

衍化类脂体对分枝杆菌生长的影响

鄭翼宗 高东哲

(北京结核病研究所, 北京)

类脂体一般分为: 单纯类脂体(包括中性脂肪、蜡)、复合类脂体(包括磷脂质、糖脂等)以及衍化类脂体。而衍化类脂体则分为: (1)脂肪酸; (2)醇类(包括甘油及固醇类); (3)有机碱性化合物(包括胆碱和神经氨基醇等)。换言之, 衍化类脂体即单纯类脂体及复合类脂体的组成成分。鉴于分枝杆菌菌体中含有大量的类脂体, 我们认为类脂体对分枝杆菌的营养代谢有很重要的意义。在这方面, 过去对甘油及各种磷脂质的研究较多; 近年来 Dubos 对各种脂肪酸及各种 Tween 作了比较系统的研究^[1-6]; 在碱性化合物中则报告神经氨基醇不但无刺激生长作用, 反而有抑菌作用^[7]; 至于固醇类及其他碱性化合物等则研究很少。本文将报导近几年来我们对固醇类、脂肪酸及胆碱等所作的一些试验结果。

材 料 与 方 法

(一) 培养基

以苏通(Sauton)培养基为基础, 其中甘油浓度改为 1%, 调节酸碱度至 pH 7.0, 加入各种衍化类脂体后高压灭菌。

(二) 衍化类脂体

1. 固醇类 胆固醇(E. Merck 制品或北京化工厂产品); β -乙甾醇(北京医学院药系合成); 麦角醇(E. Merck 制品)。

各种固醇类均以无水乙醇加温溶解成 1 毫克/2 毫升后, 按需要量加入 60—70°C 的基础苏通培养基中。

2. 脂肪酸 油酸钠(Merck 制品), 以水溶解。油酸(日本大阪有机化学工业制品), 可直接溶于 1/20N 氢氧化钠溶液中, 最终油酸浓度为 1%; 也可直接溶于无水乙醇内, 浓度为 1%, 然后再以蒸馏水稀释至所需浓度。

3. 胆碱 氯化胆碱(Light 制品); 氯化乙酰胆碱(上海产品); 氯化琥珀酰胆碱(北京市制药厂制品)。

均为水溶液, 直接加入培养基中高压灭菌。

(三) 菌株

均为本研究室保存菌株。

人型结核菌(H₃₇RV); 卡介苗(丹麦株); 鸟型结核菌; 草分枝杆菌。

除特殊注明者外, 均为在改良罗氏培养基上培养 2—3 周(草分枝杆菌培养 1 周)。

(四) 接种与观察

1. 液体培养基深部接种 以玛瑙乳钵磨菌作成 1 毫克/毫升的菌悬液, 再依次 10 倍稀释, 按要求量接种 0.1 毫升至装培养基(含 3 毫升)的小试管内。然后从接种第二日起每两日观察 1 次, 记录其管

底与菌膜的生长情况(记录标准见表 4)。

2. 液体培养基表膜接种 将所制备的培养基分装至 50 毫升锥形瓶内,每瓶 25 毫升,高压灭菌后接种。以白金环轻轻挑取一大环在苏通液体培养基上生长良好的菲薄菌膜,飘浮在培养基液面上。尽量使每瓶接种的菌膜大小一致。然后在 37℃ 温箱内培养 20 日。取出后,行 15 磅 15 分钟高压灭菌,用滤纸过滤,将所滤得的湿菌连同滤纸一起置 37℃ 温箱内放置 1 周,使其干燥后称菌干重。

3. 半固体培养基(含脱脂琼脂 0.25%)内接种 制备所需浓度的菌液后,接种时用吸管吸取菌液直接插入培养基内接种 0.1 毫升。接种后每隔两日观察 1 次结果。

实 验 结 果

(一) 有关固醇类的研究

1. 胆固醇 我们曾经报告^[8],在合成液体培养基中,胆固醇对结核菌、卡介苗及草分枝杆菌的生长均有双重作用。即量较大时,有一定的抑制作用,在 100 微克/毫升时则完全不能生长;而量较小时则反而起显著的促进作用,在 5 微克/毫升时对人型结核菌、卡介苗及草分枝杆菌的初期生长、菌膜形成、菌膜厚度以及总菌量等均有显著的促进作用,而且这些作用不受血清成分或白蛋白的影响。以后我们又进行试验证明:

