

第22章

引起侵袭性感染的真菌

概论

- 引起侵袭性感染的真菌，又称深部感染真菌，是指能侵袭深部组织和内脏及全身的真菌，主要有假丝酵母菌、隐球菌、曲霉、毛霉、组织胞浆菌和卡氏肺孢菌等，其中以隐球菌感染较常见。
- 组织胞浆菌为二相性真菌，假丝酵母菌、曲霉菌、毛霉菌和卡氏肺孢菌等为条件致病性真菌，只有在一定条件下才引起机体致病。

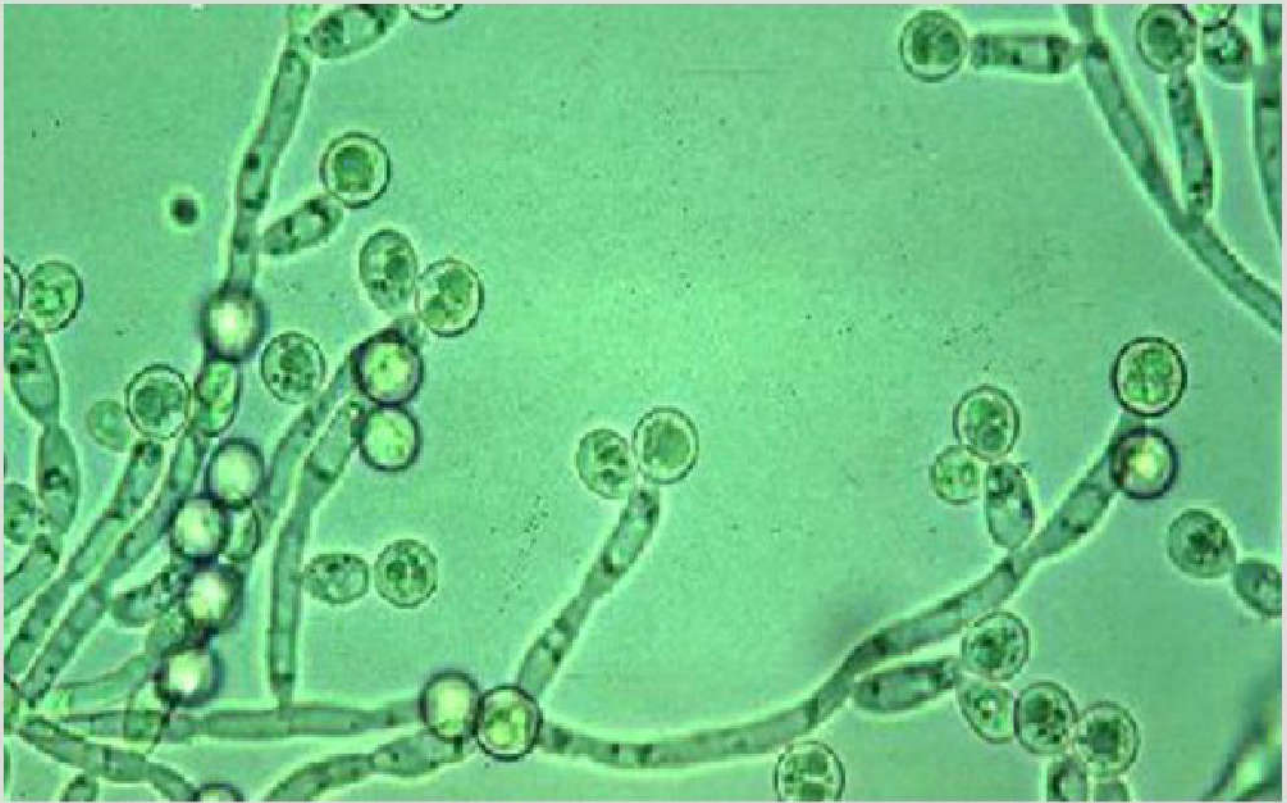
假丝酵母菌属

- 假丝酵母菌（Candida），俗称念珠菌，生物学分类为半知菌亚门、半知菌纲、隐球菌目、假丝酵母菌属。
- 本属菌有150多个种，其中有11种对人有致病性，其中以白假丝酵母菌为最常见的致病菌。

白假丝酵母菌

临床意义：

- 女性的假丝酵母菌性阴道炎、外阴炎；
- 男性假丝酵母菌龟头炎、包皮炎；
- 体质虚弱婴儿的鹅口疮；
- 假丝酵母菌性肠炎、肺炎、膀胱炎、肾盂肾炎和心内膜炎等；
- 中枢神经系统白色假丝酵母菌病，如脑膜炎、脑膜脑炎、脑脓肿等。



白假丝酵母菌微生物检验

- 一、标本直接检查
- 二、分离培养鉴定
- 三、药物敏感试验
- 四、抗体检测
- 五、动物试验

分离培养及鉴定

- 菌落特征:标本 → 沙氏培养基上 → 25℃ 或37℃培养1~4d后, 培养基表面可出现奶油色类 酵母型菌落。镜检可见假菌丝和芽生孢子。
- 鉴定试验: 芽管形成试验, 厚膜孢子形成试验, 糖同化或发酵试验, 产色培养基鉴定。



