

## 台灣分離 *Pasteurella multocida* 菌之 藥劑感受性試驗

蔡向榮 林地發 呂榮修 李永林

以最小發育阻止濃度 ( MIC ) 測定法, 調查 1981 ~ 1983 年於台灣自鴨、鵝、雞、兔、豬分離 21 株 *Pasteurella multocida* 菌之藥劑感受性, 其結果以 MIC 值而言, 依序以對 Ampicillin ( 0.39 mcg/ml )、Penicillin ( 0.78 mcg/ml )、Flumequine ( 1.56 mcg/ml ) 感受性最高, 再次為 Gentamicin 及 Chloramphenicol ( 3.13 mcg/ml ), Erythromycin ( 6.25 mcg/ml )。MIC<sub>50</sub> 則以 Ampicillin, Penicillin, Flumequine, Chloramphenicol, Streptomycin 最佳皆低於 0.39 mcg/ml, Neomycin 次之 ( 0.48 mcg/ml ), 再次為 Erythromycin ( 0.58 mcg/ml ), Gentamycin ( 0.88 mcg/ml )。

*Pasteurella multocida* 係在全世界普遍分佈的多種哺乳動物及家禽的病原菌<sup>(6, 11)</sup>。在台灣, 主要引起家禽的家禽霍亂及豬的傳染性肺炎。

本省常用於控制家禽霍亂的藥品有 Streptomycin, Chlortetracyclin, Chloramphenicol, Sulfadimethoxin 等, 惟臨床上屢有抗藥性菌株出現, 療效不穩定, 張<sup>(6)</sup>曾以濾紙法 ( disc method ), 調查 1970 年以前及 1978 ~ 1981 年間各分離之 20 菌株, 對 8 種抗生素之感受性, 爲了解最近分離菌株之抗藥性及其感受性劑量, 以供爲臨床、治療之參考, 乃以最小發育阻止濃度 ( MIC ) 測定法, 調查 1981 ~ 1983 年本研究室所分離之 21 株菌株之藥劑感受性及其感受性劑量, 茲將所得成績報告於次以供參考。

### 試驗材料與方法

#### 1. 供試菌株：

如表 1 所列, 以於 1981 年 ~ 1983 年間於台灣各地自雞、鴨、鵝、兔、豬等動物分離並保存於本研究室之 *Pasteurella multocida* 菌株共 21 株供爲試驗之用。

#### 2. 培養基：

藥劑感受性測定用培養基爲 Trypticase soy agar ( BBL ) 加 5% 馬血清。

#### 3. 供試藥劑及稀釋法：

青黴素類 ( Penicillins ) 使用 Benzyl Penicillin、Ampicillin 標準品。四環素類使用 Tetracycline、Chlortetracycline、Oxytetracycline 標準品。巨環素類 ( Macrolides ) 使用 Erythromycin、Tylosin 標準品。胺基糖苷類 ( Aminoglycosides ) 使用 Streptomycin、Neomycin、Kanamycin、Gentamicin、Spectinomycin 標準品。其他藥劑有 Lincomycin、Chloramphenicol、Nalidixic acid、Flumequine。磺胺類使用 Sulfamethoxypyridiazine、Sulfadimethoxin、Sulfamonomethoxin、Sulfamerazine、合劑使用 Ormetoprin + Sulfadimethoxin ( 1 : 3 )、呋喃劑使用 Furazolidone 標準品。試驗方法如前所述之方法<sup>(2)</sup>, 即將各藥劑濃度調整至各 100 mcg/ml 並以 2 倍稀釋法稀釋成爲 0.39mcg/ml 等 9 階段實施。

