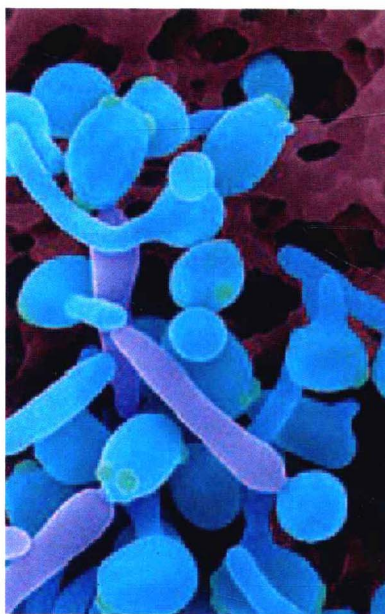
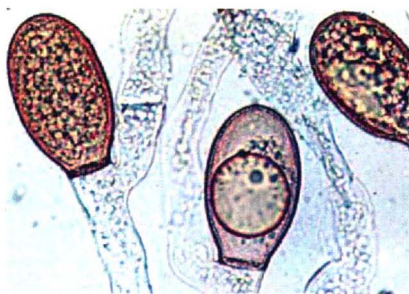


真菌非培养 诊断技术的研究与应用

左大鹏 周泽奇 主编



北京大学医学出版社

真菌非培养诊断技术的研究与应用

主编：左大鹏 周泽奇

编者：（按姓氏笔画排序）

左大鹏	史东伟	刘春龙	李 宁
苑庆华	周泽奇	黄炎彬	彭 洁
粟 艳	魏小翊		

北京大学医学出版社

ZHENJUN FEIPEIYANG ZHENDUAN JISHU DE YANJIU YU YINGYONG

图书在版编目 (CIP) 数据

真菌非培养诊断技术的研究与应用/左大鹏, 周泽奇主编.

—北京: 北京大学医学出版社, 2013. 10

ISBN 978-7-5659-0657-2

I. ①真… II. ①左… ②周… III. ①真菌病-诊断 IV. ①R519

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 233518 号

真菌非培养诊断技术的研究与应用

主 编: 左大鹏 周泽奇

出版发行: 北京大学医学出版社 (电话: 010-82802230)

地 址: (100191) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E - mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 北京佳信达欣艺术印刷有限公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 靳新强

责任校对: 金彤文

责任印制: 张京生

开 本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 11.5

字数: 266 千字

版 次: 2013 年 10 月第 1 版 2013 年 10 月第 1 次印刷

书 号: ISBN 978-7-5659-0657-2

定 价: 39.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

前 言

《真菌非培养诊断技术的研究与应用》一书，对我们解决目前临床上迫切需要的真菌诊断技术与方法具有重要的指导意义。

本书共有十五章，主要是介绍真菌非培养诊断技术的研究与应用。第一章至第三章介绍真菌的概述、分类和主要的真菌病。第四章概述了真菌非培养基本检测技术，包括直接镜检、分离培养技术与组织病理学方法。第五章至第十一章着重介绍了真菌非培养早期诊断技术，包括早期临床应用的 G 试验方法（检测血液样品中 1, 3- β -D 葡聚糖），GM 试验方法（检测半乳甘露聚糖抗原与抗体），念珠菌感染检测方法（甘露聚糖抗原与抗体），隐球菌感染检测方法（测定荚膜多糖抗原与抗体）。第十二章介绍了真菌核酸检测分子诊断方法。第十三章至第十四章主要叙述了真菌非培养技术在侵袭性真菌感染诊断中的地位和临床评价方法。第十五章就真菌培养技术的标准化提出作者的见解。

真菌非培养诊断技术既是一门传统的技术，亦是一门新兴的技术。传统的技术是用显微镜检查和组织切片技术。而新兴技术是用免疫学、生物化学和分子生物学的方法检测真菌的代谢产物和遗传物质的新技术。如现在应用萤试剂 G 试验、GM 试验进行白念珠菌以及隐球菌抗原抗体检测方法均属于新兴的真菌非培养诊断技术。临床上早期应用的非培养技术例如 G 试验，作为早期诊断技术方法广泛应用于临床。但它难以区分种属、不易区分病原菌的局限性显而易见。直接镜检和组织切片技术虽具有简便、快速、实用的特点，但敏感性和特异性较低。而培养过程耗时长、难以区分定植与感染真菌和存在真菌采集困难等局限性。而真菌核酸检测分子诊断技术有了较大的发展，但敏感性和特异性难以满足临床的需要。

