

真菌病研究进展

主编 廖万清 吴绍熙



ZHENJUNBING
YANJIU
JINZHAN



第二军医大学出版社

真菌病研究进展

主编 廖万清 吴绍熙

编委 郭宁如 毛玲娥 温海 秦立模

李志刚 陈江汉 姚志荣 洪微

吴建华 顾菊林 刘晓刚 潘炜华

第二军医大学出版社

内 容 提 要

本书比较详细地展示了国内、外真菌研究及其感染防治研究的最新成就和进展。主要内容包
括:致病真菌的动态流行病学、真菌的检测技术与鉴定方法、抗真菌药物的研制、真菌感染与抗感
染的研究和各种真菌病的诊断、防治研究进展,以及现代分子生物学技术在医学真菌学中的应用。

本书可供医药院校师生和临床医师参考,对从事真菌学研究的工作者也有一定参考价值。

真 菌 病 研 究 进 展

主 编:廖万清 吴绍熙

责任编辑:李春德 胡加飞 朱吉林

第二军医大学出版社出版

(上海翔殷路 800 号 邮编:200433)

新华书店上海发行所发行

第二军医大学出版社排版 上海长阳印刷厂印刷

开本:787×1092 1/16 印张:10.75 字数:260 520

1998 年 6 月第 1 版 1998 年 6 月第 1 次印刷

印数:1~2 000

ISBN 7-81060-013-3/R·012

定价:22.00 元

前 言

真菌具有真核,能产生孢子,不含叶绿素,以寄生或腐生等方式取得养料,仅少数类群为单细胞,其他都为分支或不分支的丝状体,能进行有性或无性繁殖,是具有纤维质或壳质的细胞壁的一类生物。其种类繁多,广泛分布于自然界,从海洋到天空,从地球两极到热带均能查到真菌的活动。据目前记载,世界上有 12 万种以上,而在我国约有 4 万种,其中大部分对人类直接或间接有益,但有少数属种对人类有害。据 WHO 统计,现在已知能引起人类疾病的真菌约有 270 余种,其引起疾病的表现形式多种多样,浅部真菌可侵犯毛发、指(趾)甲及光滑皮肤,而深部真菌则可以侵袭心、肝、脾、肺、肾、脑、血液、胃肠、骨骼等各个器官和系统,而且预后严重,死亡率高。特别是由于种种原因引起机体抵抗力降低的病人容易发生真菌感染,如长期应用激素、广谱抗生素、免疫抑制剂,以及烧伤、器官移植、艾滋病病人等,因而真菌感染引起世界各国临床医务工作者的高度重视。

医学真菌及临床真菌病学是一门实践性很强的学科,它涉及面广,内容丰富。随着现代科学技术,特别是分子生物学的迅速发展和新技术的不断渗透,真菌及真菌病学的研究取得了长足进展,产生了许多新的诊断技术、新的药物以及新的治疗手段和方法。

这里我们邀请了中国医学科学院皮肤病研究所、上海第二医科大学瑞金医院皮肤科、上海第一医科大学中山医院皮肤科,以及第二军医大学长征医院皮肤科有关专家、教授和从事真菌病学实际工作的医师,编写了这本《真菌病研究进展》,旨在帮助临床医务工作者认识真菌病,了解当前国内外研究的现状、动态和某些进展,为推动我国医学真菌学的发展尽一份力量。但由于编者水平所限,错误之处在所难免,希望广大读者提出宝贵意见。

第二军医大学长征医院皮肤科
中国医学真菌保藏管理中心隐球菌专业实验室

廖万清

1998 年 6 月 8 日

目 录

中国致病真菌流行病学动态研究·····	1
深部真菌病的免疫学检测进展·····	11
抗真菌药的研究进展·····	15
抗真菌药物与其他药物间相互作用及其作用机制·····	20
真菌感染研究的最新进展	
——第四届国际侵袭性真菌趋势研讨会概要·····	27
抗真菌感染治疗的新进展	
——第二十届国际化学治疗会议抗真菌感染治疗进展·····	31
浅部真菌病·····	35
甲真菌病的病理学诊断及进展·····	55
孢子丝菌病·····	59
酵母菌的特征和鉴定·····	63
念珠菌病·····	80
隐球菌病·····	95
曲霉病·····	105
青霉病·····	113
毛霉病·····	116
组织胞浆菌病·····	120
着色真菌病·····	124
放线菌病·····	129
AIDS 与真菌病·····	135
常见真菌病标本检验技术·····	138
现代分子生物学技术在医学真菌学研究中的应用·····	149
现代分子生物学技术在医学真菌学中应用的研究展望·····	160

