

文章编号: 1000-7423(2012)-03-0179-05

【论著】

刚地弓形虫 China 1 基因型成囊株 在小鼠体内的动态分布

王林^{1,2}, 霍星星^{1,2}, 陈兆武¹, 陈鹤¹, 余莉¹, 宋晓蓉¹, Faustina Halm-Lai^{1,3}, 罗庆礼¹, 沈继龙^{1*}

【摘要】 目的 观察流行我国的刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*) 主要基因型 China 1 成囊株在感染小鼠体内的动态分布和包囊形成。方法 采自武汉的猫源性刚地弓形虫株 (*TgCtwh1*, 基因型为 China 1, 即 ToxoDB#9) 包囊 50 个 (约含 1×10^4 个缓殖子) 经口感染 SPF 级 CD1 雌性小鼠 50 只, 于感染后第 2、4、7、10、14、21、35、50 和 72 天, 分别大体观察小鼠健康状况并测定体重; 颈椎脱臼法处死小鼠, 脑组织压片观察弓形虫包囊形成时间, 计算成囊率, 测量包囊直径; 荧光定量 PCR 和组织接种方法检测弓形虫在血液、心、肝、脑和淋巴结组织中的动态分布。结果 实验小鼠感染后第 7 天体重减轻 (3.650 ± 0.252) g; 第 10 天 [(1.730 ± 0.017) g] 与第 14 天体重差值 [(-0.390 ± 0.554) g] 比较, 有统计学意义 ($P < 0.05$)。感染后第 21 天, 在脑组织中查获包囊, 成囊率为 80%, 直径为 20~40 μm ; 至感染后第 35 天, 小鼠成囊率增为 100%, 包囊直径为 50~60 μm 。感染后第 2 天, *TgCtwh1* 虫体即出现在血液、心、肝和淋巴结组织中, 拷贝数分别为 3.510 ± 0.152 、 4.100 ± 0.198 、 4.220 ± 0.209 和 4.960 ± 0.052 , 感染后第 4 天见于脑组织 (3.800 ± 0.154); 血液中的虫体在第 7 天达峰值 (5.240 ± 0.115), 随后逐渐下降, 至第 35 天消失; 心和脑组织中的虫体分别于第 14 天和第 10 天达峰值后 (5.640 ± 0.214 和 5.790 ± 0.060) 维持相对稳定的水平; 肝和淋巴结组织中的虫体分别于第 7 天和第 10 天达峰值 (5.310 ± 0.038 和 6.200 ± 0.152), 此后虫体逐渐减少, 至第 50 天转阴。结论 流行中国的弓形虫 China 1 基因型成囊株在感染小鼠体内虫血症可持续至少 21 d, 感染后第 21 天首次在小鼠脑组织内检测到包囊。

【关键词】 刚地弓形虫; 基因型; 动态分布; 荧光定量 PCR

中图分类号: R382.5 文献标识码: A

Kinetic Distribution of Cyst-forming Chinese Isolate of *Toxoplasma gondii* in Mice

WANG Lin^{1,2}, HUO Xing-xing^{1,2}, CHEN Zhao-wu¹, CHEN He¹, YU Li¹, SONG Xiao-rong¹,
Faustina Halm-Lai^{1,3}, LUO Qing-li¹, SHEN Ji-long^{1*}

(1 Department of Parasitology, Provincial Laboratory of Microbiology & Parasitology and Key Laboratory of Zoonoses, Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 2 Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China; 3 Department of Microbiology, University of Cape Coast, Ghana)

【Abstract】 Objective To determine the kinetics of infection and cyst formation in CD1 mice following oral infection with cyst-forming Chinese isolate of *Toxoplasma gondii* *TgCtwh1* (genotype China 1, ToxoDB#9). **Methods** 50 CD1 female mice were obtained from specific pathogen-free (SPF) mouse colony in the Vital River Laboratories (VRL), Beijing. Mice were randomly divided into 10 groups each with 5 mice. All mice but control were peroral gavage infected with 50 cysts (1×10^4 bradyzoites) of *TgCtwh1* isolate of *T. gondii* isolated from Wuhan, China. Cysts were isolated from the entire brain of mice infected with *TgCtwh1* by density gradient centrifugation over Fycoll-paque plus. Animals were orally inoculated with cysts on day zero, and peripheral blood, lymph nodes, heart, liver, and brain of infected mice were collected on days 2, 4, 7, 10, 14, 21, 35, 50, and 72 post infection. Five mice were sacrificed by cervical dislocation under anesthesia at each time of collection, and the kinetic distribution was detected by fluorescence quantitative PCR and tissue inoculation into fresh mice. The cyst formation at various intervals after infection was also observed, as was the number of the cysts in brains and the cyst-forming rate. **Results** The body weight of the mice lessened (3.650 ± 0.252) g post oral