最近在真菌抗原抗体制备与修饰平台取得重大突破，诊断领域科学家已经创新性地开发出一系列新产品。他们利用免疫学的方法早期检测真菌代谢中产生的标志物，大大提高了早期体外非培养诊断技术的敏感性和特异性，尤其是多个产品的联检在临床上的应用，对真菌种属的鉴定和临床治疗具有非常重要的价值。利用萤试剂和免疫酶联检测方法是目前真菌非培养早期体外检测技术的新途径，也是深部真菌感染筛查的有效手段。另外，分子诊断技术也是非培养真菌检测的重要手段之一，利用常规聚合酶链反应（RT-PCR）扩增技术，可鉴定不同致病性真菌的种类。分子生物学在真菌临床检验的应用首先是真菌菌种的鉴定，特别是形态学上难以确定的新品种；其次是应用分子生物学的手段直接检测人体中真菌的感染情况。虽然非培养方法还存在不足，但该方法已经获得医学界的广泛认同，在规范操作的前提下临床价值已得到肯定，此类新技术正在不断地完善和改进之中。

本书的编写以生物学、免疫学、微生物学、临床医学等多方面的青年学者为主，力求体现这些科学知识在临床应用上的科学性和实用性，在基础微生物学和免疫学与临床应用之间关联与转化。在本书稿编写过程中，深感临床微生物学涉及内容之广泛以及深

部真菌非培养技术发展的日新月异，因此部分内容和观点尚存异议在所难免。加之我们学术水平有限，瑕疵难免，欢迎广大读者批评指正。

本书的编写过程，得益于美国罗切斯特大学医学院陈定庚教授的指教和支持，在此我们表示衷心的感谢。

周泽奇博士
2013年3月15日

目 录

第一章 真菌概述	1
第一节 真菌的定义和分类	1
一、真菌的定义	1
二、真菌的分类	1
第二节 真菌的生物学特征和致病性	3
一、真菌生物学特征	3
二、真菌致病性	4
第二章 感染性真菌	6
第一节 浅部感染真菌	6
第二节 深部感染真菌	7
一、念珠菌	7
二、曲霉	7
三、隐球菌	8
四、组织胞浆菌	8
五、肺孢子菌	8
六、毛霉目真菌	9
七、马内菲青霉	9
八、镰刀菌	9
第三章 侵袭性真菌病	10
第一节 侵袭性真菌感染概述	10
一、侵袭性真菌病的定义	10
二、侵袭性真菌感染现状	11
三、侵袭性真菌感染诊断上存在的问题	11
第二节 主要的侵袭性真菌病	13
一、侵袭性肺真菌病	13
二、真菌性败血症	16
三、真菌性脑膜炎	18
四、真菌性肠炎	21
五、真菌性尿路感染	22
六、真菌性阴道炎	23
七、真菌性角膜炎和眼内炎	25
第三节 侵袭性真菌感染评分标准介绍	28
第四章 真菌基本检验技术概述	31
第一节 真菌实验室检查程序	31
第二节 真菌显微镜检查	32
一、方法	32

二、主要应用	33
三、方法局限性	33
四、真菌涂片镜检规范化	33
第三节 分离培养与鉴定技术	33
一、基本方法	33
二、临床意义	33
三、真菌鉴定规范化	34
四、假丝酵母菌定植指数	34
第四节 组织病理学	34
第五章 真菌非培养技术概述	36
第一节 真菌非培养检验技术的发展	36
一、真菌 1, 3- β -D 葡聚糖检测 (G 试验)	36
二、真菌半乳甘露聚糖抗原检测 (GM 试验)	37
三、真菌抗体检测	38
四、真菌核酸检测	39
五、其他非培养技术	39
第二节 非培养技术特点和优势	40
第三节 非培养技术存在问题和今后解决方法	40
第六章 真菌 1, 3- β -D-葡聚糖检测 (G 试验) 及临床应用	42
第一节 检测原理和方法	42
第二节 检测方法	44
第三节 试剂制备和性能	47
一、主试剂制备	47
二、试剂基本性能指标	48
第四节 G 试验操作程序	48
一、标本采集及保存	48
二、标本的检测	48
三、标准曲线制作	49
四、样本检测操作规程	51
五、注意事项	52
六、方法局限性	52
第五节 质量控制	53
一、基本条件	53
二、质控品	53
三、室内质控流程	53
第六节 G 试验的临床应用	56
一、1, 3- β -D-葡聚糖特点	56
二、临床意义	57
三、临床适应证	57

