

無乳鏈球菌與金黃色葡萄狀球菌對抗生素感受性之比較試驗

林光榮、邱朝齊、陳守仕、黃士則

(臺灣省家畜衛生試驗所)

緒 言

乳房炎由於其發生之頻繁，在乳業經營上常引起巨大的損失，同時亦能影響牛乳衛生。有關乳房炎之發生頻度及其所造成之損失，各國調查統計結果雖然略有差異，但仍不失為乳業經營上之一項嚴重問題。DHANDA (1962)¹，就其調查結果顯示，3.9%之牛隻患有臨床乳房炎而 48.8 %患有潛在性之乳房炎。BUTOZAN (1963)²，則謂 25 %之分房受乳房炎之侵襲，且牛乳之損失達 7 %。NAI (1963)¹¹，在其調查中指出，鏈球菌乳房炎之重要性。牛羣中有 20—90 %之個體受鏈球菌之感染，且估計牛乳之損失達10%之譜。由於地區不同，主要病原亦有差異。GARDINER (1965)⁶，曾就一年統計結果，於 2,000頭乳牛之中有三分之一的分房不健康，經實驗室檢查結果，半數之個體，其乳汁含有病原菌，其中33%為葡萄狀球菌，且多數對 Penicillin 有抵抗性。FUJIKURA (1965)⁵，ITURRZAGA (1966)⁷，VAN DEN HEEVER (1967)¹⁷，CUNNINGHAM (1971)³ 等，經長期調查結果，說明牛羣中半數之個體均有一個或一個以上之分房呈乳房炎或潛在性乳房炎。由此觀之，乳房炎之為害實不容忽視。

乳房炎之病原以鏈球菌和葡萄球菌為主，且一般以慢性或潛在性者為多。自從抗生素發現以來，乳房炎之治療似乎已趨於樂觀，可惜病原菌對抗生素之抗藥性問題，却隨着抗生素之普遍應用而日益嚴重。尤其吾國抗生素藥品未加管制，為明瞭乳房炎病原菌對常用抗生素之抵抗性，特就北部地區乳房炎調查工作中所分離之病原菌，取無乳鏈球菌和金黃色葡萄球菌分別測定其對 Penicillin, Streptomycin, Tetracyclin, Chloramphenicol, Oxytetracyclin 和 Chlortetracyclin 之感受性，供治療上選擇藥劑之參考。

材料和方法

1. 無乳鏈球菌和金黃色葡萄球菌，依照平戶¹和 WILSON¹⁹ 二氏所綜合之鑑定方法行之。
2. 供試抗生素皆為原料純品，依照 U.S.P. 檢定方法，使用其最適溶劑配製原液，並以200 c.c.三角燒瓶，用 Trypticase broth 以二倍幾何階稀釋，依照日本株式會社之標準感受性濃度換算表，決定稀釋系列之濃度範圍及感受性和抵抗性濃度之區分。
3. 每一試管分別注入上述含抗生素之培養液 2ml，然後於各試管中分別加入供試菌株之 18 小時 Trypticase broth 培養 1 : 5 之稀釋液一滴。
4. 於37°C之定溫箱經24小時培養後，以肉眼判讀，並記錄其最小抑制量。

結 果

無乳鏈球菌46株，金黃色葡萄球菌26株，以試管系列稀釋法測定其對六種常用抗生素之感受性，結果綜合如下表：

無乳鏈球菌和金黃色葡萄狀球菌對常用抗生素之感受性

ANTIBIOTICS	BACT	+++	++	+	R
PENICILLIN	ST	11.6	0	0	88.4
	SA.	87.0	0	0	13.0
STREPTOMYCIN	ST	0	7.4	18	74.6
	SA.	0	10.0	45	45.0
CHLORAMPHENICOL	ST	4	96 *	—	—
	SA.	76.4	23.6*	—	—
TETRACYCLIN	ST	63	37 *	—	—
	SA.	95	5 *	—	—
OXYTETRACYCLIN	ST	50	50 *	—	—
	SA.	98	2 *	—	—
CHLORTETRACYCLIN	ST	70	30 *	—	—
	SA.	93	2 *	—	—

