

計畫編號：DOH93-DC-1110

行政院衛生署疾病管制局九十三年度科技研究發展計畫

B 群鏈球菌分子流行病學及表面蛋白致病因子之探討

研究報告

執行機構：國立成功大學

計畫主持人：吳俊忠

研究人員：鄭獻文、伍展弘、何月仁

執行期間：93 年 3 月 1 日至 93 年 12 月 31 日

* 本研究報告僅供參考，不代表衛生署疾病管制局意見 *

目

錄

	頁碼
封面	
目錄	1
中文摘要	2-3
英文摘要	4-5
前言	6-7
材料與方法	8-9
結果與討論	10-14
結論與建議	15
參考文獻	16-19
圖、表	20-25

中文摘要

B 群鏈球菌是引起新生兒及婦女重要傳染疾病的病原菌之一。此外，罹患慢性疾病的老年人、甚至於非懷孕的成人感染 B 群鏈球菌也有逐漸增加的趨勢。在台灣目前對 B 群鏈球菌的流行病學及致病機制尚不清楚，因此本研究計畫以三年時間進行分子流行病學及可能之致病因子的探討。本年度規劃的研究重點是分子流行病學的分析，運用莢膜血清型與脈衝式電泳兩種分型法來分析 B 群鏈球菌，並比較相同及不同血清型菌株間之差異性、分析莢膜血清型與疾病之相關性、以及探討血清型與質體是否與致病因子有關。根據流行病學分析的結果顯示，大人與小孩的感染比例將近 2:1，並且死亡率分別是 28%與 21%。而在臨床表徵上，新生兒的感染症，除了原有的菌血症之外，有 37%的案例併發腦膜炎，另有 32%併發肺炎；若以發病年齡作區隔，則發現出生 24 小時內發病的 B 群鏈球菌感染，主要以肺炎來表現；而出生 24 小時以後才發病的，則主要出現腦膜炎的診斷；並且這關係性在統計學上是有顯著的意義($P < 0.05$)。但在成人方面，最主要的感染症是原發性菌血症，其次是軟組織感染及肺炎。進一步分析，則發現許多受到 B 群鏈球菌感染之成年人患有基本疾病 (underlying diseases)，以糖尿病、肝炎以及肝硬化三者為最多，分別佔有 34、28 及 25%；很明顯地國內可能受到 GBS 感染的高危險群是相當的多，值得衛生當局的高度重視。在菌株的分析方面，本年度已完成莢膜抗血清試驗及脈衝式電泳的分析，脈衝式電泳型主要以第 1 和第 4 為最多，分別佔 19.6%、17.6%；而莢膜血清型則以第 III、第 V、和第 Ia 為主，各佔 45%、22% 和 18%。另外，分析發現莢膜血清型第 III 型是感染新生兒最主要的菌株，而第 V 型則是感染成人最多的菌株($p < 0.05$)；這種優勢顯示 B 群鏈球菌之型別在國內有其地理上之特殊分佈，值得密切監控。結合分析脈衝式電泳與莢膜血

清型之結果，可以看出血清型第 Ia 型與脈衝式電泳型第 12 型、血清型第 III 型與脈衝式電泳型第 1 型、以及血清型第 V 型與脈衝式電泳型第 4 型之間，其關係性 (concordance) 在統計上都有顯著的意義 ($P < 0.05$)，隱含有共同決定因子的可能。另外，交叉分析疾病與血清型的關係，發現兩者之間的關係性沒有統計上顯著的意義 ($P > 0.05$)。在抗生素感受性的分析方面，所有菌株對於紅黴素 (erythromycin) 的抗藥性高達 42%，值得繼續監測和探究其選擇性壓力 (selective pressure) 的來源；此外，對於 clindamycin 的抗藥性也有 37% 之高，因為這些都是臨床上第一線用藥，值得嚴加管控。在質體的探討上，發現所有血液培養菌株中只有 5 株含有內源性質體，其大小約在 5~12 kb 左右，並且分屬於五種不同的質體；而質體的分佈與莢膜血清型並沒有相關性，因此推論質體的存在與否和造成的疾病不具有流行病學的關係，或者說質體並非 B 群鏈球菌的主要毒性因子；所以探討 B 群鏈球菌致病之分子機制，以找尋其它的致病因子，將有助於了解剛出生嬰兒的抗感染機制，也有助於了解人類之免疫機制是如何啟動，亦可以藉此找尋新的預防和治療 B 群鏈球菌感染的方法。

關鍵詞: B 群鏈球菌、分子流行病學、莢膜血清型、脈衝式電泳法分析

英文摘要

Group B streptococci (GBS) are one of major pathogens in newborns and women. In addition, GBS also increasingly draw attention for adult infections recently. Although this is an important infection in Taiwan, the epidemiology and pathogenesis of GBS infection remains unclear. The main scope of research is focused on the epidemiological study as well as investigation of possible virulent factors of GBS. Both capsule serotyping and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) were utilized to analyze fifty-one clinical isolates harvested from sterile sites in patients with community-acquired infections at a tertiary hospital of southern Taiwan. The first-year focus of study is delineated the concordance between the two different typing methods, and whether the plasmid contributes to the pathogenesis of GBS. According to the epidemiological study, it was shown that the ratio of adult to newborn was 2:1, with mortality of 28% and 21%, respectively. Most of neonate GBS infectious disease was meningitis (32%), followed by pneumonia (27%). Pneumonia is the most likely complication of GBS infection developed within 24 hours of delivery; on the other hand, meningitis was the most common infections beyond 24 hours of delivery. Comparatively, most adult GBS infections were primary bacteremia, followed by soft tissue infections including necrotizing fasciitis. Statistical significance was evident in the clinical presentation of GBS infection among newborns as well as adults. Characteristically, many underlying diseases were found among the adult patients with GBS infections, diabetes mellitus (34%), hepatitis (28%) and cirrhosis of liver (25%) were the most common three entities. This explicitly indicates that a vast majority of our patients are threatened by GBS. The analysis of capsule serotype and PFGE were completed, the predominant serotype among the 51 isolates was type III, V, Ia accounting for 45, 22 and 18% of the isolates, respectively. Serotype III was more prevalent

