

恙蟲熱的實驗傳染

趙樹萱 許兆奎 趙春芳 楊淑英 吳啓文

(中央生物製品研究所 北京, 天壇)

恙蟲熱 (Tsutsugamushi Fever, Scrub typhus) 在自然界傳染的方式一般認為^[1,2]: (一) 人的恙蟲熱須依賴於恙蟲幼蟲的螫咬而罹患, 因為恙蟲只有在幼蟲期才吸吮動物的體液。(二) 恙蟲獲致傳染的來源有二: 一為由已受傳染的母體經卵巢遺傳到下一代; 二為在幼蟲期吸吮病人或患病動物的體液而感染。(三) 恙蟲熱立克次體 (*R. tsutsugamushi*) 的保藏宿主有鼠類、蝙蝠、麻雀等。Philip^[3]報告人所癖愛的家畜如狗或豬在有恙蟲地帶的草叢中行走, 亦可以受到恙蟲幼蟲的侵襲, 常能在其耳殼中、肛門週圍尋獲恙蟲的幼蟲。我們的試驗結果^[4]亦證明了(一) 試驗室感染的病例可由於含有恙蟲熱立克次體的材料濺入眼結合膜腔或經由局部創傷而發生傳染。(二) 鼠羣中互相殘殺剝食可能造成鼠類恙蟲熱的傳染。Mooser 等^[5]討論斑疹傷寒的傳播方式, 認為除了含有斑疹傷寒立克次體 (*R. prowazeki*) 的蟲糞擦入損傷的皮膚可以發生傳染外, 蟲糞經由呼吸道或黏膜組織器官的直接接觸亦可以引起傳染。Nicolle 等^[6]報告過鼠性斑疹傷寒實驗感染的鼠尿具有傳染性。最近 Worth 和 Rickard^[7]雖然懷疑鼠尿的傳染性, 但對於鼠類的殘殺剝食對於鼠性斑疹傷寒的傳播則認為是有可能的。

我們為了進一步證明恙蟲熱的傳染源, 恙蟲幼蟲螫咬以外的傳染途徑和人們癖愛豢養的家畜, 例如貓, 是否有可能作為恙蟲熱立克次體的保藏宿主的問題, 進行了以下三個試驗:

- 一、恙蟲熱實驗感染的鼠尿的傳染性試驗。
- 二、創傷及接觸傳染的試驗。
- 三、恙蟲熱實驗感染的小白鼠餵貓的試驗。

一. 恙蟲熱實驗感染的鼠尿的傳染性試驗

試驗(一):

(1) 取恙蟲原種(77號株)含有豐富恙蟲熱立克次體的卵黃膜1:50稀釋於肉湯培養基中,以每分鐘1,500迴轉沉澱15分鐘,用上清懸液行小白鼠靜脈注射,每隻0.5毫升,一批共53隻,大部在3—5日發病死亡,解剖檢查結果脾臟充血腫大一倍以上,肝臟病變不明顯,僅有微量腹腔滲出液但不夠吸取,脾肝印壓塗片及腹腔滲出液塗片,用Giemsa氏法染色後均能檢見大量的典型的細胞內增殖的和細胞外散在的恙蟲熱立克次體。

(2) 將第四日病情嚴重的小白鼠用乙醚殺死,固定於解剖板上,剪開腹腔後,用棉棒蘸5%碘酒消毒小白鼠的膀胱底部表層,然後用接有25號針頭的滅菌注射器抽取尿液,共用5隻病鼠,約吸取1.5毫升尿液,混合後分別接種3隻健康小白鼠腹腔內,每隻0.5毫升。其中一隻早期死亡未檢查,在第17日兩鼠均呈嚴重病狀,一隻迅速死亡,一隻瀰留,解剖檢查結果,均有顯著的典型恙蟲熱病變,脾臟腫大一倍以上及腹腔滲出液約0.5—1.0毫升,脾臟及腹腔滲出液塗片用Giemsa氏法染色,均檢見大量典型的細胞內增殖的恙蟲熱立克次體。將二鼠的脾臟及腹腔滲出液施行傳代小白鼠及豚鼠接種試驗連續至第五代均呈陽性結果。

試驗(二):

