

硒酸钠促进结核杆菌生长的初步研究

严 华 徐立春 袁 驭* 顾忠宜*

(江苏扬州医学院微生物学教研室)

最近国外有学者报道, 硒酸钠可促进结核杆菌的生长^[1], 但在国内还未见这方面的报道, 现将本工作研究情况, 初步报道如下。

(一) 材料

1. 苏通氏 (Sauton) 液体培养基(另加吐温 80 成 1% 的浓度)。

2. 硒酸钠 ($\text{Na}_2\text{SeO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, 分子量为 369.11) 由天津化学试剂三厂生产。

3. 结核杆菌菌种由扬州市传染病医院检验科提供, 共 6 株, 均为耐药菌株。

(二) 方法

1. 菌种处理: 从固体培养基上取出菌落研碎, 接种于苏通氏液体培养基, 37°C 培养 25 天, 此培养液作为实验菌液。

2. 硒酸钠苏通氏液体培养基的制备: 以无菌手续将硒酸钠加入苏通氏液体培养基中, 制成硒酸钠的最终含量分别为: 1、5、10、15、20、 $50\mu\text{g/ml}$ 的 6 种培养基。(不加硒酸钠的苏通氏液体培养基作为对照。每管培养液均为 5ml。)

3. 培养、涂片与计数: 分别将 6 株结核杆菌接种于不同浓度的培养管(每一菌株每一浓度接种三支培养管, 每管接种 0.1ml 菌液)中, 37°C 培养 20 天。将菌液充分混匀后涂片, 37°C 干燥, 火焰固定, 萋纳二氏 (Ziehl-Neelsen) 抗酸染色法染色。每一涂片计数 20 个视野(每一菌株每一浓度的三张涂片共计 60 个视野)。最后算出每一视野中结核杆菌的平均数。

* 扬州市传染病防治院。

表 1 每一视野的结核杆菌数 (单位: 个)

菌 号	对照组	实 验 组 ($\mu\text{g/ml}$)						$\sum_{i=1}^n X_{ij}$
		1	5	10	15	20	50	
1*	2.08	2.28	5.37	7.81	9.47	10.65	7.14	44.20
2	2.47	3.33	5.01	9.92	7.95	6.01	4.18	38.87
3*	2.47	4.35	5.47	9.01	10.43	12.31	7.48	51.52
4*	2.57	4.37	5.48	9.88	8.35	9.55	7.07	47.27
5	2.70	4.71	5.47	5.48	7.11	7.62	4.87	37.96
6	2.95	5.57	7.11	9.47	11.58	14.18	8.50	59.36
$\sum_{j=1}^6 X_{ij}$	15.24	24.61	33.91	51.57	54.89	59.72	39.24	279.18(ΣX)
\bar{X}_i	2.54	4.10	5.65	8.60	9.15	9.95	6.54	6.65 \bar{X}
$\sum_{j=1}^6 X_{ij}^2$	39.13	107.52	194.36	457.91	516.04	639.00	270.35	2224.31(ΣX^2)

注: 1*、3*、4* 号菌株在 15、20、50 $\mu\text{g/ml}$ 浓度组各有 1 支培养管被污染。

(三) 结果

由表 1 看出, 各实验组与对照组之间的均数(\bar{X}) 是有差异的。这种差异是由误差引起的

呢? 还是由硒酸钠的作用引起的? 为了得出正确的结论, 我们采用了方差分析 (即变异数分析)。

分析结果(表 2) 表明, 硒酸钠的浓度间与

表 2 方 差 分 析

变异来源	自由度(n')	离均差平方和(SS)	均方(MS)	F 值	$F_{0.01}$	P
总 变 异	41	368.56				
浓度间变异	6	271.99	45.33	27.31	3.47	<0.01
菌株间变异	5	46.80	9.36	5.64	3.70	<0.01
误 差	30	49.77	1.66			

结核杆菌菌号间均有非常显著差异。也就是说: 硒酸钠能非常显著地促进结核杆菌的生

长; 各菌株对硒酸钠的敏感度也不完全相同。这当然是对各组均数的整齐而言的。至于哪些均

表 3 各均数间的两两比较

比较组	差 数	α	$q = \frac{\text{差数}}{\sqrt{\frac{1.66}{6}}}$	q 的界值		结 论
				$P = 0.05$	$P = 0.01$	
1 与 7	$9.95 - 2.54 = 7.41$	7	13.98	4.46	5.40	**
2 与 7	$9.15 - 2.54 = 6.61$	6	12.47	4.30	5.24	**
3 与 7	$8.60 - 2.54 = 6.06$	5	11.43	4.10	5.05	**
4 与 7	$6.54 - 2.54 = 4.00$	4	7.55	3.85	4.80	**
5 与 7	$5.65 - 2.54 = 3.11$	3	5.87	3.49	4.45	**
6 与 7	$4.10 - 2.54 = 1.56$	2	2.94	2.89	3.89	*
1 与 4	$9.95 - 6.54 = 3.41$	4	6.43	3.85	4.80	**
2 与 4	$9.15 - 6.54 = 2.61$	3	4.92	3.49	4.45	**
3 与 4	$8.60 - 6.54 = 2.06$	2	3.89	2.89	3.89	
.....						

注: “比较组”栏内数字是按各实验组的均数(\bar{X})由大到小排列编号(不按原来组别顺序), 分别与对照组和其它组的均数进行比较; “ α ” 栏内数字表示比较组范围内所包含的组数; “*”表示有显著意义; “**”表示有非常显著意义。

数间的差别有显著性,哪些没有显著性,则要作进一步的分析比较才能弄清这一问题。

经过表 3 的分析比较,我们知道: 硒酸钠的浓度为 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,与对照组相比(6 与 7)有显著意义;硒酸钠的浓度大于 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,与对照组相比(5 与 7、4 与 7、3 与 7、2 与 7、1 与 7)均有非常显著意义;在硒酸钠的一定浓度范围内,结核杆菌数随浓度的增高而增加,但它的浓度增高到 $50\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,结核杆菌数就不再增加,相反比它前几个浓度组(1 与 4、2 与 4、3 与 4)还显著地减少。

(四) 讨论

在实验过程中,我们观察到,随着硒酸钠浓度的持续增高,结核杆菌形态学指数有逐渐下降的趋势。(所谓形态学指数是指完整菌体的

百分率,未具体作形态学指数的测算)。尤其在硒酸钠的浓度大于 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,这种现象就更为突出。这可能是因高浓度的硒酸钠对菌体的毒性作用所致。还有它的浓度达 $50\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,结核杆菌数显著地减少,也可能与它的毒性作用有关。故本文认为: 硒酸钠用于促进结核杆菌生长的理想浓度为 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 。这与国外学者报道的结果 ($5\mu\text{g}/\text{ml}$)^[1] 趋于一致。

至于硒酸钠配以何种培养基更能促进结核杆菌的生长,缩短检出时间,提高临床分离率的问题,还有硒酸钠对结核杆菌的其它生物学性状有何影响的问题,我们将作进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Jaques, PA et al.: *Am. J. Clin. Pathol.* 75: 209, 1981.