

人下肠道中拟杆菌属的探讨

熊 德 鑫

(江西省科学院,南昌)

用平板活菌计数法分析了 30 名正常成人粪便标本的 4 类菌群,结果表明,每克(湿重)标本中的需氧菌数(以 Log 计,均数 \pm 2 标准差,下同)为 8.47 ± 1.32 , 肠杆菌数为 7.75 ± 1.34 , 肠球菌数为 7.29 ± 1.38 , 拟杆菌数为 10.71 ± 1.08 。同时还分析了 21 名腹泻患者的粪便标本,得到需氧菌数为 9.01 ± 1.06 , 肠杆菌数为 8.39 ± 0.94 , 肠球菌数为 6.36 ± 1.72 , 拟杆菌数为 10.15 ± 0.68 。其中 5 名菌痢患者的粪便标本中福氏痢疾杆菌数为 7.66 ± 0.60 , 拟杆菌和肠球菌数明显减少。与正常人的相比,21 名腹泻患者粪便标本中需氧菌、肠杆菌数增加 ($p < 0.05$), 而肠球菌、拟杆菌数减少 ($p < 0.01$), 差异显著。对分离的 251 株革兰氏阴性无芽孢厌氧杆菌的代谢产物,进行了气液相色谱分析,确定 4 株为梭杆菌属菌株,247 株为拟杆菌属菌株(15 个种),正常与腹泻时拟杆菌属中种的差异不显著。

关键词 拟杆菌属

拟杆菌属是人体肠道正常菌群的主要成员之一,占肠菌群所有分离活菌的 32%。它对人的营养,免疫,生长发育,代谢,肿瘤发生,以及衰老等都具有重要的影响。此外,在临床检材中拟杆菌占全部厌氧菌感染总数的 35%。还可将 R 因子传递给其它病原菌,造成宿主的严重感染。因此,人下肠道中拟杆菌属的研究,在人体肠道菌群的生态学和临床医学方面具有一定意义。

材 料 和 方 法

(一) 标本

30 名正常人的新鲜粪便标本;21 名早期腹泻,一个月内未曾服药者的粪便标本。

(二) 稀释、接种

称量标本 0.5g,以 10 倍稀释。取 10^{-2} 、 10^{-4} 稀释的浆液各 0.1ml,分别接种 EMB,血琼脂平板,腹泻病人标本加用 SS 平板。并用 10^{-1} 、 10^{-4} 、 10^{-7} 稀释度接种肠球菌选择性平板(即 EC 平板), 10^{-1} 、 10^{-8} 稀释度接种至拟杆菌选择性平板(即 NBGT 平板)。

(三) 培养、计数

用 EMB、血琼脂、SS、EC 平板按常规作需氧培养,24—28 小时后平板活菌计数,并分纯和鉴定。NBGT 平板以钢丝绒或 Gas-Pak 法行厌氧培养,也用平板活菌计数,并从原始培养的不同形态特征的菌落中,各挑取 3—5 个菌落,接种非选择性厌氧血平板(即 EG 平板),进行第二代厌氧培养和需氧对照。如两者均生长则为兼性菌,而仅厌氧培养生长的为厌氧菌。

(四) 厌氧菌的鉴定

按常规方法,并用从日本(光岡知足实验室)引进的已知拟杆菌菌株进行对照实验。

结 果

(一) 正常成人每克粪便标本中 4 类活菌数(以 Log 计,下同)

需氧菌为 8.47 ± 1.32 (分离率 100%,下同),肠杆菌为 7.75 ± 1.34 (100%),肠球菌为 7.29 ± 1.38 (87%),拟杆菌为 $10.70 \pm$

本文于 1983 年 8 月 19 日收到。

承刘秉阳教授指导和张旭帆、李家宏、谢秀丽等同志的帮助,特此一并致谢。

1.08(100%)，厌氧菌与需氧菌(包括兼性菌)之比可达 1,000:1 以上，人体肠道菌群中主要是厌氧菌，其中占多数的是无芽孢厌氧杆菌如拟杆菌。

(二) 腹泻和菌痢病人每克粪便标本中活菌数(表 1)

腹泻病人的肠球菌和拟杆菌减少，需氧菌和肠杆菌增加，出现了菌群的改变。菌痢病人检出福氏痢疾杆菌(7.66 ± 0.60)，肠球菌和拟杆菌减少更明显，表明菌痢时下肠道出现了菌交替症的现象。

(三) 厌氧菌的鉴定

51 份粪标本中共分离到 251 株革兰氏阴性无芽孢厌氧杆菌，其代谢产物经 GLC 分析表明，其中 4 株主要产生丁酸，结合形态和其他性状确定属于梭杆菌属(*Fusobacterium*)。其余 247 株主要产生琥珀酸、乙酸、丙酸、甲酸等，有的还伴有丁酸、异戊酸等，结合形态和其他性状确定属于拟杆菌属(*Bacteroides*)。

