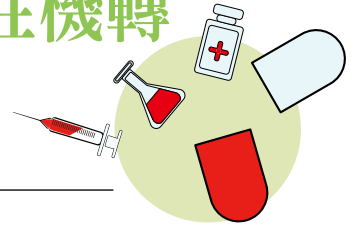


常用水產抗生素與細菌抗藥性機轉

郭喬培、劉清碩、楊順德
水產試驗所淡水繁養殖研究中心



前言

抗生素是治療動物細菌性疾病的主要方法，然而長期依賴抗生素會導致細菌抗藥性的產生，且菌種間可能透過抗藥性基因交換，加速抗藥性基因的傳播產生多重抗藥性 (multiple drug resistant)，限縮可用的抗生素種類或降低治療效果，不利水產養殖的永續發展。本文針對我國「動物用藥品使用準則」表列之合法水產動物用抗生素，介紹抗生素作用、細菌抗藥性和抗藥性基因交換機轉。

水產動物用抗生素

依據 2022 年 2 月 7 日修正發布之動物用藥品使用準則，我國合法水產動物用抗生素

如表 1 所示，共計 14 種抗生素用藥，可分為抑制細胞壁合成、抑制蛋白質合成和抑制核酸合成 3 種主要機轉。

一、抑制細胞壁合成

肽聚糖 (peptidoglycan) 是構成細菌細胞壁中的大分子聚合物，由乙醯葡萄糖胺 (N-acetylglucosamine) 和乙醯胞壁酸 (N-acetylmuramic acid) 交替相聯形成多醣鏈，再由寡肽連接多醣鏈，構成網狀結構。內醯胺類抗生素可以和肽聚糖合成酶結合，抑制肽聚糖寡肽的形成，破壞細菌細胞壁，造成細菌破裂死亡 (圖 1)。

二、抑制蛋白質合成

細菌 70S 核糖體是由 50S 和 30S 次單元組成，30S 次單元會和 mRNA 結合，啟動蛋白質轉譯作用，攜帶胺基酸分子的胺醯-tRNA

表 1 我國水產動物用抗生素分類與機轉

中文名	英文名	分類	抑制合成	作用位點
安默西林	Amoxicillin	青黴素類	細胞壁	肽聚糖合成酶
安比西林	Ampicillin	青黴素類	細胞壁	肽聚糖合成酶
脫氧羰四環黴素	Doxycycline	四環黴素類	蛋白質	30S 核糖體次單元
紅黴素	Erythromycin	巨環類	蛋白質	50S 核糖體次單元
氟甲磺氯黴素	Flornidicol	醯胺醇類	蛋白質	50S 核糖體次單元
氟滅菌	Flumequine	喹諾酮類	核酸	DNA 螺旋酶
北里黴素	Kitasamycin	巨環類	蛋白質	50S 核糖體次單元
林可黴素	Lincomycin	林克醯胺類	蛋白質	50S 核糖體次單元
歐索林酸	Oxolinic acid	喹諾酮類	核酸	DNA 螺旋酶
羰四環黴素	Oxytetracycline	四環黴素類	蛋白質	30S 核糖體次單元
史黴素	Spiramycin	巨環類	蛋白質	50S 核糖體次單元
磺胺二甲氧嘧啶	Sulfadimethoxine	磺胺類	核酸	對氨基苯甲酸
磺胺一甲氧嘧啶	Sulfamonomethoxine	磺胺類	核酸	對氨基苯甲酸
甲磺氯黴素	Thiamphenicol	醯胺醇類	蛋白質	50S 核糖體次單元

(aminoacyl-tRNA) 和 50S 次單元的 A 位點 (aminoacyl site, A site) 結合，下游 P 位點 (peptidyl site, P site) 上的 肽醯 -tRNA (peptidyl-tRNA) 將新合成的肽鏈轉移至 A 位點的 胺醯-tRNA，並以肽鍵連接胺基酸，接著核糖體沿著 mRNA 移動一個密碼子的距離，讓原本在 P 位點的 tRNA 移動至 E 位點 (exit site, E site) 並離開核糖體，而原本在 A 位點的 tRNA 則移動至 P 位點，進行下一個胺基酸的連接 (圖 2)。