中国致病真菌流行病学动态研究

1986年我们曾在全国25个省、市、自治区有代表性的41个单位,对临床、门诊、病房和现场确诊是真菌病的患者进行致病真菌的调查研究,共分析9139株致病真菌。1996年,我们又在全国范围(包括我国台湾省)进行致病真菌调查研究,现将其动态结果和分析报告如下。

一、调查方法

我们按中国菌种目录及有关参考书为标准制定表格,在全国25个省、市、自治区有代表性的单位,对临床及现场确诊为真菌病的患者进行致病真菌的调查研究。1986年共分离得真菌菌种9139株,1996年共分离得真菌菌种18085株,并对此作10年流行病学动态分析。

1. 菌种来源

所有致病真菌菌种均分离自临床或现场确诊为真菌病的患者,当常规直接“KOH”涂片显微镜检查找到真菌菌体后,再进行培养检查。

2. 培养基

(1) 改良沙氏葡萄糖蛋白胨琼脂(g):葡萄糖20、蛋白胨10、琼脂18、蒸馏水1000 ml,高压灭菌10 min,加氯霉素0.05 mg/ml。另一种还加放线菌酮0.5 mg/ml后,分装试管备作常规培养用。

(2) 米粉吐温₈₀琼脂(g):米粉10、琼脂18、吐温₈₀10 ml、蒸馏水1000 ml,高压灭菌10 min,此种培养基主要用于念珠菌的鉴定。

(3) 察氏琼脂(g):蔗糖或葡萄糖80、NaNO₃3、MgSO₄·7H₂O0.5、KCl0.5、FeSO₄·4H₂O0.01、K₂HPO₄1、琼脂13、蒸馏水1000 ml,此种培养基主要用于青霉、曲霉鉴定。

(4) 卵形/圆形糠秕孢子菌培养基(g):葡萄糖40、蛋白胨10、酵母浸膏0.1、琼脂18、单硬脂酸甘油酯25、吐温₈₀10、氯霉素0.05、蒸馏水1000 ml,橄榄油或其他植物油40 ml,加热混匀,分装试管,121℃,高压灭菌15 min,制成斜面,此种培养基主要用于卵形/圆形糠秕孢子菌培养鉴定。

3. 鉴定方法和标准

上述培养基上分离到的真菌纯培养物,一些菌需几次分离培养得纯菌种,小培养和玻璃片培养观察宏观和微观结构,再按中国菌种目录及Campbell等的医学真菌手册,Hoogs等编写的临床真菌学图谱等描写的情况进行鉴定。各菌种均尽量鉴定到属、种。

二、调查结果

在全国25个省、市、自治区有代表性的41个单位,共分离培养出9139(1986年)株及18085(1996年)株致病真菌,其分布情况及各大区排列次序如表1~4,其前10名排列次序分布如图1。

