

机会致病性 寄生虫

陈 艳 编

JIHUIZHIBINGXING
JISHENGCHONG

 贵州科技出版社

序

寄生虫与宿主之间的寄生关系是在漫长的共同进化过程中逐渐建立起来的,由于二者的相互作用和相互适应,许多寄生虫感染人体后并不一定导致疾病,而是与人体保持着一种“平衡的致病性状态”,表现为临床上的隐性感染和慢性感染。而当任何一方发生变化,如寄生虫的基因或宿主的免疫力发生改变时,可引起平衡的破坏,导致病原性和致病性的扩大或缩小,产生不同的临床表现和结局。机会致病性寄生虫正是明显地显示这一特点的一类寄生虫。

在实际生活中,人类的行为和社会活动在影响寄生虫与宿主相互关系,进而引起寄生虫机会性致病方面与生物因素的作用同样显得重要。近几十年来抗肿瘤药物和免疫抑制剂的大量使用造成的继发性免疫低下或免疫缺陷,是弓形虫、隐孢子虫、蓝氏贾第鞭毛虫和粪类圆线虫等出现机会性致病的主要原因;而 20 世纪 80 年代以来肆虐全球的艾滋病,其头几位死因也正是由于卡氏肺孢子虫、弓形虫和隐孢子虫等机会致病性寄生虫的感染所致。然而,目前仍有许多人包括一些临床医生都还持着对寄生虫病不太在意的旧观念。因此,认识和了解机会致病性寄生虫越来越显得重要,遗憾的是我国目前系统介绍机会致病性寄生虫的专著尚少。

为了向广大医务工作者和医学生介绍机会致病性寄生虫及其相关知识,贵阳医学院陈艳副教授在近 2 年的时间里参阅了大量书籍和文献,编写了这本专著,系统介绍了刚地弓形虫、卡氏肺孢子虫等 11 种主要的人体机会致病性寄生虫,以及免疫缺陷病合并

机会致病性寄生虫感染的知识,并涉及机会致病性寄生虫病的病原学、免疫学和基因诊断技术和培养技术等。该书内容丰富、新颖,文字简练、通畅,是一本很有实用价值的参考书。我希望在本书问世后,能继续看到新的有关这方面进展的专著出版。

包怀恩

2003年3月

前 言

机会致病性寄生虫是20世纪80年代以来随着艾滋病的发现和临床上使用免疫抑制剂治疗器官移植等免疫缺陷患者而逐渐被人们所认识及重视的。目前,随着免疫缺陷病人的不断增多,机会致病性寄生虫引起的感染越来越常见,因此,认识机会致病性寄生虫,对免疫缺陷病人进行监测及给予有效的预防性治疗是十分必要的。

人体感染寄生虫后,由于虫种、虫株毒力、感染数量以及人体免疫机能状态的不同,可产生不同的临床表现和结局。有些种类的寄生虫感染免疫功能正常的人体后,一般呈隐性感染状态,当免疫功能受损时,这些寄生虫可以出现异常增殖与致病力增强,这类寄生虫称机会致病性寄生虫。常见的机会致病性寄生虫有:卡氏肺孢子虫、弓形虫、隐孢子虫、粪类圆线虫等。

近年来,机会致病性寄生虫感染已成为艾滋病等免疫缺陷患者的主要死因之一。在美国,大约60%的艾滋病患者因伴发卡氏肺孢子虫肺炎而死亡,其他的机会致病性寄生虫感染如弓形虫脑炎、隐孢子虫、蓝氏贾第鞭毛虫、粪类圆线虫等引起的腹泻在免疫缺陷患者中也十分严重。另外,弓形虫引起的先天性弓形虫病对家庭及社会带来的危害也不容忽视,因此,对机会致病性寄生虫及其危害的认识是十分必要的。

目前,广大的医务工作者对机会致病性寄生虫及其致病性的认识不够,研究生教学又缺乏实用教材,为适应不同层次的需要,我们综合国内外最新研究进展,结合我们的工作经验,编写此书。

本书共分为六章,第一章详细介绍了 11 种重要机会致病性寄生虫的形态、生活史、分类、致病、免疫、诊断、流行和防治,另外,还介绍了免疫缺陷患者与机会致病性寄生虫感染的情况。第二章至第四章分别介绍了国内外推荐的,常用的用于机会致病性寄生虫诊断的病原学、免疫学及基因诊断技术。第五章介绍了机会致病性寄生虫动物模型的建立,虫体的分离纯化及液氮冻存技术。第六章介绍了机会致病性寄生虫疫苗的研究进展情况。

