

中华预防医学会微生物生态学学会

第四届全国临床儿科微生物生态学学术研讨会

论文汇编



中国 海口
2004年11月

国家一类新药

金双歧®

口服双歧杆菌、乳杆菌
嗜热链球菌三联活菌片

更适合中国人肠道的微生物制剂

直接补充生理性优势菌株
重建肠道菌群平衡
作用迅速治疗可靠



[性状] 本品为乳白色或微黄色片剂。

[适应症] 用于治疗肠道菌群失调引起的腹泻、慢性腹泻、抗生素治疗无效的腹泻及便秘。

[不良反应] 未见不良反应。

[用法用量] 口服，4片/次，2-3次/天，温开水或温牛奶冲服。

[儿童用药] 口服，6个月内婴儿一次1片，6个月至3岁小儿一次2片，3岁至12岁小儿一次3片，一日2-3次，温开水或温牛奶冲服。婴幼儿可将药片碾碎后溶于温牛奶冲服。

[批准文号] 国药准字S19980004

EDGE 万泽医药
MEDICINE

微生物制剂专家

联系电话：0755-25873526

公司网址：www.wedgemedicine.com

目 录

微生物学基础研究展望	1
微生物大循环是生命发生发展的根本条件	6
呼吸道微生物学初探	12
肝功能障碍与肠道微生物	17
胆红素代谢与微生物制剂干预的机制研究	20
肠道菌群失调对小鼠免疫和造血功能状态的影响	24
益生菌在肠道中的作用新探	29
双歧杆菌的生理作用及其机制	37
培菲康预防和治疗小儿肺炎继发腹泻随机、多中心临床研究	41
培菲康散剂预防小儿支气管肺炎继发腹泻的研究	45
肠道细菌与炎症性肠病: 探讨炎症性肠病的微生物治疗方法	48
新生儿肠道双歧杆菌数量与其相关影响因素的初步探讨	51
双歧杆菌对小鼠肠道树突状细胞数量的影响研究	54
新生儿肠道双歧杆菌与其婴儿期腹泻关系的研究	57
食物过敏婴儿和健康婴儿肠道菌群的差别	62
双歧杆菌对单核细胞来源的树突状细胞的影响	67
益生菌对鼠伤寒沙门菌感染小鼠早期血清 IFN- Γ 、IL-4 影响的研究	72
口服金双歧辅助治疗新生儿高胆红素血症的临床研究	80
三联疗法抗幽门螺杆菌感染对儿童肠道菌群状态的影响	83
培菲康与四磨汤联用治疗小儿厌食症临床观察	86
金双歧治疗肠痉挛的临床观察	87
妈咪爱、思密达辅助治疗新生儿高胆红素血症临床疗效观察	88
新生儿胃肠道微生物学研究进展	91
益生菌对婴幼儿肺炎并发腹泻治疗作用的研究	95
轮状病毒性肠炎的临床及微生物治疗	97
“妈咪爱”在新生儿中的应用	99
肠道微生物制剂在儿科的应用	100

