



基于 16S rRNA 基因测序技术分析猪链球菌 2 型感染 BALB/c 小鼠粪便样本中微生物的变化

王小敏, 徐鹏*, 饶传, 王微微, 杨秋丽, 熊久先

遵义医科大学微生物学教研室, 贵州 遵义 563000

摘要:【目的】通过研究粪便样本的微生物特点间接探讨猪链球菌 2 型感染 BALB/c 小鼠后肠道微生物的变化。【方法】本研究采用 Illumina MiSeq 测序技术, 测定了健康小鼠和猪链球菌 2 型感染小鼠粪便中微生物 16S rRNA V3-V4 区序列, 并对群落结构和多样性进行了比较分析。【结果】多样性分析表明, 感染组和对照组小鼠的粪便中微生物多样性和群落组成均不相同, 存在较大的差异, 感染组展示了较高的物种丰度和种群差异性。在门水平上, 相对于对照组, 感染组增加厚壁菌门和拟杆菌门等有益微生物比例, 以提高机体免疫力, 但也同时增加了变形杆菌等条件致病菌的比例, 增加了疾病发生的可能性。在科水平上, 感染组和对照组优势菌均含有瘤胃菌科, 但其所占细菌总序列的比例存在较大的差异, 分别占感染组和对照组细菌总序列的 36.58% 和 11.02%。在属水平上, 感染组和对照组的优势菌属类别及占总微生物比例存在显著的差异。感染组主要以瘤胃菌科 UCG-002 和乳酸杆菌属为优势菌属, 对照组以螺旋体科 GWE2-31-10 和密螺旋体属 2 为优势菌属。综上, BALB/c 小鼠感染猪链球菌 2 型后存在肠道微生态失调。【结论】通过本研究, 不仅对猪链球菌 2 型感染后小鼠的粪便微生物多样性和组成种类有了一定的认识, 而且为今后筛选有益微生物、通过调整微生物治疗猪链球菌 2 型感染提供了依据。

关键词: 猪链球菌 2 型, 粪便微生物, 16S rRNA 基因测序技术

猪链球菌(*Streptococcus suis*, SS)是引起猪链球菌病的病原菌, 也是一种重要的人兽共患病原菌, 能够引起人和猪的败血症、脑膜炎和中毒性

休克综合征等严重性疾病, 严重威胁公共卫生安全^[1-2]。猪是 SS 的主要宿主, 研究表明, SS 的主要定殖和进入位点是猪的上呼吸道, 还可定殖于

基金项目: 国家自然科学基金(31860706); 贵州省卫生计生委科学技术基金(Gzwjkj2018-1-011); 遵义医学院博士科研启动资金(F-872); 遵义医学院大学生创新创业训练计划(遵医 201751053)

*通信作者。E-mail: PengXu_ZMU@163.com

收稿日期: 2019-08-17; 修回日期: 2019-10-16; 网络出版日期: 2019-10-21

断奶仔猪的胃肠道,所以胃肠道也成为 SS 感染的次要部位。根据猪链球菌荚膜多糖抗原种类的不同,SS 可被分为 33 个血清型,而猪链球菌 2 型(SS2)是流行最广、检出率最高、毒力最强的血清型,也是在全世界猪和人类病例中分离最常见的血清型^[2]。SS2 可造成人和猪的细菌性脑膜炎,引起人和猪的感染和死亡,一般病猪在使用抗生素后病情能够得到有效控制,若未使用抗生素,致死率可能高达 20%^[3-4]。人感染愈后会留下特异性后遗症,如永久性听力受损或者前庭功能障碍^[5-6]。

人体携带着大量的微生物,包括细菌、病毒等,主要定殖在皮肤以及人体与外界相通的腔道中,构成了复杂的“微生态系统”。肠道定居着数量最为庞大的微生物群,包含 1200 多种细菌,细胞数量约 3.8×10^{13} 个,是人体细胞总数目的 10 倍,是人体最复杂的“微生态系统”^[7-8]。肠道微生物通过复杂的动态平衡维持机体健康,影响人体的生理功能等,曾被称为“被遗忘的功能器官”^[9]。本研究拟从粪便样本微生物的角度间接探讨猪链球菌 2 型对小鼠肠道微生物的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

购自长沙天勤生物技术有限公司的 12 只 3 周龄的 SPF 级、体重(13±1) g 的 BALB/c 雌性小鼠作为实验动物。

1.2 菌株

猪链球菌 2 型菌株 SS2-1^[10]由江苏省农业科学院兽医研究所分离、保存和馈赠。

1.3 实验分组

SPF 级 BALB/c 雌性小鼠自购回后,随机分为

对照组和感染组,每组各 6 只,适应性培养 2 d。对照组小鼠腹腔注射 200 μ L ddH₂O,猪链球菌 2 型感染组腹腔注射 200 μ L 含有 4×10^7 CFU 的 SS2-1。小鼠饲养条件干净整洁,室温约 20 °C。

