

人兽共患病之谜

衣原体和 动物衣原体病

杨宜生 姜天童 方雨玲 编著

An enigma for the zoonoses

CHLAMYDIA AND ANIMAL
CHLAMYDIOSIS

湖北科学技术出版社

序

衣原体是广泛感染畜禽、野生动物和人类的一群独特的微生物,引起流产、肺炎和支气管肺炎、胃肠炎、脑脊髓炎、结膜炎和多关节炎等多种多样的疾病,还有更多的人和动物在感染后呈隐性经过和无症状带菌状态。衣原体病不仅危害畜牧业的发展,造成巨大经济损失,而且严重威胁人类健康。但是,毋庸讳言,我们对于衣原体和衣原体病的认识却很不够,在有关这种人畜共患病的病原研究以及诊断和防治等工作上都还存在许多薄弱环节乃至空白。国内缺乏一本介绍这方面知识和技术的专著,可能是其重要原因之一。

有鉴于此,杨宜生等同志在多年来从事畜禽衣原体和衣原体病研究,积累了丰富经验的基础上,广泛收集和参考国内外有关资料,编写成了这本专著。本书内容广泛,在系统阐述衣原体的形态结构、理化学特性、增殖与代谢、致病机理以及衣原体病的实验室诊断之后,又用较多篇幅写了衣原体病各论,具体介绍各种衣原体病的发生历史、病原学、流行病学、病理变化以及诊断和防治方法。读者不仅可较全面地了解有关衣原体和衣原体病的理论知识,而且可以参照书中所列的具体方法进行实际操作。本书不失为一本理论与实际并重、紧密结合我国实际需要的好书。

我以十分愉快的心情为本书作序,并向广大读者推荐,希望本书的出版有助于我国衣原体的研究,促进畜禽衣原体病的诊断和防治工作的开展,在保障人畜健康方面发挥它应有的作用。

殷 震

于长春农牧大学

1993年10月1日

前 言

动物衣原体病(Chlamydiosis)是指由鹦鹉热衣原体(*Chlamydia psittaci*)引起的一类十分重要的自然疫源性疾病。该病人兽共患,呈地方流行性,常造成很大危害及经济损失。已发现 18 个目、29 个科的 190 余种鸟类(包括 70 余种玩赏鸟和家禽)以及绵羊、山羊、牛、牦牛、马属动物、猪、犬、猫、猴、兔、豚鼠及小鼠等许多哺乳动物、野生动物受到感染,引起在发病和临床征候上各不相同的疾病及大量的亚临床感染。其中,鸟禽的鹦鹉热(鸟疫)、哺乳动物衣原体性流产综合征,肺炎,肠炎,多关节炎,脑脊髓炎,多浆膜炎和角膜结膜炎以及公畜睾丸炎、尿道炎和精囊炎综合征等具有重要意义。尤其是在一些数量多、饲养密度高的集约化动物养殖场、动物园、动物集散地,衣原体病的危害会有进一步发展蔓延的趋势。

罹患衣原体病的动物对人类健康是一个潜在的威胁,人与患病动物接触时(尤其是病禽),往往会受到感染。由于衣原体传染性高,能耐受多种抗菌药物,疾病诊断困难,以及病后恢复缓慢,免疫水平低,长期带菌甚至反复发作等,有些国家已将其作为生物战剂加以研制,战时通过气溶胶或释放感染鸟等方式散布。许多国家都在开展对本病的研究,并将其列为法定传染病,实行监测及口岸检疫。

我国在 60 年代初就诊断出了京津地区鸭、鸽的衣原体病及饲养人员的职业性感染。近十年来,内蒙古、青海、新疆、甘肃、湖北、湖南、广东、广西、福建、云南、河南、山东、陕西、海南及北京等省市

相继报道了十数种家养及野生动物衣原体病的暴发和其造成的巨大危害,我国已将此病列入全国动物疫病普查及口岸检疫对象,并多次在进口动物中检出本病。

随着畜牧业的发展和人民生活水平的提高,人们对动物性食品及其他畜产品的需求量也不断增加,饲养珍奇动物、伴侣动物及玩赏鸟的兴趣会日趋浓厚,衣原体病的传播机会将会增多。因此,开展动物衣原体病的研究及防治工作就显得越来越重要了。鉴于目前国内尚无衣原体病方面的参考书籍,我们参照国外有关专著,吸收近年来国内外在动物衣原体病方面的最新进展,结合自己的工作实践,编写了这本参考书,其目的是为了促进对衣原体病的研究及防治工作,以揭示这一领域的许多不解之谜。限于作者水平,讹讹之处,恳请专家和读者批评指正。

