

1944

書 號 14.5244/8

登記號 28967

出 日
限 借
星 期

病理學

一、初染型肺結核：結核菌門

1. 呼吸系——最
2. 消化系——較少
3. 創傷——更少

菌入肺後不易外出，在肺胞間停留繁盛，經過三至十週，身體發生過敏性若以結核素試驗即呈陽性反應，其臨床上的診斷常多困難。最準確的應每半年做結核素試驗一次，如呈陽性反應，肺內便有病灶，有時淋巴腺腫大——是謂初染型組合。有時僅見肺門的淋巴腺腫大，而不見肺部病灶，因肺病灶太小，目力不能窺見在這種情況之下我們叫它為初染型肺結核。

初染後的變化：

1. 吸收：病灶雖被吸收——X光不易查明——菌能生存其中，對結核素試驗仍呈陽性反應，從前認為過敏性可以終生存在，近經證明可以消失其轉變率在歐美約為10—20%在中國則因結核病嚴重而較少，約為1.8%。
2. 鈣化：初染型肺結核有90%好轉的可能10%變壞。此時肺內病灶與淋巴腺均已結疤，最近知道黴菌亦能感染肺部如Histoplasmosis 故肺內鈣化不一定是結核菌所致。
3. 菌入血循環或淋巴管則可產生粟狀結核或腦膜炎及骨結核。
4. 干酪樣變：肺部呈現酪樣變化可致干酪樣肺炎而發中毒症狀。
5. 結核浸潤：在X光的照片上，患處呈以濃厚均勻陰影，但無症狀發生這種現象有兩種說法：

A 結核淋巴腺腫大，阻塞氣管，使肺不漲，因空氣不能流通，原有的氣被吸收，變成一塊白色。若淋巴腺縮小，氣能透入，則陰影消失，病患全癒。

B 死菌入內產生過敏性，呈現大塊反應，若病菌漸被吸收，其在X光照片所現之陰影，因而消失全癒。

6. 結核性胸膜炎：菌入肺內3—10週發生過敏性反應，若菌入胸膜，同樣的發生胸膜炎炎性漸被吸收而愈。

19 再染型肺結核：初染型愈後，續受傳染者有二個解釋（1）外來傳染（2）內部傳染。外來傳染說係與外界接觸後始能發病而內部傳染說，則謂初染型之菌並未死亡，仍能傳入血流，或其他部位而後致病。

三、重染型肺結核：初染型未愈而重又受傳染者。

肺結核病灶形成的因素：

1. 人體抵抗力：人體生來即具有抵抗力，其科學的根據，在臨床上可以證明。A，法 Bonnel，第一次世界戰時，發現非州軍隊至法國者，多數發生肺炎性結核急性粟粒結核及進行性淋巴腺破壞認為是體質的關係。B，美國的黑人患肺病的必較白人的情勢嚴重，所患的病症不是乾酪性肺炎即是粟粒結核，而且死亡率較白人亦

14.5244/05

高。C，德 Diehl 觀察過三七對同胞孿子其中有二六對發生同樣的肺結核病佔 70%，其餘 30% 所患的病症則不同，他們又研究六九對異胞孿子的肺結核，結果只有一七對（25%），患同樣結核病，其餘的五二對（75%），則完全不同。其次在動物實驗上證明，美 Lurie 將兔分為三種純種（自家族交配延代），用塵土飛揚法來傳染健兔，以其同於人的自然傳染，其結果如下：

- A，（抵抗力最大者）此族皆為慢性病，乃纖維性結核病，生活的日期久，假定為一〇〇天
- B，（抵抗力次強者）此族較 A 族為差，患病有時患慢性，有時患急性的結核病，生活的日期較短，假定為七〇天。
- C，（抵抗力最弱者）此族患病多屬急性，如粟粒結核等，生活的日期最短，假定為五〇天

或謂此法由於所受傳染菌量之多少不同，致染病的情況不能準確，改用注射菌法來觀察其結果，即令用小量注射，其結果與前述試驗相同。用大量菌時，則三個家族的結果均相同，此則表示小量菌時或有抵抗力大小的區別，用大量菌時則否，又用自然傳染法，將兔固定於大甬內，由噴霧法散佈細菌，使免受傳染，小量時（如每公撮含一〇〇結核菌），其結果與前相同，用大量時（每公撮含一〇〇〇結核菌）則三族皆患嚴重的結核病，由此證明人體的抵抗力是存在的，但不能估計過高。

- 2. 結核菌數量：Bonnel 謂菲州人易患嚴重之結核病，是因為環境不佳，吸收菌量太多所致，美國黑人患結核的情形亦同此理。反對 Diehl 之說，謂孿生姊妹的病狀，因其所處環境相同，所受傳染菌量常常相等，故有一致的表現。
- 3. 結核菌之毒性：在某種情形下，可能改變其毒性之強弱，與繁殖致病的急性或慢性成正比 Rich 以為結核菌毒性越大，牠的繁殖力也大，因之其所發生病灶亦較惡劣。
- 4. 後天獲得的抵抗力：A，特殊免疫力—受染後發生過敏性，同時也發生一些免疫力，卡介苗的接種即同此理，B，非特殊免疫力—普通所謂之身體好，就想到營養。如果營養不好，容易患病，而且容易發生嚴重的情形，是毫無疑義的，但營養是否能抵抗結核病的發生，則不敢說，維持營養之平衡固屬最好（因營養過多亦被排泄）然營養過多，並不能增加抵抗力。
- 5. 過敏性：菌入體後三—一〇週，發生過敏性。過敏性愈大，則反應愈大，而病勢亦愈嚴重，與體質菌量毒力，均有密切的關係。
- 6. 傳染途徑：如病菌侵入肺胞內，常不能再行排出，所以致病的機會多。如侵入消化道，則常易被排出，而不易致病。