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) (No. 2010CB530001)**作者单位:** 1 安徽病原生物学省级实验室, 人兽共患病安徽省重点实验室, 安徽医科大学病原生物学教研室, 合肥 230032;

2 安徽中医学院第一附属医院检验中心, 合肥 230031; 3 Cape Coast 大学微生物学教研室, 加纳共和国

* 通讯作者, E-mail: shenjilong53@126.com

infection on day 7, and the weight was progressively decreased between day 10 [(1.730±0.017)g] and day 14 [(-0.390±0.554)g] after infection ($P<0.05$). In the brain tissue, cysts were first observed on day 21 post oral infection and the cyst-forming rate was 80%, and the average diameter of cysts was 20–40 μm . While on day 35 after infection, the cysts were formed in all infected mice (cyst-forming rate was 100%) and the average diameter was 50–60 μm . In chronic infection, DNA copies of parasites were first detected in blood, heart, liver and lymph node at 3.51±0.152, 4.100±0.198, 4.220±0.209 and 4.960±0.052 respectively on day 2, then in the brain on day 4 (3.800±0.154). During the early days of infection, the parasite burden in blood was progressively increased until days 7 (5.240±0.115) then gradually decreased and become undetectable on day 35. The burden of *T. gondii* in the heart and brain tissues increased significantly and reached their maximum on day 14 (5.640±0.214) and day 10 (5.790±0.060), respectively, and remained a stable level thereafter. Liver and lymph tissues reached their maximum on day 7 (5.310±0.038) and day 10 (6.200±0.152), then gradually decreased and become undetectable on day 50. **Conclusion** The parasitemia in mice infected with *T. gondii* cyst-forming isolate lasts for 21 d at least, and cysts are detected in brain on day 21.

【Key words】 *Toxoplasma gondii*; Genotype; Kinetics; Fluorescence quantitative PCR

Supported by the National Basic Research Program of China (973) Program (No. 2010CB530001).

* Corresponding author, E-mail: shenjilong53@126.com

刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*) 是一种世界性分布的专性细胞内寄生原虫, 能感染包括人类在内的几乎所有恒温动物, 引起人兽共患寄生虫病。中国人群弓形虫血清抗体平均阳性率为 7.88%^[1,2]。人类感染弓形虫主要通过食入被卵囊污染的食物或饮水、摄入含有包囊的生的或未煮熟的肉类和母婴垂直传播。目前已知刚地弓形虫只有 1 个物种, 但是近年采用 PCR 限制性片段长度多态性分析 (PCR-RFLP)、多重酶切电泳分析 (MLEE) 和微卫星分型 (microsatellite analysis) 等, 证实弓形虫种群结构具有遗传多样性与地域差异性^[3]。在北美、欧洲和非洲, 弓形虫的基因型主要为 I、II 和 III 型^[3-6]; 然而在南美的热带地区, 其基因型具有高度的遗传多样性, 主要为非典型^[7-9]。研究显示, 流行中国的弓形虫具有有限的基因型, China 1 型 (亦即 ToxoDB#9) 为优势基因型^[4, 10, 11]。

为了探讨流行中国的弓形虫株生物学特征, 为弓形虫病的致病、诊断、治疗和疫苗研发提供实验依据, 本文采用荧光定量 PCR 和动物接种方法, 观察分离自武汉的猫源性弓形虫 *TgCtwh1* (China 1 型) 在感染小鼠体内的动态分布和包囊形成等。现将结果报告如下。

材料与方法

1 材料

1.1 实验动物及虫株

雌性 SPF 级 CD1 小鼠, 5~6 周龄, 体重 20~22 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司 [许可证编号 SCXK (京) 2006-0009]。室温下自由进食标准颗粒饲料和饮水。