註：ST：金黃色葡萄球菌

SA：無乳鏈球菌

+++：高度敏感

++：敏感

＋：稍敏感

R：抵抗性

*：包括抵抗性在內

(一) 比較無乳鏈球菌和金黃色葡萄球菌對各種供試抗生素之感受性：

I PENICILLIN

兩種細菌均對 Penicillin 呈相似之反應，即依其感受程度觀之，只有完全抵抗和高度敏感二種。金黃色葡萄球菌對本抗生素具有抵抗性之菌株出現頻度比無乳鏈球菌高，分別為 88.4% 和 13%，兩者差異達顯著水準。 $(X^2=3.88, P<0.05)$ 。

II STREPTOMYCIN

兩種供試細菌分別對 Streptomycin 具有抵抗性，其抗藥性菌株之出現頻度分別為，金黃色葡萄狀球菌 74.6%，無乳鏈球菌 45%，兩者亦有顯著差異存在 $(X^2=1.24, P=<0.5)$

III CHLORAMPHENICOL

兩種供試病原菌，對 Chloramphenicol 之感受性亦有顯著之差異。由上表可見其敏感性菌株之出現頻度分別為金黃色葡萄球菌 4% 而無乳鏈球菌則為 76.4%，其餘為較缺乏敏感及抵抗性之菌株。就以高度敏感菌株之出現頻度而言，兩者之差異達高度之顯著水準。 $(X^2=29.04, P<0.005)$ 。

IV TETRACYCLIN

金黃色葡萄狀球菌和無乳鏈球菌，對四環素類抗生素之感受性呈一致之現象。唯就高度敏感菌株之出現頻度觀之，無乳鏈球菌遠較金黃色葡萄狀球菌敏感，兩者之觀測頻度分別為95%和63%。其差異具有高度顯著性 ($X^2=13.67, P<0.005$)。

V OXYTETRACYCLIN

本抗生素對金黃色葡萄球菌和無乳鏈球菌之效力，與 Tetracyclin 相似，其敏感菌株之出現頻度，分別為50%和98%。無乳鏈球菌對之遠較金黃色葡萄球菌敏感，且有顯著差異 ($X^2=26.59, P<0.005$)。

VI CHLORTETRACYCLIN

就效力而言，Chlortetracyclin 遠比其他抗生素為高。無乳鏈球菌之敏感菌株高達98%，金黃色葡萄球菌亦達70%，唯兩者仍有顯著差異存在。 ($X^2=9.82, P<0.01$)。

(二) 抵抗性及交叉抵抗性之檢討：

- I 對六種供試抗生素全無抵抗性者，無乳鏈球菌為55%而金黃色葡萄球菌則全部菌株均對此六種抗生素中至少有一種呈抵抗性存在。
- II 同時對二種抗生素具有抵抗性者，金黃色葡萄球菌和無乳鏈球菌分別為54%和9%，兩者呈顯著之差異。 ($X^2=18, P<0.005$)。此種交叉抵抗之抗生素均為 Penicillin 和 Streptomycin。

討 論

病原菌對抗生素能產生抗藥性之事實，早已為醫學界所公認，唯在早期由於新的抗生素不斷發現，對有抗藥性的菌株易於用新藥治療，以致一時未被普遍重視。由於不斷深入研究的結果發現，當細菌對某一種抗生素產生抗藥性以後，能對其他構造相似的抗生素同時具有抵抗作用，即所謂交叉抵抗 (Cross Resistance)。此種現象已喚起醫學界的重視。