(1) 胆固醇不但对生长力旺盛的分枝杆菌生长有良好效果,而且对在苏通培养基上不能生长或生长力微弱的衰弱菌株也有促进其生长的作用。我们将人型结核菌 H₃₇RV 及卡介苗传代在改良罗氏培养基上,培养在 37℃ 中各达 3、5、8、10、13 周后,再接种至苏通培养基与含胆固醇培养基内观察其生长情况。如表 1 所示,在改良罗氏培养基上培养 10 周的人型结核菌,当其接种 10⁻⁵—10⁻⁶ 毫克时,在苏通培养基内完全不能生长,在每毫升含有 5 微克胆固醇之培养基内则可以生长;接种 10⁻²—10⁻⁴ 毫克时,其初期生长日期亦较苏通培养基短,而且可以形成菌膜。其它不同培养时间的菌株均有同样情况。

表 1 人型结核菌微弱菌株的生长情况

接 种 菌 量 (毫克)	初 期 生 长 日 数		菌 膜 形 成 日 数	
	苏 通 培 养 基	胆 固 醇 培 养 基	苏 通 培 养 基	胆 固 醇 培 养 基
10 ⁻²	12	8	—	13
10 ⁻³	14	12	—	17
10 ⁻⁴	22	14	—	19
10 ⁻⁵	—	15	—	—
10 ⁻⁶	—	16	—	—

注: 1) 此人型结核菌之菌龄为 10 周;
2) 胆固醇在培养基内之含量为 5 微克/毫升;
3) “—” 未生长。

(2) 在含有脱脂琼脂 0.25% 之胆固醇半固体培养基中,结核菌之初期生长日数较苏通半固体培养基与改良罗氏固体培养基明显提前,从培养 4 周后的菌落数来看,亦较其它二种培养基数目多,证明了胆固醇对微量菌的促进生长作用(见表 2)。

2. 乙甾醇与麦角醇 在其它固醇类中我们发现 β -乙甾醇与麦角醇对结核菌的生长影响和胆固醇相似。即在每毫升含 5 微克时有一定的促进生长作用,但其促进作用强度均次于胆固醇。同时证明其含量较高时(即 β -乙甾醇在 40 微克/毫升、麦角醇在 20 微克/毫

表 2 結核菌在胆固醇半固体培养基及其它培养基上生长情况比較

观察项目 接种菌株与菌量 (毫克)	初 期 生 长 日 数					培 养 4 周 后 生 长 情 况					
	人 型 结 核 菌					人 型 结 核 菌			牛 型 结 核 菌		
	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
胆固醇半固体	2	7	10	14	16	+++	80	15	+++	20	3
苏通半固体	8	11	20	—	—	+	—	—	+	—	—
改良罗氏培养基	10	12	16	20	23	++	20	5	20	2	—

注：1) 初期生长日数中数字为发现生长日数；“—”未生长。
2) 生长情况中：“+”→“+++”表示菌落多无法计数时之生长丰盛程度,数字为菌落数目；“—”为未生长。

升以上时)就出现抑制作用。表 3 所示为人型結核菌 H₃₇RV 在含 0.25% 脫脂琼脂苏通半固体培养基內,含有不同浓度的胆固醇、乙甾醇所显示的生长促进作用。

表 3 胆固醇、乙甾醇、麦角醇对 H₃₇RV 之促进生长作用

接 种 菌 量 (毫克)	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
苏通半固体	++	⊥	—
苏通半固体+胆固醇 5 (微克/毫升)	++++	+++	++
苏通半固体+胆固醇 10 ”	++++	++	++
苏通半固体+胆固醇 20 ”	+++	++	+
苏通半固体+胆固醇 40 ”	+	—	—
苏通半固体+β-乙甾醇 5 (微克/毫升)	++++	+	+
苏通半固体+β-乙甾醇 10 ”	+++	+	+
苏通半固体+β-乙甾醇 20 ”	+++	+	⊥
苏通半固体+β-乙甾醇 40 ”	+	—	—
苏通半固体+麦角醇 5 (微克/毫升)	+++	+	+
苏通半固体+麦角醇 10 ”	++	⊥	—
苏通半固体+麦角醇 20 ”	+	—	—
苏通半固体+麦角醇 40 ”	—	—	—