弓形虫 *TgCtwh1* 成囊株 China 1 基因型, 由本室

自行分离, CD1 小鼠传代保种。

1.2 主要试剂和仪器

DNA 纯化试剂盒购自德国 QIAGEN 公司, 小鼠淋巴细胞分离液购自北京索莱宝科技有限公司, PCR 预混液购自美国 Promega 公司, 弓形虫核酸扩增 (PCR) 荧光检测试剂盒购自中山大学达安基因股份有限公司, 琼脂糖购自美国 Invitrogen 公司; 凝胶成像系统为珠海 Hema 公司产品, ABI 7300 型 PCR 扩增仪为美国 Applied Biosystems 公司产品, ATC 201 型 PCR 扩增仪为美国 Apollo 公司产品。

2 方法

2.1 弓形虫 *TgCtwh1* 脑包囊分离和纯化

参照文献 [12] 分离纯化弓形虫脑包囊。感染 *TgCtwh1* 株弓形虫 60 d 的 CD1 小鼠经颈椎脱臼法处死取脑, 制备成脑组织匀浆, PBS 洗涤 3 次。脑组织匀浆 2 ml, 加入 PBS 至 4 ml, 移入 15 ml 离心管中, 用直吸管自管底缓缓加入等体积淋巴细胞分离液, 使组织匀浆浮于分离液之上, 3 000×g 离心 30 min, 吸取最底层沉淀, 经 PBS 稀释至 2 ml 后置显微镜下计数, 留待感染动物用。

2.2 动物分组与处理

CD1 雌性小鼠 50 只, 随机分为 0、2、4、7、10、14、21、35、50 和 72 d 共 10 组, 每组 5 只。0 d 组用 0.5 ml/只 PBS 口饲, 其余各组每只小鼠经口接种弓形虫 *TgCtwh1* 脑包囊 50 个 (0.5 ml, 约含 1×10^4 个缓殖子), 分别于感染后第 2、4、7、10、14、21、35、50 和 72 天眼静脉丛取血 (109 mmol/L 枸橼酸钠抗凝) 后, 脱颈处死各组小鼠, 取心、肝、脑和淋巴结组织。实验小鼠脑组织一部分用于检测成囊情况; 一部

分用于抽提 DNA 和制备脑组织匀浆, 检测弓形虫在小鼠体内动态分布。

2.3 感染弓形虫 *TgCtwh1* 小鼠健康状况及脑内包囊检测

逐日观察小鼠健康状况并于感染后第 2、4、7、10、14、21、35、50 和 72 天测定体重, 记录实验前和处死前体重, 计算体重差值 (处死前体重-实验前体重)。处死小鼠脑组织压片, 显微镜观察弓形虫 *TgCtwh1* 包囊形成时间, 并对脑组织中包囊进行计数, 统计成囊率 (脑内检测到包囊的小鼠只数/被检小鼠总数 $\times 100\%$), 测量脑内包囊的直径。

2.4 弓形虫 *TgCtwh1* 在小鼠体内动态分布检测

实验小鼠按不同取材时间分别取血液 200 μl , 心、脏、脑和淋巴结组织各取 50 mg, 按试剂盒说明书抽提 DNA 进行荧光定量 PCR 检测; 余下血液 (0.5~1 ml) 和各组织 (50~400 mg) 匀浆后分别腹腔接种一代小鼠 (SPF 级)。急性期死亡小鼠腹水涂片检测弓形虫 *TgCtwh1* 速殖子; 慢性期存活小鼠 (>45 d) 脑组织压片检测弓形虫 *TgCtwh1* 包囊; 小鼠腹水或脑组织抽提 DNA, 以弓形虫 529 bp 片段为目的基因, 进行 PCR 检测。一代小鼠速殖子、包囊或 PCR 产物三者中有 1 个阳性时, 均认为检测到虫体。

2.5 统计学分析

各组织中虫体数以弓形虫 DNA 拷贝数对数 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 使用 SPSS13.0 软件进行统计分析。不同时间段数据间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 并以 SNK 法进行组间的两两检验。

结 果

1 小鼠健康状况和体重变化

实验小鼠感染后第 3~4 天, 活动均较少, 弓背; 第 7 天开始出现竖毛和畏光等症状, 体重减轻 (3.650 ± 0.252 g; 感染后第 10 天 [1.730 ± 0.017] g] 与第 14 天 [-0.390 ± 0.554] g] 小鼠体重差值比较, 有统计学意义 ($P<0.05$) (图 1), 并分别有 2 只小鼠死亡。尸检死亡小鼠, 见肝组织有实质性损害且淋巴结肿大, 腹腔冲洗液涂片均可见弓形虫速殖子。感染后第 21 天, 存活小鼠逐渐恢复正常饮食和活动, 感染后第 35 天至实验结束, 小鼠皮毛光滑、食欲旺盛、体重渐增和活动量增加。