因此病之準則，若用方程式表示則為：病變 $\propto \frac{\text{菌量} \times \text{菌毒} \times \text{過敏性}}{\text{抵抗力（先天十後得）}}$ 即上述各種原因的綜合的表現。

四、病徵形成的原因：在 X 光下所見病變部位的大小，並不能表示病症的輕重。有時肺

實質損害很重，而無臨床的病狀，有時病變雖小，而臨床症狀顯著，其原因與過敏性，菌量，結核蛋白質，都有重大關係，並依結核蛋白質之是否侵入血流，作為發症狀與否的決定。

五、小兒結核病與成人結核病為何不同？小兒型肺結核多為浸潤狀態，不易纖維化、有局部淋巴腺腫大，得粟粒狀結核者較多；成人則與此種情形相反。因為小兒淋巴腺的構造與成人不同，成人的淋巴組織多，病菌侵入後，即為其包圍，故常不腫大。Rich則謂成人之淋巴腺與小兒者相同，並對小兒的不易纖維化亦表示反對，如小兒外傷頗亦易愈合。Krouse的持論以小兒的淋巴腺與成人不同，且小兒之過敏性大，更謂能將結核菌包圍而使其鈣化。更有謂成人多有再染型的傳染，體內已有一部份抵抗力，故病害的部位，易為纖維化，同時也有人反對此說，謂在美國常有成人的初染型病狀，亦頗嚴重。總之成人的抵抗力較小兒的抵抗力大故發病的情勢，不如幼兒的嚴重。

六、再染型之自外或自內傳染的學說：

1. 外來傳染發生者，在預防上應設法使其不再受外界的傳染。
2. 內部傳染者，在預防上應設法增加免疫力Opie氏於動物試驗的觀察謂動物受一次傳染後，仍可續受傳染而患病，Opie又謂接觸傳染謂與常人之發病率不同，A，家中如有開放性結核病，則接觸者的發病率較常人多十倍，B，家中無痰帶菌的病人，則只多五倍。故證明再染型為自外傳染而來，這是一種可能性並非絕對性的解釋。內部傳染的理由，則謂骨腎及腦膜的結核病。並非一定的由外傳來，必為肺內之病灶細菌傳染他部所致。在美國曾有一眼科病人，原係右眼結核病，經手術後不久，左眼亦生結核病變，很可能的這是內部直接傳染Haebischmaun謂自內部傳染而罹病者最多。在中國目前情形推測內部與外來傳染所發生的結核，可能相等。

七、小兒既有初染型後，是否即有抵抗力？Wyers謂因初染型所產的過敏性高，非但無益，反而有害。但過敏性的效果可以包圍結核，實為絕對有益。中國的結核病，既這樣的嚴重，則卡介苗似無大用，其所持反對的理由是：

1. 自然傳染是會患病的有許多小孩在幼年時因無抵抗力而患病死亡。
2. 內部傳染發生結核病是可能的。但卡介苗的接種，是在其無害且能獲到後天性抵抗力的理由下來實施的，同時還能減少內部傳染發生的機會，在中國結核病之多為了減少傳染，增加體內抵抗力，故應大量推廣。

結核病免疫學

結核桿菌是由複雜的化學物質構成，其中所含的主要成分為蛋白質，脂肪和炭水化合物等，因為各物質的化學組成不同，所以分別注射至正常動物體中也就產生了不同的反應，見次表：

注射各種物質後動物體中產生的反應	結核菌體	菌中的蛋白質	菌中的脂肪	菌中的炭水化合物
抗原性	+	+	+	-
免疫性	+	-	?	-
過敏性	+	+	-	-
變態性	+	-	-	-

我們應當首先認識清楚，有抗原性的物質，不一定有免疫性，例如注射大量的結核蛋白至正常的動物體中，可以產生抗蛋白的抗體，但不能產生對結核菌的免疫力，惟有結核菌本身方能引起身體對結核病的抗體及免疫體。

1. 免疫現象：

1. 免疫	組織反應	毒性（病變）	例如：白喉
		變態反應（Allergy）	結核
	抗體產生	過敏反應（Anaphylaxis）	異體蛋白
		免疫	傷寒

2. 變態反應，第一次注射抗原時之反應或祇有毒性之反應。

第二次注射同樣之抗原時，即引起快速而擴大之反應，例如注射結核菌素在正常人皮內，并無改變，而在結核病人之皮內，則有巨大之反應。此二種反應不同之點乃是毒性病變第一次有之而第二次無之，變態反應則第一次無之而第二次即有大改變發生。

在免疫現象之過程中，每一反應常附帶有其他種，或多或少的反應存在，例如在免疫反應中，因細菌之注射常附帶有少許毒性反應，過敏現象與變態反應等常常同時存在。

免疫過程可區分為「組織反應」與「抗體產生」二部，如上表所示，茲更逐項解釋如下：

一、組織反應：

（1）病變：例如白喉毒素當其初次侵入身體時，即可使組織發生紅腫出血等現象，如錫克氏陽性反應即表示因毒性而產生病變。

（2）變態反應：例如以動物實驗結核病，當結核菌初次注射時，在短時期內無反應發生，但隔相當時日再行第二次注射時，在短時期內，可有紅腫現

象發生。

乍看之此二種反應所表現之現象雖相似但其所發生之時間則不同。

二、抗體產生：

(1) 過敏反應：若以異體蛋白注射入動物體中時，初次注入動物無反應表現，但若在一定時期後，再作第二次注射時即產生驚人之反應，動物甚至死亡此種反應可用「被動免疫方法」，移植血清至另一正常動物體中，亦可發生同一反應，故由此可知此反應發生時，動物血液中已有抗體存在，而且此種抗體與抗原在別個動物體中亦可結合產生同樣之反應。又此反應多在注射後立即發生或半小時內完全出現。局部之現象多為水腫尋麻疹等。

