

白色念珠菌感染现状与实验诊断进展

胡文强 何卫东 邹 飞 黄作美

中图分类号 R446.5,R379.4 文献标识码 C 编号 1008-0023(2001)02-0104-02

白色念珠菌(*Candida albicans*)是人体口腔、咽喉、肠道、阴道粘膜的正常菌群,也是重要的条件致病菌。该菌可引起皮肤感染以及免疫功能明显下降如糖尿病、恶性肿瘤、血液病、严重营养不良症等患者严重的全身感染。随着皮质类固醇、免疫抑制和抗生素的广泛应用,念珠菌感染率呈不断上升趋势,在免疫抑制患者中念珠菌感染率列居第一位,白色念珠菌为主要致病菌^[1],已引起国内外医学真菌界的重视。本文就白色念珠菌感染现状及实验诊断进展综述如下:

1 感染现状

近 20 年来白色念珠菌感染增长了 20 倍以上,已成为医院感染的主要死亡原因之一^[2],危害极大,引起医学工作者的重视。

1.1 流行病学方面

近十几年来白色念珠菌在致病菌中所占比率明显上升。吴绍熙等^[3]报道:根据我国 25 个省、自治区(包括我国台湾省)具有代表性的 41 个单位先后于 1985 年收集的 9139 株致病真菌和 1996 分离出的 18085 株致病真菌,发现白色念珠菌从 1986 年居第 5 上升到 1996 年居第 2 位,所占比率从 1986 年的 5%上升到 1996 年的 19.6%。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比较一致,但在 1996 年华东、西南和台湾等地区白色念珠菌已占优势。以往很少看到的白色念珠菌引起的头癣,到 1996 年已占头癣病原菌的 7.2%。1996 年手足癣的病原菌中白色念珠菌已占居第 2 位。在其它皮肤真菌病如体股癣、甲真菌病中,情况亦相似。谢炳寿^[4]报道 23 例急性真菌性肺炎中 22 例为白色念珠菌,所占比率为 96%。这些情况充分说明,在即将来临的 21 世纪中,白色念珠菌有后来居上之势,白色念珠菌已成为重要病原菌。

1.2 分子生物学方面

1.2.1 白色念珠菌与宿主细胞的粘附机制

研究表明,致病性念珠菌如白色念珠菌对宿主细胞有很强的粘附性^[5]。白色念珠菌与宿主细胞间

的粘附是其侵入宿主引起感染的前提,是白色念珠菌的主要致病原因之一。在介导白色念珠菌与宿主细胞的粘附中,纤维蛋白(Fn)起着重要作用。国内刘晓红等^[6]用 Fn 做亲和配体,从白色念珠菌孢子壁蛋白提取液中分离纯化 Fn 粘附素,进行实验研究表明,Fu 粘附素能明显地抑制白色念珠菌对上皮细胞的粘附,这可能是由于 Fn 粘附素占据上皮细胞表面的 Fn 受体而影响其粘附。刘晓红等还在体外进行了白色念珠菌与宿主细胞之间粘附机制的研究,结果提示:在有利于芽管形成的情况下,白色念珠菌对上皮细胞的粘附增加,白色念珠菌从酵母相向菌丝相转化中,其表面成份的改变可能是引起粘附增加的原因^[7]。

1.2.2 白色念珠菌对唑类药物的耐药机制

由于患者进行长期治疗明显地具有促发耐药性产生的可能,目前白色念珠菌对唑类药物耐药而导致的失败有增多趋势。唑类药物的耐药机制已成为国内外专家学者所瞩目的研究热点,而其机制均与唑类药物靶酶的改变密切相关^[8]。其耐药机制文献^[9]报道主要有三条:第一,白色念珠菌细胞膜固醇类成份的改变导致抗真菌药物通透性降低;第二,唑类药物的靶酶(细胞色素 P450L1A1)基因突变导致唑类药物对其亲和力降低;第三,唑类药物的靶酶产生过多。国内王文莉等^[10]证实靶酶编码基因突变导致耐药现象的发生。在美国微生物学会(ASM)1996 年会,Kallakuri 等研究报道表明:一个或一个以上部位的基因突变造成了菌株耐药现象的发生。国内王文莉等研究结果与 Kallakuri 等结论大致相同^[11]。

2 实验诊断进展

白色念珠菌检测方法临床上主要有直接镜检、真菌培养、组织病理学等三种方法。直接镜检是最简便、快速的方法,但检查阳性不能确定真菌的种类,检查阴性也不能排除真菌病。真菌培养多用沙保罗培养基,可分离菌种,是鉴定白色念珠菌的重要方法,是临床诊断真菌病的依据。随着分子生物学、

作者单位:330029 江西省第二人民医院检验科

免疫学等检测技术的发展,越来越多的实验方法应用于白色念珠菌的诊断。

2.1 分子生物学方面

2.1.1 PCR 诊断法 近年来 PCR 技术已成功应用于白色念珠菌感染的诊断检测。由于该方法可以在数小时内检测出极微量的真菌 DNA,故使白色念珠菌感染的早期快速诊断成为可能。

2.1.2 特异性通用引物 PCR 诊断法:设计一个以热启动 PCR 为检测手段选用一段真菌界保守序列作为特异性通用引物,检测真菌,敏感性高,特异性强,有较好的代表性^[12]。可用来检测白色念珠菌。但其应用有局限性,不能代替真菌培养。

