



# 念珠菌菌种的生物学特性及分类

厦门市第二医院 (邮 361002) 白天奎

厦门大学生物系

湖北医科大学

刘维璞

李辉奉

## 1. 念珠菌的分类学研究

念珠菌属 (genus *Candida*) 包括大约 150 种不产生芽胞的酵母菌种属, 现已知并命名的有 81 种。由于它们没有能力形成有性生殖阶段, 所以属于真菌超纲 (eumycetes)、不全菌纲 (deuteromycetes or *fungi imperfecti*), 隐球菌科<sup>[1]</sup> (family *cryptococcaceae*)。

对人类有致病作用的有 7 种念珠菌, 即: 白色念珠菌 (*Candida albicans*), 热带念珠菌 (*Candida tropicalis*), 近平滑念珠菌 (*Candida Parapsilosis*), 星形念珠菌 (*Candida Stellatoidea*), 克柔氏念珠菌 (*Candida Krusei*), 假热带念珠菌 (*Candida Pseudotropicalia*) 和高里氏念珠菌 (*Candida guilliermondi*)。其中白色念珠菌, 热带念珠菌和近平滑念珠菌是经常从医学标本中分离出来的 3 个菌种。白色念珠菌致病性最强, 以上三个菌种几乎占临床医学标本中分离菌种的 80% 以上。星形念珠菌是从白色念珠菌中划分出来的, 它不能消化蔗糖, 并且由于这两种酵母菌的 DNA 具有高度的同源性, 所以 Meyer 等人<sup>[2]</sup> 在 1984 年把星形念珠菌划分为白色念珠菌的蔗糖——阴性变种。1988 年 Kwon-chung 等人<sup>[3]</sup> 证明划分为星形念珠菌的是两种不同型的蔗糖——阴性白色念珠菌。其 I 型和 II 型是根据核型电泳现象对小白鼠的致病力在实验室的生长速度和蛋白质分解酶的活性测验结果而区分出来的。1989 年 Kwon-chung 等断定 II 型星形念珠菌 (type II *C. stellatoidea*) 是白色念珠菌中血清类型 A 的一种蔗糖——阳性变种, 而 I 型星形念珠菌 (type I *C. stellatoidea*) 根本不能把它看做是从白色念珠菌衍生而来的一种蔗糖阴性变种。

在不全菌纲 (Class *deuteromycetes*) 内部, 念珠菌种的鉴别特征是它们不能生成假菌丝, 但 Lodder 在 1970 年发现近平滑念珠菌是唯一的例外。因此, 白色念珠菌属中的个别菌种可以用菌落形态、碳

水化合物利用类型、发酵以及血清学测定等方法加以鉴别。临床上根据念珠菌在谢保弱培养基中的生长情况和菌落形态, 在玉蜀黍粉琼脂培养基上形成孢子及菌丝的性状, 可以把念珠菌的几种不同菌种区别开来 (附表)。

## 2. 白色念珠菌的分型设备

大多数念珠菌感染的病例在病因方面都属于内源性的。但在自然人群中有关念珠菌感染的报告及念珠菌病的流行病学研究中, 人们对周期性阴道炎的病因产生了质疑, 并进行了深入的研究, 认为周期性阴道炎的致病菌可能是在消化道中共生的白色念珠菌的感染。但是, 尚无法鉴别白色念珠菌属中的具体菌株, 因而对许多流行病学方面的研究成果及临床病例都在菌株鉴定上受到影响, 这促使众多学者加强了对白色念珠菌进行生物分型设备的研究, 并且获得了成功。

1987 年, Williamson<sup>[4]</sup> 等创造了一种新的的方法, 能区别出 234 种生物型 (biotype), 并在 130 份临床分离物中发现了 33 种生物型。该方法包括 3 种测验: 即 APIZYM 系统、API<sub>20</sub>C 系统和在载玻片上测试菌株对硼酸的抵抗力。在此之前, odds 和 Abbott 也曾于 1983 年根据 10 种不同的玻片检验, 描述了对白色念珠菌的生物分型法。但是, 仅隔 1~2 年 Scherer 与 Stevens<sup>[5]</sup> 在 1988 年, Matthews 和 Burhie<sup>[6]</sup> 在 1989 年先后报告了他们用重新结合 DNA 的技术, 取代了以上遗传表型的试验, 他们用这种设计的 DNA 做探针, 直接检验基因组 (整组基因) 获得了成功。

## 3. 白色念珠菌的生长与营养

白色念珠菌在特定的培养基中能够生长, 这种培养基应能提供盐类、碳 (例如葡萄糖)、氮 (例如氨盐) 和磷, 同时还应补充生物素 (如辅酶 R 或维生素 H)。白色念珠菌生长的温度范围在 20~40°C, pH2~8。在综合性培养基中, 它的最大生长速率在 0.3

