

第二章 文獻探討

第一節 沙門氏菌簡介

1. 型態

沙門氏桿菌屬 (*Salmonella*) 屬於腸內細菌科 (Enterobacteriaceae), 為革蘭氏陰性桿菌, 大小為長 2.0-5.0 μm 寬 0.5-1.0 μm , 不產芽苞, 菌落直徑約 2-4 mm, 絕大多數具有鞭毛, 具運動性。沙門氏菌與檸檬酸桿菌 (*Citrobacter*) 之同源性高達 40-50%, 與 *E. coli* 的基因有 90% 相同 (Salyers AA, 1994)。因此有人認為, 沙門氏菌與 *E. coli* 在一億多年前應源自於相同祖先 (Wray C, et al., 2000)。

2. 命名

沙門氏菌 (*Salmonella*), 是 1885 年由美國的 Daniel E. Salmon 首度在豬的小腸發現, 命名為 *Salmonella choleraesuis* (<http://www.cdc.gov>)。之後, 沙門氏菌的種名就以 *Salmonella choleraesuis* 表示 (Skerman VBD, et al., 1980)。但是 *Salmonella choleraesuis* (簡寫 *S. choleraesuis*) 同時代表種名 (species) 和血清型 (serotype or serovar) 容易造成混淆 (Brenner et al., 2000), 因此, 世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 根據 Kauffmann-White 通則與相關文獻 (Popoff MY, et al., 2000), 擬定一套統一分類命名法。自此之後, 以 *S. enterica* 為種名已經被廣為接受 (Popoff MY, et al., 2000)。

3. 血清型

沙門氏菌至 2001 年為止共有 2,523 種血清型 (serotypes or serovars) (Popoff MY, et al., 2003)。所有的沙門氏菌血清型 (species) 可分為兩種：

一為 *S. bongori* (有 21 種血清型)以及和 *S. enterica* (有 2,502 種血清型)。*S. enterica* 更進一步可分為 6 種亞種 (subspecies), 分別為 *S. enterica* subsp. *enterica* (I or 1), *S. enterica* subsp. *salamae* (II or 2), *S. enterica* subsp. *arizonae* (IIIa or 3a), *S. enterica* subsp. *diarizonae* (IIIb or 3b), *S. enterica* subsp. *houtenae* (IV or 4), *S. enterica* subsp. *indica* (VI or 6)。
從 I~VI 分別有 1,454, 489, 94, 324, 70, 12 種血清型 (表一)。

4. 生化性狀

沙門氏菌歸類在何種別或亞種, 是依照不同的生化特性做區別 (表二)。

5. 血清鑑定

Salmonella enterica subsp. *enterica* 是所有沙門氏菌中最常見的, 其中最常見的 O-antigen 血清型是 A, B, C1, C2, D 和 E。99% 造成人類和哺乳類動物沙門氏菌症屬於這些型別 (Brenner FW, et al., 2000)。

沙門氏菌的血清型是依抗原結構來分類。抗原包含體抗原(somatic or cell wall-O antigen)和鞭毛抗原 (flagella-H antigen)。進行血清分型必須先測 O 抗原, 然後依據 O 抗原的結果, 再測 H 抗原。以 *S. Choleraesuis* 為例, 血清型是 6,7; c; 1,5。此代表 *S. Choleraesuis* 的 O 抗原是 6,7; 鞭毛第一相抗原是 c, 而鞭毛第二相抗原是 1,5。除此之外, 少數之沙門氏菌如 *S. Typhi*, *S. Enteritidis* 還有莢膜抗原(capsular virulence antigen; K)。以下分別簡述各抗原特性:

1) 體抗原 (somatic antigen)

以英文字母 "O" 表示。存在菌體表面, 主要為脂多醣體 (lipopolysaccharide), 對熱、乙醇、酸具有感受性。依據 O 抗原之不同, 可區分為許多 O 抗原群, 如 group A (O2), group B (O4), group C (O7)...等

2) 鞭毛抗原 (flagella antigen)

