



肺炎衣原体研究进展

姜淑贤 综述 阎世德 尚德秋 审校

衣原体是专性细胞内寄生物。目前,已发现衣原体有四个种,即沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*, C.tr)、鹦鹉热衣原体(*C. psittaci*, C.ps)、肺炎衣原体(*C. pneumoniae*, C.pn)和牲畜衣原体(*C. pecorum*, C.pe)[1]。C.pn(TWAR)是1989年定名的衣原体新种,因其能引起人类呼吸道感染,并可能与其它多种疾病有关,从而愈来愈受到重视[2~5]。国外曾对C.pn进行了广泛、深入的研究,国内尚无有关的研究报道,本文对近年来国外的研究进展综述如下。

流行病学

C.pn感染是世界各地广泛存在的常见病。研究表明,本病无显著的性别差异和地区性。一年四季均可发生。几乎每人一生中均受过感染,而且常常反复感染[3,6]。以往认为C.pn感染与鸟类和其他动物无关,人是C.pn的自然宿主。传播方式可能是人—人通过飞沫传染[3,4]。该病潜伏期约10~65天[7]。

Grayston等在西雅图时经两年的调查研究,证明12%的肺炎、5%的支气管炎和1%的咽炎与C.pn有关。Marrie等报道,在加拿大301例社会获得性肺炎中,有5.9%是C.pn肺炎。Saikku等在菲律宾发现。小儿呼吸道感染中,有7%与C.pn相关。岸本寿男报道,11.8%的肺炎是C.pn肺炎[3]。Chirgwin等认为,以社会获得性肺炎为主的呼吸道感染中,19%是C.pn引起,并且C.pn的分离培养阳性率竟高达16.5%[6]。可见C.pn是呼吸道感染的重要病原之一,危害甚广。

在斯堪的维亚首次发现那里的军队和广大的农村发生C.pn感染流行[8]。

C.pn引起呼吸道感染有散发和流行的特点。有家庭内相互传染,也有在军队、学校等集体生活者中局部流行的报道。例如,日本某家庭中一名5岁女童因肺炎就诊于千叶县中央病院,从其呼吸道分离出C.pn

AC-43株,确诊为C.pn肺炎之后,家庭其他成员中,两个妹妹,母亲和祖母相继出现呼吸道感染症状,并且从其3岁妹妹的呼吸道也分离出C.pn。这是家族内发生C.pn流行的典型例证[9,10]。又如,1980年在英国某寄宿学校流行急性呼吸道传染病,当时诊断为鹦鹉热。后来对保存的血清进行追溯性检查,结果在24名患者中,有9名确认为C.pn感染[9,11]。

另外, Kleemola等报道,在芬兰驻军中,曾有过四次C.pn引起急性非典型肺炎[12]。

1985年Saikku等用血清学方法研究芬兰流行的轻症肺炎病因时,发现很多患者抗TW-183株(最初在台湾分离的C.pn)抗体效价很高(MIF法),而且没有与鸟类接触史,所以认为是由C.pn引起的局部流行的C.pn肺炎[2]。此外,在挪威、丹麦、瑞典、英国等地也有C.pn流行的报道[3]。

美国华盛顿大学Wang等对西班牙、芬兰、丹麦、巴拿马、日本、台湾、索罗门及其本国西雅图等多处地区进行血清流行病学调查,结果相近,成人C.pn抗体阳性率为50%左右,但各地稍有差异,台湾、巴拿马、日本等国略高[3,7]。脐带血抗体阳性率也在50%左右,与同时期成人相同[2]。儿童随年龄增加抗体阳性率也升高。7岁以下较低,8~11岁急剧上升至44%。15岁以后即达50%左右[13]。

血清学检测结果,健康成人抗体阳性率在50%左右,与呼吸道感染患者的抗体阳性率无统计学差异[11,13]。有报道,从健康人分离出C.pn[8],这提示存在健康带菌者和隐性感染者,这些无症状携带者在C.pn的传播上具有重要意义。

