

· 调查报告 ·

239 例老年非肠道疾病患者肠道菌群状况研究*

傅朝晖¹, 王文丽¹, 张 滨^{2△}

(1. 重庆市第三人民医院老年科, 重庆 400014; 2. 重庆医科大学公共卫生学院, 重庆 400015)

摘要:目的 了解重庆市不同年龄和不同病种非肠道老年疾病患者菌群变化规律, 探索老年疾病与肠道菌群的关系。方法 选取重庆市 239 例确诊主要 3 种非肠道老年疾病患者, 观察大便培养中 6 种主要的肠道细菌变化, 同时与 50 例非老年疾病患者进行对照。结果 在肠道菌群(肠杆菌、肠球菌、拟杆菌、双歧杆菌、乳杆菌、梭杆菌)中, 老年疾病患者与非老年患者比较除双歧杆菌外其余差异无统计学意义($P > 0.05$); 而老年糖尿病患者与非糖尿病, 双歧杆菌、乳杆菌以及双歧杆菌与肠杆菌的比值(B/E 值)显著下降($P < 0.05$), 肠杆菌明显增多($P < 0.05$); 而不同年龄段的老年人中, 70~89 岁 B/E 值显著下降($P < 0.05$)。结论 肠道菌群中, 双歧菌、乳杆菌和肠杆菌与老年糖尿病和老年年龄有关。

关键词: 肠道菌群; 老年疾病; 双歧杆菌

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.23.022

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)23-2400-02

Research on the intestinal flora of the 239 patients in the elderly non-intestinal diseases*Fu Chaohui¹, Wang Wenli¹, Zhang Bin^{2△}

(1. Department of Geriatrics, the Third People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400014, China;

2. School of Public Health, Chongqing Medical University, Chongqing 400015, China)

Abstract: Objective To learn the changing rules of the parenteral diseases flora of the old ages at different age and different diseases. Besides, survery the relations between the geriatric diseases and the intestinal floras. **Methods** Chose 239 diagnosed elderly parenteral disease patients of 3 kinds and observe the main enteric bacterium' changes, then compared to 50 non-elderly patients. **Results** For the Intestinal floras(the enterobacter, the enterococci, the bacteroids, the bifidobacteriums, the lactobacillus, the fusobacteriums), compared the geriatric patients with the non geriatric patients, the coronary heart disease with non coronary heart disease patients, the respiratory with non respiratory patients, the enterobacterias showed no significant difference($P > 0.05$); But the B/E ratio of the elderly and non-elderly diabetes mellitus patients, that of bifidobacteriums and the lactobacillus, the ratio between the bifidobacteriums and the enterobacters were decreasing obviously($P < 0.05$); the B/E was decreasing significantly in the 70-89 ages($P < 0.05$). **Conclusion** The bifidobacteriums, the lactobacillus and the enterobacters are related to the elderly diabetes mellitus and the olders' life.

Key words: intestinal flora; geriatric diseases; bifidobacterium

肠道已知的 500 余种细菌构成了肠道微生态, 与人体的营养、生物拮抗、免疫、抗肿瘤和防止衰老有关^[1]。老年疾病本质是与人体微生态失衡有关。本研究了解本地区老年人的肠道微生态的状况, 探索与疾病和寿命的关系, 为老年疾病的防治提供依据。

1 对象与方法

1.1 对象 为本院近 3 年确诊的重庆市老年疾病患者 239 例[均大于 60 岁, 平均年龄(78.5±6.6)岁, 其中男 199 例, 女 40 例]。不同年龄分组(60~69 岁组, 18 例; 70~79 岁组, 121 例; 80~89 岁组, 91 例; ≥90 岁组, 9 例); 另选取本地老年人 50 例[均大于 60 岁, 平均年龄(69.6±4.26)岁, 其中男 26 例, 女 24 例]作为对照组, 两组年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 所有研究对象近 1 个月内无腹泻, 未用抗菌药物, 未进食酸奶, 饮食为重庆人常进饮食。

