

胆固醇对結核菌、卡介苗和草分枝杆菌生长的影响*

鄭翼宗

(北京結核病研究所細菌免疫学研究室)

胆固醇为类脂体的主要成分之一。在生物化学上一般认为它和卵磷脂都在脂肪代謝中起很重要作用。但过去关于胆固醇对一般細菌,特别是对結核菌生长的影响,研究很少。

著者发现在苏通培养基中加入胆固醇对結核菌、卡介苗以及草分枝杆菌等的生长的影响有双重作用:即量较大时起抑制作用,而量微小时则对初期生长、菌膜形成、菌膜厚度及总菌量都有显著的刺激作用。著者又进一步研究了胆固醇綜合培养基中甘油及葡萄糖的含量問題,并比較了胆固醇培养基及苏通培养基对結核菌及卡介苗的培养效果,現将其簡要介紹如下。

一、实验方法

1. 供試菌株 人型結核菌 H₃₇R_v, 培养 2—3 星期;卡介苗,培养 10—14 天;草分枝杆菌,培养 3—5 天。

以上各菌株均系本研究室保存菌株,临用时以瑪瑙乳鉢研磨,制成为每毫升含有 1 毫克(湿菌量)的菌液,将菌液作連續 10 倍稀釋,取其 0.01 毫升接种于每管含培养基 3 毫升的小試管内,其最后接种菌量等于 10^{-2} 、 10^{-3} 、…… 10^{-6} 毫克(湿菌量)。

2. 基础培养基 以苏通培养基为基础,其甘油含量作适当的改变。

3. 胆固醇 以无水酒精作成 1 毫克/毫升的溶液,取此溶液的一定量,一滴一滴地加入到加温至 70—80℃ 的基础培养基中,高压灭菌(15 磅 15 分),实验証明高压灭菌后酒精完全揮发无遺。

4. 牛血清白蛋白第五部分(Bovine Plasma Fraction V) 制成 5% 水溶液,以細菌过滤器灭菌,加入培养基,其最終浓度为 0.5%。

5. 观察結果 每天或隔一天观察生长情况:

(1) 初期生长:观察在小試管底开始形成小顆粒状发育的日期,按顆粒发育的程度分为 +、++、+++、++++。

(2) 菌膜形成:观察在液体培养基上面开始形成菌膜的日期,按菌膜形成的程度分为 +、++, 1/5 (上层面积的 1/5)、1/3、1/2 等。M 代表完整的菌膜,按菌膜的厚度分为 M、2M、3M…等。

* 本文 1960 年 4 月 7 日收到。

(3) 总菌量: 包括菌膜及管底发育的细菌, 以微量凯氏定氮法测定其总氮量。

二、实验结果

(一) 胆固醇对结核菌、卡介苗以及草分枝杆菌生长的双重作用

1. 抑制作用 在苏通培养基中胆固醇的含量为 0.03% 及 0.01% 时, 人型结核菌 $H_{37}R_v$ 、牛型结核菌及卡介苗均不能生长(接种菌量 10^{-2} — 10^{-6} 毫克)。在苏通培养基中加上牛血清白蛋白第五部分(0.5%)时对胆固醇的抑菌作用也不能起中和作用, 结核菌及卡介苗仍然不能生长。草分枝杆菌在胆固醇 0.03% 及 0.01% 的培养基中生长也受一定的抑制, 其初期生长及菌膜生长的日期均比对照为慢, 在培养基中加牛血清白蛋白第五部分时有一定的中和作用, 如表 1 及表 2。但我们观察到在接种量较大 (10^{-2} 毫克) 时, 经 8 天培养后在

表 1 胆固醇 0.03% 对草分枝杆菌生长的影响

菌 量(毫克)		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
生 长	培 基				
初期生长 (天)	苏通 + FV	2	2	3	3
	苏通 + FV + 胆固醇	2	3	4	5
菌膜形成 (天)	苏通 + FV	3	3	4	6
	苏通 + FV + 胆固醇	5	6	—	—