但日本学者认为,呼吸道感染患者的C.pn抗体阳性率,显著高于健康人,有统计学意义($P < 0.01$)[2,14]。

Grayston等在西雅图进行血清流行病学调查

本文作者单位:中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 102206 北京

时,认为C.pn感染可追溯到1963年,只是当时未被认识而已。同时发现,C.pn引起的感染每隔3~4年有一次流行高峰,持续2年左右。另外,在丹麦对保存血清进行检测也发现同样结果,即在1975~1987年间,曾有两次(1976~1977年和1981~1982年)C.pn流行,间隔四年非流行期[7]。

长期以来,许多学者认为,世界各地从来源不同的临床材料分离的C.pn,其DNA同源性在90%以上,都是TWAR株,均为相同的血清型[10,15]。但最近有报道,根据MOMP基因的同源性测定和单克隆抗体检测,证明C.pn种内增加了两个新的、非人源的衣原体株,即从考拉熊(Koala)结膜分离的KC株和从马呼吸道分离的N16株[16]。

病原学

衣原体是不运动的专性细胞内寄生的小球菌[17]。它没有能量产生系统,其生长、繁殖过程中所需能量依赖于宿主细胞,故而又有“能量寄生物”之称[18]。

四种衣原体有着共同的、独特的生活周期即原生小体(elementary body,EB)吸附于宿主细胞,被宿主细胞膜吞噬入胞浆内,大约于感染后10小时,EB开始分化、增大变为原始小体(initial body)或网织体(reticulate body,RB),RB开始行二分裂法增殖,经反复多次分裂,包涵体内(inclusion body)充满了EB、RB和中间体(intermediate body)。虽然一个包涵体来源于一个EB,但分裂增殖并非同步,大约2~4天包涵体膜和宿主细胞膜先后破裂,EB被释放到寄主细胞外,再感染其它细胞,开始新的生活周期。

EB呈细小致密的球形,直径0.3~0.4 μm ,电子密度高,具有高度的感染性。在光镜或荧光镜下,C.pn包涵体呈致密的圆形或卵形,更接近于C.ps。电镜下典型的EB呈颇具特征性的梨形[2,10],具有清晰、宽阔的胞浆周围间隙,而C.tr、C.ps和C.pe则是圆形、很少有或仅有狭窄的胞浆周围间隙。这点是C.pn和其它三种衣原体在形态上的显著不同。C.pn包涵体内没有糖源蓄积,故碘染色阴性,包涵体增大并不挤压宿主细胞核,对磺胺不敏感等特性均类似于C.ps,而与C.tr迥然不同。C.pn染色体DNA与C.tr、C.ps和C.pe DNA的同源性在10%以下,而16S rRNA和外膜蛋白同源性较高。G+C含量介于C.ps和C.tr之间。有独特的DNA指纹图谱。胞浆内充满70S核糖体,不含质粒[2]。

外膜主要由蛋白和LPS组成。衣原体虽缺乏肽聚糖,但外膜蛋白中富含半胱氨酸,靠二硫键交错连接,使EB外膜具有坚韧性,对物质的通透性较低。

C.pn的主要外膜蛋白(MOMP)由366个氨基酸组成,与C.tr和C.ps一样有四个氨基酸可变区。可变区以外区域的氨基酸序列极其稳定而保守。衣原体MOMP具有复杂的抗原性,包括属、种、型特异性抗原决定簇。但C.pn的MOMP抗原决定簇较少,而且是非免疫显性抗原。EB外膜蛋白经SDS-PAGE显示10多条多肽带,其中98KD蛋白可能是C.pn种特异性抗原[8,19]。

RB呈较大的球形,直径0.5~1 μm ,有时可大到2 μm 。常呈哑铃形,其为正在分裂的形态。没有核和细胞质的区别,细胞核和核糖体混在一起,形成均一而松散的网状结构。电子密度降低。DNA和RNA之比是1:3(EB为1:1)。RB的外膜比较薄而脆弱,对物质的通透性增强,这些都反映了RB的增殖性。于感染后约18~24小时,RB停止分裂,包涵体内充满了以EB颗粒为主的衣原体小集落。待细胞膜破裂后,成熟的EB感染其它细胞。RB只是衣原体的增殖型,没有感染力[18]。