各藥劑以滅菌蒸餾水 ( 部份藥劑加少量的甲醇或二甲基磺胺<sup>(2)</sup> ) 溶解成爲 100mcg/ml 的

力價，然後各以滅菌蒸餾水 2 倍階段稀釋，各稀釋液取 1/10 量添加於培養皿並加藥劑感受性測定用培養基全量為 20ml，充分混合俟其乾燥後使用之。

#### 4. 最小發育阻止濃度 ( Minimal Growth Inhibitory Concentration ; MIC ) 之測定：

各種藥劑之 MIC 測定法依前述之方法<sup>(4)</sup>，即瓊膠平板稀釋法實施。被檢菌在 37℃ 培養 3~4 小時，所產生混濁度介於 Mac Farland Standard No. 0.5 及 No. 1 之間，菌數為 10<sup>8</sup> cfu/ml 後，以白金耳畫線培養於含有各稀釋液藥劑之測定用培養基，培養 24 小時後，觀察細菌發育情形，作為判定依據，如在培養基上有菌落出現，即判定無感受性，以完全阻止細菌發育的最高稀釋倍數，稱為該藥劑的最小發育阻止濃度 ( MIC )，並將感受性菌株數行累積計算，求出 50%，75%，90% 最小阻止濃度<sup>(5)</sup>，以評估各種藥劑對 *P. multocida* 作用的優劣，供為臨床用藥的參考。

表 1 供 試 菌 株

分 離 年 代	分 離 動 物					合 計
	鴨	鵝	雞	兔	豬	
1981 年	4	0	2	1	0	7
1982 年	7	1	1	0	1	10
1983 年	1	3	0	0	0	4
合 計	12	4	3	1	1	21

## 結 果

以 22 種藥劑調查在 1981~1983 年所分離 21 株 *P. multocida* 菌株之感受性，結果發現以對 Ampicillin 感受性最高，在 0.39 mcg/ml 濃度時 100% 菌株都被抑制發育，依次之 MIC 值為 Penicillin ( 0.78 mcg/ml )、Flumequine ( 1.56 mcg/ml )、Gentamicin ( 3.13 mcg/ml )、Erythromycin ( 6.25 mcg/ml )、Streptomycin、Neomycin、Nalidixic acid ( 皆 12.5 mcg/ml )，詳如表 2。

如表 2 可知分離菌株對 Sulfadimethoxin 抗藥性最高，在 100 mcg/ml 濃度時只有 24% 菌株有感受性，依次為 Spectinomycin ( 81% ) 及 Lincomycin ( 90% )、而對 Sulfamerazine 及 Sulfamonomethoxin 之 MIC 值亦高達 100 mcg/ml，對 Sulfamethoxypyridiazine、Ormetoprin 與 Sulfadimethoxin、Furazolidone、Chlortetracycline、Oxytetracycline 之 MIC 值皆為 50 mcg/ml。

以 MIC<sub>50</sub>、MIC<sub>75</sub>、MIC<sub>90</sub> 值評估分離菌株之藥劑感受性，結果如表 3，就 MIC<sub>50</sub> 值而言，以 Ampicillin、Penicillin、Streptomycin、Chloramphenicol，Flumequine 為佳，其 MIC<sub>50</sub> 值皆小於 0.39 mcg/ml，再依次為 Neomycin ( 0.48 mcg/ml )、Erythromycin ( 0.58 mcg/ml )、Gentamicin ( 0.88 mcg/ml )，如以 MIC<sub>75</sub> 來評估則以 Ampicillin、Penicillin、Flumequine、Streptomycin 為佳，MIC 值小於 0.39 mcg/ml、Chloramphenicol 次之 ( 0.61 mcg/ml )、至 MIC<sub>90</sub> 則只有 Ampicillin 及 Penicillin 之 MIC<sub>90</sub> 值小於 0.39 mcg/ml，Flumequine 之 MIC<sub>90</sub> 值為 0.39 mcg/ml。(表 3)。

表 2 感受性菌株數累積百分比表 (%)

