Mycobacteria의 Isoniazid 耐性株감별에 對한 Catalase 및 Peroxidase 試驗의 利用價值에 關한 研究

慶熙大學校醫科大學微生物學敎室

金雲奎 · 金燐洙

= Abstract =

Application of catalase and peroxidase test for the detection of isoniazid resistant *Mycobacteria*

Woon Gyu Kim and Chan Soo Kim

Department of Microbiology School of Medicine Kyung Hee University

It is often necessary to determine whether or not tubercle bacilli from specimens of patients under isoniazid therapy are still sensitive to isoniazid. It has long been known that the *Mycobacteria*, like other aerobic bacteria, produce one of the cytochrome enzyme, catalase. Following the introduction of isoniazid for the treatment of tuberculosis, Middlebrook demonstrated the nature of the relationship between catalase. Although the correspondence between resistance to isoniazid and loss of peroxidase is high, there is no complete parallelism. The methods of catalase and peroxidase test suggest itself as a simple, rapid, and economic test amenable to the skills of the technologists in clinical laboratory as compared with drug sensitivity test.

This experiment concerns the relationship between the catalase test or the peroxidase test and the chemotherapy sensitivity test of *Mycobacteria*, and the applicability of those former two tests for the detection of isoniazid resistant tubercle bacilli. Grossly visible colonies of 64 strains of *Mycobacteria* isolated freshly from patients were submitted to isoniazid sensitivity test, catalase and peroxidase test with the reagents prepared with various formulas. The results obtained from the experiments were as follows:

- 1) The catalase test performed with the bacilli grown on a Ogawa medium using 15% H_2O_2 with Tween-80 at pH 7.0 showed remarkable definite negative result and correlated with the resistancy to isoniazid of 15mcg per ml. level.
- 2) The peroxidase test performed using the reagent with about 3% H_2O_2 and 2%

catechol and Tween-80 at pH 3-4 was highly remarkable but it did not correlated with the isoniazid resistant level.

3) According to this study the catalase test may be used conveniently as a screening test for the detection of some isoniazid resistant *Mycobactria*.

1. 緒 論

Isoniazid 耐性抗酸性菌株을 감별하는데는 正確한 培養에 依한 isoniazid 感受性試驗이 있고 이외에 catalase, peroxidase¹⁷⁾ 시험도 보고 되어 있다.

感受性試驗은 約 4 週를 要하는 長時間에 걸친 試驗이고 또 培養시설을 要하는 試驗이기는 하나 가장 신뢰도가 높은 시험이기 때문에 普通으로 행해지는 方法이다. 一般으로 人型, 牛型 結核菌이 치료를 받지 않은 患者로부터 분리되었을 때는 isoniazid 約 0.1 γ /ml 含有 培地에서 結核의 發育이 억제 되기 때문에 감수성시험은 이것을 기초로 하고 있다.

Mycobacterium 은 他의 好氣性 細菌과 같이 iron-porphyrin 含有酸素인 catalase 와 peroxidase¹⁾를 生成하는 것은 이미 오래전 부터 알리워져있고 또 isoniazid 가 生理的 조건하에서 iron porphyrin 과 反應할 수 있는 증거도 축적되어 있다.²⁾ 그리고 isoniazid 耐性變異菌에는 번번히 catalase 와 peroxidase 가 결핍되어 있고 發育이 더 완만하고, 또 모르모트에 대한 菌力도 없어지는 것이 알리워 있다. 그리고 isoniazid 에 대한 耐性和 catalase, peroxidase 의 감소와의 關係는 거의 一致된다고 하지만 이것은 完全한 것은 아니라고 한다.³⁾ isoniazid 耐性 抗酸性菌株을 isoniazid 感受性菌株로 부터 감별하는데 catalase, peroxidase 시험이 감수성시험 때와 같이 確實히 신뢰성을 가지고 使用될 수 있으면 이것은 보다 간편하고, 신속한, 方法일 것이며 治療도 部分的으로 또 完全히 耐性으로된 結核菌을 처리하는데 많은 도움이 될 것은 勿論이다.

저자는 이와 같은 점을 감안하여 患者由來의 新鮮分離菌株에 對하여 isoniazid 감수성시험을 하고 이것을 기준으로 하여, 보다 예민한 catalase, peroxidase 시약을 모색하며, catalase 및 peroxidase 시험에서 얻은 성적과 감수성시험에서 얻은 성적을 비교 검토하여 isoniazid 耐性抗酸性菌감별에 catalase 및 peroxidase 시험의 利用價值를 검토 하였다.