(1) 以感染恙蟲熱(劉5株)而發病的小白鼠的腹腔滲出液接種於三隻健康小白鼠腹腔內,每隻0.1—0.3毫升,經過9—14日潛伏期,接種後的小白鼠相繼發病,在瀕死前捉住病鼠脊背,讓它排尿在滅菌平皿中,兩隻鼠尿約0.3毫升,這兩隻發病的小白鼠經解剖檢查,都有典型的恙蟲熱感染的病變,脾臟腫大,約有0.5—1.0毫升的腹腔滲出液,脾的印壓塗片和腹腔滲出液的塗片用Giemsa氏法染色均能檢見典型的細胞內增殖的恙蟲熱立克次體,此等鼠脾及腹腔滲出液施行傳代試驗結果亦為陽性。

(2) 將上述收集的病鼠尿液吸入滅菌的注射器中,再用少量肉湯培養其沖洗盛鼠尿的平皿,亦吸入注射器中,全量1.5毫升,分別接種於三隻健康小白鼠腹腔中,每隻0.5毫升。經過9—12日的潛伏期,接種後的小白鼠先後發病,第12日死亡一隻,第16日其餘二隻發病嚴重,瀕於死亡。解剖檢查結果均有典型的

恙蟲熱感染的病變，脾臟腫大，有 1.0 毫升以上的滲出液，脾臟和腹腔滲出液的塗片，用 Giemsa 氏法染色後均檢見大量的典型的細胞內增殖的恙蟲熱立克次體，將鼠脾及腹腔滲出液施行傳代試驗，結果和一般傳代相同為陽性。

二. 創傷及接觸傳染試驗

試驗方法：

取恙蟲熱感染的小白鼠的脾臟，塗片用 Giemsa 氏法染色後檢見其含有豐富的恙蟲熱立克次體，將此項鼠脾用滅菌的乳鉢研磨，加入 5 毫升肉湯培養基稀釋為懸液。一部分接種於 3 隻健康小白鼠腹腔內，每隻 0.5 毫升，作為對照試驗，接種後小白鼠經過 9—14 日潛伏期，相繼發病，檢查結果，證明有典型恙蟲熱感染的病變。另外一部分材料分別作以下的幾個試驗。

1. 小白鼠口腔無傷接種試驗：取健康小白鼠 3 隻，在其口腔內下顎齒齦部滴一小滴上述脾臟懸液，惟不使流溢，隔離飼養於鼠罐中。

2. 小白鼠口腔創傷接種試驗：取健康小白鼠 3 隻在其口腔內下顎齒齦部先用消毒注射針頭刺破傷痕，冒出血迹，惟不使血液流溢，即將上述脾臟懸液滴在傷痕上，隔離飼養於鼠罐中。

3. 小白鼠表皮無傷接種試驗：取健康小白鼠 3 隻，在其耳殼內面，滴一小滴上述脾臟懸液，靜待乾涸。隔離飼養於鼠罐中。

4. 小白鼠表皮創傷接種試驗：取健康小白鼠 3 隻，在其耳殼內面先用 75% 酒精棉球消毒，然後用消毒的注射針頭刺破傷痕冒出血迹惟不使流溢，即滴上述脾臟懸液在傷痕上，待其乾涸，隔離飼養於鼠罐中。

5. 小白鼠點眼接種試驗：取健康小白鼠 3 隻，將上述脾臟懸液一小滴點入左眼外眥，使流入眼結合膜腔內。隔離飼養於鼠罐中。第三日、第五日、第七日多次檢查左側眼結合膜均無顯著病變，與右側無差別。

6. 小白鼠直腸接種試驗：取健康小白鼠三隻，用 2 毫升注射器吸取上述脾臟懸液 1 毫升，脫去針頭，將小白鼠倒置，頭部向下，尾部向上，直接將注射器細頭插入小白鼠肛門內，小心緩慢推進 0.3 毫升懸液，以手指按壓小白鼠肛門外部，拔出注射器。以免注入液體流出，隔離飼養於鼠罐中。

7. 豚鼠點眼試驗：取健康豚鼠二隻，將上述脾臟懸液一小滴點入左眼外眥，使流入眼結合膜腔內。隔離飼養，第三、五、七日多次檢查左側眼結合膜，微顯

充血，但與右側無顯著差別。

8. 豚鼠直腸接種試驗：取健康豚鼠二隻，將上述脾臟懸液吸入 2 毫升注射器內約 1.5 毫升，脫去針頭，直接將注射器細頭插入倒置的豚鼠肛門內，小心緩慢推進 0.5 毫升脾臟懸液，然後以手指按壓豚鼠肛門外部，拔出注射器，勿使注入液體流出，隔離飼養。