本书由杨宜生编写第一、八、九、十章,姜天童编写第二、三、四、五、六章,方雨玲编写第七、十一章。最后由杨宜生审查定稿。

在编写过程中,承蒙中国人民解放军长春农牧大学殷震教授鼓励支持、审阅及修改书稿,并为本书作序,邵华斌、徐泽平和殷勤云同志提供部分译稿,在此一并致谢。

编 者

1993年11月1日

目 录

第一章 概论.....	1
第一节 衣原体的概念和分类地位.....	1
第二节 动物衣原体病研究简史.....	4
第三节 衣原体引起的疾病.....	8
第二章 衣原体的生物学特性	19
第一节 形态学特征	19
第二节 衣原体的结构及组分	23
一、细胞壁	23
二、核酸	28
三、衣原体内部的蛋白质、脂质及其它成分	32
第三节 衣原体的毒素	34
第四节 衣原体的稳定性	38
第五节 衣原体的抗原性	40
一、属特异性抗原	40
二、种特异性抗原	41
三、型特异性抗原	42
四、血凝素抗原	43
五、异源性衣原体抗原	44
第三章 衣原体的生活周期	45
第一节 衣原体的细胞感染和繁殖过程	45
第二节 影响衣原体发育周期的因素	50
一、宿主细胞的处理	50
二、衣原体的发育对宿主细胞线粒体的需要	52
三、核物质对EB发育开始的作用	52
四、培养基成分的影响	52

五、干扰素 (Interferon) 的作用	53
第三节 衣原体繁殖对宿主细胞的影响	54
第四章 衣原体的代谢	57
第一节 葡萄糖代谢	57
第二节 核酸的合成	58
一、RNA 的合成	58
二、DNA 的合成	59
第三节 蛋白质的合成	60
第四节 外膜的脂质代谢和生物合成	61
第五节 糖原的合成	62
第六节 细胞壁的生物合成	63
第七节 丙酮酸盐和谷氨酸盐的分解	63
第八节 叶酸的合成	64
第五章 药物与衣原体繁殖的关系	66
第一节 不影响衣原体繁殖的抗生素类药物	66
第二节 对衣原体有抑制作用的药物	67
一、磺胺类药物及叶酸类似物	67
二、青霉素和 D-环丝氨酸	68
三、利福平	69
四、影响衣原体蛋白质合成的药物	69
五、代谢拮抗物和放线菌素 D	70
六、干扰素	71
七、耐药菌株的形成	71
第六章 实验室诊断	73
第一节 衣原体的形态学检查	73
一、光学显微镜检查	73
二、电子显微镜观察	76
第二节 免疫学诊断	79

一、补体结合 (CF) 试验	79
二、间接血凝 (IHA) 试验	85
三、免疫荧光试验	89
四、琼脂免疫扩散试验	94
五、酶联免疫吸附试验 (ELISA)	98
六、血凝抑制试验 (HI)	104
七、变态反应	107
八、衣原体 DNA 的纯化方法及检测技术	108
第七章 衣原体的分离和鉴定	117
第一节 病料的采取、保存和运送	117
第二节 衣原体的分离培养	120
一、病料的检查	120
二、病料悬液的制备	120
三、分离培养	123
第三节 衣原体的鉴定	128
一、镜检	129
二、生长特性	129
三、血清学鉴定	130
四、致病性测定	131
五、衣原体感染滴度测定	131
第八章 动物衣原体病	132
第一节 流产综合征	132
一、绵羊地方流行性流产 (EAE)	133
二、牛衣原体性流产 (Bovine chlamydial abortion)	
.....	153
三、公牛精囊炎综合征 (SVS)	166
第二节 衣原体肺炎	172
一、绵羊和山羊衣原体肺炎 (Chlamydial pneumonia	