II. 材料 및 方法

対象菌株: 本大學病院에서 最近 患者로 부터 分離한 新鮮抗酸性菌64株를 本實驗의 對象으로 하였다.

分離에는 Ogawa 培地를 使用하였다. 이 以外에 保有菌株로서 H₃₇Rv, H₃₇Ra, BCG, *Mycobacterium fortuitum* *Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium phlei*도 使用하였다.

藥 感受性試驗: Ogawa 培地에서 普通方法으로 시험하였다.⁴⁾

Catalase 시험: Hansen 과 Stewart⁵⁾의 方法과 이것의 變法으로 5 種의 catalase 試藥을 調整하여 시험하였다. 즉 10% Tween-80 stock solution 을 56°C 水槽에서 만든 후 이것과 30% 과산화수소 (PH3.0) 로 부터 3% H₂O₂ - Tween-80, 15% H₂O₂ - Tween-80 용액을 調整하였고, 또 0.2 mole phosphate buffer (PH 6.8) 과 NaOH 로 15% H₂O₂ - Tween-80 (PH 6.8-7.0) 調整하였다.

이 以外에 Twee-80이 添加되지 않은 3% H₂O₂, 15% H₂O₂ 용액을 調整하여 catalase 활성을 비교 하였다.

保存은 4-8°C 에서 하였고 1 週以內에 使用하였다. Catalase 시험을 할 때는 nichrome loop 를 使用하여 Ogawa 培地 斜面上의 배양균을 한 loop 씩 소 시험관에 넣고 catase 시약을 한방울씩 菌塊가 充分히 덮이고 남을 정도로 각각 一定하게 加한 후 約 5 分間 관찰하며, 反應의 結果를 Taylor⁶⁾의 기준

에 의하여 negative(-), weak 또는 delayed(+), moderate(++), vigorous(+++)의 4 등분으로 区分하였다.

Peroxidase 시험: peroxidase 활성에는 수용체로서 catechol을 사용하기 때문에 catechol을 포함한 3種의 peroxidase 시약을 다음과 같이 조제하여 사용하였다.

Reagent A:

0.2molar acetate buffer (PH4.0), 1ml에 2% catechol 수용액, 0.2ml과 1:100 H₂O₂ (30%) 0.1 ml을 혼합하여 조제하였다.⁷⁾

Reagent B:

0.2 molar acetate buffer에 Tween-80을 10%로 가한것 1ml에 2% catechol 수용액 0.2ml과 H₂O₂ (30%), 0.1ml을 혼합한것 pH는 약 3.0

Reagent C:

3% H₂O₂에 catechol을 0.2% Tween-80을 3%로 가한것 pH는 약 5.4 peroxidase 시험의 실시는 catalase 시험 때와 같이 하였다. peroxidase 양성株는 10分以内に 菌塊가褐色으로 변하였고, 약12-24時間後에는 黑色으로 되었다. 약20℃ 室温에서 放置하며 2시간과 24時間에 集落의 変色 有無를 관찰하였다.

peroxidase 陰性株는 集落의 色調가 不變하였다.

若干의 褐色을 呈하였을때를 +, 強한 黑色을 呈하였을 때를 +++, 이 中間의 것을 ++로 記入하였다.

III. 成 績

A. Isoniazid 耐性度에 따른 5種의 catalase 시약에 對한 catalase 反應의 比較.

相異한 過酸化水素의 濃度, pH, tween-80 添加有無에 依하여 調製된 5種의 catalase 시약 즉 3% H₂O₂, 3% H₂O₂-Tween-80, 15% H₂O₂, 15% H₂O₂-Tween-80 (pH 3.0), 15% H₂O-Tween-80 (pH 7.0) 으로 isoniazid 감수성 시험에서 isoniazid 0.2, 1, 5, 15 γ 耐生株와 0.2 γ 感受性株인 患者由来 *Mycobacteria* 64株 및 保管株 H₃₇Ra H₃₇Rv, BCG, *M. smegmatis*, *M. phlei*에 對하여 catalase 시험을 하였던바 표1과같이 isoniazid 15 γ 耐性株 (5株)에서는 3% H₂O₂, 15% H₂O₂에서 全部가 陰性

으로 나타났으나, Tween-80이 加해진 3% H₂O₂-Tween-80, 15% H₂O₂-Tween-80 (pH 3.0), 15% H₂O₂-Tween-80 (pH 7.0)에서는 4株가 陰性 1株가 weak 내지 moderate 정도로 陽性이었다. 5 γ 耐性株 10株에서는 15% H₂O₂-Tween-80 (pH 7.0)을 除外한 모든 시약에서 6株가 陰性 4株가 weak로 反應하였다.