in child than in adult (65% vs 35% ; $p < 0.01$). Adult patients were more likely to have infections caused by serotype V than child (9% vs 91%; $p = 0.037$). Of the neonatal infections, most newborn infections were caused by serotype III; and type V contributed to the most adult infections ($p < 0.05$). This highlights the characteristic of geographical distribution of GBS infection worthy of further surveillance. Combined with both methods, there were significant linking noticed between PFGE type 12 and serotype Ia, type 1 and serotype III, and type 4 and serotype V ($p < 0.05$). On the contrast, there was none of concordance between the typing and infection entity. The overall resistance rate to erythromycin was astonishingly high of 42%, this indicates implicitly there still is selective pressure in the local community. Further, 37% was resistant to clindamycin, an important first-line antibiotic against Gram-positive infections. All of serotypes Ib and VI were resistant to erythromycin. Convincingly, the issue of antibiotic resistance is worth continuing surveillance. From the plasmid analysis, it was found that only 5 clinical isolates possessed individual plasmid with a size ranging from 5 to 12 kb. None of linkage was established between the presence of plasmid and typing of GBS. It is speculated that plasmid does not play critical role for GBS infections. Accordingly, molecular pathogenesis is deserved further investigation and some other virulence factors will be anticipated for GBS infections. This would help elucidate the mystery of how newborns of human being fight against infections, and find a novelty to prevent the GBS infections as well.

Key words: Group B streptococcus; Molecular epidemiology; Capsule serotype; Pulse field gel electrophoresis

前言

B 群鏈球菌(Group B streptococci GBS) 為一常見的病原菌，在女性患者中常見泌尿系統感染或子宮內膜炎 (endometritis)。亦可經由受感染之母親經羊膜或在分娩過程中垂直傳染給新生兒，進而造成新生兒腦膜炎 (meningitis)、敗血症 (sepsis)、或肺炎 (pneumonia)，此外也會造成非懷孕成人的壞死性筋膜炎(necrotizing fasciitis)、菌血症(bacteremia)、心內膜炎 (endocarditis)、腹膜炎(peritonitis)等(1)，而 GBS 在成人造成的罹患率 (morbidity)與死亡率(mortality)通常與 underlying diseases 有關(2,3)。根據 1990 年的調查，在美國每 1000 個新生兒約有 1.8 個受到 GBS 的感染，並且這些感染的新生兒約有 6%的致死率，僥倖存活者亦有 50%的再復發率(4)。在台灣，根據馬偕醫院 1985 到 1995 的調查報告顯示，每 1000 名新生兒有 3.26-10.08 名可被 GBS 移生(colonization)，而每 1000 名新生兒有 0.11-1.39 名可引發 GBS 感染所造成的疾病(5)。另外根據本實驗室早期的報告指出在南台灣非懷孕成人造成 GBS 感染之發生率為千分之 1.6 (6)。這些結果顯示台灣地區 B 群鏈球菌之感染是不容忽視之課題。

GBS 目前以 type-specific capsular polysaccharides 做為分類的依據，可分為九種不同的 serotypes。其中 types Ia、Ib、II、III 及 V 等五種 serotypes 較常發生於美洲 (7)； types VI 及 VIII 較常見於懷孕的日本女性身上(8)，而 types IV 及 VII 則較不普遍。本實驗室先前針對南台灣之 GBS 進行 8 年 351 病例的流行病學調查，其中以 type III (28.5%) 與 type V (27.1%) 分佈較多，而其中造成較為嚴重感染的菌株以 type III (34.6%) 與 type V (25.7%) 為主(9)。然而針對於這些相同莢膜血清型是否來自相同之菌落

(clone)在南部地區散佈目前仍不得而知。另外，這些同一血清型的菌株特別是侵襲性菌株的染色體圖譜是否相同，也待進一步研究。因此，有鑒於 B 群鏈球菌在台灣地區之分子流行病學及致病因子目前在國內並無完整的報告，因此進一步了解此菌之分子流行病學及致病因子有探討其必要性。本計畫預計以三年時間完成，第一年之工作乃收集成大醫學中心 2000-2002 年之 B 群鏈球菌，進行其莢膜血清型與脈衝式電泳的分型，並進一步分析二者之間的相關性，另外進行內源性質體的萃取，並分析其與所造成疾病之關係。

材料與方法

細菌的收集

過去 10 年來我們實驗室已由各種檢體收集超過 1000 株以上 B 群鏈球菌，2000-2002 年約 400 菌株，我們將以檢體種類，特別是無菌部位所分離之 B 群鏈球菌來進行本計劃之各項分析。

荚膜血清型之分析

利用不同型荚膜抗血清(Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII) (Statens Serum Institut, KO.)，依據廠商指定步驟進行測試。

染色體DNA之抽取

取新鮮菌落接種至30 ml TSBY (Tryptic soy broth , Yeast extract)，於37°C 培養箱中隔夜生長，離心取菌體，以10 µg/ml Mutanolysin及5 mg/ml Lysozyme在37°C作用1小時，再以5 % SDS在65°C作用30 min，之後以 phenol-chloroform 萃取DNA，最後以酒精沈澱，乾燥後回溶於500 µl TE buffer，保存於4°C。

質體DNA 之抽取(10)