1.2 方法 分别测定肠道常见的细菌。标本的采集: 用经灭菌的棉签挑取受试者自然排出的新鲜粪便约 3~5 g, 放入无菌干燥的采便盒内, 立即送检, 所需时间严格控制在 30 min 之内。标本的处理和接种: 称取送检的粪便 1.0 g, 用灭菌稀释液进行连续的 10 倍稀释, 稀释至 10^{-8} , 振荡混匀, 制成均匀悬

液, 每个不同稀释度分别取 50 μ L, 用“L”棒均匀涂抹于不同的培养基上, 分别进行厌氧和需氧培养。同时大便涂片镜检找霉菌。培养: 肠杆菌、肠球菌、葡萄球菌、酵母菌等(36±1)°C、24 h 需氧培养; 类杆菌、双歧菌、乳杆菌、梭菌、拟杆菌(36±1)°C、48 h 厌氧培养。培养后, 计数上述平板培养皿中菌落数, 菌落数在第 3 稀释度未检出者即计为阴性。以菌落形态、革兰染色镜检、生化反应等鉴定计数菌落, 自菌落群适中的稀释度, 算出同一稀释度平均菌落数, 计算出每克标本中的菌含量即每克湿便中的菌数=平均菌落数×稀释倍数×500。鉴定方法如下, 肠杆菌: 计数发酵乳糖、染色镜检为 G⁻ 杆菌的所有菌落; 肠球菌: 计数有明显褐色圈、染色镜检为 G⁻ 球菌的所有菌落; 双歧菌: 食品卫生微生物检验双歧菌检验; 乳杆菌: G⁺ 无芽胞杆菌、触酶阴性、APICH50; 拟杆菌: G⁻ 无芽胞杆菌、API20A; 梭杆菌: G⁺ 芽胞杆菌。主要计算肠道菌群中的肠杆菌、肠球菌、双歧杆菌、乳杆菌、拟杆菌、梭杆菌等 6 种细菌。

1.3 统计学处理 所有计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表达, 两两比较用 t 检验, 多组比较采用方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 老年患者与正常对照组各种肠道菌群的比较 老年患者

表 1 老年患者与正常对照组各种肠道菌群的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	肠杆菌	肠球菌	拟杆菌	双歧杆菌	乳杆菌	梭杆菌	B/E
正常组	50	9.15±2.02	8.37±1.86	7.28±3.86	7.74±2.97	6.81±3.46	4.48±2.55	0.91±0.51
老年患者	239	9.23±1.25	8.01±1.86	8.01±3.23	8.01±2.16	7.34±2.50	3.35±1.69*	0.89±0.28

B/E:双歧杆菌与肠杆菌的比值;*:P<0.05,与正常值梭杆菌比较。

与正常对照组各种肠道菌群除梭杆菌外,其余菌群比较差异无统计学意义,见表 1。

2.2 糖尿病与非糖尿病患者肠道菌群的比较 糖尿病患者与非糖尿病组比较,肠杆菌增加,双歧杆菌、乳杆菌减少,双歧杆菌与肠杆菌的比值下降(表 2)。

表 2 糖尿病与非糖尿病患者肠道菌群的比较($\bar{x} \pm s$)

肠道菌	糖尿病(n=55)	非糖尿病(n=184)
肠杆菌	9.535 1±1.076 3*	9.140 7±1.285 7
肠球菌	8.296 0±1.420 8	7.919 7±1.971 8
拟杆菌	8.060 5±2.318 5	7.991 2±3.456 6
双歧杆菌	7.024 5±1.847 3*	8.310 8±2.166 5
乳杆菌	6.751 5±2.856 5*	7.516 0±2.358 9
梭杆菌	3.282 7±1.911 0	3.376 5±1.617 3
B/E	0.741 0±0.196 0*	0.928 0±0.286 0

*:P<0.05,与非糖尿病患者比较。

2.3 不同年龄组肠道菌群的变化 不同年龄组肠道菌群的变化,采用组间的两两比较的方差分析。从表 3 可以看出,70~89 岁组老年人 B/E 值较 60~69 岁组明显下降,但是 90 岁以上老人 B/E 值又较 70~89 岁组增加。

表 3 不同年龄组肠道菌群的变化($\bar{x} \pm s$)