微生态制剂治疗黄疸的临床观察·····	102
益生菌预防婴幼儿抗生素相关性腹泻及对肠道菌群的影响·····	105
微生态药物在小儿感染性腹泻中的应用评价·····	108
婴幼儿支气管肺炎继发腹泻的临床流行病学调查及 微生态制剂(培菲康)的预防作用·····	109
比福多素治疗儿童功能性消化不良的临床观察·····	111
海口市儿童幽门螺杆菌感染的流行病学研究·····	111
TOLL 样受体启动的信号通路在双歧杆菌脂磷壁酸诱导 HCT-116 细胞凋亡中作用·····	112
双歧杆菌脂磷壁酸延缓衰老的实验研究·····	112
双歧杆菌脂磷壁酸体外诱导胃癌细胞 BGC823 凋亡的实验研究·····	113
妈咪爱、思密达辅助病毒唑治疗轮状病毒肠炎 56 例观察·····	114
微生态调节剂在儿科的临床应用·····	114
微生态制剂的分类及临床应用·····	115
妈咪爱治疗 96 例小儿腹泻疗效观察·····	115
30 例支原体肺炎患儿并腹泻临床分析·····	115
微生态调节剂“妈咪爱”治疗婴幼儿秋季腹泻的产床研究·····	116
金双歧治疗婴幼儿腹泻 48 例疗效观察·····	116
幽门螺杆菌感染的昆明汉族儿童 HLA-DRB1 易感 及抵抗基因的筛查·····	116
昆明彝族儿童 HLA-II 类基因多态性与 HP 感染的相关性研究·····	117
云南山区聚居的彝族和白族儿童幽门螺杆菌感染的调查分析·····	118
微生态制剂在儿科临床中应用前景·····	119
妈咪爱治疗婴幼儿轮状病毒肠炎疗效观察·····	119
微生态制剂有助于“四病防治”·····	119
妈咪爱联合思密达治疗腹泻患儿疗效观察·····	120
微生态制剂治疗小儿病毒感染性腹泻病·····	120
思密达与立止血合用治疗新生儿急性胃粘膜出血 50 例·····	121

微生态学基础研究展望

中华预防医学会微生态学分会 熊德鑫

主流医学大门 主导产品 广大医务人员接受 造福于患者

四个方面问题:

- 1 以双歧杆菌为中心的生理性细菌主要问题研究近况展望
- 2 分子生物学技术在微生态学基础研究领域中的应用和展望
- 3 基因工程技术在改造益生剂生产菌种的现状和展望
- 4 微生态制剂作用机理的研究现状和展望

一. 以双歧杆菌为中心的生理性细菌主要问题研究近况和展望

1. 为什么双歧杆菌是医学关注的重要生理性细菌

原籍菌 占位密度 免疫原性 与定植抗力 代谢营养 三抗等生理功能

2. 双歧杆菌的定植即粘附机理研究概况

- 1)参与粘附的主要物质: LTA; WPG; C.W.P.
 - 2)受体: 与 D-甘露糖相关的糖蛋白
 - 3)粘附素(桥连体): 52KD 蛋白质; SCFA 或 RNA; 分型粘附体
 - 4)抑制因子: 52KD 小分子蛋白能抑制 EPEC(糖脂 CAT; 上皮细胞; HeFg)
- #### 3 生理性细菌双歧杆菌与致病性大肠杆菌(EPEC)对粘膜受体粘附的区别

1)形态:

- a. 生理性细菌粘附后几乎无变化
- b. EPEC 粘附后 { 上皮细胞刷状缘、绒毛脱落坏死
胞内骨架聚集, 高尔基体等细胞器变形

2)生理或病理改变

- a. 生理性细菌: 钙离子通道, 内 Ca^{2+} 缓升
- b. EPEC: 内储钙池释放, 胞内钙剧升

3)传递信息

- a. 生理性双歧杆菌
- b. EPEC

4 粘附研究中存在的问题

是否存在粘附体, 与其抑制因子异同, 主要属于哪类物质

生理性原籍菌双歧杆菌与共生菌如乳杆菌, 它们之间粘附方面有什么异同

5 双歧杆菌与免疫调节作用

1) 抗原识别: 摄取和刺激作用 $\begin{cases} \rightarrow \text{M 细胞} \rightarrow \text{MHC-II} \rightarrow \text{T 细胞第 1 信号} \\ \rightarrow \text{APC(CD 细胞)} \rightarrow \text{T 细胞第三信号} \end{cases}$

2) 免疫应答

① 活化 T 细胞 $\rightarrow$ IL-4, IL-5 $\rightarrow$ IgA

穿梭服务

既防止微生物入侵, 又泵出入侵屏障回肠腔

保护粘膜不受炎症损害

入肠腔包围致病抗原

IgA 免疫系统 $\rightarrow$ 公共粘膜免疫系统

② 免疫调节作用

激活免疫系统发挥免疫排斥、防御、调节作用

提高免疫功能低下老人免疫功能

激活体液免疫, 提高抗病毒能力及 INF- α 分泌

使机体巨噬细胞产生 H_2O_2 , NO, IL-6, α -干扰素等细胞免疫 $\uparrow$

问题: 免疫网络系统益生菌免疫的切入点, 益生菌不同菌株的免疫效应差异机理? 肠道定居着 400 多种以上种群, 而 GALT 如何区分病原与正常菌群?