10 ml菌液經隔夜培養後，離心取菌體，以1 ml無菌水清洗之後，加入200 µl Lysozyme (20 mg/ml) 及20 µl mutanolysin (0.25 µg/ml)，在37°C下作用1 hr，經離心取沉澱，加入100 µl solution I (50 mM glucose，10 mM EDTA, 25 mM Tris buffer pH 8.0) 使菌體懸浮，再加入100µl 預冷之

solution II (0.2N NaOH, 1%SDS)充分混合後，加入150 μ l solution III (3 M potassium acetate/11.5 %glacial acetic acid)輕輕混合均勻，在冰中靜置 10 min，以12000 rpm離心 10 min，取上清液，加入10 μ l RNase (10 mg/ml) 在37°C反應1 hr，隨後加入等量之 phenol/chloroform 混合均勻後離心取上層，加入2 倍體積之isopropanol，在-20°C下靜置一段時間，之後離心取沉澱，再以70 %酒精溶液沖洗沉澱，最後乾燥沉澱物，並以50 μ l 無菌水溶解之。

脈衝式電泳法分析

利用我們實驗室過去已建立之方法進行(11. 12)，取新鮮菌落接種至 10 ml TSBY (Tryptic soy broth , Yeast extract)，於 37°C培養箱中隔夜生長，離心取菌體，以 1x TE 沖洗一次，回溶於 1 ml 1x TE 與 0.25 ml 之 2.5% low melting agarose (FMC bioproducts, Rockland, ME)均勻混合 1 min 後，再加入 2.5 ml 礦物油充分均勻混合，再置於冰上 10 min，再加入 10 ml 1x TE，以 4°C 8000 rpm 的離心速度收集沉澱物，再加入 10 ml T10E (10 mM Tris-HCl [pH7.5] ， 10 mM EDTA [pH 8.0])，最後再加入 10 μ g/ml Mutanolysin 及 5 mg/ml Lysozyme 在 37°C 作用 1 小時，再以 15 ml solution C (10% Sarcosyl, 0.5 M EDTA, 100 μ g/ml proteinase K)在 65°C 作用 16 h，最後回溶於含 1 mM PMSF 的 1x TE 保存於 4°C。以 40 U *Sma* I 分解 agarose-embedded DNA 於 25°C 作用 18 h。經脈衝式電泳 (Gene Navigator , Pharmacia , LKB) 分析之：在 0.5X Tris-borate-EDTA running buffer 中以 1.2-54 s 的轉換時間進行 24 h，之後再以 2-15 s 的轉換時間進行 12 h。

結果

本計劃第一年進行的主要是收集成大醫學中心之 2000-2002 年 B 群鏈球菌，特別針對無菌部位所收集之菌株進行分析。根據實驗的成果顯示在 2000-2002 年中，細菌經重新確認為 B 群鏈球菌者總共有 475 株，在這些菌株中有 51 株是由無菌部位所收集，約佔 11%，並且這 51 株菌株均已排除是由院內感染因素所造成。由此 51 株血液培養菌株的相關病人之病例調查，可以發現大人與小孩的比例將近 2:1（表一），在死亡率的部分，大人與小孩分別是 28 與 21%；在臨床表徵上，新生兒的感染較成人來得的明顯，由表二可以看到 B 群鏈球菌感染新生兒所引發的疾病除了原有的菌血症之外，分別有 32、37 % 會併發肺炎與腦膜炎，但在成人方面則主要是以原發之菌血症表現，其次是 soft tissue infection 及肺炎。此外，而在 underlying disease 的方面，由表三可以看出成年人受到 B 群鏈球菌感染的主要以帶有糖尿病、肝炎以及肝硬化慢性疾病者為最多，分別佔有 34、28 及 25%。

在菌株的分析方面，本計劃已完成莢膜抗血清試驗及脈衝式電泳的分析，由圖一、二可以看出其染色體圖譜主要以 Type 1, 3, 4, 5, 10 及 12 為主，約佔 82.3 %，其中又以 Type 1、4 為最多，分別佔 19.6 %、17.6 %；而由圖三可看出莢膜血清型如同本實驗室先前相關的報告顯示以 Type III、V、Ia 為主（9），各佔 45、22 及 18 %。另外，莢膜血清型在不同年齡層的分不可以看出 type III 主要感染新生兒，而 type V 則主要感染成人($p < 0.05$) (表四)。在抗生素感受性的分析方面，由表五可以發現 51 株血液培養之 B 群鏈球菌，其 erythromycin 抗藥性遞減順序 100% (Ib, VI), 57%(III), 45%(V), 33% (N)，若以總和來看 erythromycin 與 clindamycin 的抗藥性高達 42 與

37%。其他重要的結果分述如下：

A. 以脈衝式電泳法分析相同及不同血清型菌株間是否有差異？

根據脈衝式電泳法分析結果，由表六可以看出相同血清型之菌株其脈衝式電泳的分型並不相同，同樣的，不同血清型也存在多樣性的脈衝式電泳的分型；經結合分析感染此 51 株血液培養菌株之病人之脈衝式電泳分析與莢膜血清型之結果，可以看出血清型 type Ia 與脈衝式電泳型 type 12、血清型 type III 與脈衝式電泳型 type 1 以及血清型 type V 與脈衝式電泳型 type 4 在統計上有顯著的關係 ($P < 0.05$)，而這種特殊關係性顯示其在流行病學有值得探討的價值。

B. 分析莢膜血清型與疾病之相關性。

由表二可以看出 GBS 在 19 株新生兒菌血症的臨床表現主要以 meningitis 以及 pneumonia 為主，各佔 37 及 36%，而在成年人的感染則多以原發性菌血症來表現；若進一步交叉分析新生兒的疾病與血清型的差異，由表七可以發現兩者之間的關係性沒有統計上顯著的意義 ($P > 0.05$)；但若以年齡作區隔，則可以發現出生 24 小時內就發病，主要以肺炎來表現，而出生 24 小時以後才發病則主要出現腦膜炎的症狀，並且這關係在統計學上是有顯著意義的 ($P < 0.05$) (表八)。