以英文字母“H”表示。鞭毛易受熱、酸、乙醇破壞。在進行 H 抗原的測定時，會用福馬林處理，但不會破壞其抗原特性。H 抗原具有特異性，只能與同種抗 H 的血清凝集。H 抗原又分為 H1 與 H2，分別代表第一相 (phase I) 與第二相 (phase II)。一般 H 抗原在第一相較具有特異性，以英文字母小寫表示，第二相的特異性較差，以數字表示，如 *S. Choleraesuis* -c; 1,5。若鞭毛抗原發生只出現一相的情況，需進行相誘導 (phase induction)，將未出現的另一項誘導出來。

3) 莢膜抗原 (capsular virulence antigen)

以英文字母“K”表示。莢膜抗原又可稱為毒力抗原。莢膜是多醣體，保護細菌免受宿主吞噬細胞破壞。只有少數沙門氏菌具有莢膜抗原，如 *S. Typhi*。進行莢膜抗原測定時，需使用新鮮活菌。

6. 沙門氏菌的書寫規則

要正確寫出一種細菌的學名，以 *S. Choleraesuis* 為例，依循以下順序：

1) 屬名 (斜體字) *Salmonella*：命名； 2) 種名 (斜體字)：enterica (斜體字) subsp. enterica (斜體字)； 3) 血清型 (serotype or serovar or ser.)：字首大寫。因此寫成 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Choleraesuis。為了方便，也可以簡寫 *Salmonella* ser. Choleraesuis, *Salmonella* Choleraesuis 或 *S. Choleraesuis* (Popoff MY, et al., 2000)。

第二節 沙門氏菌傳染途徑與治療

1. 傳染途徑

沙門氏菌是最常見的人畜共通傳染病原菌，廣泛存在環境中，且是

全世界重要的公共衛生問題 (Mead PS, et al., 1999; Tauxe RV, 1997)。常引起人類腸炎和牲畜嚴重感染。人藉由接觸被污染的食物或被感染的動物，經由口糞傳染得到沙門氏菌。家禽是最普遍的感染來源，超過 60% 的家禽肉可能被沙門氏菌污染，蛋殼和蛋白也可能被污染 (Salyers AA, et al., 1994)。其他肉類和奶製品，如豬肉、牛肉和牛奶也是重要的污染源。另外也有許多疾病爆發 (outbreak) 和海鮮或蔬菜有關 (D' Aoust et al., 1990; Ackman et al., 1995)。

2. 疾病症狀

沙門氏菌造成的疾病主要分為三類：1) 傷寒熱與腸熱病；2) 腸炎；3) 敗血症 (Salyers AA, et al., 1994)。目前共有兩千多種血清型，大多數沙門氏菌只會引起腸炎。從食入污染物開始 6-24 小時就會產生症狀，可維持一星期左右。症狀有頭暈、嘔吐、腹痛、腹瀉、發燒等。而且，症狀消失後仍可排菌達三個月之久，約有 1-3% 的被感染者會成為慢性帶原者，可持續排菌長達一年的時間，10 歲以下兒童最容易發病，嚴重可能導致全身系統性感染，這種情況在嬰兒和免疫不全 (如愛滋病患) 最常見 (Chiu CH, et al., 1999a; Chiu CH, et al., 1999b; Salyers AA, 1994)。腹瀉的程度和致病菌株的毒性、宿主健康狀態有關。有某些血清型會造成嚴重後遺症，包含菌血症和死亡，如 *S. Choleraesuis*, *S. Typhi*, *S. Paratyphi*, *S. Dublin* 很容易造成人類系統性疾病 (Mead PS, et al., 1999; Tauxe RV, et al., 1997)。

3. 沙門氏菌症

除了引起傷寒和副傷寒的 *S. Typhi*, *S. Paratyphi*，其他所有沙門氏菌引起的疾病，統稱沙門氏菌症 (Salmonellosis)。

沙門氏菌是台灣兒童最常見的腸內致病菌 (Chyou SC, et al., 1988)。

除了最常見的腸內感染症狀，沙門氏菌嚴重時也會造成敗血症、腦膜炎、關節炎等嚴重的全身性感染 (Wittler RR, et al., 1989; Yang MT, et al., 1994)。