由于经验不足,水平有限,书中的缺点、错误难免,希望广大读者批评指正。

编 者

2003 年 3 月

目 录

第一章 人体重要的机会致病性寄生虫	(1)
第一节 刚地弓形虫	(1)
一、概述	(1)
二、形态及生活史	(2)
三、分类	(6)
四、致病机理及临床表现	(7)
五、免疫	(22)
六、实验诊断	(24)
七、流行及防治	(30)
第二节 卡氏肺孢子虫	(39)
一、概述	(39)
二、形态及生活史	(40)
三、分类	(41)
四、致病机理及临床表现	(44)
五、实验诊断	(45)
六、流行及防治	(50)
第三节 隐孢子虫	(55)
一、概述	(55)
二、形态及生活史	(56)
三、分类	(58)
四、致病机理及临床表现	(59)

五、免疫	(60)
六、实验诊断	(62)
七、流行及防治	(68)
第四节 蓝氏贾第鞭毛虫	(73)
一、概述	(73)
二、形态及生活史	(74)
三、分类	(75)
四、致病机理及临床表现	(76)
五、免疫	(78)
六、实验诊断	(79)
七、流行及防治	(81)
第五节 利什曼原虫	(84)
一、利什曼原虫简介	(84)
二、利什曼原虫分子分类研究进展	(86)
三、内脏利什曼原虫	(88)
四、热带皮肤利什曼原虫及硕大利什曼原虫	(103)
五、巴西利什曼原虫	(107)
第六节 人芽囊原虫	(108)
一、概述	(108)
二、形态及生活史	(110)
三、致病机理及临床表现	(111)
四、实验诊断	(112)
五、流行及防治	(113)
第七节 圆孢子虫	(115)
一、概述	(115)
二、形态及生活史	(116)
三、致病机理及临床表现	(117)

四、实验诊断	(117)
五、流行及防治	(118)
第八节 微孢子虫	(120)
一、概述	(120)
二、形态及生活史	(121)
三、致病机理及临床表现	(123)
四、实验诊断	(124)
五、流行及防治	(125)
第九节 贝氏等孢球虫	(127)
一、概述	(127)
二、形态及生活史	(127)
三、致病机理及临床表现	(129)
四、实验诊断	(129)
五、流行及防治	(130)
第十节 棘阿米巴	(131)
一、概述	(131)
二、形态及生活史	(132)
三、致病机理及临床表现	(132)
四、实验诊断	(135)
五、流行及防治	(136)
第十一节 粪类圆线虫	(139)
一、概述	(139)
二、形态及生活史	(140)
三、致病机理及临床表现	(142)
四、实验诊断	(144)
五、流行及防治	(147)
第十二节 免疫缺陷病合并机会致病性寄生虫感染	(150)

一、概述	(150)
二、发病机理	(156)
三、临床表现	(157)
四、预防	(159)
第二章 病原学诊断技术及其应用	(161)
第一节 粪便检查	(161)
第二节 排泄物与分泌物的检查	(171)
第三节 活体组织的检查	(172)
第四节 动物接种分离病原体	(177)
第五节 体外培养分离病原体	(178)
第三章 免疫学诊断技术及其应用	(185)
一、皮内试验(intradermal test, IDT)	(185)
二、染色试验(dye test, DT)	(185)
三、直接凝集试验(direct agglutination test, DAT)	(186)
四、间接血凝试验(indirect haemagglutination test, IHA)	(187)
五、胶乳凝集试验(latex agglutination test, LAT) ...	(188)
六、免疫荧光抗体试验(fluorescent antibody test, FAT) ...	(189)
七、放射免疫试验(radioimmunoassay, RIA)	(190)
八、酶联免疫吸附试验(enzyme - linked immunsorbent assay, ELISA)	(191)
九、免疫酶染色试验(immunoenzymatic staining test, IEST)	(196)

十、对流免疫电泳(counter-immuno electrophoretic assay, CIEP).....	(197)
十一、免疫印渍试验(immunoblot analysis, IA)	(197)
十二、斑点金免疫渗滤试验(dot immunogold filtration assay, DIGFA)	(199)
十三、流式细胞仪(FACS)免疫检测法	(199)
十四、单克隆抗体技术的应用	(200)

第四章 基因诊断技术及其应用 (203)

第一节 核酸杂交技术 (204)

一、核酸杂交技术的基本原理 (204)

二、核酸探针种类 (204)

三、核酸杂交技术常用的方法及应用 (206)

第二节 PCR 技术 (208)

一、PCR 技术的发展 (208)

二、PCR 技术的基本原理 (209)

三、PCR 引物的设计原则 (210)

四、PCR 扩增产物的分析鉴定 (211)

五、PCR 技术的特点 (212)

六、PCR 应用中应注意的问题 (214)

七、PCR 类型在机会致病性寄生虫方面中的应用

..... (216)

第五章 动物模型的建立、虫体分离纯化及液氮冻存技术 ...

