

## 大腸桿菌 *Escherichia coli* 對 quinolones (quinolone 及 fluoroquinolone) 感受性降低及抗藥性之關聯

---

大腸桿菌 *Escherichia coli* 對 quinolones (quinolone 及 fluoroquinolone) 感受性降低及抗藥性之關聯

楊采菱 陳珮琛 蕭溢茹 王惠瑩 賴瑞芬

國家衛生研究院 臨床研究組

### 前 言

Quinolones 為一群廣泛性使用的化合物抗生素之總稱。如奈啶酸(nalidixic acid)，為 1962 年最先被使用於醫療上的第一代 quinolone 類抗生素。它的作用範圍狹窄，幾乎專門只能對抗革蘭氏陰性腸內菌。在其 C-6 位置增加一個氟原子，則成為 fluoroquinolone(FQ)，增進了其對抗革蘭氏陰性腸內菌和其他革蘭氏陰性菌的效用。在 1980 年代，引進了 FQ norfloxacin，其效果勝過第一代 quinolone 百倍以上，而更新的 FQ，如 ciprofloxacin 及 ofloxacin，效用範圍更廣；這些第二代的 quinolones 對抗革蘭氏陽性與陰性細菌有極佳的效用。更新一代的 FQ，如 levofloxacin, trovafloxacin, grepafloxacin, gatifloxacin 及 moxifloxacin，對抗革蘭氏陽性球菌的效果更增加了 2 到 8 倍[1]。至於一些與 FQ 結構相似的藥，如 enrofloxacin 和 sarafloxacin，則被使用於獸醫界上。

Fluoroquinolone (FQ) 已成為醫界最重要之抗生素之一。最先 FQ 是主要用來治療泌尿道的感染症，逐漸也被用於治療胃腸疾病、經由性行為所傳染的疾病及其他疾病，而新一代之 FQ，包含 ciprofloxacin, ofloxacin, gatifloxacin 及 levofloxacin 等，在治療呼吸道感染症，更是佔極重要角色 [1,2]。FQ norfloxacin 和 ciprofloxacin 也可用於免疫系統缺陷病人預防細菌感染疾病上[1]。FQ 在臨床上的使用主要是限於成人，在小兒科之使用則限於少數特殊疾病，且不同國家在小兒科之使用限制不同[1]。由於細菌對奈啶酸(nalidixic acid)的抗藥性已非常普遍，故在臨床上使用的範圍已有限，且細菌對 FQ 的抗藥性也正在逐漸增強中。

### 抗藥性測試及感受性降低之關聯

抗藥性的偵測可由表現型和基因型的方法進行。一般臨床微生物實驗室測試抗藥性表現型最常用的方法有兩種；一個是定性型之抗生素紙錠擴散方法(disk diffusion)，測量抑制環的大小，另一個是定量型之稀釋方法(broth or agar dilution)，測量抗生素最小抑菌濃度(minimum inhibitory concentration; MIC)。基因型的測試是在偵測細菌是否具有抗藥機制，如抗藥基因(resistance gene)，或藥物作用目標之基因突變(target mutation)。大多數國家所採用表現型的測試方法及抗敏性之判斷是依據美國臨床檢驗室標準委員會(National Committee for Clinical Laboratory Standards; NCC-LS)所設定之準則，來決定所測試菌株對不同抗生素之抗敏性，包含感受性(susceptible)，中間性(intermediate)，及抗藥性(resistant)之臨床指標(clinical breakpoint)，其目的是用來預測用藥後之臨床

結果。但臨床指標不包含感受性降低。感受性降低是最近幾年來逐漸在被重視的一個微生物指標 (microbiologic breakpoint)，其目的是用來指認出用臨床指標判斷仍為感受性，但已具有抗藥機制之細菌。

### 抗藥性機轉

Quinolones 在革蘭氏陰性細菌[如大腸桿菌(*Escherichia coli*)]的主要作用目標是去氧核糖核酸(DNA) gyrase(亦稱 topoisomerase II)。DNA gyrase 是一個在複製 DNA 過程中所必需的酵素。新一代 FQ 並可抑制 type IV topoisomerase 的作用。抗 quinolones 的細菌通常是經由 DNA gyrase 及 type IV topoisomerase 基因的突變，導致藥物與其目標之間的親和力降低而產生；或革蘭氏陰性細菌的外膜 porin 蛋白質改變，造成 quinolones 藥物在細菌內累積減少，皆可導致對 quinolones 的抗性。其他種細菌也可因增加對藥物的排除能力(排除系統, efflux)的改變而導致對 quinolones 的抗性[1-4]。

