

六种假丝酵母在不同培养基中形成厚膜孢子的情况观察

吴绍熙 曹正仁

(江苏皮肤病防治研究所, 泰州)

在使人可能致病的酵母菌中, 白色假丝酵母(*Candida albicans*)是最常见的一种。对白色假丝酵母的鉴定方法很多, 目前一般认为最简便、最快的初步鉴定方法是观察在其假菌丝末端是否形成典型的厚膜孢子^[1,2]。然后可再结合生化特性及动物接种等方法做进一步鉴定。

据报道, 加有乳化剂的培养基对白色假丝酵母厚膜孢子的形成有加速作用^[3-6]。我们试用20种培养基作了乳化剂添加与否对白色假丝酵母生长的影响试验, 并将其它五种对人可能有致病性的酵母菌: 类星形假丝酵母(*Candida stellatoidea*)、热带假丝酵母(*Candida tropicalis*)、克柔氏假丝酵母(*Candida krusei*)、副克柔氏假丝酵母(*Candida parakrusei*)及季也蒙氏假丝酵母(*Candida guilliermondii*)作为对照进行观察。并且利用加有1%吐温80的玉米琼脂培养基对临床上分离出来的71株酵母样菌进行鉴定。现将结果简报如下:

材料及方法

一、材料

(一) 菌种

本所保存的菌种有: 白色假丝酵母, 类星形假丝酵母, 克柔氏假丝酵母, 副克柔氏假丝酵母, 热带假丝酵母和季也蒙氏假丝酵母六种。

从临床上分离出来的酵母样菌有71株, 其中分离自口腔粘膜及痰的有24株; 分离自肛门及大便的有18株; 分离自皮肤及脓汁的有4株; 分离自阴道及其分泌物的有25株。

(二) 培养基

1. 琼脂培养基: 琼脂2克加蒸馏水100毫

升。

2. 1%吐温80(Tween 80)琼脂培养基: 在琼脂培养基中加1%吐温80。

3. 玉米培养基: 玉米粉10克, 加蒸馏水100毫升。

4. 1%吐温80玉米培养基: 玉米培养基中加入1%吐温80。

5. 玉米琼脂培养基: 玉米粉4克, 琼脂2克, 加蒸馏水100毫升。

6. 1%吐温80玉米琼脂培养基: 玉米琼脂培养基中加入1%吐温80。

7. 银坊米*琼脂培养基: 以银坊米代替玉米培养基中的玉米。

8. 1%吐温80银坊米琼脂培养基: 银坊米琼脂培养基中加入1%吐温80。

9. 信浓米*琼脂培养基: 以信浓米代替银坊米。

10. 1%吐温80信浓米琼脂培养基: 信浓米琼脂培养基加1%吐温80。

11. 人血清培养基。

12. 1%吐温80人血清培养基: 人血清加1%吐温80。

13. 蛋清培养基。

14. 1%吐温80蛋清培养基: 蛋清加1%吐温80。

15. 人尿培养基。

16. 1%吐温80人尿培养基。

17. 4%十六烷醇玉米琼脂培养基: 玉米琼脂培养基中加4%十六烷醇。

18. 1%十六烷醇玉米琼脂培养基: 玉米琼

* 银坊米、信浓米均为大米。

脂培养基中加1% 十六烷醇。

19.4%司潘 80 (Span 80) 琼脂培养基: 琼脂培养基中加4% 司潘 80。

20.1%司潘 80 琼脂培养基: 琼脂培养基中加1% 司潘 80。

二、培养方法

将上述六种假丝酵母分别接种在20种培养

基中,并将临床上分离到的 71 株酵母样菌接种在1%吐温 80 玉米(或大米)琼脂培养基中。然后各取三滴培养基于载玻片上,盖上盖玻片,于22—28℃的温箱中培养,分别于4,8,12,16,20,24 小时观察菌的生长情况。

实验结果

实验结果见表 1。除白色假丝酵母和类星

表 1 两种假丝酵母在20种培养基上生长厚膜孢子情况

观察结果 培养基编号	菌种及观察 时间(小时)	白 色 假 丝 酵 母						类 星 形 假 丝 酵 母					
		4	8	12	16	20	24	4	8	12	16	20	24
1		-	-	+	+		+	-	-	±	±		-
2		-	-	-	+++		+++	-	-	±	±		-
3		-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	±
4		-	-	++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	±
5		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
6		-	-	++	+++	+++	++++	-	-	-	-	-	±
7		-	-	+++	+++	+++	++++	-	-	-	-	-	±
8		-	-	+++	+++	+++	++++	-	-	±	±		±
9		-	-	+++	+++	+++	++++	-	-	±	±		±
10		-	-	+++	+++	+++	++++	-	-	±	±		±
11		-					±	-	-	±	±		±
12		-					±	-					-
13		-					-	-					-
14		-					±	-					-
15		-					±	-					-
16		-					±	-					-
17					+						-		
18					+++						-		
19					+++						-		
20					+++						-		

注: 表中“-”示无厚膜孢子生长;“±”示假菌丝顶端膨胀呈孢子状,但无典型厚膜或孢子出现芽管;“+”示每视野(400×)有 0—1 个厚膜孢子;“++”示每视野(400×)有 2—5 个厚膜孢子;“+++”示每视野(400×)有 6—10 个厚膜孢子;“++++”示每视野(400×)有 10 个以上厚膜孢子。