試驗結果：

試驗動物經接種後，逐日觀察凡有發病現象如棘毛閉目，運動不平衡喘息，腹部膨脹等現象即行解剖檢查，其無顯著病狀者，在三週末殺死解剖檢查之。試驗結果如表 1 所示。

表 1. 創傷及接觸傳染試驗的結果

試驗動物	動物號碼	接種途徑和方法	死亡原因	檢查日期	結 果
小白鼠	1	口腔無傷	殺死	第 13 日	—
	2		殺死	第 13 日	—
	3		殺死	第 21 日	—
小白鼠	1	口腔創傷	殺死	第 11 日	+
	2		殺死	第 13 日	+
	3		殺死	○	○
小白鼠	1	表皮無傷	殺死	第 13 日	—
	2		殺死	第 21 日	—
	3		殺死	第 21 日	—
小白鼠	1	表皮創傷	殺死	第 13 日	—
	2		病死	第 20 日	+
	3		病死	第 21 日	+
小白鼠	1	點 眼	殺死	第 13 日	+
	2		殺死	第 21 日	—
	3		殺死	第 21 日	—
小白鼠	1	直 腸	病死	第 5 日	○
	2		殺死	第 11 日	+
	3		殺死	第 21 日	○
豚 鼠	1	點 眼	殺死	第 11 日	+
	2		殺死	第 11 日	—
豚 鼠	1	直 腸	殺死	第 11 日	+
	2		殺死	○	○

表 1. 說明 試驗結果

- (陰性結果) 即動物病死或殺死, 解剖檢查結果未發現內臟有病變, 塗片染色後亦未檢見立克次體。
- + (陽性結果) 即動物死亡或殺死, 解剖檢查結果發現脾臟腫大, 有腹腔滲出液, 塗片染色後亦檢見有典型恙蟲熱立克次體, 傳代試驗亦為陽性者。
- 未檢查。

三. 恙蟲熱實驗感染的小白鼠喂貓試驗

我們曾經報告過^[4]在試驗室中健康小白鼠剝食恙蟲熱感染的病鼠屍體後可以獲致恙蟲熱的感染, 因而推想到常見家畜中的貓亦有經常剝食鼠類的習性, 是否亦可能因剝食病鼠而發生感染? 我們有一機會捕捉了一隻大黑貓, 異常健壯, 體重約有五公斤以上, 作了下面的試驗。

1. 先採取貓的心血 5 毫升, 用血清對於恙蟲熱及斑疹傷寒抗原作補體結合試驗及外斐氏試驗 (Weil-Felix test) 結果均為陰性。

2. 先在貓飢餓時試驗給以數隻健康小白鼠, 牠即很快的吞食。又數次檢查貓的皮毛內無蚤類及其他昆蟲滋生, 在試驗前將貓隔離飼養, 繼取已知的有顯著恙蟲熱感染病狀的小鼠 10 隻以上, 分為數次放在貓籠內, 不另外給飼料。此貓每次都將病鼠大嚼吞下, 并未發現有嘔吐情況。然後即每日餵給健康小白鼠數隻, 及殺死後的健康豚鼠及家兔肉類。每日上午測取肛門溫度一次, 3 週內體溫無顯著變化, 常介於 $37.7^{\circ} - 38.6^{\circ}\text{C}$ 之間, 一般狀況稍現衰弱, 但無顯著病狀, 在第廿一日夜忽然死亡, 解剖檢查結果發現脾臟腫大肥厚, 外表有苔膜, 肝臟無特異病變, 腹腔內無顯見的滲出液, 網膜淋巴管腫脹, 脾肝及網膜淋巴腺塗片, 用 Giemsa 氏法染色檢查, 在脾臟塗片檢見有典型細胞內增殖的恙蟲熱立克次體, 而未發現其他寄生體, 即將脾臟在滅菌乳鉢內研磨, 加肉湯培養基 5 毫升作成懸液接種於二隻健康豚鼠腹腔內, 每隻 1.0 毫升, 均證明有典型的恙蟲熱感染病變^[6], 試驗豚鼠恢復期血清對恙蟲熱抗原呈陽性, 補體結合反應結果 1 : 10。繼續用豚鼠脾腦及淋巴腺傳代試驗, 各用健康豚鼠 2 隻及健康小白鼠 5 隻行腹腔內接種, 亦獲陽性結果。

