

## 上呼吸道的感染及檢體的培養

---

賴美珠<sup>1,2</sup> 林金絲<sup>2</sup> 許國忠<sup>2</sup> 陳芳紅<sup>1</sup>

嘉義基督教醫院<sup>1</sup>實驗診斷科<sup>2</sup>院內感染管制委員會

### 前言

人類呼吸道感染是較常見的臨床感染，其中由病毒所引起的佔絕大部分；若由病毒引起的案例，並不需要使用抗生素治療。由於呼吸道容易移生許多菌叢，因此，檢驗室在分離和報告時，應避免針對非致病菌進行鑑定及藥物試驗，否則可能誤導醫師使用不必要的抗生素治療病人。

呼吸道概括區分為上呼吸道（口咽及鼻咽）及下呼吸道（氣管、支氣管及肺泡）。在此討論議題中，中耳亦歸於上呼吸道的一部份，因為其經由歐氏管連接到後咽部。

### 上呼吸道的感染

急性咽喉炎(acute pharyngitis)是最常見的上呼吸道感染，其最常見且重要的致病菌為鏈球菌(streptococci)、病毒、及白喉桿菌(表一、表二)。白喉桿菌(*Corynebacterium diphtheriae*)是小孩最重要的呼吸道感染致病菌，偶爾也造成群突發，此菌亦會造成大人感染，尤其是在開發中國家，台灣因施打三合一疫苗，目前感染個案已很少見。與鏈球菌所造成的紅腫性咽喉炎相較，白喉的特徵為覆蓋住後咽部的藍白色、或灰色厚膜，並伴隨其組織周圍或皮下水腫。病毒感染常導致急性咽喉炎，很難與鏈球菌所造成的咽喉炎加以區分。腺病毒(Adenoviruses)、EB 病毒(Epstein-Barr viruses)、克沙奇病毒(Coxsackie A viruses)等是最常導致病毒性咽炎的病原，但因病毒培養所耗費的成本較高及無後送實驗室，因此在大部分臨床檢驗室極少做此病毒的分離工作。故其診斷多依據經驗療法及目前社區流行菌株型態做判斷。

臨床檢驗室可藉由鏈球菌的篩檢及咽喉的常規培養，幫助醫師診斷上呼吸道感染的致病原。當醫師為了診斷急性咽喉炎，而開立一般咽喉常規培養時，若檢驗室的培養報告結果為 *Staphylococcus aureus*、多種 Gram-negative bacilli、*Haemophilus influenzae* 或其他非造成急性咽喉炎的主要病菌時，反而會造成醫師判讀上的混淆。因此在許多檢驗室，只提供鏈球菌篩檢，而不提供咽喉常規培養。

口咽部的正常或常在菌叢為： $\alpha$ -溶血的鏈球菌(如 *Streptococcus mutans*、*Streptococcus salivarius* 等等)、*Neisseria* species (*N. gonorrhoeae* 除外)、coagulase(-)staphylococci (*S. aureus* 偶爾亦是)、*Haemophilus hemolyticus*、*Streptococcus pneumoniae*、某些腸內菌科(特別是住院病人)、Yeasts(如 *Candida albicans*)及非 A 群鏈球菌口咽部的分離菌，通常會出現不同的組合及菌量(表三)。如果欲分離 *N. gonorrhoeae*、*B. pertussis* 或 *C. diphtheriae* 及少數病毒時，應先告知檢驗室以便準備特殊的分離培養基。

## 鏈球菌性咽喉炎

診斷鏈球菌性咽喉炎，主要是依據病人的咽喉黏膜發炎和紅腫、咽喉痛及吞嚥困難，甚至發燒和頭痛等症狀，偶爾亦可看見猩紅熱狀皮疹、後咽部化膿性分泌物及扁桃腺炎。若出現堅韌、纖維狀灰膜(偽膜)，可能為白喉的症狀，此時除收集由膿瘍處或引流竇處的膿液外，尚需收集黏膜潰瘍處之檢體。除常規的咽喉培養外，可能需要進一步做其他特殊細菌之培養。