1.4 标本采集

采用人工采集法,每天上午 8 点在超净台中采集小鼠的新鲜粪便于无菌冻存管中,所有样品立即于 -80 °C 保存备用。

1.5 小鼠精神状态

每天对小鼠摄食量、饮水量、行动活跃程度、体重、皮毛光泽度以及小鼠死亡进行观察和记录,连续观察 1 周。

1.6 测序和数据分析

将攻菌后第 7 天采集的小鼠粪便(如遇小鼠死亡,则取死亡当日上午 8 点采集的粪便),组内每 2 只小鼠的粪便进行混样,最后空白对照组(DZ)样本标记为 1_C、2_C 和 3_C,猪链球菌 2 型感染组(YG)样本标记为 1_11_2_2、1_11_2_3 和 1_11_3_2。所有样品干冰保存送至成都凯来博生物科技有限公司进行 16S rRNA 的测序和比较分析样品中微生物群落结构、组成和差异。

2 结果和分析

2.1 小鼠致病性实验

含有 4×10^7 CFU 的 SS2-1 菌液腹腔注射 BALB/c 小鼠,注射后第 2 天小鼠摄食量、饮水量、行动活跃程度和皮毛光泽度都降低,第 3 天和第 5 天分别有 2 只和 1 只小鼠死亡,存活的小鼠以及对照组小鼠观察至第 7 天实验结束时无明显发病症状和体征。

2.2 总 DNA 的质检结果

对测序样本的总 DNA 进行质量检测, 浓度及纯度均符合 Illumina MiSeq 平台测序要求。

2.3 粪便样本细菌微生物序列及多样性分析

2.3.1 细菌微生物 OTUs 比较: Illumina MiSeq 平台测序结果获得后, 对所有序列按 97% 的相似度进行 OTU 聚类, 对样品进行 OTU 统计, 对照组 (DZ) 样品共获得 1321 个, 感染组 (YG) 样品共获得 1761 个。两个样品共享 OTU 为 1201 个 (图 1)。

2.3.2 微生物群落 Alpha 多样性分析: Shannon、Simpson、Chao1 和 PD 指数可用于反映样本微生物群落的丰富度和多样性的参数。由图 2 可知,

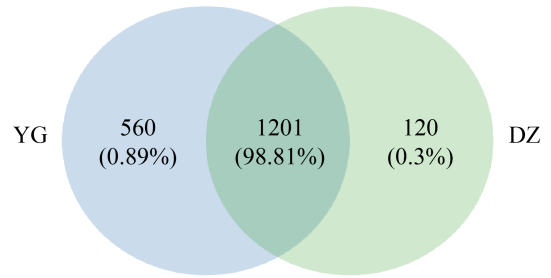


图 1. 猪链球菌 2 型感染对 BALB/c 小鼠粪便微生物基因 OTU 分布的影响

Figure 1. Effects of *Streptococcus suis* type 2 on the distribution of fecal microflora gene OTU of BALB/c mice. The number in the figure is the number of OTUs. The data in parentheses are the percentage of the number of corresponding OTUs in the total number of OTUs. YG: SS2-1 treated group; DZ: negative control group.