그러나 15% H₂O₂-Tween-80 (pH 7.0)에서는 陰性인것은 없고 모두 陽性인 7株가 weak, 3株가 moderate 이었다. 1.0 γ 耐性株 2株에서는 3% H₂O₂ 사용에서만 1株가 陰性, 1株가 weak로 反應하였고 기타 시약에서 모두 1株가 weak, 1株가 moderate로 反應하였다. 0.2 γ 耐性株 5株에서는 15% H₂O₂-Tween-80 (pH 7.0)을 除外하고는 모두 1株가 陰性, 4株가 weak로 나타났다.

그러나 15% H₂O₂-Tween-80 (pH 7.0) 사용에서는 陰性인것은 없고 1株가 weak, 4株가 moderate로 反應하였다. isoniazid 0.2 γ 感受性株 42株에서는 15% H₂O₂-Tween-80 (pH 7.0)을 사용한데서만 陰性이었고 2株가 weak, 14株가 moderate, 26株가 vigorous로 反應되었고 기타 시약에서는 모두 2~3株가 陰性이었고 殘余는 weak 以上の 反應을 보이었다.

이것을 종합해 보면 15% H₂O₂-Tween-80 (pH 7.0)를 사용한데서는 isoniazid 0.2 γ 감수성 주로 부터 5.0 γ 耐性株까지 陰性으로 된것은 1株도 없고 또 같은 陽性이라고 反應이 強하게 나타났다. 따라서 15% H₂O₂-Tween-80 (pH 7.0)가 가장 catalase 反應度가 높은 catalase 시약 인것을 알 수 있었고 또 이 시약에 依한 catalase 시험 陰性株는 isoniazid 15 γ (또는 그 以上) 耐性인 것을 추측할 수 있다.

기타 保管株에서도 15% H₂O₂-Tween 80 (pH 7.0)에서 기타 시약에 비하여 反應이 強하였다. 이것은 시약의 PH는 中性 부근이 至適인것을 意味한다.

Tween-80이 添加될 때는 catalase 活性度가 더 높았다.

B. 3種의 peroxidase 시약에 對한 peroxidase 反應의 比較 보다 活性度가 높은 peroxidase의 反應을 얻기 위하여 기존의 peroxidase 시약 및 變形

Table 1. Comparison of Catalase Activity of *Mycobacteria*

Strain	Isoniazid Resistance γ per ml	3 % H ₂ O ₂ N W M V	3 % H ₂ O ₂ - Tween-80 N W M V	15% H ₂ O ₂ N W M V	15% H ₂ O ₂ - Tween-80 (pH3.0) N W M V	15 % H ₂ O ₂ - Tween-80 (pH7.0) N W M V	Total
<i>Mycodacterium</i> from patient	15.0	5 0 0 0	4 4 1 0	5 0 0 0	4 1 0 0	4 0 1 0	5
	5.0	6 4 0 0	6 4 0 0	6 4 0 0	6 4 0 0	0 7 3 0	10
	1.0	1 1 0 0	0 1 1 0	0 1 1 0	0 1 1 0	0 1 1 0	2
	0.2	1 4 0 0	1 4 0 0	1 4 0 0	1 4 0 0	0 1 4 0	5
	susceptible to 0.2 γ	3 7 25 7	2 7 7 26	2 8 25 7	2 6 8 26	0 2 14 26	42
H ₃₇ Rv		0001	0001	0001	0001	0001	1
H ₃₇ Ra		0010	0001	0010	0001	0001	1
BCG		0100	0010	0100	0010	0001	1
<i>Mycobacterium</i> <i>fortuitum</i>		0001	0001	0001	0001	0001	1
<i>Mycobacterium</i> <i>smegmatis</i>		0001	0001	0001	0001	0001	1
<i>Mycobacterium phlei</i>		0010	0010	0010	0010	0001	1

N : Negative W : Weak M : Moderate V : Vigorous

한것 3種 즉 Reagent A. B. C 로 isoniazid 0.2 γ 感受性株 (3 株) 와 0.2 γ 耐性株 (3 株) 에 對하여 peroxidase 시험을 실시하였던바 표2와 같이 2時間까지 관찰에서는 pH 4.0以下이고 Tween-80 이 添加된 Reagent B에서 速히 反應이 일어났다. pH 4.0이고 Tween-80을 含有하지 않는 Reagent A에서는 反應의 速度가 多少지연되었다.

