

福建貓及兔體內弓形體的發現*

于恩庶 陳黛西 林師敬

(福建省衛生防疫站)

Nicolle 和 Manceaux 二氏於 1908 年首先從北非一種齧齒類動物 *Ctenodactylus gondii* 發現了弓形體。其後各地也陸續從各種哺乳類動物中發現。已經被證實的自然感染動物有兔、豚鼠、松鼠、鼠類、犬、貓、猴、鴿和其他鳥類^[1,3]。

人類弓形體病 “Toxoplasmosis” 已在美國、南美、瑞典、英、荷蘭、瑞士、意大利等地發現，其他不少地區也有疑似病例的報告。到目前為止，在國內尚未見到這方面的報導。我們在調查恙蟲病動物宿主的工作中，從貓和家兔體內分離出弓形體 “Toxoplasma” 4 株。鑑於國內還沒有這方面的資料，故願把發現經過及其鑑定的初步結果，首先報告在這裏。

分離經過及結果

在 1955 年 7 月間，從農民手中購到家兔和貓各一批，目的在檢查恙蟲熱立克次氏體。但在檢查過程中，從兩隻家兔和兩隻貓體內，分離出弓形體 “Toxoplasma” 4 株。茲將分離經過敘述如下：

(一) “17 號貓株”：從收購的第 17 號貓心臟採血後處死，按無菌操作解剖，取出脾、腎、腦各一塊，合併在研鉢內磨碎，製成 1:10 鹽水稀釋液，腹腔接種小白鼠 3 隻，每隻注射 0.5 毫升。然後置於玻璃瓶內飼養，逐日觀察。於接種後第 12 天有 1 隻小白鼠死亡，第 13 天其餘的 2 隻小白鼠也同時死亡。這些鼠死後檢查，發現有明顯的病理變化，脾臟腫大和粘稠性的腹腔滲出液。從腹壁刮取粘液塗片，用亞甲藍曙紅法^[4]（即染瘧原蟲厚血片 Simmon 氏法的變法）染色，未找到立克次氏體。但在細胞內外却有新月形的小體散在與密集，在細胞內者有的像利什曼氏體，但經仔細觀察後，與利什曼原蟲，並不相同。再取脾腎接種小白鼠傳代時，第 2 代鼠於第 9 天又死亡，有上述同樣的

* 1956 年 10 月 13 日收到。

病理變化和新月形的小體檢見。此後繼續傳代觀察,至 3 代後小白鼠的死亡日程,縮短為 4—5 天,並且固定下來,參考表 1。根據形態學和對小白鼠的致病性,初步判定為弓形體。

(二)“14 號貓株”:第 14 號貓是按前述同樣方法檢查的。第 1 代接種的小白鼠,經過 21 天殺死,無明顯病變,僅見脾臟腫大。再用肝脾腎為材料做次代接種,小白鼠於第 9 天死亡,有明顯病變與前相同,從腹水塗片中發見了大量典型的弓形體。至傳代 3 代後,小白鼠的死亡日程,同樣縮短為 4—5 天,見表 1。

(三)“6 號兔株”:第 6 號家兔按前述方法解剖檢查,第 1 代接種鼠,經過 15 天死亡,有明顯的病變(同 17 號貓株),從腹水塗片檢見細胞內有立克次氏體,但未注意到弓形體的檢查。又用腹水做第 2 代接種小白鼠,又經過 7 天死亡,同樣檢見立克次氏體。傳至第 3 代時,則發見了弓形體,此時因傳代鼠死亡時間太短(5 天),立克次氏體已不能檢見。

(四)“25 號兔株”:第 25 號家兔按同樣方法解剖檢查,第 1 代小白鼠於第 13 天死亡,有粘性腹水。刮取腹壁液塗片,可以檢見細胞內有立克次氏體。第 2 代鼠於第 11 天頻死檢查又發現細胞內有大量立克次氏體,以上兩代均未注意到弓形體的檢查。從第 3 代開始,在腹水塗片中開始檢見有弓形體。