表 1 1986 年中国致病真菌分布情况

菌名	华东沪苏		华中鄂湘豫		华南粤桂		西南川贵滇		华北京津 晋冀蒙		东北辽吉黑		西北陕青新		总计(Total)	
	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%
1 红色毛癣菌	1 045	44.5	292	53.6	43	10.1	980	63.8	793	49.1	899	60.7	98	8.2	4 150	45.4
2 石膏样毛癣菌	632	26.9	127	23.3	80	20.1	263	17.1	291	18.0	214	14.5	137	11.4	1 744	19.1
3 许兰毛癣菌	26	1.1	2	0.4			8	0.5	13	0.8	3	0.2	148	12.4	200	2.2
4 紫色毛癣菌	70	3.0	14	2.6	5	2.1	9	0.6	3	0.2	6	0.4	476	39.7	583	6.4
5 断发毛癣菌	58	2.6	22	4.0	12	2.8	4	0.3	8	0.6	3	0.2	49	4.1	156	1.7
6 同心性毛癣菌	3	0.1	1	0.2											4	
7 玫瑰色毛癣菌	1										1				2	
8 疣状毛癣菌	5	0.2													5	
9 大脑状毛癣菌	2	0.1	1												3	
10 铁锈色小孢子菌			1	0.2			3	0.2	7	0.4	5	0.3	195	16.2	200	2.2
11 犬(羊毛样)小孢子菌	55	2.3	2	0.4	47	11.1	36	2.4	223	13.8	59	4.0			422	4.6
12 石膏样小孢子菌	19	0.7	3	0.6	4	1.0	25	1.4	26	1.6			62	5.2	139	1.5
13 絮状表皮癣菌	102	4.3	14	2.6	9	2.1	46	2.9	38	2.8			7	0.9	262	2.8
14 卵形/圆形糠秕孢子菌	160	6.8	3	0.6	176	41.6	10	0.7	59	3.7	151	10.2	21	1.8	580	6.3
15 白念珠菌	148	6.3	43	7.9			123	0.8	94	5.8	49	3.3	4	0.3	461	5
16 念珠菌种	5	0.2	9	1.7	27	6.4	20	1.3	33	2.0	19	1.3			113	1.2
17 猪小孢子菌	1			1.0											2	
18 中克孢子丝菌			7	1.3			12	0.8	7	0.4	19	1.3			45	0.5
19 卡氏支孢霉			11	2.6					5	0.3					16	0.2
20 裴氏着色菌									1						1	
21 疣状瓶霉											1				1	
22 酵母菌	13	0.6							4	0.3	10	0.7			27	0.3
23 青霉菌种					1						4				5	
24 镰刀菌种	1										1				2	
25 暗色真菌种			1						1						2	
26 新生隐球菌			2			1									3	
27 新月弯孢霉					1										1	
总计(Total)	2 346		547		415		1 539		1 614		1 481		1 197		9 139	

表 2 1996 年中国致病真菌分布情况

菌 名	华东(EC)		华中(MC)		华南(SC)		华北(NC)		东北(NEC)		西北(NWC)		西南(SWC)		台湾(TW)		合计(Total)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
1 红色毛癣菌	1 447	27.0	325	32.5	95	43.6	1 474	36.7	1 516	58.3	258	18.8	1 134	52.8	4	0.3	6 253	34.5
2 须癣样毛癣菌	714	13.8	57	6.8	15	6.9	360	6.8	347	13.3	408	29.7	162	4.2	8	0.5	1 911	10.6
3 许兰毛癣菌	7		2	0.3					6	0.4							15	
4 紫色毛癣菌	34	0.6	12	1.8	1	0.5	2		4	0.3					4	0.3	57	0.3
5 断发毛癣菌	21				1	0.5	13	0.3	8	0.3	6	0.2	1		28	1.8	86	0.5
6 同心性毛癣菌	1		1														2	
7 玫瑰色癣菌	16	0.3	1												17	0.1	34	
8 疣状毛癣菌	5		1				5		5	0.4	3	0.2			21	1.4	47	0.2
9 大脑状毛癣菌					9	0.2					1						10	
10 地球毛癣菌															4	0.3	4	
11 毛癣菌种															75	4.9	75	0.4
12 铁锈色小孢子菌							1		2	0.1	18	1.3					23	
13 犬(羊毛样)小孢子菌	55	1.0	11	1.3	11	5.0	147	3.7	106	4.3	191	13.9	79	3.7	6	0.4	606	3.4
14 石膏样小孢子菌	15	0.2	9	1.1	2	0.9	3		5	0.3	20	1.5	4		1	0.1	52	0.2
15 鸡禽类小孢子菌			1														1	
16 柯克小孢子菌															1	0.1	1	
17 猪小孢子菌	1						1		3	0.2					4		9	
18 小孢子菌种															1	0.1	1	
19 絮状表皮癣菌	48	0.9	8	0.9	1	0.5	26	0.6	42	1.6	74	5.4	24	1.1			223	1.2
20 卵/圆形糠秕孢子菌	89	1.7	8	0.9	43	19.7	199	5.0	55	0.2	192	14.0					741	4.1
21 白念珠菌	1 638	30.5	123	14.7	32	14.7	696	17.3	189	7.4	111	8.1	529	24.6	221	14.5	3 539	19.6
22 热带念珠菌	45	0.8					36	0.9							60	3.9	141	0.8