四、参考区间和诊断值	57
五、临床研究	58
第七节 使用中问题解答	61
第七章 微生物快速动态检测系统	69
第一节 检测原理及相关知识介绍	69
第二节 仪器设计原理及结构介绍	72
一、仪器设计原理	72
二、仪器基本结构	73
三、仪器性能指标	74
第三节 仪器使用方法及标准曲线制作	75
一、仪器操作流程	75
二、实验操作流程	77
三、标准曲线制作	77
四、注意事项	79
第四节 仪器的保养	80
第五节 仪器校准	81
一、校准目的	81
二、校准条件	81
三、校准周期	81
四、校准项目及方法	82
第八章 曲霉半乳甘露聚糖、念珠菌甘露聚糖、新型隐球菌荚膜多糖检测	89
第一节 半乳甘露聚糖检测 (GM 试验)	89
一、概述	89
二、检验方法	89
三、检测需用仪器	90
四、试剂	90
五、标准化操作规程	90
六、质量控制	96
七、产品性能指标	96
第二节 念珠菌甘露聚糖检测	98
一、概述	98
二、检验方法	98
三、检测需用仪器	98
四、试剂	98
五、标准化操作规程	98
六、质量控制	99
七、产品性能指标	100
第三节 新型隐球菌荚膜多糖检测	102
一、概述	102

二、检验方法	102
三、检测需用仪器	102
四、试剂	102
五、标准化操作规程	102
六、质量控制	103
七、产品性能指标	104
第九章 烟曲霉抗体和白念珠菌抗体检测	106
第一节 烟曲霉抗体检测	106
一、概述	106
二、检验方法	106
三、检测需用仪器	106
四、试剂	107
五、标准化操作规程	107
六、质量控制	108
七、产品性能指标	108
第二节 白念珠菌抗体检测	108
一、概述	108
二、检验方法	109
三、检测需用仪器	109
四、试剂	109
五、标准化操作规程	109
六、质量控制	110
七、产品性能指标	111
第十章 乳胶增强免疫比浊法在侵袭性真菌检测中的应用展望	112
第一节 胶乳颗粒增强比浊法简介	112
一、胶乳颗粒增强比浊法原理	112
二、胶乳颗粒增强比浊法的优势	112
三、胶乳颗粒增强比浊法的类型	113
三、胶乳颗粒增强比浊法常用的微球	114
四、抗体(抗原)与微球的结合方式	116
五、影响乳胶增强免疫比浊法检测结果的因素	119
第二节 胶乳颗粒增强比浊法在隐球菌荚膜多糖检测中的应用	119
第十一章 曲霉、念珠菌、隐球菌特异性抗原和抗体检测的临床应用	123
第一节 曲霉半乳甘露聚糖检测的临床应用	123
一、半乳甘露聚糖检测在侵袭性曲霉病早期诊断中的应用	123
二、半乳甘露聚糖检测在抗真菌治疗和预后中的应用	124
三、G 试验和 GM 试验联合检测可提高诊断阳性率	124
四、半乳甘露聚糖检测的局限性	125
第二节 念珠菌甘露聚糖检测的临床应用	125

第三节 新型隐球菌荚膜多糖检测的临床应用·····	126
第四节 白念珠菌抗体检测的临床应用·····	127
一、过去关于侵袭性真菌抗体检测的认识·····	127
二、对侵袭性念珠菌抗体检测的认识·····	127
三、念珠菌抗体检测的临床研究与应用·····	128
第五节 烟曲霉抗体检测的临床应用·····	130
第六节 隐球菌抗体检测的临床应用·····	131
第七节 侵袭性真菌特异性抗原和抗体联合检验的临床应用·····	131
第十二章 真菌核酸检验·····	136
一、原理·····	136
二、定性 PCR ·····	137
三、定量 PCR ·····	138
四、其他·····	139
五、方法学评价·····	141
第十三章 非培养技术在侵袭性真菌感染诊断中的地位·····	143
第一节 侵袭性真菌病诊断标准·····	143
第二节 分层诊断·····	148
第三节 临床思路·····	149
第十四章 真菌检验临床评价方法·····	153
第一节 以疾病为目标的临床评价方法·····	154
一、灵敏度和特异性评价·····	154
二、预测值·····	155
三、ROC 曲线（受试操作特征曲线）·····	157
四、诊断概率·····	157
第二节 以金标准或对比方法为目标的临床评价方法·····	159
一、定性试验的比对试验·····	159
二、定量试验的比对试验·····	160
第十五章 真菌非培养技术标准化问题·····	164
第一节 标准化概述·····	164
第二节 参考方法·····	165
一、参考方法研究技术路线·····	165
二、参考方法的初步试验·····	165
三、参考方法的溯源·····	165
第三节 量值溯源·····	166
第四节 标准品、校准品和质控品·····	168
一、标准品·····	168
二、校准品·····	168
三、质控品·····	169
第五节 体外诊断标准化其他问题·····	170