4. 治療

大部分感染沙門氏菌症狀不嚴重 (通常是 5-7 天的腸道症狀)，因此不需要使用抗生素治療，但仍有 3-10% 菌血症被報告出來 (Murray PR, et al., 1990)。病情的嚴重度和年齡、免疫不全等症狀有關。當以上狀況發生時，就必須使用抗生素 (Hohmann EL, et al., 2001; Glynn MK, et al., 1998)。

第三節 *S. Enteritidis* 與 *S. Typhimurium* 的全球流行

沙門氏菌大部份都能引起人類疾病 (Popoff MY, et al., 2003)。在 1980s 晚期，許多國家發生沙門氏菌症病例增加的現象。在美國是第二常見的食因性疾病病原 (MMWR, 2000)，每年超過 4 萬報告病例 (MMWR, 2001)，Mead 等人 (1999) 之研究結果更顯示美國每年約有 140 萬人感染沙門氏菌症，並造成每年 500-1000 人死亡 (Mead PS, et al., 1999; <http://www.cdc.gov/health/disease.htm>)。英國每年的報告病例，感染之菌型最常見的是 *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Virchow*。芬蘭每年有 2500-3500 人感染沙門氏菌症 (Hakanen A, et al., 1999)。全球沙門氏食物中毒發生率逐年增加，被認為與家禽類有關 (Guard-petter J, 2001)。超過 60% 的家禽肉可能被沙門氏菌污染 (Bannister BA, 2000)。

主要流行血清型在不同國家有不同，且在同一國家內，流行的血清型會維持一段時間。如英國，1980s 年前主要是流行與牛肉有關的 *S. Typhimurium*，之後被與家禽類和蛋類有關的 *S. Enteritidis* 取代

(Bannister BA, 2000)。1956-1990 年間，全球最常引起食物中毒之沙門氏菌為 *S. Typhimurium*。美國疾病管制中心(Centers for Disease Control and Prevention, CDC)對沙門氏菌的監控調查，1996 年 CDC 由病人分離之沙門氏菌，血清型為 *S. Typhimurium* 占 25%。而 *S. Enteritidis* 為近年來最常見由食物污染引起的血清型，疾病的爆發流行 (outbreak)曾發生在多種不同食物，最常見仍為牛奶和家禽製品。因為現代飼養空間狹小，高蛋白的飼料中含有魚肉或屠宰場剩的肉屑。許多農場動物的腸道中有 *S. Enteritidis*，屠宰的動物副產品因此被重度污染。餵養這些飼料的動物 (如雞或火雞)因而得到 *S. Typhimurium* 或 *S. Enteritidis* 相關血清型之感染。更甚者，細菌也因此有機會污染這些禽類的蛋。過去認為”沒有裂痕的蛋是安全的”想法並不正確,且蛋有可能藉由交叉污染 (cross-contamination) 方式污染其他食物。因此，常見為使用處理過受生肉片污染的刀子切生菜，而導致生菜污染。1950 至 1960 年代，歐美曾經流行飼養烏龜、蜥蜴、蛇等爬蟲類動物，這時期曾有數千人同時感染 *S. Enteritidis*，後來研究是因為接觸烏龜而得病，12%-92%的爬蟲類糞便中可發現沙門氏菌 (Mead PS, et al., 1999)。資料顯示每年美國 3%-18%的人類沙門氏菌感染是由爬蟲類引起 (Salyers AA, 1994)。

第四節 抗藥性問題

另一嚴重的議題為抗藥性沙門氏菌的感染，在全世界正不斷增加 (Lee LA, et al., 1994; Threlfall EJ, et al., 1997)。在美國，ampicillin，chloramphenicol，sulfamethoxazole 漸漸被限制使用，因為細菌對這些藥已經有抗藥性 (Lee LA, et al. 1994)。根據在 White 等人 (2001) 的研究，美國華盛頓特區的三家超市選取的雞肉、牛肉、火雞肉、豬肉分離細菌，