注: “FV” 牛血清白蛋白第五部分。

表 2 胆固醇 0.01% 对草分枝杆菌生长的影响

菌 量(毫克)		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
生 长	培 基					
初期生长 (天)	苏 通	2	2	3	3	4
	苏通 + FV	2	2	3	3	3
	苏通 + 胆固醇	4	5	6	6	8
	苏通 + FV + 胆固醇	2	2	3	4	4
菌膜形成 (天)	苏 通	3	3	4	6	8
	苏通 + FV	3	3	4	6	8
	苏通 + 胆固醇	5	6	7	—	—
	苏通 + FV + 胆固醇	3	3	4	—	—

注: “—” 观察 8 天后无菌膜生长。

0.01% 胆固醇培养基的菌膜比对照苏通培养基很厚而且颜色较深, 因此我们想到有必要进一步以较少量的胆固醇进行试验。

2. 促进作用 将胆固醇含量从 0.01% (即 100 微克/毫升) 开始作倍数稀释逐渐减少时, 从表 3 可以看到, 人型结核菌 $H_{37}R_v$ 在 100 微克/毫升中完全不生长, 胆固醇 50 微克/毫升有显著的抑制作用, 25 微克/毫升还有一定的抑制; 但 12 微克/毫升则反有一些刺激作用, 6 微克/毫升就有很显著的刺激作用, 这种刺激作用在 3 微克/毫升中还能看到, 但作用较差。在培养基中加牛血清白蛋白第五部分时对抑制作用或刺激作用均无显著影响。卡介苗和人型结核菌的情况完全相似, 如表 4。胆固醇 50 微克/毫升对草分枝杆菌无显著

表3 各种胆固醇量对人型结核菌 $H_{37}R_v$ 生长的影响

菌量(毫克) 胆固醇(γ) 长情况(周)		10^{-8}										10^{-4}										10^{-5}										10^{-6}																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					
		100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
		100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12					6					3					0					100					50					25					12		

注:菌膜生长/管底生长;“-”无生长;“+”“++”“+++”生长程度;“M”完整菌膜。

表4 各种胆固醇量对卡介苗生长的影响

培养基 菌量(毫克) 胆固醇		苏						苏通						苏通 + FV						苏通						苏通 + FV									
		10 ⁻³						10 ⁻³						10 ⁻⁵						10 ⁻⁵															
时间(周)	100	50	25	12	6	3	S	100	50	25	12	6	3	S	100	50	25	12	6	3	S	100	50	25	12	6	3	S	100	50	25	12	6	3	S
	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	+	+/+++	M/++	1.5M	2M	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	M/++	1.5M	2.5M	2M	M	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journal>

注:“S”苏通培养基对照(甘油量3%毫升)。

影响,从 25 微克/毫升开始逐渐有一定的刺激作用,但其刺激作用同样以 6 微克/毫升为最强,如表 5。

表 5 胆固醇对草分枝杆菌生长的促进作用

菌量(毫克) 胆固醇 γ 生长情况(天)	10 ⁻³					10 ⁻⁴				
	25	12	6	3	S	25	12	6	3	S
3	$\frac{1}{2}M$ +++	$\frac{1}{2}M$ +++	$\frac{1}{2}M$ +++	+ / ++	+ / ++	-	-	+ / +	- / +	- / +
6	$\frac{2}{3}M$ +++	$\frac{3}{4}M$ +++	$\frac{3}{4}M$ +++	$\frac{2.5}{3}M$ +++	M / +++	$\frac{1}{3}M$ +	$\frac{1}{2}M$ +	M / ++	M / ++	$\frac{1}{2}M$ ++
9	$\frac{3}{4}M$ +++	$\frac{4}{5}M$ +++	$\frac{4}{5}M$ +++	$\frac{3.5}{4}M$ +++	$\frac{2}{3}M$ +++	$\frac{2}{3}M$ ++	$\frac{3}{4}M$ ++	$\frac{3.5}{4}M$ ++	$\frac{3}{4}M$ ++	$\frac{1.5}{2}M$ ++