2 弓形虫 *TgCtwh1* 株在小鼠脑内成囊

弓形虫 *TgCtwh1* 株感染后第 21 天, 实验组 4 只小鼠脑组织中查获包囊, 其直径约为 20~40 μm , 成囊率为 80% (4/5), 每只小鼠脑内包囊数约为 194~319 个。随着小鼠感染时间的推移, 包囊逐渐增多,

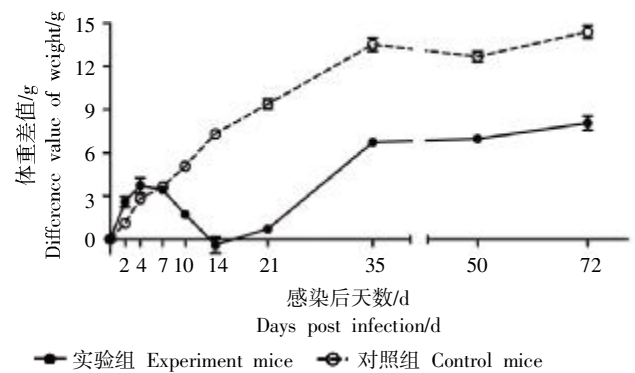
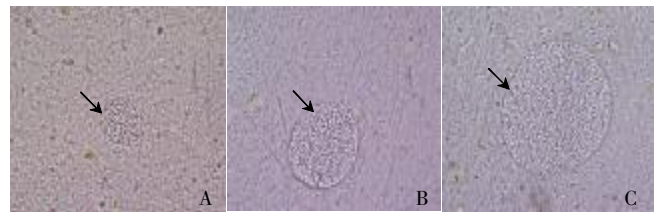


图 1 感染前后小鼠体重变化

Fig. 1 Body weight change of mice before and post infection

体积逐渐增大, 至第 35 天, 成囊率为 100% (5/5), 包囊直径为 50~60 μm , 每只小鼠脑内包囊数为 515~687 个 (图 2)。包囊在脑组织的分布不均匀, 多见于脑皮层, 常多个成堆出现。第 72 天, 小鼠脑组织压片可见椭圆形大包裹, 直径约为 70~120 μm , 囊内充满排列紧密的缓殖子。



A: 感染后第 21 天, 脑组织内包囊; B: 感染后第 35 天, 脑组织内包囊; C: 感染后第 72 天, 小鼠脑组织内包囊。

A: Cysts in the brain on day 21; B: Cysts in the brain on day 35; C: Cysts in the brain on day 72.

图 2 弓形虫 *TgCtwh1* 感染小鼠脑组织压片 ($\times 100$)

Fig. 2 Squashed brain examination of mice infected with *TgCtwh1* isolate ($\times 100$)