二. 分子生物学技术在微生态学基础研究领域中的应用和展望

1 概述

为什么在肠道菌群研究中会引入分子生物学技术?

90% 以上为厌氧菌; 60%-90% 培养阴性; 对肠道菌群种群的认识也不够

2 用于肠道菌群分析的生物学方法

核糖体 RNA(DNA) 分子广泛存在, 但在原核生物(细菌)中具有高度保守性, 基于 16SrRNA 序列约 1500-2000 个核苷酸, 有保守可变区之分, 是细菌系统发育和物种鉴定中一个重要大分子

基于 16SrRNA 或 rDNA 基因建立的分子生物学方法

16SrDNA 基因序列分析

变性梯度凝胶电泳

温度梯度凝胶电泳

荧光原位杂交技术

生物芯片技术

16SrDNA 基因序列分析用于肠道菌群分析

方法: PCR 扩增来自肠道菌群各个种群染色体 DNA 的 16SrDNA 基因再克隆到一个适合测序的载体上进行测序

此方法能准确地鉴定出混合种群内微生物, 已广泛用于人和动物肠道菌群分析中

能培养出来的 10-13 个菌属种群全部检出

Suan(1999)证实应用 16SrRNA(rDNA)序列, 对肠道菌群已扩增 rDNA 序列, 仍有 76%的菌与已知菌 rDNA 序列不符, 说明 76%的菌是未知的

如何识别和认识这 76%未知种群? 是否还存在其它优势种群?

变性梯度凝胶电泳(DGGE)和温度梯度凝胶电泳(TGGE)在肠道菌群分析中的应用

概述: 是分子指纹识别技术, 是检测环境微生物多态性一种可靠方法, 近年来开始用于菌群的分析中

PCR-DGGE 与克隆测序方法结合, 能可靠监测不同的粪便菌群, 并可检测难以培养的细菌

应用 PCR-DGGE 分析再结合 16SrDNA 序列可动态监测婴幼儿肠道菌群定植状况和变化

PCR-DGGE(或 TGGE)还可用于监测不同饮食、广谱抗生素及年龄变化和环境改变对菌群结构的影响

目前无论 DGGE 或 TGGE 都 缺乏电泳标记物(marker), 应尽快建立一套标准的梯度来鉴定样品条带和绘制标准曲线已刻不容缓

荧光原位杂交技术(FISH)在肠道菌群分析中的应用

概述: 应用基于 16SrRNA 设计寡核苷酸探针, 再采用 FISH 法可定性定量检测肠道菌群中各类种群(包括不可培养种群), 并监测其肠道菌群变化

Franke 等(1998)设计了 6 种寡核苷酸探针, 再采用 FISH 法可定性定量检测人体肠道菌群, 后来 Harmsen(2000)在其基础上设计了 7 种探针, 可检测出人粪便菌群 90%以上

Zpefemdel(2002)利用 16SrRNA-FISH 首次定性定量检出不可培养种群卵瘤胃球菌(Ruminococcus obeum)