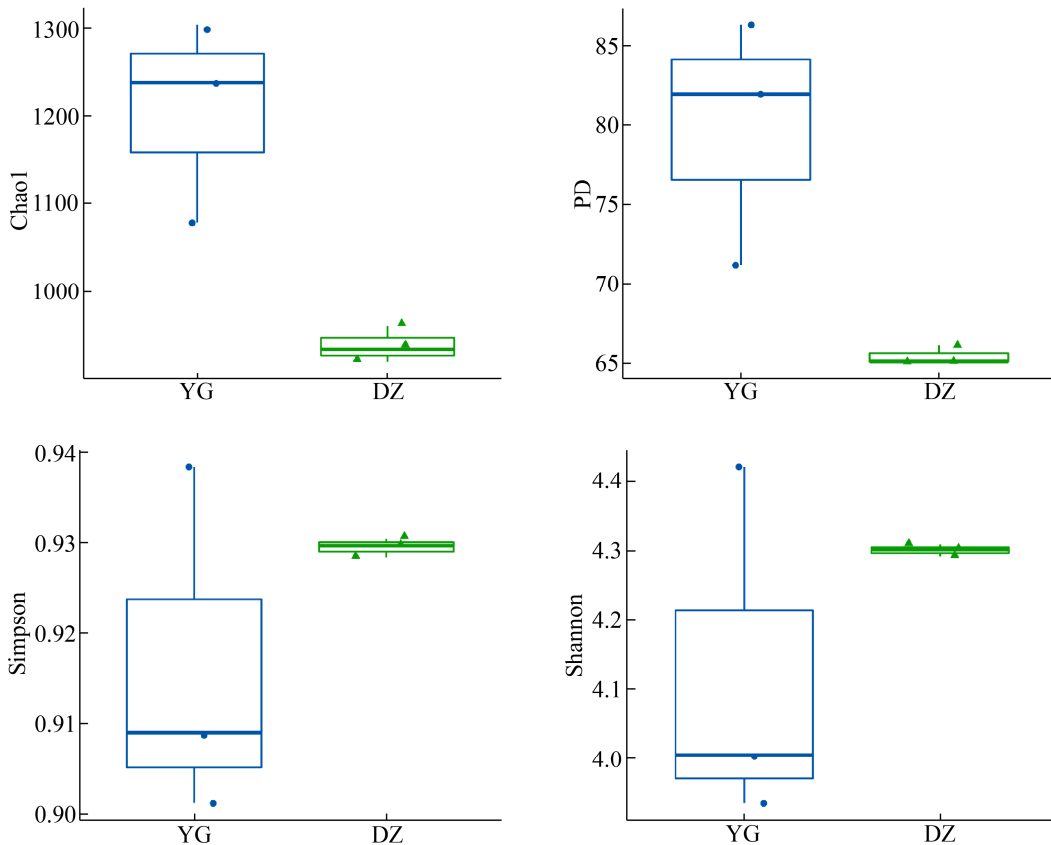


图 2. 猪链球菌 2 型感染对 BALB/c 小鼠粪便微生物多样性指数

Figure 2. Alpha diversity index of fecal microflora of BALB/c mice which infected with *Streptococcus suis* type 2. The abscissa is the name of the group and the ordinate is the value of the corresponding index. Pairwise comparisons using wilcox.test. YG: SS2-1 treated group; DZ: negative control group.

YG 组的 Chao1 和 PD 指数显著高于 DZ 组, 而 DZ 组的 Shannon、Simpson 指数高于 YG 组, 但是不显著。这也说明猪链球菌 2 型感染组和空白对照组粪便微生物群落丰富度和种群有差异, 其中猪链球菌 2 型感染组组内微生物群落丰富度和种群有较大差异, 细菌多样性高。

2.3.3 微生物群落 Beta 多样性分析: Beta 多样性用于比较不同样本微生物群落构成的差异。距离矩阵表示群落中每 2 个样本间的差异, Distance 值越接近 0, 则表示这两个样品在微生物群落多样性方面存在的差异越小。感染组和对照组的 Beta 多样性分析见图 3, 6 个样本共聚为两大分支, 空白对照组 3 个样本之间的微生物群落结构相似度较高, 共同聚集在上方。感染组 3 个样本之间微生物群落构成相似度相对对照组较低, 聚集在下方, 这也说明猪链球菌 2 型感染可以改变 BALB/c 小鼠粪便正常微生物的构成、分布和多样性。

2.3.4 肠道细菌在门水平上的结构分析: 从门水平上分析, 由图 4 可以看出感染组和对照组样品中所

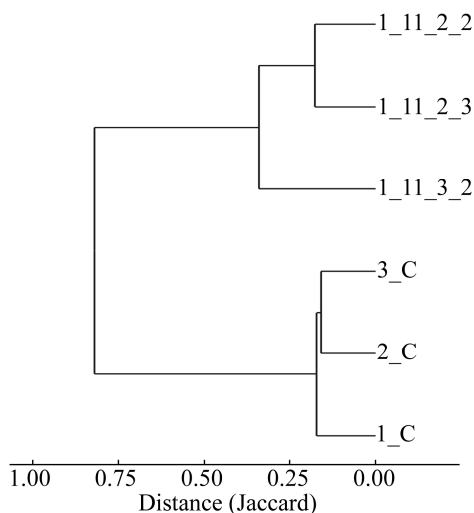


图 3. BALB/c 小鼠粪便微生物群落聚类分析图
Figure 3. Bacteria community structure of fecal microflora of BALB/c mice.