### 一、咽喉檢體的收集

適當的收集方式：使用明亮的光源，以便收集病人的後咽部檢體，病人頭部後傾和深呼吸，以壓舌棒壓住舌頭使得扁桃腺及後咽部清晰可見，再以棉棒來回擦拭懸壅垂及扁桃腺之間，應避免碰觸舌部及臉頰處以減少口腔正常菌叢污染，可以叫病人發出“阿”長音以免提高懸壅垂及避免反胃，利用棉棒仔細擦拭扁桃腺、後咽處及任何化膿分泌物。

當欲從上呼吸道分離病毒時，鼻咽拭子較咽喉拭子或沖洗液為佳。Frayha 等[1]研究 125 個病人的呼吸道檢體，發現對病毒的分離率而言，鼻咽腔拭子及鼻咽腔抽取物並無差別。但另一研究[2]指出：鼻咽腔沖洗液對分離 RSV(respiratory syncytial virus)及副流行性感冒病毒(parainfluenzae virus)較佳，並且發現含鈣離子的棉籤不適合使用在疱疹病毒的分離。

棉籤收集之後應置於無菌管或適當的容器傳送到檢驗室，如果目的只是要分離 A 群鏈球菌，乾燥的傳送過程並不影響其分離。有些檢驗室建議將棉籤保持乾燥，如放置於矽膠上，可抑制常在菌叢的過度增殖，此舉確實可以改善 A 群鏈球菌的分離率。如果為了要分離病毒，相關檢體，應置於特殊的培養基(例如：sucrose phosphate-glutamate transport medium)中運送。

### 二、A 群鏈球菌的培養

除 A 群鏈球菌之外，尚有 B、C、F、G 群鏈球菌，可能亦會引起急性咽喉炎。感染 A 群鏈球菌咽喉炎後，通常會造成心臟和腎臟相關的併發症，但發生的機率很小。一般而言，咽喉炎是較溫和或自限性的感染。操作喉嚨培養時，應包含 A 群鏈球菌的分離培養基。

分離及鑑定 A 群鏈球菌時，可將檢體接種至含 5% 綿羊血的 BAP(Blood agar plate)培養基，並且在接種區內，將培養基穿刺 2-3 次，此目的是將部分菌株帶至培養基下層，製造部分厭氧環境，可偵測出鏈球菌的兩種溶血素形態：包括對氧穩定性及不穩定性兩種。經過 18 或 24 小時培養後，觀察培養基上有無  $\beta$  溶血的菌落。若無則須再觀察 24 小時才可發陰性培養報告。

菌落鑑定可依溶血形式( $\beta$ -hemolytic)、革蘭氏染色、過氧化氫酶(catalase)，加上 bacitracin 及(sulfamethoxazole-trimethoprim; SxT)的藥敏試驗，或利用血清分型，包括：乳膠凝集或凝固試驗。不建議將 bacitracin 紙錠直接貼到接種的培養基上。

Kellogg[3]回顧了 A 群鏈球菌最理想的分離條件。正常菌叢可能會部分抑制 A 群鏈球菌的生長，特別是菌落密集的地方。添加 SxT 的 BAP 在 18-24 小時內，可明顯改善 A 群鏈球菌的分離率，Kurzynski 和其同事[4]認為利用添加 SxT 的 BAP 分離 A 群鏈球菌時，就可以將 bacitracin 紙錠直接貼到接種的培養基上。且在厭氧的環境下培養，可增加 A 群鏈球菌的分離，因其正好可抑制部分正常菌的生長，且只產生對氧穩定的鏈球菌溶血素 O(streptolysin O)。