表 2 71 株酵母样菌在 1% 吐温 80 玉米琼脂培养基上鉴定的结果

菌株类别 分离菌株 的来源	白色假丝酵母(份)	其它假丝酵母(份)
口腔(痰)	22	2
肛门(大便)	18	
皮肤(脓汁)	1	3
阴道(白带)	22	3
合计	63	8

形假丝酵母有厚膜孢子形成外,其它四种假丝酵母在 20 种培养基上均无厚膜孢子形成。

从临床分离到的 71 株酵母样菌在1%吐温 80 玉米培养基上培养,其结果见表 2。

对上述 71 株酵母样菌中的大部分菌株又进行了糖发酵试验,其结果和培养基鉴定结果相同。

讨 论

1. 从上述试验结果看出, 六种假丝酵母在不同培养基上生长的情况不同。在含玉米或大米成份的培养基中, 白色假丝酵母均有厚膜孢子形成, 在加有 1% 吐温 80 的培养基中厚膜孢子生长更多、更快, 一般在 24 小时内即可出现。而其它五种假丝酵母, 只见到一些假菌丝形成, 并无厚膜孢子。在类星形假丝酵母的培养基中, 虽然也可见到一些假菌丝和顶端膨胀成孢子状的结构, 但无典型厚膜, 出现的时间也较晚。

2. 1960 年 Taschdjian^[7] 曾将萨氏培养基 (Sabouraud) 上分离出来的 50 份酵母样菌, 在入血清培养基上培养, 发现其中有 36 份酵母样菌的孢子长出特殊的短小芽管。在用玉米浆加吐温 80 的培养基培养时, 这 36 份酵母样菌和白色假丝酵母完全相同。由此证明由孢子长出短小芽管是白色假丝酵母的一种特征, 是鉴定白色假丝酵母的很好依据。在观察 24 小时后, 白色假丝酵母、热带假丝酵母和类星形假丝酵母出现了假菌丝, 而其它假丝酵母则不产生假菌丝, 也不出现芽管。故认为孢子长出芽管的特征在临床上很有诊断价值。

3. 1963 年 Buckley 和 Uder^[8] 用蛋清作为培养基试验, 发现 84 份白色假丝酵母及 25 份类星形假丝酵母全部产生短小芽管, 24 小时后出现假菌丝, 而 54 份非白色假丝酵母及非类星形假丝酵母均不出现此现象。我们重复此项试验, 结果是除白色假丝酵母出现少量芽管外, 类星形假丝酵母未见明显的芽管, 在加入 1% 吐温 80 时, 亦未见促进厚膜孢子的形成。

以血清或蛋清作为培养基的试验结果, 说明血清或蛋白类培养基对酵母样菌厚膜孢子的形成影响不大, 即使加入乳化剂也无帮助。

4. 为了探讨玉米对假丝酵母生长的影响, 我们曾试用单纯的玉米培养基培养六种菌, 结果对六种假丝酵母的厚膜孢子形成无作用, 当加入 1% 吐温 80 时, 只有白色假丝酵母能明显出现厚膜孢子 (因玉米浆混浊, 镜检时透明度稍差)。

5. 鉴于白色假丝酵母易感染人的泌尿系

统, 我们又试用人尿及加 1% 吐温 80 的人尿作为培养基, 观察其对假丝酵母生长的影响, 结果发现人尿对白色假丝酵母形成厚膜孢子无明显作用, 虽然偶见一些孢子产生芽管, 但无明显假菌丝, 当加入 1% 吐温 80 时, 仍无典型的厚膜孢子形成。

6. 添加的吐温 80 是吐温类物质中对白色假丝酵母的刺激作用最佳者。因吐温 80 的乳化作用主要是防止培养基的离子化, 使白色假丝酵母不能很好利用其营养成份, 不能正常生长^[6]。其它乳化剂的作用, 试验结果表明, 司潘 80 与吐温 80 的作用相似, 十六烷醇也有很明显的促进作用。由此看来防止培养基的离子化、造成不利于生长的条件, 对白色假丝酵母厚膜孢子的形成确有一定的促进作用。

根据上述结果, 我们又将原培养基中的主要成份——玉米或大米除去, 用单纯琼脂或在其中加入 1% 吐温 80 的培养基进行试验, 结果发现, 在单纯琼脂培养基中对白色假丝酵母厚膜孢子的形成影响较小, 而加有 1% 吐温 80 时则有明显的刺激作用, 此现象在其它假丝酵母中未见到。由此说明, 对促进白色假丝酵母厚膜孢子形成的培养方法还需改进。

关于厚膜孢子的形成原因, 目前认为主要是由于培养条件不利于白色假丝酵母生长之故, 至于加入 1% 吐温 80 后, 厚膜孢子的形成更快更多的原因现在还无肯定的解释。

参 考 文 献

- [1] Taschdjian, C. L.: *Mycologia*, 49: 332, 1957.
- [2] Sina, B. and F. Reiss: *J. Invest. dermat.*, 29: 263, 1957.
- [3] Dalman, L. M.: *Ann. de Parasit.*, 7: 536, 1959.
- [4] Croft, C. C. and L. A. Black: *J. Lab. Clin. Med.*, 23: 1248, 1938.
- [5] Nickerson, W. J. and A. Mankowski: *J. Infect. Dis.*, 92: 20, 1953.
- [6] Seeliger, H. P. R.: *Z. Hyg. Infekt. Kr.*, 141: 488, 1955.
- [7] Taschdjian, C. L. et al.: *A. M. A. J. Dis. Child.*, 99: 212, 1960.
- [8] Buckley, H. R. and N. van Uder: *Sabouraudia*, 2: 205, 1963.