(2) 免疫反應：若以傷害菌注射入動物中時，該動物之血內可有多量的抗體產生，若再以同樣菌注射第二次，該動物無任何反應發生。但因細菌之毒力關係，有時亦有產生較輕之毒性反應者。

II、變態反應與過敏現象之比較：此二者均屬於超常反應 (Hypersensitiveness) 茲列舉其不同點如下：

	變態反應 (Allergy)	過敏反應 (Anaphylaxis)
1, 免疫過程	最早發生	必須等一個時期
2, 血清內抗體	不存在	少量存在
3, 反應時期	二三天後不等	即刻 (半小時內)
4, 反應原理	細胞內抗原之反應	抗體在細胞內作反應
5, 被動反應	不可能	可能
6, 局部現象	紅腫，壞死	尋麻疹，產生組織毒素
7, 全身反應	無	平滑肌之收縮

如表內所示，下面我們再稍加解釋：

1. 免疫過程：變態反應之產生係由于組織細胞本身與抗原之作用而過敏反應須有抗體之存在，當抗原侵入身體時首先即刺激組織細胞產生變化，然後才有抗體產生，故變態反應之免疫過程開始最早。
2. 血清內抗體之存在：在變態反應時，血清內根本無抗體存在，但在過敏反應時，血清中有少量之抗體存在，而在免疫反應中，則血清中有大量之抗體存在。
3. 反應時期：變態反應發生較遲，普通，至少在注射後數小時至24才發生，但過敏現象在注射後五分鐘內即可產生。
4. 反應原理：變態反應係細胞與抗原之反應，但其究竟係何種變化尚不甚明瞭，而過敏反應則係抗體與抗原在細胞內起作用之故，此可以實驗方法證明，若以過敏現象之荷蘭豬之血清注射正常荷蘭豬二十四小時後，取出其子宮，經過數次沖洗，再加入抗原時，此子宮組織有收縮之現象發生此即證明抗體由被動免疫而存在

于組織細胞中之故。

5. 被動反應：在過敏反應時可用被動免疫之方法，移植于正常動物，而變態反應則不能。
6. 局部反應：過敏反應中，局部常生尋麻疹，水腫等，此係抗原抗體在組織細胞中結合時，使組織中產生組織毒素(Histamine)或與其相似之物(Histaminelike-substance)所致，有人以實驗方法證明若先將一種抗組織毒素Benedryl之藥物注射入已有過敏性之動物體內，然後再注射抗原時，則過敏反應可不致產生，由此可證明組織毒素與過敏性之關係。變態反應之局部反應則僅是紅腫，壞死，而不易被抗組織毒素藥劑之抑制。
7. 全身反應：在變態反應中根本無全身反應產生，但過敏反應時，因全身平滑肌之收縮，往往為動物死亡之原因。

III、脫超常反應：(Desensitization)減低或取消超常反應。

以微量之抗原作多次注射至有超常反應現象之動物，可使其脫去此種性質，此法在動物實驗中，甚易行之但在人體中則不太容易。人體在自然感染中，亦可有脫超常反應之現象：例如在結核病人之病情特別嚴重，或其將死之時，結素試驗往往呈陰性反應，此即因身體內之結核菌甚多隨時產生結素而形成脫超常反應，所以能暫時轉變為陰性。

結核病在不同情形下，所呈現之反應亦異，茲列表分析如下：

	初 次 感 染	再 次 感 染	
		小 量 菌	大 量 菌
潛伏期	15—30	一天	
細胞反應	彌散性，單核細胞浸潤亦有多核細胞存在	局部性單核細胞浸潤	
表皮樣細胞之形成	慢	速	
乾酪樣變	晚	小，有，早	大，有，早
淋巴腺	有菌	無菌	菌多
結果	進行性	復原	早期死亡

- ### III、郭霍氏現象：(Kochs, phenomenon) 一八九一年德國細菌學家郭霍氏曾作下列試驗，注射結核菌至正常之荷蘭豬皮下，局部產生的反應很小，數日即完好，惟過十至十五日後局部發生結節，次第增大，而成潰瘍，經久不愈，局部淋巴腺腫大，內臟均有結核菌，二三月後得全身結核病死亡，局部潰瘍至死不癒。若將已感染結核病之荷蘭豬再注射少量之結核菌二三日後局部即發生顯著的病理變化；如發硬及化膿但不久即愈，局部的淋巴腺亦無變化，其他內臟更不因第二次感染而含有結核菌。

此現象即為結核菌的變態反應，首先為郭霍氏所發現，故稱曰「郭霍氏現象」，由此觀察可知當動物已有變態反應時，若再遇到結核菌侵入，身體組織立即顯出抵抗反應，在很短期中即能阻止結核菌的繼續侵入。在人體內之病理變化也是如此。

，卡介苗的接種即是利用此種原理，卡介苗除無毒力外其他化學組成和人型結核菌相同，也能引起同樣的免疫反應，故我們可利用無毒的卡介苗來代替有毒的人型結核菌的初期感染，以增加對結核病的抵抗力，天然的初期感染，即使成不活動，再受到第二次感染之刺激，可能有嚴重反應，卡介苗則漸次消失，不能於第二次感染時作祟。