含的主要细菌门差异较大。按各细菌门占总细菌门比例由多到少的顺序, 感染组主要是占总菌属的 65.69% 的 *Firmicutes* (厚壁菌门)、18.00% 的 *Bacteroidetes* (拟杆菌门)、5.71% 的 *Proteobacteria* (变形杆菌门), 对照组主要为占总菌属的 32.25% 的 *Spirochaetes* (螺旋体门)、29.17% 的 *Firmicutes* (厚壁菌门)、21.82% 的 *Bacteroidetes* (拟杆菌门) 和 8.28% 的 *Euryarchaeota* (广古菌门)。由此可知, 两个组别的优势微生物及其所占的比例存在差异, 且差异显著, 差异最为显著的是厚壁菌门和螺旋体门。

2.3.5 肠道细菌在科水平上的结构分析: 图 5 为不同组别在科水平上粪便微生物的组成和结构, 科水平上共得到 10 个主要的细菌科。感染组和对照组的优势菌科存在显著的差异, 其中感染组的优势菌科是 *Ruminococcaceae* (瘤胃菌科) 和 *Lactobacillaceae* (乳杆菌科), 分别占细菌总序列的 36.58% 和 19.63%, 而对照组的优势菌科为 *Spirochaetaceae* (螺旋体科) 和 *Prevotellaceae* (普雷沃氏菌科), 分别占细菌总序列的 32.25% 和 11.60%。

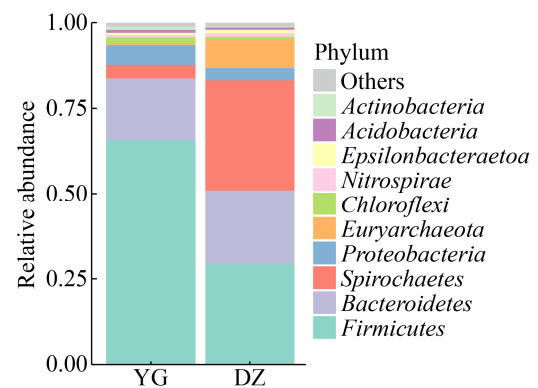


图 4. 不同处理组门水平上的微生物结构
Figure 4. Microbial structure at phylum level in different treatment groups. The abscissa is the name of the group and the ordinate is the relative abundance. Different colors represent different bacteria community. YG: SS2-1 treated group; DZ: negative control group.

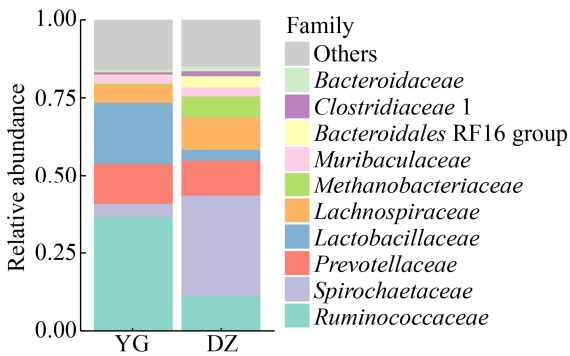


图 5. 不同处理组科分类水平上的微生物结构
Figure 5. Bacteria community structure of different treatment groups at family level. The abscissa is the name of the group and the ordinate is the relative abundance. Different colors represent different bacteria community. YG: SS2-1 treated group; DZ: negative control group.

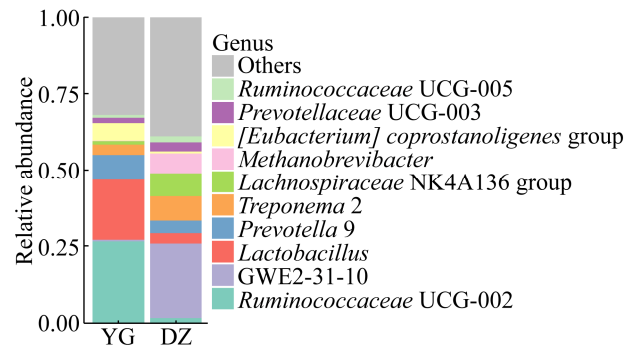


图 6. 不同处理组属分类水平上的微生物结构
Figure 6. Bacteria community structure of different treatment groups at genus level. The abscissa is the name of the group and the ordinate is the relative abundance. Different colors represent different bacteria community. YG: SS2-1 treated group; DZ: negative control group.

