

萊氏醫學檢定叢書⑫

微生物學

台大醫師 張天鈞譯著



聯大林出版社出版

「萊氏醫學考試叢書」序言

今日世界各國醫師，於開業行醫之前，都必須通過國家之檢定考試，經認為合格的醫師後，方得懸壺濟世，施藥活人。故醫學從業人員，須先具備豐富而完整的醫學知識，通過國家之檢定考試，以取得合法的資格。

然要編寫一套精簡而完整的醫師考試叢書，却是很不容易的事。一則醫學門類繁多，內容豐富，概言之則失於廣泛，詳言之則失於瑣碎。二則須顧到考試標準與讀者程度，倘取材不當，則有顧此失彼之嫌。是故，一種理想的醫師考試叢書，須取各科之精華，提綱挈要，使自成系統；同時須能顧及考試標準，使讀者容易接受領會。

美國出版的「萊氏醫學考試叢書」(*Rypin's Medical Licensure Examinations*)，是今日醫事人員考試中公認為一套最完備的叢書，不僅取材精富，且條理分明，說明扼要，極適於作考試的參考書。大林出版社有鑑於醫學從業人員，需用此類讀物，特約請國立臺灣大學醫學院名醫師蔡清霖先生主編，分約各醫師執筆，將此套叢書，精選編譯出來。計分為十二冊：

- | | |
|------|-----|
| ①內科學 | 李素慧 |
| ②外科學 | 林憲珍 |

- | | |
|-------|-----|
| ③婦產科學 | 柯滄銘 |
| ④小兒科學 | 吳愛卿 |
| ⑤精神醫學 | 蔡茂堂 |
| ⑥公共衛生 | 黃潔文 |
| ⑦病理學 | 陳仁德 |
| ⑧解剖學 | 何偉忠 |
| ⑨生理學 | 徐崇瑛 |
| ⑩藥理學 | 陳明豐 |
| ⑪生物化學 | 吳華林 |
| ⑫微生物學 | 張天鈞 |

各書均附有切適之測驗題，以供各種醫事人員參加國家考試及在校學生複習之用，倘能細心研讀，當可順利通過考試難關，收到事半功倍之效。

大林出版社謹啓

民國六十二年十一月十二日

微生物學 (Microbiology)

對人致病的微生物可分成下列幾種，除了濾過性病毒外都同時含有“DNA和RNA”

I. 單細胞，自發生殖微生物（原生物界）(Kingdom Protista)

A. 細菌：

一般分類在植物界作裂殖菌 (*fission fungi*) = 裂殖菌綱 (*Class Schizomycetes*)，所有醫學上有意義的種能行化學合成；異營；典型的直徑 $< 5 \mu$ ，通常約 2μ ，在立克次小體和衣原體 (*Rickettsia & Chlamydia*) 更小；有原核細胞構造；可培養在無生命的介質內（立克次小體與衣原體除外）；有細胞壁（除 PPLO）含 *muramic acid*，是細菌的特徵（藍綠藻也有，但無醫學上意義），醫學上有意義的細菌分成六個目：

1. 假單胞菌目 (*Order Pseudomonadales*):

假單胞菌科：革蘭氏陰性桿菌（只有一屬，螺旋菌屬 (*Spirillum*)，螺旋狀但不具有伸縮性[見螺旋體屬 *Spi-*

rochetes] ; 通常有極性鞭毛 ; 需氧生活 (有一些是兼氣性 [?]) ; 沒有抗熱性的內孢子。

代表：綠膿桿菌 *Pseudomonas, aeruginosa*, , *Ps. pseudomallei*。

2. 眞細菌目 (Order Eubacteriales) :

革蘭氏陽性或陰性桿菌或球菌，沒有螺旋狀；可動，有週毛 (*Peritrichous flagella*) ; 需氧生活，兼氣性或絕對厭氣性；只有兩屬 (梭菌屬和桿菌屬 *Clostridium* & *Bacillus*) 產生抗熱性內孢子；包括大部份的致病細菌。