注：“⊥”→“++++”表示在半固体培养基內菌落生长之丰盛程度；“—”为未见生长。

(二) 有关脂肪酸的研究

在脂肪酸中,对分枝杆菌具有一定意义且有代表性的是油酸。其钠盐可溶于水,利于进行试验。我们发现油酸钠在不同浓度时对分枝杆菌具有不同作用。

1. 较高浓度油酸钠对分枝杆菌的生长抑制作用 以苏通培养基为基础加入各种浓度的油酸钠水溶液,在接种菌量为 10⁻¹ 毫克时,人型結核菌 H₃₇RV 与卡介苗在油酸钠浓度达 5 微克/毫升以上时就出现抑制作用,在 10 微克/毫升时则完全不能生长;而鸟型結核菌在油酸钠浓度 10 微克/毫升时仅见部分抑制作用,但到 50 微克/毫升时,亦不能生长。

当接种菌量減到 10⁻² 毫克时,人型結核菌与卡介苗在油酸钠 1 微克/毫升、鸟型結核菌在 10 微克/毫升时均不能生长(见表 4)。

同时我们也证明油酸乙醇溶液、油酸氢氧化钠溶液的结果与油酸钠的作用完全一致。

2. 低浓度油酸钠对分枝杆菌的生长促进作用 将油酸钠浓度由 0.1 微克/毫升起,

表 4 较高浓度油酸钠对结核菌之生长抑制作用

菌株与接种菌量(毫克)	人型 16 日 结果		卡介苗 16 日结果		鸟 型 12 日 结果	
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻¹	10 ⁻²
苏通培养基	$\frac{m}{++}$	$\frac{m}{+}$	$\frac{1}{++}$	++	$\frac{3}{+++}$	$\frac{3}{++}$
苏通培养基+油酸钠 1(微克/毫升)	$\frac{m}{++}$	-	$\frac{m}{++}$	-	$\frac{3}{+++}$	$\frac{3}{++}$
苏通培养基+油酸钠 5 ”	+	-	-	-	$\frac{3}{++}$	+
苏通培养基+油酸钠 10 ”	-	-	-	-	++	-
苏通培养基+油酸钠 50 ”	-	-	-	-	-	-

注：表内记录为细菌在液体培养基内生长情况。
分母表示管底生长情况：“+++”细菌生长盖满管底；“++”细菌生长占管底 1/2 左右；“+”细菌生长占管底不到 1/2。
分子表示在液体培养基表面生长情况：
“+”菌膜占培养基液面 1/3；“++”菌膜占培养基液面 1/2；“+++”菌膜占培养基液面 2/3；“m”菌膜盖满培养基液面。
“1”菌膜盖满培养基液面，且延管壁向上生长 2 毫米左右；
“2”菌膜盖满培养基液面，且延管壁向上生长 2—5 毫米；
“3”菌膜盖满培养基液面，且延管壁向上生长 5 毫米以上。
“-”未见生长。

经递次稀释到 0.001 微克/毫升止，发现低浓度油酸钠不但对人型结核菌 H₃₇RV、卡介苗与草分枝杆菌无抑制作用，反而有明显促进生长作用。其对 H₃₇RV、卡介苗在初期生长日数与生长丰富程度上均较对照组又早又多；在接种菌量少而对照管不能生长时，含有低浓度油酸钠者亦可生长。对草分枝杆菌亦有促进生长作用，但初期生长日数差别不大。