以上 4 株弓形體,繼續傳代保存迄今。

表 1 兩貓株弓形體的分離經過

弓形體株 傳代	17 號 貓 株			14 號 貓 株		
	傳代材料	死亡日期	弓形體	傳代材料	死亡日期	弓形體
第 1 代	14 號貓脾腎腦	12—13	+	17 號貓脾腎腦	21 天殺	—
第 2 代	脾腎	9	+	肝脾腎	9	+
第 3 代	肝脾腎	5	+	肝脾腎	5	+
第 4 代	腹水	4	+	腹水	4	+
第 5 代	腹水	4	+	腹水	4	+

分離株的鑑定

我們這次分離出的 4 株弓形體中,兩個兔株混有立克次氏體的感染,雖然在傳代過程中,由於弓形體毒力強,死亡日期短,經過 3 代後,塗片中已找不到立克次氏體,但是它的潛存,還是不能完全擯除的。因此本文僅就兩個貓株進行一般生物學性狀的研究。

(一) 形態與染色

從兩個貓株腹腔感染的小白鼠,刮取腹壁液,塗抹標本,用姬母薩氏法或亞甲藍曙

紅法染色時，可得鮮明的標本。在細胞內外均可檢見大量的弓形體。其在細胞外者，多呈典型的新月形態，一端稍尖細，一端稍鈍圓。體長為 3.5—6.5 微米，體寬為 1.5—3.5 微米。用亞甲藍曙紅法染色時弓形體細胞質呈淺藍色，核呈紅染，內含許多小顆粒。此核位於體的中央部或稍偏些。在細胞內的弓形體，有時類似利什曼氏體的形態，但亦有典型的新月形發現，見圖 1。

此弓形體除從腹腔滲出液檢出外，肝、脾、腎、肺、腦和淋巴腺內部可檢見，唯其數目不如腹腔滲出者多。

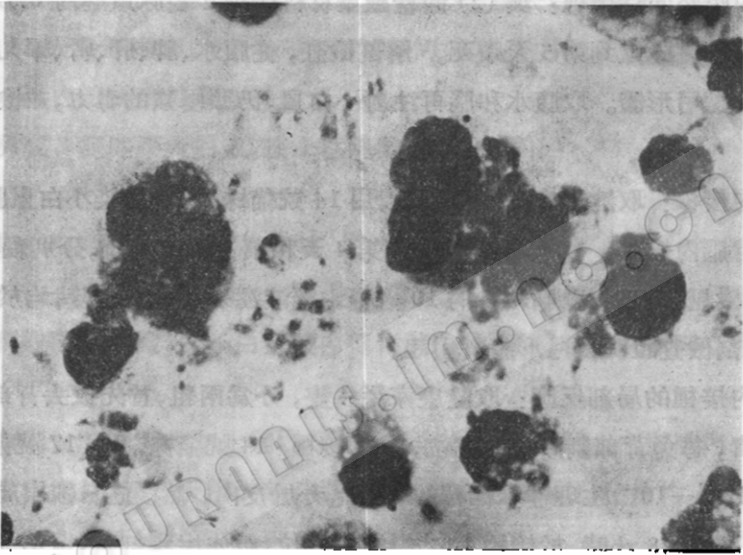


圖 1 在細胞內外的弓形體腹壁液塗片經母蘆氏染色

人工感染的小白鼠腹腔積液抹片，示明弓形體在細胞內及細胞外。× 1000

(二) 在人工培養基上生長性狀

從弓形體感染小白鼠，採取肝脾和腹水，接種於各種培養基上，置 37°C 孵育一週，均無任何菌落生長。前後試驗的培養基，計有普通瓊脂培養基，血液瓊脂培養基，牛肉湯，沙保羅氏培養基(Saboourand's agar)，硫化甘醇酸鈉培養基，和 NNN 培養基(室溫)。