四環黴素類抗生素會和細菌的 30S 次單

元結合，抑制 tRNA 和 mRNA-核糖體複合物的接合；林克醯胺類和醯胺醇類抗生素會與 50S 次單元中的 23S rRNA 肽基轉移酶中心 (peptidyl-transferase center) 結合，抑制肽鍵的形成；巨環類抗生素和 50S 次單元中的 23S rRNA 作用，封閉勝肽延長通道 (nascent peptide exit tunnel)，造成肽醯-tRNA 提早終止轉譯作用並離開核糖體。

三、抑制核酸合成

DNA 為雙股螺旋結構，複製時透過解旋酶 (helicase) 打斷雙股 DNA 鏈的氫鍵，形成

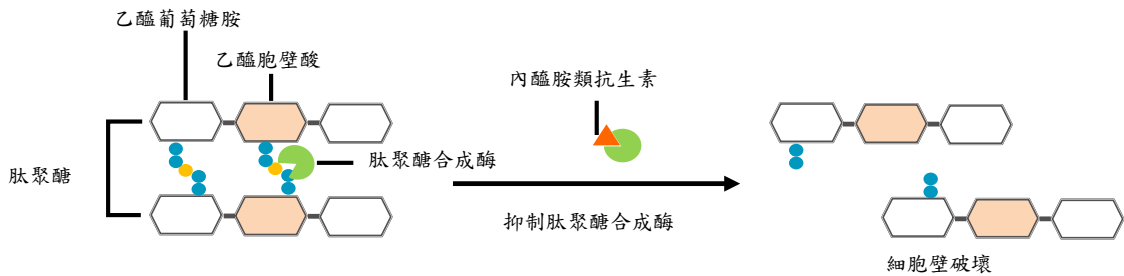


圖 1 內醯胺類抗生素作用機轉

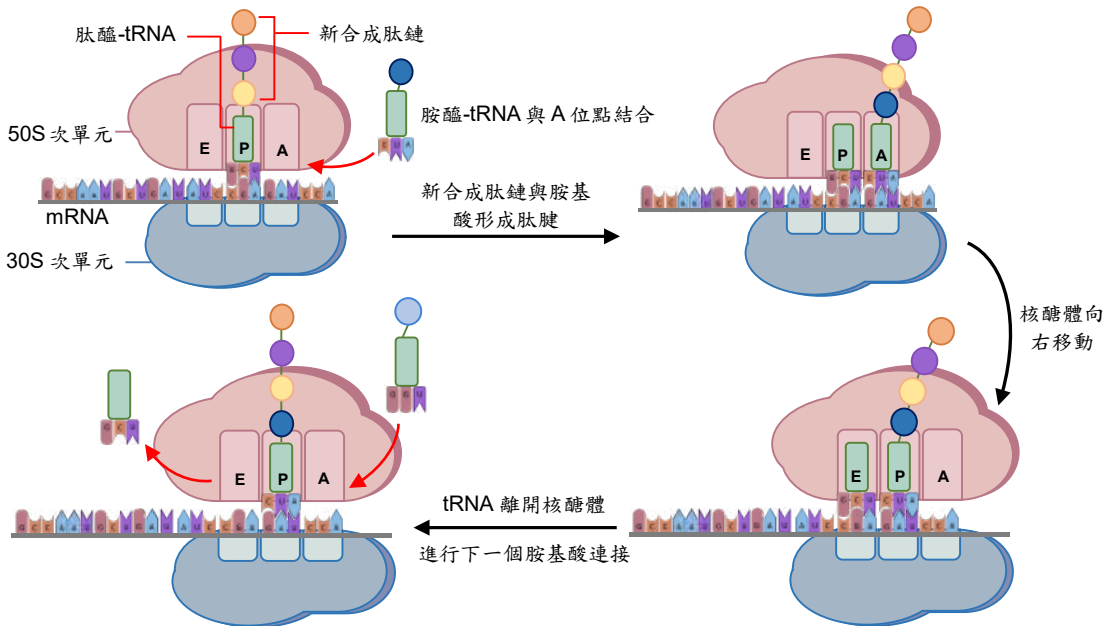


圖 2 蛋白質轉譯作用

解開雙股的複製叉 (replication fork)，當複製叉向前移動，上游的雙股螺旋 DNA 會進一步扭轉，形成超螺旋結構 (supercoil)，並透過迴旋酶 (gyrase) 釋放螺旋壓力。喹諾酮類抗生素會抑制迴旋酶，當細菌複製 DNA 時，超螺旋造成的過高壓力會導致細菌 DNA 破裂死亡 (圖 3)。

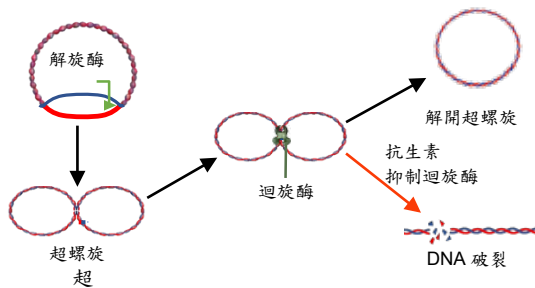


圖 3 喹諾酮類抗生素機轉

葉酸是參與 DNA 合成必要的維生素，由於大多數細菌的細胞膜不具有葉酸的通透性，無法直接利用葉酸，必須自行合成。磺胺類抗生素的結構與葉酸合成原料對氨基苯甲酸 (4-aminobenzoic acid) 相似，能抑制葉酸的合成，進而干擾 DNA 複製。

抗藥性機轉

一、降低抗生素吸收

格蘭氏陰性菌的細胞壁含有由脂多醣 (lipopolysaccharide) 所組成的外膜 (outer membrane)，相較格蘭氏陽性菌直接裸露的肽聚醣，更能阻擋抗生素進入。格蘭氏陰性菌外膜上的孔蛋白通道 (porin channels)，能讓親水性分子進入細胞內，抗藥性細菌能降低外膜孔蛋白數量，或突變為具有抗生素選擇性，降低抗生素進入細胞內 (Reygaert, 2018)。