C. 分析各不同菌株之莢膜血清型及是否具有內源性質體 (endogenous plasmid)，若有內源性質體，則是否存在不同種類的質體，且其分佈是否與 GBS 血清型有相關性？

由質體的萃取結果顯示，51 株血液培養菌株中只有 5 株含有內源性質體（圖四），其比例約佔 10%；此外，進一步將這些質體經過限制酶酵素切割之後，由圖五可以看出這些質體的大小約在 5~12kb 左右，並且分屬於五種不同的質體；由九可以看出其中有三株是來自於新生兒感染的菌株，其餘二株來自於成人；而在與莢膜血清型的關係上有三株是屬於 Type Ia，一株屬於 Type III，另一株則屬於 Type N，所以顯示質體的分佈與莢膜血清型沒有相關性；另外可以看出質體的存在與否與所造成的疾病亦不具有流行病學相關性。

討論

B 群鏈球菌感染在不同年齡層會有不同的臨床表現，尤其在小孩更為明顯，1973 年 Baker 首先提出 EOD(early-onset disease, <7 days of age)與 LOD(late-onset disease, ≥ 7days to 3 months of age)在小孩 GBS disease 的區隔(13)，在過去的研究，肺炎好發於 EOD 的病人，而敗血症與腦膜炎則常見於 EOD 與 LOD (14,15)，但根據本研究的結果顯示年齡層有往下降的趨勢，所有肺炎的案例都是屬於 EOD 病人，並且完全都是出生 24 小時就發病的，這點與國外的報告一致(16)，在 EOD 感染主要集中在出生 6-8 小時，並且臨床表現以肺炎與肺衰竭併發菌血症，其 GBS 是來自於母親生殖道，穿過胎盤膜而感染的子宮或由感染的生殖體液經由生產時而吸入感染；相反地，LOD 表現漸進式且與菌血症有關，有 50 %引發腦膜炎(17)；本研究中腦膜炎的病人主要也都是表現在 LOD，最早有出生 6 天就發病的案例，顯示該新生兒可能是在生產之前就已遭到 GBS 的感染的可能性很高。

在死亡率的部分，大人與小孩分別是 28 與 21%，明顯高於 Argentina 的 15.4、5%以及 Spain 成人的 9.3%許多(18, 24)，尤其是小孩部分，因受血液感染的幾乎是以新生兒為主，並且大多數沒有任何先天性的疾病，所以其高死亡率應與 B 群鏈球菌的感染有直接的關係，這更顯示 B 群鏈球菌在新生兒的感染的研究有其迫切的重要性。

糖尿病被公認為是 B 群鏈球菌的感染的危險因子(6)，在本計劃的結果也發現相同的結果，尤其是在成人的感染，可能由於糖尿病患者之免疫系統不健全，造成免疫細胞的吞噬能力有缺失所致(19)，但值得重視的是對於 B 群鏈球菌的血液感染的病人，34% 帶有糖尿病，明顯高於加拿大的 19.8%

(20)與美國的 31% (2)；另外值得重視的是肝炎、肝硬化等肝臟的疾病獨占 53%，相較於國外的 4.4-12.7%明顯地高出許多(1,20)，不同於過去的報告的是 HBV/HCV 的慢性病佔有 28%，這是國外的報告所沒有的，而這與糖尿病都是台灣為數最多的病人群，所以相當值得重視；因此在未來，如何防治這些病人受到 B 群鏈球菌的感染，在公衛上應是刻不容緩的議題。

在抗生素感受性的分析，由於過去國內並無特別針對血液培養之 B 群鏈球菌的有關報告可供比對，所以無以評斷抗藥性問題的趨勢，但根據 Argentina 血液培養的 GBS 的數據顯示(clindamycin 1.7%; erythromycin 5.2%, tetracycline 72.4%; gentamicin 1.7%)(24)，則我們的抗藥性明顯高了許多；另外，若根據過去一般檢體之 B 群鏈球菌的其他報告，在 erythromycin 與 clindamycin 的抗藥性上，其範圍由 7.4-46 %與 3.4-43% (6, 9,21,22)，本研究的結果 erythromycin 的抗藥性是 42%， clindamycin 的抗藥性為 37%，顯見與國內的其他研究相近；惟若以成人與新生兒分開計數，則新生兒 (clindamycin:46%; erythromycin:50%) 的抗藥性均明顯地高於成人 (clindamycin:28%; erythromycin:34%)，突顯 GBS 的感染在新生兒方面仍是極需要被關切的問題。

在分子流行病學的分析方面，莢膜血清型的在新生兒感染的分佈與其他的國家相似(7,15)，主要以 type III 為主，並且血清型與疾病在本研究是無統計上顯著意義的，此點與先前 Liu et al.的報告不同(23)，可能的差別在於本研究的新生兒案例屬於菌血症的病人，EOD 的比例較多，並且疾病的多樣性較少，分布也較均分所致。然而在成人的部分，莢膜血清型主要以 type V、type III 為主，與 Argentina 的 type III、type II、type Ia/c 不同(24)，

結論與建議

根據過去的資料顯示，GBS 主要感染的對象是新生兒，成人的感染則有逐漸增加的趨勢；在本研究的數據也反應這一點，成人的菌株數將近於小孩的兩倍；另外，糖尿病、肝炎是成人 GBS 感染的主要危險因子，GBS 成人感染的死亡率高達 28%，都顯現國內可以受到 GBS 感染的高危險群相當多，在加上高 erythromycin、clindamycin 等抗生素抗藥性的問題，都顯見值得衛生當局的高度重視。