有 20%的肉品有被沙門氏菌污染的現象，包含 13 種不同的血清型。其中包含 ceftriaxone-resistant *Salmonella* 和多重抗藥的 *S. enterica* serotype DT208 and DT104，尤其是 DT104 會造成嚴重症狀，並對 ampicillin，chloramphenicol，streptomycin，sulfonamides，tetracycline (ACSSuT)有 多重抗藥性 (Ridley A, et al., 1998)。研究中收集的沙門氏菌 84%至少對一種 抗生素有抗藥性，53%對至少三種有抗藥性 (White DG, et al., 2001)。

食物引起的病菌抗藥性現象增加，和動物與人過度使用抗生素有關 (Bronzwaer SL, et al., 2002)。多重抗藥的沙門氏菌在 1960 年代首度被報告出來 (Anderson ES, et al., 1965)。美國疾病管制中心一份報告指出，*S. Typhimurium* 對 ACSSuT 的抗藥性，1979-1980 年是 0.6%，1990 年升高至 7% (Khan AA, et al., 2000)，1996 年甚至達到 34% (Davis MA, et al., 1999)。*S. Typhimurium* 經由食物傳染已經被確定，特別是經由受污染的肉類，禽類或接觸牛 (Calvert N, et al., 1998; Villar RG, et al., 1999; Cody SH., et al., 1999)。被抗藥性菌株感染的病人，和沒有抗藥性菌株感染的病人比較，有較高的死亡率 (Holmberg SD, et al., 1984)。然而沙門氏菌若是自血液中分離，相對於從糞便中分離之菌株，較易有多重抗藥的情形，表示具抗藥性的菌株較易造成菌血症 (Yang YJ, et al., 1998)。

由 Lee 等人 (1994)的研究指出，1979-1990 年由美國分離的沙門氏菌對 tetracycline 抗藥性有顯著的增加，而台灣沙門氏菌則早在 1978 年開始便對 tetracycline，chloramphenicol 的抗藥性顯著增加 (Yang YJ, et al., 1998)。於 1995-1999 年，芬蘭本地的 *Salmonella* 有抗生素敏感性降低的情況，抗藥性從 3.9% 上升到 23.5% (Hakanen A, et al., 1999)。

台灣在 1989-1996 年，根據 Yang 等人 (1998)的研究結果，沙門氏菌對 ampicillin，chloramphenicol 和 tetracycline 的抗藥性分別是 65, 67, 78%。對 trimethoprim-sulfamethoxazole 的抗藥性則從 1989-1992 年的 25%

攀升到 1993-1996 時的 35%。對 fluoroquinolone (norfloxacin, ciprofloxacin) 和 cephalosporins 則未發現有抗藥性。多重抗藥性 (對 5 種以上抗生素有抗藥性) 的比例, 從 1989-1992 年的 10.6% 到 1993-1996 年時成為 19.7% , 幾乎達兩倍。最常見的血清型為 *S. Typhimurium* , 對 ampicillin 有 88% 的抗藥性 , 比西方國家更高 (Threlfall EJ, et al., 1997)。*S. Choleraesuis* 對 ampicillin , tetracycline , chloramphenicol , gentamicin , trimethoprim-sulfamethoxazole , cephalothin 的抗藥性分別是 82, 64, 82, 45, 73, 0%。Fluoroquinolones 已被證實能成功治療侵犯性的沙門氏菌症, 如菌血症、敗血症、腸熱病, 並被當作首選藥物 (Sande M, et al., 1996), 對於治療多重抗藥性感染也有效果 (Barnass S, et al., 1990)。Fluoroquinolone 類藥物目前廣泛應用在治療嚴重的沙門氏菌感染, 特別是抗藥性菌株引起的感染; 但從人或動物都曾分離出對 quinolones 有抗藥性的菌株 (Griggs DJ, et al., 1994; Frost JA, et al., 1996)。美國於 1997 年首度爆發集體 fluoroquinolone 抗藥性沙門氏菌感染 (Olsen SJ, et al., 2001), 過去也曾有許多國家發生同樣感染流行 (Piddock LJV, et al., 1993; Frost JA, et al., 1996; Griggs DJ, et al., 1996)。