..... (223)

第一节 卡氏肺孢子虫 (223)

第二节 刚地弓形虫 (226)

第三节	隐孢子虫	(231)
第四节	蓝氏贾第鞭毛虫	(233)
第五节	棘阿米巴原虫	(235)
第六节	利什曼原虫	(236)
第六章	机会致病性寄生虫疫苗的研究进展	(238)
第一节	死虫或减毒活疫苗及组分疫苗	(238)
第二节	亚单位疫苗	(243)
第三节	核酸疫苗	(247)
附录一	主要中英文名词对照	(250)
附录二	国内外重要的寄生虫学网站	(272)
参考文献		(284)

第一章 人体重要的 机会致病性寄生虫

第一节 刚地弓形虫

一、概 述

弓形虫的发现至今已有 100 年的历史,一个世纪以来,中外学者从不同的方面对弓形虫进行了深入细致的研究。尽管弓形虫最初是 Laveran(1900)在麻雀体内发现的,但没有作详细的描述。该虫的发现应首先归于法国学者 Nicolle 和 Manceaux。他们于 1908 年在突尼斯巴斯德研究所内饲养的一种啮齿动物——刚地梳趾鼠 (*Ctenodactylus gondii*) 的单核细胞内发现了一种类似利什曼原虫的寄生虫,经过研究,确定为一种新的寄生虫。由于该虫的滋养体似弓形,又是在刚地鼠体内发现的,故命名为刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*)。

人类弓形虫感染是捷克医生 Janku(1923)首先报道,直到 1937 年 Wolf 才首次从病人体内分离出弓形虫。以后 Sabin(1941)等发现一例 5 岁小孩急性脑炎,从其脊髓中找到一株弓形虫,并以该患者姓名的第一个字母命名为 RH 株,这就是目前世界上广泛采用的强毒株。其后,各地学者陆续在不同的地方、不同的动物(包括人)体内发现了此虫。

我国最早是于恩庶等人(1952)在福建从兔、猫、猪等动物体内发现弓形虫的。谢天华(1964)在江西发现一例眼型弓形虫病。此

后,陆续有弓形虫病例和分离到弓形虫虫株的报道。

为了弄清弓形虫的生活史,各国学者作了大量的工作,用了半个多世纪的时间。Wolf 等(1937)在一例死于脑炎的新生儿的脑中发现了此虫,认为弓形虫有先天性感染的可能;Weinman 等(1954)认为可能通过未熟的肉而传播;Hutchison(1965)认为粪便可能是传播途径之一。直到 Hutchison 等(1969、1970)和 Frenkel (1970)证实了裂体增殖和配子生殖的存在,对弓形虫的整个生活史才有了进一步的了解。

20 世纪 70 年代以后,弓形虫的研究进入了更新、更广的领域,包括虫体超微结构、生物学特性、同工酶的检测、抗原组分的分析、组织培养、免疫学诊断技术、单克隆抗体及有效药物筛选等方面的研究。由于免疫学的发展和免疫学检测方法的不断改进,一些特异性强、敏感性高的免疫诊断方法得到了推广和普遍应用,从而对人畜弓形虫感染的流行情况有了较全面的了解。

近十余年来,随着分子生物学技术的不断发展,基因研究技术的不断改进及各学科的逐渐渗透,弓形虫及弓形虫病的研究进入了一个新的阶段,发展到了基因的研究水平,生物工程技术的发展将为弓形虫疫苗的研制提供良好的前景。目前,弓形虫治疗的研究已转入了免疫治疗的探索之中,相信抗弓形虫药物及免疫治疗联合应用,是完全根治弓形虫病的重要途径之一。

二、形态及生活史

(一)形态 弓形虫发育的全过程,可有 5 种不同的形态阶段:滋养体、包囊、裂殖体、配子体和卵囊。

1. 滋养体 为速殖子(tachyzoite)和缓殖子(bradyzoite)的总称,是指在中间宿主有核细胞内营分裂繁殖的虫体。速殖子见于急性弓形虫病时期,可散在腹腔渗出液及血液中,也可在宿主细胞内形成数个至十余个速殖子的集合体,称假包囊。缓殖子见于慢