of sheep and goat)	172
二、犊牛衣原体性支气管肺炎 (Chlamydial bronchopneumonia of calf)	177
第三节 反刍动物衣原体肠道感染.....	186
第四节 衣原体性脑脊髓炎.....	192
牛散发性脑脊髓炎 (SBE)	193
第五节 眼衣原体感染和结膜炎.....	198
一、牛羊衣原体性结膜炎 (Chlamydial conjunctivitis in cattle and sheep)	198
二、其他动物的衣原体性结膜炎.....	200
第六节 衣原体性多关节炎.....	200
第七节 衣原体性乳房炎.....	206
一、自然感染.....	206
二、实验性乳房炎.....	207
第八节 猪衣原体病.....	209
第九节 马衣原体病.....	223
第十节 笼养鸟和其他禽类衣原体病.....	230
第十一节 猫衣原体病.....	244
第十二节 豚鼠衣原体病.....	249
第十三节 鼠衣原体感染.....	254
一、沙眼衣原体感染.....	254
二、鹦鹉热衣原体感染.....	255
三、野生啮齿类动物的衣原体感染.....	259
第十四节 其他动物衣原体病.....	259
一、狗衣原体病 (Chlamydiosis of dogs)	259
二、兔衣原体病 (Chlamydiosis of rabbits)	261
三、其他野生动物衣原体病.....	262
四、动物病理分型.....	264

第十五节 衣原体的亚临床感染.....	265
第十六节 节肢动物与衣原体病.....	267
第九章 人的衣原体病.....	270
第一节 沙眼衣原体感染与性传播疾病.....	270
第二节 职业感染与鹦鹉热——饲鸟病.....	275
第三节 肺炎衣原体感染.....	283
第十章 衣原体的免疫.....	287
第一节 病后免疫.....	287
第二节 人工免疫.....	291
第三节 被动免疫.....	295
第四节 免疫机制.....	296
一、感染的持续性.....	296
二、抗体反应.....	298
三、细胞介导免疫.....	299
四、免疫调节.....	303
第十一章 衣原体病的综合防治.....	305
一、健康动物饲养场应采取的措施.....	305
二、发病动物饲养应采取的措施.....	307
附录.....	309
一、衣原体病直接补体结合反应技术和间接补体结合 反应技术操作规程及判定标准.....	309
二、衣原体病间接红细胞凝集反应技术操作规程.....	321
参考文献.....	327

第一章 概 论

第一节 衣原体的概念和分类地位

衣原体 (Chlamydia) 是一大群与革兰氏阴性菌有密切关系的原核细胞型微生物。这群微生物除有相似的形态特征及共同的属抗原外,还有不同于细菌、立克次体及病毒的独特的发育周期。由于衣原体的体积小,能通过细菌滤器,但不能自身合成高能化合物三磷酸腺苷 (ATP) 及三磷酸鸟苷 (GTP),故只能在活细胞内繁殖,增殖过程中有隐蔽期,在很长一段时间里将它们归类于大病毒。现已发现,衣原体有许多不同于病毒的特征:①与细菌相同,同时含有两种核酸 (RNA 及 DNA);②生活环后期有二分裂现象;③有类似革兰氏阴性菌的由肽多糖组成的细胞壁;④含有核糖体及多种代谢活性的酶类;⑤对多种抗生素及磺胺类药物敏感;⑥有的菌株已发现有噬菌体。

1980年,微生物协会国际联合委员会探讨了法定的衣原体分类。Bergey's 系统细菌学手册 (1984年版) 将衣原体与立克次体并列在第1卷第9节,本节下有2个目,第I目为立克次体目 (Rickettsiales),第II目为衣原体目 (Chlamydiales),两个目的区别见表1-1。

衣原体目下有一个衣原体科 (Chlamydiaceae),一个衣原体属 (Chlamydia),属下分两个种 (Species),即沙眼衣原体 (Chlamydia trachomatis) 和鹦鹉热衣原体 (Chlamydia psittaci)。近年来的

表 1—1 衣原体目与立克次体目的区别

特 性	衣原体	立克次体
不同细胞形态交替的发育周期	+	—
细胞壁中有无胞壁酸成分	—	+
谷氨酸盐氧化与 ATP 代谢	—	+

研究发现,原列入鹦鹉热衣原体的独特的 TWAR 组,在原体形态结构、核酸组成、天然宿主及致病特性等方面与鹦鹉热衣原体有所不同,因此,Grayston 等 (1989) 提议,将其从鹦鹉热衣原体中独立出来,定名为肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*)。三种衣原体区别见表 1—2、表 1—3 和图 1—1。