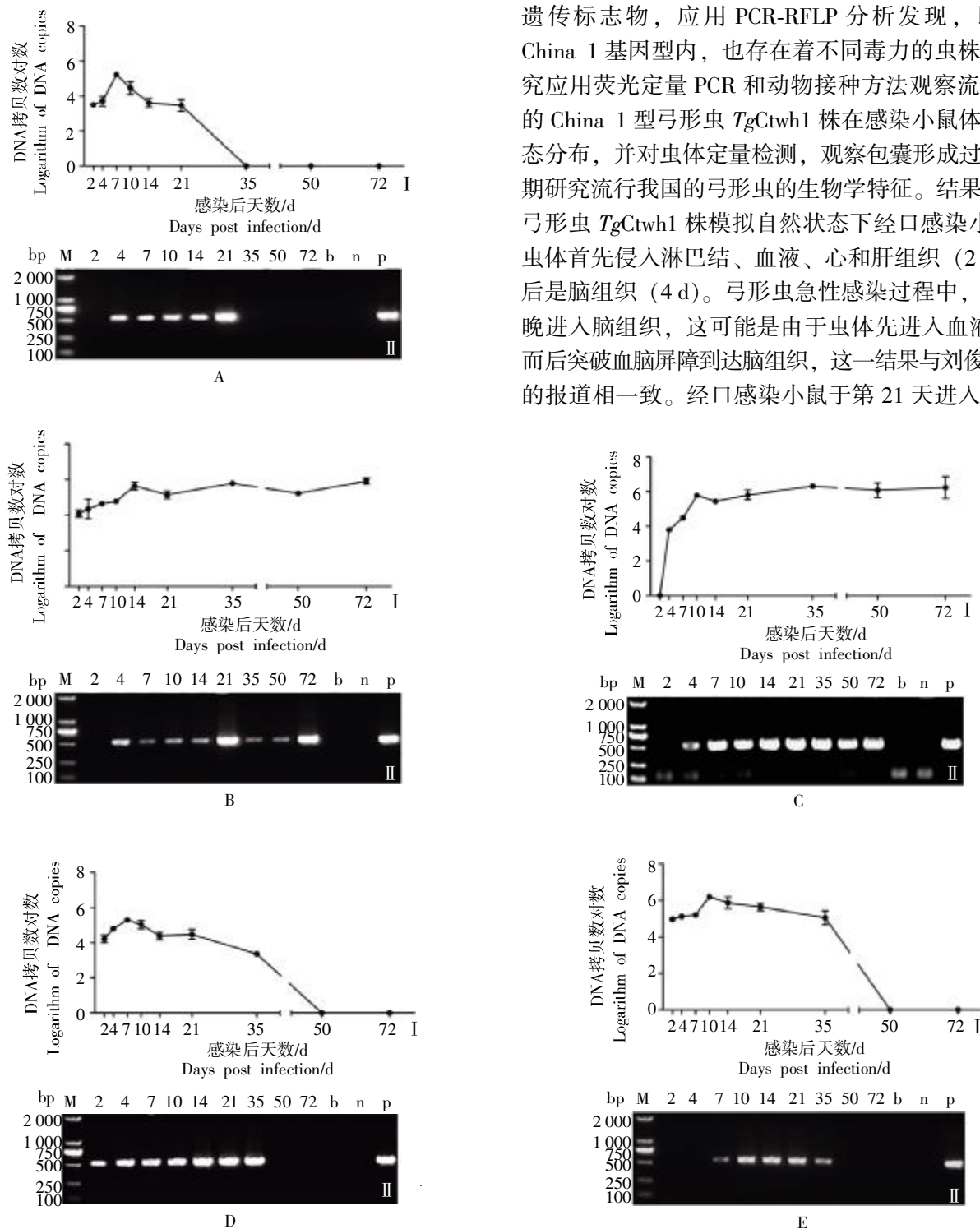
3 弓形虫 *TgCtwh1* 株在小鼠体内动态分布

CD1 小鼠感染弓形虫后第 2 天, 即在血液、心、肝和淋巴结组织中检测到弓形虫 DNA, 拷贝数分别为 3.510 ± 0.152 、 4.100 ± 0.198 、 4.220 ± 0.209 和 4.960 ± 0.052 (图 3A、B、D 和 E)。血液中虫体随时间推移逐渐增多, 第 4 天显著增多 ($P<0.05$); 第 7 天达峰值 (5.240 ± 0.115), 以后逐渐下降; 至第 35 天, 血液中未检测到虫体。感染后第 4 天, 实验鼠脑组织中首次检测到弓形虫 DNA (3.800 ± 0.154), 第 7 天脑组织中虫体显著增多 ($P<0.05$), 第 10 天达峰值 (5.790 ± 0.060), 且此后虫体数持续稳定直至实验结束 (图 3C)。心组织中虫体数随着时间的推移逐渐增多, 第 14 天达峰值 (5.640 ± 0.214), 且此后虫体数持续稳定直至实验结束, 各时间点之间无显著性差异 ($P<0.05$)。

肝和淋巴结组织从感染第 2 天时发现虫体, 并随着感染时间的延长虫体逐渐增多, 分别于第 7 天和 10 天时达峰值 (5.310±0.038 和 6.200±0.152), 以后虫体逐渐减少, 至第 50 天转阴。