(三) 對各種動物致病性

1. 豚鼠

(1) 腹腔接種：取“17 號貓株”第 8 代感染小白鼠腹水 1:10 鹽水懸液，以 0.5 毫升腹腔接種 3 隻成年豚鼠。一隻於第 7 天發病死亡，鼠蹊部及腋下淋巴腺均腫大，腹腔各臟器充血，並有大量粘稠性滲出液。從腹壁液及肝脾塗片均檢見有弓形體；用小白鼠

做傳代試驗，亦為陽性（小白鼠發病死亡，有明顯病理變化，塗片檢見到弓形體）。第 2 隻豚鼠到第 23 天死亡，鼠蹊部皮下組織充血，腺腫大，副腎充血，其他臟器內眼病理變化不明顯，從各臟器未檢見弓形體；但取腦組織做小白鼠傳代試驗時，證明為陽性。第 3 隻豚鼠經過 33 天仍健在，未做處理。

(2) 腦內接種：取 14 號貓株第 8 代感染材料（腹水 1:10）0.3 毫升，腦內接種 2 隻，一隻於第 5 天死亡，另一隻於第 7 天陷於瀕死。解剖檢查，肺充血，腹腔內有血樣腹水，腦塗片檢見弓形體，取腦組織做小白鼠傳代試驗，證明為陽性。

(3) 腦內腹腔同時接種：與 (2) 同樣感染材料接種 2 隻豚鼠腦內 0.3 毫升和腹腔內 2.0 毫升。2 隻豚鼠到第 5 天瀕死。解剖檢查，從腹水、脾、肝、腎、睪丸、肺、腦等臟器均可檢出典型弓形體。取腹水和腦再注射小白鼠，仍顯極強的毒力，並檢見弓形體。

2. 家兔

(1) 腦內接種：取健康成年家兔 2 隻，用 14 號貓株 53 代感染小白鼠腹水 1:10 懸液 0.5 毫升行腦內接種。2 隻兔於接種後第 4 天和第 5 天因病重，分別殺死解剖。取腦塗片染色，檢見弓形體；以腦組織的 10 倍鹽水懸液注射小白鼠 3 隻，均於接種後 6 天發病死亡，解剖檢查證明因弓形體所引起。

(2) 皮內接種的局部反應：取健康家兔 4 隻，分為兩組，首先拔去背部皮毛，用碘酒和酒精消毒，每兔背部劃分 4 個部位，分別接種“14 號貓株”和“17 號貓株”傳代小白鼠腹水的 10^{-1} — 10^{-4} 生理鹽水稀釋的 0.2 毫升於皮內，然後逐日觀察局部反應。檢查結果發現，經過 48 小時，於接種 10^{-1} 懸液的部位，首先出現紅斑，至第 3 天紅斑中央開始壞死，第 5、6 天紅斑和壞死最大，紅斑直徑約達 20—30 毫米，壞死約達 10 毫米。

表 2 家兔皮內接種的局部反應

弓形體株	14 號 貓 株								17 號 貓 株							
	I				II				III				IV			
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
第 1 天	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
第 2 天	2	-	-	-	1	-	-	-	2	2	1	±	2	1	1	-
第 3 天	3	2	1	±	2	1	±	-	3	3	2	±	2	2	1	-
第 4 天	3	2	1	1	2	2	1	±	3	3	2	±	2	2	1	-
第 5 天	3	2	1	1	2	2	1	±	4	4	2	±	2	2	1	-
第 6 天	4	2	2	±	2	2	1	±	4	4	2	±	2	2	1	-
第 7 天	4	3	2	±	2	2	1	±	4	4	2	±	2	2	1	-

註：表內數字表示局部出現紅斑和壞死的程度，- 表示無反應。

10^{-2} 接種局部亦有紅斑和壞死，較 10^{-1} 為輕。 10^{-3} 以上的接種部位，從第 3 天開始出現紅斑，間有小壞死灶或完全沒有。局部反應的過程可參考表 2。