그러나 12~24時間後에는 isoniazid 0.2 γ 感受性 및 耐性株 또는 H₃₇Rv 에서 거의 같은 成績을 나타냈다.

그러나 pH 5.4程度의 Reagent C에서는 2時間, 24時間 觀察에서 모두 peroxidase 활성이 저하되었다. 따라서 catalase 활성과 peroxidase 활성비교에는 Reagent A 또는 B를 使用하였다.

C. Isoniazid 耐性에 對한 catalase 와 peroxidase 와의 關係 :

實驗 A에서 catalase 시험에 使用하였던 *Micobacteria* 64 株와 保存株에 對하여 peroxidase reagent A 및 B 로 peroxidase 시험을 하였던바 표3 과 같이 isoniazid 15 γ 耐性株, (5株)에서는

Table 2 Effect of Various Peroxidase Reagents on Peroxidase Reaction

Strain	Peroxidase reaction to					
	Reagent A		Reagent B		Reagent C	
	2hr	24hr	2hr	24hr	2hr	24hr
H ₃₇ Rv	+	++	+	++	++	++
0.2 γ susceptible						
21	-	+	±	+	-	-
31	+	+++	++	+++	+	+
9	+	+	±	+	-	±
0.2 γ resistant						
1	-	+	+	+	-	-
4	-	±	-	+	-	±
7	-	++	-	+	-	-

The colonies were observed for changes after 2hr. and again after 24hr.

Table 3. Relationship of Isoniazid Resistant *Mycobacteria* to Catalase Reaction and Peroxidase Reaction

Strain	Isoniazid Resistance mcg per ml	Catalase (15% H ₂ O ₂ - Tween 80 pH 7.3)	Peroxidase (Reagent A or B)	Number of strain
Mycodacterium from patient	15.0	Moderate (1)	+++ (1)	1
		Negative (4)	+ (2), +++ (2)	4
	5.0	Moderate (3)	- (1), + (2)	3
		Weak (7)	- (2), + (3), +++ (2)	7
	1.0	Moderate (1)	+++ (1)	1
		Weak (1)	- (1)	1
	0.2	Moderate (4)	- (1), + (1), +++ (2)	4
		Weak (1)	+++ (1)	1
	Susceptible to 0.2mcg	Vigorous (26)	- (4), + (12), ++ (6), +++ (4)	26
		Moderate (14)	- (4), + (4), ++ (3), +++ (3),	14
		Weak (2)	- (1), + (1)	2
Total strain			64	
H ₃₇ Rv	Vigorous (1)	+++ (1)	1	
H ₃₇ Ra	Vigorous (1)	+ (1)	1	
BCG	Vigorous (1)	+++ (1)	1	
Mycobacterium smegmatis	Vigorous (1)	- (1)	1	
Mycobacterium phlei	Vigorous (1)	- (1)	1	

() Number of strain

모두 양성 이었고, 5.0 γ 내성株; (10株) 에서는 3株, 1.0 γ 내성株 (2株) 에서는 1株, 0.2 γ 내성株 (5株) 에서는 1株, 0.2 γ 感受性株 (42株) 에서는 9株가 각각 음성으로 나타났다. 이것으로 볼 때 peroxidase 시험 결과는 isoniazid感受性株, 내성株에 대하여 모두 불규칙하게 나타났으므로 isoniazid 내성株 감별에는考慮할 點이 많다. 그러나 保存株 H₃₇Rv 에서는 양성, *M. smegmatis*, *M. phlei* 에서는 음성으로 나타났다.

IV. 總括 및 考察

結核患者治療劑로 isoniazid 는 가장 많이 使用되는 藥劑이다.

따라서 結核菌이 이 藥劑에 耐性으로 되기 시작

하면 治療方式도 變更되어야 한다. 患者에서 結核菌이 分離되어 藥劑感受性試驗을 할 때는 isoniazid 에 대한 시험을 빼낼수 없다. 그러나 감수성 시험의 결과를 얻기까지는 約4週를 要한다. 이것을 간단한 catalase 시험이나 peroxidase 시험으로 代置가 되면 신속하고, 경제적이고, 간편하다.