讨 论

同于世界其他地区, 流行中国的弓形虫基因型主要为 China 1 型 (ToxoDB#9)^[4,11]。然而, 采用 10 个遗传标志物, 应用 PCR-RFLP 分析发现, 即使在 China 1 基因型内, 也存在着不同毒力的虫株。本研究应用荧光定量 PCR 和动物接种方法观察流行中国的 China 1 型弓形虫 *TgCtwh1* 株在感染小鼠体内的动态分布, 并对虫体定量检测, 观察包囊形成过程, 以期研究流行我国的弓形虫的生物学特征。结果, 采用弓形虫 *TgCtwh1* 株模拟自然状态下经口感染小鼠后, 虫体首先侵入淋巴结、血液、心和肝组织 (2 d), 尔后是脑组织 (4 d)。弓形虫急性感染过程中, 虫体较晚进入脑组织, 这可能是由于虫体先进入血液循环, 而后突破血脑屏障到达脑组织, 这一结果与刘俊燕等^[13]的报道相一致。经口感染小鼠于第 21 天进入慢性隐



I: 弓形虫 *TgCtwh1* DNA 拷贝数; II: 弓形虫 *TgCtwh1* DNA 的 PCR 产物。M: DNA 标志物; 2~72: 感染弓形虫 *TgCtwh1* 后不同取材时间; b: 空白对照; n: 阴性对照; p: 阳性对照。A: 血液; B: 心组织; C: 脑组织; D: 肝组织; E: 淋巴结。
I: DNA copies of *TgCtwh1*; II: PCR product of *TgCtwh1*. M: DNA marker; 2~72: Days after infection for sample collection; b: Blank control; n: Negative control; p: Positive control. A: blood; B: heart; C: brain; D: liver; E: lymph nodes.

图 3 弓形虫 *TgCtwh1* 在感染 CD1 小鼠体内的动态分布
Fig.3 Kinetic distribution of the parasites in CD1 mice infected with *TgCtwh1* isolate

形感染状态, 此时在脑内查获包囊, 且包囊直径随感染时间的延长而增大。

感染小鼠血液中虫体负荷随时间推移逐渐增多, 第 7 天达到高峰, 此后逐渐下降。本实验观察到, 与血液中虫体变化相一致, 肝组织中虫体数量第 7 天达到高峰, 此后虫体数量逐渐下降; 而心和脑组织中的虫体达到峰值后持续存在。提示在免疫功能正常的宿主, 肝脏可以较快清除虫体; 而在心和脑组织中, 虫体的持续存在, 说明慢性潜伏感染期间脑组织和心肌内包囊的形成和中枢神经系统的损伤与免疫抑制后感染的活化密切相关^[14]。

弓形虫在小鼠各组织中的动态分布和脑内包囊形成过程与感染方式、虫体接种量和所接种的实验动物的品系有关。Conley 等^[14]用过氧化物酶抗过氧化物酶抗体复合物 (PAP) 法观察发现, 口服包囊感染小鼠, 感染后第 5 天脑内检测到虫体, 第 11 天偶见包囊, 第 5 周小包囊成簇存在, 直至 2 个半月仍有包囊。Ferguson 等^[15]用电镜观察包囊形成, 第 11 天检测到包囊, 3~6 个月包囊直径增加, 直至 22 个月均可见包囊。20 世纪 90 年代就有学者已不局限于仅对脑内虫体的观察。Sumyuen 等^[16]用弓形虫 C 株包囊经口感染小鼠发现, 感染后第 3 天淋巴结中检测到虫体, 第 7 天肝组织中出现虫体, 而在脑组织内第 10 天发现虫体, 血液中均未发现。据此推断, 弓形虫由肠道播散至血液这一过程, 主要是通过淋巴系统。这说明在急性感染期, 淋巴系统对弓形虫在宿主体内的播散起着重要作用。Zenner 等^[17]用弓形虫 Prugnialud 和 RH 株速殖子口服感染小鼠证实, 虫体先经过肠壁到达肠系膜淋巴结, 然后到脾脏, 最后经血液播散至全身各器官。

弓形虫病的临床诊断比较困难, 实验室诊断通常采用血清学方法, 但其只是重要的辅助诊断, 病原学诊断为感染性疾病诊断的金标准。本实验观察了流行于中国的弓形虫株在感染小鼠体内的动态分布及脑组织内包囊形成的动态过程, 以期为临床弓形虫病的病原学诊断提供实验依据, 同时也为研究中国成囊型弓形虫株的致病机制提供新的思路。