藥劑名	藥劑濃度 (mcg/ml)									
	0.39	0.78	156	3.13	6.25	12.5	25	50	100	
Ampicillin	100									
Penicillin	95	100								
Tetracycline	29	29	29	43	57	71	100			
Chlortetracycline	5	14	24	24	33	52	86	100		
Oxytetracycline	10	19	24	24	43	71	90	100		
Erythromycin	43	57	86	95	100					
Tylosin	33	43	48	76	86	95	100			
Streptomycin	76	76	81	86	95	100				
Neomycin	48	57	71	86	90	100				
Kanamycin	10	10	29	76	86	95	100			
Gentamicin	33	43	95	100						
Spectinomycin	10	14	33	43	67	76	81	81	81	
Lincomycin	24	38	48	52	67	81	86	86	90	
Chloramphenicol	67	81	95	100						
Nalidixic acid	33	43	57	86	95	100				
Flumequine	90	95	100							
Sulfamethoxypyridiazine				19	19	19	39	100		
Sulfadimethoxin							10	19	24	
Sulfamonomethoxin				5	10	29	33	62	100	
Sulfamerazine				5	10	14	19	86	100	
Sulfadimethoxin + Ormetoprin			5	14	33	43	48	100		
Furazolidone	14	24	43	71	90	95	95	100		

表 3 各種藥劑對 *P. multocida* 之最小發育阻止濃度 (MIC) 值

藥 劑 名	藥 劑 濃 度 ( mcg / ml )			
	範 圍	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>75</sub>	MIC <sub>90</sub>
Ampicillin	0.39	< 0.39	< 0.39	< 0.39
Penicillin	0.39-0.78	< 0.39	< 0.39	< 0.39
Tetracycline	0.39-25	4.68	14.25	20.75
Chlortetracycline	5-50	11.81	21.00	32.25
Oxytetracycline	10-50	7.81	15.10	25.00
Erythromycin	0.39-6.25	0.58	1.26	2.26
Tylosin	0.39-25	2.68	3.09	9.00
Streptomycin	0.39-12.5	< 0.39	< 0.39	4.50
Neomycin	0.39-12.5	0.48	1.99	6.25
Kanamycin	0.39-25	2.27	3.10	9.00
Gentamicin	0.39-3.13	0.88	1.26	1.48
Spectinomycin	0.39->100	4.03	11.81	> 100
Lincomycin	0.39->100	2.35	9.81	100
Chloramphenicol	0.39-3.13	< 0.39	0.61	1.28
Nalidixic acid	0.39-12.5	1.16	2.54	4.5
Flumequine	0.39-1.56	< 0.39	< 0.39	0.39
Sulfamethoxypridiazine	3.13-50	29.50	39.75	46.00
Sulfadimethoxine	25->100	> 100	> 100	> 100
Sulamonomethoxine	3.13-100	39.75	67.00	87.00
Sulamerazine	3.13-100	36.50	46.00	64.60
Sulfadimethoxine Ormetoprin	+ 1.56-50	26.00	38.00	64.50
Furazolidone	0.39-50	1.96	3.78	6.25

## 討 論

本試驗調查 1981 ~ 1983 年在台灣所分離的 21 株 *P. multocida* 菌，對 22 種藥劑之感受性，結果發現這些分離菌株對 Ampicillin、Penicillin、Flumequine 最為敏感，而對四環素類、磺胺劑類之抗藥性頗高。張<sup>(6)</sup>曾調查 1978 ~ 1981 年在台灣分離的 20 菌株對 8 種抗生素之感受性，結果發現以 Lincospectin (1:2) 效果最佳，未發現有抗藥性菌株，在另一次調查中<sup>(8)</sup> Lincospectin (1:2) 雖不是最敏感的藥劑，但 MIC 範圍很窄，表示尚少抗藥性產生，據張等<sup>(7)</sup>以 Lincospectin 在鴨隻進行活體內試驗時，發現於感染 *P. multocida* 後，以 30 ~ 45 mg/kg 的劑量肌肉注射有 70 ~ 100% 療效，如於注射後再將藥品以 110 ~ 220 mg/kg 劑量添加於飼料中餵飼，治療效果更佳可達 90 ~ 100%。在本試驗中雖未使用 Lincospectin 合劑，但其成分藥劑 Lincomycin 及 Spectinomycin 個別測定時，MIC 值皆大於 100 mcg/ml，因此臨床上使用時應以合劑的型式投藥為宜。