(四) 拟杆菌属中种的鉴定结果

从标本中检出的拟杆菌经鉴定分属于以下 15 个种：普通拟杆菌(*B. vulgatus*)、脆弱拟杆菌(*B. fragilis*)、吉氏拟杆菌(*B. distasonis*)、多形拟杆菌(*B. thetaiotaomicron*)、卵形拟杆菌(*B. ovatus*)、单形拟杆菌(*B. uniformis*)、埃氏拟杆菌(*B. eggerthii*)、内脏拟杆菌(*B. splanchnicus*)、多酸拟杆菌(*B. multiacidus*)、栖瘤胃拟杆菌(*B. ruminicola*)、口腔拟杆菌(*B. oralis*)、多毛拟杆菌(*B. capillosus*)、凸状拟杆菌(*B. convexus*)、趋巨拟杆菌(*B. hypermegas*)和非解糖拟杆菌(*B. asaccharolyticus*)。人下肠道中拟杆菌属最常见的种是脆弱拟杆菌群 5 个种中的 4 个，即：普通拟杆菌、脆弱拟杆菌、吉氏拟杆菌和多形拟杆菌。腹泻病人与正常人相比，标本中分离的拟杆菌属的种两组间无明显差别(表 2)。

讨 论

从人粪便中分离出的菌群可以代表下肠道菌群。关于人下肠道菌群曾有报道，

表 1 正常成人与成人腹泻病人及痢疾病人之间肠菌群比较

Table 1 Comparison of some intestinal bacterial flora in normal adults with in diarrheal and dysenteric patients

菌种 Specie	(1) 正常成人(30 例) Normal persons (30 cases)	(2) 腹泻病人(21 例) Diarrheal patients (21 cases)	(3) 菌痢病人(5 例) Dysenteric patients (5 cases)	显著性检验 Test of significance	
				(1)+(2)	(1)+(3)
需氧菌 (杆菌和球菌) Aerobe (bacilli and cocci)	8.47 ± 1.32 (100)*	9.01 ± 1.06 (100)	9.11 ± 0.56	$p < 0.01$	$p < 0.05$
肠杆菌(兼性菌) Enterobacteriaceae (facultative aerobes)	7.75 ± 1.34 (100)	8.39 ± 0.94 (100)	8.47 ± 0.68	$p < 0.01$	$p < 0.05$
肠球菌(兼性菌) Enterococci (facultative aerobes)	7.29 ± 1.38 (86.7)	6.36 ± 1.72 (96.7)	5.56 ± 0.50	$p < 0.01$	$p < 0.05$
拟杆菌(厌氧菌) <i>Bacteroides</i> (anaerobe)	10.71 ± 1.08 (100)	10.15 ± 0.68 (100)	9.77 ± 0.52	$p < 0.01$	$p < 0.05$

* 分离率 isoiation rate

表 2 正常成人与腹泻病人分离出的拟杆菌种的比较

Table 2 Comparison of *Bacteroides* species isolated from normal adults with those from diarrheal patients

菌 种 Species	(1) 正常成人(30 例) Normal adults (30 cases)		(2) 腹泻病人(21 例) Diarrheal patients (21 cases)		(1)和(2)菌类数变化的 卡方检验 X ² -test of No. of vari- ous bacteria between (1) and (2)
	阳性数 positive number	阳性率 positive rate %	阳性数 positive number	阳性率 positive rate%	
普通拟杆菌 (<i>B. vulgatus</i>)	30	100	21	100	$p > 0.05$
脆弱拟杆菌 (<i>B. fragilis</i>)	21	70	15	71.4	$p > 0.05$
吉氏拟杆菌 (<i>B. distasonis</i>)	16	53.3	13	61.9	$p > 0.05$
多形拟杆菌 (<i>B. thetaotaomeron</i>)	11	36.7	13	61.9	$p > 0.05$
多酸拟杆菌 (<i>B. multiaacidus</i>)	10	33.3	7	33.3	$p > 0.05$
单形拟杆菌 (<i>B. uniformis</i>)	4	13.3	6	28.6	$p > 0.05$
凸状拟杆菌 (<i>B. convexus</i>)	4	13.3	1	4.8	$p > 0.05$
内脏拟杆菌 (<i>B. splanchnicus</i>)	2	6.7	6	28.6	$p > 0.05$
栖瘤胃拟杆菌 (<i>B. ruminicola</i>)	2	6.7	2	9.5	$p > 0.05$
卵形拟杆菌 (<i>B. ovatus</i>)	1	3.3	1	4.8	$p > 0.05$
多毛拟杆菌 (<i>B. capillosus</i>)	2	6.7	0	0	$p > 0.05$
口腔拟杆菌 (<i>B. oralis</i>)	3	10	0	0	$p > 0.05$
超巨拟杆菌 (<i>B. hypermegas</i>)	1	3.3	0	0	$p > 0.05$
非解糖拟杆菌 (<i>B. asaccharolyticus</i>)	0	0	1	4.8	$p > 0.05$
埃氏拟杆菌 (<i>B. eggerthii</i>)	5	16.7	3	14.8	$p > 0.05$
总计 Total	112		89		