续表 2

菌名	华东(EC)		华中(MC)		华南(SC)		华北(NC)		东北(NEC)		西北(NWC)		西南(SWC)		台湾(TW)		合计(Total)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
23 近平滑念珠菌	65	1.2					33	0.6					1		185	12.1	274	1.6
24 克柔念珠菌	72	1.3					10	0.3							3	0.2	91	0.5
25 土生念珠菌	3														2	0.1	5	
26 郎比可念珠菌	1																1	
27 星形念珠菌							16	0.5									16	0.1
28 光滑念珠菌	66	1.3					3	0.7							80	5.2	158	0.6
29 葡萄牙念珠菌							23	0.6							1	0.1	24	0.2
30 皱落念珠菌							2								1	0.1	3	
31 季也蒙念珠菌	21	0.3					17	0.3							29	1.7	57	0.4
32 平常念珠菌							6										6	
33 无名念珠菌															27	1.8	27	0.2
34 颈状念珠菌															2	0.1	2	
35 清酒念珠菌															4	0.3	4	
36 菌膜念珠菌															5	0.3	5	
37 间型念珠菌															3	0.2	3	
38 醭膜念珠菌															3	0.2	3	
39 解脂念珠菌															3	0.2	4	
40 链状念珠菌															1	0.1	1	
41 念珠菌种	373	7.0	212	25.3	1	0.5	380	9.5	187	7.3	16	1.2	31	1.4	4	0.3	990	5.6
42 申克孢子丝菌	37	0.7	7	0.8	15	6.9	22	0.6	70	1.7	12	0.9	44	4.1	7	0.5	214	1.2
43 红酵母	18	0.3													142	9.3	162	0.9
44 丝孢酵母	46	0.6															46	0.3

续表 2

菌 名	华东(EC)		华中(MC)		华南(SC)		华北(NC)		东北(NEC)		西北(NWC)		西南(SWC)		台湾(TW)		合计(Total)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
45 啤酒酵母															1		1	
46 酵母菌	286	5.3	34	4.2			342	8.5	40	1.6	37	2.7					760	4.2
47 新生隐球菌	32	0.6	3				3						4	0.4	15	1.0	57	0.3
48 浅白隐球菌															19	1.2	19	0.1
49 指甲隐球菌															2	0.1	2	
50 罗伦隐球菌															6	0.4	6	
51 隐球菌种															2		2	
52 埃切毕赤酵母															8	0.5	8	
53 奥默毕赤酵母															2		2	
54 青霉菌	57	1.1					102	3.5			13	0.9	10	0.5	74	4.9	256	1.4
55 马内菲青霉					1	0.5											1	
56 曲霉种	74	1.5					76	1.9			3						155	0.9
57 黑曲霉	7	0.1					2	1.0							14	0.9	20	0.1
58 烟曲霉	6	0.2							1						5	0.3	30	0.2
59 灰绿曲霉															27	1.8	27	0.1
60 黄曲霉	15														33	2.2	48	0.3
61 构巢曲霉	1																1	
62 土曲霉															4	0.3	4	
63 杂色曲霉															3	0.2	3	
64 棒曲霉 A															2	0.1	2	
65 毛霉种	10	0.3					6										16	
66 根霉种	5	0.1					10								4	0.3	19	0.1

续表 2

菌 名	华东(EC)		华中(MC)		华南(SC)		华北(NC)		东北(NEC)		西北(NWC)		西南(SWC)		台湾(TW)		合计(Total)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
67 黑根霉	1																1	
68 裴氏着色真菌	3				1				1						38	2.5	43	0.3
69 卡氏支孢霉					5										2	0.1	7	
70 疣状瓶霉					2						1						3	
71 紧密瓶霉															4	0.3	4	
72 瓶霉种	1														5	0.3	6	
73 丰塞卡种															4	0.3	4	
74 外瓶霉种							1										1	
75 甄氏外瓶霉															6	0.4	6	
76 暗色真菌种	1				11				2								14	
77 帚霉种					1										2	0.1	2	
78 短帚霉	3		1		1								1				6	
79 弯孢霉种															2	0.2	2	
80 新月弯孢霉	1				1				1								3	
81 镰刀菌种	7	0.1													3	0.2	18	0.1
82 链互隔菌	10	0.1			5				1		2						18	0.1
83 腐皮镰刀菌															27	1.8	27	0.2
84 串珠镰刀菌															2	0.1	2	
85 顶孢头孢菌种	3				1										3	0.2	7	
86 球毛壳孢					5												5	
87 虫孢子菌种	3																3	
88 藻菌种					3												3	

