

豚鼠試驗, 过氧化氢酶/过氧化物酶試驗 与耐異菸胂結核菌間的关系

陈添福

Suparman Widodo 夫人

(雅加达印度尼西亚大学医学院微生物研究院)

結核杆菌对鏈霉素、四環素、氯柳酸納等药品发生了耐葯性以后,对动物仍具有致病力。但对异菸胂产生了耐葯性以后,則对豚鼠的致病力減低。Milchison^[1]氏认为,对异菸胂耐葯性愈高的結核杆菌对豚鼠的致病力愈低,其过氧化氢酶活动性也減弱。这些事实被国内外不少学者^[2-9]所証实。然而, Van De Vorde^[10]氏发现,結核杆菌对豚鼠失去致病力并不等于对人类也失去了致病力。但是,在临床上,一般公認,受耐异菸胂結核菌感染的病人,临床过程有好轉^[11]。Oestericher 氏^[12]等以 45 名对异菸胂产生耐葯性的結核病人,观察了 25—36 个月,未发现病人有新的病灶。吳氏^[13]也有类似的观察。直到目前为止,对耐异菸胂結核杆菌的生物学意义,仍經常在爭論。本文试图将豚鼠試驗,过氧化氢酶/过氧化物酶試驗和結核菌对异菸胂耐葯性之間关系的意义加以研究。

一、实验材料及方法

取結核病患者痰,加 5 倍量 4% 硫酸,以 210 次/分钟振荡机搖 15 分钟,使均匀化。然后用 3000 轉/分钟离心机离心 10 分钟。并将沉淀物以无菌生理盐水洗两次。

将一部分沉淀物注入豚鼠右侧鼠蹊部皮下,以后每周观察 1 次。若豚鼠死亡或右鼠蹊部有增大淋巴结时,或注射 3 个月后豚鼠仍活着时,則进行尸体解剖。用肉眼及显微镜检查淋巴结、肝、脾、肺等脏器,若肉眼及鏡下均未发现結核菌时,即为阴性反应。

将另一部分沉淀物接种于 Holm 及 Lester 氏改进的 Lowenstein-Jensen 氏培养基上。每支接种 1 白金耳,共接种 2 支。以蜡封管口,置 37℃ 温箱內,三周后检查結核菌生长情况,阴性者不列入本研究內。

过氧化氢酶試驗是将 30% 双氧水与等量 10% Tween 80 混合液,注入长有結核菌落的培养基管内,将菌落浸没。如在 15 秒钟內无气泡发生,即为阴性反应^[14]。

过氧化物酶試驗是,将 pH 4.0 的 0.2 克分子的醋酸盐缓冲液 1 毫升,2% 的磷苯二酚液 0.2 毫升,加 3% 双氧水 0.1 毫升,然后于此混合液中加入两个結核菌菌落,如果在 10 分钟后,菌落变为棕色,即为阳性反应^[15]。

結核菌对异菸胂的耐葯性試驗,为将培养三周的結核菌制成悬液,分别接种于每毫升培养基含 0.1、1、10 微克异菸胂的培养基管内,每种浓度接种 2 支,并同时接种不含异菸胂的培养基作为对照。为了鉴定耐葯性的程度,将 H₃₇Rv 菌种以同样方式接种于一套培养基管内。判定結果时,若 H₃₇Rv 菌种只能在每毫升培养基含 0.1 微克异菸胂的管内生长,而被測定菌种則在每毫升培养基內含 0.1、1 及 10 微克异菸胂的管内均生长时,則被測定菌种之耐葯性比 H₃₇Rv 菌种高 100 倍。

二、实 驗 結 果

本組共检查85株結核菌, 其中55株对每毫升培养基含 1 微克异菸肼以上产生了耐药性, 30株敏感。55 株耐异菸肼結核菌的过氧化氢酶及过氧化物酶反应及豚鼠試驗結果見表 1。

表 1 55 株耐異菸肼結核菌对豚鼠試驗、过氧化氢酶試驗及过氧化物酶試驗的結果

	豚鼠試驗(+)	豚鼠試驗(-)
菌株总数 (55 株)	29	26
过氧化氢酶和过氧化物酶(+) 3	2	1
过氧化氢酶和过氧化物酶(-) 52	27	25

自表 1 中可看出, 对异菸肼产生了耐菸性的 55 株結核菌, 有 26 株(47.3%)对豚鼠失去了致病力。有 52 株(94.5%)的过氧化氢酶或过氧化物酶变为阴性, 在 30 株对异菸肼敏感的菌株中則 100% 对豚鼠具有致病力, 对过氧化氢酶及过氧化物酶均呈阴性反应者亦 100%。