A 結論：

1. 在結核病中變態反應常與抵抗力同時存在，但無變態反應時，抵抗力仍可能在此可以試驗方法證明，若以有變態反應之動物用脫超常反應方法使其脫去變態反應，然後以有毒之結核菌，注射于該動物仍可不致死亡。
2. 自然感染所產生之變態反應與接種卡介苗所產生者不同，在前者病人身體中可有病灶存在而後者則無。
3. 變態反應不是完全無害的，故若有方法只單獨產生抵抗力而不產生變態反應時則最為理想，在被感染之情形中，可分成三等，有變態反應而僅有小量菌侵入時其結果最好，初次感染而菌量不多時次之，有變態反應又有大量細菌感染時最壞。
4. 抗體之存在結核病的免疫中無重要性。
5. 結核菌之抗原與細菌之變性無關，故卡介苗雖經長久時間之培養，其抗原性仍可保持。
6. 在目前無其他更好之方法以測定結核之免疫程度時，我們仍只能用變態反應來作測驗。
7. 結核病與普通其他傳染病不同，因結核菌之抗原力低，故其所能引起產生抗體之力量亦小，所以目前對增加結核病抵抗力之方法只有用卡介苗之接種使身體產生抵抗力以預防之為較好。

卡介菌苗製造法

因鑑於過去德國呂伯實驗室製造卡介苗所發生的錯誤，對於卡介菌苗室之設置裝備，應特別小心。必須與其他實驗室分開，以遠隔結核菌的來源。同時工作人員必須每三個月檢查一次，有無結核病的可能。室中所需的一切用具，如消毒鍋，冰箱等均須單獨設立，專為製造卡介菌苗之用，所用試管及玻璃器等，必須用耐熱中性的質料以減除妨礙卡介菌生長的因素，茲將詳細步驟分述于下：

(一) 培養基之製造：

1. 綜合蘇通培養基 (Synthetic Sauton Medium)

硫酸鎂	0.5公分,
枸橼酸	2.0公分,
鹼性磷酸鉀	0.5公分,
枸橼酸銦鐵	0.05公分,
龍鬚菜醃胺	4.0公分,
純甘油 (雙蒸)	60.0公撮
蒸餾水	740.0公撮

取清潔三角瓶，將各化學藥品稱好放入瓶內加蒸餾水少許在溫水箱徐徐加熱，俟都溶化完畢後，再將甘油加入，補足所須要的蒸餾水。用氫氧化銣滴定氫游子濃度PH7.2 (每1000公撮培養基約需 10% NH₄OH 16公撮) 用十五磅氣壓消毒三十分鐘。

2. 蘇通馬鈴薯培養基 (Sauton Potato Medium) 製法：

取新鮮的馬鈴薯，削去外皮，以穿孔器刺入，切成直徑二公分，長約四公分的圓椎形，再斜切成兩半浸入1% 炭酸鈉溶液內二小時，取出以水沖洗二小時。準備一批大玻璃管，每管中放入二公分的小玻璃管二、三支，以製備好的馬鈴薯斜面一片，分別放入大管內，使斜面的底部為玻璃小管所支持而懸於大管中，加入蘇氏溶液數公撮，使馬鈴薯斜面的底部恰為蘇通液所浸沒，管口用紗布棉花堵塞，用十五磅氣壓消毒三十分鐘。

3. 胆汁馬鈴薯培養基 (Bile Potato Medium) 製法：

取新鮮牛胆汁 380公撮加甘油 20公撮，成5% 甘油胆汁，按照上述的方法，做去馬鈴薯斜面，放入燒杯內，加甘油胆汁，蓋滿全部馬鈴薯，置燒杯於水溫箱中，加熱至 75°C 一小時，取出斜面，分放入已準備好的大管內，使斜面的底部恰與液體接觸，將管口用紗布棉花堵塞，用十五磅氣壓消毒三十分鐘。

4. 略氏雞蛋培養基 (Lowenstein's Medium) 製法：

酸性磷酸鉀	2.0公分
硫酸鎂	0.2公分
枸橼酸鎂	0.5公分
龍鬚菜醃胺	3.0公分

甘油 10.0公撮
蒸餾水 490.0公撮

稱好所需要的原料，放入清潔的玻璃瓶內，加蒸餾水，置於水溫箱內，加熱溶化，分盛於三角瓶中，每瓶100公撮，以紗布棉花堵塞瓶口上，以紙蓋上紮好，用十五磅氣壓消毒三十分鐘。

取馬鈴薯粉五公分，加入於已消毒的100公撮溶液中，在水溫箱中徐徐加熱，且隨時將瓶搖動，以免薯粉沉澱而凝結成塊，俟成膠狀後，再煮沸十五分鐘，取出置於56°C水溫箱中以備用。

取新鮮雞蛋六個，浸入含5%蘇打溶液內半小時後，以水沖洗，以蘸有75%酒精的棉花擦後，將雞蛋打入消毒的燒杯內，觀察是否新鮮，然後傾入已消毒的大三角瓶內。以次將所需的雞蛋全部裝入後，將瓶搖盪，使蛋白與蛋黃混合均勻，用消毒的量筒取出一六五公撮，加2%孔雀綠3.3公撮。取已化好的馬鈴薯粉溶液100公撮，傾入已裝好的雞蛋液內，搖勻後用消毒紗布過濾，除去未溶化好的塊質，最後以無菌手續，將此培養基分裝入消毒的中號玻璃管內，每管約五公撮，置管於培養基固定器內，加熱85°C四十五分鐘，即可固定成斜面，取出放入培育箱內二十四小時，如沒有細菌生長，即表示培養基不含雜菌而可以應用了。