附表 几种对人类致病的念珠菌种鉴定

	白色念珠菌	热带念珠菌	假热带念珠菌	克柔氏念珠菌	近平滑念珠菌	类星形念珠菌	高里氏念珠菌
葡萄糖蛋白胨琼脂	乳酪状	无特征	无特征	扁平、干燥	乳酪状	乳酪状	乳酪状
葡萄糖蛋白胨水	无表面生长、管底生长	表面薄层生长,有气泡	无表面生长,管底生长	表面薄层粘接管底		无表面生长,管底生长	
血琼脂上菌落	中等大,暗灰色菌落	大、灰白色菌落,周边有菌丝	菌落小	菌落小	菌落小	菌落呈星形	中等大灰白色
TTC 琼脂	不变或淡红	紫色	红色	淡红	红色	红色	红色
血清 37℃	生长芽管	—	—	—	—	生长芽管	—
米粉琼脂	分枝菌丝,有厚壁孢子	有菌丝和芽生孢子	菌丝发育不良,芽生孢子长	菌丝交叉分枝	菌丝发育良好	菌丝体有大芽生孢子及少数厚壁孢子	菌丝体发育良好

~0.4/h 之间,但是如在培养基中补加维生素和氨基酸以后,其生长速率可增至 0.8/h。

也有许多学者采用人类混合唾液研究白色念珠菌的生长,大多数的结论是唾液缺乏营养补充,因此不能支持酵母菌的生长。但是,先后由 Knight 和 Fletcher 在 1971 年, Samaranayake<sup>[67]</sup> 等人在 1986 年报告了他们在唾液中加碳水化合物类补充物如葡萄糖和蔗糖后,白色念珠菌便很容易地生长了。他们的试验方法是:把白色念珠菌培养在混合的集中的唾液中,再加入 200mm 葡萄糖,结果获得了 0.1/h 的白色念珠菌最大生长速率。

如果让白色念珠菌在氨盐环境中生长,培养基就会降到 pH3,这主要是由于它摄取了氨(NH<sub>3</sub>)而导致培养基中来自铵(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)的质子(气核)蓄积起来。Samaranayake<sup>[68]</sup> 等人 1983 年通过恒化器培养白色念珠菌的结果证明:为了保持培养物的 pH 值所需的等价的碱性物质数量与被该菌所利用的含氮的氨的等价物相同,尽管产生了低度的有机酸。在分批的培养中白色念珠菌也产生了大量的乙酸和相对少量的丙酮酸、丙酸和甲酸。odds<sup>[69]</sup> 在 1988 年也通过试验证明:白色念珠菌能发酵葡萄糖、半乳糖和麦芽糖而产生酸和二氧化碳。糖的同化作用型和发酵作用型在念珠菌属中作为种间区分是很有价值的。也有学者认为:白色念珠菌分解蔗糖产酸,但不分解乳糖,根据这些生化特征和菌落及形态特征,可以把白色念珠菌与其它念珠菌分别开来。这些念珠菌都是人

体正常菌丛的偶见菌类,在适宜条件下均能致病。

#### 4. 白色念珠菌的形态发育

白色念珠菌是单细胞假丝酵母菌,具有二相性,即成为酵母样菌及菌丝。菌丝为白色念珠菌的感染型,可以侵入组织内并刺激粘膜产生炎症反应。白色念珠菌作为条件致病菌可存在于正常人的口腔粘膜、胃肠道、肛门、阴道、皮肤等部位,但不致病。在这些部位上它可能取得优势而成为致病菌,尤其是在器官处于不正常状态、体力衰竭或免疫受抑制时,它都能够引发全身性进行性疾病。若由静脉内侵入(如通过插管或针头、饮食过度,及有麻醉剂瘾者)达于血流,能引起静脉栓塞、心内膜炎或眼和其他脏器的感染。当然,在类似情况下,其他酵母菌,如近平滑念珠菌也有明显的致病力。

4.1 芽生孢子(blastospore)由细胞出芽生成。呈椭圆形,直径约 1.5~5μm,为口腔内常见形式。

4.2 菌丝(hypha)在适宜环境内,由孢子生出嫩芽,逐渐延长而成。如在涂片或切片中发现,则提示霉菌与损害有直接因果关系。

4.3 厚壁孢子(chlamydospore)在不利环境下,由菌丝内胞浆浓缩和胞壁增厚而成。直径约为 7~17μm,细胞有厚壁包绕。

白色念珠菌在不同的环境条件下可以表现出多种不同的形态学变化。如芽生酵母细胞(芽生孢子 blastospores, biastoconidia)、假菌丝(Pseudohyphae)、细长的酵母细胞呈丝状之细胞链、真菌丝如厚壁孢