油酸钠促进生长作用的浓度范围较宽，在 0.001—0.1 微克/毫升之间，高峯不很明显，似以 0.005—0.05 微克/毫升浓度为最佳(见表 5)。

表 5 低浓度油酸钠对分枝杆菌之生长促进作用

菌株与接种菌量(毫克)	人 型 H ₃₇ RV			卡 介 苗		草 分 枝 杆 菌	
	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
苏通培养基	$\frac{+}{++}$	$\frac{-}{+}$	-	$\frac{+}{+}$	-	$\frac{2}{++}$	$\frac{1}{++}$
苏通培养基+油酸钠 0.1(微克/毫升)	$\frac{m}{++}$	$\frac{+}{++}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{++}{+++}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{2}{++}$	$\frac{2}{++}$
苏通培养基+油酸钠 0.05 ”	$\frac{m}{++}$	$\frac{m}{++}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{++}{+++}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{3}{+++}$	$\frac{2}{++}$
苏通培养基+油酸钠 0.01 ”	$\frac{m}{++}$	$\frac{m}{++}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{+++}{+++}$	$\frac{++}{+}$	$\frac{3}{+++}$	$\frac{2}{++}$
苏通培养基+油酸钠 0.005 ”	$\frac{1}{+++}$	$\frac{m}{++}$	$\frac{++}{+}$	$\frac{m}{+++}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{3}{+++}$	$\frac{3}{++}$
苏通培养基+油酸钠 0.001 ”	$\frac{m}{+++}$	$\frac{++}{++}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{+++}{+++}$	$\frac{+}{+}$	$\frac{3}{+++}$	$\frac{2}{++}$

注：1) 表内均为培养 12 日结果；
2) 记录生长标准与表 4 同。

(三) 有关有机碱性化合物的研究

在有机碱性化合物中，我们发现胆碱对结核菌及卡介苗的生长有较明显的促进作用，

但其有效浓度范围较宽,在 12.5—200 微克/毫升范围内均有促进生长作用。

1. 氯化胆碱对人型结核菌与卡介苗生长的影响 如表 6 所示,不论人型结核菌 $H_{37}RV$ 或卡介苗,当胆碱浓度在 12.5—200 微克/毫升时均对其有明显促进生长作用。无论管底生长或菌膜形成均较对照管生长丰盛。当接种菌量较小时(10^{-3} 或 10^{-4} 毫克),对照管未见生长,而加有胆碱者,均见有不同程度的生长,甚至可有菌膜形成。但当胆碱浓度加至 300—400 微克/毫升时,则未见促进生长作用,甚至出现轻度抑制作用。上述结果在培养早期(12 日)与培养后期(22 日)均表现一致。胆碱浓度在 12.5 微克/毫升与 200 微克/毫升间之促进生长作用均相似,未见有突出的高峯。

在含胆碱培养基中生长之菌膜很洁白鲜嫩,与对照管的黄色菌膜明显不同。

同时看到,氯化胆碱、氯化乙酰胆碱、氯化琥珀酰胆碱浓度在 12.5—200 微克/毫升时均对人型结核菌、卡介苗、草分枝杆菌的生长有明显促进作用,三者之间未见明显差别。菌膜发白情况同前。

表 6 氯化胆碱对人型结核菌与卡介苗生长的影响

培养时间	培养 12 日 结果								培养 22 日 结果							
	$H_{37}RV$				BCG				$H_{37}RV$				BCG			
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
菌株与接种菌量(毫克)	m +++	m ++	++ ++	—	1 +++	— ++	—	—	3 +++	2 +++	1 +++	++ +	2 +++	m ++	—	—
苏通培养基	1 +++	1 +++	m +++	++ +	1 +++	m +++	++ +	++ +	3 +++	3 +++	3 +++	m +++	2 +++	m +++	++ +	++ +
苏通培养基+胆碱 12.5(微克/毫升)	1 +++	1 +++	m +++	++ +	1 +++	m +++	++ +	++ +	3 +++	3 +++	3 +++	m +++	2 +++	m +++	++ +	++ +
苏通培养基+胆碱 25 ”	1 +++	1 +++	m +++	++ +	2 +++	m +++	++ +	++ +	3 +++	3 +++	3 +++	2 +++	3 +++	1 +++	++ +	++ +
苏通培养基+胆碱 50 ”	1 +++	1 +++	m +++	++ +	2 +++	m +++	++ +	++ +	3 +++	3 +++	3 +++	2 +++	3 +++	1 +++	++ +	++ +
苏通培养基+胆碱 100 ”	1 +++	1 +++	m +++	++ +	2 +++	1 +++	++ +	++ +	3 +++	3 +++	3 +++	2 +++	3 +++	1 +++	++ +	++ +
苏通培养基+胆碱 200 ”	1 +++	1 +++	m +++	++ +	2 +++	++ +++	—	—	3 +++	3 +++	3 +++	2 +++	3 +++	1 +++	++ +	—
苏通培养基+胆碱 300 ”	++ ++	— +	— +	—	++ ++	— +	—	—	2 ++	++ ++	— ++	— +	1 ++	++ ++	—	—
苏通培养基+胆碱 400 ”	++ ++	— +	— +	—	++ ++	— +	—	—	1 ++	++ ++	— ++	— +	1 ++	++ ++	—	—