(二) 菌種的保存：

乾燥的菌種可能保持數月或較長的時間，普通在實驗室中保存的方法有兩種：一種是接種於綜合的蘇通培養基上，經在37°C培養兩星期後，在整個培養基表面長滿一層薄膜，可挑取部分接種至新鮮蘇通培養基上，如此繼續不斷的在液體培養基上保存，同時也就可以用作菌苗，另一種方法是在蘇通馬鈴薯培養基上保存間兩星期接種一次，作菌苗時才接種至蘇通培養基上，間或通過兩次胆汁馬鈴薯培養基，天壇防疫處現用的方法如下：

蘇通馬鈴薯胆汁馬鈴薯 I 胆汁馬鈴薯 I 蘇通馬鈴薯蘇通 I 蘇通 II (作菌苗用者)
蘇通馬鈴薯胆汁馬鈴薯 I 胆汁馬鈴薯 II 蘇通馬鈴薯蘇通 I 蘇通 II (作菌苗用者)
蘇通馬鈴薯胆汁馬鈴薯 I 胆汁馬鈴薯 II 蘇通馬鈴薯蘇通 I 蘇通 II

照上述的兩種方法，培養出來的結果是相同的，以前曾有人說，卡介菌菌種的保存，必須通過胆汁培養基，其中有某種未知的因素存在，對於卡介菌的生存有特殊關係，一九四八年巴黎巴斯德研究院，曾發表論文，對卡介菌的保存問題，有詳細的討論，認為可以不必一定要用胆汁馬鈴薯培養基，其所以經過胆汁培養後所做成的菌苗，接種部位顯示有較大的反應，是因為有一部分胆汁帶入菌液內。但另有人認為菌種繼續在液體或馬鈴薯上培養相當的傳代後，仍應種於胆汁培養基上，反而可以增加菌苗的毒力，根據這些說法，我們可以知道卡介菌並不是一個已經固定的菌種，若是培養環境改變，是會影響它的生長的，所以在製造室中，對菌種的保存，應特別注意，以維持菌苗一定的效力。

(三) 卡介菌的毒力：

自卡美氏宣佈卡介菌為無毒的菌後，即有許多細菌學家對它加以研究，所得的結

果並不一致，常引起爭論，最先有皮曲夫氏（Petroff），在一九二四年自巴黎取得菌種，在培養時，除了一般正常生長外，發現有很小的顆粒，中間隆起，漸向外生長，因之引起懷疑，將此兩種不同的菌集落分別培養於固體培养基上，仍然發育成兩種不同的集落，他稱卡介菌原來的集落為粗糙型，而新產生的集落為光滑型，若將粗糙型的菌用羣丸注射法通過海豬，經過幾代後，發現牠的毒力能增加，並可以使海豬得結核病，若將光滑型的注入海豬，即能產生全身結核病，因此認為卡介菌仍含有毒菌，尤其是注射到動物或人體以後，也許因環境適宜、由無毒力而變成有毒力的

一九二四年瓦迪生（Watson）將卡介菌注射於大批海豬中，經九—十二個月後，發現其中9%的海豬發生結核病，可是次年再由巴黎取來菌種作同樣的試驗，則不能得到上述的結果，其他如屈雅氏（Dreyer）沙散羅（Sarsano）麥德拿（Medlar）等，均曾作有試驗認為卡介菌含有毒力，或在動物體中能增加其致病力。

可是另一方面，尚有許多人悉心研究，仿照皮曲夫、瓦迪生等的方法去實驗，總不能得到他們所說的結果，認為皮曲夫的試驗，其中的所謂光滑型的集落是染有人型結核菌的所致。因將他所說的光滑型注入家兔體中，並不能使其發生結核病。卡介菌係由牛型結核菌變異而來，如若毒力增加，則必仍為牛型，而能使家兔發病。所以證明皮氏的實驗是染有人型結核菌的，再對瓦迪生的實驗認為其所注射海豬發生結核病的診斷表示懷疑，因為他的診斷無科學的根據，僅憑肉眼觀察，不免有錯誤之處加之發病期極遲晚，有遲至一年者，可能因動物未加以隔離喂養，而在實驗期中，感受自然傳染而發病。

總之這些爭執，已成為過去的歷史，最近十餘年來，已沒有人再能證明卡介菌有毒力，且全世界已有千萬餘人經過接種，其中沒有一個人是因為接種卡介菌苗而發生結核病的。這足以證明卡介菌苗是絕對安全可靠接種於人身體上是不會增加致病力，只能產生免疫力。

（四）菌苗的製造：

卡介菌苗係活菌菌苗，不能加防腐劑，所以在整個製造過程中，應特別小心，不能有任何細菌參染浸入，工作室必需以紫外線光燈消毒。工作人員必需將手洗刷清潔，用75%酒精消毒，穿戴消毒衣服帽子及口鼻罩，方能入室工作，工作時以二人為原則，不必要的人不可入內。

當卡介菌接種至蘇通培养基時，其菌集應浮於液體上，如若不慎，使菌表面染溼，必會向下沉落，而不能生長繁殖，所以接種時，應特別小心，接種後把瓶移至培育箱時，動作必須輕，緩，避免顫動，以防細菌向下沉落，培育箱亦以少開為原則，如若開啓時，動作應輕緩。如環境及操作行動適宜，經培育兩星期後卡介菌應在液體表面上長滿一層，下面液體略帶草黃色，而清澈無濁，即表示沒有染雜菌。可用來作菌苗。