代表：傷寒沙門氏菌 *Salmonella typhi* , 膿腫鏈球菌 *Streptococcus Pyogenes* , 金黃葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* ; 破傷風桿菌 *Clostridium tetani* , 炭疽桿菌 *Bacillus anthracis* , 淋病雙球菌 *Neisseria Gonorrhoeae* 。

3. 放線菌目 (Order Actinomycetales) :

分支，桿狀或絲狀細胞；沒有可動的病原體；通常革蘭氏陽性，有一些抗酸性。

代表：結核桿菌 *mycobacterium tuberculosis* , 癩瘋桿菌 *M. leprae* , 以色列放線菌 *Actinomyces israeli* 。

4. 螺旋體目 (Order Spirochaetales) :

螺旋狀：可伸縮；能動無鞭毛；通常革蘭氏陰性，但用暗視野顯微鏡看較佳；含有一中心性纖維狀，富有彈性的構造 (軸絲 *Axial filament*) , 管狀細胞 (可收縮性

?) 盤繞著它。

代表：梅毒螺旋體 *Treponema Pallidum*，黃疸出血性鉤端旋體 *Leptospira ictero haemorrhagiae*，回歸熱螺旋體 *Borrelia recurrentis*。

5. 菌絲胞漿目 (Order *Mycoplasmatales*) (PPLO)
無細胞壁因此有點滲透性脆弱且多形性；複雜的發育環包括極微小的“最小生殖單位” $< 0.2\mu$ ，有濾過性，最小的已知生活單位能在無生命的介質中繁殖；革蘭氏陰性；雖然有些有鞭毛不能動，無抗熱內孢子；在特殊的“PPLO介質”上形成很小的族群似煎蛋 (*Eaton's agent* 除外)；需氣或兼氣性；寄生性種富於脂肪且需含血清和類固醇之介質。

代表：*Mycoplasma Pneumoniae* (*Eaton's agent*)
• *M. hominis*。

6. 立克次氏體目：

缺少他種細菌所含有的重要酶系，因此必需寄生在細胞內；直徑約 0.3μ ，無抗熱性內孢子，不能在無生命介質內培養但可在組織內培養，大多數培養於活的雞胎內；原核性，有似細菌般的細胞構造。

a. 立克次氏體科 (*Family Rickettsiaceae*):

缺數種合成酶但可合成 *ATP*；像細菌般行對分裂繁殖，有顯著的細胞壁含 *Muramic acid*；形態上是桿狀，球狀或絲狀。

代表：斑疹傷寒病原體 *Rickettsia Prowazekii* ,
Coxiella burneti。

b. 衣原體科：

缺乏許多合成酶且不像其他細菌，不能合成 *ATP* ；
增殖方式不詳，也許由分裂或出芽；細胞壁不硬但含 *Mu-
ramic acid* ；球形。

代表：沙眼衣原體 *Clamidia trachomatis* , *Mi-
yagawanella lymphogranulo matusus* , *M. Psittaci*

B. 原生動物門 (*Phylum Protozoa*):

(單細胞動物；真核性細胞構造)。

1. 偽足綱 (*Class Sarcodina*) (用偽足移動)：
赤痢變形蟲 *Entamoeba histolytica*。

2. 纖毛綱 (*Class ciliophora*) (用纖毛移動)：
結腸小袋蟲 *Balantidium coli*。

3. 鞭毛綱 (*Class Mastigophora*) (用鞭毛移動)
利什原蟲屬 *Leishmania* , 錐蟲屬 *Trypanosoma* , 滴
蟲屬 *Trichomonas*。

4. 孢子蟲綱 (*Class Sporozoa*)：
(有些滋養體行變形運動) 瘧原蟲 *Plasmodium* (*malaria Parasites*)。

C. 真菌門 (*Phylum Eumycetes*) = *mycophyta* =
Mycota)：

真核性細胞構造；分枝絲狀或酵母狀；無光合作用；

異營，可在無生命介質內培養，例如，*Sabouraud* 氏培養基、病原體主要是不完全菌綱 *Fungi imperfecti*)。

1. 表層感染（癬、香港腳、甲黴菌病等等）由於皮膚真菌（*dermatophytes*）：毛髮癬菌 *Trichophyton spp* ；小芽胞菌 *microsporum spp* ；表皮癬菌屬 *Epidermophyton* 。
2. 深或系統性感染（*histoplasmosis*，球狀孢子蟲病 *Coccidioidomycosis*，釀母菌病 *blastomycosis*，等等）由於酵母般或複相的菌類。

