

## 110 年特種考試地方政府公務人員考試試題

等 別：三等考試

類 科：衛生行政、衛生技術

科 目：醫用微生物及免疫學

一、請敘述下列臨床微生物實驗室所用的培養基或檢測方法之原理、判讀以及臨床應用。

(一) acid-fast 染色 (5 分)

(二) buffered charcoal yeast extract (BCYE) agar (4 分)

(三) birdseed agar (4 分)

(四) sodium polyanethol sulfonate (SPS) 紙錠 (4 分)

(五) MacConkey agar (6 分)

(六) oxidative-fermentative (OF) 試驗 (7 分)

解題關鍵：較偏檢驗的題目，沒練習過的答題會有難度，偏記憶，以往較少考此種題型

### 【擬答】

(一)原理

利用抗酸菌細胞壁中 mycolic acid 與複紅染劑 (carbol-fuchsin) 或螢光染劑結合成複合物，一旦被複紅染劑或螢光染劑染上，就很難被酸性酒精脫色之特性，可與其他菌屬區分出。

1. 判讀

Fluorescence methods 陽性，菌體具黃/橘色螢光。

Ziehl-Neelsen (ZN) 染色法 (熱染法) 複紅染色將抗酸菌於藍色背景下染成紅色菌體

2. 應用

抗酸生物，如分枝桿菌屬中的生物體內包含大量被稱為分枝菌酸的脂質。這種脂質可以阻止被如革蘭氏染色法的常規染色法染色。抗酸染色法還可以被用於給如諾卡氏菌屬 (*Nocardia*) 的細菌染色。

(二)原理塗抹於活性碳酵母萃取物選擇性培養基 (Buffered charcoal yeast extract agar with selective supplements, BCYE with selective supplements)，在二氧化碳培養箱， $36 \pm 1^\circ\text{C}$ ，培養  $5 \pm 2$  天，疑似退伍軍人菌 (*Legionella* spp.) 的菌落，應進行半胱氨酸需求試驗 (L-cysteine requirement test)、革蘭氏染色 (Gram stain)，再經直接螢光抗體染色試驗 (Direct immunofluorescent antibody test, DFA) 或乳膠凝集試驗 (Latex agglutination test) 確認。

1. 判讀

生長於含半胱氨酸之活性碳酵母萃取物培養基 (BCYE)，但不生長於不含半胱氨酸之活性碳酵母萃取物培養基 (BCYE without L-cysteine) 之菌落，革蘭氏染色鏡檢為革蘭氏陰性桿菌，無莢膜、不產孢子、短胖型或長絲型，再經直接螢光抗體檢驗或乳膠凝集試驗呈陽性反應者，即判定為退伍軍人菌陽性菌落。

2. 應用

通常專門用來培養革蘭氏陰性菌嗜肺性退伍軍人菌 (*Legionella pneumophila*)

(三)原理

烏種瓊脂由 *Guizotia abyssinica* 種子、肌酐和葡萄糖組成，為新生念珠菌的生長提供營養。*Guizotia abyssinica* 種子的提取物含有咖啡酸，作為檢測酚氧化酶的底物，酚氧化酶是一種由新型隱球菌產生的酶。酚氧化酶對咖啡酸的作用導致黑色素的產生，黑色素被酵母細胞

## 公職王歷屆試題 (110 地方特考)

壁吸收，形成棕褐色至紅棕色色素沉著。葡萄糖是培養基中的能量來源。肌酐增強某些新型隱球菌菌株的黑色化。添加的抗生素如氯黴素可抑制細菌以及快速生長的黴菌，這些黴菌通常會使生長緩慢的雙相真菌過度生長。

### 1. 判讀

結果	菌落特徵	有機體
陽性	棕色到黑色色素平滑菌落的發展。	新型隱球菌
陰性	無色素菌落	勞倫隱球菌、釀酒酵母

### 2. 應用

用於選擇性分離和分化新型隱球菌與其他隱球菌和其他酵母菌。

### (四)原理

Sodium polyanethol sulfonate (SPS) 做為抗凝劑，此抗凝劑可能會降低 *Neisseria gonorrhoeae* 及 *Neisseria meningitidis* 分離率。

### 1. 應用

適用於血液的細菌、黴菌培養

### (五)原理

MacConkey Agar 利用結晶紫抑制革蘭氏陽性菌生長，以分離革蘭氏陰性菌。本培養基含乳糖，膽鹽，及中性紅作為 pH 指示劑，依乳糖發酵能力鑑別腸道細菌，可將腸道細菌分為兩組：

### 1. 判讀

(1) 大腸桿菌群 (coliform bacilli)：能發酵乳糖產酸，菌落表面呈紅色。大腸桿菌的產酸量多過本組其他菌，故菌落周圍亦呈紅色，此乃因酸之作用使膽鹽沉澱而後被中性紅吸收所致。

