

## 第五章 討論

抗藥性的發生，和取得與傳播抗藥性基因有關，而這些過程可經由突變、R-plasmids、transposons 等方式達成(Smith JT, et al., 1993)。由於細菌越來越容易取得抗藥性基因，多種抗生素治療已經失效。目前，有研究顯示多重抗藥性是發生在細菌的染色體 DNA (Cohen SP, et al., 1993)。Chu 等人 (2001)指出 *Salmonella Choleraesuis* 的 fluoroquinolone 抗藥性基因位在染色體上而非質體。細菌間 DNA 交換或移動的方式有以下四種：1) Transformation：此乃藉由環境中得到其他的 DNA 片段；2) Conjugation：為藉由細胞彼此接觸傳遞 DNA 或質體；3) Transduction：藉由感染細菌的噬菌體，將 DNA 傳給下一個細胞；4) Transposons (Transposition)：是一個可在細菌之內移動的基因片段，可與染色體 DNA 接在一起，也可和質體接在一起。因此細菌抗藥性變化應該很穩定。到目前為止，沙門氏菌 fluoroquinolone 類藥物抗藥性的產生仍被認為主要是 *gyr A* 基因發生點突變所致 (Griggs DJ, et al., 1996；Chu CS, et al., 2001)。但以瞬息萬變的抗藥性圖譜看來，抗藥性的發生應該還有另一種方式，即質體的交換。PFGE 雖然是全 DNA 的分析，從血液分離的 *S. Choleraesuis* 有一段 50 kb 的毒性質體，常會與 75 kb 非毒性質體結合成 125 kb 的質體 (Chu CS, et al., 1999)。這樣大的 DNA 片段以 PFGE 切割時，有時可能也會被切到，混在 PFGE patterns 中，造成分型的誤差。如本研究中定義之 gt 1 型中之 1a 及 1b 亞型之間，只有相差一條 band (約 105-139 kb)，有可能是質體所造成。為減少這類誤差，之後的研究可增加質體分析，以釐清問題。

於利用脈衝式電場電泳分型 *Salmonella* spp.時，*Xba* I 是首選限制？，

其次是 *Avr II*，第三是 *Spe I* (<http://arbl.cvmbs.colostate.edu/molkit/mapper/index.html>)。50 個 *S. Choleraesuis* 豬分離株以 *Xba I* 切割分型後為 gt 1a 的菌株，再以 *Spe I* 分型，仍可分為 10 種 subtype (Lin et al., unpublished data)。因此，雖然 PFGE 是目前沙門氏菌基因分型最佳工具 (Olsen JE, et al., 1994)，為了要更能解釋資料仍需進一步結合其他方法或同時使用不同限制？進行比較分析。

藉由 PFGE 的方法，探討 *S. Choleraesuis* 豬與人分離株基因型相關性。由結果，gt 1 在豬分離株的比例為 55%，人則是 69%，表示 gt 1 型在人與動物皆是最常見的。另外，人分離株並未出現 gt 10 型，卻有 41% 的豬屬於這個基因型，gt 10 型可能是豬常在的型別。藉由比較 gt 1 型與 gt 10 型之間的差異，彼此之間之相似度為 78%，因此二者於流行病學上應不屬於來自相同來源 (clone) 之菌株。

*S. Choleraesuis* 分離株之各基因型形成的叢集若依據 Tenover 等人 (1995) 所提標準，菌株基因型間相差三條 bands 以下為高度相關的菌株，因此我們進行基因分型時將分割點 (cut-off point) 設為相似度 90% ( $S_{AB}=0.9$ )。但人類分離株之 MS20777 在圖一及圖四~五中落在不同的叢集。雖然我們給予 MS20777 之基因型別編號 (gt 1, 1k) 與圖五的叢集位置不甚符合，但圖五中，相似度以 80% 來看，MS20777 (gt 1) 其實與 gt 2, 4, 5, 6, 8 之基因型很相近，只有相差 2-4 條 bands，仍屬於高度相關型別，因此可能造成叢集分析時結果並不一致。

由 Chiu 等人 (1996) 的研究，台灣 *S. Choleraesuis* 感染的發生率非常高。在南台灣的醫學中心，由沙門氏菌引起的感染，*S. Choleraesuis* 僅次於 *S. Typhimurium* 與 *S. Schwarzengrund*，所有病人皆為台灣人，且菌

株分離自血液 (Chiu CH, et al., 1996)。在北部某醫學中心，1987-2000 年共分離 *S. Choleraesuis* 501 株，分離比例由 1995 年前的 8.7%，1996 年下降至 2.7%，2000-2001 又升高為 5%。(Chiu CH, et al., 2002)。而本研究中，*S. Choleraesuis* 分離比例 1998- 2002 依序 0, 1.2, 1.7, 0.2, 0.4% (見表四)。由於本研究乃是採用疾病管制局所收集各方來源之菌株，理論上應更具代表性。

Salmon 等人 (1995)發現，*S. Choleraesuis* 藉由豬的血液分離率高 (97%)，但由糞便分離卻少見。Chu 等人 (2001)研究，由血液分離的 *S. Choleraesuis* 皆帶有毒性質體，由糞便分離則不具毒性質體。可能原因為具有毒性質體的 *S. Choleraesuis* 容易造成侵犯性感染。本研究中疾病管制局提供的檢體多是由糞便分離的菌株，可能就無法分離到具毒性質體的 *S. Choleraesuis*。此外，疾病管制局 2003 年由血液分離的 *S. Choleraesuis* 經由 PFGE 分型為 gt 1 (1a)，可能具有毒性質體，但因沒有記載病人的疾病程度，並無法進行深入的致病性調查。

血清鑑定是由台大的張照夫老師協助。血清鑑定的流程必須結合生化鑑定才是正確的。*S. Choleraesuis* 的血清型是 6,7; c, 1,5。同樣血清型的沙門氏菌有：*S. Decatur*, *S. Typhisuis*, *S. Choleraesuis*, *S. Choleraesuis* var. *Kunzendorf*。此四種相同血清型的沙門氏菌具有不同的生化性狀，請見表十二 (Kauffmann White scheme)。

Chiu 等 (2002)的研究指出，*S. Choleraesuis* 在 ciprofloxacin 抗藥性從 2000 年出現，2001 年 7 月以後增加為 60%。本研究同樣發現 2000 年開始出現具 ciprofloxacin 抗藥性之菌株，而此藥之抗藥性比例高達 89%。但受限於本研究之設計方式，並無法看出 ciprofloxacin 抗藥性出現的時

間。

大部分的抗藥性沙門氏菌是藉由食物傳染給人，因此過去研究認為抗藥性 *S. Choleraesuis* 是由動物傳染給人 (Fey et al., 2000)。Frost 等 (1996)指出，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)。但由表八，比較豬與人之 ciprofloxacin, enrofloxacin, norfloxacin 等藥物抗藥性時，豬的抗藥性比例為 20%，人則高達 52%，動物抗藥情況明顯低於人之抗藥性比例。且 enrofloxacin 只使用於治療動物之 *S. Choleraesuis* 感染 (Salmon SA, et al. 1995)，本研究卻在人類分離株發現比動物更高的 enrofloxacin 抗藥性比例。此可能表示，當細菌株對類似於 fluoroquinolone 類藥物有抗藥性時，也同時對其他相關藥物有抗藥性。