為抵禦環境壓力，部分細菌還能形成生

物薄膜 (biofilm)，由一種或多種細菌共同分泌多醣、蛋白質及 DNA 等胞外聚合物，將細菌包覆形成附着性群落，共同抵禦抗生素的進入 (Soto, 2013)。

二、不活化抗生素

直接分解抗生素是細菌不活化抗生素的方法之一，以內醯胺類抗生素為例，內醯胺環是其關鍵抗菌結構，抗藥性細菌產生的內醯胺酶能分解內醯胺環，造成抗生素失效；另一種不活化抗生素的方法是透過官能基修飾抗生素結構，如透過轉移酶對抗生素乙酰化、磷酸化和腺苷酸化等 (Reygaert, 2018)。

三、外排泵 (efflux pump)

細菌具有多種藥泵能將細胞內的毒性物質排出，以大腸桿菌 AcrAB-TolC 藥泵複合體為例，AcrA 為膜融合蛋白 (membrane-fusion protein)，位於細胞膜和外膜的周質空間 (periplasm)，連接 AcrB 和 TolC；AcrB 為 resistance-nodulation-division (RND) 家族轉運蛋白，與周質空間的抗生素結合後，藉由質子驅動力運輸抗生素至 TolC (tolerance to colicin E1)；TolC (tolerance to colicin E1) 為外膜通道，當運輸的抗生素抵達外膜內側時，TolC 通道開啟，並將抗生素打出細胞外 (Zgurskaya, 2009)。

四、抗生素作用位點突變/保護

細菌的抗生素作用位點發生突變，會影響抗生素的結合與作用，如萬古黴素 (vancomycin) 會和細菌細胞壁的 D-Ala-D-Ala 肽鏈結合，抗藥性細菌能透過 *vanA* 操縱子，將 D-Ala-D-Ala 肽鏈修改為 D-Ala-D-Lac，降低抗生素親和力；惡唑烷酮 (oxazolidinone) 類抗生素會抑制細菌核糖體 50S 次單元的 A 位