### 三、直接利用喉嚨拭子偵測 A 群鏈球菌抗原

在檢驗室，可使用喉嚨拭子直接偵測 A 群鏈球菌的抗原，所有測試方法皆需要在測試前先萃取其抗原，利用亞硝酸萃取其多醣體抗原，所有測試步驟只需 15 分鐘即可完成，但若利用細胞壁活化酵素萃取抗原，則需要 1 到數小時。

目前直接偵測 A 群鏈球菌抗原的原理有許多種，起初使用凝集法偵測萃取液中的抗原，之後則利用乳膠粒子結合偵測抗體法來偵測抗原，目前最常使用的方法是酵素免疫分析法；與乳膠凝集法相較，其敏感度及特異性較高，且容易建立品質管制。

市售利用核酸探針直接偵測咽喉檢體中的鏈球菌，與傳統培養做對照，其敏感度為 93.5%，特異性為 99.7%[5]，當培養時其總菌落數 < 5 colony forming units(CFU)時會有偽陰性產生，加上其價格昂貴，故臨床上較少被使用。

由於直接偵測菌株抗原的特異性高，故偵測結果為陽性時，醫生就可以直接使用藥物治療病人，然而當菌量較少時，則會出現偽陰性，故醫生應採集 2 支檢體，當抗原陰性時，應做傳統的細菌培養。

### 四、由喉嚨拭子分離其他病原菌

檢驗室應具備分離臨床上較少見的喉嚨致病菌的能力，白喉是白喉桿菌的毒素所引起。若病人人口咽部出現一層覆蓋住黏膜的灰色偽膜，可做為初步診斷的依據。疑似的感染個案，除了收集喉嚨拭子外，應再收集鼻咽拭子，檢體應接種到 Loeffler's serum glucose medium (或 modified Pai medium)、cystin tellurite agar (例如 Tinsdale agar) 及 5% 綿羊血的培養基。如疑似由百日咳桿菌所引起的百日咳，應接種含馬鈴薯萃取物的 Bordet-Gengou 培養基，但 Regan 及 Lowe[6]發現含馬血及 cephalexin 的巧克力培養基，更適合培養百日咳桿菌，同時此培養基亦可當作運送培養基或增菌培養基。Gilligan 及 Fisher 強調收集適當的檢體進行傳統的細菌培養以診斷百日咳，比直接用螢光抗體測試敏感度來得更高[7]。最理想的方式應在病床邊採檢後，直接接種到培養基上，之後置於 35°C、含 CO<sub>2</sub> 的環境中培養。

由於細菌培養耗時和較不敏感，因此已發展其他從鼻咽拭子或抽取物快速診斷百日咳的方式；如直接螢光免疫抗體分析法，但是會和鼻咽或口腔之正常菌叢形成交叉反應，故具有很高比例的偽陽性。目前許多研究顯示聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction; PCR) 是診斷百日咳最敏感的方法。在芬蘭一個有關院內感染的群突發研究發現[8]；PCR 偵測與培養陽性結果比較，前者的敏感度達 100%，另在 157 個細菌培養陰性的個案中，有 65 個的臨狀症狀顯示為百日咳個案，其 PCR 偵測結果亦為陽性。此方法的敏感度為檢體中只要有 25 隻細菌即可偵測出來，除用來作為診斷工具外，亦可用來評估疫苗

接種效果，以及追蹤無症狀感染個案的傳播擴散。此方法在 24 小時內，可以提供精確的檢驗結果。

當臨床病歷及理學檢查顯示 *Neisseria gonorrhoeae* 導致之咽炎時，除接種於含 5%綿羊血的血液培養基外，應再加上一種可供淋病菌生長的選擇性培養基，*Neisseria meningitidis* 亦可能在咽喉檢體培養基中出現，此菌必須與 *Neisseria gonorrhoeae* 區別。