有關病原菌對抗生素抵抗性之產生，以往皆被視為係一種選擇性。即由於突變而獲得之抵抗性，因其具有抵抗抗生素之特性而能繼續存在，以致此類病原在其族羣中逐漸增多。但自從細菌性狀之遺傳機轉運用於抗藥性之研究以後，發現細菌對抗生素抵抗性之產生並非單純選擇性所能解釋。POLLOCK (1971)¹⁴，曾就近年來有關此種抵抗性之學說加以綜合闡明。彼謂抵抗性之形成，除選擇性以外更可由類似遺傳因子之轉移 (Transfer) 而引起，即已獲得抵抗性之菌體，能將其抵抗某種抗生素之特性，經由菌體之化學物質 (DNA) 傳遞至其他敏感菌體，使其產生相同之抵抗性。此種類似傳染或感應的現象，已使吾人對病原菌抗藥性之形成，啟發了新的觀念，也更使吾人對此項問題不得不深加警惕。

乳房炎病原菌，尤其是鏈球菌和葡萄球菌，對抗生素之抵抗性已有許多報告。雖然所得結果數值上不盡相同，但有一共同的結論，即抗生素的問題普遍存在，只是程度上略有差異而已。

KORTUM (1963)，曾就452株由乳房炎分離之鏈球菌測定其感受性，謂0.22%對 Penicillin 有抵抗性，其他抗生素之抗藥性菌株出現頻度分別為 Streptomycin 33%，Tetracyclin 5%，Chloramphenicol 0.9%。JAMKHEDKAR (1969)⁸ 以26株乳房炎鏈球菌測定結果，全部菌株皆對 Chloramphenicol, Erythromycin 和 Oxytetracyclin 甚為敏感。但有2株對 Streptomycin，12株對 Chlortetracyclin。21株對 Penicillin 具有抵抗性。PANDURANGARAO (1969) 以82株乳房炎病原鏈球菌為對象，發現全部之無乳鏈球菌對 Penicillin 和 Chloramphenicol 皆具有良好之感受性，但只有35株對 Streptomycin，46株對 Oxytetracyclin，25株對 Chlortetracyclin 敏感。

本試驗結果無乳鏈球菌對 Penicillin 和 Streptomycin 之抵抗性菌株，分別占13%和45%，以本菌對 Streptomycin 之抵抗性大於 Penicillin 者觀之，KORTUM 和 PANDURANGARAO 二氏亦得與此相似之結果。但 JAMKHEDKAR 所得之結果則絕大多數之鏈球菌對 Penicillin 有抵抗

性。本試驗之Chloramphenicol, Tetracyclin, Oxytetracyclin 和 Chlortetracyclin 對無乳鏈球菌具有良好之效果，其敏感菌株分別占76.4%，95%，98%，98%，此結果復與 KORTUM 之結果平行，但與 JAMKHEDKAR, PANDURANGARAO 二氏比較則略有差異。

有關金黃色葡萄球菌之抵抗力，SMITH (1964)¹⁶，測定結果，92%對 Penicillin 有抵抗力，但對 Streptomycin 和 Tetracyclin 則敏感，此與本試驗結果一致，但對 Streptomycin 之抵抗力則較本結果為低。PETER (1968)¹³ 亦曾對700株葡萄球菌加以檢討，對 Penicillin 具有抗藥性者5%，Streptomycin 18%，Tetracyclin 7%。RAHMAN (1968) 以24株金黃色葡萄球菌測定結果顯示，全部菌株對Tetracyclin, Chloramphenicol 皆呈高度敏感，但四分之三的菌株分別對 Penicillin 和 Streptomycin 具有抗藥性。ZIV (1969)²⁰ 亦曾以1208株金黃色葡萄球菌加以分析，所得結果亦與前者呈一致之趨勢。本試驗所得結果，金黃色葡萄球菌對 Penicillin 和 Streptomycin 之抵抗力菌株分別為88.4%，和74.6%，但對 Chloramphenicol, Tetracyclin, Oxytetracyclin 和 Chlortetra-Cyclin 具有敏感性之菌株，分別占4%，63%，50%和70%，此與上述各報告之成績大部份呈一致之趨勢，其差異之處可能由於菌株來源及抗生素使用情形因地區不同所致。