GBS 在新生兒的感染是難以輕忽的病原菌，其高死亡率與高 erythromycin 抗藥性，都顯示 GBS 在新生兒的感染的研究有其迫切的重要性，經由致病途徑的研究顯示若能加強懷孕婦女的篩檢找出帶菌者，投以抗生素治療，應可以減低新生兒感染的機率(16)。另外，由於新生兒 B 群鏈球菌菌血症的菌株主要以 type III 為主，所以新生兒的疾病與血清型之間並沒有顯著的關係。但發病的時間與所造成的疾病之間確有顯著的流行病學意義，出生在 24 小時內發病者大多以肺炎的臨床症狀來表現，而出生超過 24 小時則大多以腦膜炎來表現。

荚膜血清型與脈衝式電泳的分析發現，血清型 type Ia 暨脈衝式電泳型 type 12、血清型 type III 暨脈衝式電泳型 type 1 以及血清型 type V 暨脈衝式電泳型 type 4 的菌株在本研究上有顯著的優勢，顯示 GBS 在國內有其地理上之特殊分佈，值得密切監控。

在內源性質體的分析由於含有質體的比例僅 10%，因此推論 GBS 主要並不藉由質體來致病，所以，找尋其致病因子並探討 GBS 致病之分子機制，將有助於了解出生早期人類之免疫機制是如何啟動，亦可以藉此找尋新的治療 GBS 感染的目標。

參考文獻

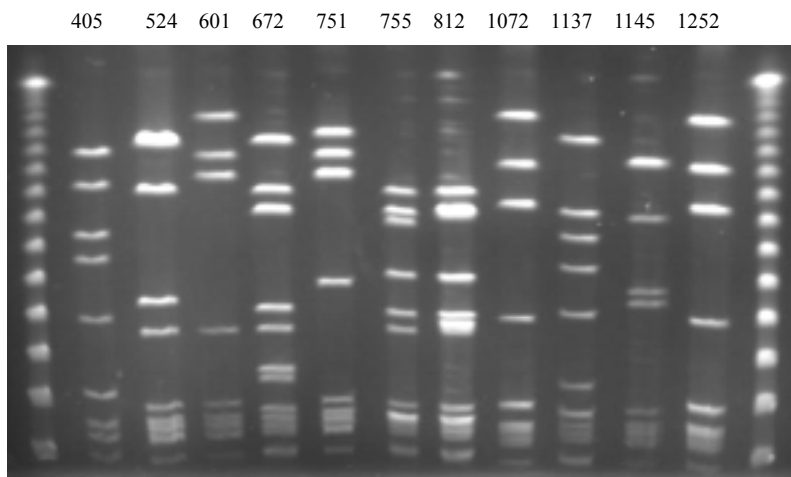
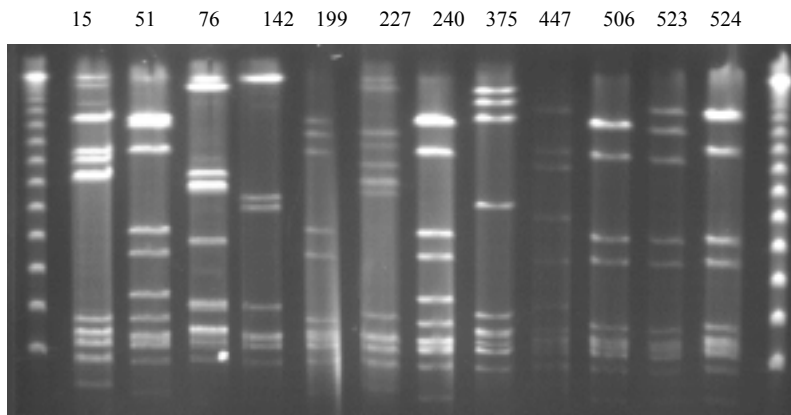
1. Farley, MM: Group B streptococcal disease in nonpregnant adults. *Clin Infect Dis* 2001; 33:556-561.
2. Farely, MM, Harvey RC, Stull T, Smith JD, Schucat A, Wenger JD, Stephens DS: A population-based assessment of invasive disease due to group B streptococcus in nonpregnant adults. *N Engl J Med* 1993; 328:1807-1811.
3. Blumberg HM, Stephenson DS, Modansky M, Erwin M, Elliot J, Facklam RR, Schuchat A, Baughman W, Farely MM: Invasive group B streptococcal disease: the emergence of serotype V. *J Infect Dis* 1996; 173:365-373
4. Zangwill, KM., Schuchat A, and Wenger JD: Group B streptococcal disease in the United States, 1990: report from a multistate active surveillance system. *Morbi. Mortal Weekly Rep* 1992.; 41:25-32.
5. Ho HY, Wu CT, Ku YT, Huang FY, and Peng CC: Group B streptococcal infection in neonates: an 11-year review. *Chung Hua Min Kuo Hsiao Erh Ko I Hsueh Hui Tsa Chih* 1999; 40:83-86.
6. Liu JW, Wu JJ, Ko WC and Chuang YC: Clinical characteristics and antimicrobial susceptibility of invasive group B streptococcal infections in nonpregnant adults in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 1997; 96:628-633.
7. Harrison LH., Elliott JA, Dwyer DM, Libonati JP, Ferrieri P, Billmann L and Schuchat A: Serotype distribution of invasive group B streptococcal isolates in Maryland: implications for vaccine formulation. *J Infect Dis* 1998; 177:998-1002.
8. Lachenauer CS,. Kasper DL, Shimada J, Tchiman Y, Ohtsuka H, Kaku M, Paoletti LC, Ferrieri P, and Madoff LC: Serotype VI and VIII predominate group B streptococci isolated from pregnant Japanese women. *J Infect*

Dis 1999; 179:1030-1033.