2.3.6 肠道细菌在属水平上的结构分析:属水平上, 丰度最高的 10 个属为 *Lactobacillus* (乳酸杆菌属)、*Ruminococcaceae* UCG-002 (瘤胃菌科 UCG-002)、*Prevotella* 9 (普雷沃氏菌属 9)、*Spirochaetaceae* GWE 2-31-10 (螺旋体科 GWE2-31-10)、*Treponema* 2 (密螺旋体属 2)、*Lachnospiraceae* NK4A136 group (毛螺旋菌科的 NK4A136 组)、*Methanobrevibacter* (甲烷短杆菌属)、*Eubacterium coprostanoligenes* group (产粪甾醇真细菌)、*Ruminococcaceae* UCG-005 (瘤胃菌科 UCG-005)和 *Prevotellaceae* UCG-003 (普雷沃氏菌科 UCG-003)。由图 6 可知, 感染组和对照组的优势菌属类别及占总微生物比例存在显著的差异, 其中感染组的优势菌属为占比 26.49%的 *Ruminococcaceae* UCG-002 和 19.64%的 *Lactobacillus*, 对照组的优势菌属为占比 24.28%的 *Spirochaetaceae* GWE 2-31-10 和 7.96%的 *Treponema* 2。

2.3.7 聚类热图(Heatmap 图)分析:Heatmap 图以颜色代表二维矩阵或表格中的数据大小及所占比例多少, 从而呈现微生物群落组成和结构, 由此反映不同组别或不同样品在各分类水平上群落组成的相似性和差异性。由图 7 得知, 感染组和对

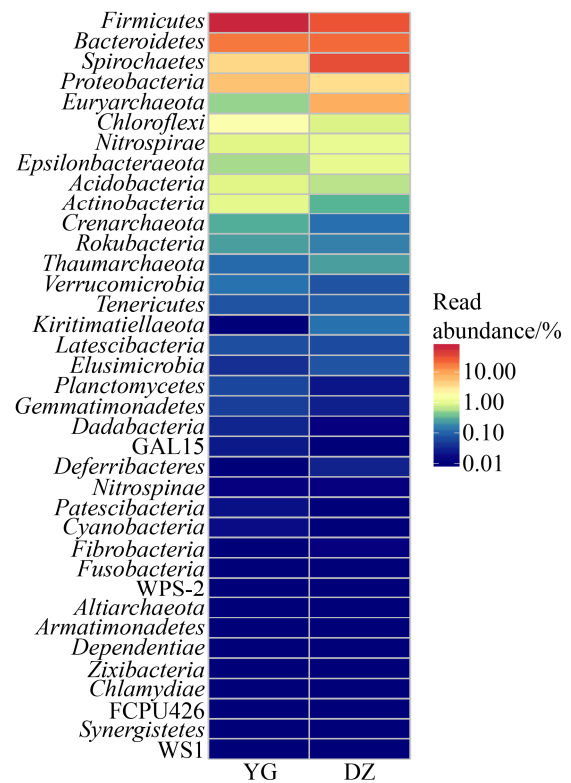


图 7. 在门水平上的热图
Figure 7. Heatmap graph at phylum level. Hierarchical clustering heatmap of the significant differentially expressed genes between YG group and DZ group. Red denotes increased expression; blue denotes decreased expression. YG: SS2-1 treated group; DZ: negative control group.

照组的优势菌属及所占比例与肠道细菌 Beta 多样性分析中门水平上的结构分析(图 4)相一致。

2.3.8 Random Forest 分析: 随机森林(Random Forest)分析中, Mean Decrease Gini 越小表示 Gini 指数越大, 表示该基因在所有基因中的表达差异

越大, 其重要性就越大。图 8 展示了前 40 个重要的基因, 其中链球菌位居第 20 位, 其 Mean Decrease Gini 值为 0.04533。可见, 猪链球菌 2 型在其致病过程中, 通过影响其他微生物, 导致机体内环境失调从而致病。