3. 地鼠

取 17 號貓株感染鼠腹水，在 4°C 冰箱保存 36 小時者，用 1:10 的懸液接種地鼠腦內，至第 11 天發病死亡。解剖觀察，肝有大小不同的壞死灶，肺有出血點，塗片檢查有弓形體。

4. 大白鼠

取 17 號貓株感染小白鼠腹水 1:10 懸液，腹腔接種大白鼠 3 隻，每隻注射量為 0.5 毫升。經過 33 天仍無病態，殺死檢查，亦無任何病變，塗片未檢見弓形體，動物傳代試驗亦為陰性。腦內接種者結果亦同。

第 2 次另取 3 隻健康大白鼠，按上法追試，結果亦同。

5. 雞

(1) 小雞：取孵出 15 天小雞 3 隻，用 17 號貓株感染鼠腹水 1:10 懸液 0.2 毫升，行腦內接種。一隻於第 3 天死亡，餘 2 隻到第 5 天頻死。解剖檢查，從腦塗片中，檢見有弓形體。再取雞腦組織，做小白鼠腦內傳代試驗，結果證明小白鼠因受弓形體感染而死亡。

(2) 成年雞：取健康成年土雞^[6]，用上述同樣材料，接種小白鼠腦內 0.2 毫升。接種後第 4 天顯出病態，第 7 天陷於頻死狀態，解剖檢查，各臟器塗片均未能檢見弓形體，但用腦組織做小白鼠傳代試驗時，則為陽性。

6. 鴿

取健康成年鴿子 2 隻，行腦內接種。接種材料同前，接種量為 0.05 毫升。接種後第 6 天病重解剖，從腦塗片找到弓形體。再用腦做傳代試驗，第 9 天小白鼠死亡，也檢出弓形體。但經鼻感染和皮下感染的兩隻鴿子，經過 40 天觀察，未顯任何病態，解剖亦未發現病變，弓形體檢出陰性。

綜合以上實驗成績，此次從貓分離的二株弓形體，對小白鼠、豚鼠、家兔、地鼠、雞和鴿均有很強的致病力，但是對大白鼠的致病力則不顯。

(四) 不同接種途徑的實驗成績

1. 試驗動物為小白鼠，係由上海生物製品所購買，由本站動物室飼養繁殖者。每種接種途徑用 3 隻。

2. 感染材料係弓形體 17 號貓株第 11 代小白鼠，當其頻死時解剖，按無菌操作，取出腹水，製成 1:10 生理鹽水懸液，保存於冰壺內，做為下列各試驗的接種材料。此腹水

塗片檢查有大量弓形體。

3. 接種途徑：腹腔接種成績已如前述外，再分腦內、皮下、皮內、靜脈、創傷塗擦、經鼻感染、經口灌入和喂食疫鼠等 8 種途徑，進行試驗。

4. 弓形體的接種量見表 3。

表 3 小白鼠不同接種途徑傳染試驗成績

鼠編號	接種途徑	接種量 腹水 1:10	死亡原因	檢查日期	弓形體檢出
1 2 3	腹 腔	0.5 毫升	病 死 病 死 病 死	第 4 天 第 4 天 第 4 天	+ + +
1 2 3	腦 內	0.03 毫升	病 死 病 死 病 死	第 4 天 第 4 天 第 4 天	+ + +
1 2 3	皮 下	0.5 毫升	不 明 病 死 病 死	第 2 天 第 6 天 第 8 天	○ + -
1 2 3	皮 內	0.1 毫升	○ 類 死 病 死	第 5 天 第 6 天 第 10 天	○ + ○
1 2 3	靜 脈	0.5 毫升	病 死 病 死 病 死	第 3 天 第 5 天 第 5 天	○ + +
1 2 3	創傷塗擦 (第一次)	1—2 滴	殺 死 殺 死 殺 死	第 35 天 第 35 天 第 35 天	- - -
1 2 3	創傷塗擦 (第二次)	1 滴	病 死 殺 死 殺 死	第 11 天 — —	+ - -
1 2 3	經 鼻	15 滴 10 滴 4 滴	病 死 病 死 病 死	第 5 天 第 5 天 第 5 天	+ + +
1 2 3	經 口	1.0—1.5 毫升	類 死 殺 死 殺 死	第 6 天 第 35 天 第 35 天	+ - -
1	喂 食	感染小白鼠	病 死	第 8 天	+