照上述的方法接種，並選擇培養兩星期而未染有雜菌的液體瓶，除去瓶口上的紙蓋，並將瓶口在酒精燈焰上略燒，搖動瓶中，使菌混合，拔去瓶塞，將菌液倒入細菌收集器中。液體即由底部小孔流出，將收集器中的活塞下推，將細菌壓緊，排出液體，取一消毒的濾紙盤，內裝濾紙約二公分厚，揭去盤蓋，將盤放於收集器下，推開收集器底部，再將活塞下推，即擠出已壓成圓柱形的細菌塊，以消毒棒將細菌撥到綠紙上，切成小塊，以消毒鑷子另夾消毒濾紙蓋於細菌塊上，用一小圓金屬物在上面略加壓力，壓去細菌內的剩餘水份，用消毒棒將細菌移至消毒雙碟中，在精細分析天秤上稱其重量將菌撥入含有玻璃珠或無銹鋼球的搖瓶中。再在天秤上稱出雙碟的重量，兩次重量相減，即可求出菌重。將搖瓶徐徐搖動，每分鐘約六十次，搖盪五分鐘後，加稀釋蘇通液二公撮，繼續搖動二分鐘，最後根據稱出細菌的重量，加入所需的稀釋液，即製成每公撮內含有細菌二十公絲之原漿例如：

碟與菌重	52.5340
碟重	50.9520
菌重	1.5820

$$20 : 1582 = 1 : X$$

$$X = \frac{1582}{20} = 79.1$$

即照上面例子來說，重一五八二的細菌，需要加入七九、一稀釋液，方能作成每公撮含二十公絲之原漿，然後取原漿五公撮用加入於二〇〇稀釋蘇通液中，即製成每公撮內含〇、五公絲細菌（0.5mg/ml）經純菌試驗後，裝入安瓿，即為製好的成品。

（五）菌苗檢定：

1. 純菌試驗：

菌種原漿及菌苗，都應分別作純菌試驗，用消毒毛細管，套上橡皮乳頭，將菌種瓶內所剩的液體吸出，接種於血斜面及半固體培養基中，以同一方法將製好的原漿及菌苗分別接種至上述的兩樣培養基再放入37°C培養箱內二十四小時後檢查如無雜菌長出，即可將菌苗分裝至安瓿內，普通分裝於一公撮五公撮，及十公撮三種安瓿管分裝完畢後，必需抽取部分安瓿，復作純菌試驗，經培養二十四小時後，如無雜菌，菌苗即可分發使用，惟上述的各種純菌試驗，應在37°C培養箱中，放置一星期方為可靠。

2. 活菌數計算：

取消毒管六支，編上從一到六的號碼，在第一管中放入已製好的菌苗，其餘每管中加入稀釋蘇通九公撮，用消毒吸管於第一管中取菌苗一公撮，放入第二管中，成一與十的稀釋，將管搖動使菌混合均勻，另取一消毒吸管於第二管中取一公撮放入第三管中，挨次這樣稀釋致第六管。前四管可留作效力試驗，於第五管中取一公撮，分種於十個玻管的駱氏培養基上，每管零點一公撮。以同樣

方法將第六管的也種十個玻管。種好後，將管平放，使液體能分佈至整個表面上，次日將管口以蠟封固，或套上緊束的橡皮帽，置於37°C培育箱中，二星期後，可有單顆菌集落長出。所以接種兩星期後，即可開始數計每管的菌集落。每星期一次，至第六星期為止。假設每株菌集落是由一個細菌長出，即可計算出每公撮內所含的活菌數目。

3. 效力試驗：

取重約三〇〇公分的海豬兩隻，將腹部毛剪去，用上述所稀釋好的菌苗，作皮內注射。取一公撮的注射器於第四管中吸稀釋菌液，每隻皮內注射零點一公撮。以同樣方法，將第三管，第二管及第一管中的菌苗作同樣的注射。一星期後，即可觀察各注射處反應的大小。在正常情形下，第四劑（0.00005mg），不顯任何反應。第三劑（0.0005mg）可顯極小一點，二、三星期即消失。第二劑（0.005mg）反應略顯著，有直徑二、三公釐的圓硬點，可能化膿，一星期即愈。第一劑（0.05mg）反應最大，顯直徑三、四公釐之圓硬點，二星期間化膿，二星期後可結疤。如反應特大或特小，即表示菌苗太強或太弱。

4. 結核菌試驗：

菌種或菌苗染有普通細菌，在純菌試驗時，即可查出，設若與含毒結核菌混在一起，即不能試出，惟一可靠而能檢查的方法是作動物試驗，將原漿稀釋一倍，使每公撮含十公絲（10mg/ml.）然後皮下注射二隻海豬，每隻一公撮，於三個月後，取其中的一隻殺死，檢查有無結核病。另一隻則到六個月後再檢查。如菌苗中含有結核菌，或菌苗本身有毒力，均可驗出。但需時太久。等到驗出時菌苗已接種到人身上，無法補救。此更證明卡介菌苗的製造是件不容易的事。

（六）菌苗的保存：

本菌苗包裝有兩種：一種為每公撮含菌 0.5—1.0mg，專為皮內注射。另一種為每公撮含菌二十公絲，專為劃刺法用。兩者切不可混亂使用，再本菌苗係活菌苗，有效期僅兩星期。故各使用機關，事先應與北京天壇防疫處密切聯絡，排定需要菌苗日期及數量，以便按時供給。再本菌苗應保存於 2°—5°C 的環境中，較為可靠。

卡介菌苗的歷史及各國使用情形

遠在一九〇一年，羅家德氏 (Nocard) 從牛乳中分離出一株牛型結核菌。保存試驗室內，經卡美氏 (Calmette) 及介雲氏 (Guerin) 用含牛胆汁的馬鈴薯培養基來培養，在一九〇七年他們發表了一篇論文，說明該牛型菌在此種培養基上生長時，其毒力迅速消失，以後每二三星期接種一代，直到第十五代時，已不能使海豬發病，靜脈注射一百公絲細菌，亦不能使海豬致死，到第三十三代時，用大量的菌體注射到牛犢身上，亦不能使其發病，過一個時期，若再注射毒菌至該牛身上，而牛不死，但未經注射該菌液的牛注射同量的毒菌後，則發病死亡。因此證明了該菌在牛犢身上能產生免疫力，到一九二〇年經過二三〇餘代的接種後，對任何動物，如海豬，家兔，牛，馬，羊，及猴等均不能使其致病，由於紀念卡美及介雲氏的發明，所以稱該菌為卡介菌 *Bacille Calmette Guerin* 簡稱 BCG

