白是金黄色葡萄球菌细胞壁的组成部分,该基因的 X 区呈多态性,含有不同数量的可变重复序列,该序列两端为相对保守区域,利用这种基因多态性分型方法操作简便,易于标准化,结果易解释。本研究尝试进行 MLST 基因分型以进一步明确 13 株 MRSA 的同源性,但因条件所限没有得到最终结果,这也是我们今后进一步研究的方向。

12 例患者感染的 MRSA 基因型虽然相同,但其病史明确表明感染来自我国多所医院,文献^[6]报道,MRSA *t 030* 基因型不仅是我国各所大型医院的主要流行株,也是除日本、韩国、中国台湾外,亚洲医院主要的流行株,故患者感染的 MRSA 来自我国其他医院是可能的,因此同型结果不能作为此次感染同源的判断依据。

在流行病学调查采样中,1 名护士更换床单后手检出 MRSA,但洗手后未再检出,说明合格的手卫生能有效防控多重耐药菌的医院感染。肿瘤内科与介入科同在一个病区,护理人员、保洁员为同一组人员;病区内仅设有男女洗手间各一处,配餐间一处,两科患者需共用一套设施,但介入科没有 MRSA 感染病例。介入科主要收治股骨头坏死与椎间盘凸出患者,大多数为中青年患者,无其他基础病变,因此,笔者认为患者自身健康状态是感染 MRSA 的重要危险因素。

美国的一项调查发现,近年来 MRSA 定植在患病人群中的比例呈上升趋势^[7],结合我院此次事件,针对性开展住院患者的 MRSA 定植主动筛查,主要是对具有 MRSA 定植高风险^[8]住院患者进行主动筛查,如有慢性病病史、反复住院治疗和近期接受过抗菌药物治疗的患者。对阳性者尽早实施接触隔离措施,是防止 MRSA 医院传播的重要手段^[9]。而对需要行特殊检查或/治疗(如气管镜诊疗)的定植者,应作去定植处理的评估,或适当地预防使用抗菌药物,以减少医院感染的发生。

有文献^[10]报道,MRSA 感染者可污染居住环境,而在此次流行病学调查中,我们采集的环境、物

体表面标本均无阳性结果。分析原因,我们认为一是与采样时机有关,因为短期内收治多例 MRSA 感染者,肿瘤内科已增加了对环境、物体表面清洁消毒的频率,可能影响了采样培养结果;二是采样部位不足,如未对床头柜、餐桌、输液杆、床垫等采样。本组调查的 5 例医院感染患者中,有 2 例在不同时间段住过同一张病床,存在后面的患者接受有创治疗后,免疫力低下,接触环境中 MRSA 导致感染的可能。此次住院发生的 5 例 MRSA 肺部感染患者均属定植的高风险人群,但入院时未进行定植筛查,导致无法判断究竟属于内源感染还是外界传播。因此,我们认为不论是对患者的生活环境,还是患者自身内环境的调查和评估,均是调查医院感染传播途径的重要内容,值得我们在今后工作中予以高度重视。

[参考文献]

- [1] Turlej A, Hryniewicz W, Empel J. Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) classification and typing methods: an overview[J]. Pol J Microbiol, 2011, 60(2): 95-103.
- [2] Lee Y T, Lin D B, Wang W Y, et al. First identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* MLST types ST5 and ST45 and SCCmec types IV and Vt by multiplex PCR during an outbreak in a respiratory care ward in central Taiwan [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011, 70(2): 175-182.
- [3] Lowy F D. *Staphylococcus aureus* infection[J]. N Engl J Med, 1998, 339(8): 520-532.
- [4] Al-Talib H, Yean C Y, Al-Khateeb A, et al. A pentaplex PCR assay for the rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Pantone-Valentine Leuocidin[J]. BMC Microbiol, 2009, 9: 113.
- [5] Ruppitsch W, Indra A, Stoger A, et al. Classifying *spa* types in complexes improves interpretation of typing results for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(7): 2442-2448.
- [6] 熊祝嘉,肖盟,王贺,等. 中国 7 所教学医院耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的分子流行病学及耐药性研究[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(1): 22-26.
- [7] 胡必杰,宗志勇,顾克菊. 多重耐药菌感染控制最佳实践[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2012: 85-86.
- [8] 舒明. 医院 MRSA 感染危险因素研究[J]. 中国感染控制杂志, 2010, 9(3): 160-163.
- [9] 陈华,付秀莲,林筱颖,等. 重症监护病房耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染早期筛查与护理干预[J]. 中国感染控制杂志, 2011, 10(4): 292-294.
- [10] 张正银,芙蓉,卜方,等. 外科重症监护室分离 MRSA 的流行病学研究[J]. 中国感染控制杂志, 2012, 11(4): 270-273.