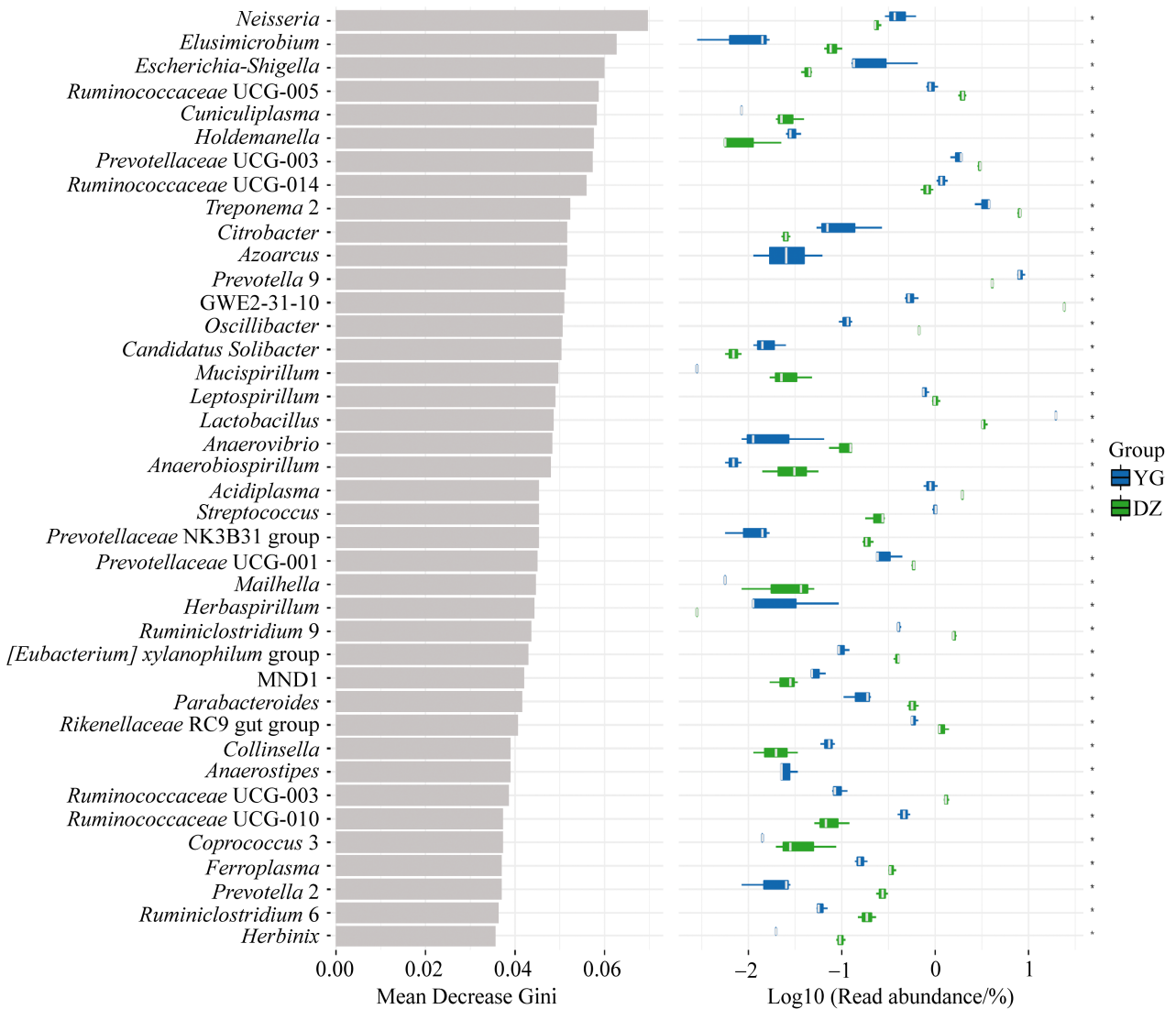


图 8. Random Forest 分析

Figure 8. Analysis of genes based on Random Forest. The abscissa of the left chart is the average decrease in Gini index over all trees in the Random Forest, and the ordinate is the the classification information of the genus. The right figure is the box diagram of the abundance of differen groups. YG: SS2-1 treated group; DZ: negative control group.

3 讨论

几乎所有的多细胞生物都生活在复杂而又密切联系的环境中, 人也不例外。人体体表以及体内居住着大量的细菌、古细菌、病毒和单细胞真核生物, 这些微生物通常与人体共存, 被称为正常微生物群^[11-12]。寄生于肠道的细菌高达 10 万亿个, 这些肠道微生物群在人类健康中发挥着重要的作用, 影响着人体的消化能力、免疫力等, 与代谢性疾病、胃肠道紊乱、感染性疾病、癌症等密切相关^[13-14]。因而, 肠道微生物可能有着非常深远的临床意义, 尤其是重症监护室里大部分使用抗生素治疗的患者, 这些抗生素可能对患者的肠道微生物具有普遍性和长期性的影响^[15-16]。那么肠道微生物在链球菌尤其是猪链球菌 2 型感染致病过程中又有什么作用?