點和胺醯-tRNA 接合，抗藥性細菌針對 50S 次單元中的 23S rRNA 環狀第五結構域甲基化，避免抗生素接合；喹諾酮抗藥性細菌能合成與 DNA 結構相似的 Qnr 蛋白，與迴旋酶結合，與喹諾酮競爭作用位點，達到抗生素作用位點保護的效果 (Munita and Arias, 2016)。

抗藥性基因交換

一、垂直基因轉移 (vertical gene transfer)

長期大量使用抗生素，細菌為克服環境應力，會突變出抗藥性，在抗生素篩選下，無抗藥性的細菌會被淘汰，而具有抗藥性基因的細菌則能倖存，並透過二分裂，將抗藥性基因傳遞給子代 (圖 4)。此外，一般細菌族群中，約有 0.001% 的高突變性菌株 (hypermutable or mutator strain)，這些高突變性菌株的抗藥性突變機率，約較一般族群高 100-1000 倍，因此經抗生素篩選出的抗藥性細菌族群，含有的高突變性菌株比例較高，若改以其他新抗生素治療，突變出對新藥抗藥性的機率比一般族群更高，更容易產生多重抗藥性 (Blázquez et al., 2002)。

二、水平基因轉移 (horizontal gene transfer)

相較於垂直基因轉移，水平基因轉移是將抗藥性基因傳遞給其他細菌，而非其子代，由於水平基因轉移可跨菌種進行交換，是導致抗藥性基因擴散的重要機制，水平基因交換方式如圖 5 所示，可分為下列 4 類 (Christian et al., 2016)。

(一) 接合作用 (conjugation)

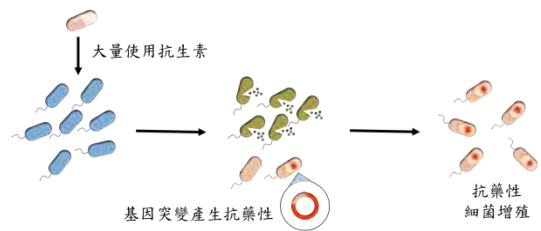


圖 4 垂直基因轉移

細菌間透過性線毛 (pili) 或黏附素 (adhesin) 接合，交換帶有抗藥性基因的質體 (plasmid) 或是轉位子 (transposon)，與其它水平基因交換方式相比，接合作用能有效保護抗藥性基因不被破壞，具有更佳交換效率，是最常見的水平基因交換方式。此外，研究還指出，接合作用不僅發生於同種細菌，不同的菌種間亦可能發生接合作用，造成更廣泛的抗藥性基因擴散。

(二) 轉化作用 (transformation)

細菌將環境裸露的 DNA 片段直接吸收至細胞內，整合至細菌本身的基因體並表現該 DNA 片段功能，因此即使抗藥性細菌被殺死，細胞裂解釋放出的抗藥性基因亦可能透過轉化作用傳遞給其它細菌。轉化作用也應用於分生研究技術，利用化學或電擊方法處理細菌，提高細胞膜通透性形成勝任細胞 (competent cell)，再透過轉化作用將目標基因送入勝任細胞內表現。

(三) 轉導作用 (transduction)

可分為一般型轉導 (generalized transduction) 和特殊型轉導 (specialized transduction)，一般型轉導是噬菌體感染細菌時，會注入噬菌體基因組，藉由細菌合成新的噬菌體，並產生酵素分解細菌染色體，少部分的新合成噬菌體會夾帶到細菌 DNA 片段，並透過感染下一個細菌，傳遞抗藥性基