性或隐性感染者的脑、眼、骨骼肌等组织细胞内的包囊中。二者的形态相似,呈新月形或香蕉形,一端较尖,一端钝圆。长 $4\sim 7\mu\text{m}$,宽 $2\sim 4\mu\text{m}$,姬氏染色后胞质呈蓝色,胞核呈紫红色,核位于虫体中央,有时在核与尖端之间有染成浅红色的颗粒称副核。用苏木素染色时可见核膜和核仁。

电镜下,虫体的表膜分两层,外膜是典型的单位膜,包绕整个虫体,在侧缘向内凹陷而成胞口样微孔。内膜稍厚,在虫体的前、后端增厚形成极环。膜下微管起于前端的极环向后延伸至后环,其数目通常为22条。虫体的前端还有类锥体结构,类锥体是由一组或几组向上旋曲而中空的弓形线组成。棒状体 $8\sim 10$ 条,腺体样结构,是类锥体向后延伸的部分,棒状体周围有数量较多的微线体。胞核位于虫体后半部,染色质束状,分布于整个核及其周围。核仁位置不定,高尔基体常位于核的前沿凹陷处。线粒体一至数个,虫体还有发达的粗面内质网、溶酶体和核糖体。

2. 包囊 常见于慢性感染者的脑、眼、骨骼肌等组织细胞内。包囊呈圆形或椭圆形,外面有一层富有弹性的囊壁。囊内有数个至数千个缓殖子,包囊的大小从 $5\sim 100\mu\text{m}$ 不等。缓殖子的形态与速殖子的形态相似,仅核的位置稍偏后。电镜下,可见整个包囊内的缓殖子之间充满着颗粒状物。

包囊可长期存在于组织细胞内,可随着囊内缓殖子的分裂繁殖而逐渐增大。一定条件下,包囊破裂,虫体逸出,侵入其他组织细胞内,形成新的包囊。

包囊与假包囊的区别:包囊主要见于慢性患者和隐性感染者,假包囊主要见于急性感染时期;包囊的膜是由虫体分泌而形成的,假包囊的膜系宿主细胞的膜所构成,实际上假包囊就是含有数个至数十个速殖子的各种有核吞噬细胞。

3. 裂殖体 见于终宿主小肠绒毛上皮细胞内。成熟的裂殖体为长椭圆形,大小为 $12\sim 15\mu\text{m}$,内含 $4\sim 29$ 个裂殖子,以 $10\sim$

15 个居多。呈扇形排列，裂殖子如新月状， $7\sim 10\mu\text{m}\times 2.5\sim 3.5\mu\text{m}$ ，前尖后钝。

4. 配子体 配子体有雌雄之分，雄配子体圆球形，直径约 $10\mu\text{m}$ ，用姬氏染色，核呈淡红色而疏松，细胞质呈淡蓝色。成熟后形成 $12\sim 32$ 个雄配子。新月形，长约 $3\mu\text{m}$ 。电镜下可见前端部有二根鞭毛。

雌配子体呈圆形，成熟后称雌配子，在成长过程中形态变化不大，只体积增大，可达 $15\sim 20\mu\text{m}$ ，染色后可见核深红色，较小而致密。

5. 卵囊 也称囊合子，呈圆形或椭圆形，具有双层光滑透明的囊壁。成熟的卵囊大小为 $10\mu\text{m}\times 12\mu\text{m}$ ，内含两个孢子囊 (sporocyst)，每个孢子囊含 4 个子孢子。子孢子大小为 $2\sim 8\mu\text{m}$ ，形态类似滋养体。

(二)生活史 弓形虫的生活史包括有性生殖和无性增殖阶段，全过程需要两种宿主，终宿主为猫科动物，重要的为家猫。中间宿主种类广泛，有哺乳动物、两栖动物、爬行动物、鸟类、鱼类和人等。猫科动物亦可作为中间宿主。有性生殖在猫科动物的小肠上皮细胞内进行，称肠内期发育；无性增殖阶段可在肠外组织、细胞内进行，称肠外期发育。弓形虫对中间宿主的选择性极不严格，对寄生组织细胞亦无选择性，除红细胞外，任何有核细胞均可寄生。