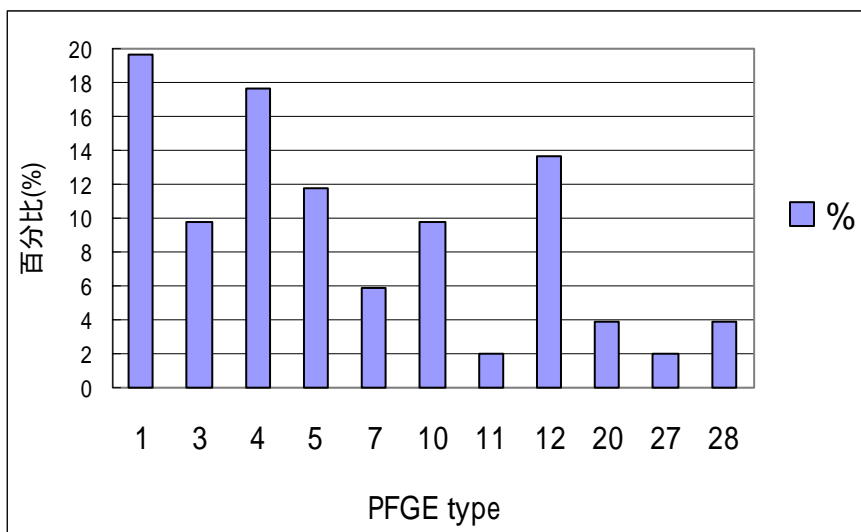
9. Ko WC, Lee HC, Wang LR, Lee CT, Liu AJ, and Wu JJ: Serotyping and antimicrobial susceptibility of group B streptococcus over an eight-year period in southern Taiwan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20:334-339.
10. Framson PE, Nittayajarn A, Merry J, Youngman P, and Rubens CE: New genetic techniques for group B streptococci: High-efficiency transformation, maintenance of temperature-sensitive pWV01 plasmids, and mutagenesis with Tn917. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63:3539-3547.
11. Ko WC, Wu SM, Chang TC, Yan JJ, and Wu JJ: Inducible-lactam resistance in *Aeromonas hydrophila*: therapeutic challenge for antimicrobial therapy. *J Clin Microbiol* 1998; 36:3188-3192.
12. Yan JJ, Wu HM, Huang AH, Fu HM, Lee CT, and Wu JJ: Prevalence of polyclonal *mefA*-containing isolates among erythromycin-resistant group A streptococci in southern Taiwan. *J Clin Microbiol* 2000; 38:2475-2479.
13. Baker CJ, Barrett FF, Gordon RC, Yow MD: Suppurative meningitis due to streptococci of Lancefield group B : a study of 33 infants. *J Pediatr* 1973; 82:724-729.
14. Yagupsky P, Menegus MA, Powell KR: The changing spectrum of group B streptococcal disease in infants: an eleven-year experience in a tertiary care hospital. *Pediatr Infect Dis J* 1991; 10:801-808.
15. Kalliola S, Vuopio-Varkila J, Takala AK, Eskola J: Neonatal group B streptococcal disease in Finland: a ten-year nationwide study. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18:806-810.
16. Doran KS, and Nizet V: Molecular pathogenesis of neonatal group B streptococci; infection: no longer in its infancy. *Mol Microbiol* 2004; 1-9

17. Baker, CJ and Edwards MS: Group B streptococcal infections. *In Infectious Disease of the Fetus and Newborn Infant*. Remington JS, and Klein JO (eds). Philadelphia PA: Saunders WB, 2001; pp1091-1156
18. Blancas D, Santin M, Olmo M, Alcaide F, Carrarala J, Gidiol F: Group B streptococcal disease in nonpregnant adults: Incidence, clinical characteristics, and outcome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23:168-173.
19. Nolan CM, Beaty HN, Bagdade JD: further characterization of the impaired bactericidal function of granulocytes in patients with poorly controlled diabetes. *Diabetes* 1978; 27:889-894.
20. Tyrrell GJ, Senzilet LD, Spika JS, Kertesz DA, Alagaratnam M, Lovgren M, Talbot JA, and the Sentinel Health Unit Surveillance System Site Coordinators: Invasive disease due to group streptococcal infection in adults: results from Canadian, population-based, active laboratory surveillance study---1996. *J Infect Dis* 2000; 182:168-173.
21. Lin FY, Azimi PH, Weisman LE, Philips III JB, Regan J, Clark P, et al.: Antibiotic susceptibility profiles fro group B streptococcus isolated from neonates, 1995-1998. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 76-79
22. Hsueh PR, Teng LJ, Lee LN, Ho SW, Yang PC, Luh KT: High incidence of erythromycin resistance among clinical isolates of *Streptococcus agalactiae* in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45:3205-3208.
23. Wu CS, Wang SM, Ko WC, Wu JJ, Yang YJ, Liu CC: Group B streptococcal infection in children in a tertiary care hospital in southern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2004; 37:169-175.
24. Lopardo HA, Vidal P, Jeric P, Centron D, Paganini H, Facklam RP, The Argentinian Streptococcus Study Group, and Elliott J: Six-month multicenter study on invasive infection due to group B streptococci in