续表 2

菌 名	华东(EC)		华中(MC)		华南(SC)		华北(NC)		东北(NEC)		西北(NWC)		西南(SWC)		台湾(TW)		合计(Total)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
89 皮毛孢子菌															166	10.9	168	0.9
90 马杜拉菌种															15	1.0	15	0.1
91 足菌肿马杜拉菌															1	0.1	1	
92 交链孢霉种															9	0.1	9	
93 附球菌种																	1	
94 尖端赛多孢子			1														1	
95 地霉种			6	0.9													6	
96 德氏菌种															4	0.3	19	
97 霉样菌			15	1.8											4	0.3	4	
98 拟青霉种															4	0.3	4	
99 波氏足菌肿霉															3	0.2	3	
100 支孢霉种															44	2.9	44	0.3
101 毛壳菌种															3	0.2	3	
102 茎点霉种															2	0.1	2	
103 接合酵母种															2	0.2	2	
104 金孢子菌种															1	0.1	1	
105 灰色小克银汉霉															1	0.1	1	
106 柱顶孢霉种															1	0.1	1	
107 瘤孢菌种															1	0.1	1	
108 单隔孢种															1	0.1	1	
合计(Total)	5 370		838		218		4 013		2 599		1 374		2 148		1 525		18 085	

表3 1986年与1996年中国前10位致病菌分布情况

序号	年度	华东	华中	华南	华北	东北	西北	西南	台湾
1	86	红毛	红毛	糠秕	红毛	红毛	紫毛	红毛	
	96	白念	红毛	红毛	红毛	红毛	须毛	红毛	白念
2	86	须毛	须毛	须毛	须毛	须毛	铁小	须毛	
	96	红毛	念珠菌种	糠秕	白念	石毛	红毛	白念	近平滑
3	86	糠秕	白念	犬小	犬小	糠秕	许黄	絮表	
	96	须毛	白念	白念	念珠菌种	白念	糠秕	糠秕	犬小
4	86	白念	断毛	红毛	白念	犬小	须毛	糠秕	
	96	念珠菌种	须毛	须毛	酵母菌	念珠菌种	犬小	石毛丝菌	红酵母
5	86	絮表	絮表	念珠菌种	糠秕	白念	红毛	石小	
	96	酵母菌	酵母菌	孢子丝菌	须毛	孢子丝菌	白念	犬小	光滑球拟酵母
6	86	紫毛	紫毛	断毛	絮表	絮表	石小	白念	
	96	糠秕	紫毛	犬小	犬小	糠秕	絮表	孢子丝菌	毛癣菌种
7	86	断毛	念珠菌属	卡氏支孢霉	念珠菌种	念珠菌种	断毛	孢子丝菌	
	96	克柔念珠菌	犬小	石小	青霉菌种	絮表菌	酵母菌	念珠菌种	青霉种
8	86	犬小	孢子丝菌	絮表	石小	孢子丝菌	糠秕	糠秕	
	96	青霉种	糠秕		糠秕	酵母	石小	青霉种	热带念珠菌
9	86	许黄	石小		断毛	紫毛	絮表	糠秕	
	96	近平滑念珠菌	石小		曲霉种	酵母	铁小	酵母	枝孢霉种
10	86	断毛	糠秕		孢子丝菌	铁小	白念	紫毛	
	96	青霉种	絮表		热带念珠菌	疣毛	念珠菌种	青霉种	裴氏着色

注：红毛(Tr)=红色毛癣菌；犬小(Mc)=犬小孢子菌；紫毛(Tv)=紫色毛癣菌；石小(Mg)=石膏样孢子菌；须(石)毛(Tm)=须癣毛癣菌；铁小(Mf)=铁锈色孢子菌；断毛(Tt)=断发毛癣菌；糠秕(Po)=糠秕孢子菌；疣毛(Tve)=疣状毛癣菌；白念(Ca)=白念珠菌；许毛(Ts)=许兰毛癣菌；絮表(Ef)=絮状表皮癣菌

表4 中国不同时期致病菌分布情况

年代		Tr	Ts	Mf	Tm	Ef	Tv	Tt	Tc	Mc	Mg	Tve	Tmn	Te	Tsi	Ma	Mn	Po	Total
1949~1985	N	7170	5483	3154	1753	551	2116	275	203	578	102	31	32	5	4	2			21459
	%	33.4	25.6	14.7	8.2	2.6	9.9	1.3	1.0	2.7	0.5	0.1	0.2						
1986	N	4150	200	200	1744	262	583	156	4	422	139			2			2	580	9139
	%	45.5	2.2	2.2	19.1	2.8	6.4	1.7		4.6	1.5							6.9	
1996	N	6253	15	23	1911	233	57	86	2	606	52	47	34				9	741	9719
	%	34.8			10.6	1.2	0.3	0.5		3.4	0.2	0.3	0.1					40	