自動物試驗證明該菌無致病力，且能引起動物對結核病的免疫力後，卡美氏即想利用該菌來作成菌苗，為人類免疫之用，在一九二一年七月一日韋豪氏 Weil-Halle 開始使用，有一個嬰兒，出生後，二——三天，母親因結核病而死亡，利用口服的方法，給嬰兒吃下卡介菌以後，常常觀察，檢查至一個時期之後，並無結核的象徵，於是證明卡介菌能作免疫菌苗之用，後漸漸推廣，在三年的期間內即有三一七人口服，逐漸普及法國及其他國家，到一九三〇年全歐洲已有二一〇、〇〇〇人服用，到現在全世界已有千萬餘人接受過此種免疫菌苗。

可是不幸的事件發生了，一九三〇年在德國呂伯城 Lübeck 一托兒所內有小兒二四九人口服卡介菌苗，數月後，其中有七三人患全身結菌病死亡，經過多方研究，在死亡人的身體組織中，及剩餘的卡介菌苗中，培養出相同的結核菌，這株結核菌，在液體培養中產生放光且帶綠色的現象，而卡介菌從未有產生過此種現象，因而更進一步的追究，知道在呂伯試驗室中，保存着一株特殊結核菌，即 Kiel 菌種，這個菌在液體培養基中能產生上述的現象。因此證明嬰兒其所以死於結核病是因為服用結核菌，而不是卡介菌苗，雖然經過科學的證明，但醫學界對卡介菌苗仍存懷疑態度。因之卡介菌苗的信用及推廣，受到了很大的阻礙。此後經過許多細菌學專家的悉心研究，多方實驗，證明卡介菌無毒力，且能做成活菌菌苗，可作人類預防結核病之用，茲將各國使用的情形，簡略分述於下，以為我們的參攷：

一、法國——是卡介菌苗的發源地，一九二一年開始使用，最初用口服法，卡美氏根據動物實驗，將卡介菌給新生海豬口服，在腸系淋巴結內發現有卡介菌進入的象徵，故認為新生嬰兒亦可用口服法來預防結核病。在嬰兒出生後第四、六、八、三天，或第五、七、九三天中每天服一次，每次服一百公絲卡介菌，經過一年後，以結核菌素試驗 (Priquet 法) 僅 7.6% 轉變為陽性，認為變換率甚低，應設法改進。一九二四年韋豪氏等以皮下注射法作試驗，先用 1.0 公絲，後來減到 0.25 公絲。最後用 0.01—0.02 公絲的菌苗。仍有 30% 產生膿泡。一九二八年聶格羅氏及白特氏 Negre+Brety 用割刺法，將較濃的菌苗放在已消毒的皮膚上，然後以針將皮膚

略略刺破，使卡介菌進入皮內，得到 70—80 % 的變換率，而無膿胞產生的現象。這個方法在法國很盛行。

二、蘇聯——自一九二三年開始在列甯格勒使用至一九二九年七月已有四五四小孩接種至一九三六年十一月增至九、九六七人後擴張到莫斯科及其他城市，到一九三七年接種不下 2,000,000 萬人莫斯科有 94% 的小孩已經接種，此所採取方法先是口服，另有一部份是皮下注射法。在中心結核病研究院所分析結果如下：

	第一年（從出生到一歲）			第二年		
	嬰兒總數	結核病死亡		嬰兒總數	結核病死亡	
		死亡數	每萬嬰兒中死亡比		死亡數	每萬嬰兒中死亡比
卡介菌苗接種的	56,951	70	12,3	52,779	55	10,4
未 接 種 的	17,469	38	21,8	15,864	33	20,8

假設莫斯科及列甯格勒在一九三六年結核病的死亡率是 100 經接種卡介菌苗以後，其死亡率漸次降低可參看下表：

年	莫 斯 科		列 甯 格 勒	
	接種嬰兒	死亡率（假設）	接種嬰兒	死亡率（假設）
1936	2,980	100	5,186	100
1937	19,015	92.1	21,470	82
1938	64,403	78.9	43,692	72
1939	81,093	71.0	41,692	58
1940	102,966	60.5	48,408	60

三、挪威——一九二四年亨伯克氏 Heimbeck 開始在醫院中研究護士對結核病的發病率經十二年的研究，得下列結果：

結核菌素試驗	人數	觀察年數	1,000人／ 病率	年觀察 死亡
陽性反應者	625	2659	10.1	0
陰性反應者	280	561	171.0	17.8

從前認為成人結核是由小時傳染後的伸延，但這結果證明了成人的結核病可能有新的傳染，且死亡率甚高，同時更證明一點，即感染過結核而已全愈的人，發病率及死亡率均低於未曾受感染的人，因此認為利用無毒的卡介菌苗來作預防注射，必定能收特效，所以在一九二六年開始予護士接種卡介菌苗，經其分析後，得下列結果：

	人數	觀察年數	1000 / 年觀察 病率 死亡	
卡介菌苗接種	287人	910	8.8	1.1
對照	107人	204	107.9	9.1

又在醫學生中的統計，得下列結果：

	人數	病例	人 / 年觀察	千人 / 年觀察
自然感染成陽性	372	11	1538	7.1
結核菌素試驗呈陰性	192	25	550	45.5
卡介菌苗接種	211	4	679	5.9