本試驗中分離菌株對 Ampicillin 及 Penicillin 敏感性皆很高，其 MIC 值分別為 0.39 mcg/ml 及 0.78 mcg/ml，而其 MIC<sub>90</sub> 值皆小於 0.39 mcg/ml，在張等<sup>(6)</sup>調查 1963 ~ 1982 年分離的 80 株 *P. multocida* 菌株發現以對 Ampicillin 及 Cloracillin 最為敏感，在另一篇報告中<sup>(6)</sup>，20 株菌株中只有 1 株對 Ampicillin 具抗藥性，但對 Penicillin 却有一半菌株具抗藥性。綜合本試驗與張等<sup>(6)</sup>及張<sup>(6)</sup>的成績顯示本省分離菌株對 Ampicillin 敏感性很高，在治療本菌的感染症時應予以優先考慮。又在本調查中分離菌株對 Penicillin 之敏感性亦頗高，此與張<sup>(6)</sup>之報告有所差異，由於 Ampicillin、Penicillin 及 Cloxacillin 皆屬於青黴素類 (Penicillins) 藥物，細菌對 Penicillin 具有抗藥性主要是因能產生 Penicillinase，雖然有些半合成的青黴素 (如 Cloxacillin) 對 Penicillinase 的作用有抵抗力，但如 Ampicillin、Amoxicillin、Carbenicillin 等廣效性半合成青黴素類藥物對 Penicillinase 仍具感受性<sup>(12)</sup>，亦即細菌往往對 Penicillin 及 Ampicillin 等藥劑具有交叉抗藥性的現象，故本試驗之結果似屬合理。

又本試驗結果顯示分離菌株的 Flumequine 亦頗敏感，其 MIC 值為 1.56 mcg/ml，而 MIC<sub>90</sub> 值僅 0.39 mcg/ml，此種藥物可能是因晚近才上市，因此抗藥菌株甚少，如吳等<sup>(4)</sup>調查豬病原性大腸桿菌藥物感受性，結果發現在 15 種抗生素中以對 Flumequine 最為敏感，MIC<sub>90</sub> 值僅 0.4 mcg/ml，又如林及張<sup>(9)</sup>以 Flumequine (Imequyl<sup>®</sup>) 在雞進行生體內 (in vivo) 以及在試管中 (in vitro) 進行試驗，結果證明可減少雞體中雛白痢菌的污染程度，可見 Flumequine 對多種細菌都有很好的抑制作用。

據教科書所載<sup>(11)</sup> *Pasteurella* 菌株一般對 Penicillin、Tetracycline、Neomycin、Chloramphenicol、Streptomycin、Sulfa Compound 及 Trimethoprin 都頗具敏感性，其中 Tetracycline 及 Chloramphenicol 據張<sup>(6)</sup>之報告所有 20 株測試菌株對此 2 種藥劑 100% 具有抗藥性，在本試驗中四環素類 (Tetracycline、Chlortetracycline、Oxytetracycline) MIC 值皆很高 (25 ~ 50 mcg/ml)、顯示台灣分離菌株對四環素類藥物已有很高的抗藥性在本試驗中 Streptomycin 及 Chloramphenicol 的 MIC<sub>90</sub> 值皆尚小於 0.39 mcg/ml，顯示仍有一半以上的菌株對此二種藥劑具感受性，但磺胺劑類藥物之 MIC 值則皆在 50 ~ 100 mcg/ml，顯示敏感性頗低。

由本試驗及張<sup>(6)</sup>之調查發現台灣分離之 *P. multocida* 菌株抗藥性有顯著的增加，此當與抗生素的普遍使用有關，抗生素的使用雖然對禽畜生長促進，以及死亡率和致病率的降低有顯著的貢獻，但是由於抗生素的大量應用造成抗藥菌株不斷增加<sup>(10)</sup>，另外亦會有抗生素殘留問題<sup>(6)</sup>而影響人類的健康，因而在畜牧業可能需發展疫苗來控制疾病的發生，以減少抗生素的使用。本次分離株絕大都是在家禽分離到，在本省由 *P. multocida* 所引起的家禽霍亂雖已有死毒疫苗可供免疫用，但其效果尚未盡理想，最近張<sup>(9)</sup>研製活菌疫苗，初步結果顯示效果較死菌疫苗為佳，值得繼續

