

# 鼻咽癌组织真菌分离和鉴定

胡 海

(广东省微生物研究所, 广州)

广东位于我国南部,属热带亚热带地区,高温高湿,适于真菌生长繁殖,是中国鼻咽癌高发区,鼻咽癌的发生是否与真菌有关?鼻咽腔中真菌群落及其代谢活动,对鼻咽癌的发生影响如何?是值得深入探讨的。我们从1978年3月至1979年10月,与中山医学院附属肿瘤医院和肿瘤研究所协作,对305人鼻咽癌病组织进行了真菌分离和鉴定。

## 材 料 和 方 法

### 一、鼻咽癌组织的真菌分离

1. 取样: 用消毒“活检钳”由鼻孔深入鼻咽腔,取鼻咽癌病灶组织少许,置于装有 Hank's

稀释液小瓶中。

2. 分离: 从 Hank's 液瓶里取出样品,置于灭菌的平皿中,用 Hank's 稀释液冲洗15次,然后剪成小块,接种于试管斜面沙氏培养基(其成分是葡萄糖40g,蛋白胨10g,琼脂18g,蒸馏水1000ml, pH 6.8—7.0)上。然后置28℃恒温培养,每天检查,如发现组织块上长出两种以上的菌落,即挑取菌落分离培养,观察2周,共做两批,一批埋砂管冰库保存,另一批转代,供日常鉴定和测定用。

3. 分离结果: 从305人中得到54个菌株,总的分离率17.7%,经病理诊断:鼻咽癌(NPC)阳性(+)和阴性(-)组织均有真菌污染, NPC

表1 从鼻咽癌组织分离真菌的统计

总 数	男	女	分离率与总活检数(%)	NPC +		NPC -	
				总 数	分离率与阳性比(%)	总 数	分离率与阴性比(%)
54	42	12	17.7	43	18.3	11	15.4

(+)占18.3%, NPC(-)占15.4% (见表1)。

### 二、菌种鉴定

54个菌株属于半知菌类,丛梗孢目和无孢菌群。

属丛梗孢科,单胞亚科,曲霉族,曲霉属(*Aspergillus* Mick ex Fr.)有24个菌株共8个种;青霉属(*Penicillium* Lk. ex Fr.)有16个菌株共8个种;粘帚霉属(*Gliocladium* Corda)1个种。

属暗梗孢科,单胞亚科,顶串孢霉族,单孢

枝霉属(*Hormodendrum* Bon)有6个菌株同为1个种。多胞亚科,蠕孢霉属(*Helminthosporium* Link ex Fr.)1个种。无孢菌群(*Mycelia sterilia*)6个菌株(见表2)。

菌种鉴定采用的分类系统: 曲霉属采用 Kenneth B. Raper, Dorothy I. Fennell 分类系

本工作得到李雅观、徐文云、胡伏班、康亚男、廖重阳、邹云珍等同志支持和帮助。肿瘤研究所潘伟建、康文礼同志协助分离。肿瘤医院门诊医师黎建成等协助取样。简浩然、齐祖调、毕志树、邓庄等先生协助菌种鉴定。陆大京、相望年先生审阅了本文,一并致谢。