Harmsem(2000)首次使用 16SrRNA-FISH 探针发现哺乳婴儿, 人工配制奶粉婴儿肠道菌群不同演替状况

问题: FISH 探针不易穿透 G⁺菌胞壁, 此外还需已知 16SrRNA, 这样对未知肠道种群特异性较难保证, 此外荧光标记物, 保存寿命有限。

生物芯片技术用于肠道菌群分析

概述: 此技术是建立在杂交测序基本理论上的分子生物学技术, 具有高效平行性、多样性、微型化和自动化特点, 可在一张玻片上同时检测成千个基因或靶 DNA 序列。

Wang(2002)最先利用寡核苷酸芯片技术(O-mm)检测人体粪便菌群, 设计了人体肠道 20 种优势菌的 16SrDNA 序列特异性寡核苷酸探针, 证明此技术用于检测人粪便即肠道优势菌群是可靠的。

Me Burney(1999)采用 RAPD(随机扩增 DNA 多态性分析)证明服用阿莫西林能严重影响肠道菌群微生态, 导致肠道菌群中一些种群耐药并持续很长时间

3 分子生物学技术在肠道菌群研究中的应用前景和展望

分子生物学技术引入微生物学基础研究中极大推动了微生物学发展,并使其进入了一个崭新的阶段,克服了传统耗时、耗力的种群分离,不但对发现新的种群数目和种类,并对其受环境影响、菌际关系、准确监测肠道菌群变化起重要作用。

分子生物学技术在微生物学基础研究中应用,也为我们客观地评价保健食品益生剂和食品添加剂及其兽药残留提供了科学方法,分子生物学技术不久将成为微生物研究的重要手段而普遍开花。

三. 基因工程技术在改造益生菌生产菌种的现状和展望

1. 基因工程技术在双歧杆菌改造方面的现状和展望

由 De Vrieis(1969)及 Ballongne(1973)企图把 SOD 或 CAT 或 NADH 氧化酶基因导入双歧杆菌育种中,经过几十年工作都未获完全成功——障碍载体关于双歧杆菌质粒及其质粒载体研究,由 Bouzget 和 Leblanc(1999)等人从双歧杆菌 4-6 个菌种分离到质粒,而 Missich(1994)成功要构建了 E.coli-Bifido 穿梭载体(PRM2),成功转化入双歧杆菌和大肠杆菌中——双歧杆菌的基因调控工作切实可行

Yazwa(2000)等构建肿瘤特异性工程长双歧杆菌,能选择定植于在小鼠建立的实体肿瘤组织和用 7,12-二蒎诱导的大鼠乳腺癌,特异性地抑制肿瘤生长此外还有关于钴照射诱导双歧杆菌报告,以及 Ibrahim 等(2000)应用 MNNG(亚硝基胍)和乙基甲磺酸盐对双歧杆菌等进行化学诱导,结果使双歧杆菌 β -乳糖苷酶表达上升 70-200%的报告。

展望:

不久一定会建立食品级双歧杆菌载体或受体系统(它才可能满足不含抗生素标记载体;对宿主绝对不产毒;作为目的基因可大量增殖和高效表达)需氧或兼性厌氧的双歧杆菌的构建应该不久可以完成(载体基因必须精确并在切除目的基因无效表达后连接目的基因,保证不改变菌种的种属情况,主要生理功能保持情况下构建新的工程双歧杆菌等。)

2 基因工程技术在乳杆菌改造方面的应用和展望

概述:乳杆菌本来就是食品和饮料工业常用活菌,加之其多为需氧或兼性厌氧,因此乳杆菌的藏医改造研究远超过双歧杆菌。

乳杆菌质粒载体的制备和应用现状

Wang(1997)研究证实 38%乳杆菌会有小而隐蔽的质粒(1.2-1.5KD),这类质粒几乎无功能,呈滚环式复制,较大质粒呈 θ 复制

利用质粒作为载体:Posno(1993)首先利用乳酸球菌内质粒:PGK12 构建成转化载体,因为它可以在多种细胞内转化;而 Sullivan 等(1993)根据 θ 型质粒 PAMB 复制机制构建了一系列乳酸球菌广泛宿主载体