注：“S”苏通培养基对照(甘油量 3% 毫升)。

总结以上结果,我们看到胆固醇对结核菌、卡介苗以及草分枝杆菌等的生长有双重作用,无论其接种菌量的大小(每 3 毫升培养基中 10⁻²—10⁻⁶ 毫克),在含胆固醇 100 微克/毫升时结核菌及卡介苗都不能生长,草分枝杆菌生长也受一定的抑制。在 50 微克/毫升时,结核菌及卡介苗仍然受显著的抑菌作用,草分枝杆菌无显著影响。12 微克/毫升对结核菌、卡介苗以及草分枝杆菌生长均有一定的刺激作用,而在 6 微克/毫升时则刺激作用最为显著,这种作用在 3 微克/毫升还能看到,但其作用较差。

(二) 胆固醇液体培养中甘油及葡萄糖含量的影响

为了提高胆固醇液体培养基的培养效果,我们在含有 5 微克/毫升的胆固醇培养基内研究了甘油及葡萄糖的含量的影响。

1. 试验 I. 以苏通培养基为基础,加入胆固醇 5 微克/毫升后,比较培养基中甘油含量的影响时,从表 6 可以看出培养基中甘油浓度以 1% 为较好,如在培养基中同时加入甘油以及葡萄糖时效果更好,初步可以看到,同时加入甘油 0.5% 及葡萄糖 1% 者为佳,我们在各种菌株(人型结核菌 H₃₇R_v、卡介苗及草分枝杆菌)以及各种接种菌量(每 3 毫升培养基中接种 10⁻²—10⁻⁶ 毫克),均观察到同样关系。

表 6 胆固醇培养基中不同甘油量的比较及甘油加葡萄糖的效果(人型 H₃₇R_v 接种菌量 10⁻³ 毫克)

培 基 周 数	6% 甘油	3% 甘油	1% 甘油	1% 甘油 加 1.0 葡萄糖	0.5 甘油 加 1.0 葡萄糖
1	- / ++	- / ++	- / ++	- / ++	+ / +++
2	M / ++	M / ++	M / +++	2M / +++	2M / +++
3	1.5M / +++	2M / ++	3M / ++	5M / +++	6M / +++

2. 试验 II. 葡萄糖含量的关系,从表 7 可以看到在初期生长日期上,葡萄糖在各种浓度中 3% 者最好,并比甘油 6% 者为佳,但比之甘油 0.5% 加葡萄糖 1% 者较差。在菌膜形成上,葡萄糖 1% 者较好,并比甘油 6% 者为佳,但同样比不上甘油 0.5% 加葡萄糖

表 7 胆固醇培养基中各种葡萄糖含量对结核菌及卡介苗生长的影响

生 菌 长	或 甘 油 基 中 的 葡 萄 糖 含 量 (毫 升)	菌 量 (毫 克)	葡 萄 糖				甘 油	甘油 0.5% +
			3%	1%	0.5%	0.25%	6%	葡萄糖 1.0%
初 期 生 长 (天)	人型 H ₃₇ Rv	10 ⁻²	3	3	3	6	6	3
		10 ⁻³	3	4	5	7	7	3
		10 ⁻⁴	8	8	8	8	8	5
		10 ⁻⁵	8	9	8	8	9	6
	卡 介 苗	10 ⁻²	3	5	5	6	6	3
		10 ⁻³	3	5	6	7	7	3
		10 ⁻⁴	8	6	7	7	8	5
		10 ⁻⁵	9	7	7	7	9	6
菌 膜 形 成 (天)	人型 H ₃₇ Rv	10 ⁻²	11	7	7	10	10	7
		10 ⁻³	11	8	10	11	10	7
		10 ⁻⁴	11	11	13	11	11	8
		10 ⁻⁵	11	11	13	13	12	10
	卡 介 苗	10 ⁻²	13	7	11	7	11	7
		10 ⁻³	13	10	11	11	11	7
		10 ⁻⁴	13	11	11	11	11	9
		10 ⁻⁵	13	13	14	14	12	10
菌 膜 厚 度 (M)	人型 H ₃₇ Rv	10 ⁻²	25	25	1.5	1	6	8
		10 ⁻³	1.5	2	1	1	5.5	8
		10 ⁻⁴	1	1	1	1	5	7.5
		10 ⁻⁵	1	1/3	1	1	5	7.5
	卡 介 苗	10 ⁻²	1	1	1	1	5	8.5
		10 ⁻³	1	1	1	1	5	8
		10 ⁻⁴	1	1	1	1	4	8
		10 ⁻⁵	1	1	1	1	4	8