分别根据 1986 年 1 月 1 日至 12 月 31 日和 1996 年 1 月 1 日至 12 月 31 日所分离结果如下图 1。

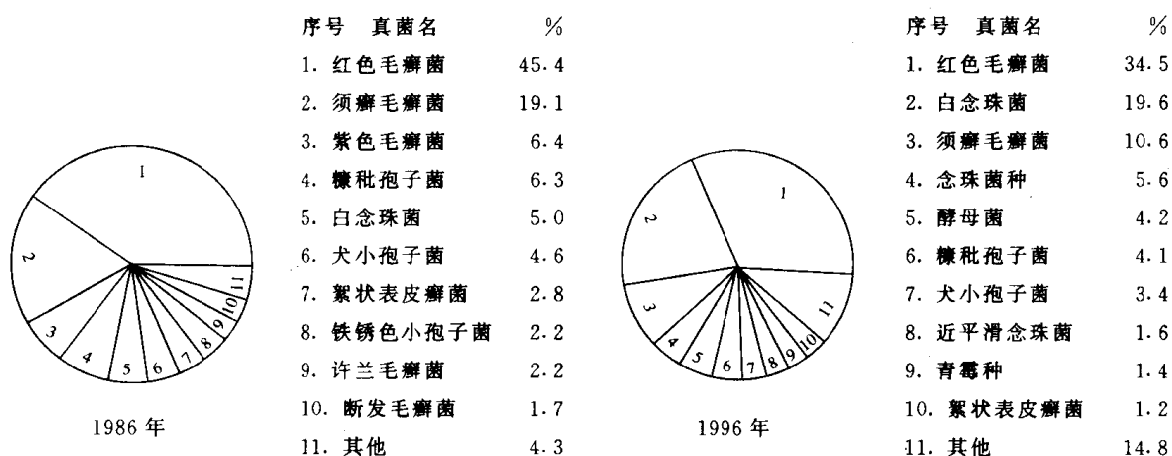


图 1 1986 年与 1996 年前中国 10 位致病真菌分布情况

从上述分析结果可看出,1986 年与 1996 年所分离出的致病真菌菌种分布和比率有所不同,两个年度都是以红色毛癣菌占首位,但其比率从 1986 年占 45.4% 到 1996 年则已下降至 34.5%。在 1986 年占第 2 位的是须癣(石膏)毛癣菌,在 1996 年已下降至第 3 位,所占比率亦从 19.1% 降至 10.6%。相反在 1986 年占第 5 位的白念珠菌到 1996 年已由 1986 年的第 5 位上升至第 2 位,所占比率亦从 1986 年的 5.0% 上升至 19.6%,其余菌种亦都有所改变,尤其是酵母菌及酵母样菌的比率上升显著。

此外,1986 年共分离出 27 个属、种病原真菌,1996 年共分离出 108 个属、种病原真菌,其中酵母类及条件致病性霉菌明显增多。

三、讨 论

从两个年度我国前 10 位主要致病真菌在几个大区的发展变迁看来,其情况比较一致,总的情况是红色毛癣菌均占优势,但 1996 年白念珠菌在华东、西南、台湾地区已占优势,而在西北地区则以亲动物性须癣(石膏)毛癣菌占优势,这是与 1986 年有所不同的。

从两个年度对比中见到的第 2 个情况是:1986 年居第 5 位的白念珠菌到 1996 年已上升至第 2 位,而 1986 年较少见到的近平滑念珠菌所占比率到 1996 年已明显上升并已跃居第 8 位。其他念珠菌种和酵母菌亦都有明显增加而跃居第 4 和第 5 位,这些都充分说明酵母菌及酵母样菌已在致病真菌中占了一定地位。

从皮肤癣菌病的病原真菌分析中可看出 1996 年犬小孢子菌已占居头癣病原菌的首位,其次为紫色毛癣菌及红色毛癣菌,以往很少看到的白念珠菌引起的头癣到 1996 年已占头癣病原菌的 7.2%。这种情况应该引起重视。同年手足癣的病原菌除红色毛癣菌外,白念珠菌亦已占第 2 位。在其他皮肤真菌病如体股癣、甲真菌病中,情况亦相似,白念珠菌亦已成为重要病原菌。这些情况充分说明,在即将到来的 21 世纪中,白念珠菌及其他酵母样菌有后来居上之势。