在咽喉檢體培養，是否需鑑定 *Haemophilus influenzae* 並無定論，在許多檢驗室通常只針對新生兒、及小於 2 歲的小孩分離 *H. influenzae*，在其他病人則只有醫師特別要求時才做鑑定。在成人及小孩，皆曾發現此菌造成急性阻塞性會厭炎，通常這些病人的血液培養均可分離出 *H. influenzae*，因此對這些病人收集咽喉檢體，試圖分離 *H. influenzae* 似乎無意義，甚至在採檢時，具有潛在危險性。雖然大多數的臨床醫師，認為使用抗生素治療，確實可改善具有臨床症狀且培養陽性病人的情況，然而事實上 *H. influenzae* 可能並不是造成急性咽炎的元兇。

*H. influenzae* 及其他 *Haemophilus species* 在 BAP(Sheep blood agar plate)無法生長，主要是因為此培養基中不含 X(hemin)及 V(NAD)因子，在許多檢驗室使用含馬血的培養基，因其可提供 X 及 V 因子，且可判讀其溶血形式，在接種區貼上一個 10  $\mu$ g Bacitracin 藥錠，或直接將 bacitracin 加到培養基之中，此舉可抑制其他非流行性感嗜血桿菌的菌株生長，若無法使用選擇性培養基，則只好在綿羊血液培養基上，橫向接種一條含 *Staphylococcus aureus* 菌株之劃線，因此菌可溶解培養基中的紅血球並產生 X 因子，且 *S. aureus* 亦可分泌 V 因子，經過 24 小時的培養後，若有沿著 *S. aureus* 劃線生長的小衛星菌落，且革蘭氏染色為細小陰性球桿菌，則可初步鑑定為 *H. influenzae*。然後再加作其他確定試驗。

總結來說，可利用一個綿羊血液培養基(或一個含 SxT 的選擇性培養基)，接種後穿刺數次後培養在嗜氧環境，即可分離 A 群鏈球菌，分離其他細菌，如：*C. diphtheriae*、*B. pertussis*、*N. gonorrhoeae* (*N. meningitidis*)、*H. influenzae* 或其他非常見致病菌，則需要特殊的選擇性培養基。

## 口腔之感染

細菌、黴菌、病毒都會造成各種口腔感染症狀，事實上當檢體標示為頰黏膜、舌、牙齦、唇內、其致病菌可能並非細菌。當免疫受抑制時，許多細菌會導致牙週或黏膜潰瘍，至於急性壞死的潰瘍性牙齦炎(文生氏感染)及口腔黏膜炎症，通常是口腔多種厭氧菌感染所致，這些菌株有時會併發敗血症及轉移性感染，若懷疑時，仍然需要做血液培養。當從臉頰潰瘍處或牙齦潰瘍處採檢，染革蘭氏染色時，如觀察到革蘭氏陰性、紡錘形或螺旋狀桿菌，則可預先診斷為此感染，由於口腔內含有許多厭氧常在菌叢，因此採集從口腔檢體做培養並無助於診斷。潰瘍性牙齦及口腔黏膜炎症亦可能為第一型單純疱疹病毒所引起，最常在唇部黏膜皮膚交界處產生疼痛的水泡，起初為小水泡，然後變成潰瘍與節痂，會終生間隔復發。

*Capnocytophaga species* 是呈紡錘形的細菌，正常情況下會出現在口腔中，但有時亦會引起口腔黏膜的潰瘍。在血液培養中亦可分離出此菌，尤其在嚴重白血病的病人。這些菌株通常會在選擇性培養基中(如 selective neisseria medium)生長，此菌對 vancomycin、colistin、及 trimethoprim 具抗藥性。根據 Rummens 及其同事的研究[9]，使用選擇性培養基與一般巧克力培養基，