肠道菌	60~69 岁 (n=18)	70~79 岁 (n=121)	80~89 岁 (n=91)	≥90 岁 (n=9)
肠杆菌	8.88±1.34	9.35±1.16	9.22±1.30	8.50±1.55
肠球菌	7.45±1.58	7.97±1.89	8.15±1.87	8.17±1.98
拟杆菌	7.98±2.94	7.85±3.23	8.25±3.24	7.85±2.35
双歧杆菌	8.93±2.38	7.87±2.20	8.00±2.06	8.17±2.00
乳杆菌	7.51±2.14	7.26±2.58	7.44±2.52	7.01±1.98
梭杆菌	3.86±2.16	3.10±1.26	3.55±1.94	3.74±2.46
B/E	1.04±0.36	0.85±0.27*	0.89±0.27	0.99±0.27*

*:P<0.05,与 60~69 岁组比较。

3 讨 论

肠道微生态与人的寿命、健康密切相关,构成肠道微生态的已知细菌多达 500 余种,包括厌氧菌、需氧菌、兼性厌氧菌、真菌等,其中以双歧杆菌和乳酸杆菌等专性厌氧菌占绝大多数(称为益生菌),其次是大肠杆菌和链球菌为主的兼性厌氧菌(称为共生菌),而具有机会致病性的需氧菌如变形杆菌、单胞菌等(称为过路菌)极少。正常情况下,这些微生物互相依存,又互相制约,保持一定的数量和比例,维持肠道的微生态平衡,对人体的营养、免疫调节、抗衰老和抗肿瘤等具有重要作用。

肠道的益生菌(以双歧杆菌为主)的专性厌氧菌,与肠黏膜上皮表面的特异性受体结合或插入细胞间隙,形成相当固定的菌膜结构,具有抑制肠道需氧的潜在致病菌的作用,这种作用

称为肠道定植抗力^[2],一般以双歧杆菌与肠杆菌的比值(B/E 值)来作为肠道抗定植力的指标,其比值小于 1 表示肠道抗定植力受损^[3]。本文发现,重庆地区非肠道老年疾病患者与正常老年人肠道菌群分布比较差异无统计学意义,B/E 值总体均小于 1,特别是在 70 岁以后尤为明显,表明老年人的肠道定植抗力下降,易发生肠道菌群的失调。而老年糖尿病患者 B/E 值比老年非糖尿病患者明显下降,两者之间有显著差异,说明糖尿病患者肠道定植抗力受损更为明显。

糖尿病患者由于糖代谢异常,血糖增高,二糖酶活性降低,黏液素分泌增多、肠道通透性增加等一系列生理变化,使肠道细菌黏膜屏障发生改变。研究表明在糖尿病大鼠乳杆菌、双歧杆菌减少,并随着糖尿病治疗血糖下降而升高^[4]。本文发现老年糖尿病患者乳杆菌、双歧杆菌减少,与别明江等^[5]的研究一致。肠道菌群的变化,会影响营养物质的吸收和肠道的免疫力,免疫力的下降使肠道的有害细菌大量繁殖,产生菌群失调。本文也发现老年糖尿病患者肠杆菌增加,B/E 值下降,说明糖尿病患者肠道定植抗力下降。研究发现肠道菌群在一定程度上影响糖尿病的发生、发展。在动物实验和糖尿病患者中发现肠道菌群改变,肠道通透性增加,肠道黏膜免疫改变,使得免疫耐受失败,导致 1 型糖尿病的自身免疫^[4]。肠道菌群的变化还可以促进 2 型糖尿病的发生,因为乳杆菌、双歧杆菌减少,发酵消化食物的作用下降,同时这些细菌产生一种让脂肪进入人体脂肪细胞的“大门”保持关闭的“引发禁食脂肪细胞因子”(FI-ATF)的酶减少,物质代谢的改变,能量的内稳态破坏,会导致胰岛素抵抗及 2 型糖尿病的发生^[6]。