第一章 真菌概述

本章内容提示

真菌属于真核类生物，与人体细胞相同，具有典型的细胞核和功能复杂的细胞器。可以引起人体真菌感染的真菌主要有假丝酵母菌（亦称念珠菌）、曲霉、隐球菌、组织胞浆菌、毛霉、马尔尼菲青霉、镰刀菌和最近被认定属于真菌的卡氏肺孢子菌。形成菌丝和孢子是真菌的重要生物学特征，也是临床实验室诊断真菌病的主要依据。引起人类真菌感染，特别是深部感染的真菌分为条件致病性真菌和致病性真菌两种。最常见的假丝酵母菌和曲霉都属于条件致病菌，也就是说它们通常可定植在人体的某些部位，主要是与外界相通的呼吸道、消化道、生殖道，当机体免疫功能下降或出现菌群失调时引起感染。引起感染的机制与真菌的数量和毒力有关。而真菌的毒力又与真菌的芽管和菌丝的形成有重要关系。后者在真菌黏附和侵入人体组织细胞过程中发挥关键作用。

真菌在自然界中分布极为广泛，将近有 20 万种，大多对人无害，仅有 150 种可引起人和动物致病。很多真菌对人类是有益的，如面粉发酵，做酱油、醋、酒和霉豆腐等都要用真菌来发酵。工业上许多酶制剂、农业上的饲料发酵都离不开真菌。许多真菌还可食用，如蘑菇、银耳、香菇、木耳等。真菌还可作为药物，例如中药中的马勃、茯苓、冬虫夏草等。

第一节 真菌的定义和分类

一、真菌的定义

真菌是指有细胞壁、不含叶绿素、无根茎叶，以寄生或腐生方式生存，按有性或无性方式进行繁殖的真核细胞类微生物。

所谓真核细胞是具有典型的细胞结构，有明显的细胞核，清晰的核膜，还有执行不同生理功能的细胞器，如线粒体、质体及超微结构复杂的鞭毛等。

真菌由单细胞或多细胞组成，真菌细胞壁含有甲壳质和葡聚糖，具有扁平突起的线粒体，有呼吸作用，常有过氧化物体，有高尔基体，个别有小槽。大多数真菌无鞭毛，仅少数有鞭毛，但没有鞭茸毛。营养方式为吸收，无吞噬作用。营腐生、寄生、共生和超寄生生活。

二、真菌的分类

（一）生物学分类

按照生物学分类原则，生物分类有七个等级。分类的 7 个等级自上而下依次为界、门、纲、目、科、属和种。真菌属于真菌界，真菌主要的门是由其生殖结构上的特征来

分类的。一种分类方法将真菌分成七个门,即微孢子虫门、壶菌门、芽枝霉门、新丽鞭毛菌门、球囊菌门、子囊菌门及担子菌门^[1]。但是,实际上还有多种分类方式。主要原因是不同学者在考虑真菌的亲缘关系时,所采用的分类标准不同。一个理想的分类系统应该能正确反映真菌的自然亲缘关系和进化趋势。在目前众多分类系统中,还没有一个被世界公认确定合理的分类系统。在将多个分类系统加以比较之后,多数人认为安斯沃思和亚历克索普罗斯两人的系统较为全面,接近合理,又反映了新进展的内容,已被越来越多的人所接受。这个分类系统将真菌门分为5个亚门、18个纲、68个目。5个亚门分别为鞭毛菌亚门、接合菌亚门、子囊菌亚门、担子菌亚门和半知菌亚门。在上述5个亚门中,只有半知菌亚门、子囊菌亚门和接合菌亚门与真菌感染有关。近年来,根据卡氏肺囊虫的囊虫壁的超微结构类似真菌细胞被认定为真菌,将其命名为卡氏肺孢子菌。

现将与人体真菌感染有关真菌进行简要叙述。

1. 假丝酵母菌 亦称念珠菌 (*Candida albicans*) 属于子囊菌亚门中的酵母纲、酵母目、酵母科、假丝酵母菌属。有44个种,最常见的是白假丝酵母菌种。

2. 曲霉 (*Aspergillus*) 属于子囊菌门、散囊菌纲、散囊菌目、发菌科、曲霉属。其中烟曲霉、黄曲霉、黑曲霉、土曲霉、构巢曲霉、杂色曲霉、灰绿曲霉和棒曲霉可引起真菌感染。

3. 隐球菌 (*Cryptococcus*) 属于担子菌亚门中的银耳纲、银耳目、银耳科、隐球菌属。有17个种和7个变种,最常见的种是新型隐球菌。

4. 组织胞浆菌 (*Histoplasmosis*) 属于半知菌亚门、丝孢菌纲、丛梗孢目、丛梗孢科、组织胞浆菌属。有两个种:一个是荚膜组织胞浆菌,另一个是组织胞浆菌。