子(true hyphae and chlamydospores)。在低于 33℃ 的温度中,酵母菌生长状态良好。这些细胞呈卵圆形,革兰氏染色阳性,大小为 3μm×5μm,出芽的部位大多数位于酵母菌的分生痕远侧的极性部位。温度提高一些,pH 值接近中性时菌丝体生长最好,并且一个酵母细胞可借助于一根菌丝变成一个菌丝细胞。1985 年 odds<sup>[10]</sup>的研究,1988 年 Shepherd<sup>[11]</sup>的试验都证实了这一点。而 Gow 与 Gooday<sup>[12]</sup>在 1984 年的实验表明,在菌丝形成的第一阶段,从母细胞上可出现多达 5 个隆起,这些隆起可发生在母细胞的任何部位。这与芽生酵母细胞不同,即在其与母细胞连接的地方没有缩窄。尽管在菌丝形成的早期阶段可以出现多发性隆起,可是其中大部分都会消退,只偶尔有 1 或 2 个菌丝得到发育。在距离母细胞 1μm~2μm 处形成第一个隔,然后菌丝发育成一个真正的菌丝细胞。在靠近正在发育中的菌丝细胞的尖端有一个移动的细胞质“塞子”(slug),在其后面遗留下较为宽广的多泡区。总之,无论是在体内还是在实验室都可以获得假菌丝。假菌丝是由细长形酵母菌细胞,通过极端出芽的方式形成一些细长而呈分枝状的细线,其在出芽处缩窄,并且形成一个隔。

白色念珠菌由酵母菌发展到菌丝的形态发育所需要的条件是:①酵母细胞要处于优良的营养状态;②要有一种诱导物质;③要提高温度(>33℃);④PH 值接近中性。

Holmes 和 Shepherd<sup>[13]</sup>在 1988 年解释以上必备条件时指出:适宜的温度与 pH 值利于酵母菌的生长,血清是菌丝生成的一种强力的诱导物质,并且可用于白色念珠菌的实验室诊断。另外,混合唾液也可以导致白色念珠菌出现轻度的菌丝形成。现已经确定可作为诱导剂的化学药物有:乙酰氨基葡萄糖(N-acetylglucosamine)和吡咯氨酸(proline 脯氨酸)。在固定的培养基中促进菌丝生长的最可靠的原始记录是某一段时间的碳饥饿;即给它充裕的菌丝诱导条件,然后杜绝碳源而不杜绝氮源,则可以阻止其形态发育。在碳饥饿期间适量的氮源能为酵母菌细胞的形态发育提供准备,然后可再利用葡萄糖和铵离子做诱导剂进行进一步的试验。因此,在菌丝形成过程中氮的代谢是一个极为重要的环节。

虽然白色念珠菌的二态性发育是由改变酵母细胞的新陈代谢所引起的,可是它究竟是变成酵母菌还是变成菌丝,关键问题是在时间与空间方面细胞

壁生成的调节问题。Staebl 和 Soll 的研究表明,在酵母菌出芽的时候,细胞壁的膨胀不足而可以限制出芽,这时母细胞几乎没有生长,子酵母细胞 2/3 的膨胀部分是由其尖部的生长造成的,而其剩余部分则是通过全面膨胀完成的。菌丝细胞的尖端生长是连续不断的,并且继发性细胞壁的发生,在时间上的选择,以及在酵母生长和菌丝生长之间可能有严格的不同。试验证明,如果仅仅在菌丝尖端顶尖稍后一点形成葡聚糖—壳多糖复合物(glucan-chitin-complex),就会生成一种硬质结构变为菌丝的结构部分。可是,如果以其交叉偶联所形成的继发性细胞壁被推迟了,就会形成十分柔软的细胞壁,使其形成球形细胞。

以肌动蛋白为主的细胞通过小泡的极性分泌到达膨胀部位。在质膜处,有新生的膜物质分泌物从小泡进入质膜,同时通过入胞过程而构成质膜的再循环。小泡来自膜层小体,我们认为这就是高尔基氏体(Golgi apparatus)的等同物,其中含有能形成质膜的新材料,小泡中含有能耦合到膜上的一些溶解酶和一些聚合物的初质。多糖合成酶被激活了,同时这些透膜酶催化了这种病媒的β-葡聚糖和壳多糖的合成过程,于是这些新生的产物就会合并入原来的细胞壁中。同时人们认为细胞溶素。(lysins),例如葡聚糖酶,在此过程中起了关键作用。甘露糖蛋白是在细胞内通过多萜醇途径(dolichol pathway)综合而成的,然后再通过分泌小泡把它带出来。葡聚糖和壳多糖所构成的微原纤维是与对细胞壁提供硬度有关的聚合物,并构成细胞壁的支架,而甘露糖蛋白即结合在其中,这样组装起来的细胞壁的最终结构,Shepherd<sup>[11]</sup>在 1987 年的研究报告中称之为“继发性细胞壁形成物”(secondary wall formation)。因此,分析这种形成物是在以壳多糖和葡聚糖为一方,以甘露糖蛋白和葡聚糖为另一方,在这两方面所产生的横向连接物。

(1994 年 2 月 4 日收稿)

## 参 考 文 献

1. Lodder J. The yeasts: A Taxonomic Study, 2nd edn. Amsterdam: North Holland, 1970.
2. Meyer S A. et al. The genus Candida Berkhout. In: The yeasts: A taxonomic study, edited by N. J. W. Kreger van Rij, 1984; 585~844.