随着情况的发展,一些原来认为是不致病的霉菌亦已陆续出现在真菌病致病菌的行列,如

1996 年曾分离出 40 余种霉菌样菌,远较 1986 年为多,可能亦是 21 世纪的新问题,应认真研究对付办法。

总之,从 1986 年到 1996 年我国致病真菌菌群变化与世界各地报告相似,均发生明显改变。随着皮肤癣菌致病率的逐步下降,如原来居于优势的红色毛癣菌和须癣毛癣菌,尽管前者仍占首位,但所占比率已从 1986 年的 45.5%下降至 1996 年的 34.8%,几乎下降 1/4。而原来居第 2 位的须癣毛癣菌,则从 1986 年的 19.1%下降至 10.1%,几乎下降了 1/2。相反,一些条件致病真菌,如白念珠菌和其他近平滑念珠菌以及酵母类菌则呈明显上升趋势,以白念珠菌为例,已由 1986 年的 5.0%骤升至 25.1%而跃居第 2 位,这一情况国际上亦如此。因此,综合上述情况可见,随着近 10 年来一些新抗真菌药物的问世,皮肤癣菌已得到进一步控制,而相对较难治疗的酵母及酵母样真菌所占比率则有逐步增加的趋势,这就提示 21 世纪中应着力对这些真菌重点防治,抗真菌药物也应从这些方面发展,以利控制。

注:本工作承我所和西安杨森合作基地资助,李岷博士生帮助统计,致谢。

(吴绍熙)

深部真菌病的免疫学检测进展

近 20 年来,深部真菌感染率上升约 40 倍,美国医院院内感染监测系统的统计资料分析,1990 年住院病人深部真菌感染率是 1980 年的 1.9 倍,占有病原感染患者上升率的首位,而深部真菌感染的住院病人的病死率也高达 29%(无真菌感染者仅 17%)。此点与其早期发病症状隐匿,与其他细菌、病毒感染间无特异区别,且真菌培养阳性率甚低有关。一旦延误治疗,病情发展迅速而凶猛,常导致死亡。因此,非真菌培养方法,诸如免疫学测定等,从血清或体液中检出相应抗体或循环抗原(由真菌释放的部分致病抗原或特异分泌产物等)对某些深部真菌病的早期诊断具有重要的价值。今就近年来发展的有关方法对某些深部真菌病的诊断价值等作一简要介绍。

一、新生隐球菌病

对抗新生隐球菌抗体的检测虽有一定价值,但其阳性率及特异性均不能与检测其特异抗原的价值相比拟。鉴于许多深部真菌病侵入机体后,短期内循环中即出现大量可溶性抗原成分(荚膜多糖抗原),以多种免疫测定方法测定此循环荚膜多糖抗原已成为诊断新生隐球菌病,尤其是新生隐球菌脑膜炎(除真菌常规培养外)的重要手段。如用乳胶凝集法(LA),补体结合法(CF),酶联免疫吸附法(ELISA)等,其中尤以 LA 方法快速(5 min 内即可出现阳性结果),特异性高(100%),也甚敏感(99%)。本方法系以多价抗隐球菌多糖抗体吸附于标准大小的乳胶颗粒上作为抗体,检测患者的血清、脑脊液、尿液(此多糖抗原具有可溶性及分子微小的特点)等标本中的隐球菌循环多糖抗原,以玻片凝集法肉眼即可见到成簇的乳胶凝集块,如将标本作倍比稀释,尚可测定其阳性滴度,但必需作对照及有些标本进行酶解(pronase)以解离免疫复合物,提高阳性率,以及除外类风湿因子及其他非特异因子的凝集反应。一般检出脑脊液标本阳性同时也可测出血标本的阳性,此方法对于脑脊液隐球菌阴性者确有诊断价值,但需注意毛孢子菌感染中,可发生交叉反应而致假阳性的结果。ELISA 法,即利用抗体具有结合固相载体表面而不影响其免疫活性的特点,将已知抗体吸附于聚氯乙烯板孔内,加入待检的含相应抗原的标本与之结合,再加入标以酶的相应抗体,如能结合,最后加入适当基质使酶分解,从酶解后出现的颜色反应可计算出待检标本中的抗原量。本方法敏感性高于 LA(本法可检出抗原量 6 ng/ml,LA 为 35 ng/ml),其出现阳性时间早(各为感染后 3 d 及 5 d),检出的阳性滴度也高(感染第 59 天可高达 1:6 400,而 LA 仅为 1:800),然而特异性略差。如病情进展或恶化,阳性滴度持久不降,尚可提示预后不良。