5. 毛霉菌 (*Mucor*) 属于接合菌亚门、接合菌纲、毛霉目、毛霉科、毛霉属。有40种,其中根霉属、梨头霉属、毛霉属和根毛霉属是引起毛霉病的主要毛霉菌。

6. 马尔尼菲青霉 (*Penicillium marneffei*) 属于半知菌亚门、丝孢菌纲、丛梗孢目、丛梗孢科、青霉属。是青霉菌中唯一的呈温度双相型的致病菌。

7. 镰刀菌 (*Fusarium*) 无性时期原属于半知菌亚门、丝孢菌纲、丛孢菌目、瘤座孢科。有50多种。有性时期为子囊菌亚门。其中主要致病菌种有茄病镰刀菌、串珠镰刀菌和尖孢镰刀菌。

8. 卡氏肺孢子菌 (*Pneumocystis carinii bacteria*) 过去认为属原虫,现根据形态学和分子遗传学分析证实属于真菌。16SrRNA的保守区与子囊菌纲相似,而5SrRNA与接合菌纲相似。卡氏肺孢子菌的生物学特性与一般真菌有些不同,可分几个阶段:最初为营养型,呈单核的孢子囊(4~5 μ m),成熟的孢子囊(5.0 μ m)内含8个球状、卵圆状或梭状孢子,孢子囊成熟后破裂,释放出其中的孢子。卡氏肺孢子菌广泛分布于自然界,可引起健康人的亚临床感染。但对一些先天免疫缺陷或因各种原因受到免疫抑制的患者,可引起卡氏肺孢子菌肺炎(pneumocystis pneumonia, PCP)。

(二) 按细胞形态和生长方式分类

真菌按形态可分为单细胞和多细胞两大类。

1. 酵母菌 (yeast) 属于单细胞真菌,包括酵母菌和类酵母菌两类。目前已知有1000多种。它们以出芽方式繁殖,但是酵母菌不产生菌丝。类酵母菌通过母细胞长出

芽体繁殖,并延长成芽体,称为假菌丝。假菌丝联接在一起,称为假菌丝体。类酵母菌菌落形态和酵母型真菌的菌落基本相似,不同的是可有假菌丝伸进培养基内,故又称为假丝酵母菌。酵母菌生殖方式有有性生殖和无性生殖两种。假丝酵母菌(或称念珠菌)不能进行有性生殖。酵母菌中对人致病的主要是白假丝酵母菌和新型隐球菌等。但是目前非白念珠菌的念珠菌引起的疾病在日渐增加。

2. 霉菌(mould) 或称为丝状真菌(filamentous fungi)属于多细胞真菌,有菌丝和孢子。菌丝伸长分枝,交织成团,在营养基质上形成绒毛状、棉絮状或蜘蛛网形丝状菌体。霉菌的菌丝呈长管、分枝状,无横隔壁,具有多个细胞核,并会聚成菌丝体。霉菌的种类很多,有45000种以上。常见的霉菌有曲霉、根霉、毛霉、脉孢菌和青霉。

3. 双相真菌(dimorphic fungi) 在不同的温度条件下可产生不同的形态学特征,如在人体内部寄生或在37℃条件下产生酵母菌形态,而在室温条件下则产生霉菌形态(菌丝相)。主要包括几种致病菌:皮炎芽生菌、荚膜组织胞浆菌、巴西副球孢子菌、粗球孢子菌、申克孢子丝菌、马内菲青霉等。

(三) DYMD 系统

真菌按其所致疾病的症状和体征进行分类,即为DYMD系统。这一分类模式已得到公认,是以组织发生学、生理学及形态学特征为基础,将真菌分类为念珠菌(假丝酵母菌)和丝状真菌两大类。又进一步按其组织亲和性分别将它们分为皮肤真菌和深部真菌。

第二节 真菌的生物学特征和致病性

一、真菌生物学特征

真菌比细菌大几倍或几十倍,结构也比细菌复杂。真菌细胞壁较细菌厚,约占细胞干重的30%。但真菌细胞壁缺乏黏肽,而由结构不同的多糖如葡聚糖、甘露糖、几丁质及脱乙酰壳多糖等组成。有的还含有蛋白质及类脂体。真菌细胞内微细结构与高等植物细胞基本相似,有较为典型的核结构和细胞器。