II. 多細胞微生物(真核細胞構造含 RNA d DNA)

A. 蠕蟲 *Helminths* (寄生蟲)

1. 扁蠕蟲門 (*Phylum Platyhelminthes*) (扁蟲)。

a. 吸蟲綱 (*Class Trematoda*) — 吸蟲：

沒有分節，兩側對稱，背腹壓縮；雌雄同體（除血吸蟲 *Schistosomes*）；例如肝吸蟲、肺吸蟲。

b. 條蟲綱 (*Class Cestoda*) — 條蟲：

雌雄同體；頭節含有一個大的吸盤，用來附著在腸粘膜；狹窄的頸以出芽方式製造連續的扁平節片，由此形成帶狀的虫段或鏈，可由 3 到數千體節，每一節均含有性器；例如牛肉條蟲。

2. 線虫門 (*Phylum Nematoda*) — 線虫：

沒有分節：長，纖細、柱狀、雌雄異體。

a. 腸內寄生蟲：

無中間宿主；蛋和／或幼蟲在腸內，在皮膚上，在泥土內或上成熟；例如，蟯蟲、鉤蟲、蛔蟲等等。

b. 血和組織寄生蟲（必需有中間宿主）。

(1) 旋毛蟲 (*Trichinella Spiralis*)

(2) 絲蟲 (*Filaria worm*)。

III. 非細胞性傳染物——濾過性病毒（微生物〔？〕）

除了一些痘濾過性病毒外必需用電子顯微鏡才可看到，專性 (*Obligate*) 細胞內寄生物；在細胞外不能活潑的生存，既不是真核也不是原核，以有遺傳性的和感染性的 *DNA* 和 *RNA* 作中心，但絕不兼含兩者，周圍繞以蛋白質外衣且有時更外面有一封套，沒有 *muramic acid*。

顯微鏡

醫學常用的複式顯微鏡含有三主要鏡片群及一個反射鏡或裝配在內的可見光源，固定在金屬支柱上。光線由此光學系最下部進入，經過鏡片到眼睛。第一個鏡片群在載物台下，有一個聚光器可將光線折射，經由台子中心開口集中到物體上的一點。分散或過分的光線和周圍的光線可用在聚光器下的虹膜式光圈消除。

光線經由玻片上的物體進入第二個或接物鏡群。浸油置於物體與接物鏡間，防止由於折射或反射而失去光線。用於油中操作的接物鏡叫油浸鏡 (*Oil - immersion Objective*)。

光線被接物鏡聚於此儀器之筒內成一放大約 90 倍之實像。第三個鏡片系在顯微鏡頂端叫接目鏡，可將焦點集中在接物鏡形成的像上，將之放大 10 倍成一虛像，約為物體大小的 900 倍 (即 90×10)

電子顯微鏡

由於可見光波長相當長，距離小於 0.2μ 之物體不能被分辨出來，因此一般光學顯微鏡之解像力由於可見光的

本性而受到限制，放大超過1200倍時像會模糊不清。電子波長較短，因此利用電子流可得較大的解像力，所以能放大100000倍以上而仍得一清楚影像。

玻璃對電子不透明，但是電子可受磁場屈折。因此環狀電磁可代替鏡片，經由改變磁場的強度將電子聚於一點。用三個主要的磁—鏡片系，每一個系統的功能相當於普通顯微鏡的每一個相對的系統，由於電子只在真空中才走得很好，所以整個儀器為排空 (*evacuation*) 而安排。因電子影像眼睛不能直接看到，所以將之投射在螢光幕上而記錄於照相板上，像 x 光照片他們是電子陰影圖 (*Electron-Shadow graphs or electron micrographs*)。經由照相術的放大，最後可放大到幾百萬倍。用光學顯微鏡不能看見的物體，例如濾過性病毒，可用此方法看見。

直到最近以前，質子影像皆靠電子穿過物體，而像片的對比則靠電子密度或在物體的不透明度的不同。今利用反射的或第二度激活的電子而不是用直接穿過的電子（叫 *Scanning* 電子顯微鏡），已可由於局部的相片產生立體的視覺。