表 1—2 三种衣原体的主要区别

种 名	原体形态	包涵体形态	包涵体中糖原	叶酸盐的生物合成
沙眼衣原体	圆形	卵圆形, 有空泡	+	+
鹦鹉热衣原体	圆形	多形态, 致密	—	—
肺炎衣原体	梨形	卵圆形, 致密	—	—

然而,由 Page 提出的已为美国微生物学会分类委员会大多数成员所赞同的这一衣原体分类法仍需进一步完善,如从长尾小鹦鹉分离出的 6BC 株为糖原阴性,但对磺胺嘧啶钠敏感;而伍汝宣等 (1992) 从鸡输卵管囊肿病例分离的菌株则碘染着色,磺胺嘧啶钠可抑制其生长繁殖,并可在淋巴系统大量增殖,引起病鸡输卵管浆膜面淋巴滤泡增生。

表 1--3 三种衣原体和其生物变种的一些特性 (Grayston 等, 1989)

特 性	沙眼衣原体生物变种			鸚鵡热衣原体	肺炎衣原体
	沙眼	性病淋巴肉芽肿	鼠		
DNA 的鸟嘌呤及胞嘧啶量(mol%)	40	42	43	41	40
与肺炎衣原体 DNA 的同源性(%)	10	10	无可用资料	10	100
质 粒	+	+	无可用资料	有些菌株无	—
用 MIF 确定血清变种数	12	3	无可用资料	无可用资料	1
用 McAb 确定特征型	+	+	无可用资料	无可用资料①	+
自然宿主	人	人	鼠	鸟、人以外的低等哺乳动物	人
感染偏爱部位	扁平圆柱形上皮(眼、生殖、呼吸)	淋巴结	肺	多种部位	扁平圆柱形上皮(呼吸)
小鼠大脑内致死性	—	+	—	+	—
猴滤泡性结膜炎	+	—	—	—	—
提高细胞培养侵染性:接种物离心进入单层细胞	+	—	—	—	+
用二乙氨基葡萄糖处理宿主细胞	+	—	—	弱	弱
L 细胞上的空斑	—	+	+	+	无可用资料

① 详见本章第三节。

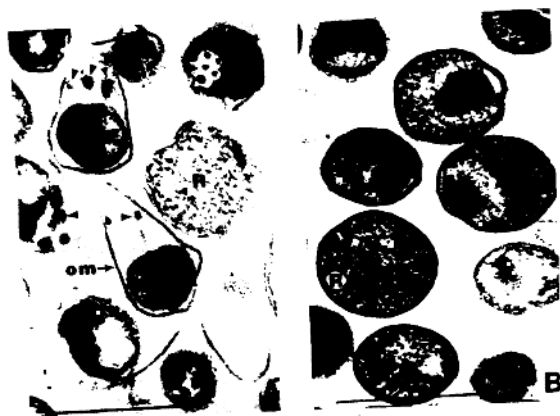


图 1—1 两种衣原体电镜照片

(A)为肺炎衣原体,原体呈梨形,有较大的外周胞质空间及圆形电子密集球(箭头所示);(B)为沙眼衣原体,原体呈圆形,只有狭窄的勉强可见的外周胞质空间。om 为外膜。标尺=0.5 μ m(Grayston 等,1989)

第二节 动物衣原体病研究简史

动物衣原体病的研究始于 19 世纪末,那时确定,在瑞士、法国人群中发生的一种特殊肺炎(肺斑疹伤寒)与从热带国家进口的玩赏鸟有关。Marange(1892)在阿根廷首都布宜诺斯艾利斯发现,与鹦鹉鸟接触的人会突然发病,从而最终肯定了鹦鹉鸟在人类感染和罹病中的重要作用,并提出了鹦鹉热(Psittacosis)这一新病名。