真菌可分单细胞和多细胞两类。单细胞真菌呈圆形或卵圆形,如酵母菌、白假丝酵母菌、新型隐球菌。单细胞真菌以出芽方式繁殖,芽生孢子成熟后脱落成独立个体。多细胞真菌由孢子出芽繁殖形成。大多长出菌丝和孢子,称丝状菌,又称霉菌。各种丝状菌长出的菌丝与孢子形态不同,是鉴别真菌的重要标志。

1. 菌丝 孢子长出芽管,逐渐延长呈丝状,称菌丝。菌丝延伸分枝,交织成团,称菌丝体。菌丝体按功能可分为:①营养菌丝体;②气生菌丝体,其中产生孢子的则称为生殖菌丝体。

2. 孢子 孢子是真菌的繁殖器官,一条菌丝上可长出多个孢子。真菌孢子与细菌芽胞不同。真菌孢子:抵抗力不强,60~70℃短时间即死,一条菌丝上可长出多个孢子,是一种繁殖方式。细菌芽胞:抵抗力强,煮沸时间短不能被杀死,一个细菌只产生一个芽胞,不是一种繁殖方式。大多数致病性真菌为有隔菌丝,无性孢子。

二、真菌致病性

对人体致病的真菌分为四类，即病原性真菌、条件性真菌、产毒真菌和致癌真菌。这里主要讨论病原性真菌和条件性真菌的致病性。

(一) 真菌致病性和免疫性

病原性真菌的致病性机制尚未明了。引起皮肤真菌病的真菌可能有一种嗜角质的特性，侵入皮肤后在局部顽强生长繁殖。一方面有机械性刺激作用，另一方面在其繁殖过程中产生的酶（如丝氨酸脂酶、磷脂酶 B）和酸性产物，可引起炎症反应和细胞组织病变。侵害深部组织（包括皮下组织）和内脏的真菌，大多不具有似角质性，但往往引起慢性肉芽肿样炎症溃疡和坏死。

真菌感染受到机体生理状态的影响，例如婴幼儿易患发癣。引起深部感染的真菌除少数为真正的寄生菌外，多数是存在于自然界的腐生菌。当机体免疫功能低下时，如癌症、全身消耗性疾病或严重创伤和烧伤时，真菌乘机侵入机体内引起脏器的真菌感染。肾上腺皮质激素和免疫抑制药物使用，使条件致病性真菌引起的感染已经很常见。此外，一些真菌感染还与肿瘤的发生有关。

机体对真菌感染的重要防御机制是细胞免疫。有些真菌感染后可引起Ⅳ型变态反应。多数真菌的孢子或其他真菌成分，具有变应原性，进入机体后可引起病理性免疫反应，临床上的癣菌疹、过敏性哮喘和过敏性肺炎等疾病就是证明。

下面分别介绍白念珠菌、曲霉和隐球菌的致病性。

(二) 白念珠菌的致病性

白念珠菌（又称白假丝酵母菌）的致病性主要与其黏附能力、受体、形态转换、胞外酶等有关。

白假丝酵母菌常定植在人的口腔、上呼吸道、肠道和阴道黏膜上。当机体抵抗力下降或存在菌群失调的情况下，便可侵入机体。白假丝酵母菌属于条件致病菌，它对人体的致病性是通过多种机制参与的^[2]。

1. 黏附力 白假丝酵母菌致病的首要条件是其黏附性。白假丝酵母菌主要通过细胞壁上甘露聚糖（Mn）或甘露聚糖-蛋白质复合物（M-P）与宿主细胞表面受体相互作用实现与人体组织细胞的黏附。黏附能力强的白假丝酵母菌有较高的疏水性，较亲水性白假丝酵母菌黏附的细胞范围广泛。黏附力是念珠菌黏膜定植和入侵机体的重要环节。没有附着能力的念珠菌不会致病。

2. 入侵 白假丝酵母菌黏附于上皮细胞后，菌体出芽形成菌丝和芽管。菌丝的形成是白假丝酵母菌有效获取营养的方式。同样芽管的形成增加了白假丝酵母菌附着于上皮细胞的能力。芽管及菌丝体的形成，助长了上皮组织的侵害。白假丝酵母菌附着后发芽是发病的基础。若增加或助长发芽的内源性或外源性因素，可以加速炎症的发生。相反，若抑制假丝酵母菌附着后发芽，则可抑制炎症的发生。菌丝能沿皮肤黏膜的沟隙生长，借助机械力穿过表皮或上皮细胞再行繁殖。菌丝在皮肤黏膜感染和播散性感染中都是假丝酵母菌毒力的重要组成部分。