由整體觀之，金黃色葡萄球菌對六種供試抗生素之抵抗力均大於無乳鏈球菌，尤其以對 Penicillin 和 Streptomycin 為甚。無乳鏈球菌則對 Streptomycin 有顯著之抗藥性，對 Penicillin 次之，但對其他四種供試抗生素則甚敏感。

抗生素感受性試驗，旨在探討細菌對治療劑感受程度之差異，供用藥時之參考，其質的意義重於量的意義。儘管測定方法各異其趣，然其性質則一。

乳房炎的治療劑以 Penicillin 或 Penicillin-Streptomycin 之混合劑為主，由臨床治療的經驗顯示，葡萄球菌性之乳房炎比鏈球菌者難以治療，且混合感染時往往於治療後轉為潛在性乳房炎。鏈球菌雖然消失，但葡萄球菌仍然存在而無法治療。本試驗結果，金黃色葡萄球菌之抵抗力菌株出現頻度遠大於無乳鏈球菌，此正可對一般臨床治療經驗加以客觀的解釋。

WEIGT (1968)¹⁸，曾就 HANNOVER 獸醫學院牛產科系 1962—1967，六年間由乳房炎分離之病原菌對抗生素之抵抗力變化加以檢討，發現此六年間，葡萄球菌和鏈球菌對抗生素之抵抗力菌出現頻度增加1~8倍。同時對二種以上之抗生素同時具有抗藥性者亦大量增加。JACOBS (1967)¹⁹亦指出由1962—1966，對 Penicillin 有抵抗力之葡萄球菌由8%增加至23%，在西德與荷蘭，抗生素早已列入管制之國家，病原菌對抗生素之抗藥性仍然逐年增加。若以吾國情形觀之，金黃色葡萄球菌對 Penicillin 和 Streptomycin 具有抵抗力之菌株，分別占88.4%和74.6%，且對六種供試藥劑中至少對一種有抗藥性，此種結果似不足為奇。

結 論

由乳房炎乳汁分離之無乳鏈球菌46株，金黃色葡萄球菌26株，在試管內以系列稀釋法測定其對 Penicillin, Streptomycin, Chloramphenicol, Tetracyclin, Oxytetracyclin, 和 Chlortetracyclin 之感受性。資料經統計分析結果顯示，金黃色葡萄球菌對六種供試抗生素之抵抗力菌株出現頻度遠比無乳鏈球菌為高，且全部均對一種或一種以上之抗生素有抗藥性。Penicillin 和 Streptomycin 對金黃色葡萄球菌幾近無效，但四環素類抗生素則對之仍保持良好效果。無乳鏈球菌對 Streptomycin 具有相當高之抵抗力，但對其他五種供試抗生素則甚敏感。有一半以上之金黃色葡萄球菌對 Penicillin 和 Streptomycin 同時具有抗藥性，而此種交叉抵抗力在無乳鏈球菌則僅占9%。以上各項差異均達顯著水準。