DNA gyrase 和 topoisomerase IV 各有二個不相同的次單元。DNA gyrase 之二個次單元 A 和 B，是由 *gyrA* 及 *gyrB* 染色體基因轉譯成兩個不同的部份所組成；topoisomerase IV 也有二個次單元 C 和 E，由 *parC* 和 *parE* 染色體基因轉譯而成。基因型的研究可顯示對 ciprofloxacin 感受性降低菌及具抗性菌之分子機轉的特性。即 *gyrA*, *gyrB*, *parC* 和 *parE* 基因逐步突變與對 quinolones 的抗性表現程度有關。許多革蘭氏陰性細菌對 quinolones 的抗藥性主要是經由 *gyrA* 及 *parC* 中的 quinolone 抗藥性決定區[quinolone resistance determining region (QRDR)]的基因突變而產生[3,4]。DNA gyrase 基因突變的程度可影響細菌對 FQ 的抗藥性；以 *E. coli* 細菌為例，*gyrA* 基因中的單一突變可導致對奈啶酸(nalidixic acid)的抗藥性，但對 FQ 沒有抗藥性，同時會造成 *E. coli* 對 FQ 感受性的降低。當 *gyrA* 再進一步的突變或加上 *parC* 的突變就會導致細菌對 FQ 的抗藥性[3-5]。

### 台灣現況

國家衛生研究院臨床研究組在 1998 年全國微生物抗藥性監測計畫(Taiwan Surveillance of Antimicrobial Resistance 1998, TSAR I)收集了 1,203 株大腸桿菌(*E. coli*)，是收集的致病菌株中最普遍的菌[6]。其中 136 株(11%)對 ciprofloxacin 具有抗性，1,067 株(89%)具有感受性(抑菌環大於 20 mm)。然而，在對 ciprofloxacin 具感受性的 *E. coli* 菌中，抑制環大小之分佈有明顯的兩群。抑制環大的一群大於或等於 32 mm，抑制環小的一群集中於 20-31 mm，顯示抑制環較小的菌株對 ciprofloxacin 的感受性已降低。有較小抑菌環的 *E. coli* 有 261 株，佔所有 *E. coli* 的 22%(圖一)[7]。

進一步的調查顯示，對 ciprofloxacin 感受性降低的 *E. coli* 已對奈啶酸(nalidixic acid)具完全的抗性。由最小抑菌濃度的測試亦發現，抑菌環較小的 *E. coli* 之 ciprofloxacin MIC<sub>50</sub>(抑制 50%所有測試菌之最小抑菌濃度)高於抑菌環大的一群 8 倍(0.19  $\mu$ g/mL 與 0.016  $\mu$ g/mL 比較)。經測試另一個 FQ ofloxacin 之結果亦跟 ciprofloxacin 的結果相似。

抗藥性的偵測可由表現型和基因型的方法進行。而 *E. coli* 對 FQ 有不同感受性之表現型和基因型的測試結果有相當的關聯性。抗藥性表現型測試最常用的方法有兩種；一個是定性型之抗生素紙錠擴散方法(disk diffusion)，測量抑制環的大小，另一個是定量型之稀釋方法或 Etest 來測量抗生素最小抑菌濃度(minimum inhibitory concentration; MIC)。

基因型的研究亦顯示，ciprofloxacin 抑菌環大於 31 mm，對奈啶酸(nalidixic acid)具感受性之 *E. coli* 沒有任何 *gyrA* 或 *parC* 基因突變的現象。*E. coli* 對 ciprofloxacin 感受性降低者，在 *gyrA* 之 quinolone 基因抗藥性決定區內有單一突變，最常見為造成胺基酸 83 由原來之 serine 變為 leucine 之突變 (Ser83Leu)，另有些菌種 *parC* 基因中也有突變。*E. coli* 對 ciprofloxacin 具抗性者，在 *gyrA* 抗藥性決定區(QRDR)中通常有兩個基因突變，包含 Ser83Leu 及 Asp87Asn，和一個 *parC* 基因的突變。*parC* 基因的突變最常見為造成胺基酸 80 由原來之 serine 變為 Isoleucine 之突變(Ser80Leu)(表一)[7,8]。