註：○ 非同一批試驗者；+ 代表陽性結果，有明顯病變，塗片檢見弓形體；- 代表陰性；○ 未檢查。

5. 試驗結果：小白鼠受感染後，逐日觀察，發現死亡或病勢嚴重時，即行解剖檢

查，觀察病理變化，用腹水或其他臟器塗片，檢查有無弓形體。試驗結果如表 3 所示，即以上 8 種接種途徑的傳染試驗，均獲陽性結果。

(五) 家兔皮膚中和試驗

Salin 氏等^[1,2]報告，受弓形體實驗感染的猴子 (Rhesus Monkey) 血清中產生有中和抗體。此抗體和弓形體抗原混和，在 37°C 加溫半小時，注射家兔皮內，表現有中和弓形體的能力。同樣用小白鼠腦內或腹腔接種的方法，亦可證明出來。

我們分離的弓形體株的中和試驗成績，將由另文報告外，這裏提出的初步材料，也充分證明，受感染猴體內，可以產生中和抗體，但從受感染的豚鼠則未檢出。對照檢查用正常羊血清和乙型腦炎免疫血清，均未發現此種抗體的存在。

1. 兔免疫血清

(1) 猴免疫血清：用弓形體 17 號貓株感染小白鼠腹水 1:10 懸液，注射猴子 1 頭 (福建本地種)。接種量為腹腔 10 毫升，皮內 0.4 毫升，分兩個部位注射。間隔 1 個月後，又做 2 次接種，劑量同前。3 個半月採血，析出血清，在 -20°C 冰箱內保存。

(2) 豚鼠免疫血清：用 14 號貓株感染材料，皮下注射 1 次，4 週後採血，血清保存在 -20°C 中。

(3) 乙型腦炎免疫血清：係本治病病毒室用本地病毒株免疫的豚鼠免疫血清，在 -20°C 保存者。

2. 正常血清：本試驗採用了綿羊正常血清，保存 -20°C。

以上 4 種血清，除腦炎血清在 -20°C 保存達一個月以上，其餘 3 種血清，均係在採血後 5 天以內做試驗的。

3. 弓形體懸液：14 號貓株感染小白鼠腹水，用生理鹽水稀釋為 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000。

4. 中和試驗方法：弓形體各稀釋液與不稀釋的血清等量混和，置 37°C 水浴作用半小時後取出，注射家兔背部皮內。每個血清各注射 4 個稀釋度，每個稀釋度注射 0.2 毫升。以上 4 個血清分為兩組，各注射 1 隻家兔，每兔均用生理鹽水代替血清做為對照。

5. 試驗結果：兩個對照組 10^{-1} — 10^{-2} 稀釋度注射部位，均有紅斑和壞死， 10^{-3} — 10^{-4} 的注射部位，只有紅斑無壞死；而猴免疫血清組，僅 10^{-1} 注射部位有 14 毫米大小的紅斑，沒有壞死， 10^{-2} 注射部位只有一小紅點， 10^{-3} 以上無任何反應。其他豚鼠弓形體免疫血清，乙型腦炎免疫血清和羊正常血清組均與對照組相同。

弓形體稀釋		1:10	1:100	1:1000	1:10000
家兔一號	鹽水對照組				
	綿羊正常血清組				
	猴免疫血清組			H	H
家兔二號	鹽水對照組				
	豚鼠免疫血清組				H
	乙型腦炎血清組				H