綜合以上結果, 全世界目前有一個共通現象, 那就是抗藥性沙門氏菌的發生率愈來愈高 (Ward LR, et al., 1990)。屬於 fluoroquinolone 之 ciprofloxacin 是治療沙門氏菌症的第一線藥物。1991-1994 在英格蘭和威爾斯, 由人分離之沙門氏菌對 ciprofloxacin 抗藥性從 0.3% 上升到 2.1% (Frost JA, et al., 1996)。其中當地最盛行的 *S. Hader* 對 ciprofloxacin 抗藥性從 1991 年的 2% 變成 1994 年的 39.6% (Frost JA, et al., 1996)。1998 年在英格蘭和威爾斯, 16% 的多重抗藥 *S. Typhimurium* 對 ciprofloxacin 不太具有敏感性。Ciprofloxacin 抗藥性同樣發生在農場動物和一般食用的肉品上, 且發生率有增加趨勢, 這反應出 fluoroquinolones 在人或動物上都被

廣泛使用 (Frost JA, et al., 1996)。

Fluoroquinolones 的作用機制是抑制細菌的 DNA gyrase 和 topoisomerase IV。世界衛生組織估計，每年 quinolone 的用量在美國、歐洲、日本、南韓是 120 公噸，唯獨在中國是 1820 公噸 (Malorny B, et al., 1999)。

具有 quinolones 抗藥性的沙門氏菌，一般在 *gyrA* 基因有發生突變。這種突變類似 *E. coli* 的 Ser83 轉變成 Phe 和 Asp87 轉變成 Gly 或 Tyr，或是在 Ala119 轉變成 Glu 或 Val。在 *gyrB* 基因的突變很少見，也沒有在 *parC* 或 *parE* 的突變被發現。對 quinolone 類藥物有抗藥性的沙門氏菌，對 chloramphenicol 和 tetracycline 也會有抗藥性 (Pidcock JVL, 2002)。而且 Pidcock 指出，雖然非傷寒沙門氏菌與傷寒的症狀不同，但 fluoroquinolone 的抗藥機制是完全相同的，在動物、食物和人都一樣 (Pidcock JVL, 2002)。

在 *E. coli*，topoisomerase II (DNA gyrase) 和 IV 是重要的功能酵素，能維持細菌細胞內的 DNA topology。這些酵素已經被證實是 fluoroquinolone 和 nalidixic acid 的作用標的物。因此 DNA gyrase 基因被認為是 quinolones 類藥物抗藥基因突變發生的主要區域 (Heddle JG, et al., 2000)。另外，在 *gyrA* 基因發生點突變的沙門氏菌，對 nalidixic acid 有抗藥性，對 fluoroquinolone 的敏感性也會降低。這表示，用 fluoroquinolone 治療 nalidixic acid 抗藥性沙門氏菌感染是沒效果的 (Pidcock, L.J.V. et al. 1993; Molbak, K. et al. 1999)。例如：越南曾報告出，被具有 nalidixic acid 抗藥性 *S. Typhi* 感染傷寒熱的病患，使用 ofloxacin 的治療無效 (Wain J, et al., 1997)；又例如，至今在 Tajikstan 曾爆發最嚴重的 nalidixic acid 抗藥性 *S. Typhi* 感染，同樣對 fluoroquinolone 治療無效果 (Threlfall EJ, et al., 2001)。

第五節 豬霍亂沙門氏菌

沙門氏菌感染是豬隻最普遍和最嚴重的腸炎，其中影響豬隻最嚴重的血清型是 *Salmonella Choleraesuis* (Gray JT, et al., 1996)，同時也是台灣最常見造成豬隻呼吸道疾病複化症 (pig respiratory disease complex, PRDC)的細菌致病原 (Chiu YT, et al., 1998)。*S. Choleraesuis* 屬於腸內科細菌，為一種兼氣細菌，會攻擊寄主的腸道上皮組織，是一種人畜共通傳染的病原菌，感染豬隻嚴重時會引起全身性的敗血症及腦炎，造成養豬戶及農業上的重大損失 (Chang CF, et al., 2002)。1989 年，在美國愛荷華州發生的豬沙門氏菌症暴發中，有 95%以上與此血清型有關 (Gray JT, et al., 1996)。由豬隻身上分離出 *S. Choleraesuis* 的比率佔所有沙門氏菌的 97%。1996-2001 年 *S. Choleraesuis* 在動物的沙門氏菌感染中，比例約 2-3.7%，其中 97%是由豬分離 (MMWR, 2001b)。豬感染 *S. Choleraesuis* 造成美國每年損失兩億多美金 (Salmon SA, et al., 1995)。