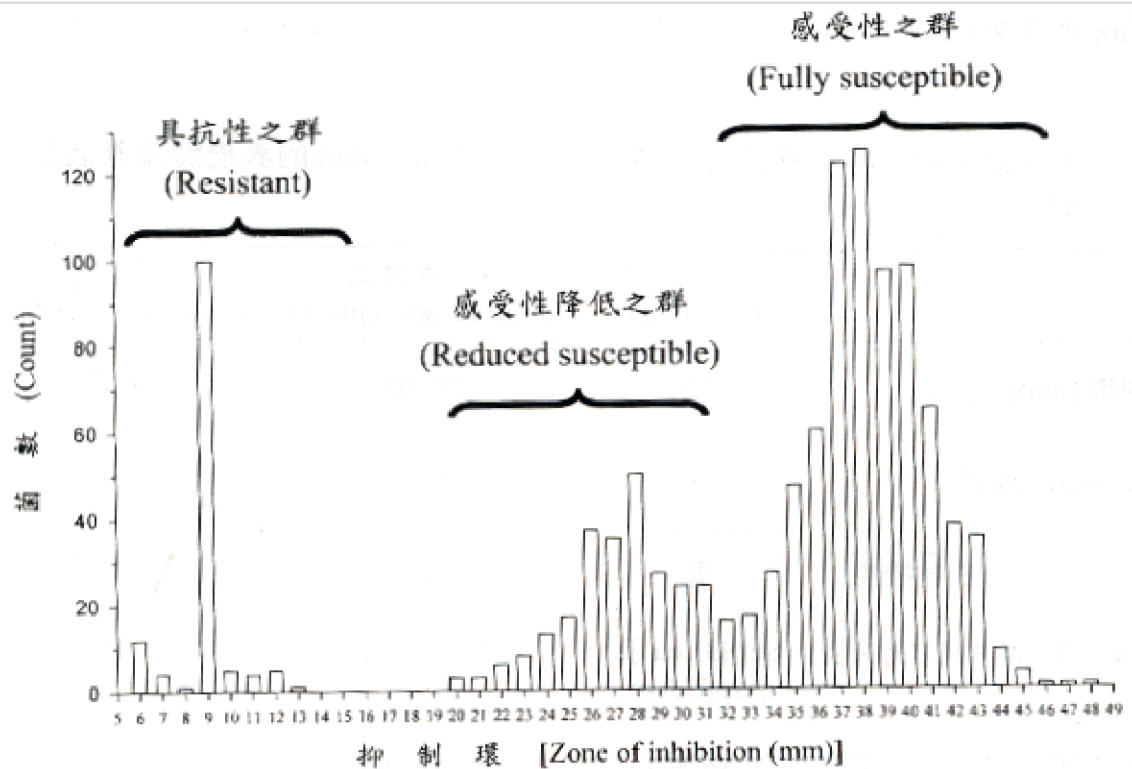
另外一個值得注意的事是，雖然 FQ 在小兒科的病人使用有限，然而在 TSAR I 的 *E. coli* 菌株中，對 ciprofloxacin 感受性降低的比例由小兒科來的和非小兒科來的很相似(小兒-17%，成人-22%)。除了 *E. coli*，國內學者亦發現，其他臨床常見之革蘭氏陰性桿菌，如 *Klebsiella pneumoniae*，*Pseudomonas aeruginosa*，*Serratia marcescens*，*Enterobacter cloacae*，*Proteus mirabilis*，和 *Salmonella* spp.，都有對 FQ 感受性降低或抗藥性增加的趨勢 [3-15]。

最近幾年，歐美國家發現動物界內開始使用 FQ 以後，由食品動物傳染給人類的細菌，如 *Campylobacter* 及 *Salmonella*，對 FQ 的抗藥性逐漸增加[9-10]。台灣動物界內使用 enrofloxacin 及其他 FQ 已有多年。我們於 1999 及 2000 年在台北市區的傳統和超級市場購買的 30 隻雞中，發現其中有 14 隻雞身上有對 ciprofloxacin 具抗性的 *E. coli*，有 12 隻雞身上有對 ciprofloxacin 感受性降低的 *E. coli* [11]。我們研究發現這些 *E. coli* 對 FQ 抗藥性也跟 *gyrA* 和 *parC* 的基因突變有關。

## 結 語

在台灣，自 FQ norfloxacin, ofloxacin 和 ciprofloxacin 各在 1985, 1988 及 1991 年准許使用後，其使用量逐年的增加[12]。國際上已發表的研究報告文獻指出，在有選擇性條件的壓力下，如有 FQ 的環境裏，對 FQ 感受性降低之菌有可能會再突變而成為具有完全抗性者，導致治療失敗[4,16]。因此用 FQ 來治療對 FQ 感受性已降低的致病菌應詳加慎重考慮。而食品動物界使用 FQ 與人類界中對 FQ 感受性降低和具抗藥菌之來源、分佈及相關性亦是值得再進一步深入探討的。