研究，以期能控制家禽霍亂之蔓延及減少因抗生素大量使用所帶來的公共衛生上的問題。

### 誌 謝

本試驗之完成承蒙本所藥品檢定系張炳輝先生與王麗珏小姐提供標準藥劑樣品，林士鈺先生熱心提供資料及校讀手稿，又承本系李全與黃士則二位先生協助實驗之進行，謹併致謝忱。

### 參 考 文 獻

1. 李新進，楊楊輝，邱仕炎。1984。鮮乳抗菌物質殘留試驗法之比較。台灣省畜衛試所研報，20：17-24。
2. 呂榮修、林地發、蔡貴雄、李永林、李全。1983。台灣分離之 *Haemophilus paragallinarum* 菌株藥劑感受性試驗。台灣省畜牧獸醫學會會報，41：73～87。
3. 林子恩、張登欽。1984。Imequyl 對雞白痢症之控制研究。台灣省畜牧獸醫學會73年度春季學術研討會論文宣讀第15題。73年5月。台中市。
4. 吳錦江、郭丑哲、梁東和、黃旭田、李朝全、沈篤弘。1985。豬病原性大腸桿菌藥物敏感性試驗之研究。74年度台灣省各縣市家畜疾病防治所調查研究報告。74年8月。斗六市。
5. 張登欽。1977。抗生素在鴨組織之殘留及其消長。中華民國獸醫學會雜誌，3：41-48。
6. 張照夫。1982。禽畜敗血性出血性巴氏桿菌之特性。台灣省畜牧獸醫學會會報，40：47～52。
7. 張照夫、尤碧豔、王琴玲。1983。以林可黴素及觀黴素防治鴨霍亂。台灣省畜牧獸醫學會會報，42：59～65。
8. 張照夫、王琴玲、尤碧豔。1983。禽畜出血性敗血症巴氏桿菌對二十種抗菌劑試管內之敏感性試驗。台灣省畜牧獸醫學會72年度年會宣讀論文第6題。72年12月。台北市。
9. 張照夫。1984。鴨隻活菌家禽霍亂菌苗之研究。台灣省畜牧獸醫學會會報，43：33-37。
10. Daries, M. E. 1961. Growing bacterial resistance to antibiotics. *Vet. Rec.*, 73：429-430.
11. Gillespie, J. H. and J. F. Timoney. 1982. The Genus *Pasteurella*. In "Hagan and Bruner's Infectious Diseases of Domestic Animals", 7th ed., P. 105 - 112.
12. Goth, A. 1981. Antibiotic drugs. In "Medical Pharmacology- Principles and Concepts", 10th ed., The C.V. Mosby Company, St. Louis, Toronto, London.

**DRUG SENSITIVITY TEST OF *PASTEURELLA MULTOCIDA*  
ISOLATED IN TAIWAN**

H. J. Tsai, D. F. Lin, Y. S. Lu and Y. L. Lee

From 1981 to 1983, twenty-one strains of *P. multocida* were isolated from ducks (12 strains), geese (4), chickens (3), rabbit (1), and pig (1). The Minimal Growth Inhibitory Concentration (MIC) of 22 kinds of antibacterial agents against these 21 isolates were tested.

The result revealed that these isolates were most sensitive to Ampicillin (MIC 0.39mcg/ml), Penicillin (0.78mcg/ml), and Flumequine (1.56mcg/ml), followed by Gentamicin (3.13mcg/ml), Chloramphenicol (3.13mcg/ml), Erythromycin (6.25 mcg/ml), etc. Evaluated by MIC50, Ampicillin, Pencillin, Flumequine, Chloramphenicol, Streptomycin were all lower than 0.39mcg/ml, followed by Erythromycin (0.58mcg/ml), Gentamycin (0.88mcg/ml), etc.