染色体整合载体: 将外源性基因整合到宿主染色体上构建了位点特异性重组载体。如 Martin 等(2000)应用噬菌体 A2 构建了干酪乳杆菌整合载体 PEM76; Dupont 等(1995)利用保加利亚乳杆菌 MV4 噬菌体构建成 PMC1 载体

载体的改造和构建: Klaensme 等(1999)对: PLPE323 质粒进行了改造, 得到一个新载体 PLPE72M, 其携带有 19 个限制酶的位切点, 该载体也成功地在乳杆菌克隆中表达了几种蛋白。作者另一篇报告构建成功对窄谱宿主的质粒载体, 因为它只能在原始宿主顺复制, 故其在种间传播机会少而安全, 其对构建工程菌更具意义。

乳杆菌基因工程菌构建的现状

Gosalbess 等(2000)成功地构建了一株干酪乳杆菌能表达 guSA 和 ilvBN 菌 Cbh 基因, 生成有关蛋白酶

Hols (1994)成功地将地衣芽孢杆菌的 α -淀粉酶结构基因植入植物杆菌 Cbh 基因, 通过 Cbh 发生两次重组得到相应的重组子。

Hammas 等(1994)成功地将地衣芽孢杆菌的 α -酶结构基因插入瑞士乳杆菌 PBG10 红霉素抗性基因下游, 成功地使瑞士乳杆菌 SRT2195 表达了 α -淀粉酶, 他还成功地将 PBG10 为载体将保加利亚乳杆菌 β -半乳糖苷酶基因成功插入插入 PBV10 抗性基因下游区而使瑞士乳杆菌表达了 β -半乳糖苷酶活性。

Hashiba(1990)报告利用 PLP3537XYL 携带有来自戊糖乳杆菌与木糖代谢有关基因转化到嗜酸乳杆菌, 使后者可利用木糖作为碳源。

Posone(1998)成功地将编码 δ -赖氨酸的合成基因克隆到载体转移到其他乳杆菌, 使后者能分泌赖氨酸(1.5-6 倍)

乳杆菌作为活疫苗传递载体的应用和展望

乳杆菌用于食品制造信用已几千年, 无任何已知健康问题——安全口服疫苗开发, 因有免疫原性, 加之对胃酸、胆汁抵抗力有能在胃肠持久存留——活疫苗传递载体。

乳杆菌对免疫应答影响包括两种不同的影响: 它可以激活所需免疫应答和抑制不需要的免疫应答(如自身免疫和变态反应); 如 Revennean N(2002)证实: 以反复喂服乳杆菌后并在胃肠外接种流感血凝互亚单位疫苗后产生病毒的缸体增长 3~5 倍, 可见接种流感疫苗前每天乳杆菌可增强所需免疫应答, 产生更好抗病毒记忆和保护。

乳杆菌传递抗原的作用, Seeges(2002 实验证实路特氏乳杆菌先喂服后再接种一种胸腺依赖抗原后, 其抗乳杆菌 GG 应答明显增强, IgG1/IgG2 比值↓, 不仅影响体液免疫而且影响细胞免疫, 可见乳杆菌可口服作为传递抗原作用。

展望

乳杆菌既可作为传递剂又可作为佐剂结合到同一系统中, 可见乳杆菌用作活疫苗传递的载体前景无限, 使用干酪乳杆菌和植物乳杆菌实验中证实: 它可能对免疫系统产生不同影响佐剂性, 又能将抗原传递给 Ape 成为疫苗的传递系统, 还能通过 Tall 受体和其它体识别受体(PRK)激活天然免疫系统。

四. 微生态制剂作用机理的研究现状和展望

概述: 微生态制剂开发和临床应用研究最大障碍是作用机理研究的滞后。

1 微生态制剂药代动力学第一要问题是活菌的定植问题(即粘附问题), 多数研究者认为没有粘附(或定植)训根本谈不上疗效。但近年观察到一些菌不能很好在宿主定植, 但由于其迅速增殖, 也观察到临床效果较好。因此, 定植(粘附)是第一要害问题, 还是增殖是第一要害问题?