其他光學方法是：(1)相顯微鏡術 (*Phase microscopy*)，經過物體及繞射的光線集成一個像(2) x 光(3)螢光顯微鏡術。

於螢光顯微鏡，微生物用螢光染料例如 *Auramine* 染色，當紫外光照射時，可由其發出之黃色螢光而看見。此

法有時用於找痰中的結核菌。此步驟似 *Ziehl-Neelsen* 抗酸性染色法，但用螢光 *Auramine* 取代 *Carbolfuchsin*

暗視野顯微鏡術。用暗視野聚光器，中心光線於普通聚光器通常讓它穿過，被阻擋，而周圍光線（通常消除之）可折射，斜斜的經過玻片。若無物體則不會進入眼睛而呈現暗暗的，若有物體則會反射到眼睛，於是此物體可清清楚楚的看見。

染色法

革蘭氏染色 (*Gram's Stain*)

1. 將要染色的物質塗在玻片上，用微熱使之乾燥。
2. 用適當的結晶紫 (*Crystal Violet*) 溶液染一分鐘，輕輕的洗掉。
3. 用格蘭氏或 *Lugol* 氏碘溶液染 1 分鐘，輕輕的洗掉。
4. 用 95 % 乙醇和 / 或丙酮脫色，直到除了最厚部份外顏色皆脫除為止。輕輕的洗掉。
5. 用 *Safrarine* 或 *Eosin* 對比染色一分鐘，洗掉，吸乾。

細菌可由其在用脫色劑後保有或失去紫－碘組合之能力來區分。能保有紫色染料的叫革蘭氏陽性，那些褪色而染上紅色的對比染色者叫革蘭氏陰性。許多菌種介於其間即會出現革蘭氏陽或陰性，視用的染色劑之長短、細胞年

齡、介質種類、 p^H 值等等而定。

關於革蘭氏染色的原理有很多學說，其中最老的說法之一而仍爲現在的研究所支持的是：碘與結晶紫在革蘭氏陽性細胞形成一不能用酒精溶解之組合（包含核醣核酸），於細胞成一種特殊狀況（或還原狀況或兩者皆有），特別是於細胞壁或細胞膜。用核醣核酸酶消化核醣核酸，或細胞分解，皆會使革蘭氏陽性喪失。染料—碘之不溶性化合物在革蘭氏陰性細胞不能形成或維持。

關於對革蘭氏染色之反應，醫學上重要的細菌可列表如下：

革蘭氏陽性

所有鏈球菌、葡萄球菌。

肺炎双球菌 (*Diplococcus Pneumoniae*)。

白喉桿菌 (*Diphtheria Bacillus*) (*Corynebacterium diphtheriae*) & *diphtheroid*。

所有的抗酸性菌，例如結核桿菌 *mycobacterium tuberculosis*。

所有能形成孢子的厭氣性細菌（梭菌屬 *genus Clostridium*）。

炭疽桿菌 *Bacillus anthracis*。

革蘭氏陰性

奈瑟氏菌屬 *Genus Neisseria*

沙門氏菌屬、志賀氏菌屬 (*Salmonella, Shigella*)，腸桿菌科 (*Enterobacteriaceae*)。

下列諸病之病原：

流行性感冒 *Influenza* (*Haemophilus influenzae*)

百日咳 *Pertussis* (*Bordetella pertussis*)

鼠疫 *Plague* (*Pasteurella pestis*)。

霍亂 *Cholera* (*Vibrio cholerae*)。

軟下疳 *Chancroid* (*Haemophilus ducreyi*)。

變形桿菌 *Proteus spp*。

Friedlander's bacillus (*Klebsiella pneumoniae*)。

所有的 *Pseudomonas*，例如 *Pseudomonas aeruginosa*。抗酸性染色 (*Ziehl-Neelsen*)。

結核或麻風之病原及其他數種腐物寄生菌，諸如包皮垢桿菌 (*Smegma bacillus*)，是弱的革蘭氏陽性，有顯著的抗酸性特徵，可能是由於細胞壁的脂肪 (蠟般真菌酸 *mycolic acid*)。他們當溫的時候迅速的吸收紅色的石炭酸復紅 (*Crbolfuchsin* 且保有此染色，可防止酸性酒精溶液褪色之。在染色的塗抹片上，所有的非抗酸性菌，粘液、膿細胞等等，當用酸性酒精處理時，失去石炭酸復紅而染上對比染色液，例如甲烯藍 *methylene blue*，黃色苦味酸 *Yellow picric acid* 或煌綠 *brilliant green*。染色方法如下：