一般細菌의 同定法으로도 catalase 시험이 많이 使用되고 있고 그 方法도 여러가지다. 어떠한 사람은 10% H₂O₂ 를 장려한다.^{11, 12, 13)}

Mycobacteria 에 대한 catalase 시험에 관한 연구도 많이 행해졌다. 그러나 實用化할 만큼 아직 完全한 것은 아니다.^{14, 15, 16)}

본 실험 A에서 보는 바와같이 catalase 시험 결과는 catalase 시약에 따라 달라진다. 3% H₂O₂ 나 15% H₂O₂ 나 그 결과는 거의 같다. 그러나 Tween

-80을 그것들에 加하면 감수성이 增加된다. 그리고 그 反應은 15% H_2O_2 -Tween-80에서 第一강하였다.

Tween-80을 加하므로서 結核菌의 懸수성인 集落이 溶液에 잘 浸水가 되어 高度의 脂質性 細胞壁에의 침투가 增加된다. 또 氣泡의 유지, 反應의 速度를 증강 시킨다. 또 하나 問題가 되는것은 catalase 活性의 至適 pH는 6.8인데 peroxidase 至適 PH는 4.0정도이기 때문에 이 pH에서는 peroxidase 作用은 아마도 잘 나타나지 않을것이다.

본 실험에서 pH를 約 7.0으로 수정하고 Tween-80을 加한 15% H_2O_2 -Tween-80(PH 7.0)에서 크게 增加되었다.

3% H_2O_2 -Tween-80과 15% H_2O_2 -Tween-80(PH 3.0)에서는 거의 같은 감수성을 나타냈다. Middlebrook¹⁷⁾은 oleic-acid-albumin 배지에서 양성한 isoniazid 10 γ 以上 耐性 15株에 대하여 pH를 수정하지 않은 15% H_2O_2 -Tween-80로 시험 하였던바 陰性으로 나타났다고 하였다. 그러나 이배지의 變形培地에서 배양한 10 γ 耐性 2株에서는 陽性이었다고 하였다.

本 실험에서는 Ogawa 배지에 배양한 15 γ 耐性株에서 5株中 1株가 陽性이었다. 이것으로 보면 培地の 種類에 따라서도 catalase 의 成績이 달라지는 것이 암시된다.

catalase 시험에 比하면 peroxidase 作用에 關해서는 그다지 알리워져 있는것이 적다. catalase 와는 달리 peroxidase 는 基質特異性이 더 넓다. 現在로서는 수용체로서 orthodiphenol, catechol 이 使用되고 있다. catechol 은 o-benzoquinone 까지 酸化되고 이것은 축합하여 褐色化合物을 形成한다. 褐色의 出現이 이 酸素活性의 표시로 되어있다.

이것은 catalase 와 무관하다. 그러나 微弱한 變色 일때에는 그 判斷이 困難하였다. isoniazid 에 감수성株가 耐性으로 되면 catalase 도 peroxidase 도 損失된다. 自然的으로 isoniazid 에 耐性인 *M. smegmatis*, *M. phlei* 는 표 1 에서와 같이 高度의 catalase 를 生産하지만 isoniazid 의 活性은 없다. 그러나 이 菌株는 peroxidase 를 生産하지 않는다. 結核菌에서의 peroxidase 의 意義도 充分히 確立되어 있지 않다.

Tirunarayanan 과 Vischer⁷⁾는 isoniazid 感受性 및 耐性은 peroxidase 에 더 關聯되어 있다고 하였으나

Bogen¹⁸⁾에 依하면 catalase 시험과 peroxidase 시험의 檢用법으로도 연결이 잘안되었다. 本實驗의 결과로도 關連性을 잘 지을수가 없었다.

catalase 시험이 判斷하기도 容易하여 도리어 良好한것 같다.

V. 結 論

Isoniazid 耐性 *Mycobacteria* 를 검색함에 있어서 長時間을 要하는 感受性 試驗대신 신속하고, 간단하며 경제적인 catalase 및 peroxidase 시험의 臨床的인 利用價值의 有無를 검토하기 爲하여 最近, 患者에서 分離한 *Mycobacteria* 64株와 보관株에 대하여 感受性試驗과 아울러 처방을 달리한 몇가지 試약을 갖이고 catalase 및 peroxidase 시험을 해본 결과 다음과 같은 結論을 얻었다.