註 ○ 紅斑 ● 坏死 H無反應

討 論

(一) 此次弓形體的分離和傳代試驗所用的小白鼠，一部係上海生物製品所價讓，經本站動物室飼養和繁殖者；另一部係某醫學科學院研究機關在福州繁殖者。與此同一來源的小白鼠，在乙型腦炎病毒和恙蟲熱立克次氏體的研究工作中，經常大批使用以來，迄未發現小白鼠有自然感染弓形體的例子。故可認為我們此次的弓形體，不是來自小白鼠，而是從兔和貓體內獲得的。

(二) 家兔在某些地區，已被證實帶有數種恙蟲包括德里恙蟲在內，並從兔體內分離出恙蟲熱立克次氏體。我們分離弓形體的 6 號和 25 號家兔，在分離的第 1、第 2 代

小白鼠均呈恙蟲病感染樣的病態和病理變化，腹水塗片能檢見細胞內有大量的立克次氏體。到傳代 3 次後，小白鼠死亡日期縮短至 4—5 天，由於鼠死太快，塗片再已不能檢見立克次氏體，但在細胞內外，則有大量弓形體存在。由此可知家兔可受弓形體和立克次氏體的混和感染。

(三) 14 號貓株和 17 號貓株在形態學和動物致病性方面是相同的，根據家兔皮膚中和試驗的結果，17 號貓株免疫的猴血清有中和 14 號貓株的能力，也說明了兩貓株間的近似。至於 2 個兔株雖尚未進行詳細檢查。

(四) 從福建省動物體內已經發現弓形體，關於人類患者的有無問題，乃是急待確定的。人類弓形體病 (Toxoplasmosis) 一般有兩種類型：一為腦型，一為發疹型。易與腦膜炎、腦炎、發疹熱、斑疹傷寒、恙蟲病等相混淆。到末期出現不典型肺炎症狀時，又應與其他病患鑑別。

本病的先天性嬰兒患者佔很大比例，凡遇有腦積水、頭小畸形、脈絡膜視網膜炎、腦石灰變性和驚厥等症狀時，考慮本病的診斷是相當重要的。

結 語

(一) 從福建省貓和家兔體內分離出弓形體各兩株，因此人類患者的存在問題，是值得考慮的。

(二) 兩貓株弓形體對小白鼠、豚鼠、家兔、地鼠、雞和鴿等均有很強的致病力，對大白鼠則不顯。

(三) 各種接種途徑包括腹腔、皮下、皮內、腦內、靜脈、塗擦、經鼻、經口和喂食等，對小白鼠都有感染性。

(四) 貓株第 17 號在本地的猴中可以由於人工感染而產生中和抗體。

參 考 文 獻

- [1] Sabin, A. B.: Toxoplasmic encephalitis in children, *J. A. M. A.*, 116: 801—807, 1941.
- [2] Sabin, A. B. and Rucoman, I.: Characteristics of toxoplasma neutralizing antibody, *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 51 (1), 1942.
- [3] Craig, C. F. and Faust, E. C.: *Clinical Parasitology*, fifth edition, 1951.
- [4] Wolff, I. W.: A new staining method for rickettsia. *Documenta Neerland Indonesia Morbis trop.*, 2 (4): 327, 1950.
- [5] 陳超常：人體寄生蟲學，1950。

THE OCCURRENCE OF TOXOPLASMA IN CATS AND RABBITS IN FUKIEN, CHINA

YÜ EN-SHU, CHEN TAI-SHI and LIN SHIH-CHING

Fukien Health Station, Fukien

(ABSTRACT)

1. Four strains of toxoplasma were isolated from two rabbits and two cats.
2. Tests made of the two strains from cats showed that the organism was highly pathogenic to white mice, guinea pigs, rabbits, hamsters, chicks and pigeons but not so to white rats.
3. Different methods of inoculation including intraperitoneal, subcutaneous, intracutaneous, intracerebral, intravenous, etc. were found successful in white mice.
4. Experimental infection with one of the strains produced antibodies in a monkey.