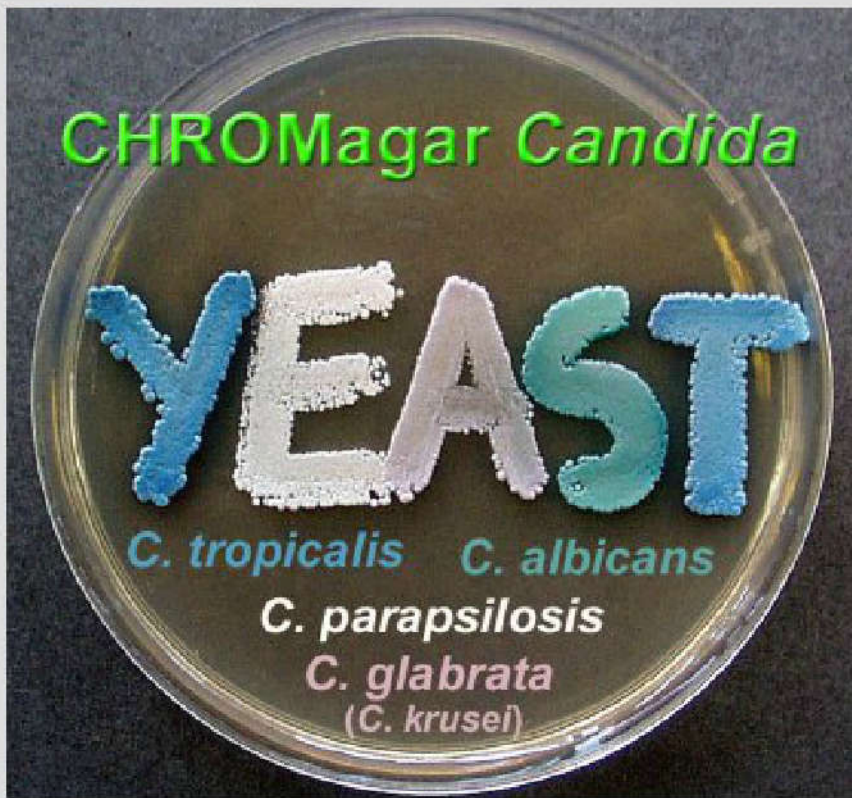
沙氏斜面



血平板



芽管形成试验



C. albicans (green) 白念
C. tropicalis (blue) 热带
C. parapsilosis (white) 近平滑
C. glabrata (pink) 光滑/克柔

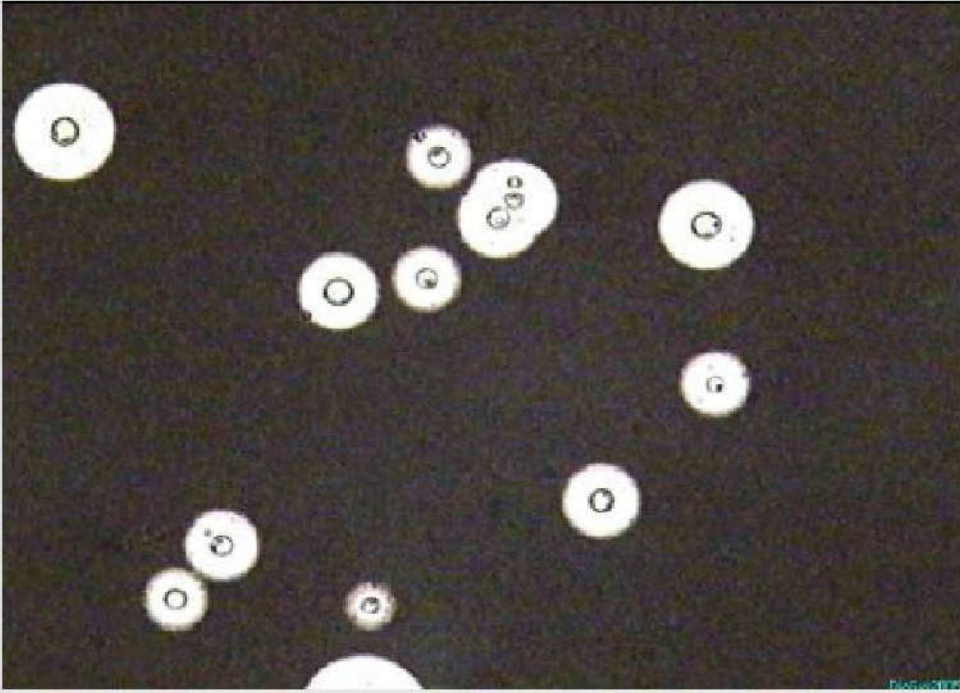
产色培养基

热带假丝酵母菌

- 直接显微镜检查 将标本作涂片革兰染色后镜检，观察革兰阳性的假丝酵母菌。
- 分离培养与鉴定 标本 → 沙氏培养基上形成色暗而干燥的菌落取菌落作TZC反应 → 取菌落作糖发酵或同化试验。芽管形成较迟（血清中6h以上），不形成厚膜孢子、动物试验阴性。

隐球菌属

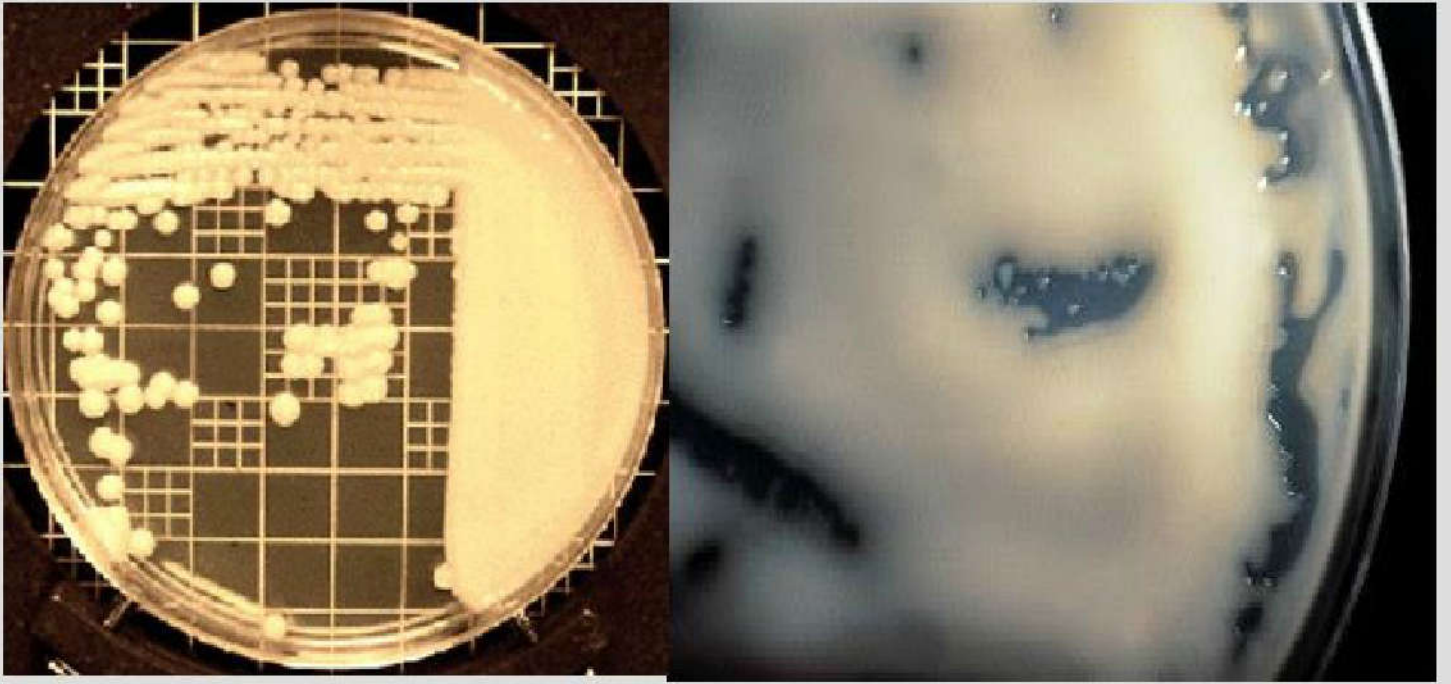
- 其中对人致病的最主要是新生隐球菌及其变种（新型隐球菌新型变种、新型隐球菌格特变种和新型隐球菌格鲁比变种）。
- 新生隐球菌广泛分布于自然界，也可存在于人体体表、口腔和肠道中。



新生隐球菌（墨汁负染色）

隐球菌微生物检验

- 直接镜检：用患者脑脊液作墨汁负染色检查是诊断隐球菌脑膜炎最简便、快速之方法。
- 抗原检测：用免疫学方法检测隐球菌荚膜多糖特异性抗原，以乳胶凝集试验最为常用，此法简便、快速。
- 核酸检测、药物敏感试验、抗体检测。
- 分离培养：将标本接种在沙氏培养基上，病原性隐球菌在25℃和37℃孵育的可生长，而非病原性隐球菌在37℃时不生长。培养2~5d后观察菌落形态特点，并取菌落作印度墨汁负染色镜检。



新生隱球菌菌落

新生隐球菌微生物鉴定

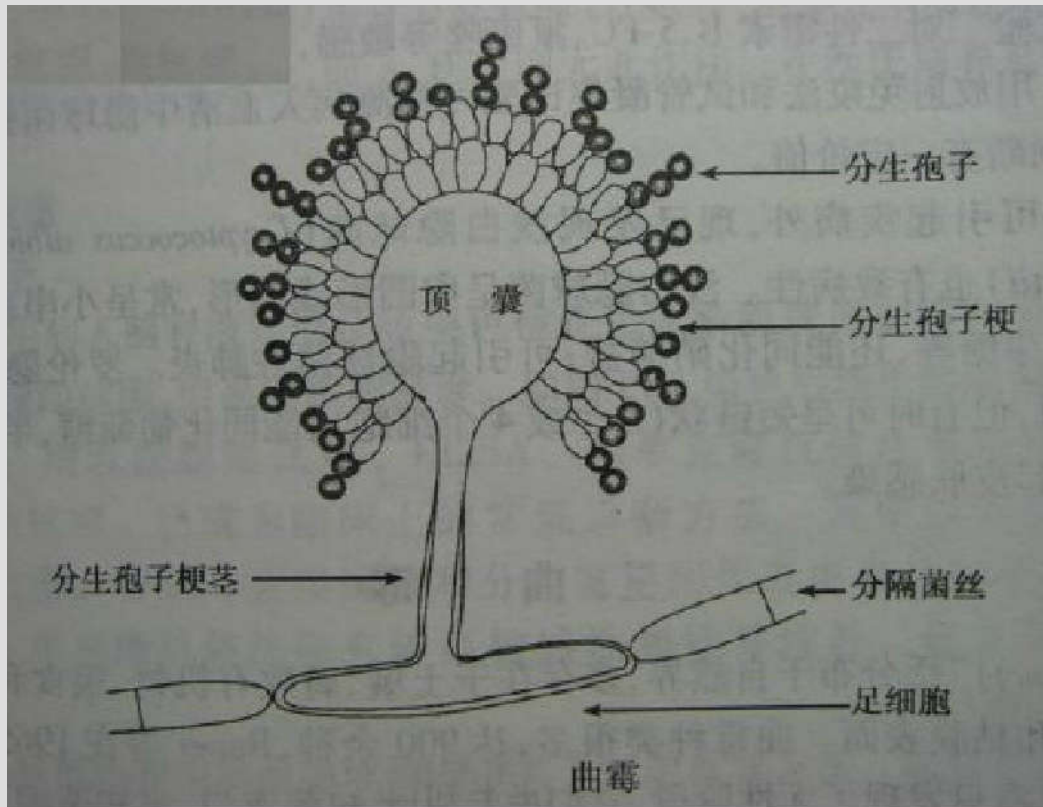
- 1. 酚氧化酶试验** 将菌接种L-多巴枸橼酸铁和咖啡酸培养基中，培养2~5d，新生隐球菌呈棕黑色菌落。用已知新生隐球菌和浅白隐球菌分别作阳性和阴性对照。
- 2. 脲酶试验** 新生隐球菌能产生脲酶，可分解尿素琼脂培养基的尿素形成 NH_4 和 CO_2 ，使培养基pH升高，培养基由黄色变为粉红色。白假丝酵母菌则为阴性。
- 3. 糖同化及发酵试验** 新生隐球菌能同化葡萄糖、半乳糖、蔗糖和肌醇，但不能发酵糖类、不同化硝酸盐。非致病性隐球菌则不能同化肌醇。