誌 謝

本試驗承蒙臺灣省乳業發展小組補助試驗經費特此誌謝。

參 考 文 獻

1. 平戸勝七：獸醫微生物學 日本養賢堂版
2. BUTOZAN, V., MIHAJLOVIC, S., MILUNOVIC, M. & ORLIC, M. (1963)
Control of mastitis in large dairy herds in Yugoslavia. Bull. off. int. Epizoot. 60, 605-622
3. CUNNINGHAM, J. F. (1971)
A survey of the type and incidence of bovine mastitis in the southern dairying area of Ireland. Irish vet. J. 25, 45-50
4. DHANDA, M. R. & SETHI, M. S. (1962)
Investigations on mastitis in India PP. 41, New Delhi: Indian Council of Agricultural Research
5. FUJIKURA, T. & SHIBATA, S. (1965)
Bovine mastitis incidences in rural areas in Japan. Natl. Inst. Anim. Hlth Qt., Tokyo 5, 65-72
6. GARDINER, M. R. & MUNCH-PETERSEN, E. (1965)
Survey on mastitis in Western Australia. Aust. J. Dairy Technol. 20, 171-173
7. ITURRIZAGA, B. D. & INCIO VIVAR, N. (1966)
Bovine mastitis: its incidence in Peru. Revta Cent. nac. Patol. anim., Lima 5, No. 8/9 pp. 9-19 Vet. Bull. 1965, No. 1962
8. JAMKHEDKAR, P. P., VARAYA, N. A., KADVEKAR, L. K. & MURKIBHAVI, G. R. (1969)
Antibiotic sensitivity of streptococci from buffalo-cow udder. Indian vet. J. 46, 830-831
9. JACOBS, J. & HANSELAAR, J. (1967)
Sensitivity to antibiotics of mastitis organisms commonly isolated in the Netherlands. Tijdschr. Diergeneesk. 29, 851-861 Vet. Bull. 1967, No. 5060
10. KORTUM, H. (1963)
Antibiotika-Resistenzenterpathogener Streptokokken. Inaug. Diss., Munchen pp. 72
11. NAI, D. D. & REDAELLI, G. L. (1963)
The mastitis problem in dairies in the Po Valley Bull. Off. int. Epizoot 60, 553-592
12. PANDURANGARAO, C. C., IYER, H. H. & KHERA, S. S. (1969)
Antibiotic sensitivity of streptococci of bovine mammary origin. Indian vet. J. 46, 93-100
13. PETER, M. (1968)
Resistance to antibiotics among staphylococci of bovine origin from farms provided with intensive veterinary supervision of udder health. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 81, 153-155
14. POLLOCK, P. R. & W. HAYES (1971)
Memorandum on some bacteriological and genetic aspects of Transmissible drug resistance. in Joint Committee on the use of antibiotics in animal husbandry and veterinary medicine. Report, 1971, pp. 67-68
15. RAHMAN, M. A., CHOUDHURY, T. I. M. F. R. & CHOUDHURY, M. U. A. (1968)
Studies on vitro and vivo sensitivity of the different strains of Staphylococcus of bovine mammary gland origins to selected antibiotics. Pakist. J. vet. Sci. 2, 109-118

16. SMITH, J.M.B. & MARPLES, M.J. (1964)
A natural reservoir of penicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*.
Nature, Lond. 201, 844
17. Van den HEEVER, L.W. & GIESECKE, W.H. (1967)
The mastitis problem in South Africa—some observations. *J.S.Afr. vet. med. Ass.* 38,
107—114
18. WEIGT, (1968)
Zur Zunahme der Antibiotikaresistenz bei Mastitiserregern. *Deutsche Tierärztl. Wochenschrift.* 75, 617—622
19. WILSON, G.S. & A.A. MILES (1966)
Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity. Arnold, London
20. Ziv. G. (1969)
Antibiotic sensitivity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine udders in Israel.
Refuah vet. 26, 104—113

A COMPARATIVE STUDY OF ANTIBIOTIC SENSITIVITY BETWEEN *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* AND *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* OF BOVINE MAMMARY ORIGIN

K. J. Lin T. C. Chiu, S. S. Chen S. J. Whang

SUMMARY

Forty-six strains of *Streptococcus agalactiae* and twenty-six strains of *Staphylococcus aureus* isolated from the milk of mastitis udders were tested for the sensitivity to penicillin streptomycin, chloramphenicol, tetracyclin, oxytetracyclin and chlortetracyclin by means of tube dilution method.

The statistical data indicated that strains of *Staphylococcus aureus* were more resistant to these antibiotics than the *Streptococcus*. All of the *Staphylococcus aureus* were resistant at least to one antibiotics.

Penicillin and Streptomycin performed very poor effect on *Staphylococcus aureus*, but the germ maintained its sensitivity to the tetracyclin group. *Streptococcus agalactiae* appeared rather resistant to streptomycin and penicillin but very sensitive to the tetracyclin group.

More than half strains of the *Staphylococcus* resisted to both penicillin and Streptomycin. The cross resistance was found in *Streptococcus agalactiae* only by 9%. All the data mentioned were statistically significant.