1%。在培养 5 周后的菌膜厚度上,葡萄糖的各种浓度均比甘油 6% 者为差,更比不上同时加入甘油 0.5% 及葡萄糖 1% 者。

3. 試驗 III. 同时加入甘油及葡萄糖时的比率关系,从表 8 可以看到,从初期生长、菌膜形成以及菌膜厚度等各方面来看,在甘油及葡萄糖的各种比率中,以甘油 0.5% 及葡萄糖 1% 者为最优。

表 8 胆固醇培养基中甘油+葡萄糖的各种含量对人型结核菌及卡介苗的影响

生 长	菌 种		人 型 $H_{37}R_v$				卡 介 苗			
	葡 萄 糖	菌 量 (毫克)	10 ⁻³	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
初 期 生 长 (天)	0.5%	0.5%	3	3	4	8	3	3	5	8
	1.0%	0.5%	3	3	5	6	3	3	5	6
	0.5%	1.0%	3	6	8	10	5	6	8	10
	0.5%	0.25%	3	6	8	10	3	3	8	8
	0.25%	1.0%	5	5	7	8	5	5	7	10
	0.25%	0.5%	4	6	7	8	4	5	7	10
	0	6%	6	7	8	9	6	7	8	9
菌 膜 形 成 (天)	0.5%	0.5%	7	7	11	11	7	7	10	11
	1%	0.5%	7	7	8	10	7	7	8	10
	0.5%	1.0%	8	8	10	10	10	10	10	13
	0.5%	0.25%	7	8	10	10	10	10	10	10
	0.25%	1.0%	11	11	12	13	10	10	11	13
	0.25%	0.5%	7	8	10	10	10	10	10	10
	0	6%	10	10	11	12	10	10	11	12
菌 膜 厚 度 (M)	0.5%	0.5%	8	7.5	7.5	7.5	8	8	8	8
	1.0%	0.5%	8	8	7.5	7.5	8.5	8	8	8
	0.5%	1.0%	8	8	8	8	8.5	8.5	8	8
	0.5%	0.25%	6	5	5	5	6	6	6	5
	0.25%	1.0%	6.5	6	5	5.5	7	6	5	5
	0.25%	0.5%	7	6.5	6.5	6.5	6	6	6	6
	0	6%	6	5.5	5	5	5	5	4	4

注：培养 5 周，菌膜厚度分为 1 至 8M。

(三) 胆固醇培养基和苏通培养基的比较

根据以上试验成绩，我们提出如下的胆固醇综合培养基，其成分如下：

1. 基础液：

天门冬素	4 克	枸橼酸	2 克
磷酸氢二钾	0.5 克	硫酸镁	0.5 克
枸橼酸铁铵	0.05 克	蒸馏水	1000 毫升
甘 油	5.0 毫升		

加热溶解后以氨水调整 pH 至 7.2。

2. 胆固醇酒精溶液：将 5 毫克胆固醇在酒精 5 毫升中加热溶解。

3. 50% 葡萄糖溶液：经 8 磅 10 分钟灭菌。

制备方法：将基础液加温至 70—80℃ 后，边摇边滴地将胆固醇酒精液以 5 毫升刻度吸管一滴一滴地加入，使其均匀混合，15 磅 15 分高压灭菌后，以无菌手续加入 50% 葡萄糖溶液 20 毫升。