從口腔檢體分離 *Capnocytophaga* species 時，在相同的培養條件下，其陽性率分別為 96%與 6%。

如果臨床症狀為一長期且未見改善的口腔黏膜潰瘍時，應懷疑是否為經由皮下擴散所引起的全身性黴菌感染，因為細菌很少會引起此類的口腔潰瘍，潛在致病菌的判讀，通常使用排除法。對組織黴漿菌病(Histoplasmosis) 或芽生黴菌病(Blastomycosis)的快速診斷方式：直接由潰瘍處邊緣刮取檢體，經 KOH 染色可見酵母菌型態，亦需做組織切片檢查、及滲出物的直接鏡檢。白色念珠菌可以造成口腔黏膜的表淺性疼痛點狀發炎，其診斷可依據病灶處滲出物的革蘭氏染色檢查結果，可觀察到假菌絲(Pseudohyphae)及芽生分生子(Blastoconidia)。

## 鼻咽腔培養

通常收集鼻咽腔檢體進行細菌培養，較不具臨床意義。依據流行病學調查，上述檢體則有助於偵測 *Streptococcus pyogenes*，*Corynebacterium diphtheriae*，或者是 *Nisseria meningitidis* 的帶原狀態，鼻咽拭子培養對診斷中耳炎或細菌性鼻竇炎助益有限，但卻有助於百日咳的診斷，對病毒的分離而言，拭子及抽取液效果均相同。

採檢時，通常由病人肩膀後方放置一光源，用一隻手指頭將病人鼻前端往上壓，再使用一支小的可彎曲的金屬採檢棉籤，先用蒸餾水或生理食鹽水潤濕後，伸入其中之一的鼻孔採檢，沿鼻中隔來回擦拭直到接觸到後咽部的阻隔，緩慢移出棉籤。如果未能接觸到後咽部，則須從另一鼻孔再操作一次。

**表一 人類上呼吸道臨床感染的病原菌診斷**

臨床症狀及特徵	收集何種檢體	可能的致病細菌
<b>部位：鼻及竇</b>		
頭痛	急性： 鼻咽拭子	肺炎鏈球菌 ( <i>Streptococcus pneumoniae</i> )
顴骨區紅腫及痛	竇沖洗液	流行性感冒嗜血桿菌 ( <i>Haemophilus influenzae</i> )
鼻炎	慢性： 竇沖洗液	<i>Branhamella catarrhalis</i>
放射線檢查可見： 竇堅實化、液面層 、膜肥厚增生	外科組織切片檢體	金黃色葡萄球菌 ( <i>Staphylococcus aureus</i> ) <i>Klebsiella</i> spp. 及其他 <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Bacteroides</i> spp. 及其他厭氧菌
<b>部位：喉頭及咽喉</b>		
黏膜紅及水腫	後咽部拭子	A 群鏈球菌 ( $\beta$ -溶血)
扁桃腺滲出液	扁桃腺拭子 (膿瘍)	白喉桿菌 ( <i>Corynebacterium diphtheriae</i> )
偽膜形成	鼻咽拭子	淋病雙球菌 ( <i>Neisseria gonorrhoeae</i> )
懸壅垂腫大		百日咳桿菌 ( <i>Bordetella pertussis</i> )
舌頭有灰色覆膜 “草莓舌”		
頸結腫大		
<b>部位：中耳</b>		
水樣或膿樣洩液	急性： 鼻咽拭子	急性： 肺炎鏈球菌及其他鏈球菌
耳朵或下頷痛	鼓膜抽吸物	流行性感冒嗜血桿菌
一陣陣頭痛	慢性： 外耳道洩液	慢性： 綠膿桿菌 ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ) 變形桿菌科 ( <i>Proteus</i> spp.) 厭氧菌

**表二 與人類呼吸道感染有關的病毒**

病毒種類	疾 病
鼻病毒 (Rhinovirus)	感冒
克沙奇 A 病毒 (Coxsackie A virus)	感冒，口咽水泡 (疱疹性咽峽炎) 和手口足病
流行性感冒病毒 (Influenza virus)	可侵犯下呼吸道
副流行性感冒病毒 (Parainfluenza virus)	可侵犯喉部
呼吸道融合病毒 (Respiratory syncytial virus)	可侵犯下呼吸道
冠狀病毒 (Coronavirus)	感冒
腺病毒 (Adenovirus)	以咽炎為主，其次為結膜炎和支氣管炎
伊柯病毒 (Echo virus)	感冒