由 Salmon 等人 (1995)的研究指出，*S. Choleraesuis* 這個血清型在豬的分離率很高，但在糞便和其他種動物身上卻少見，表示 *S. Choleraesuis* 對豬具有宿主專一性 (Salmon SA, et al., 1995)。*S. Choleraesuis* 感染豬隻後，會造成嚴重上吐下瀉、發高燒、胸膜炎、肺炎和菌血症，急性敗血症，導致高死亡率。幼豬和成長中的豬很容易感染 *S. Choleraesuis* (Salmon SA, et al., 1995)。所有非傷寒沙門氏菌中，以 *S. Choleraesuis* 感染人類時最容易造成侵襲性感染，通常在感染以後少有下列，會很快引起菌血症 (Tauxe RV, et al., 1997; Mead PS, et al., 1999)。

不規則的飼養方法 (feeding irregularities)長期被認為是引起豬隻沙門氏菌流行的原因。豬的排泄物或廢棄物經由污染環境 (水和土壤)造成 *S. Choleraesuis* 的傳播。這種致病菌會藉由污染食物進入人體，造成疾病。另一種說法是經由未煮熟的豬肉引起感染。但是沙門氏菌怕高溫，藉由

未煮熟豬肉感染或許不是那麼重要，反而是經由食物的交叉感染更應該重視 (<http://www.taiwanheadlines.gov.tw/20020208/20020208s.htm1>)。雖然目前公共衛生和疫苗已能預防豬場的 *S. Choleraesuis*，但適當的使用抗生素並控制細菌感染才能降低經濟上的損失 (Chiu YT, et al., 1998)。

Fluoroquinolones 類藥物之 enrofloxacin 對治療豬隻細菌性疾病有很好的效用 (Salmon SA, et al., 1995)。然而，自從 1990 年代 enrofloxacin 在台灣允許使用後，已經出現抗藥性 (Chiu YT, et al., 1998)。這有可能是因為台灣的養豬農過度使用此類藥物。在德國，enrofloxacin 首度通過可作為獸醫用藥是在 1989 年，在荷蘭甚至比德國早兩年。1990s 初期，歐洲各國開始使用 enrofloxacin。在某些例子中，enrofloxacin 的使用和人畜共通傳染病的人或動物分離株對 quinolone 類藥物開始產生抗藥性有關 (Frost JA, et al., 1996; Jacobs-Reitsma WF, et al., 1994)。

對畜養動物使用抗生素，不論是預防、治療疾病或當作生長促進劑使用，都可能使抗藥性細菌藉由食物鏈傳遞給人 (Tollefson L, et al., 1997)。大部份抗藥性沙門氏菌是藉由食物傳染給人 (Fey PD, et al., 2000)。

已有研究證實 *S. Choleraesuis* 已經有多重抗藥的情形發生 (Salmon SA, et al., 1995)。*S. Choleraesuis* 對 ampicillin, tetracycline, chloramphenicol, gentamicin, trimethoprim-sulfamethoxazole, cephalothin 的抗藥性分別是 82, 64, 82,45, 73, 0%。*S. Choleraesuis* 這種在南台灣普遍常見的血清型，有蠻高的發生率會對以上六種藥物的至少一種有抗藥性。因此，ampicillin, chloramphenicol 和 trimethoprim-sulfamethoxazole 在台灣已經不適用於治療嚴重非傷寒沙門氏菌感染，因此目前 fluoroquinolone 和 cephalosporin 是治療侵犯性沙門氏菌症的最適合藥物 (Yang YJ, et al., 1998)。

在 Chiu 等人 (2002)的研究中，於 1987-2000 年收集 501 位 *S. Choleraesuis* 病例，於 1995 前平均佔所有沙門氏菌中的 8.4%，顯著下降至 1996-1998 間的 2.7%，而 1999-2000 年又微揚昇至 5%。Ciprofloxacin 抗藥菌株在 2000 年開始出現，2001 年第三季後，有 60%對 ciprofloxacin 有抗藥性。