胆固醇培养基对结核菌、卡介苗及草分枝杆菌的生长，在初期生长、菌膜形成、菌膜厚度以及总菌量（包括菌膜及管底生长菌量）等各方面，均比苏通培养基为优。

1. 初期生长：胆固醇培养基对人型结核菌 $H_{37}R_v$ 及卡介苗在初期生长上比苏通培养基快

4—3 天,如图 1。

2. 菌膜形成: 胆固醇培养基对人型结核菌 $H_{37}R_v$ 及卡介苗在菌膜形成开始日期均快 2—3 天。如图 2。

(天)

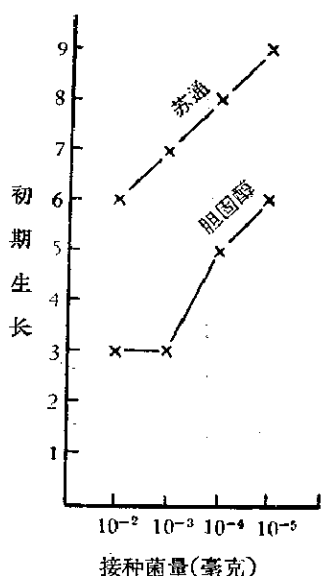


图 1 胆固醇培养基及苏通培养基对人型结核菌 $H_{37}R_v$ 及卡介苗在初期生长时的比较

(天)

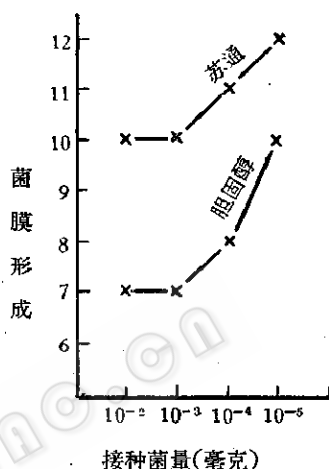


图 2 胆固醇培养基及苏通培养基对人型结核菌 $H_{37}R_v$ 及卡介苗在菌膜形成上的比较

3. 菌膜形成过程及菌膜厚度: 胆固醇培养基对菌膜形成的影响尤为显著。从图 3 和图 4 可以看到, 在胆固醇培养基中培养 3 周后的菌膜厚度就已经达到苏通培养基培养 5 周后才能达到的厚度; 并且在 5 周后的菌膜比苏通培养基的菌膜为厚。