肠道微生物可以提供局部黏膜免疫, 是全身免疫系统的重要调节因素, 而局部黏膜免疫在抗链球菌感染过程中发挥着重要的作用。研究表明, 将 C57BL/6 小鼠的肠道微生物清除, 通过滴鼻使小鼠感染肺炎链球菌, 然后进行活体粪便微生物移植(fecal microbiota transplantation, FMT)实验, 检测炎症和肺泡巨噬细胞全基因组反应参数; 研究发现与对照组相比, 肠道微生物在肺炎链球菌感染过程中能够增强细菌的传播、炎症反应、器官损伤和感染小鼠死亡率, 是一种保护介质; 肠道微生物可加强原代肺泡巨噬细胞的功能, 因而在细菌感染中, 可以通过肠-肺轴开发新的治疗策略^[17]。

猪链球菌通常定殖在机体的口咽部和胃肠道黏膜表面, 而黏膜构建了物理和免疫屏障保护机体免受病原菌入侵, 因而, 猪链球菌和人体之间

的内环境失衡是猪链球菌定殖的条件。为了揭示机体感染猪链球菌 2 型后肠道微生物的差异, 本研究采用高通量测序对感染猪链球菌 2 型(YG 组)和未感染猪链球菌 2 型(DZ 组)的小鼠粪便的微生物组成和多样性进行了测定和分析。研究发现, YG 组和 DZ 组小鼠粪便的微生物多样性和群落组成均不相同, 存在较大的差异。YG 组的 Chao1 和 PD 指数显著高于 DZ 组, YG 组展示了较高的物种丰度和种群差异性。DZ 组微生物群落结构相似度较高, 共同聚集在上方, 而 YG 组小鼠肠道正常微生物的构成、分布和多样性均发生改变, 其微生物群落构成相似度相比对照组较低, 聚集在下方。在门水平上, 两个组别的优势微生物及其所占的比例差异显著, 链球菌感染后小鼠自身增加厚壁菌门和拟杆菌门等有益微生物比例, 以增强机体免疫力, 发挥肠道免疫屏障的功能; 然而, 链球菌感染后又同时增加了变形杆菌等条件致病菌的比例, 增强了疾病发生的可能性; YG 组在攻菌后第 3 天和第 5 天分别有 2 只和 1 只小鼠死亡, 这也间接说明链球菌感染后影响了小鼠肠道微生物的多样性和构成, 肠道微生物在疾病的发生和发展中发挥着双刃剑的作用, 最终取决于微生物间的微生态平衡和失调。在科水平上, YG 组和 DZ 组在 10 个主要优势菌科上均存在显著的差异, 其优势菌均含有 *Ruminococcaceae* (瘤胃菌科); 但其所占细菌总序列的比例存在较大的差异, 分别占 YG 组和 NC 组细菌总序列的 36.58% 和 11.02%。在属水平上, YG 组和 DZ 组的优势菌属类别及占总微生物比例存在显著的差异, 其中感染组的优势菌属为占比 26.49% 的 *Ruminococcaceae* UCG-002 (瘤胃球菌科 UCG-002) 和 19.64% 的 *Lactobacillus* (乳酸杆菌属), 对照组

的优势菌属为占比 24.28%的 *Spirochaetaceae* GWE 2-31-10 (螺旋体科 GWE2-31-10)和 7.96%的 *Treponema 2* (密螺旋体属 2); 可见 YG 组中有益菌属 *Ruminococcaceae* UCG-002 和 *Lactobacillus* 与对照组相比, 相对丰度和占比显著升高, 表明猪链球菌 2 型感染后, 机体自身可能通过调节肠道微生物以抵抗和延缓疾病的发生发展。本研究对链球菌感染后粪便微生物的多样性和组成种类有了一定的认识, 间接反映了肠道微生物的多样性和组成种类, 为今后筛选有益微生物、通过调整微生物治疗猪链球菌感染奠定基础。