目前台灣抗藥性問題嚴重，可能是長時間不當使用抗生素導致。同時，養豬業常用的 enrofloxacin 和人類的 ciprofloxacin 結構相似，台灣 50% 的動物養殖業者都有使用這種藥物，因此，有學者認為，政府應限制使用 enrofloxacin (Chiu CH, et al., 2002)。

第六節 基因分型的方法

最理想的基因分型方法，必須兼顧實驗的再現性、穩定性並具有很強的解釋能力，或能解決其他方法不足的優點，其不僅要能分辨不同種別的細菌，更要能區分同種別的不同 (van Belkum A, et al., 2001)。

傳統檢驗沙門氏菌的方法是依體抗原 O (somatic antigens)及鞭毛抗原 H (flagella antigen)不同，加以區分各種血清型 (serotype or serovar)。但血清鑑定的結果不易識別，實驗繁瑣耗時，若要區別不同菌種還需結合生化鑑定 (王等, 1994)。儘管如此，血清鑑定仍是目前沙門氏菌分型的主要方法 (Olsen JE, et al., 1994)。

到目前為止，沙門氏菌許多分型方法已經被研究出來，包含脈衝式電場電泳(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)、噬菌體分析 (phage typing)、rRNA 基因分型 (ribotyping)、質體分析 (plasmid profile analysis) 和以 PCR 結果直接定型等方法 (van Belkum A, 1994; Chiu CH, et al., 2002)。

以往在沙門氏菌中，利用表現型將菌株分型最常用的是噬菌體分型 (phage typing)。噬菌體分型常與致病性有高度相關，因此常被用來研究細菌的致病性、鑑定細菌株間差異 (Rodrigue DC, et al., 1992)。但鑑定費時耗力，需保存完整的噬菌體且不易保存，分型結果又會因為細菌本身質體和噬菌體改變影響分型之再現性，少有實驗室能進行這項工作。目前所知，*S. Choleraesuis* 並無文獻使用噬菌體分型。

Ribotyping 法為利用特定限制酶切割染色體 DNA 並以一段 16S ribosomal DNA 當探針 (probe) 做雜交，缺點是特異性不大，且敏感性小於 PFGE 法 (Liebana E, et al., 2001)。質體分析則因為質體不穩定，容易在實驗過程中消失，因此再現性低，不易操作，區辨能力差。且若菌株無質體，則無法分型 (Liebana E, et al., 2001)。

脈衝式電場電泳 (pulsed-field gel electrophoresis, PFGE) 是將細菌全部 DNA 以限制酶切割後藉由變換電場的方向與作用時間，把 DNA 片段區分開來 (Lai E, et al., 1989)。在一般膠體電泳只能分離 50kb 以下的 DNA 片段，無法進行對大片段的 DNA 做分析時，脈衝式電場電泳可有助於分析的範圍從 2kb 至 1megabase (Mb) 之 DNA 片段 (Graham MY, et al., 1987)。也已成功地應用在許多種致病菌之研究 (Tenover FC, et al., 1995; Brian MJ, et al., 1993, Tsen HY, et al., 2000a; Tsen HY, et al., 2000b)。

在許多沙門氏菌致病菌的來源追蹤與歸類，PFGE 分析是最好的方法 (Millemann Y, et al., 1995; Bender JB, et al., 2001; Tsen HY, et al., 2000a;)。PFGE 法是美國疾病管制中心目前用來區別引起食物中毒的沙門氏菌或其他非傷寒沙門氏菌最好的方法，也已經有實驗標準流程 (Swaminathan B, et al., 2001)。以此方法分型，可將美國每年引起沙門氏菌症的流行血清型之基因型依時間地點作區分，其分型能力與再現性都極高。

因為 PFGE 法有最好的識別力，DNA 分型結果很穩定，因此現今細菌

分型實驗有許多以PFGE法為標準方法，且是最能區分沙門氏菌的工具 (Olsen JE, 1994)。所以本研究中我們選擇PFGE當作基因分型的方法。