1. 中间宿主体内的发育 当猫粪内的成熟卵囊或动物肉类中的包囊或假包囊被中间宿主如人、猪、鸡等吞食后，在肠内逸出子孢子、缓殖子或速殖子，随即侵入肠壁经血液或淋巴液扩散全身，入侵各种有核组织细胞内，并以内二芽殖法或二分裂繁殖生成速殖子，随着宿主细胞的胀破，释出的速殖子又侵入新的细胞，不断繁殖。在急性患者，速殖子可游离于血液及组织液中，也可在细胞内形成假包囊。如果急性患者为孕妇，速殖子可以经胎盘传给

胎儿。当宿主产生一定免疫力时，速殖子侵入细胞后，繁殖减慢，转变成缓殖子，形成包囊。包囊为寄生在中间宿主体内的最终形式。包囊在宿主体内可存活数月、数年、甚至终生不等。包囊也可破裂，缓殖子散出又可侵入附近的细胞而形成更多的包囊。

2. 终宿主体内的发育 当成熟卵囊、包囊或假包囊被猫科动物吞食后，释出的子孢子或滋养体部分可穿入肠壁小血管，在肠外其他组织细胞中形成假包囊或包囊，更主要是侵入小肠绒毛上皮细胞，进行裂体增殖。经过几代裂体增殖后，部分裂殖子发育成雌、雄配子体，再发育成雌、雄配子。继而进行配子生殖，生成合子，发育成卵囊。卵囊破出上皮细胞进入肠腔，随粪便排出体外，由猫粪刚排出的卵囊没有感染性，需在外界进一步发育成熟(图 1-1)。

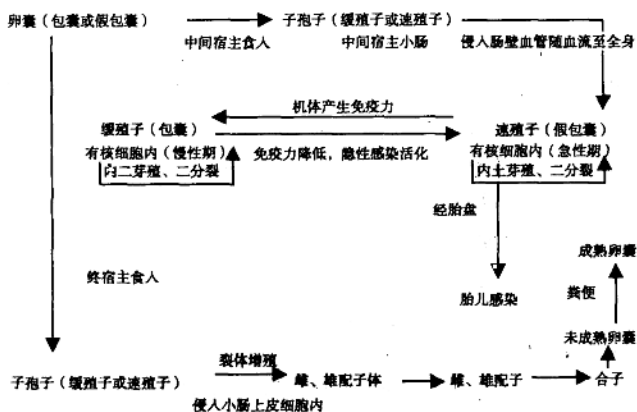


图 1-1 弓形虫生活史示意图

3. 生活史特点

(1) 弓形虫整个生活史较为复杂，全过程的发育需二个宿主，

猫及猫科动物为终宿主,人及多种动物包括猫科动物为中间宿主。

(2)弓形虫对中间宿主及寄生的组织细胞无严格的选择性,除红细胞外,可寄生在各种有核细胞内。

(3)滋养体、包囊、假包囊及卵囊均具有感染性。

(4)人体的感染主要有先天性(经胎盘)和后天性(经口、经皮肤粘膜、输血及器官移植等)二种感染方式。

三、分 类

弓形虫属于顶复亚门(Apicomplexa)、孢子虫纲(Sporozoasida)、真球虫目(Eucoccidiorida)、艾美尔亚目(Eimeriorina)、弓形虫属(*Toxoplasma*)。一般认为,弓形虫只有一个种,一个血清型,对弓形虫虫株的分类还没有一个客观的定论,只是根据弓形虫对动物模型鼠的致病力大小将弓形虫不同分离株分为强毒株和弱毒株。

弓形虫 DNA 有 3 种存在形式:染色体 DNA,线粒体 DNA 和类质共生体(plastid)DNA。弓形虫染色体 DNA 在有丝分裂阶段和速殖子二分裂前期,其核质皆为单倍体型。每个单倍体核有 11 条染色体,每条染色体长度约为 7×10^7 bp,其大小在不同分离株之间差异小于 20%;虫体内染色体之间的重组概率很低,但在体外其重组几率每厘摩可达 100~300kb。染色体组 DNA 中 G+C 含量约为 55%,没有甲基化的碱基。含量相对丰富的蛋白质如 P30 和 ROP 1,已被公认为毒力因子,它们的基因为单拷贝,且都为非断裂基因;它们的密码子的第三位碱基都倾向于使用 G 和 C,但其他含量较少的虫体成分其密码子无此倾向。这二种毒力因子的基因已经定位于 8 号染色体,而在该染色体的末端,可能还存在其他毒力相关 DNA 序列。弓形虫基因组 DNA 中,除少数虫体蛋白的编码序列外,其余的有重要生命意义的调控序列尚未发现。用 RFLP 对多种分离株的主要等位基因位点进行分析,大致可将