参 考 文 献

- [1] Wertheim HFL, Nghia HDT, Taylor W, Schultsz C. *Streptococcus suis*: an emerging human pathogen. *Clinical Infectious Diseases*, 2009, 48(5): 617–625.
- [2] van Samkar A, Brouwer MC, Schultsz C, van der Ende A, van de Beek D. *Streptococcus suis* meningitis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2015, 9(10): e0004191.
- [3] Segura M. *Streptococcus suis* vaccines: candidate antigens and progress. *Expert Review of Vaccines*, 2015, 14(12): 1587–1608.
- [4] Elliott SD, Clifton-Hadley F, Tai J. Streptococcal infection in young pigs. V. An immunogenic polysaccharide from *Streptococcus suis* type 2 with particular reference to vaccination against streptococcal meningitis in pigs. *The Journal of Hygiene (London)*, 1980, 85(2): 275–285.
- [5] Kay R, Cheng AF, Tse CY. *Streptococcus suis* infection in Hong Kong. *QJM: An International Journal of Medicine*, 1995, 88(1): 39–47.
- [6] Rusemeechan S, Sribusara P. *Streptococcus suis* meningitis: the newest serious infectious disease. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 2008, 91(5): 654–658.
- [7] So D, Whelan K, Rossi M, Morrison M, Holtmann G, Kelly JT, Shanahan ER, Staudacher HM, Campbell KL. Dietary fiber intervention on gut microbiota composition in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2018, 107(6): 965–983.
- [8] Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biology*, 2016, 14(8): e1002533.
- [9] Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, Pettersson S. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*, 2012, 336(6086): 1262–1267.
- [10] Wang W, He KW, Ni YX, Lv LX, Zhou JM, Zhang XH. Adherence of *Streptococcus suis* serotype 2 to cells and analysis of transcriptional level of adhesive factors. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 26(5): 2093–2098. (in Chinese)
汪伟, 何孔旺, 倪艳秀, 吕立新, 周俊明, 张雪寒. 猪链球菌 2 型对细胞粘附作用及粘附因子转录水平分析. *西南农业学报*, 2013, 26(5): 2093–2098.
- [11] Neish AS. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*, 2009, 136(1): 65–80.
- [12] Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiological Reviews*, 2010, 90(3): 859–904.
- [13] Singh RK, Chang HW, Yan D, Lee KM, Ucmak D, Wong K, Abrouk M, Farahnik B, Nakamura M, Zhu TH, Bhutani T, Liao W. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *Journal of Translational Medicine*, 2017, 15: 73.
- [14] Hills RD Jr, Pontefract BA, Mishcon HR, Black CA, Sutton SC, Theberge CR. Gut microbiome: profound implications for diet and disease. *Nutrients*, 2019, 11(7): E1613.
- [15] Schuijt TJ, van der Poll T, de Vos WM, Wiersinga WJ. The intestinal microbiota and host immune interactions in the critically ill. *Trends in Microbiology*, 2013, 21(5): 221–229.
- [16] Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(1): 4554–4561.
- [17] Schuijt TJ, Lankelma JM, Scicluna BP, de Sousa e Melo F, Roelofs JHH, de Boer JD, Hoogendijk AJ, de Beer R, de Vos A, Belzer C, de Vos WM, van der Poll T, Wiersinga WJ. The gut microbiota plays a protective role in the host defence against pneumococcal pneumonia. *Gut*, 2016, 65(4): 575–583.

Effects of *Streptococcus suis* type 2 on the fecal microflora of BALB/c mice based on 16S rRNA high-throughput sequencing

Xiaomin Wang, Peng Xu*, Chuan Rao, Weiwei Wang, Qiuli Yang, Jiuxian Xiong

Department of Microbiology, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Abstract: [Objective] This study aims to explore the characteristics of intestinal microflora of BALB/c mice infected with *Streptococcus suis* (*S. suis*) type 2 by studying the characteristics of fecal microflora. [Methods] The V3-V4 region of 16S rRNA hypervariable genes in fecal samples of BALB/c mice infected with *S. suis* Type 2 and healthy controls were sequenced using the Illumina MiSeq platform. The microbiota composition and diversity of fecal samples were compared and analyzed. [Results] Alpha and Beta diversity showed that the fecal microflora diversity and community composition were different between the infection group and the control group. The infection group had higher bacterial diversity and microbial community richness than that of the control group. At the phylum level, compared with the control group, the infection group increased the proportion of *Firmicutes* and *Bacteroidetes* which were beneficial microorganisms to enhance the immunity of the body, but also increased the proportion of opportunistic pathogen such as *Proteobacteria*, which enhanced the likelihood of illness. At family level, *Ruminococcaceae* occurred in both groups with significantly different proportion, accounting for 36.58% and 11.02% respectively. At the genus level, *Ruminococcaceae* UCG-002 and *Lactobacillus* were dominant in the infection group, while *Spirochaetaceae* GWE 2-31-10 and *Treponema* 2 were dominant in the control group. [Conclusion] There were remarkable differences in the types and dominant bacteria between the infection group and the control group. Our results provide insights into the community and diversity of fecal microflora and foundation for screening beneficial microflora and adjusting microflora to treat *S. suis* type 2 infection in the future.

Keywords: *Streptococcus suis* type 2, fecal microflora, 16S rRNA sequencing technology

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31860706), by the Science and Technical Fund of the Health Department of Guizhou Province (Gzwjkj2018-1-011), by the Doctoral Research Initiation Fund Project of Zunyi Medical University (F-872) and by the Students' Innovation Projects of Zunyi Medical University (201751053)

*Corresponding author. E-mail: PengXu_ZMU@163.com

Received: 17 August 2019; Revised: 16 October 2019; Published online: 21 October 2019