2 此外, 有些制剂比如说生理性真菌制剂既不能很好在宿主内定植, 又不能迅速地增殖, 尤其它对正常菌群生态几无影响, 而只需不停补充同样有较好的临床效果, 为什么?

3 生理性微生物拮抗致病微生物(或条件致病微生物)主要机理是什么? 免疫作用不可能一接触抗原就产生强大免疫作用, 为什么迄今为止使用单一微生物或特定混合微生物来拮抗致病微生物的入侵均未获成功, 重建 正常菌群提高定植抗力, 这也不是短时间能搞成的。

4 微生态制剂拮抗致病或条件致病菌其主要机理是诱导机体肠源性防御素, 后者与益生剂的协同及暑了是急需研究的问题。

5 竞争抑制机制, 从营养争夺到空间位阻, 其模型研究依据? 生理性真菌制剂竞争抑制机制主要开工是什么? 以何种机理为主?

6 展望

微生态制剂作为生物治疗剂用于生态防治已被广大医务人员接受, 也造福于广大患者。随着机理深入研究将会促进制剂的开发和扩大使用视野, 21 世纪这朵鲜花将会绽放得更灿烂更夺目。

微生态大循环是生命发生发展的根本条件

大连医科大学微生态学研究所 康白

生命本质

生命的发生与发展是与环境(包括生物环境)的统一性分不开的。生命的发生的瞬间, 就必须保持与环境的统一性。生命是遗传信息与环境相互制约连续发展的结果。生命分为个体生命和种群生命。个体生命是间断的, 有生必有死, 在时空上是相对静态的。种群生命是连续的, 生一不息, 在时空上是动态的。人体生命例如一个人、一个植物、一个动物或一个微生物, 生命有生必有死, 但是种群生命却不然, 一切种群生命都是连续的, 生生不息的。生命必须

繁衍后代,才能保证物种的不会消亡。不论有性繁殖,还是无性繁殖都是如此。有性繁殖的精子与卵子,从一个个体生命的开始,精子和卵子相结合形成合子,就在遗传信息的指导下,生长发育,直到新一代精子和卵子的形成,才进入下一代繁殖周期。这个过程从未间断过,从微观层次看,自生命和物种起源后就一直连续的,从未间断过动态地发展到现在和未来。生命自在地球上出现的瞬间,就永恒地运动着,从过去到现在,到永远的未来,一直存在下去,除非一个物种在从地球上消亡。

上述两种生命形态——一个体生命和种群生命都是生命与环境的统一体,都是受生态学规律支配的客观实体。

生态科学

生态科学分宏观生态学(macroecology)与微观生态学(microecology)。宏观生态学或生态学主要是研究个体生命的生态学规律,而微观生态学主要是研究微观生态学规律。个体生命的宏观生态学来源于经典时空框架,而种群生命的微观重大成就学来源于相对论的时空框架。由于时空框架不同,两种生态学的基本理论不同。一个是看到是有生必有死的相对静态的直观效应,另一个看到的是“生生不息”的动态的、深层次的、高速的、永恒的生命之流。

微生态学是近二十年发展起来的新兴的生命科学分支。它研究的分野是微生物与其宿主植物、动物和人类在细胞、分子及原子水平的上下结合语、相互制约的微生态学规律。

微生态学在现阶段,与宏观微生态学一样,都是看重研究个体微生态学规律,研究一个生物个体发生、发展和消亡过程微观生态学规律,从纵向上研究一个生物个体内和体表正常微生物群的演替(success),在横向上研究这些正常微生物的定性、定量、定位和定主。因此,在现阶段,不论宏观生态学还是微观生态学,都是受经典时空框架支配,都是从个体生命观出发来思考问题和认识问题。个体生命和种群生命是局部和整体的对立统一关系。这两者是不可分割的生态学系统。

