

用螢光显微镜鉴别麻风杆菌和结核杆菌*

鍾之英 李仕政
(广州中山医学院) (广州结核病防治所)

1949年 Dharmendra 氏和 Mukerjee 氏^[1]报告麻风杆菌被日光或紫外线照射后可令抗酸性消失。Mukerjee^[2]和 Corcos^[3]相继作进一步实验。我们鉴于麻风杆菌和结核杆菌在镜检上常难区别,尤为临床实验诊断急待解决的问题,我们试用紫外线照射后观察抗酸染色和荧光染色的变化,以求找寻二菌鉴别途径。

一、材料和实验方法

取含菌甚多的瘤型麻风病人皮创涂片或麻风组织磨液涂片,空气干燥后,用紫外线(Original-Hansen U. V. 3.8 A, JR 4.9 A, 220V. S500 PL 10)照射。涂片的半侧用厚黑纸二层复盖,其上再置玻片压平,以阻紫外线透过,作为对照。涂片他半侧暴露于紫外线下,距离光源40厘米。同一材料做涂片多张,按不同时间分组照射,每组二片,一作 Ziehl-Neelsen 氏抗酸染色,普通显微镜检查,一作荧光染色和荧光显微镜检查,比较其结果。

荧光染色法:5%石炭酸水配制的0.1%金胺液染5分钟,3%盐酸酒精脱色1—2分钟,0.1%过锰酸钾水冲洗一次,水洗后,用美蓝复染半分钟,水洗,斜置,空气干燥后镜检。

另用各类型结核杆菌涂片以作对照比较,如人型 H₃₇ RV 株,牛型,鸟型,卡介苗菌,新分离结核杆菌二株,和结核杆菌阳性痰液5份,分别涂片,同时按上法照射检查。

部分涂片暴露直射日光下。又另用红外线按上述方法照射和检查。红外线灯(Zoalite, The Burdick Corporation, 550 Watts, 105—130V.)距离40厘米,照射150分钟。

二、实验结果

暴露紫外线灯下的麻风杆菌涂片共40例,其中瘤型病人直接涂片33例,麻风组织涂片6例,光田氏麻风菌素涂片1例,照射后荧光染色和抗酸染色的检查结果如表1。

表1 40例麻风杆菌涂片实验结果

不同染色性	紫外线照射时间(分)								总计
	50	60	70	90	100	120	135	150	
消失例数	50	60	70	90	100	120	135	150	
荧光染色	2	22	1	11	1	2	1		40
抗酸染色		4		4		16			24

此外又检查瘤型麻风病人直接涂片75份,按上法紫外线照射2小时,其中73例荧光消失;与表1所示40例,共计115例。麻风杆菌经紫外线照射后荧光染色性消失者共112

* 本文1961年7月30日收到。

例,即 97.4%。

在此 75 例直接涂片經紫外綫照射后,抗酸染色性消失者 48 例;与表 1 所示 40 例共 115 例,其中經照射后抗酸性消失者总共为 72 例,即 62.6%。

上述 75 例直接涂片的复盖对照部分,同样紫外綫照射后检查,螢光染色和抗酸染色均保持阳性。同时用 H₃₇ RV 株涂片照射作对照,結果亦均保持阳性。

表 2 各型結核杆菌塗片实验結果

涂片 种类	染色种类 照射 時間(分)	螢 光 染 色		抗 酸 染 色	
		120	150	120	150
		人型 H ₃₇ RV (4次)	不 变 或 減 少		不 变
牛型結核杆菌		不 变	不 变	不 变	
鳥型結核杆菌		不 变	不 变	不 变	
卡介苗		不 变	不 变	不 变	
新分离菌种甲		不 变	不 变	不 变	
新分离菌种乙		不 变	不 变	不 变	
阳性痰(4份)		不 变		不 变	
阳性痰(1份)		減 少		不 变	

暴露日光实验,在三楼阳台举行(1959年9月28,29日,广州),每天上午九时开始,連續 2 天,共 18 小时,检查結果:麻风杆菌涂片在晒太阳 1 小时后即开始发现带螢光的菌数減少,至 18 小时仍保留少数带螢光杆菌。H₃₇RV 株暴露太阳下 18 小时仍保留阳性不变。所有全部涂片,抗酸染色性不变或菌数減少。