3. 毒素和酶的作用 白假丝酵母菌能分泌多种蛋白水解酶，如碱性磷酸酶、磷脂酶及分泌型门冬酰胺蛋白酶等。各种酶有助于芽管穿透到完整的黏膜上皮细胞，引起组

织损伤,更有利于真菌进一步的侵入。

4. 形态转换 白假丝酵母菌能以三种形态生长,即菌体形态、假菌丝形态及真菌丝形态。假菌丝形态可产生芽管特异性抗原,此抗原能明显增强其黏附性,能阻止中性粒细胞的吞噬杀伤作用。白假丝酵母菌被吞噬后,在吞噬细胞内仍能生成芽管并长出菌丝,穿透宿主细胞膜。实验表明,以菌丝形态生长的菌株具有更强的致病性。促有丝分裂原活化的蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)信号转导途径是白念珠菌形态转换过程的途径之一。cAMP 途径也影响白念珠菌的形态转换。此外,尚有其他途径,如 *tup1* 基因、*CRK1* 基因、*PHR1* 基因,与白念珠菌的形态转换有关,对白念珠菌的形态变化调控机制的研究正在不断深入。

5. 免疫性炎症 致病性白假丝酵母菌细胞壁上有 C3b 和 iC3b 受体,非致病性白假丝酵母菌则无此受体。白假丝酵母菌菌体成分可激活补体旁路途径,产生补体趋化因子和过敏毒素,致局部血管扩张,通透性增高,局部水肿和炎性细胞浸润。吞噬细胞在局部聚集,并吞噬真菌,同时释放溶酶体酶类,致局部组织损伤。但是上皮细胞在接受白假丝酵母菌的程度上却存在着相当大的人与人之间的个体差异。

总之,白假丝酵母菌致病机制的关键问题是无症状的定植是如何转变为感染状态的。在无症状的带菌状态下,白假丝酵母菌主要呈非菌丝状态,细菌数量相对较少,在此情况下,白假丝酵母菌与机体局部防御机制之间保持巧妙的平衡。当存在使假丝酵母菌毒性增强的因素或局部防御机制减弱时,就会发生感染,产生致病性。

(三) 曲霉的致病性

曲霉已成为临床上仅次于白假丝酵母菌的一种重要的条件致病真菌,其某些成分或毒素可直接造成机体损害,或降低机体防御能力而有利于曲霉感染或扩散,即侵袭性曲霉病。曲霉致病与分泌某些致病因子有关^[3]。例如烟曲霉可产生烟曲霉素(fumagillin)、黏帚霉毒素(gliotoxin)和烟曲霉酸(helvolic acid)以及内毒素、C 物质等。上述这些毒性物质,可通过抑制免疫反应或破坏局部组织,促进真菌生长繁殖。烟曲霉还产生多种细胞外酶,包括核酶、磷酸酶、肽酶和蛋白酶。这些酶可以降解大分子物质,为真菌生长提供营养。其中蛋白酶研究较为深入。临床病变部位分离出的烟曲霉所产生的蛋白酶活性,比非病变部位烟曲霉产生的蛋白酶活性要强,说明不同菌株侵袭力差别与烟曲霉蛋白溶解作用强弱有关。烟曲霉所产生蛋白酶可以促进真菌对宿主组织黏附及穿透。

(四) 隐球菌的致病性

新型隐球菌感染可能初发于机体吸入孢子。感染初期,大多数新型隐球菌对非活化的吞噬细胞有一定抗吞噬性,荚膜合成是一种主要的抵抗吞噬的保护机制。此外,细胞介导的免疫力直接参与宿主的防御反应。对免疫缺陷的宿主,隐球菌可以有效地逃逸防御反应,引发播散感染。

主要参考文献

1. 邢来君,李明春,魏东盛.普通真菌学.2版.北京:高等教育出版社,2010.
2. 任南,文细毛,王洁如.白念珠菌致病机制的研究进展.中国感染控制杂志,2003,02:157-158.
3. 王丽.烟曲霉基因组与致病机制.中国真菌学杂志,2011,6(1):1-2.

(左大鹏)

第二章 感染性真菌

本章内容提示

感染性真菌分为浅部感染性真菌和深部感染性真菌，前者主要引起皮肤、黏膜的真菌感染；后者引起皮下组织和体内器官的感染，常威胁患者生命。深部感染性真菌中的念珠菌（假丝酵母菌）、曲霉、毛霉、卡氏肺孢子菌和镰刀菌为条件致病真菌，而隐球菌、组织胞浆菌和马尔尼菲青霉属于病原性真菌。除卡氏肺孢子菌主要发生在人类免疫缺陷病毒（HIV）感染和艾滋病患者，引起卡氏肺孢子菌肺炎外，其他深部感染性真菌可引起全身各器官组织感染，其中以真菌性血液感染和肺炎最为常见。隐球菌除了可以引起真菌性脑膜炎外，也可引起肺炎及其他器官的感染。