1 : 77

由這些結果，證明經卡介菌苗接種後，確能減低發病率及死亡率所以在一九三六年開全國防癆協會時，決定組織卡介菌苗推行委員會，自一九四〇年以後曾接種了一二〇、〇〇〇人，佔全國人口4.8%，而結核病的死亡率從每十萬人中死亡二七〇人降到六六人（一九四六年）這些結果，更增加他們對卡介菌苗的認識和信仰，所以自一九四八年起，也以國家法令來推行卡介菌苗，凡應接種的人，政府強迫執行。

四、瑞典——一九二七年，小兒科專家瓦古林(Wallgreen)氏認為口服及割刺法均有缺點，開始創用皮內注射，認為效力更大，到一九三七年接種過小孩一〇六九人，一九四八年，在哥特波城接種人口10%，在阿火斯城接種人口40%，使結核病的死亡率由每十萬人中死亡二七〇人降低到七〇人（一九四二）。

五、丹麥——開始時注重卡介菌的試驗室工作，對卡介菌曾作詳細研究，認為卡介菌的強弱，可以變更，並非如卡美氏所想的那樣固定，如若將培育時間減至兩星期，則做出的菌苗效力甚強，且不一定要經過膽汁培養，可由液體培養基直接傳種。經過詳細實驗，證明了卡介菌苗的效果，隨即用作人類接種，採取皮內注射法。近年來曾廣泛推行。最近統計結果，在未採取用卡介菌苗以前，小孩患結核性腦膜炎者衆多，自接種卡介菌苗以後，即沒有再發現過這種病，且全國結核病死亡率僅三十四人又在一公立學校內，有學生二百餘人，年齡由十二歲至十八歲，在開學時曾舉行健康檢查，並作結核菌苗素試驗，因家長要求，有一部分學生接種卡介菌苗，另一部分呈陰性反應的學生，則未接種，大約十個月後，教員中不幸有一人患活動性肺結核病，她照常上課與同學接觸，兩個月後，那位教員始被發覺患肺病，乃將她辭退，可是已經太晚，同時再普遍檢查學生發現多人染結核病，並檢查患者的家屬環境及常接觸的人，均無結核病，故證明多數學生的染病是由那位教員傳染來的，在那時，學生為避空襲，在地下室中上課，陽光不足，空氣也不流通，故染病者特多，

其詳細數字如下：

	總數	自然感染呈陽性		陰 性			
		人 數	病 例	卡介苗接種		未 接 種	
接 觸	305	105	4	人 數	病 例	人 數	病 例
				106	2	94	41
未接觸	63	25	0	27	0	11	0
總 數	368	130	4	133	2	105	41

六、美國——一直對卡介菌苗不重視，但個別的有人研究。最近幾年來，曾有數地發表，關於卡介菌苗接種的效果，於是引起了一部份醫務人員的注意，現已在幾州開始製造及推行卡介苗的工作。

阿倫孫氏於一九三五年起選擇對結素試驗呈陰性的一五五〇人，以卡介菌苗作免疫接種，同時以呈同樣無反應的一四五七人作對照。這些人之性別年齡及數目均相等，而又住在生活習慣相同的環境中。

對於感染結核病的機會完全相等。經過十三年繼續不斷的調查，發覺經免疫注射的人中僅六人死於結核病，而未經免疫的人中有五十三人死於結核病。

七、英國——對卡介菌苗採取保守態度，且認為有許多卡介菌苗推行者的報告不太可靠，認為結核病例的減少是公共衛生改良，並非卡介菌苗的收效。更有人提出反對卡介菌苗的施用。其理由大概如下：

1. 活菌苗難於製造，極不易保證其不生雜菌，加之有效期甚短，使用困難。
2. 接種方式繁雜，如用口服費用大，收效小，如用割刺法或體內注射法，易引起膿疱及其他併發症，故不如不用。
3. 接種最主要的對象，是新生嬰兒，但嬰兒體內免疫力產生的機構，未能發育完全，所以接種不易收效，且認為接種後，必須隔離一個時期，事實上辦不到。

殊不知這些困難都能設法解決，現全世界已有許多實驗室在製造卡介菌苗，除呂伯城那次錯誤以外，尚未有其他特殊意外。只要工作人員謹慎操作，這個困難是很容易克服的。菌苗的有效期實是太短現在有不少人在研究乾燥菌苗，相信不久必有較好的製品。接種方式也可以改良，嬰兒接種後，並不需要隔離，總之我們如認為卡介菌苗是有價值的，則我們應該不顧一切，來克服困難，設法廣廣它的應用。

八、我國在十餘年前，有王良大夫與劉永純大夫開始卡介菌苗的研究及製造，十年中不過接種一萬人左右，一九四七年國民黨統治政府開始籌備此項工作，由前中央防疫實驗處，負責製造。因該處主持人湯飛凡大夫，在一九三六年曾研究過卡介菌苗。一九四八年十月，該處實驗室佈置就緒，開始工作，二個月後製出菌苗，經同事中的子女接種，成績良好。北京解放後，經軍委衛生部批准在京津試用。一九四九年約接種二萬人，上海方面亦由前中央防疫實驗處，上海分處開始製造。中央人民政

府衛生部於一九四九年十二月召開卡介菌苗座談會，決定今年開始推廣，所以在我國來說，卡介菌預防結核病還是一件新興的事業，我國的困難雖多，希望大家提供意見，努力來克服一切困難。

總括的說：1, 卡介菌苗是絕對安全可靠的。

2, 根據各國推行的情形，進展很慢，不夠普及。惟獨蘇聯進展迅速，值得我們學習。

3, 我們應當針對事實，設法解決一切困難，廣泛的來推動這個工作。