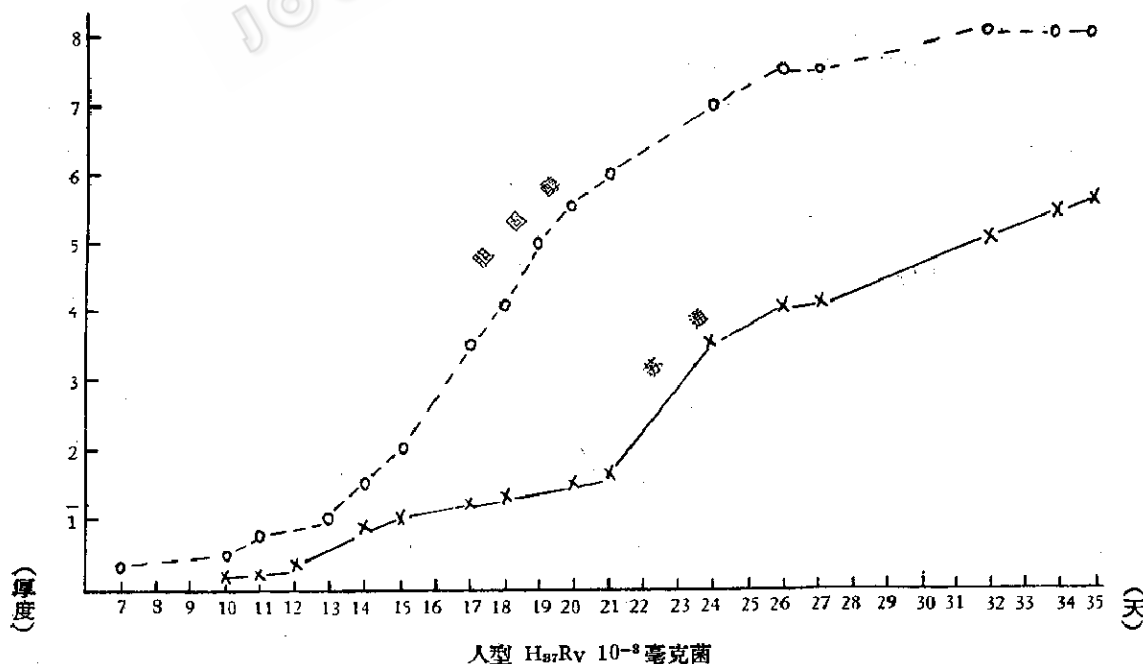


图 3 胆固醇培养基及苏通培养基对人型结核菌 $H_{37}R_v$ 的菌膜形成及菌膜厚度的比较

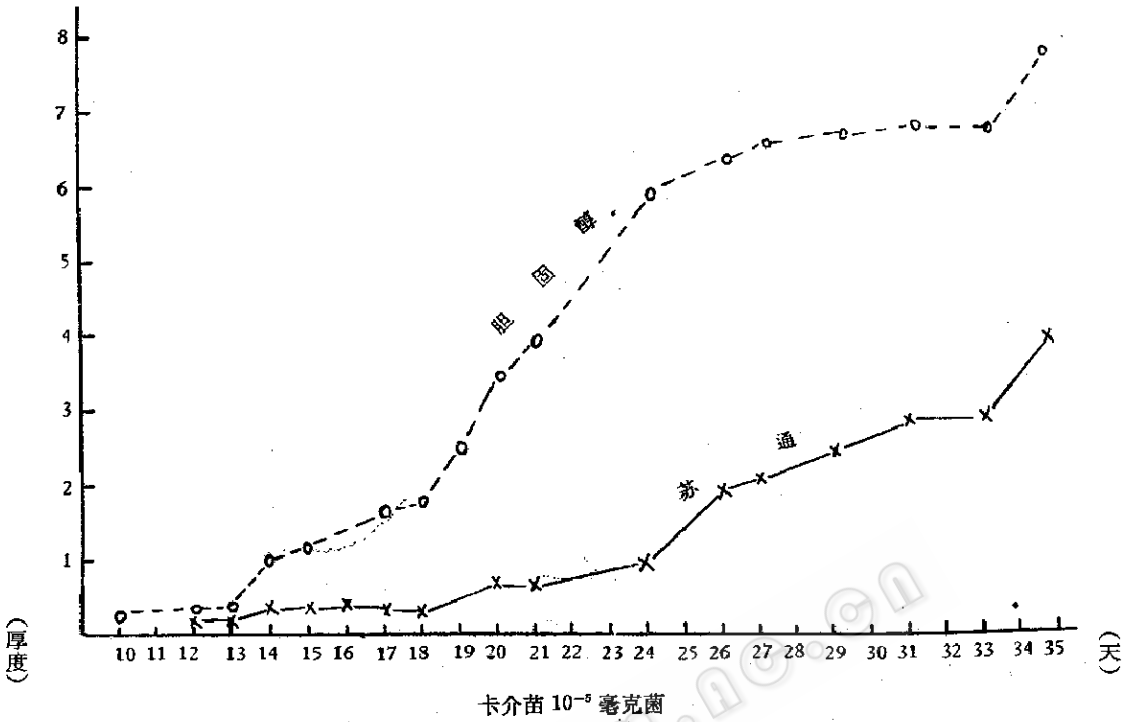


图4 胆固醇培养基及苏通培养基对卡介苗的菌膜形成及菌膜厚度的比较

4. 总氮量的比较：从图5可以看到，人型结核菌及卡介苗培养5周后的总氮量在胆固醇培养基比苏通培养基有显著的增加。草分枝杆菌也有同样关系。

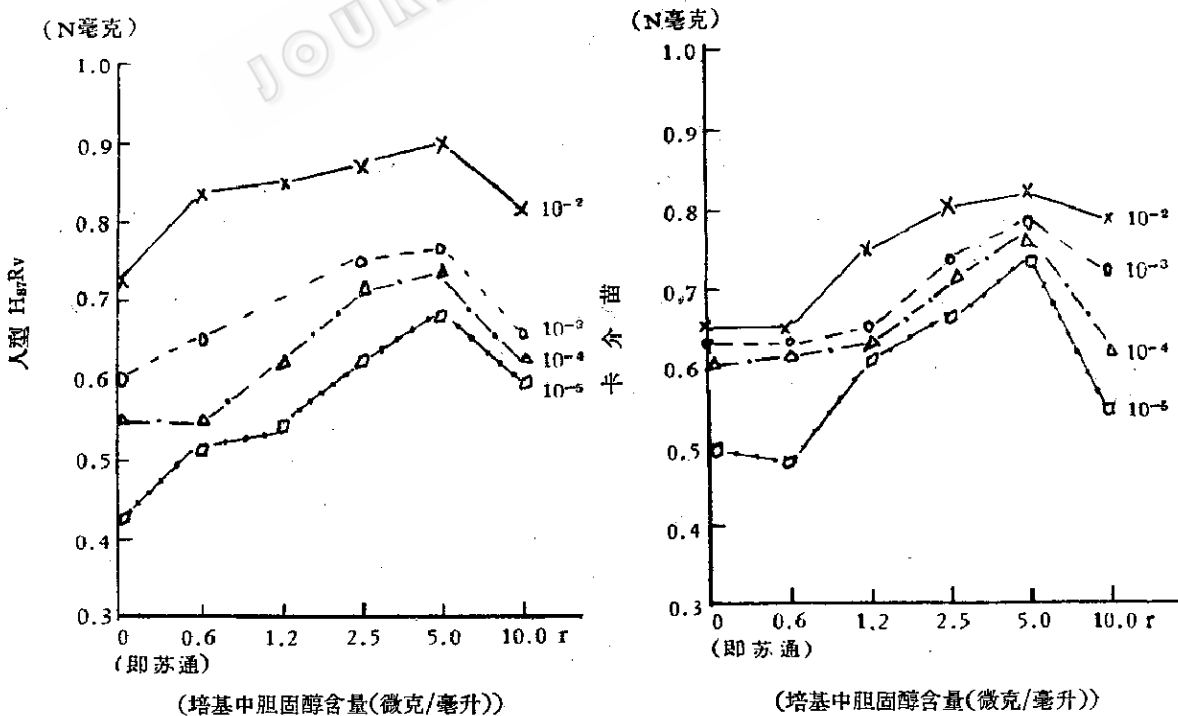


图5 人型结核菌及卡介苗培养5周后总氮量的比较

三、討 論

实验証明,胆固醇对結核菌、卡介苗及草分枝杆菌等耐酸菌的生长有双重作用,即量較大时(50 微克/毫升)有抑制作用,而量少时(5 微克/毫升)有显著的刺激作用。过去关于胆固醇对結核菌生长的影响,研究很少^[3,4,5],主要只有 Lominski 氏^[1]及 Hirsch 氏^[2]的研究。Lominski 氏研究是在含有复杂成分的馬鈴薯肉湯培养基上进行的,而且是同卵磷脂并用的(胆固醇为 0.01%,卵磷脂为 0.1%),当然很难看出胆固醇本身的作用。Hirsch 氏是在炭末培养基中进行研究的,而他的結論是在培养基含 0.01—0.1% 胆固醇时有一定的刺激生长作用,0.001% 就无影响,并认为該刺激作用是由于胆固醇中和培养基中所存在的脂肪酸的毒性所致。显然这些研究者所采用的胆固醇的浓度是較大的,均在 100 微克/毫升以上。从我們的結果来看,它是远远地超过了胆固醇的抑菌浓度。我們认为在以上两氏的研究中所用胆固醇浓度虽然較大,然而并未发现抑止作用,反而有一些刺激作用,其主要原因有二:即

1. 胆固醇沒有完全溶解; Lominski 氏是以乙醚为溶剂,而 Hirsch 氏是以乙醚或丙酮溶解后加入培养基的,我們重复这些方法,未能得到全部溶解,因此才想到以酒精溶解而后加入培养基的方法,从而得到完全均匀的溶液。