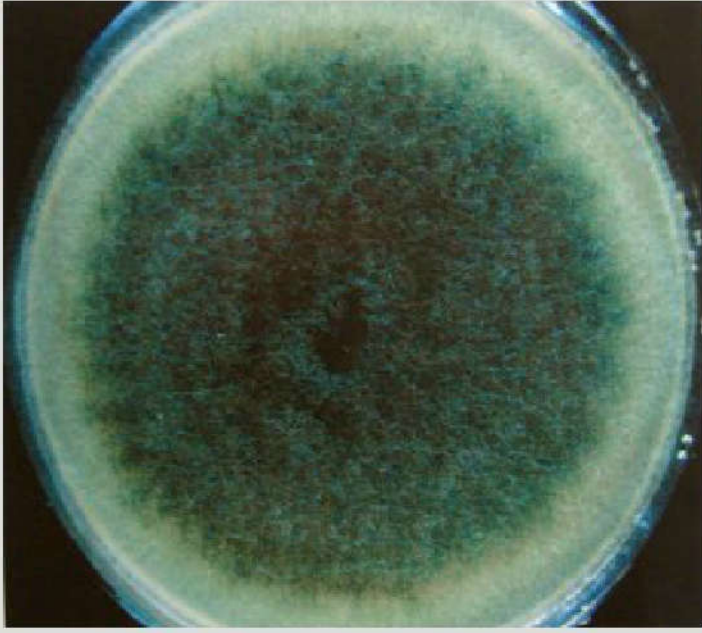
曲 霉 菌

- 曲霉菌是条件致病菌，人体对其有极强免疫力，只有在人体免疫功能降低时才能致病。
- 曲霉可引起呼吸系统曲霉病；全身性曲霉病；曲霉可产生毒素引起机体食物中毒；致癌作用。

曲霉微生物检验

- **直接显微镜检查** 取痰液等被检材料涂于载玻片上，在镜下可见分枝的菌丝、较粗的分生孢子头，顶端膨大形成顶囊，顶囊上有小梗，小梗上有许多小分生孢子。
- 抗原检测、抗体检测、药敏试验、皮肤试验。
- 分离培养与鉴定：标本接种沙氏琼脂，室温培养后菌落形成快，呈毛状，一般为黄绿色。将菌落涂片镜检可见特征性的分子孢子头和足细胞。根据不同的**曲霉的形态和菌落特征**确定菌种。