注:记录标准同表 4。

2. 胆碱对表膜接种 $H_{37}RV$ 生长之影响 结果如表 7 所示,胆碱浓度在 12.5—100 微克/毫升时,干菌量较对照明显增加,在 200 微克/毫升时与对照差别不大。

表 7 氯化胆碱对表膜接种 $H_{37}RV$ 生长之影响

培养基	干菌量(毫克)
苏通培养基	300
苏通培养基+胆碱 12.5(微克/毫升)	340
苏通培养基+胆碱 50 ”	420
苏通培养基+胆碱 100 ”	371
苏通培养基+胆碱 200 ”	304

注:此为培养 20 日之 4 瓶(每瓶含 25 毫升培养基)干菌量总和。

討 論

(一) 在结核菌营养要求的研究方面,过去对于类脂体的作用重视不够,只是对磷脂质等较复杂物质作了一些研究。由于这些物质的成分复杂和不恒定,难以保证每次试验的再现性与稳定性。如果深入研究结构简单、成分恒定的衍化类脂体,对于阐明分枝杆菌的脂类代谢将有重要意义。但是,过去对于衍化类脂体除甘油外研究较少。Dubos 及其一门对于各种脂肪酸与脂肪酸酯 Tween 作了不少工作^[1-9]。他们突出地提出脂肪酸特别是油酸的抑制生长作用,但他们发现利用牛血清白蛋白可以中和其毒性,反而显出促进生长作用^[4,6],从而提出了油酸白蛋白琼脂培养基。同时,他们又利用油酸酯 Tween 80 对结核菌的均匀培养方面作出了较大的贡献。但在他们的含 Tween 80 培养基与油酸培养基中,为了中和脂肪酸的毒性,均并用牛血清白蛋白(Bovine Plasma Albumin Fraction V),而失去了合成培养基的意义。

关于固醇类对于结核菌生长的影响,研究更少^[9-11],主要的只有 Lominski^[12] 及 Hirsch^[13] 对胆固醇的研究。但他们均是在含有复杂成分的马铃薯肉汤培养基(Lominski)或炭末培养基(Hirsch)中进行的,而且认为胆固醇在较大浓度时(0.01—0.1%)才有促进作用,这显然是受各种复杂因素的影响未能发现胆固醇本身的作用。而根据我们的实验结果证明,他们所用的浓度恰恰是对结核菌完全抑制生长的。

在有机碱性化合物的研究方面,Dubos^[7]发现神经磷脂对结核菌有促进生长作用,他认为其作用是由于中和脂肪酸的毒性和供给结核菌廿四烷酸(Lignoceric Acid)而使其利用于生长;但他报告神经磷脂中的有机碱性化合物神经氨基醇不但对生长无促进作用,反而有抑菌作用。至于胆碱的作用则研究很少,只有 Boissevain 等^[14]以及 Finlayson 等^[15]的报告,但都认为胆碱对结核菌的生长无任何作用。

根据我们的一系列试验证明:在衍化类脂体中,(1)固醇类的胆固醇以及乙甾醇、麦角醇;(2)脂肪酸中的油酸;(3)有机碱性化合物中的胆碱均对结核菌的生长具有双重作用。即量较大时起抑制作用而量较小时则反而有促进生长作用,从而肯定了衍化类脂体对于结核菌生长具有重要意义这一想法。至于上述物质彼此间的关系,尚应作进一步的研究。