(2) 痢疾、傷寒和副傷寒桿菌 (desentery, typhoid, and paratyphoid bacilli)：不能發酵乳糖，所以不產酸，菌落無色或半透明。

### 2. 應用

分辯大腸桿菌群，痢疾、傷寒和副傷寒桿菌

### (六)原理

菌在分解葡萄糖的過程中，必須有分子氧參加的，稱為氧化型。氧化型細菌在無氧環境中不能分解葡萄糖。細菌在分解葡萄糖的過程中，可以進行無氧降解的，稱為發酵型。發酵型細菌無論在有氧或無氧的環境中都能分解葡萄糖。不分解葡萄糖的細菌稱為產堊型。利用此試驗可區分細菌的代謝類型。

### 1. 判讀

兩支培養基均無變化為產堊型或不分解糖型；兩支培養基均產酸為發酵型；若僅不加石蠟的培養基產酸為氧化型。

### 2. 應用

主要用於腸桿菌科細菌與非發酵菌的鑒別，前者均為發酵型，而後者通常為氧化型或產堊型。也可用於葡萄球菌與微球菌間的鑒別。

二、請各舉一例，敘述六類作用機制不同的抗黴菌藥物。並請比較 Amphotericin B 及 flucytosine 對 *Aspergillus* 和 *Talaromyces marneffeii* 的效果。(20 分)

解題關鍵：對抗黴菌藥物需熟背，其中 Amphotericin B、flucytosine 對微生物之部分整合

### 【擬答】

## 公職王歷屆試題 (110 地方特考)

### (一)抑制細胞膜

多烯類：amphotericin B、nystatin、natamycin、candididin

麥角生合成抑制劑：

azoles：ketoconazole、Itraconazole、fluconazole、voriconazole、posaconazole

squalene epoxidase：Naftifine、terbinafine、butenafine、tolnaftate

morpholines：amorolfine

### (二)抑制細胞壁

Echinocandins 類：caspofungin、micafungin、anidulafungin

### (三)其他

抗生素類：flucytosine (5-FC)、griseofulvin 灰黴素

Haloprogin 碘化丙炔、ciclopirox、undecylenic acid 十一烯酸

Amphotericin B 兩性黴素 B 在黴菌的細胞膜內與脂醇 (Ergosterol) 結合而造成細胞膜通透性的改變，導致真菌細胞內的成分，鉀離子及其他成份如胺基酸、蛋白質等洩漏到膜外，破壞真菌正常代謝及抑制生長，細胞產生裂解而造成黴菌細胞死亡。由於細菌的細胞膜上並不含有麥角甾醇，故此藥對細菌並無抑制和/或殺滅作用。而人和動物的細胞膜上，則以膽固醇為主要成份，膽固醇與兩性黴素 B 具有一定親和力，因此對人體會具一定毒性。

flucytosine (5-FC) 氟胞嘧啶通過干擾 DNA 和蛋白質合成來發揮抗真菌作用。其先經由胞嘧啶滲透酶進入敏感真菌，再由胞嘧啶脫氨酶轉化為氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)。而哺乳動物細胞中沒有胞嘧啶脫氨酶，故其只對真菌細胞有效。

三、請敘述何謂 mucosa-associated lymphoid tissue？請就 gastrointestinal-associated lymphoid tissue 說明其重要性以及 gamma-delta T cells 在其中扮演的角色。(26 分)

解題關鍵：本大題難度適中，老師上課皆有介紹到，比較難的地方是考 gamma-delta T cells 的角色，稍微冷門一點。

#### 【擬答】

黏膜相關淋巴組織 (mucosa-associated lymphoid tissue, 簡稱 MALT)，位於消化道、呼吸道、泌尿生殖道等人體各種黏膜固有層組織中，以及上皮細胞下方散在的無被膜淋巴小結以及表皮細胞之間的微皺褶細胞 (M 細胞) 組成。

MALT 是一種無明確範圍的低濃度的淋巴組織，它可以在你的身體各處被找到，例如：呼吸道、消化道，泌尿生殖道，甲狀腺，乳房，唾液腺，眼部，皮下。

腸道相關淋巴組織 (GALT) 是黏膜相關淋巴組織 (MALT) 的一個組成部分，它在免疫系統中起作用以保護身體免受腸道侵襲。

$\gamma\delta$ T 細胞主要分佈於腸道黏膜、皮膚及其他黏膜組織，不僅參與許多免疫反應也扮演免疫調節的角色，例如發炎反應與可直接辨識癌細胞進而將癌細胞殺死。由於  $\gamma\delta$ T 細胞辨識抗原時反應快速又不受 HLA 分子之限制 (MHC restriction)，因此屬於天生免疫反應 (Innate immunity) 的一員。

四、請敘述人類 coronavirus 的基本結構、基因組、結構蛋白質、非結構蛋白質及其功能、複製週期以及引發的疾病。(24 分)