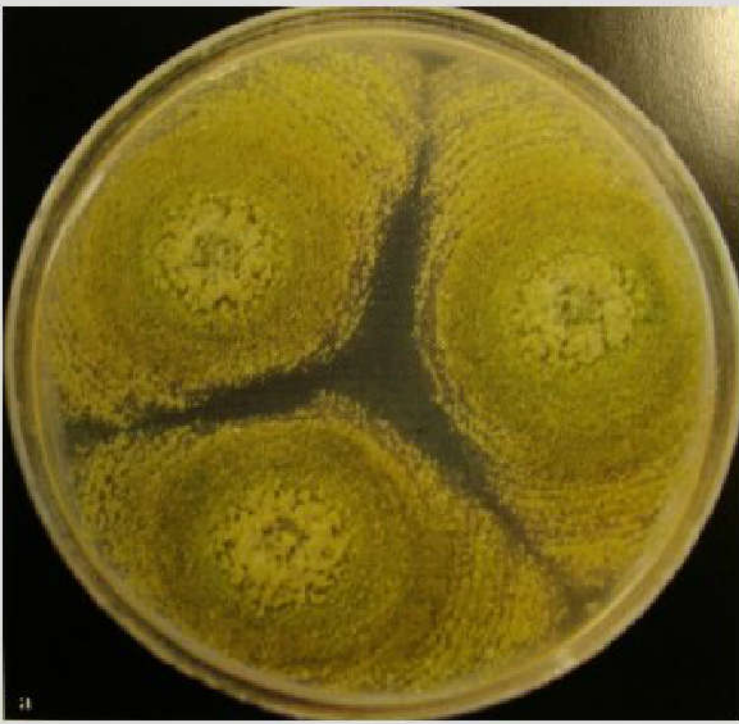




烟曲霉菌落



烟曲霉,光镜 X400



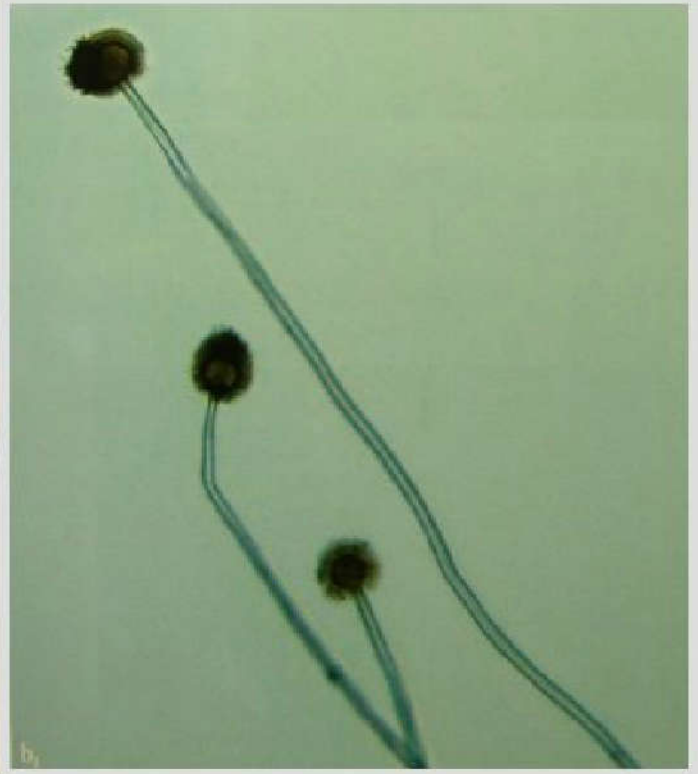
黄曲霉菌落



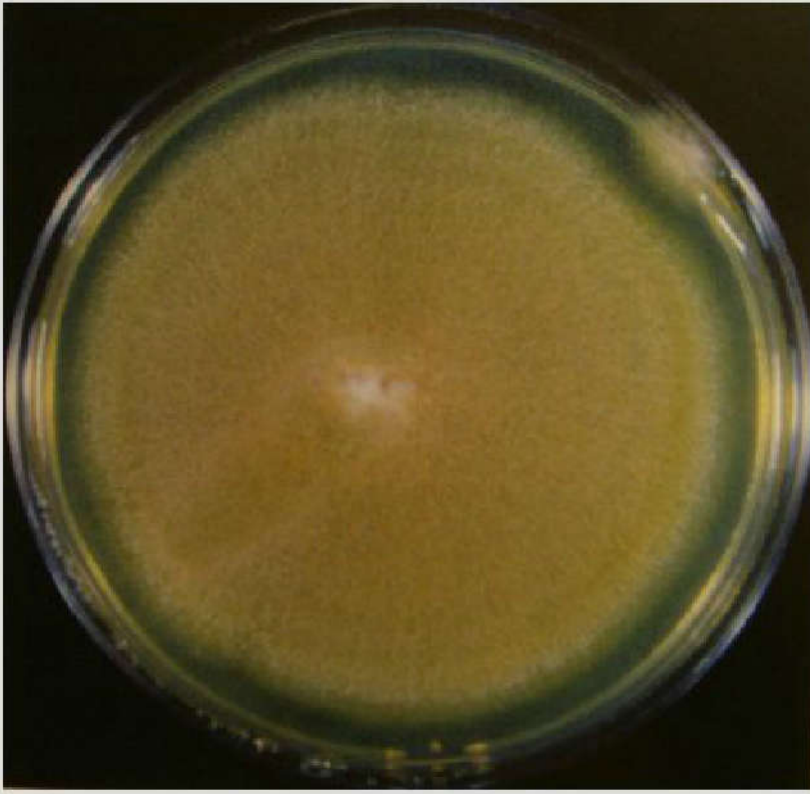
黄曲霉,光镜 X200



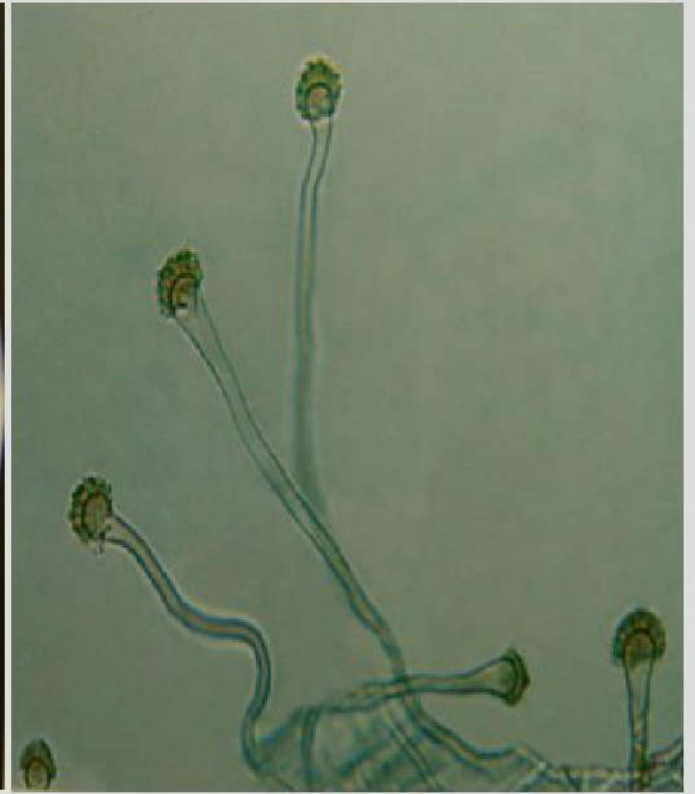
黑曲霉菌落



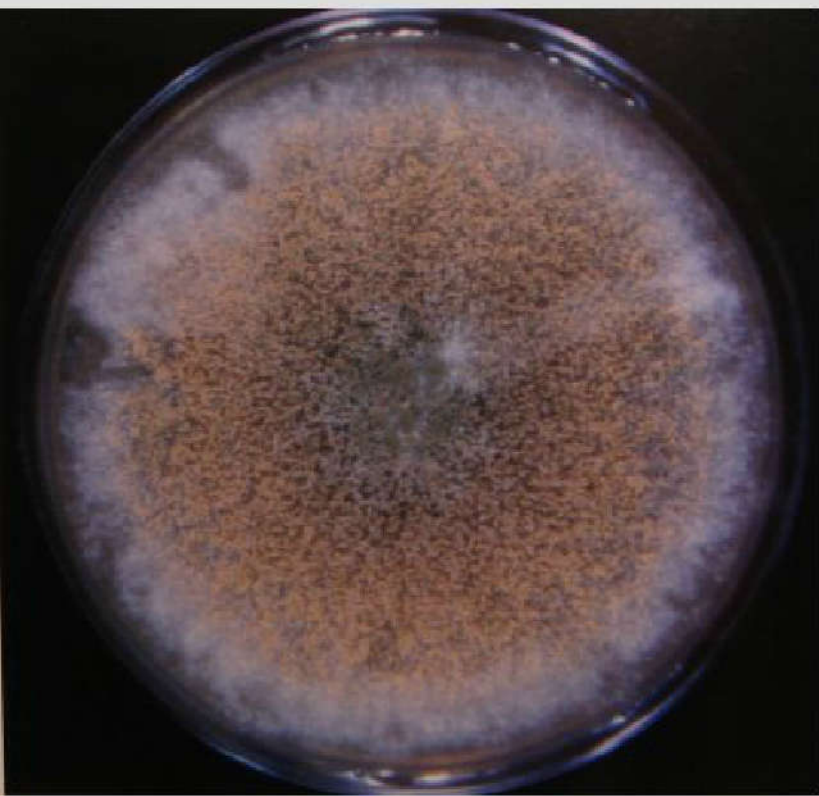
黑曲霉,光镜 X200



土曲霉菌落



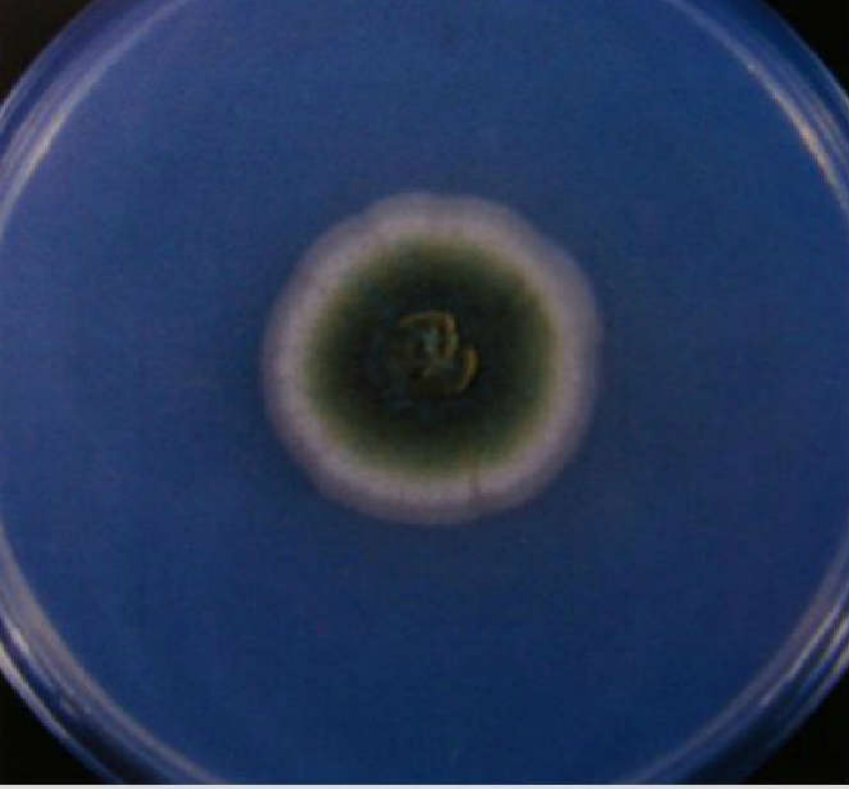
土曲霉，光镜 X200



构巢曲霉菌落



构巢曲霉,光镜 X400



杂色曲霉菌落



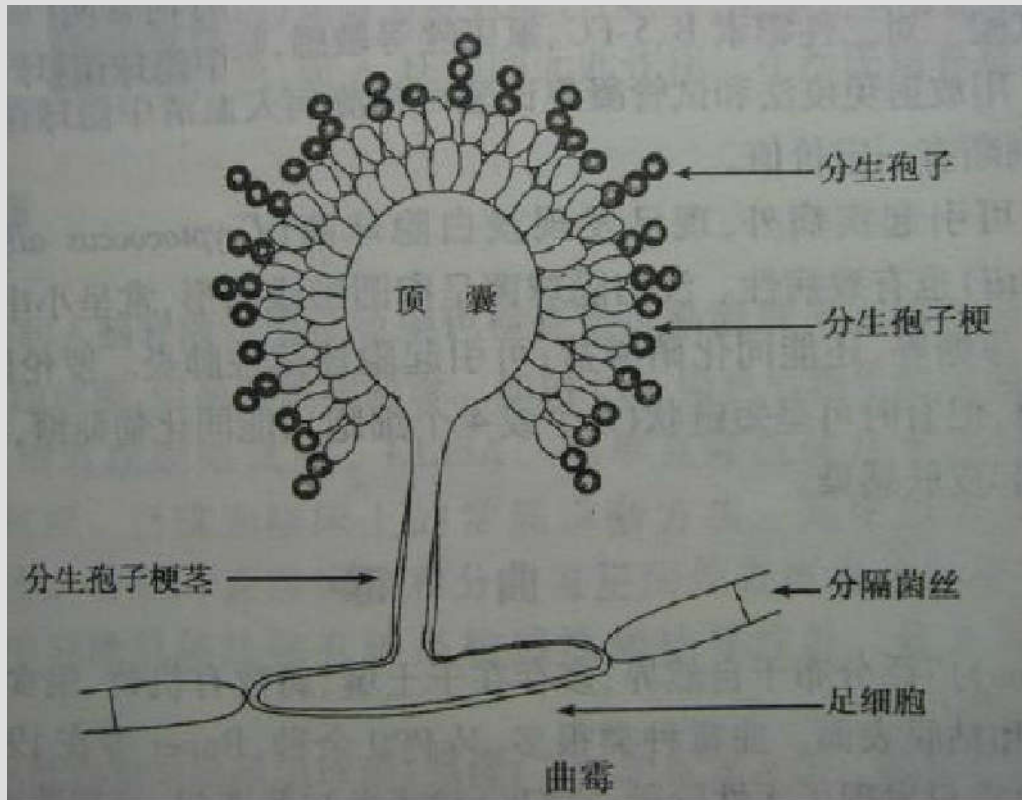