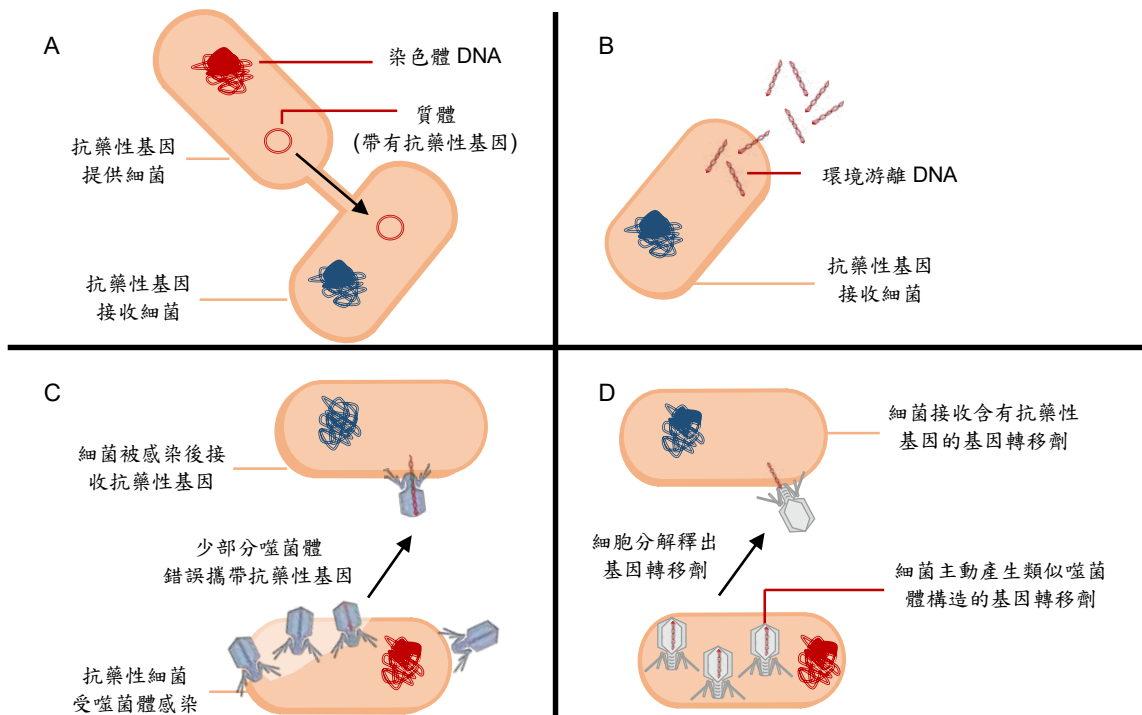


圖 5 水平基因轉移 (參考 Christian et al., 2016 繪圖)
A：接合作用；B：轉化作用；C：轉導作用；D：基因轉移劑

因；特殊型轉導是溫和型噬菌體 (temperate phage) 感染細菌後，會將噬菌體的 DNA 插入細菌染色體並潛伏，兩者的 DNA 在插入位點附近發生小片段的交換，當噬菌體要離開細菌時，發生交換的細菌 DNA 隨著噬菌體基因組一起複製，透過噬菌體傳遞至下一個感染細菌。兩者相比，一般型轉導能傳遞所有宿主細胞的任一基因，而特殊型轉導只能傳遞與噬菌體插入位點相鄰的細菌基因。

(四) 基因轉移劑 (gene transfer agent)

基因轉移劑是細菌主動產生類似噬菌體結構的顆粒，內含隨機的細菌 DNA 片段，且這些 DNA 片段不包含足以合成基因轉移劑本身結構蛋白所需的片段，因此不具備像噬菌體一樣的自我傳播能力 (細菌接收基因轉移劑攜帶的 DNA 片段後，無法因此獲得

生產基因轉移劑的能力)。基因轉移劑隨著細胞分解釋出後，會與其它細菌結合，釋出所攜帶的 DNA 至細胞質中，融合至接收者的基因組。

結語

濫用動物抗生素衍生的抗藥性細菌問題，已成為水產養殖刻不容緩的重要課題，且錯誤的用藥亦造成潛在的環境污染與食安風險，我國「水產動物用藥品使用規範」針對品目、使用對象、用途、用法、用量和停藥期有明確規範，本文針對表列之合法水產動物用抗生素，進一步提供抗生素與細菌抗藥性機轉相關資訊，期有助於水產抗生素的正確使用，維護水產養殖的生物安全。