诊断

临床上没有特异的诊断C.pn感染的方法。主要靠实验室诊断手段,常用的、主要的方法包括下列几个方面。

一、分离培养:从临床材料(痰、咽拭子、扁桃体隐窝拭子、咽喉分泌物和支气管肺泡灌洗液等)直接分离C.pn是很困难的[3,5]。

用于分离衣原体的方法,有鸡胚卵黄囊接种和细胞培养。Grayston等最初分离C.pn时,采用鸡胚卵黄囊接种的方法。之后一直都用细胞培养分离方法。可用于分离衣原体的细胞很多,如McCoy、L、HeLa₂₂₉、HEP-2、HTED等。但对C.pn敏感的细胞株是Kuo等推荐的HL细胞[3,20]。其次是HEP-2[8,21],HeLa₂₂₉也可用来分离C.pn但不能传代[22]。同一细胞株对来源不同的C.pn的敏感程度不尽相同[21]。

采集到临床标本后,应立即置入转运保存液中(SPG或2SP),在4 $^{\circ}\text{C}$ 下送至实验室,进行分离培养。如24小时内不能分离,应置-70~-30 $^{\circ}\text{C}$ 冻存待检。标本最好用膜式滤器除去杂菌而不加抗生素[22]。

培养细胞的培养基,通常用含有10%胎牛血清的

Eagle's MEM。细胞长成单层后用DEAE-Dextran (30 μ g/ml)处理细胞(用HEP-2和HL细胞不需处理),接种C.pn后离心900~1200 \times g,60分,除去接种液,加入Eagle's MEM(含10%胎牛血清和0.6~1 μ g/ml放线菌酮),35 $^{\circ}$ C培养3~4天。因初代培养包涵体较少,可传代2~3次[22]。

有报道接种C.pn后,使用含10%胎牛血清和1 μ g/ml放线菌酮的Eagle-NEAA培养基或Iscove培养基,效果较好[21]。

C.pn分离培养物的鉴定,主要靠C.pn种特异性McAb间接荧光抗体法,阳性标本可见发黄绿色荧光包涵体,其次电镜下可观察到C.pn EB特征性梨形形态[10,23],但有时EB也呈多形性[22]。

二、血清学诊断:最常用的是微量免疫荧光试验(MIF),这是以C.pn EB作为抗原的间接荧光抗体法。诊断标准是,在急性感染期,IgM抗体 \geq 1:16,或IgG \geq 1:512;双份血清检查,第二份血清效价升高4倍以上。如果IgG在1:16~1:512被认为有既往感染史[22,24]。

三、其它方法:MFA法、CF法、EIA法都是检测衣原体属抗原或抗体的特异性方法。有报告MFA法(用包涵体作抗原)也可用于种的鉴别[3,22]。用IDEIA试剂盒的EIA法是很有用的检查衣原体属抗原的方法,但在用于检测上呼吸道抗原时,1 \times 10⁷~1 \times 10⁸CFU/ml浓度的金黄色葡萄球菌会引起交叉反应,应予以注意[25]。

PCR是近年来发展的体外扩增DNA方法,可以用来检测特定DNA的存在。并且有灵敏、特异、快速、重复性好等优点。研究表明,PCR用于衣原体诊断,其灵敏性和特异性均超过细胞分离培养、荧光免疫法和酶免疫试验常规检测方法。按照MOMP基因保守区序列设计的引物,可检测各种衣原体,按可变区C.pn种特异的核酸序列设计的引物,可特异性检测C.pn。基于衣原体微小和细胞内寄生特性、分离培养和抗原检测比较困难等原因,PCR可能是最有前景的诊断C.pn的方法。最近又有比PCR更灵敏的连接酶链反应(LCR)方法,相信很快会用于C.pn的诊断。