2.2 免疫学方面

2.2.1 抗体检测方法:通过抗原测定抗体,如补体结合试验、免疫扩散试验、直接或间接凝集试验等,此类方法敏感性较好,但特异性不足,只能作为一种辅助诊断手段。

2.2.2 抗原检测方法

2.2.2.1 免疫血清学方法:通过测定循环血清中抗原的含量,大致估算出白色念珠菌的感染时间及各脏器病损的程度,以指导临床治疗。当组织内念珠菌生长繁殖旺盛时,循环血清中抗原的含量也高,念珠菌停止生长被吞噬杀灭近消灭时,血清中抗原也近消灭^[13]。

2.2.2.2 β -(1-3)葡聚糖方法:此法测定白色念珠菌胞膜胞壁抗原 β -(1-3)葡聚糖,有一定参考价值^[14]。

2.3 免疫组化分析

2.3.1 单克隆免疫组化技术:该法检测组织内真菌具有很高的敏感性和特异性,目前应用的有抗白色念珠菌、抗红色毛癣菌、抗曲霉菌单克隆抗体,免疫组化与培养法结合能更清楚地了解组织内真菌是腐生污染还是病原菌,而且还可以证实混合感染的存在^[15]。

2.3.2 凝集素标记法:利用荧光结合及生物标记凝集素方法观察培养状态及组织内的不同真菌,提示对菌种检查有一定意义^[16]。刘晓明等^[17]用生物素标记凝集素的方法系统地观察白色念珠菌等 17 种不同种的真菌与 14 种凝集素的结合形成,结果显示绝大多数菌种培养中与组织中真菌的凝集素结合形式基本相同,而且内脏组织与皮肤组织的结合形式完全相同,表明多数真菌其细胞壁糖成份较为

稳定,为利用此方法检查白色念珠菌提供了有利条件。

2.3.3 组织切片凝集素结合法 Stoddart 等^[18]用荧光结合凝集素的方法观察了 6 种深部真菌与 5 种凝集素的结合形式,表明白色念珠菌、烟曲菌和新生隐球菌的结合形式有所不同。大多数深部真菌组织切片的凝集素结合形式呈属间区别,少数则亦见种间区别。念珠菌、新生隐球菌、孢子丝菌、毛霉菌、曲霉菌和青霉菌组织内的凝集素结合形式具有相互鉴别的特点^[17]。通过在人体的进一步观察,有可能成为检测组织内白色念珠菌的一种辅助指标。

参 考 文 献

- 1 Radentz WH. Opportunistic infections immunocompromised hosts. J AM Acad Dermatol, 1989, 20(6):986.
- 2 廖万清主编. 真菌病学. 北京:人民卫生出版社, 1985:243.
- 3 吴绍熙, 廖万清, 郭宁如, 等. 中国致病真菌 10 年动态流行病学研究. 临床皮肤科杂志, 1999, 28(1), 1-5.
- 4 谢炳寿, 胡理明. 急性真菌性肺炎 23 例 X 线分析. 实用学杂志, 1999, 15(1):2.
- 5 Bailey A, Wadsworth E, Calderone R. Adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cell: host-induced protein synthesis and signaling event. Infect Immun, 1995, 63(2):569.
- 6 刘晓红. 白色念珠菌粘附素的分离纯化及其介导与宿主细胞粘附中的作用. 中华皮肤科杂志, 1998, 31(5):285-287.
- 7 刘晓红, 廖万清, 胡惠民, 等. 白色念珠菌与宿主细胞粘附机制的探讨. 中国皮肤性病杂志, 1999, 13(2):83-84.
- 8 Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA, et al. Resistance of *Candida* species to fluconazole. Antimicrobiol Agent Chemother, 1995, 39(1):1.
- 9 Hitchcock CA, Dickinson K, Brown SB. Interaction of azole antifungal antibiotics with cytochrome P-450-dependent 14-alpha sterol demethylase purified from *Candida albicans*. Biochem J, 1990, 266(2):475.
- 10 王文莉, 李若瑜, 王端礼, 等. 白色念珠菌对唑类药物耐药机制的探讨. 中华皮肤科杂志, 1997, 30(5):306.
- 11 王文莉, 李若瑜, 王端礼, 等. 白色念珠菌对唑类药物耐药机制的研究. 中国皮肤性病杂志, 1999, 13(1):3-5.
- 12 张宏. 真菌特异性通用引物的 PCR 系统的实验与临床研究. 中华皮肤科杂志, 1998, 31(5):282-284.
- 13 刘明. 实验性念珠菌病的病理组织学及免疫病理学研究. 哈尔滨医科大学学报, 1998, 32(5):319.
- 14 吴绍熙, 郭宁如. 医学真菌学回顾与前瞻. 中国皮肤性病杂志, 1999, 13(1):45.
- 15 周文明. 甲真菌病的实验诊断方法. 中国皮肤性病杂志, 1999, 13(2):110.
- 16 Robin JB, Arffa RC, Arni I. Rapid visualization of three common fungi using fluorescein-conjugated lectins. Inrest Ophthalmol Vis Sci, 1986, 27(4):500.
- 17 刘晓明, 林熙成, 孙亦新. 常见深部真菌凝集素标记病原学诊断的实验研究. 中国皮肤性病杂志, 1999, 13(2):73-74.
- 18 Stoddart RW, Herbertson BM. The use of fluorescein-labelled lectins in the detection and identification of fungi pathogenic for man: a preliminary study. J Med Microbiol, 1978, 11(3):315.