(二) 在固醇类方面,胆固醇的生长促进作用不只表现于初期生长、菌膜形成以及菌量等方面,而且对微量菌以及生活力微弱菌株的作用也极为显著。乙甾醇与麦角醇对结核菌生长的影响和胆固醇基本上相同。同时著者和赖民生等^[16]对人工合成的 11 种固醇类化合物的试验证明,对结核菌生长均有抑制作用,而其中 3 种则对人型结核菌 H₃₇RV 在浓度 8 微克/毫升时完全抑制生长。因而对结核菌抗代谢物的探索方面提出了线索。

(三) 在脂肪酸方面,过去对油酸的工作较多,一般认为油酸在极微量时对结核菌还有抑菌作用。Dubos 等^[3]报告在浓度 0.1 微克/毫升时还有抑制生长作用,因此一些原因不明的抑菌现象均归咎于脂肪酸^[17]。我们的试验证明,油酸在 1 微克/毫升以上的浓度时,的确对结核菌有抑菌作用;但油酸浓度更微小时(如 0.05—0.005 微克/毫升)则不但没有抑制作用,反而呈现一定的促进生长作用,因此我们认为今后在对脂肪酸的影响问题上更必需考虑其量的问题。

(四) 胆碱是肺炎球菌生长的必需因子,一般认为它对肺炎球菌菌体成分中磷脂质的

构成是必需的化学成分。但一般成书中却把它当作维生素看待,而对其参加菌体成分中类脂体合成的作用却考虑的很少。胆碱对分枝杆菌生长的影响过去报告很少;Finlayson^[15]在研究蛋黄对结核菌生长的促进作用时,报告卵磷脂有显著的促进生长作用,而其分解产物的胆碱以及甘油磷脂则无促进作用。我们的实验结果证明:胆碱对分枝杆菌的生长均有双重作用,但其促进生长的浓度范围较宽(12.5—200 微克/毫升),而浓度再高时就逐渐开始出现抑制作用。Finlayson 等试验所用的浓度为 0.06% (即 600 微克/毫升),很可能是因为其浓度过高而未能发现其促进生长作用。

在其它碱性化合物方面,Dubos^[7]发现神经磷脂对结核菌有促进作用,而他认为其组成成分之一的碱性化合物神经氨基醇不但无促进作用反而可能有抑菌作用。但他只试验了 0.01% 浓度,是否在更低的浓度下神经氨基醇也能有促进作用,有待于今后的研究。

(五) 在试验过程中我们发现,衍化类脂体对分枝杆菌促进与抑制生长的浓度与试验菌株有一定关系。固醇类与胆碱对人型结核菌(H_3RV)、卡介苗与草分枝杆菌等的促进与抑制生长浓度基本一致,但油酸钠对人型结核菌、卡介苗的抑制浓度与鸟型结核菌有一定的差别。本试验所用菌株均为实验室保存菌株,至于对临床分离菌株特别是耐药菌株的关系,我们正在进行研究。

(六) 关于上述各种衍化类脂体在结核菌代谢中的作用,我们尚在进行一些探讨。在结核菌和卡介苗的菌体成分分析的研究中,赖郁和郑翼宗初步证明^[18]:在含有胆固醇的苏通培养基中生长的结核菌及卡介苗比在对照苏通培养基中生长的细菌,其菌体成分中的中性脂肪减少到对照的二分之一,而磷脂质却反而增加至对照的一倍,说明胆固醇对菌体成分有显著影响。郑翼宗等也初步证明胆固醇对同位素 P^{32} 渗入结核菌内有显著影响,即在含有胆固醇的培养基内生长的人型结核菌 H_3RV ,其菌体内的 P^{32} 量较对照增加约 1 倍。由此可见胆固醇对结核菌磷代谢具有密切的关系。在胆碱方面,我们观察到在含胆碱培养基上生长之菌膜颜色较白而且菲薄,与对照菌膜明显不同,可能也与其菌体成分的改变有关,关于这方面工作尚在进行中。此外我们也试验了胆固醇及胆碱直接对结核菌呼吸的影响,同时也观察了在含有胆固醇之培养基上生长的结核菌及卡介苗在呼吸上的情况,但均证明其呼吸无显著的改变。