参 考 文 献

- [1] Zhou P, Chen N, Zhang RL, *et al.* Food-borne parasitic zoonoses in China: perspective for control[J]. Trends in Parasitol, 2008, 24(4): 190-196.
- [2] Coordinating Office of the National Survey on the Important Human Parasitic Diseases. A national survey on current status of the important parasitic diseases in human population [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2005, 23(5 Suppl): 332-340. (in Chinese) (全国人体重要寄生虫病现状调查办公室. 全国人体重要寄生虫病现状调查报告 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2005, 23(5 增刊): 332-340.)
- [3] Su C, Shwab EK, Zhou P, *et al.* Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*[J]. Parasitology, 2010, 137(1): 1-11.
- [4] Rajendran C, Su C, Dubey JP. Molecular genotyping of *Toxoplasma gondii* from Central and South America revealed high diversity within and between populations[J]. Infect Genet Evol, 2012, 12(2): 359-368.
- [5] Ferreira IM, Vidal JE, de Mattos Cde C, *et al.* *Toxoplasma gondii* isolates: Multilocus RFLP-PCR genotyping from human patients in Sao Paulo State, Brazil identified distinct genotypes[J]. Exp Parasitol, 2011, 129(2): 190-195.
- [6] Lehmann T, Graham DH, Dahl ER, *et al.* Variation in the structure of *Toxoplasma gondii* and the roles of selfing, drift, and epistatic selection in maintaining linkage disequilibria [J]. Infect Genet Evol, 2004, 4(2): 107-114.
- [7] Frazao-Teixeira E, Sundar N, Dubey JP, *et al.* Multi-locus DNA sequencing of *Toxoplasma gondii* isolated from Brazilian pigs identifies genetically divergent strains[J]. Vet Parasitol, 2011, 175 (1-2): 33-39.
- [8] Ragozo AM, Pena HF, Yai LE, *et al.* Genetic diversity among *Toxoplasma gondii* isolates of small ruminants from Brazil: novel genotypes revealed[J]. Vet Parasitol, 2010, 170 (3-4): 307-312.
- [9] Araujo JB, da Silva AV, Rosa RC, *et al.* Isolation and multilocus genotyping of *Toxoplasma gondii* in seronegative rodents in Brazil [J]. Vet Parasitol, 2010, 174(3-4): 328-331.
- [10] Zhou P, Zhang H, Lin RQ, *et al.* Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from China[J]. Parasitol Int, 2009, 58 (2): 193-195.
- [11] Chen ZW, Gao JM, Huo XX, *et al.* Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates from cats in different geographic regions of China[J]. Vet Parasitol, 2011, 183(1-2): 166-170.
- [12] Cornelissen AW, Overdulve JP, Hoenderboom JM. Separation of *Isospora (Toxoplasma) gondii* cysts and cystozoites from mouse brain tissue by continuous density-gradient centrifugation[J]. Parasitology, 1981, 83(Pt 1): 103-108.
- [13] Liu JY, Yang XZ, Wu ZQ, *et al.* Study on the distribution of RH strain *Toxoplasma gondii* in experimental infected mice[J]. Chin J Zoonoses, 2000, 16(4): 37-40. (in Chinese) (刘俊燕, 杨秀珍, 吴增强, 等. 弓形虫 RH 株在实验感染小鼠体内分布的研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2000, 16(4): 37-40.)
- [14] Conley FK, Jenkins KA. Immunohistological study of the anatomic relationship of toxoplasma antigens to the inflammatory response in the brains of mice chronically infected with *Toxoplasma gondii* [J]. Infect Immun, 1981, 31(3): 1184-1192.
- [15] Ferguson DJ, Hutchison WM. An ultrastructural study of the early development and tissue cyst formation of *Toxoplasma gondii* in the brains of mice[J]. Parasitol Res, 1987, 73(6): 483-491.
- [16] Sumyuen MH, Garin YJ, Derouin F. Early kinetics of *Toxoplasma gondii* infection in mice infected orally with cysts of an avirulent strain[J]. J Parasitol, 1995, 81(2): 327-329.
- [17] Zenner L, Darcy F, Capron A, *et al.* *Toxoplasma gondii*: kinetics of the dissemination in the host tissues during the acute phase of infection of mice and rats[J]. Exp Parasitol, 1998, 90(1): 86-94.

(收稿日期: 2012-02-06 编辑: 张争艳)