討 論

1. 早在廿年前 Nicolle^[6] 及其門人就報告過鼠性斑疹傷寒實驗感染的鼠尿具

有傳染性，最近 Worth 及 Rickard [7] 又有不同的試驗結果：斑疹傷寒實驗感染的鼠尿直接試驗的結果為陰性。而用雞胎卵黃囊培養的斑疹傷寒立克次體 (*R. mooseri*) 加入健康鼠尿中，亦僅能保持數小時的毒性。故他認為鼠尿的傳染性不大。我們在試驗（一）的結果中雖然證明恙蟲熱病鼠尿液的感染性，猶疑為在解剖病鼠採取尿液時是否有腹腔滲出物的混雜，而不敢斷言。但由於試驗（二）的結果可以證明恙蟲熱實驗感染的病鼠尿液，從稀釋度和接種量來推論約相當於病鼠血液乃至腹腔滲出液的感染性，同時也可以說明恙蟲熱在發病末期所形成的菌血症。我們認為恙蟲熱病鼠的尿中既有生活的立克次體，也就是一個極應注意的傳染源，因之在試驗室內處理鼠罐及其排泄物時即應充分加以消毒，以防止疾病的傳播。又推想到臨床上處理恙蟲熱病人的尿液亦應有同樣的警惕。至於恙蟲熱病人尿液中是否亦有生活的立克次體？尚待證明。另外尿液中的恙蟲熱立克次體在自然界究竟能生活多長時間？自然也需要試驗來證明，但是這都不是問題的關鍵。因為由於小白鼠創傷及接觸傳染試驗結果又說明恙蟲熱病鼠尿液的直接接觸傳染是很可能的。如果病人的家屬或護理人員及試驗室工作者常有機會沾染病人或病鼠的尿液，不注意中，很可能侵入眼結合膜腔或損傷的皮膚，這種傳染的危險性顯然是存在着的。

2. 常見的家畜如貓原有捕食鼠類的習性，人和貓的接觸又很密切。特別是小孩常與貓玩戲。試驗證明貓捕食恙蟲熱病鼠可能罹患恙蟲熱。另外貓在捕鼠時，鼠洞附近、草叢中或附着鼠體的恙蟲幼蟲也有機會跑到貓體，貓亦可能成為恙蟲幼蟲期的寄生宿主。所以貓是一種不可忽視的恙蟲熱的保存宿主。今後試驗有待證明的：

(1) 恙蟲熱流行區域的貓是否有自然感染的情形，以及貓對恙蟲熱的感染性如何？以我們僅只一次的試驗，自然不能肯定其結果，不過供參考而已。

(2) 貓體有無恙蟲的幼蟲的孳生？我們相信這些問題對於恙蟲熱的流行病學和預防工作上是有重要意義的。

結 論

1. 恙蟲熱實驗感染的病鼠尿液可能是一個危險的傳染源。
2. 鼠類的創傷後接觸傳染是一個重要傳染途徑。
3. 初步以恙蟲熱實驗感染的病鼠給貓捕食，貓因而受到感染。證明貓的脾

臟內保藏有恙蟲熱立克次體。

4. 提出實驗傳染與恙蟲熱流行病學有關的問題加以討論。

參 考 文 獻

- [1] Kohls, G. M., Armbrust, C. A., Irons, E. N. and Philip, C. B., *Am. Jour. of Hygiene*, 1945, **41**, 394.
- [2] 緒方規雄, *Rickettsia*, 1951.
- [3] Philip, C. B., *J. of Parasitology*, 1948, **34** (3) 169-191.
- [4] 趙樹萱, 趙春芳, 許兆奎, 吳啓文, 楊淑英: 微生物學報, 1953, **1** (1), 42-56。
- [5] Löffler, W. und Mooser, H., *Schweiz. Med. Wochenschrift*, 1942, **28**, 755.
- [6] Nicolle, G., Giround, P. and Sparrow, H., *Arch. Inst. Pasteur de Tunis*, 1934, **23**, 1-14.
- [7] Worth, C. B. and Rickard, E. R., *Am. Jour. of Trop. Med.*, 1951, **31** (3) 301-305.
- [8] 趙樹萱: 中山醫報, 1952, **7** (3-4) 1-6。

EXPERIMENTAL TRANSMISSION OF TSUTSUGAMUSHI DISEASE

CHAO S. H., HSU C. K., CHAO C. F., YANG S. Y. and WU C. W.
National Vaccine and Serum Institute, Peking

1. The urine of white mice experimentally infected with *Rickettsia tsutsugamushi* was found to be highly infectious and may be dangerous source of infection.
2. Experimental transmission was found to occur through contact and external abrasions. These routes of transmission may be of importance under natural conditions.
3. A cat fed with infected white mice was found to have contracted infection.
4. The possible bearings of the above findings to the epidemiology of *tsutsugamushi* disease were discussed.