(1) catalase 試藥으로서 15% H_2O_2 , 10% Tween-80 pH 7.0로 조성된 試약을 사용하였을때 catalase 반응이 가장 예민하였다. 이 試약에 依한 catalase 시험에서는 isoniazid 15 γ 耐性株가 陰性으로 鑑別 되었다.

(1) peroxidase 試藥은 catechol , Tween-80, H_2O_2 , pH 4.0 以下로 조성된 試약을 사용하였을 때 이 반응도 들은 가장 잘 나타났으나 모두 不規則하였다.

(3) 以上 시험결과로 보아 peroxidase 시험은 의의가 없으나 catalase 시험은 15 γ 以上의 INH resistant *Mycobacteria* 를 인지하는데 있어서도 상당한 가치 가 있었다고 사료된다.

References

1. Theorell, H.: *The iron-containing enzymes. B. Catalases and peroxidases, in the enzymes by summer, J. B., and Myrback, K., Academic Press, Inc., vol. 2, p. 397. 1951.*
2. Gray, C. T.: *Action of isoniazid related of mycobacteria. Bacteriol. Proc. Soc. A. Bacteriologists, p. 89, 1953.*
3. Wilson, G. S. and A. A. Miles: *Topley and Wilson's principle of bacteriology, virology and immunology, 6ed. p. 233. Edward Arnold, 1975.*

4. Second Report of the expert committee on antibiotics: *Standardization of methods for conducting microbic sensitivity tests.* World Health Organization Technical Reports, Series No. 210 p. 1-24. 1961.
5. Hansen, S.L., and B.J. Stewart: *A reliable test for differentiation and presumptive identification of certain clinically significant anaerobes.* Amer. J. Clin. Path. 69—No. 1 Jan, 1978.
6. Taylor, W.I., and D.Achanzar: *Catalase test as an aid to the identification of enterobacteriaceae.* Appl. Microb. July. p 58, 1972.
7. Tirunarayanan, M.O., and W.A. Vischer: *Relationship of isoniazid to the metabolism of mycobacteria.* Amer. Rev. Tuberc. 75, 62, 1957.
8. Russell, R.I., G.J. Jann, and S. Froman: *Lyso-geny, in the mycobacteria I. The establishment of Lysogeny,* Amer. Rev. Resp. Dis. 82:384, 1960.
9. Davidsohn, I., and J.B. Henry (ed): *Todd—Sanford clinical diagnosis by laboratory method, 14th ed.* W. B. Saunders Co. Philadelphia, 1969..
10. Levinson, S.A., and R.P. Mac Fate: *Clinical laboratory diagnosis, 7th ed.* Lea and Febiger, Philadelphia, 1969.
11. Bailey, W.R., and E.G. Scott.: *Diagnostic microbiology, 3rd ed.* C. V. Mosby Co., St Louis, 1970.
12. Brande, A. I., and H. Berkowits: *Detection of urinary catalase by disc floation.* J. Lab. Clin. Med. 57:490, 1961.
13. Montgomerie, J. Z., G.M. Kalmanson and I. B. Guze: *The use of the catalase test to detect significant bacteriuria.* Amer J. Med. Sci. 251: 184, 1966.
14. Bonicke, R.: *Die Katalase aktivitat INA-sensibler und-resistenter Mykobakterien und ihre Hemmbarkeit durch INH,* Naturwiss., 41:430, 1954.
15. Peizer, L.R., and Widelock, D.: *The correlation rate of catalase activity guinea pig virulence, and isoniazid resistance of tubercle bacilli from specimens of patients under isoniazid therapy.* Am. Rev Tuberc., 72:246, 1956.
16. Knox, R., Meadow, P.M., and Worssan, A. R.H.: *The relationship between the catalase activity, hydrogen peroxidase sensitivity. and isoniazid resistance of mycobacteria.* Am. Rev. Tuberc. 73:726, 1956.
17. Middlebrook, G.: *Isoniazid-resistance and catalase activity of tubercle le bacilli.* Am. Rev. Tuberc. 69:471, 1954.
18. Bogen E.: *Problems in laboratory diagnosis of tuberculosis.* Amer. Rev. Tuberc. 76:1110, 1957.