据研究,双歧菌具有抗衰老作用,双歧菌的多少与寿命的长短相关。国内文献报道长寿老人肠道双歧杆菌数量增加。本研究发现,在 70~89 岁老年人 B/E 值较 60~69 岁老年人 B/E 值明显下降,说明 70~89 岁老年人肠道定植力受损,但是 90 岁以上老人 B/E 值较 70~89 岁老年人又显著增加,说明高龄长寿老人肠道定植力增强,年龄和双歧菌呈正相关^[7-8],也就是说在老年人中双歧杆菌的数量相对多者,生存年龄相对长,提示双歧杆菌的多少与高龄有某种关系。

本文通过对重庆地区老年非肠道疾病患者的主要肠道菌群分布的研究,发现肠道菌群中,双歧杆菌、乳杆菌下降和肠杆菌的升高与老年糖尿病和老年寿命有关。

参考文献:

[1] 徐志毅. 肠道正常菌群与人体的关系[J]. 微生物学通报, 2005,32(3):117-118.
 [2] Gagnon M, Kheadr EE, Le Blay G, et al. In vitro inhibition of Escherichia coli 01 57: H7 by bifidobacterial strains of human origin[J]. Int J Food Microbiol, 2004, 92(1): 69-78.
 [3] 吴仲文, 李兰娟, 马伟杭, 等. 肠道微生物定植抗力的新指标——B/E 值[J]. 浙江预防医学, 2000, 12(7): 4-5.
 [4] Vaarala O, Arkinson MA, Neu J. The (下转第 2404 页)

3 讨 论

重庆市南岸区腹泻病监测病原菌组成金黄色葡萄球菌占首位,这与其他相关报道不一致^[2-6]。金黄色葡萄球菌分布广泛,是污染食品的主要细菌之一。在近 2 年全国食源性致病菌监测工作中发现,在散装、熟肉制品、生食蔬菜、生肉、水产品等中,金黄色葡萄球菌污染率最高,金黄色葡萄球菌能产生肠毒素(SEs)是引起食物中毒的主要因素^[7]。近年来,金黄色葡萄球菌引起的食物中毒在美国细菌性食物中毒居第 2 位。重庆市南岸区也有由金黄色葡萄球菌引起的食物中毒发生,与本地区其他医院腹泻标本检出的结果相对应,可为卫生监督提供有力依据。

细菌性抗药性出现上升势头,对人体的健康威胁不断增长。由于抗菌药物的使用日益增多,导致细菌性的耐药问题日趋严重,金黄色葡萄球菌的耐药性也不断增强。本研究显示,金黄色葡萄球菌对青霉素的耐药性达到 100%,多重耐药性达 37.93%,表现出 7 种耐药表型谱,MRSA 菌株占 13.79%,这种菌株有多重耐药性,造成临床治疗及病死率增高。目前,国内临床治疗金黄色葡萄球菌感染常选用的抗菌药物为万古霉素或利奈唑胺或替考拉宁,金黄色葡萄球菌感染在使用万古霉素治疗的过程中会出万古霉素敏感向万古霉素中介演变^[8]。2002 年首次报道高水平万古霉素耐药的金黄色葡萄球菌出现,NCCLS 于 2006 年已将万古霉素对金黄色葡萄球菌的 MIC 判断标准从 8~16 mg/L 调整至 4~8 mg/L^[9],在 2 年的监测中有 1 株金黄色葡萄球菌对万古霉素有轻微耐药,说明金黄色葡萄球菌的耐药性有加重的趋势,应加强对金黄色葡萄球菌耐药性调查。

沙门菌是公认的食源性疾病最常见的细菌,食物是沙门菌的传染源。近 2 年,本区在全国食源性致病菌监测项目中,在生肉和生食蔬菜中均检出沙门菌。在本次腹泻病监测中,共检出沙门菌 23 株,检出率为 3.13%。23 株沙门菌经鉴定共分出 9 种血清型,优势菌为鼠伤寒沙门菌,占 30.43%,其次为德尔卑沙门菌,占 26.08%,第 3 位是肠炎沙门菌,占 13.04%。这与沙门菌引起的食物中毒最常见的血清型的报道是一致的^[10]。沙门菌也是本区引起食物中毒的主要常见菌之一,对腹泻患者沙门菌检测应引起高度重视。