杂色曲霉,光镜 X400

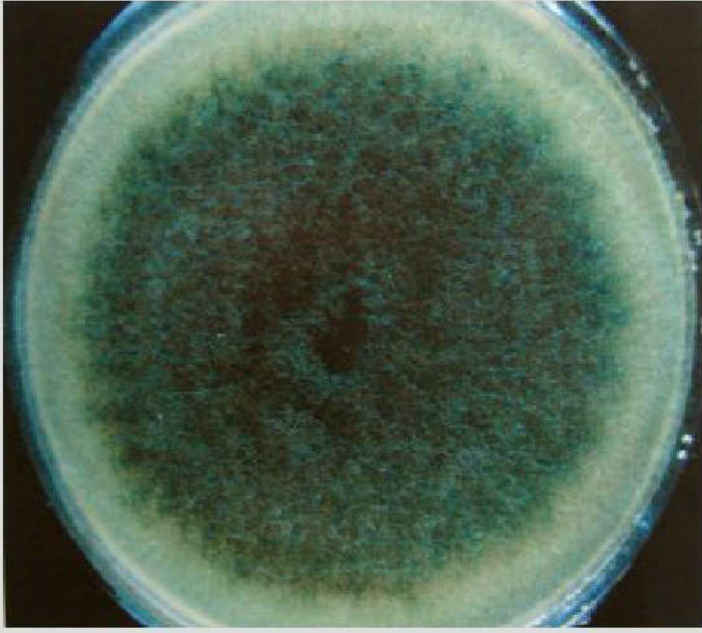
曲 霉 菌

- 曲霉菌是条件致病菌，人体对其有极强免疫力，只有在人体免疫功能降低时才能致病。
- 曲霉可引起呼吸系统曲霉病；全身性曲霉病；曲霉可产生毒素引起机体食物中毒；致癌作用。
- 最常见的是烟曲霉、黄曲霉和黑曲霉。

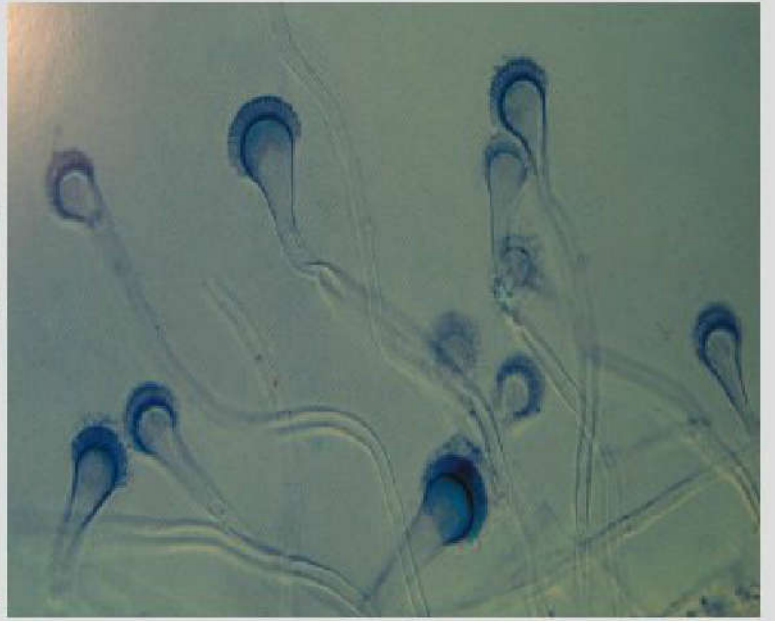
曲霉微生物检验

- **直接显微镜检查** 取痰液等被检材料涂于载玻片上，在镜下可见分枝的菌丝、较粗的分生孢子头，顶端膨大形成顶囊，顶囊上有小梗，小梗上有许多小分生孢子。
- 抗原检测、抗体检测、药敏试验、皮肤试验。
- 分离培养与鉴定：标本接种沙氏琼脂，室温培养后菌落形成快，呈毛状，一般为黄绿色。将菌落涂片镜检可见特征性的分子孢子头和足细胞。根据不同的**曲霉的形态和菌落特征**确定菌种。