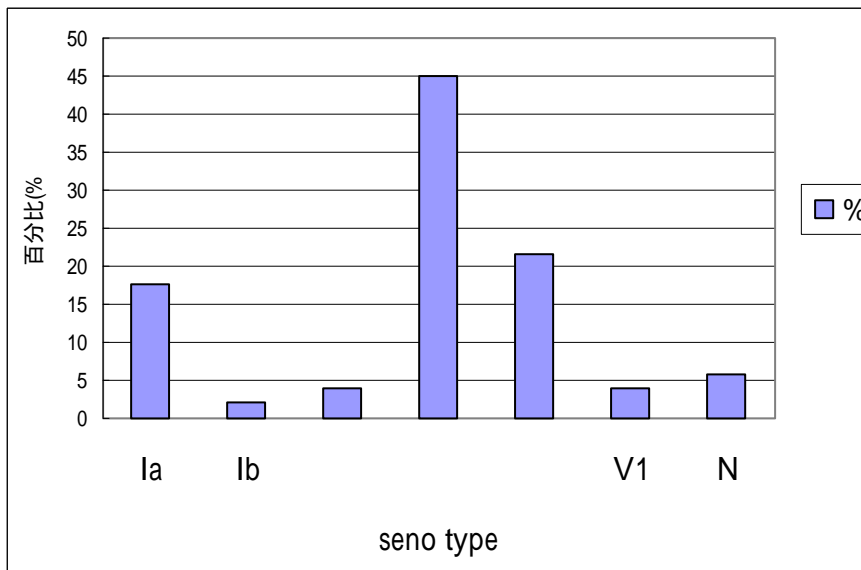
Argentina. *J Clin Microbiol* 2003; 41:4688-4694.



圖一、Analysis of PFGE

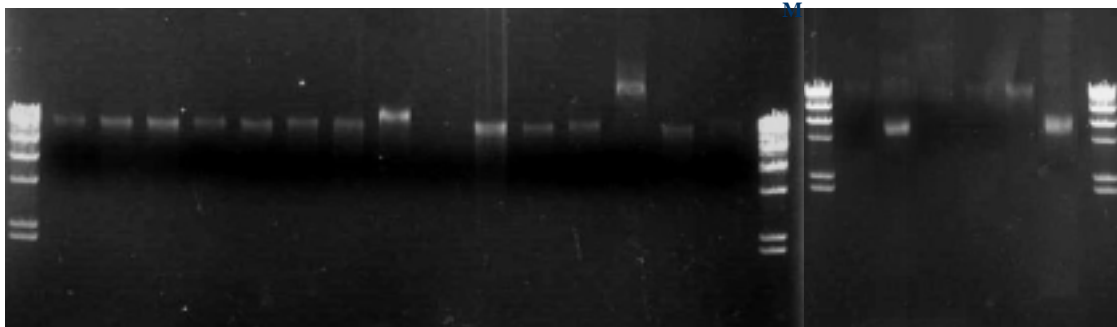


圖二、Distribution of PFGE types of 51 GBS isolates

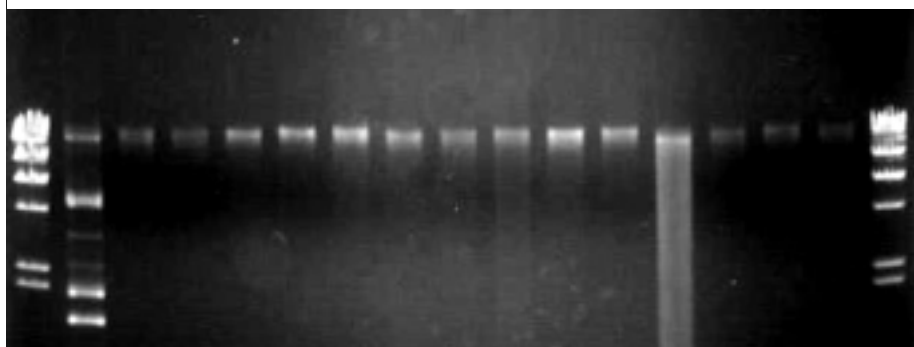


圖三、Distribution of serum types of 51 GBS isolates

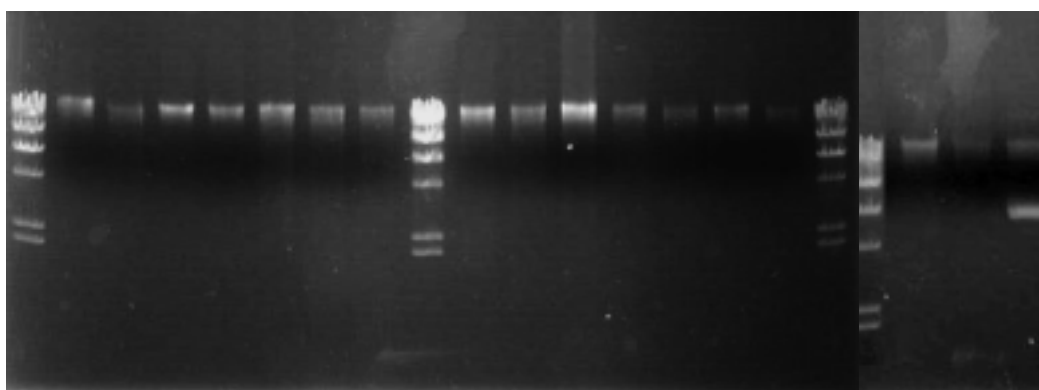
M 24 51 78 142 199 227 240 375 405 447 506 523 601 675 751 M M 755 812 1072 1137 1145 1252 M