19 世纪末和 20 世纪初,由于鸟贩子大力倾销有病的鹦鹉,造

成疫病在法国、阿根廷、英格兰、德国、美国和意大利等欧美许多国家大暴发,在对从热带国家输入鸚鵡鳥实行强制性禁运并建立相应的法规之后,疫病流行才得以控制,但人群中散在的鸚鵡熱病例仍然继续发生。这次世界性大流行,临症病例至少有 1000 人,死亡近 300 人。在疫病蔓延期间,Levintal(1930)在病鳥组织器官中发现了嗜碱性球形小体。几乎在同时,Coles(1930)和 Lilli(1930)也从患者及病鳥的网状内皮系统细胞内观察到同样的球形小体,并证实了这种嗜碱性小体与疾病的关系。Bedson 等(1930)和 Bland(1934)试图作细菌分离未获成功,却分离出了一种多形性、细胞内繁殖的“病毒样”病原体,实验感染健康鳥并能在鳥身上继代而得到证明。随后,Krumwiede 又用来感染小鼠,从而提供了一种较好的实验动物,并发展了一种简易、价廉而又敏感的分离技术。Bedson 实验室率先用感染的小鼠组织制成抗原进行 CF,作为鸚鵡熱的血清学诊断方法。Thygezson(1934)发现,鸚鵡熱、沙眼和包涵体性结膜炎的病原体有相同的发育周期。Rake 和 Johnson(1942)指出,鼠溪淋巴肉芽肿(PLT)的病原在形态、染色及发育周期等方面与鸚鵡熱病原相似。Yanamura 等(1941)发现,衣原体能很顺利地在鸡胚卵黄囊中生长繁殖。为了监测玩赏鳥群感染和净化程度,Meyer 等(1942)研究出一种检查繁育鳥群感染水平的方法,用来监测繁育公司鳥群的净化措施是否完善。在此期间,一些分离病原体的实验室因衣原体气溶胶散播,引起了人的多起实验室感染,更加证实了衣原体具有强烈的传染性。

Haagen 和 Maurer(1938)发现,非鸚鵡科鸟类是衣原体病的地方性贮存宿主,也是人鸚鵡熱的重要传染来源。这一发现终于找到了在禁运珍禽后本病继续发生的原因,并引起了对动物衣原体病研究兴趣的第二次高潮,相继发现了鸽(Pinkerton 等,1940)、鸡(Karrer 等,1950)、火鸡(Irons,1951)、鸭(Korns,1955)及鹅(Trojan 和 Strauss,1955)的衣原体病及禽类之间可以互相感染传播的

证据。

McNutt(1940)首先观察到了衣原体对人以外的其他哺乳动物的致病性,确诊了牛衣原体性脑炎。Gönnér(1941)发现,衣原体在实验室可以引起小鼠肺炎及隐性感染,从那时起,陆续确定了衣原体在多种家畜和野生动物的许多疾病中的病原学作用。迄今已发现,衣原体可以引起哺乳动物流产、肺炎、肠炎、脑脊髓炎、多浆膜炎、多关节炎、角膜结膜炎、睾丸炎、精囊炎、尿道炎和外阴阴道炎等近 20 种疾病及大量的亚临床感染。并因动物种类、年龄、体况、生态环境等差异,饲养管理条件优劣和一些降低机体抵抗力的应激因子影响等不同,同一菌株往往可引起急性感染,也可表现为慢性或呈亚临床经过的隐性感染,或者为长期带菌的潜伏性感染状态。

到 50 年代,人们找到了治疗鹦鹉热的有效方法。Fritzsche(1960),Arnstein, Eddie 和 Meyer(1968)把药物混入饲料中,作为防治本病的重要措施,这在理论上和实践中都是可行的。但对药物的持续效果,以及在饲料中长时间添加四环素等抗生素是否适当等问题,尚无定论。

Halberstaeter 和 Prowazek(1907)为鹦鹉热的病原体提出了专门术语——Chlamydozoon, Chlamydia——外衣、套膜, zoon——动物。为纪念首先从非恶性淋巴肉芽肿病分离出衣原体的日本微生物学家 Miagawa, Brumpt(1938)将其命名为宫川氏体(Miagawanella),列入立克次体目,并与病毒目(Virales)一起构成微活体纲(Microtobiotes)。Jones, Rake 和 Stearnes(1945)建议,为了明确这群微生物的分类地位,应采用衣原体属(Chlamydia)这一术语。Meyer(1953)则认为应列入 Bedsonia 属内。法国(Girond 等, 1954)和保加利亚的研究者(Семерджиев, 1968)将这群微生物命名为新立克次体。罗马尼亚的研究人员(Nicolau 等, 1961)则称为副立克次体。其他还有 Ehrlichia, Rickettsiaformis, Rakeia, 鹦鹉