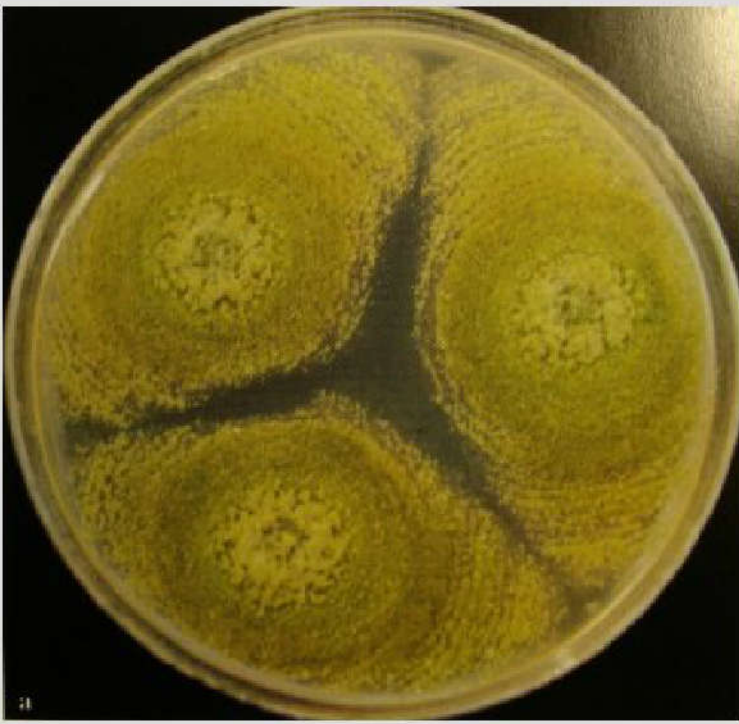




烟曲霉菌落



烟曲霉,光镜 X400



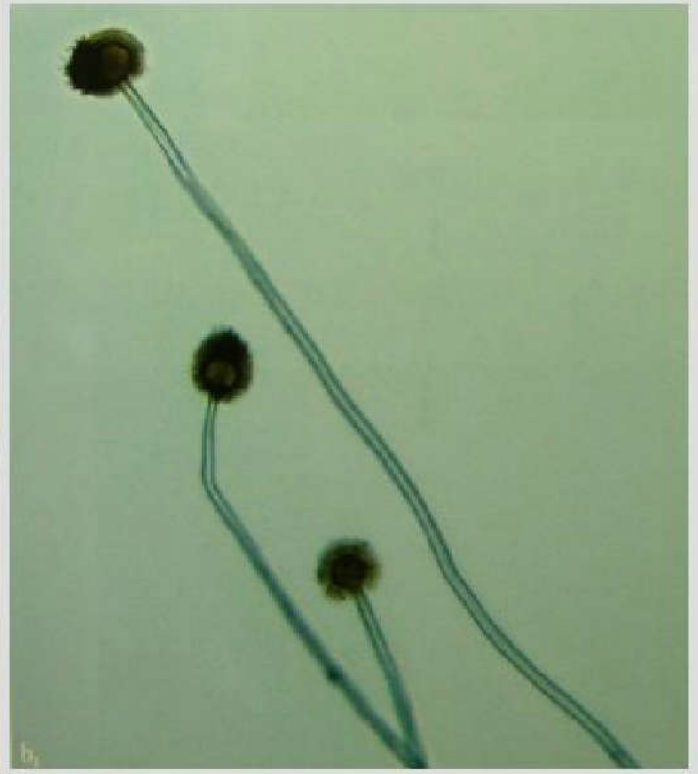
黄曲霉菌落



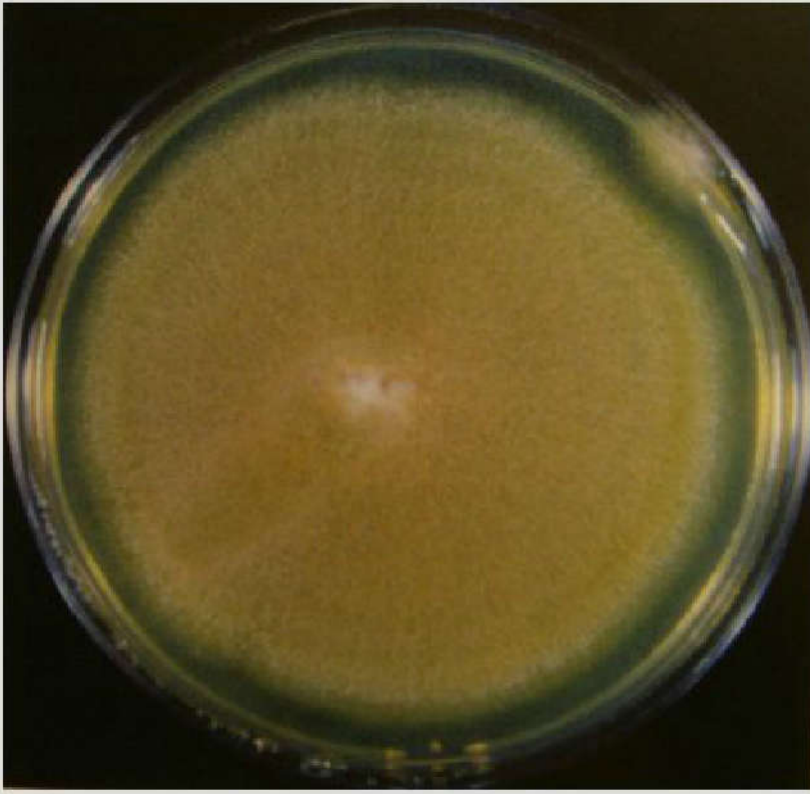
黄曲霉,光镜 X200



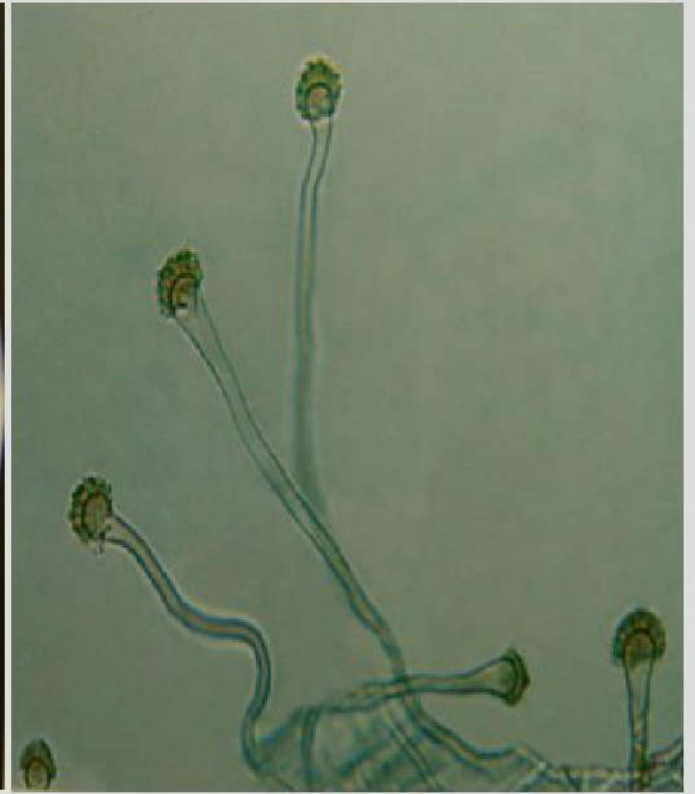
黑曲霉菌落



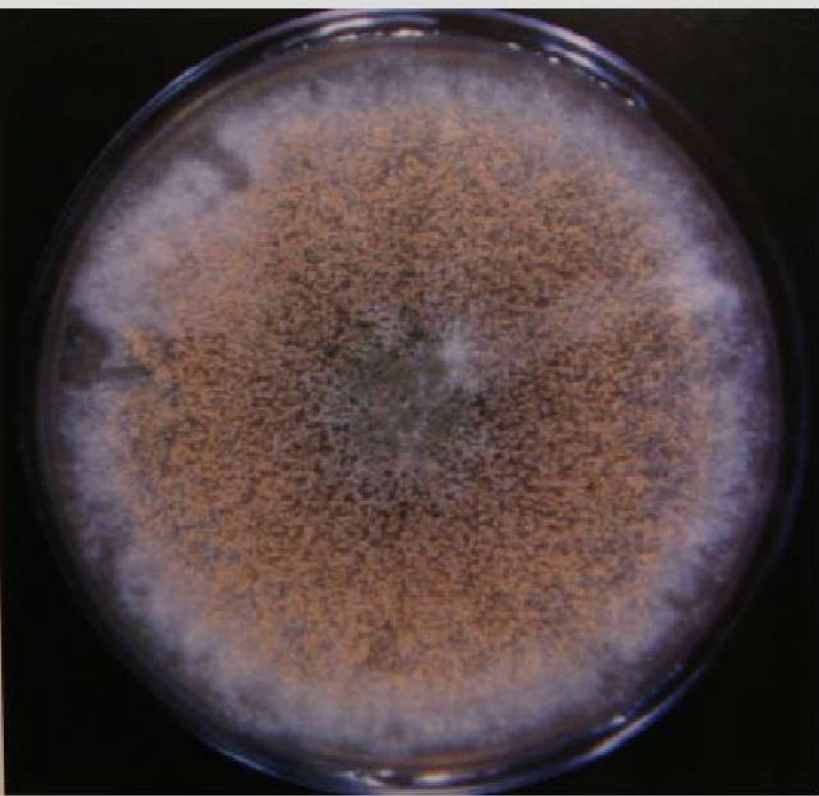
黑曲霉,光镜 X200



土曲霉菌落



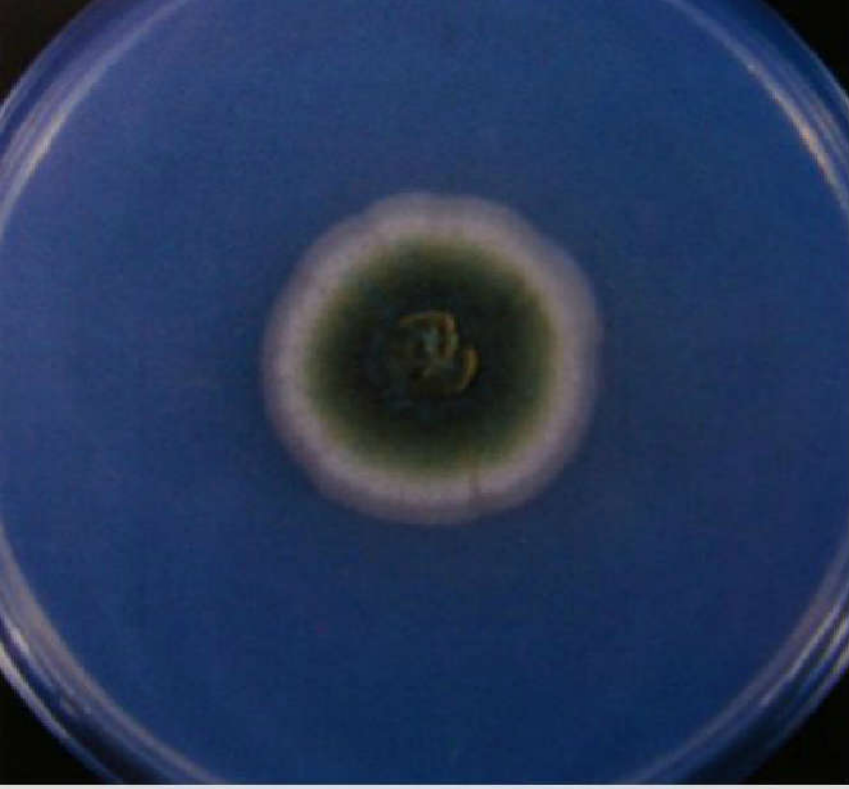
土曲霉，光镜 X200



构巢曲霉菌落



构巢曲霉,光镜 X400



杂色曲霉菌落



杂色曲霉,光镜 X400

组织胞浆菌属

- 有两个种：荚膜组织胞浆菌、组织胞浆菌的杜波变种。
- 本菌传染性极大，主要侵犯网状内皮系统，有时也可由血行播散而侵犯全身各脏器。
- 组织胞浆菌是一种**双相型真菌**，在25℃培养时呈典型菌丝体，在37℃培养时为酵母型，位于细胞内或外。

微生物检验



1.直接显微镜检查 应涂片染色后检查。

痰液等标本：涂片后先用甲醇固定10min，再用姬姆萨染色镜检。

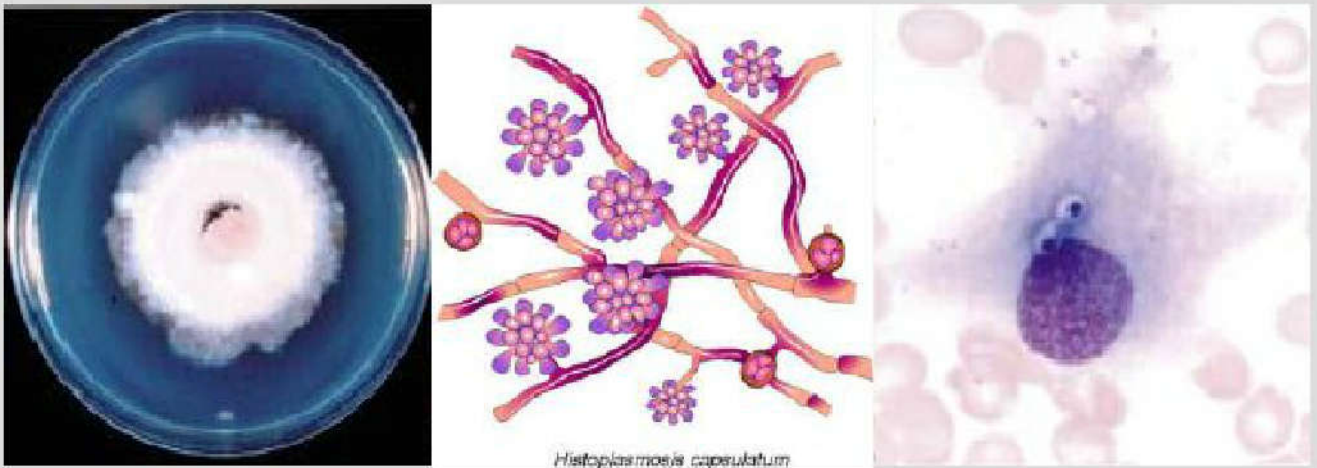
皮损、脓液等标本：用20%KOH涂片后镜检

2.抗原检测、药物敏感试验、抗体检测

3.分离培养与鉴定

①标本  含抗生素的沙氏培养基  25℃培养，生长缓慢，有时需4~6周才开始生长，逐渐形成白色至棕色绒毛状菌落。