表三 人類呼吸道之常在菌叢

頻率	菌 株
最常見	嗜氧菌 口腔鏈球菌 ( $\gamma$ -hemolytic streptococci) 腐生性奈瑟氏菌 (非 <i>N. gonorrhoeae</i> 及 <i>N. meningitidis</i> 的 <i>Nesseria</i> species) 棒狀桿菌屬 ( <i>Corynebacterium</i> species) 嗜血桿菌屬 ( <i>Haemophilus</i> species) 口腔黏球菌 ( <i>Stomatococcus mucilaginosus</i> ) 微球菌 (Micrococci) 白色念珠菌 ( <i>Candida albicans</i> ) Coagulase-negative staphylococci 厭氧菌 轉糖鏈球菌屬 ( <i>Peptostreptococcus</i> species) 范永氏菌屬 ( <i>Veillonella</i> species) 紡錘桿菌屬 ( <i>Fusobacterium</i> species) 放線菌屬 ( <i>Actinomyces</i> species) 寄生蟲 齒齲阿米巴
偶爾可見	A 群鏈球菌 (如 <i>Streptococcus pyogenes</i> ) 肺炎鏈球菌 腦膜炎雙球菌
很少見	白喉桿菌 ( <i>C. diphtheriae</i> ) 肺炎克雷白氏桿菌 ( <i>Klebsiella pneumoniae</i> ) 抗生素治療後可見 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> · <i>Escherichia coli</i> · <i>C. albicans</i>
潛伏型	卡氏肺囊蟲 ( <i>Pneumocystis carinii</i> ) 肺結核桿菌 ( <i>Mycobacterium tuberculosis</i> 很少見) 巨細胞病毒 單純疱疹病毒 EB 病毒

## 結 論

採取適當的檢體，並將懷疑的致病菌種類告知檢驗室，可避免因選擇不當的培養基而導致偽陰性結果，善用其他抗原偵測方法，可彌補培養敏感度之不足，並可快速得到結果。大部分上呼吸道感染並不需要使用抗生素治療，檢驗室及醫師應謹慎判定分離菌株是否為真正致病菌，或僅為移生菌或常在菌叢，以避免抗生素被濫用。

## 參考文獻

1. Frayha H, Castriciano S, et al: Nasopharyngeal swabs and nasopharyngeal aspirates equally effective for the diagnosis of viral respiratory diseases in hospitalized children. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1307-89.
2. Isenberg HD, Washington JA II, Doern GV, et al: Specimen collection and handling. In Balows A(ed), *Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1991.
3. Kellogg JA: Suitability of throat culture procedures for detection of group A streptococci and as reference standards for evaluation of streptococcal antigen detection kits. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 165-9.
4. Kurzynski T, Meise C, Daggs R, et al: Improved reliability of the primary plate bacitracin test on throat cultures with sulfamethoxazole-trimethoprim blood agar plates. *J Clin Microbiol* 1979; 9: 144-6.
5. Hetter BJ, Bourbeau PP: Comparison of the Gen-Probe group A Streptococcus direct test with culture and a rapid streptococcal antigen detection assay for diagnosis of streptococcal pharyngitis. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2070-3.
6. Regan J, Lowe F: Enrichment medium for the isolation of *Bordetella*. *J Clin Microbiol* 1997; 6: 303-9.
7. Gilligan PH, Fisher MC: Importance of culture in the laboratory diagnosis of *Bordetella pertussis* infections. *J Clin Microbiol* 1984; 20:891-3.
8. He Q, Mertsola J, Soini H, et al: Comparison of polymerase chain reaction with culture and enzyme immunoassay for diagnosis of pertussis. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 642-5.
9. Rummens J, Fossepre J, DeGruyter M, et al: Isolation of *Capnocytophaga* species with a new selective medium. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 375-8.