表 2 菌种鉴定名录

分离菌株编号	学 名	中 译 名
79.03, 79.04, 79.06, 79.16	<i>Penicillium charlesii</i> Smith	查尔斯青霉
78.01, 79.29	<i>P. ochro-chloron</i> Biourge	赭绿青霉
79.21, 79.23, 79.27, 79.28, 79.30	<i>P. lilacinum</i> Thom	薄青霉(淡紫青霉)
79.32	<i>P. tardum</i> Thom	缓生青霉
78.02, 78.03	<i>P. claviforme</i> Bainier	棒形青霉
78.04	<i>P. fellutanum</i> Biourge	瘦青霉
79.14	<i>P. pusillum</i> Smith	细小青霉
79.10, 79.15	<i>Aspergillus wentii</i> Wehmer	温特曲霉
78.07, 78.08	<i>A. comicus</i> Blochwitz	圆锥曲霉
79.12	<i>A. caespitosus</i> Raper and Thom	丛簇曲霉
79.13, 79.17	<i>A. ochraceus</i> Wilhelm	赭曲霉
79.09	<i>A. niger</i> Van Tieghem	黑曲霉
79.11	<i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tiraboschi	杂色曲霉
78.05, 78.06, 79.18, 79.31, 79.20, 79.22, 79.24	<i>Aspergillus restrictus</i> Smith	局限曲霉
78.09, 78.10, 78.11, 78.12, 78.13, 78.14, 78.15, 78.16	<i>A. echinulatus</i> (Delacr) Thom et Church	刺孢曲霉
78.17	<i>Gliocladium catenulatum</i> Gilman et Abbott	链孢粘帚霉
79.01, 79.02, 79.05, 79.07, 79.08, 79.34	<i>Hormodendrum cladosporioides</i> (Fres.) Sacc.	芽枝单孢枝霉
79.33	<i>Hrlminthosporium ravenelii</i> Curt.	雷文长蠕孢霉 (鼠尾粟假黑粉长蠕孢霉)
78.18, 78.19, 79.19, 79.25, 79.26, 79.35	<i>Mycelia sterilia</i>	无孢菌群

统;青霉属采用 Kenneth B. Raper, Charles Thom 分类系统;粘帚霉属,单孢枝霉属,蠕孢霉属采用魏景超分类系统和参考 C. V. Subramanian 分类系统。

### 三、菌种毒性

全部菌种经 Ame's 实验小组测出了致突变的阳性和阴性。Ame's 实验方法是用鼠伤寒沙门氏菌 TA<sub>98</sub> 和 TA<sub>100</sub> 分别加 S-P 和加磷酸缓冲液作对比。渗入法和点滴法同时进行,二氨基蒽作阳性对照。

1. 渗入法: 下层培养基\*上加待测样品 0.1 ml, TA<sub>98</sub> 和 TA<sub>100</sub> 菌液分别加 0.1 ml, 再分别加 S-P 和磷酸缓冲液各 0.2 ml, 加上层培养基\*\*摇匀, 各做三个重复。

毒素提取: 每个待测菌株, 各用 2 两大米饭培养, 氯仿提取, 加 1ml 二甲基亚砷, 置冰箱

备用。

## 结果与讨论

Ame's 实验结果: 致突阳性菌有 79.11 杂色曲霉、79.32 缓生青霉、79.21 淡紫青霉和 79.14 细小青霉。

对鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) TA<sub>98</sub> 和 TA<sub>100</sub> 完全抑制生长的菌, 有 79.03 棒形青霉、79.22 局限曲霉、79.33 鼠尾粟假黑粉蠕孢霉、79.01 芽枝单孢枝霉、79.19 和 79.25 无孢菌群。

其余菌株致突阴性。动物试验待做。

\* 下层培养基成分: 琼脂粉 30g, 葡萄糖 40g, 蒸馏水 1800ml, V-BE 溶液 200ml。

\*\* 上层培养基成分: 琼脂粉 1.2g, NaCl 1.0g, 蒸馏水 200ml, 组氨酸和生物素溶液 20ml, pH7.0。

上述对 TA<sub>98</sub> 和 TA<sub>100</sub> 具有完全抑制生长的两个感孢菌群和四个霉菌菌种以及四个致突阳性的菌种, 是否与鼻咽癌发生有关, 证据还尚不充足, 仍需进一步探讨。

### 参 考 文 献

[1] Raper, K. B. & D. I. Fennell.: The genus *Asper-*

*gillus*. The Williams & Wilkins Company. Baltimore, 1965.

[2] Raper, B. K. & C. Thom.: A manual of the *Penicillia*, Hafner Publishing Company. New York & London.

[3] **魏景超**著: 真菌鉴定手册, 上海科技出版社, 第501, 558页, 1979年。

[4] Subramanian, C. V.: *Hyphomycetes*, New Delhi, P. 285, 644, 754, 1971.