*E. coli* 對 ciprofloxacin 感受性的降低可做為一個很好的例子，來顯示監測計畫的重點不只在於調查微生物抗藥性之趨勢及分佈情況，亦可偵察出新產生及逐漸在演變的細菌抗藥性。而醫院臨床微生物實驗室之微生物抗藥性測試，亦扮演一前線重要角色，能隨時注意細菌抗藥性之演變，並提供最新的訊息。為抑制微生物抗藥性的擴展及產生，我們應對抗生素的使用做更謹慎的考量及控制。



圖一 TSAR I *E. coli* 對 ciprofloxacin 感受性之分佈

表一 對 ciprofloxacin 具不同感受性之大腸桿菌 (*E. coli*) 的表現型及基因型特性

特性	抗性 (Resistant)	感受性降低 (Reduced susceptible)	感受性 (Fully susceptible)
抑制環 (mm)	≤ 5	21-30	≥ 32
MIC <sub>50</sub> (μg/mL) <sup>a</sup>	>32	0.19	0.016
對 nalidixic acid 具抗性	有	有	無
<i>gyrA</i> 突變 (最常見之胺突變)	Ser83Leu 及 Asp87Asn	Ser83Leu	無
<i>parC</i> 突變 (最常見之胺突變)	Ser80Ile	大多無	無

<sup>a</sup>: 抑制 50% 測試菌之最小抑菌濃度

## 參考文獻

1. Ball, P: The quinolones, history and overview. In: Andriole VT ed. The Quinolones. 3rd ed. London, UK. Academic press 2000:2-24.
2. Hooper DC: Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis* 2001;7:337-41.
3. Piddock, LV: Mechanisms of fluoroquinolone resistance: an update 1994-1998. *Drug* 1999;58:11-8.
4. Koehler T, Pechere J-C: Bacterial resistance to quinolones, mechanisms and clinical implications. In Andriole VT ed. The Quinolones. 3rd ed. London, UK. Academic press 2000;139-56.
5. Everett MJ, Jin YF, Ricci V, et al: Contributions of individual mechanisms to fluoroquinolone resistance in 26 *Escherichia coli* strains isolated from humans and animals. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:2380-6.
6. Ho M, McDonald LC, Lauderdale TL, et al: Surveillance of antibiotic resistance in Taiwan, 1998. *J Microbiol Immunol Infect* 1999;32:239-49.
7. McDonald LC, Chen FJ, Lo HJ, et al: Emergence of reduced susceptibility and resistance to fluoroquinolones in *Escherichia coli* in Taiwan and contributions of distinct selective pressures. *Antimicrob Agents Chem* 2001;45:3084-91.
8. Chen FJ, McDonald LC, Ho M, et al: Identification of reduced fluoroquinolone susceptibility in *Escherichia coli*: a herald for emerging resistance. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:936-8.
9. Smith KE, Besser JM, Hedberg CW, et al: Quinolone-resistant *Campylobacter jejuni* infections in Minnesota, 1992-1998. *N Engl J Med* 1999;340:1525-32.
10. Threlfall EJ, Ward LR, Rowe B: Resistance to ciprofloxacin in non-typhoidal salmonellas from humans in England and Wales-the current situation. *Clin Microbiol Infect* 1999;5:130-4.
11. McDonald LC, Lauderdale TL, Ho M: Reduced susceptibility to fluoroquinolones of *E. coli* and *Salmonella* spp. isolated from retail chicken carcasses and emerging human resistance in Taiwan. abst. Y-7, In Abstracts of the 100th general meeting of American Society for Microbiology. 2000.

12.Chang SC, Chen YC, Hu OY: Antibiotic use in public hospitals in Taiwan after the implementation of National Health Insurance. *J Formos Med Assoc* 2001;100:155-61.

13.Chen FJ, Ho M, Lo HJ: The roles of mutations in *gyrA*, *parC*, and *ompK 35* in fluoroquinolone resistance in *Klebsiella pneumoniae*. In Abstracts of the 102th general meeting of American Society for Microbiology. 2002.

14.Chiu CH, Wu TL, Su LH, et al: Emergence in Taiwan of fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype choleraesuis. *N Engl J Med* 2002;36:413-9.

15.Sheng WH, Chen YC, Wang JT, et al: Emerging fluoroquinolone-resistance for common clinically important gram-negative bacteria in Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;43:141-7.

16.Aarestrup FM, Mouton RP, Ibbak K, Threlfall EJ. Is it time to change fluoroquinolone breakpoints for *Salmonella* spp.? *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:827-