紅外綫照射实验結果,照射时间为 150 分钟,涂片温度至 65℃,所有麻风杆菌和結核杆菌涂片,螢光染色和抗酸染色检查結果均保持阳性不变。

三、討 論

麻风杆菌与結核杆菌在形态上难以区别,除非发现特殊排列或麻风細胞同时出现,或借助于培养阴性与豚鼠接种阴性以排除麻风杆菌。1946年 Burdon 氏^[4]报告以苏丹黑 B 染色,結核杆菌可染上脂肪成黑色,而麻风杆菌則无。其后 Chaussinand 氏等^[5], Contreras 氏等^[6]先后提出报告,认为可作为二菌的鉴别方法,据我們經驗,麻风杆菌确不易染成黑色,而結核菌对苏丹黑 B 染色也很多出现阴性結果。因此,在实用上未能得到滿意的結果。而临床上要求鉴别是迫切的,特别是痰液检查对诊疗工作关系很大,但至今仍未有一可靠的鉴别技术。

自 Dharmendra 氏等^[1,2,3]先后提出經紫外綫照射后抗酸性消失为麻风杆菌的特征,似可作鉴别根据,但經驗上結果很不一致,有些麻风杆菌涂片經紫外綫照射 48 小时以上,抗酸性仍不变。据此次实验,經照射后抗酸性消失的不过 62.6%,因此实用上也不滿意。

此次实验結果証明,麻风杆菌經紫外綫照射 2 小时后螢光消失者达 97.4%,余下的菌数极少,且无法辨認是否仍属于麻风杆菌(可能病人皮創部在涂片时有其他螢光色素可染的杆菌同时存在),而結核杆菌則保持不变或仅菌数略減少。因此,我們认为这是鉴别二菌的比較可靠方法。

利用螢光顯微鏡研究麻風桿菌，國內報告尙少，1960年鍾氏等^[7]曾報告檢查結核樣型麻風病人涂片 275 例，螢光顯微鏡檢查菌陽性率為 18.5%，抗酸染色用普通顯微鏡檢查，陽性率僅 2.4%。此次實驗，進一步利用螢光顯微鏡進行麻風桿菌與結核桿菌的鑒別。

暴露日光下按理可代替人工太陽燈照射，且不限於設備，隨處可行，惟天氣和季節的差異頗有影響，雖在一天內也不一致，故照射量或照射時間須隨時隨地加以控制。至於紅外線照射概不發現對抗酸染色和螢光染色有所變化。

所有麻風桿菌涂片，經紫外綫照射而致螢光消失後，再以該片作抗酸染色，大多數仍保持抗酸染色性，可見麻風桿菌經紫外綫照射後，菌體上的螢光色素可染物質較抗酸性有關物質易于變化或破壞。破壞菌體的螢光色素可染物質，是否有助於減弱甚至消滅麻風桿菌的致病性，值得今後研究。

四、總 結

麻風桿菌涂片 115 例，用人工太陽燈照射 2 小時後，螢光顯微鏡檢查發現螢光消失的占 97.4%，而抗酸性消失的僅占 62.6%；人型、牛型、鳥型結核桿菌同樣照射後螢光染色和抗酸染色均保持不變，僅少數有所減少。

根據實驗，紫外綫照射後螢光顯微鏡檢查可作為麻風桿菌和結核桿菌的鑒別方法。

參 考 文 獻

- [1] Dharinendra & Mukerjee, A.: *Lep. Rev.*, **20**: 4, 111, 1949.
- [2] Mukerjee, A.: *Lep. in India.*, **23**: 4, 196 1951.
- [3] Corcos, M. G.: *Lep. Rev.*, **24**: 3, 165, 1953.
- [4] Burdon, K.: *J. Bacteriol.*, **52**: 665, 1946.
- [5] Chaussinand, R. & Vitte, M.: *Ann. Inst. Pasteur.*, **89**: 3, 280, 1955.
- [6] Contreras, F. et al.: *Trop. Dis. Bull.* **53**: 10, 1242, 1956.
- [7] 鍾之英等: *中華皮膚科雜誌*, **2**: 82, 1960.

DIFFERENTIATION BETWEEN *MYCOBACTERIUM LEPRAE* AND *M. TUBERCULOSIS* BY MEANS OF FLUORESENT MICROSCOPY

CHUNG, C. Y.

LEE, S. C.

(*Chungshan Medical College*) (*Antituberculosis Institute, Canton*)

Skin smears made from lesions of lepromatous lepers containing numerous *M. leprae* were exposed to untra-violet rays for 2 hours. As a result, 97.4% of the organisms from 115 cases lost their fluorescent staining property. On the other hand, when *M. tuberculosis* was similarly treated, there was no change in this property. The results of this experiment suggest that exposure to ultraviolet rays prior to examination by means of fluorescent microscopy could constitute a new method for the differentiation between these two closely related organisms.