第一节 浅部感染真菌

从临床角度，感染性真菌可为浅部感染真菌和深部感染真菌。浅部感染真菌主要侵犯皮肤、黏膜，一般不侵犯皮下组织和内脏。最常见的是皮肤真菌病。

皮肤真菌病，又称为皮肤癣菌病，是由皮肤癣菌或称为皮肤丝状菌引起的一组皮肤病。

皮肤癣菌有 40 余种，侵犯人类的有 20 多种。根据形态和培养特征，可分为三个菌属，即毛癣菌属、小孢子菌属和表皮癣菌属，主要侵害部位见表 2-1。根据感染皮肤部位的不同分别称为体癣、股癣、手足癣和面癣。感染毛发称为头癣，感染指（趾）甲称为甲癣。

表 2-1 皮肤癣菌的分类及主要形态特征

属名	菌种数目	侵害部位		
		皮肤	指（趾）甲	毛发
毛癣菌属	20 种（对人致病有 9 种）	++	++	+
小孢子菌属	15 种（对人致病有 6 种）	+	—	+
表皮癣菌属	1 种	+	+	—

念珠菌（又称假丝酵母菌）广泛存在于自然界及正常人的口腔、消化道、上呼吸道、阴道和皮肤，在正常情况下，该菌与人体处于共生状态，是最常见的条件致病性真菌。皮肤感染可表现为指（趾）间糜烂、念珠菌性间擦疹、念珠菌性尿布皮炎、丘疹性念珠菌病、念珠菌性甲沟炎等。黏膜感染主要表现为鹅口疮、生殖器念珠菌病等。

第二节 深部感染真菌

深部感染真菌是指能侵害人体内脏、皮下组织和引起全身感染的真菌，其中包括一部分条件致病性真菌。由这类真菌引起的感染统称为深部真菌病或侵袭性真菌感染。其致病特点为慢性肉芽肿样炎症、溃疡及坏死。下面就引起深部真菌感染的真菌分别做一个简单的介绍。

一、念珠菌

念珠菌(假丝酵母菌)属有 81 个种,其中 11 种对人有致病性。如白念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌、光滑念珠菌、近平滑念珠菌、星形念珠菌、克菲念珠菌、季也蒙念珠菌、维斯念珠菌、葡萄牙念珠菌、都柏林念珠菌等。

念珠菌属是机会性真菌或条件致病性真菌中最常见的真菌,其所致真菌感染在侵袭性真菌病(invasive fungal disease, IFD)中占首位^[1]。侵袭性念珠菌血液感染(BSI)占医院获得性 BSI 中的第 4 位,其粗病死率可高达 39.2% (在 ICU 为 47.1%)^[2]。根据中国医院侵袭性真菌监测网(CHIF-NET)2010 年发布的信息^[3],从血液培养中分离出的 347 株真菌中,念珠菌占了 91%,其中近平滑念珠菌 30%,白念珠菌 21%,光滑念珠菌 17%,热带念珠菌 14%,其次是葡萄牙念珠菌 2%,季也蒙念珠菌 2%,克柔念珠菌 1%。而在引流液培养分离的真菌 112 株中,念珠菌占 98%,其中白假丝酵母菌占 56%。

白念珠菌可定植于人的口腔、上呼吸道、消化道和阴道黏膜,主要引起鹅口疮、阴道炎、肠炎、肺炎、膀胱炎、肾盂肾炎、脑炎、心内膜炎以及播散性感染。

热带念珠菌在自然界、人体表及与外界相通的腔道广泛存在,除在黏膜细胞表面增殖外,还产生毒素引起过敏反应,产生水解酶类引起组织损害,主要引起肺炎、菌血症等。

二、曲霉

广泛存在于自然界,土壤、腐败有机物、粮食和饲料中常存在。人体体表和黏膜也可定植。有 900 余种,分 8 个群,具有致病性的主要是烟曲霉、黄曲霉、黑曲霉、土曲霉、构巢曲霉、杂色曲霉、灰绿曲霉和棒曲霉。

曲霉是条件致病菌,人体对其有较强免疫力。但当机体免疫力下降时,如粒细胞缺乏或 HIV 感染,可侵犯肺、甚至播散全身各系统。呼吸系统曲霉病主要有 3 种,即过敏型、曲霉球(又称继发性非侵袭性肺曲霉病)和肺炎型。曲霉引起的败血症在粒细胞缺乏患者常见。

曲霉可产生毒素,可引起食物中毒,黄曲霉毒素、杂色曲霉毒素有致癌作用,前者与肝癌有关。不同曲霉引起的临床疾病见表 2-2。