- ② 转种于血琼脂培养基上，37℃培养，很快形成酵母型菌落。
- ③ 培养物显微镜特征：25℃沙氏培养，可以发现特征性的大分生孢子，但初代培养不典型，继代培养可有典型大分生孢子。
- ④ 鉴定：取可疑菌落涂片染色镜检，并作脲酶试验和明胶液化试验。



荚膜组织胞浆菌菌落为棉絮状，镜检可见细长有隔菌丝，菌丝侧面或孢子柄上长有特殊的圆形大分生孢子，厚壁，四周有棘突，排列如齿轮直径8~14 μm ，表面有指状突起，形成对组织胞浆菌有突出诊断意义的特征性齿轮状大分生孢子。血液标本油镜下镜检可见在中性粒细胞或单核细胞中有卵圆形或圆形的酵母细胞。

卡氏肺孢菌

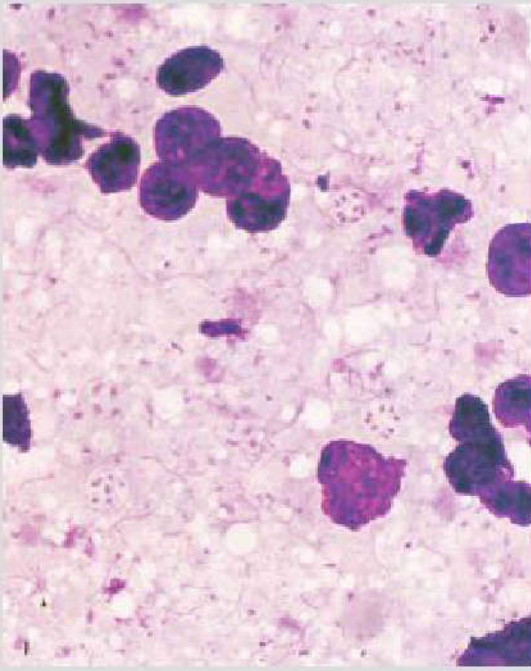
- 卡氏肺孢菌（*pneumocystis carinii*, PC），曾称为卡氏肺孢子虫。
- 卡氏肺孢菌可寄生于多种动物，也可寄生于健康人体。广泛分布于自然界，如土壤和水等。卡氏肺孢菌病的传播途径主要是空气传播，在健康人体内，多为无症状的隐性感染。当宿主免疫力下降，如长期使用免疫抑制剂、器官移植、肿瘤、艾滋病等，潜伏的卡氏肺孢菌在病人肺内大量繁殖扩散，使肺泡上皮细胞受损，导致间质性浆细胞肺炎，又称卡氏肺孢菌性肺炎（PCP）。

卡氏肺孢菌微生物检验

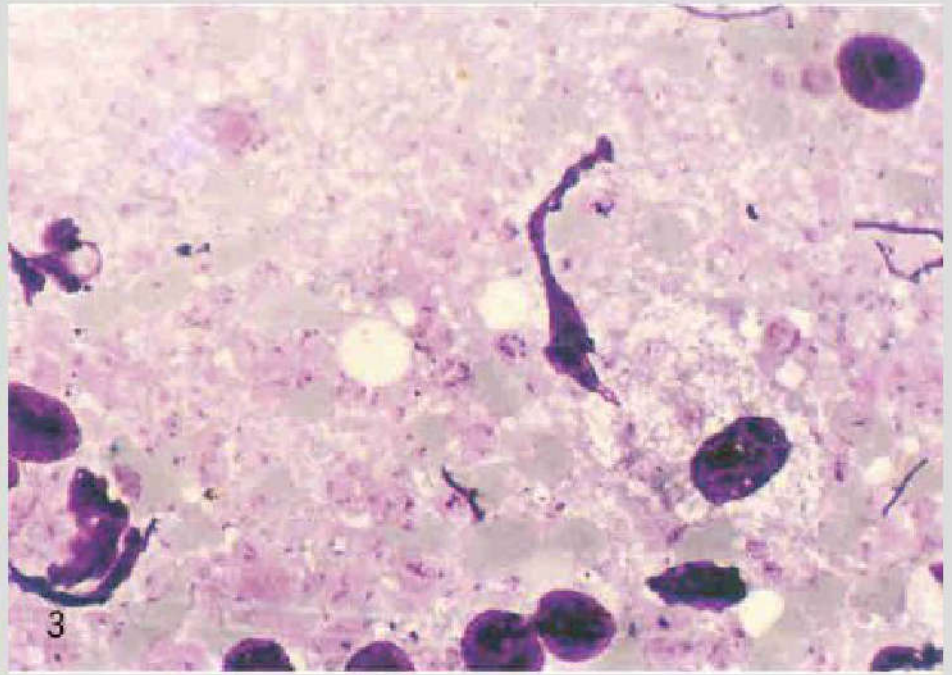
- 直接显微镜检查

从患者痰液、支气管肺泡灌洗液或肺活检组织中检查PC是确诊本病的重要依据。常用的染色方法有吉姆萨染色、果氏环六亚甲基四胺银染色(GMS)和亚甲胺蓝染色。可以检出包囊和滋养体两种形态。