1. 似革蘭氏染色般塗抹。
2. 浸於 (Crbol fuchsin 中加熱約 85°C , 5分鐘。洗掉。
3. 用含 3~5 % HCl 或 HNO_3 之 95 % 酒精洗之，直到塗抹之最厚部份不再有顏色流出來。洗掉。
4. 用對比色之染料對比染色 1 分鐘。洗掉。

肺結核桿菌比其他抗酸性群更帶有強烈的抗酸性。所有革蘭氏染色和抗酸染色皆靠細胞膜之完整。破掉或分解的細菌或其部份既不會革蘭氏陽性也不會有抗酸性，這些染色的正確原理仍未完全瞭解。

螢光抗體染色 (*Fluorescent - Antibody Staining*)。

抗體可和螢光物質結合而不失其特性。他們可和特殊的抗原結合。螢光抗體使抗原—抗體組合於利用紫外光照明時用顯微鏡可以看見。例如，特定的一群濾過性病毒的位置—即一特殊之抗原，在組織切片甚或個別的細胞內，很容易由於用特定的螢光抗體沖之而決定。過多的抗體沖洗掉，用紫外光檢查時，螢光染色之濾過性病毒抗原很容易看到。同樣的，一個特定的細菌，在糞便或泥土的塗抹標本內，即使含有數百萬個無關的微生物，由於用對此細菌特定的螢光抗體淹沒之，再沖洗掉過剩的抗體且用紫外光檢查之，就可發現到其存在。

另一個間接的方法，是用非螢光特定抗體（免疫球蛋白）於如上標本。過多的抗體沖洗掉。此不可見之特定的抗原抗體組合很容易由於使用對任何球蛋白特定的螢光抗

體淹沒之而看到。因爲在塗抹中所有的球蛋白，除了特定的抗原抗體組合外，已被洗掉。螢光抗球蛋白抗體將在特定的抗原抗體組合中顯示免疫球蛋白。

這些方法極爲有用且現在廣泛作爲一般的診斷方法。
Ferritin Labeling 鐵蛋白標註。因爲螢光抗體不能投射電子陰影，所以不能在電子顯微鏡下觀察。若抗體與鐵蛋白（一種有機鐵化合物對電子不透明）結合，在電子顯微鏡下就可看成小的黑點。

無菌化和消毒

Sterilization & Disinfection

無菌化 *Sterilization* 意指摧毀所有活的東西。時常與消毒 *disinfection* 錯誤的交換使用。*Disinfection* 表示摧毀致病生物。因此牛奶巴氏滅菌（ 63°C ，30分鐘然後迅速冷卻）是消毒 *disinfected* 但不是無菌 *Sterile*，因為很多無害的生物可抵抗此加熱過程。

殺菌劑 *Disinfectant* 是一種殺害致病微生物的物質，但不能殺害芽胞 *Spore*。能殺害芽胞之殺菌劑將也是無菌化藥劑，例如 *ethylene oxide* 和 *beta propiolactone*。殺菌劑一般認為是有用的殺微生物製劑，其作用如所有具凝固性，氧化性或化學上活潑的物質，例如重金屬鹽，像汞之雙氯化物，高錳酸鹽或過氧化物，氯等等，甲苯酚 *Cresol* 和酚及類似物。殺菌劑此名稱用於無生命物質最適當。

膿毒病 *Sepsis*，即致病生物生長在組織或血內，例如敗血病 *Septicemia*。因此防腐劑 *Antiseptic* 嚴格說來意指能克服膿毒病之物質。防腐劑通常指能用在暴露的活的組織而有殺菌或阻止細菌生長繁殖但不傷害組織之物質。