至于結核菌对异菸肼耐菸程度不同时, 与过氧化氢酶、过氧化物酶及豚鼠試驗之間的关系可見表 2。

表 2 結核菌对異菸肼產生耐菸性的程度对过氧化氢酶或过氧化物酶試驗及天竺鼠試驗的影响

項 目	对 1 微克/毫升异菸肼耐菸菌29株		对 10 微克/毫升异菸肼耐菸菌26株	
	阳性 3(10.3%)	阴性26(89.7%)	阳性 0	阴性26(100%)
过氧化氢酶和过氧化物酶試驗				
豚鼠試驗阳性	2(6.9%)	14(48.3%)	0	13(50%)
豚鼠試驗阴性	1(3.4%)	12(41.4%)	0	13(50%)

自表 2 中可以看出, 如果結核菌对 1 微克/毫升异菸肼耐药时, 对过氧化氢酶和过氧化物酶試驗呈阴性反应者占 89.7%; 对豚鼠呈阴性反应者共 13 例占 44.8。但是, 如果結核菌对 10 微克/毫升异菸肼产生耐药性时, 則过氧化氢酶和过氧化物酶試驗 100% 呈阴性。同时, 对豚鼠試驗呈阴性反应者增加到50%。

在 55 例对异菸肼已产生耐药性的結核菌, 过氧化物酶試驗呈阴性反应的有 90.9%; 过氧化氢酶呈阴性反应的有70.9%; 而过氧化物酶和过氧化氢酶均为阳性者 3 株(5.5%); 过氧化物酶或过氧化氢酶有 1 种是阴性者 52 株, 占 94.5% (見表 3)。

表 3 55 株耐異菸肼結核桿菌对过氧化氢酶和过氧化物酶試驗結果

对异菸肼产生耐菸性的結核杆菌 (株数)	过氧化氢酶阴性 (株数)	过氧化氢酶阳性 (株数)
总数 55(100%)	39(70.9%)	16(29.1%)
过氧化物酶試驗阴性50(90.9%)	37(67.3%)	13(23.6%)
过氧化物酶試驗阳性 5(9.1%)	2(3.6%)	3(5.5%)

三、摘要

本文对85株結核病人痰內的結核菌进行了研究,测定了过氧化氢酶、过氧化物酶对异菸肼的耐药性以及豚鼠的致病力,并分析了这几項測定結果的关系。主要結論如下:

1. 对异菸肼敏感的菌株,其过氧化氢酶及过氧化物酶均为阳性反应。对豚鼠有致病力。
2. 对每毫升培养基中含 1—10 微克异菸肼产生了耐药性的結核菌,其过氧化物酶及过氧化氢酶大部分变为阴性反应。在 55 株耐异菸肼菌株中,过氧化物酶呈阴性反应者 90.9%,过氧化氢酶呈阴性反应者則为 70.9%。若两种試驗并用,則呈阴性反应者达 94.5%。

参 考 文 献

- [1] Mitchison, D. A.: *Amer. Rev. Tuberc.*, **69**: 640, 1954.
- [2] Auerbach, O.: *Amer. Rev. tuberc.*, **68**: 951, 1953.
- [3] Karslson, A. G.: *Amer. Rev. Tuberc.*, **70**: 531, 1954.
- [4] Cohn, M. L.: *Amer. Rev. Tuberc.*, **70**: 641, 1954.
- [5] Conalty, M. L.: *Amer. Rev. Tuberc.*, **71**: 799, 1955.
- [6] Mantén, A.: *Versl volksgezondh*, **41**, 1955.
- [7] Degli Esposti, A.: *Amer. Rev. Tuberc.* (abstr.), **76**: 22, 1957.
- [8] Freerksen, E.: *Full. Int. Union against Tuberc.*, **26**: 255, 1956.
- [9] 王凤連: 中华結核病科杂志, **5**(3): 178, 1957.
- [10] Vorde, H. van De Somer, P.: *Acta Tuberc. Belg.*, **47**: 297, 1956.
- [11] Meissner, G.: *Beitr. Klin., TBK.*, **111**: 380, 1954.
- [12] Oestreicher, R.: *Amer. Rev. Tuberc.*, **71**: 390, 1955.
- [13] 吳紹青: 中华結核病科杂志, **5**(2): 82, 1957.
- [14] Middlebrook, G.: *Amer. Rev. Tuberc.*, **69**: 471, 1954.
- [15] Tirunarayanan, M. O.: *Amer. Rev. Tuberc.*, **75**: 62, 1957.

THE RELATIONSHIP BETWEEN VIRULENCE FOR GUINEA PIGS, CATALASE AND PEROXYDASE TESTS OF ISONIAZID-RESISTANT TUBERCLE BACILLI

CHEN, T. F. AND SUPARMAN WIDODO

(Institute of Microbiology, Medical College Indonesia, University Djarkata)

The authors examined 85 strains of tubercle bacilli recently isolated from clinical cases for a relationship between isoniazid resistance and virulence for guinea pigs as well as with catalase and peroxidase tests. Of the 55 strains of these which were found to be resistant to more than one microgram of isoniazid, 29 were virulent for guinea pigs, 52 negative by the peroxidase test, and only 3 positive for the catalase test. On the other hand, all the sensitive strains were virulent for the guinea pigs, and positive by these two tests.