M 15 75 76 81 99 100 413 467 480 514 546 555 566 624 649 M

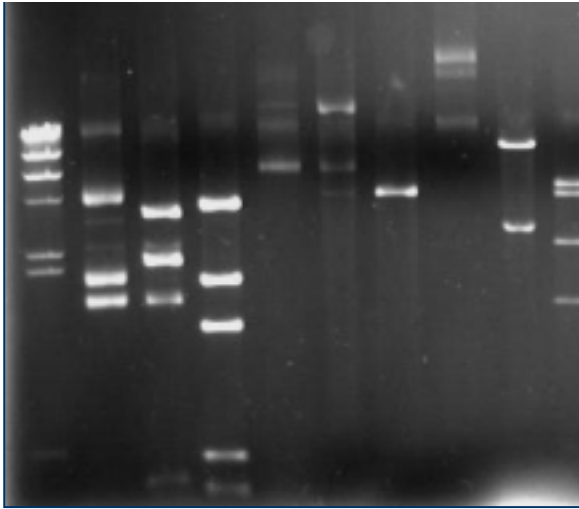


M 705 708 709 765 819 831 870 M 930 935 974 1034 1066 1071 1081 M M 150 1206 1250



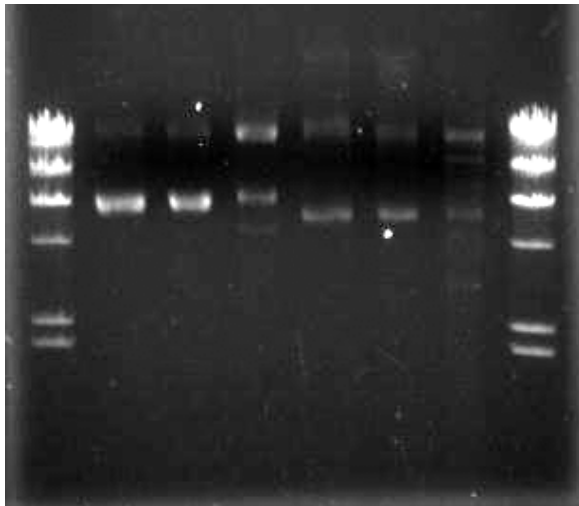
圖四、Plasmid profiles of 51 GBS isolates

M 15 E H 812 E H 1072 E H



M: λ DNA-HindIII marker; E: EcoR I-digested;
H: HindIII-digested

M 1250 B E 1252 B E M



M: λ DNA-HindIII marker; E: EcoR I-digested;
H: HindIII-digested

圖五、Electrophoresis of enzyme-digested plasmid of GBS

表一、 Distribution of patient group according to patient age

Patient group	Number	Proportion (%)	Mortality rate(%)
Newborns(≤ 1 day)	8	16	
Newborns (2-7day)	1	2	21
Newborns(late onset)	10	20	
Adults (16-69 y)	28	55	28
Elderly adults	4	8	
Total	51	100	

表二、 Clinical syndrome of GBS infection

Clinical syndrom	Number	Ratio (%)
Newborn		
Pneumonia	6	32
Meningitis	7	37
Primary bacteria	6	32
Adult		
Cellulitis/fasciitis	7	22
Osteomyelitis	1	3
Peritonitis	1	3
Primary bacteremia	18	56
Pneumonia	5	16

表三、Underlying diseases of group B *Streptococcus* infection in adult

Underlying disease	Number	Ratio (%)
DM	11	34
HCV/HBV	9	28
Liver cirrhosis	8	25
TB	2	6
Kidney disease	2	6
Malignancy	1	3
COPD	1	3
Heart disease	1	1

表四、Predominance of specific subtypes among newborns and adults

Patients	Serotype		PFGE type	
	III	V	type 4	type 1
Newborn	15	1	0	9
Adult	8	10	9	1
<i>p</i>	0.00034	0.037	0.018	0.00017

表五、Rates of antimicrobial resistance among different serotypes of 51 blood isolates of GBS

Antibiotics	No. of resistant isolates (% of total isolate) of serotype						
	Ia (n=9)	Ib (n=1)	II (n=2)	III (n=21)	V (n=11)	VI (n=2)	N (n=3)
Clinidamycin	1 (11)	1(100)	0(0)	7(33)	3(27)	2(100)	1(33)
Erythromycin	0(0)	1(100)	0(0)	12(57)	5(45)	2(100)	1(33)
Gentamicin	9(100)	1(100)	2(100)	19(90)	10(91)	2(100)	3(100)
Tetracycline	2(22)	0(0)	0(0)	9(43)	8(73)	2(100)	1(33)

N: nontypeable

表六、PFGE type and serotype

serotype PFGE	Ia	Ib	II	III	V	VI	N	Sum
1	0	0	0	9 ^b	1	0	0	10
3	1	0	0	1	3	0	0	5
4	0	0	0	2	6 ^c	0	1	9
5	0	0	0	4	0	1	1	6
7	0	0	0	3	0	0	0	3
10	0	0	2	3	0	0	0	5
11	0	0	0	0	1	0	0	1
12	6 ^a	1	0	0	0	0	0	7
20	2	0	0	0	0	0	0	2
27	0	0	1	0	0	0	0	1
28	0	0	0	1	0	1	0	2
Total	9	1	3	23	11	2	2	51

N: nontypeable; a: $p = 0.0001$; b: $p = 0.0029$; c: $p = 0.0016$

表七、Clinical syndromes and serotypes in newborn with GBS infection

Clinical syndrome	Ia	III	V	VI	Sum	<i>P</i> *
Pneumonia	1	4*	0	1	6	0.557
Meningitis	0	7*	0	0	7	0.245
Bacteremia	1	4	1	0	6	-
Sum	2	15	1	1	19	-

表八、Predominance of clinical syndromes among newborn groups

Newborn group	Pneumonia	Meningitis
≤1Day	6*	0
>1Day	0	7*
<i>p</i> *	0.001	0.0128

表九、Characterization of plasmid in GBS infection

Isolate	Source	Serotype	Plasmid size (kb)	Disease
B15	Adult	N	7-8	-
B812	Newborn	III	5-6	Meningitis
B1072	Newborn	Ia	11-12	Pneumonia
B1250	Newborn	Ia	9-10	-
B1252	Adult	Ia	6-8	Bacteremia