临床表现

用狒狒和ICR小鼠所作的动物实验业已证实C.pn是呼吸道传染病的重要病原之一[9,26]。主要引起咽炎、扁桃腺炎、副鼻窦炎、支气管炎、肺炎、胸膜炎等急性感染和慢性呼吸道疾病急性发作等[3]。C.pn肺炎

多为不典型肺炎[3],与支原体或病毒引起的肺炎。在临床上难以鉴别。肺炎的10%左右是由C.pn引起[8],当病原不明性呼吸道感染、使用 β -内酰胺类抗菌素治疗无效时,应首先考虑到C.pn感染的可能[3]。干咳、特别是迁延性干咳是C.pn感染的可疑之点[2,3]。C.pn感染多是轻症,甚至缺乏自觉症状,免疫缺陷者或老年人可能出现重症表现。死亡病例虽极少,但也有报道[3,5]。所以应引起重视,要早期诊断、彻底治疗。

另外,C.pn还与呼吸道以外的多种疾病,如中耳炎[4,11]、心内膜炎、急性心肌梗死、关节炎、类肉瘤病[2,3]、红斑结节、甲状腺炎、脑炎和格林-巴利综合征[8]等有关。福士秀人等曾报道,在南非共和国约翰内斯堡,36例冠状动脉硬化的尸检中,有20例在硬化斑中检测到C.pn而且于电镜下观察到硬化斑中有梨形原生小体[27]。另外,还用多种方法证明C.pn与恶性肿瘤、脑血管病、肾功能不全、帕金森氏病等有关。另有报道,肺癌、肝硬化、心脏病、糖尿病等抗TWAR抗体阳性率在60%以上[24]。

治 疗

对C.pn感染常用的有效抗菌素有二甲胺四环素(MINO)、强力霉素(DOXY),红霉素(EM),另外,利福平(RFP)、新大环内酯类药物如:rokitamycin(RKM)、roxithromycin(RXM)、6-氧-甲基红霉素(Clarithromycin, CAM)等效果也很好、新喹诺酮类药物如:氧氟沙星(OFLX)和妥舒沙星(TFLX)也有效[3]。另有报道,CAM可能是治疗C.pn感染最有效的抗生素[8,28]。通常成人首选四环素类药物,孕妇和儿童首选红霉素[3]。青霉素、 β -内酰胺类和氨基糖甙类抗生素对C.pn几乎无效。

综上所述,C.pn感染是一种如同“感冒”一样的常见病、多发病。虽然其表现多为亚临床型,但也有重笃病例发生,少数乃至死亡。国内有关C.pn的感染率、发病率、流行特点均不清楚,有关实验室诊断方法的建立和开发及分子生物学研究等诸多课题,尚待研究。

参 考 文 献

- 1 Fukushi, H., Hirai K., chlamydia pecorum-The Fourth Species of Genus chlamydia—, Microbiol Immunol 1993, 37 (7) : 515.
- 2 副岛林造. chlamydia pneumoniae 感染症. 现况. 临