病—性病淋巴肉芽肿—沙眼群 (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum group, PL.V)。Page(1966)审定了这些命名建议,并根据这群微生物特性的最新研究进展,按照国际惯例,提出应将这群微生物全部包括在衣原体属(Chlamydia)中。这一提案得到了美国微生物学会分类学委员会的赞同。

Gordon 和 Quan(1965)根据衣原体属内存在的差异,将衣原体分为两个独立的亚群:A亚群和B亚群。A亚群包括引起沙眼、包涵体性结膜炎以及一些在细胞浆中形成疏松包涵体的人的其他疾病病原体,包涵体含有糖原,可被碘溶液染色,能被磺胺嘧啶钠抑制。B亚群包括引起禽类和哺乳动物感染有关的其他菌株,则缺乏上述特性。根据不同衣原体之间在其稳定性、形态学和生物化学特性等方面存在的差异,Page(1968、1981)建议将其分为两个种,即沙眼衣原体和鹦鹉热衣原体。Grayston等(1989)认为,应将属于鹦鹉热衣原体的 TWAR 组独立出来,并命名为肺炎衣原体。这一提议还有待微生物协会国际联合委员会采纳。现在,除早已作过精确的病理学描述的疾病外,已将衣原体引起的疾病统称为衣原体病(Chlamydiosis)。

我国对动物衣原体病的研究始于 50 年代末。任贵方等(1959)利用血清学方法最早肯定了北京西郊一鸭场职工中的肺炎及流行性感冒样疾病为鹦鹉热。不久,他们又对京郊五个鸭场进行类似调查,并对部分患者急性期和恢复期血清进行衣原体 CF 抗体比较测定,发现抗体滴度明显升高。朱关福等(1960)从北京几个鸭场病死鸭的肝、脾以及外观健康鸭的肝、脾中首次分离出了衣原体,经鉴定,其抗原性与原苏联医学科学病毒研究所的鹦鹉热衣原体 B 株一致。胡起等(1964)也从天津地区的病鸭中分离出了鹦鹉热衣原体,并发现有鸭接触史的肺炎患者血清中 CF 抗体阳性。

80 年代,我国对动物衣原体病的研究进入了一个崭新时期,先后开展了对绵羊和山羊衣原体性流产(杨学礼、帅永玉等,

1981),猪衣原体性流产、仔猪衣原体性多关节炎和猪肠道感染(杨宜生、姜天童等,1982、1989),奶牛衣原体性流产(杨宜生、姜天童等,1984),牦牛衣原体性流产(帅永玉等,1988),山羊衣原体性多关节炎(徐维佳等,1987),马属动物衣原体病(李复中等,1990)以及鸡(郭元吉等,1984)、鸭(杨宜生等,1986)、鹅(姜天童等,1986)、鹌鹑(刘行知,1985)、鸽(李树根等,1987)、虎皮鹦鹉(刘行知,1985)和斑头雁、兰马鸡、白鹇、赤膀鸭等野生禽类(邵锡如等,1988)衣原体病的研究,从病原学、流行病学、临床病理、诊断及防治方面进行了较为全面的探讨,取得了很大成绩。在此期间,我国许多口岸动植物检疫所还多次从进口种畜、种禽及玩赏动物中检出衣原体病(李树根等,1984、1987)。

目前,许多先进的实验技术和手段已用于衣原体和动物衣原体病的研究,诸如衣原体的细胞培养、免疫放射(IRMA)、免疫电泳、ELISA、微量免疫荧光(MIF)、单克隆抗体(McAb)及核酸探针技术等,对加快这一领域的研究步伐以及研究的深度和广度,起了极大的促进作用。随着分子遗传学和分子生物学最新技术的广泛使用,人们对衣原体本质的认识已逐步深入到遗传本质的水平,开始从必然王国进入自由王国。

第三节 衣原体引起的疾病

沙眼衣原体:我国学者汤飞凡、张晓楼、黄元桐等(1956)应用改进的鸡胚卵黄囊接种技术,在世界上率先从沙眼病人标本中分离出了沙眼衣原体,从而将衣原体病的研究再次推向了新的高潮,为人类衣原体病的诊断及防治做出了巨大贡献。

沙眼衣原体有三个生物变种:①沙眼变种,有12个血清型,与人的性传播疾病及非特异性(非淋菌性)尿道炎有关;②性病淋巴肉芽肿生物变种(Lymphogranuloma Venereum, LGV),有3个血