每克粪标本(湿重)中活菌数(以 Log 计): 需氧菌为 7.20—9.92, 肠杆菌为 6.40—8.70, 肠球菌为 5.70—7.90, 拟杆菌为 9.10—11.20。急性腹泻时, 肠菌群中拟杆菌减少, 肠杆菌增加。菌痢时, 痢疾杆菌增殖, 肠杆菌也增殖, 易出现菌交替症。本实验结果与上述资料相引证。这种菌群间的拮抗作用, 我国曾有报道, 在试管和豚鼠的角膜实验中证实肠球菌对志贺氏、福氏等痢疾杆菌具有拮抗作用。小泽敦在流动培

养法和无菌动物实验中都证实, 菌痢时, 外袭致病菌的定居、增殖和入侵会导致下肠道中拟杆菌、肠球菌的减少, 菌群改变或发生菌交替症现象。因此, 此类病除用抗生素治疗外, 菌群调整疗法也不可忽视。

下肠道中拟杆菌属中种的分离情况, 国外已有较多的报道, 他们发现最常见的种是普通拟杆菌、吉氏拟杆菌、多形拟杆菌、脆弱拟杆菌、可变拟杆菌(*B. variabilis*)和埃氏拟杆菌, 常见的种包括单形拟杆菌

等13个种,我们的结果与他们的相似。比较人在腹泻和正常时分离的拟杆菌,发现两者之间种的差异并不显著($p > 0.05$)。表明拟杆菌作为肠道菌群的主要成员,无论是在属还是种的水平上是相对稳定的。这种稳定性与这些常住菌居于宿主肠道环境中长期与寄主共存和良好适应有关,还可能这些菌与宿主肠粘膜具有共同抗原,而不被宿主的免疫系统所“识别”和“排斥”。这个机理在拟杆菌属的亚种或血清型的水平上进行调查,值得深入探讨。

参 考 文 献

[1] Macy, J. M.: *Am Rev. Microbiol.*, **33**: 363—

- 589, 1979.
 [2] 光岡知足: 腸内菌の世界, 葺文出版社, 東京, 1981。
 [3] 上野一恵他: 临床病理(特集), **37**: 49, 1979。
 [4] 康白: 中华流行病学杂志, **1**(2): 126—129, 1980。
 [5] Duerden, B. I. et al.: *J. Med. Microbiol.*, **13** (1): 69, 1980。
 [6] 光岡知足: 腸内細菌の話, 第6版, 岩波書店, 東京, 1980。
 [7] 坂崎利一: 最新医学, **33**(10): 2088, 1978。
 [8] Fincgold, S. M.: *J. Med.*, **123**: 483—484, 1975。
 [9] 魏曦: 中华医学杂志, **48**(8): 512, 1962。
 [10] Lambe, Jr. D. W. et al.: *Anaerobic Bacteria Selected Topics*, New York, Plenum Press, p. 29, 1980.

SURVEYING OF *BACTEROIDES* IN HUMAN LOWER INTESTINE

Xiong Dexin

(Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang)

Thirty human fecal specimens collected from 30 normal adults were examined for aerobes, bacteria of Enterobacteriaceae, enterococci and *Bacteroides* by plate count. The numbers of living bacteria in log unit per gram specimen (moist weight) were 8.47 (mean) ± 1.32 ($2 \times SD$) for aerobes, 7.75 ± 1.34 for bacteria of Enterobacteriaceae, 7.29 ± 1.38 for enterococci and 10.71 ± 1.08 for *Bacteroides* respectively. Bacterial counts of specimens collected from 21 diarrheal patients were 9.01 ± 1.06 (aerobes), 8.39 ± 0.94 (Enterobacteriaceae), 6.36 ± 1.72 (enterococci) and 10.15 ± 0.68 (*Bacteroides*). Among the specimens mentioned above, five dysentery patients specimens showed 7.66 ± 0.60 *Shigella flexneri* and less *Bacteroides* than the former and enterococci. These 21 diarrheal patients had more aerobes and bacteria of Entero-

bacteriaceae than those of normal persons ($p < 0.05$), and less enterococci and *Bacteroides* ($p < 0.01$). These differences apparently appeared in surveying the species of non-spore forming Gram negative anaerobic rods. The various fatty acids components in metabolic products of 251 strains were analysed with gas-liquid chromatography. Among them 4 strains were *Fusobacterium* and 247 strains were *Bacteroides*. The latter were identified to the level of species of *Bacteroides*, 15 in total numbers. Comparing the species isolated from the diarrheal patients with that from the normal, the difference was found only in minor species and was not significant statistically ($p > 0.05$).

Key word

Bacteroides