- 床と微生物, 1991, 18(6): 65.
- 3 岸本寿男. *chlamydia pneumoniae* 感染症, 内科領域. 臨床と微生物, 1991, 18(6): 79.
 - 4 小川浩司, 橋口一弘, 和山行正. *chlamydia pneumoniae* と *chlamydia trachomatis* が検出された渗出性中耳炎, 気管支炎を併発した翌太慢性扁桃炎病例. 感染症学雑誌, 1991, 65(2): 234.
 - 5 岸本寿男, 中島正光, 中川義久, 等. *chlamydia pneumoniae*, TWAR株による一肺炎例. 感染症学雑誌, 1990, 64(4): 510.
 - 6 小川浩司, 橋口一弘, 和山行正. 急性気管支炎患者における等 *Chlamydia pneumoniae* の分離培養条件及び血清学的検討. 感染症学雑誌, 1992, 66(4): 477.
 - 7 橋爪壮, クラミジア感染症の現況, モダメディア, 1991, 37(4): 201.
 - 8 李海潮译. 肺炎衣原体. 国外医学呼吸系统分册, 1993, 13(3): 148.
 - 9 山崎勉. *chlamydia pneumoniae* 感染症, 小児科領域. 臨床と微生物, 1991, 18(6): 87.
 - 10 山崎勉. 本邦小児より分離された *chlamydia pneumoniae*, AC-43株の性状について. 感染症学雑誌, 1992, 66(5): 632.
 - 11 橋口一弘, 小川浩司, 和山行正. 急性上気道炎(ガゼ症候群)における *Chlamydia pneumoniae* の関与について. 感染症学雑誌, 1991, 65(11): 1375.
 - 12 陈兆云. 一种新的TWAR衣原体与肺炎的关系. 预防医学情报杂志, 1989, 5(2): 81.
 - 13 尾内一信, 金木康生, 牛尾光宏. 日本における *chlamydia pneumoniae* とその他のクラミジアの年齢別抗体保有率の検討. 感染症学雑誌, 1991, 65(1): 19.
 - 14 岸本寿男, *chlamydia pneumoniae* (TWAR) 感染症に関する, 研究(第2報)——健康者および急性呼吸器感染症患者における血清疫学的検討——. 感染症学雑誌, 1990, 64(8): 936.
 - 15 王耀宗译. 肺炎衣原体感染, 国外医学流行病学传染病学分册, 1993, 20(3): 121.
 - 16 Storey, C., Lusher, M., Yates, P., Evidence for *chlamydia pneumoniae* of non-human Origin. *Journal of General Microbiology*, 1993, 139: 2626.
 - 17 松本明, 飯島義雄, 宮下修行. ワラミジアの細菌学. 臨床と微生物, 1991, 18(6): 11.
 - 18 木村貞夫. 医微生物学. 金原出版株式会社, 1979; 238.
 - 19 飯島義雄, 宮下修行, 松本明. *chlamydia pneumoniae* の構成タンパクとその抗原性解析, 日本細菌学雑誌, 1993, 48(1): 256.
 - 20 和山行正. *chlamydia pneumoniae* と *chlamydia trachomatis* 分離法に関する研究. 感染症学雑誌, 1992, 66(2): 189.
 - 21 吉沢花子, 大木一雄, 山崎勉. *chlamydia pneumoniae* に対するHep-2細胞とHL細胞の感受性の比較. 感染症学雑誌, 1992, 66(8): 1037.
 - 22 萩原敏且. *chlamydia pneumoniae* 感染症, 診断法. 臨床と微生物, 1991, 18(6): 73.
 - 23 金本康生, 坂野亮. 急性気管支炎患者からの *chlamydia pneumoniae* の分離と血清抗体価. 感染症学雑誌, 1992, 66(5): 637.
 - 24 岸本寿男, 多田羅治, 中川義久, 等. 本邦におけるクラミジアTWARの血清学的検討. 感染病学雑誌, 1989, 63(臨時増刊号): 99.
 - 25 鳩田庸正, 鈴木玲子, 中田博一, 等. *chlamydia pneumoniae* (TWAR), *chlamydia trachomatis* 気道感染症における抗原検査法と阻害因子について. 感染症学雑誌, 1990, 64(臨時増刊号): 205.
 - 26 岸本寿男. *chlamydia pneumoniae* TWAR株による感染症に関する研究(第1報)——マウス感染実験並びにMFA法によるTWAR血清抗体価測定の見直し——. 感染症学雑誌, 1990, 64(1): 124.
 - 27 福士秀人. C. C. Kuo, *Chlamydia pneumoniae* の冠状動脈アテローム性動脈硬化病変部における存在について. 日本細菌学雑誌, 1993, 48(1): 256.
 - 28 徐积恩. clarithromycinの薬理和临床应用進展. 国外医药抗生素分册, 1993, 14(6): 425.