- 抗原检测，核酸检测，抗体检测等。



卡氏包囊




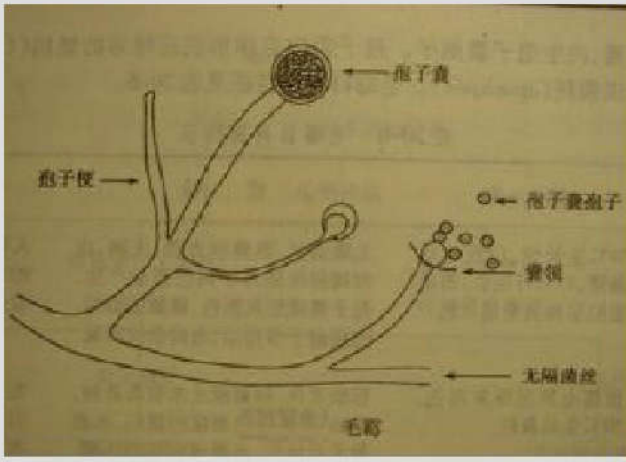
卡氏包囊和滋养体

毛霉目真菌

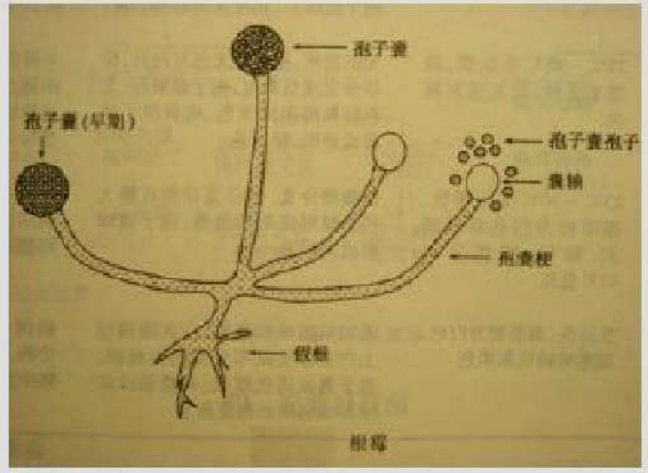
- 毛霉目真菌属于接合菌门、接合菌纲，有7个科，主要是毛霉科。
- 本病是一种发病急，进展快、病死率极高的系统性条件致病性真菌感染。
- 毛霉目真菌有无隔菌丝，在一些陈旧培养基中偶见有隔菌丝。

毛霉目真菌微生物检验

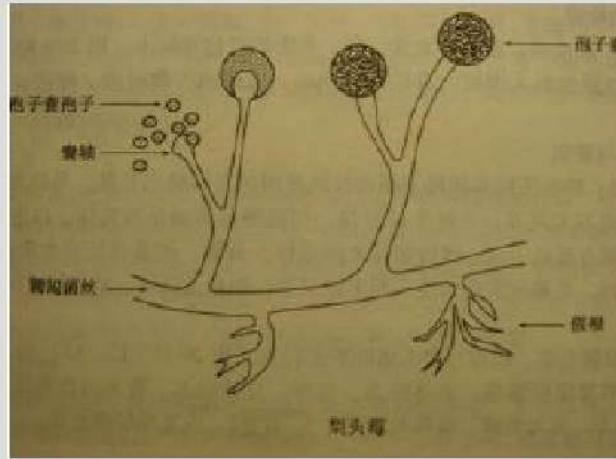
- 直接镜检 临床标本 + 20%KOH  湿片，直接镜检可见折光性强的粗大菌丝，偶见孢子囊及孢子囊梗。
- 分离培养 临床标本接种于不含放线菌酮的麦芽糖培养基、马铃薯培养基及沙氏琼脂培养基，25℃或37℃培养。
- 药物敏感试验，抗体检测。
- 鉴定 根据毛霉、根霉与梨头霉的形态特点。



毛霉



根霉



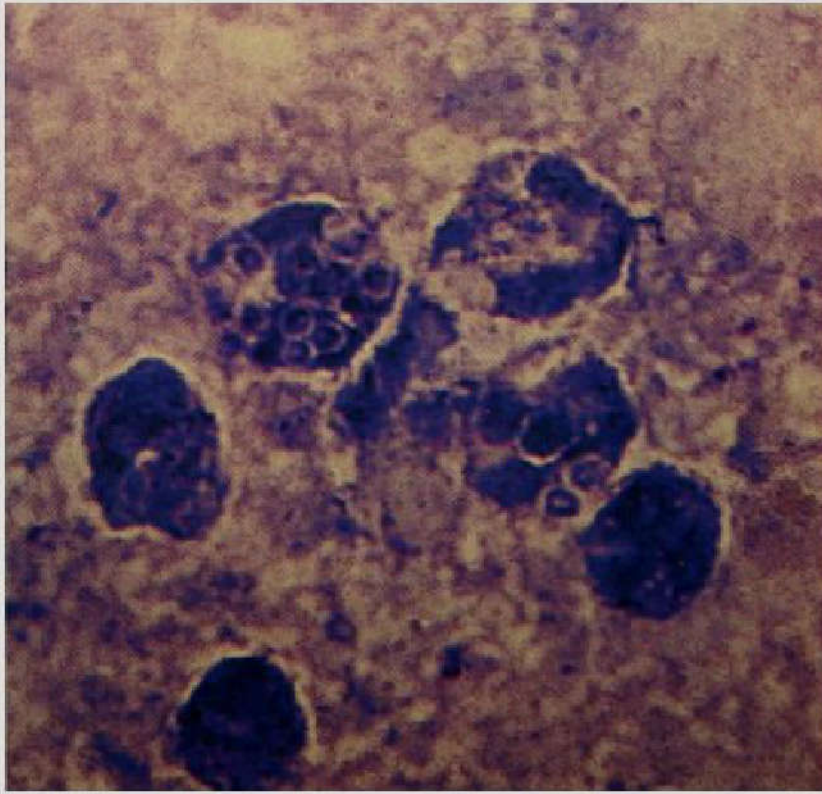
梨头霉

马尼尔菲青霉

- **双相性**，在自然界中以菌丝形式存在，在组织中则可形成小圆形到椭圆形细胞。
- 马尼尔菲青霉可引起马尼尔菲青霉病，引起广泛性播散性感染，主要侵犯人的网状内皮系统。

马尼尔菲青霉微生物检验

- **标本直接检验**：取骨髓涂片、皮肤印片或淋巴结活见到典型圆形或卵圆形噬细胞内。
- 沙氏培养基上，在25℃。
- 抗原检测
- 鉴别要点：马尼尔菲青霉的孢子易与荚膜组织胞浆菌孢子相混淆，但前者孢子常有横隔，从不出芽。





马尼尔菲青霉 菌丝相



马尼尔菲青霉 酵母相

镰刀菌

- 镰刀菌生态适应性强，广泛分布于自然界土壤、植物的地上及地下部分或植物碎片，甚至可存在于沙漠及北极地区。
- 镰刀菌引起人类感染尤其是在免疫缺陷病人正逐年增多，其发病率和病死率仅次于白色假丝酵母菌和曲霉感染。

镰刀菌微生物检验

- 标本直接检验：可见分支、分隔的菌丝，与曲霉的镜下特征相似。
- 培养鉴定：常有培养基有燕麦培养基、马铃薯葡萄糖琼脂、石竹叶琼脂、合成琼脂、KCl培养基和土壤琼脂。PDA 和OA可用以观察菌落形态和色泽，产孢有时较少。KCl培养基可用以观察分生孢子链的形成。土壤培养基有利于快速形成厚壁孢子。