结 论

著者曾经报告胆固醇对人型结核菌、卡介苗及草分枝杆菌等分枝杆菌的生长有双重作用,即量较大时有抑菌作用而量较小时则反而有明显的促进生长作用。我们对胆固醇对微量结核菌以及生活力微弱的结核菌的生长促进作用作了进一步的研究,并证明乙甾醇、麦角醇等固醇类均有同样的作用;同时在脂肪酸以及碱性化合物中也发现油酸以及胆碱均同样对分枝杆菌的生长有双重作用,而在一定浓度时均有显著的生长促进作用;从而提出了衍化类脂体对结核菌等分枝杆菌生长的影响的重要意义,并对其作用机制作了初步的讨论。

参 考 文 献

- [1] Dubos, R. J. and Middlebrook, G.: *Amer. Rev. Tub.*, **56**:334, 1947.
- [2] Dubos, R. J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **58**:351, 1945.

- [3] Dubos, R. J.: *Ebenda*, **63**:56, 1946.
- [4] Davis, B. D. and Dubos, R. J.: *Arch. Biochem.*, **11**:201, 1946.
- [5] Dubos, R. J.: *J. Exp. Med.* **85**:9, 1947.
- [6] Dubos, R. J. and Davis, B. D.: *Ebenda*, **83**:409, 1946.
- [7] Dubos, R. J.: *Ebenda*, **88**:73, 1948.
- [8] Cheng I-tsung: *Scientia Sinica*, **12**:1541, 1963. (郑翼宗: 微生物学报, **8**: 288, 1962)
- [9] Wynne, E. S. and Foster, T. W.: *J. Infect. Dis.*, **86**:33, 1950.
- [10] Edward, D. G. and Fitzgerald, W. A.: *J. Gen. Microb.*, **5**:576, 1951.
- [11] Rosenthal, S. R.: *Amer. Rev. Tub.*, **35**:703, 1937.
- [12] Lominski, I.: *Compt. Rend. Societe Biol.*, **105**:601, 1930.
- [13] Hirsch, J. G.: *Amer. Rev. Tub.*, **70**:955, 1954.
- [14] Boissevain, C. H. and Schulz, H. W.: *Amer. Rev. Tub.* **38**:624, 1958.
- [15] Finlayson, M. K.: *J. Path. Bact.*, **58**:88, 1946.
- [16] 郑翼宗,高东哲,赖民生: 北京结核病研究所学报, (4): 14, 1964.
- [17] Nieman, C.: *Bacteriol. Rev.*, **18**:1, 1954.
- [18] 赖郁,郑翼宗: 北京微生物学会 1962 年年会学术论文摘要, 57 页, 1962 年.

EFFECT OF DERIVED LIPIDS ON THE GROWTH OF MYCOBACTERIA

CHENG I-TSUNG AND KAO TONG-TSE

(Peking Tuberculosis Research Institute, Peking)

In the classification of the lipids, it may be divided as simple lipids, compound lipids and derived lipids. The derived lipids include the substances derived from the preceding groups: 1) fatty acids of various series, 2) alcohols, including glycerol and cholesterol, 3) bases, such as choline, sphingosine and colamin.

It will be shown in the present paper that the addition to Sauton media of several kinds of derived lipids markedly stimulates the growth of Mycobacteria.

In 1962 the authors reported that cholesterol possessed a dualistic effect on the growth of *Mycobacterium tuberculosis*, BCG and *M. phlei*. It was found that concentrations varying from 25 γ to 50 γ per ml showed varying degrees of inhibition, whereas 100 γ per ml completely inhibited the growth. On the other hand it is noteworthy that when 5 γ per ml of cholesterol were added to the basic medium marked stimulatory effect was seen on the initial growth, pericle formation and the yield of bacilli.

Further studies were carried out and the enhancing effects on the initiation of growth from small inocula and bacilli of reduced vitality were also demonstrated.

In other sterols, fatty acids and bases possessing this dualistic effect on the growth of Mycobacteria were found to be β -sitosterol and ergosterol, sodium oleate and cholin respectively.

All of these derived lipids showed marked stimulatory effect at a certain low concentration.

It is noteworthy that the enhancement of growth can be observed with sodium oleate without the addition of serum albumin to the basic medium provided that the concentration is lowered to 0.05—0.005 γ per ml.

The authors thus presented the important role of all the derived lipids on the growth of Mycobacteria and also discussed the mechanism of their activities from the point of views of metabolism.