2. Hirsch 氏培养基中炭末是富有吸附性的,因此可能将胆固醇的大部分吸附,因而中和了較大量胆固醇的毒性。

总之,以往学者的研究都是在成分复杂的培养基中进行的,因此看不出胆固醇的真正作用。我們以苏通培养基为基础,并利用經酒精溶解的方法使胆固醇达到完全溶解,因而闡明了胆固醇对結核菌、卡介苗及草分枝杆菌等耐酸菌生长的真实影响。

胆固醇为类脂体主要成分之一,闡明其对結核菌等耐酸菌生长的刺激作用,将引起它对結核杆菌营养代謝、菌体成分、耐酸性以及免疫力、毒力等一系列的問題。

結核菌的合成培养基,自从苏通氏(1912)、Long 氏(1919)等的研究以来,进展較少,主要都是一些盐类和氨基酸的改良。近年来 Dubos 氏利用长鏈脂肪酸特别是油酸或其酯类、Tweenso 等制作培养基,在理論上是应用了类脂体的成分,但因其必須加入牛血清白蛋白,因而失掉了純合成培养基的意义。我們以苏通培养基为基础发现极微量的胆固醇能發揮很显著的生长促进作用,而胆固醇为化学构造明确的純化学葯物。胆固醇培养基作为新純合成培养基,無論在理論研究方面以及实际应用方面都将有很大的意义,我們应用于快速培养、卡介苗生产以及耐葯性試驗方面,已經初步获得比較滿意的結果。

四、結 論

1. 在苏通培养基中,胆固醇对結核菌、卡介苗以及草分枝杆菌等的生长有双重作用,即量較大时(50 微克/毫升以上)有显著的抑制作用,而量少时(5 微克/毫升)則有显著的促进作用。

2. 胆固醇培养基作为新純合成培养基在理論研究上以及实际应用上都有很大的意义。

参 考 文 献

- [1] Iwo Lominski, *Compt. Rena, Société de, Biologie.*, 105: 601, 1930.
- [2] Hirsch, J. G., *Amer. Rev. Tuberc.* 70:955—977, 1954.
- [3] Wynne, E. S., and Foster, T. W., *J. Infect. Dis.*, 86: 33, 1950.
- [4] Edward, D. G., and Fitzgerald, W. A., *J. Gen. Microbiol.*, 5: 576, 1951.
- [5] Rosenthal, S. R., *Amer. Rev. Tuberc.*, 35: 703, 1937.

EFFECT OF CHOLESTEROL ON THE GROWTH OF *M. TUBERCULOSIS*, BCG, AND *M. PHLEI*

CHENG I-TSUNG

(Department of Bacteriology and Immunology, Peking Tuberculosis Research Institute)

So far very little has been known on the effect of cholesterol on the growth of *Mycobacterium*. In the series of experiments herein reported, the author found that cholesterol, indeed, possesses a dualistic effect on the growth of *M. tuberculosis* H₃₇Rv, bovine type, BCG, as well as on *M. phlei*. The experiments were carried out with the Sauton medium as the base, to which various amounts of cholesterol were added. It was found that concentrations varying from 25—50 μg per ml showed varying degrees of inhibition, whereas 100 μg per ml completely inhibited the growth of these organisms. On the other hand, it is noteworthy that when minute amounts of cholesterol were added to Sauton medium, marked stimulatory effect was seen, and this effect was independent of the bovine albumin Fraction V. In medium containing minute amount of cholesterol, inocula varying from 10^{-1} to 10^{-7} of human and bovine types of tubercle bacilli (including BCG), produced growth plainly visible to the naked eye and formed pellicles four days earlier than that produced by similar inocula growing in plain Sauton medium. The amount of pellicle growth obtained on the cholesterol medium by the end of 3 weeks was found to be equal to that obtained in cultures on Sauton medium of 5 weeks duration. There was also a greater content of total nitrogen in the bacterial mass grown in the presence of cholesterol.