解題關鍵：最近熱門題型，冠狀病毒，題目出的較細，有背有分

#### 【擬答】

##### (一)冠狀病毒 (Coronavirus)

冠狀病毒的基因組大小介於 26000 與 32000nt 之間，是 RNA 病毒中基因組大小位居前列者，



編碼棘蛋白 (S) 又稱棘蛋白、包膜蛋白 (E)、膜蛋白 (M) 和核殼蛋白 (N) 等四種結構蛋白、複製酶 (ORF1a/b) 與若干輔助蛋白，部分病毒還具有血細胞凝集素酯酶 (HE)，這些蛋白除維持病毒結構，還有促進感染與抵抗宿主免疫反應等功能，其中棘蛋白可與宿主細胞表面的受體結合，使病毒包膜和宿主細胞的膜融合以感染細胞。進入宿主細胞後，冠狀病毒會造成細胞內膜的重組，並在特化的膜結構中進行複製與轉錄，轉錄時會發生範本跳轉而產生許多長度不一的次基因組 RNA，皆包含一或數個結構蛋白的基因，此跳轉可能是不同冠狀病毒間發生基因重組的機制。次基因組 RNA 與完整的 mRNA 皆可被轉譯成蛋白質，複製酶 (ORF1a/b) 在轉譯時會發生-1核糖體移碼而產生 1a 或 1ab 兩種多聚蛋白，可分別被自身的蛋白酶切割而形成 14 種非結構蛋白，參與病毒的轉錄與複製，其中一個非結構蛋白 nsp14 具有校對的功能，使冠狀病毒複製的準確度高於其他 RNA 病毒，可能是其得以維持較長基因組的原因。

已知可感染人類的冠狀病毒共有 7 種，其中有 4 種 (人類冠狀病毒 229E、人類冠狀病毒 OC43、人類冠狀病毒 NL63 與人類冠狀病毒 HKU1) 可引發普通感冒，另外 3 種為導致嚴重疾病的嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒 (SARS-CoV)、中東呼吸症候群冠狀病毒 (MERS-CoV) 與嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒 2 型 (SARS-CoV-2)，皆曾在全球各地造成疫情。

## (二) 複製週期

### 1. 進入細胞

冠狀病毒均以棘蛋白和宿主細胞表面的受體結合，不過部分冠狀病毒還可以其他蛋白結合宿主細胞

### 2. 轉譯

進入宿主細胞後，冠狀病毒核殼會被降解，使其基因組 RNA 進入宿主的細胞質，因其 RNA 和真核生物的信使核糖核酸一樣具有 5'端帽和 3'端聚腺苷酸尾，可被宿主的核糖體轉譯產生蛋白質，許多蛋白被合成後後還會得到醮基化等轉譯後修飾，除了核殼蛋白外，另外三種結構蛋白都是由內質網上的核糖體轉譯

### 3. RNA 複製與轉錄

冠狀病毒進入細胞後會造成細胞中內膜系統構造的改變 (可能是由 nsp3、nsp4 與 nsp6 三種非結構蛋白達成)，使粗糙內質網產生捲曲的膜結構 (convoluted membrane; CM)，並形成許多有雙層膜的囊泡 (double membrane vesicles; DMV)，DMV 為內質網的膜所衍生的囊泡，可能是病毒蛋白藉由 ERAD 途徑將另一種由內質網衍生的囊泡 EDEMosomes 向內凹陷、修飾而成，也可能是透過引發細胞自噬途徑而形。DMV 的內膜為封閉，將病毒 RNA 與細胞質隔絕，包膜則與內質網的膜相連通，病毒的複製與轉錄主要在捲曲膜 (CM) 中進行，DMV 中也有許多病毒的 RNA，亦有研究表明 DMV 可能是病毒複製與轉錄的場所。

RNA 複製時，RNA 複製酶以正鏈的基因組 RNA 為範本，合成完整的負鏈的 RNA，亦可以負鏈 RNA 為範本合成完整正鏈 RNA

## (三) 基因重組

因冠狀病毒 RNA 複製酶在轉錄時可在 TRS 切換範本，當細胞中具有兩種以上的病毒 RNA 時，複製轉錄複合體可能由一個病毒 RNA 跳轉至另一個病毒 RNA，而造成病毒的基因重組。

## (四) 組裝與釋放

RNA 複製所合成的完整正鏈 RNA 為病毒的遺傳物質，被核殼蛋白包覆組成核殼；次基因

## 公職王歷屆試題 (110 地方特考)

組 RNA 則包含四種結構蛋白的開放閱讀框，可在細胞的內質網中由核糖體轉譯出結構蛋白與輔助蛋白，其中棘蛋白、膜蛋白與包膜蛋白可隨宿主細胞的內膜系統移動至一種內質網衍生的胞器內質網-高基氏體中間體 (ERGIC)，核殼蛋白與膜蛋白在此結合，組裝並出芽形成完整的病毒，再經胞吐作用自細胞膜離開細胞。被釋出的病毒即可再感染其他細胞。

公  
職  
王