23 株沙门菌对 20 种抗菌药物的耐药性试验显示,对碳青霉烯类、头孢类、喹诺酮类较敏感,特别是对头孢他啶、头孢曲松、左氧氟沙星、亚胺培南、阿米卡星、氨基曲南、呋喃妥因的敏感率达 100%。23 株沙门菌株,有 1 株对 7 种抗菌药物耐药,1 株对 6 种抗菌药物耐药,4 株对 3 种抗菌药物耐药,本次沙门菌的监测结果与中国疾控中心王茂起等^[10]报道的检测数据相比较,耐药菌株所占比率明显高于中国疾控中心的监测数据。

优势菌鼠伤寒、德尔卑、肠炎沙门菌多重耐药,最多耐 7 种抗菌药物。由此可以看出沙门菌的耐药性日益严重,而由于其耐药机制复杂并且极易获得耐药性,给预防和治疗带来了巨大挑战^[11],因此,相关部门应该制订一系列措施,防治由于滥用抗菌药物而导致耐药沙门菌快速、广泛的出现,同时要对沙门菌的耐药性及时检测,防止其发展和扩散,有效地控制耐药沙门菌的感染问题。

参考文献:

- [1] 杨振英,林华. 2005 年西安市细菌性腹泻病监测结果分析[J]. 应用预防医学,2006,12(6):347-349.
- [2] 曲芬,毛远丽,鲍春梅,等. 2000~2003 年北京地区 1 542 株腹泻病药敏试验结果分析[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(4):384-386.
- [3] 屈飞飞,王菊光,陈海平,等. 128 份腹泻便病原菌检验结果分析[J]. 中国卫生检验杂志,2008,18(6):1109-1111.
- [4] 邵利业,李红星,赵东敏,等. 商丘市个体诊所 2007 年夏秋季感染性腹泻病原菌监测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志,2008,18(6):1601-1602.
- [5] 徐佩华,周晓红,吴海平,等. 海盐县细菌感染性腹泻主要病原菌调查研究及药敏性分析[J]. 中国卫生检验杂志,2008,18(6):1187-1188.
- [6] 张怡明,张建群,罗学辉. 2007~2009 年浙江省余姚市感染性腹泻沙门氏菌监测结果分析[J]. 疾病监测,2010,25(11):894-896.
- [7] 巢国祥,焦新安,周丽萍,等. 食源性金黄色葡萄球菌流行特征、产肠毒素特性及耐药性研究[J]. 中国卫生检验杂志,2006,16(8):904-907.
- [8] 金咏絮,林其昌,陈公平,等. 我院 2007~2008 年金黄色葡萄球菌耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志,2010,10(1):53-56.
- [9] 张严峻,置志刚,程苏云,等. 金黄色葡萄球菌食品和患者分离株肠毒素基因和耐药性比较[J]. 中国卫生检验杂志,2008,18(1):33-34.
- [10] 王茂起,冉陆,王竹天,等. 2001 年中国食源性致病菌及其耐药性主动监测研究[J]. 卫生研究,2004,33(1):49-54.
- [11] 蒋原. 食源性病原微生物检测指南[S]. 中国检验检疫科学研究院,2010.

(收稿日期:2011-10-09 修回日期:2012-01-06)

(上接第 2401 页)

“perfect storm” for type 1 diabetes; the complex interplay between intestinal microbial, gut permeability and mucosal immunity[J]. Diabetes, 2008, 57(10):2555-2560.

- [5] 别明江,刘祥,潘素华,等. 糖尿病模型小鼠的肠道菌群与血糖关系的探讨[J]. 现代预防医学,2005,32(11):1441-1443.
- [6] Delzenne NM, Cani PH. Gut microflora is a key player in host energy homeostasis[J]. Nature, 2008, 455(7216):1109-1113.

- [7] Osipor MI, Bilev AE, Osipov IA, et al. Microbial intestinal biocenosis in lingering and complicated course of community pneumonia[J]. Ter Arkh, 2008, 80(2):52-57.

- [8] Lineva ZE, Tiaptirgianova NG. Pathogenetic mechanisms of impaired intestinal microflora in patients with destructive pulmonary tuberculosis[J]. Probl Tuberk, 2001, 79(2):13-14.

(收稿日期:2011-10-09 修回日期:2012-01-06)