荧光免疫法(FA),即以已知特异抗体(抗隐球菌抗体提纯后)结合荧光素作为抗体与标本中的抗原结合后,可藉荧光显微镜检出荧光即为阳性。本方法主要用于经福马林固定的组织片中测定新生隐球菌及其荚膜多糖产物,其特异性较低,如以异型念珠菌及克柔念珠菌吸收后,可明显提高其特异性。

二、念珠菌病

念珠菌深部感染是深部真菌病中最主要的致病真菌之一,但其血培养的阳性率不高,不少患者生前未获确诊而至尸体解剖时方在组织内查到此菌。因此,与某些真菌所致系统感染相似,免疫学的诊断在念珠菌病中也十分重要,然更因患者发病后常常有免疫缺损(原发或继发)致难以出现抗体,而正常人群的某些部位(口腔、阴道、消化道等)又是白念珠菌等真菌的常驻部位,致健康人群中也有不同浓度的抗念珠菌抗体存在。因此,各种免疫测定法检测抗念珠菌抗体对系统性念珠菌病的诊断无益。应用 LA 和 CIE 检测,如单次结果为 1:4,尤其是动态检测沉淀带数量逐次增多,或抗体浓度增加 4 倍以上,应考虑有深部念珠菌感染的可能,而若能检测到抗甘露聚糖以外的抗体(如抗烯醇酶抗体、抗热休克蛋白等抗体),可提示有侵袭型(系统性)或深部念珠菌病的可能。

鉴于念珠菌入侵血循环是深部真菌病发生的开始,即念珠菌的表面多种抗原成分及其代谢产物大量释放至循环内,此类抗原成分的检测是当前诊断深部念珠菌的重要手段,如以 ELISA 或蛋白印迹及协同凝集反应等测定患者循环中的细胞浆蛋白抗原烯醇酶与 Manan 抗原者产生交叉反应(48 kD),其特异性高达 100%,但敏感性不甚高(71.8%),如标本中的含量 >100 ng/ml 时即可被检出,如动态测定阳性率还可提高(75%~85%)。一般在发病早期中可测到 50% 的阳性率,且除血清标本外,肝、脾组织的活检标本中也可检出,且阳性率高于血清,是深部念珠菌病早期特异诊断中较好的一个方法,以 ELISA 法测定时,如将标本作预处理,即以 pH7.2 EDTA 二钠 1 ml 水浴内煮沸 3 min,冷却后,以 1 300 g 离心 30 min 以解离血清中常以抗原抗体复合物形式存在的甘露聚糖与其抗体的复合物,则可大大提高其阳性率。敏感性可在 1 ng/ml 浓度时被检出,其滴度与病情成正比,如能动态测定可观察疗效及判定预后。鉴于念珠菌的甘露聚糖抗原易形成复合物,极易为肝内库普弗细胞吞噬而迅速从血中消失,如系列测定尿中抗原将更为敏感。

测定患者体液内的其他抗原成分还有:(1→3)-β-D 葡聚糖成分,后者系念珠菌胞壁的一个成分,属念珠菌细胞壁外-网状交联的微纤维骨架及无定形物,其微纤骨架的主要化学成分是几丁质及纤维素,二者以(1→4)-β-糖苷链连接成一多聚体,而无定形物中的主要成分是(1→3)-β-葡聚糖、(1→6)-β-葡聚糖、(1→3)-α-葡聚糖、甘露聚糖、蛋白质、脂类、黑色素等。以生物化学技术从体液中检测上述物质,对诊断深部念珠菌病及其他真菌病具有较重要的价值。

测定(1→3)-β-D 葡聚糖,其相对分子质量超过 6 800 的部分可极易激活马蹄蟹的协同凝集酶-G 因子,从而用显色反应经分光光度计可测定其浓度。至今,国外已有试剂盒销售。健康人群的含量为 4 pg/nl,深部念珠菌可增加数倍,且与症状的消长成正比,可作为发病的早期诊断及动态观察,一般仅需 2 h,且用抗生素也不受影响。目前在日本已用自动动态检测仪直接在 405 μm 波长处读出,阳性率 100%,特异性强,1 h 即可测出。

三、曲霉病

1. 抗曲霉抗体的检测

以 ID、CF、CIE、ELISA、PHA(间接血凝法)等检测抗曲霉抗原的特异抗体,对曲霉病的诊