目前已经出现的植物微生态学、动物微生态学、人体微生态学都是从个体生命为出发点,研究生物体个体的发生、发展和消亡的微生态学规律。这是不够的。地球上的生命是一个统一体,地球与其复载的全部生命构成最大的生态系(生物圈)。地球生态系的微生态学规律是当前必须重视的新领域。种群生命后发生、发展和消亡是另外一个学术内容。种群的相互关系、种群的进化和种群的兴衰都存在着其内在的微生态学规律。这个规律的阐明,必将对生命科学,特别是对种植业、养殖业和人类健康都具有不可估量的重大突破。

生态循环

地球生态系存在着两个生态循环:

宏观生态循环:自从微生物学在十几世纪末兴起以来,科学家就作出一个精辟的论述,提出整修地球上的生命存在着一个生态循环,这就是生产者、消费者和分解者,形成一个连续的生态循环。这是一个一直支持生命科学的基本理论之一。

微观生态循环:微生物学认为把生态循环归结生产者、消费者和分解者循环,是人文主义的观点,是静态的、表面现象的观点。实际上微生态循环是贯彻生命发生、发展和消亡的全过程。微生物不是单纯的分解者,而且同时是合成者,一切消化、吸收、排泄都同时发生分解和合成。植物的光合菌、根瘤菌和菌根菌,动物的瘤胃和盲肠的微生物都同时是分解者和合成者。动、植的发生、发育离开这些共生的微生物就不能完成。在微生态循环中,生命从土地、植物、动物和人类,然后再回归土地。这个过程是连续的、动态的生命。农业的可持续发展战略,必须遵从这个客观规律。微生态循环是连续的、动态的、高速的、多种群的、全方位的和长期进货的循环,所以叫作“微生态大循环”。

生态农业

生态农业一词最初是由美国土地学家 W.Albreche 在 1970 年提出的,1981 年英国农学家 M.Worthington 作出明确的定义:生态上能自我维持,低输入,经济有生命力,在环境、伦理和审美方面可以接受的小型农业。

地球生态系以人们意志存在于自然界。自有生命以来就有自然生态规律发展着。对这一生态规律的认识,除了对原始植被和动物群落的研究以外,就是对受人类意志影响着的动、植物生产的农业进行研究,因为对这部分的研究,人类所积累的知识更多。

1909 年,美国农业部土地管理局局长 King 途经日本到中国考察农业,并于 1911 年写成中国《四千年的农业》一书。书中指出中国农业长盛不衰的经验是“中国农民勤劳、智慧、节俭,善于利用时间和空间,提高土地利用率,并从畜禽、人粪便和一些废弃物、塘泥等还田,提高地力”。这是一个典型的生态农业社会,是农业微生态大循环具体表现。

日本根据中国古代哲学思想《道德经》,提出“自然农法”。日本冈田茂吉(Mokichi Okada)在 1935 年提出“自然农法”。“自然农法”是根据老子的“人法地,地法天,天法道,道法自然”思想首创的。“自然农法”这上法字,不是方法的法,也不是法律的法,它应按依赖的意思解释,就是说“人依赖地,地依赖天,天依赖道,道依赖自然”,而“自然农法”,就是“农依赖自然”。

自然农法强调人类应当更多地依赖自然,顺乎自然,回归延期,与自然保持生态平衡,提倡“无施肥,无耕作,无除草”四无农业,完全用秸秆还田、绿肥、糠壳、畜禽及人粪尿还田维持土地肥力,依靠有机物、土地生物、微生物保持土地结构,达到延期农法或自然农业的目的。生态农业的大发展,与一件“坏事变好事”有关。20 世纪初,世界范围出现了化学农业或石油农业,利用化肥、农药、杀虫药等化学物质,造成严重后果:土地沙化,环境污染,生态系统失调,化学农业引起的不良后果,促起了生态农业的研究,就如医学上因使用抗生素或其化学疗法,造成严重的菌群失调、生态失调或引发大量抗生素相关抗疾病一样,引起对微生态制剂的研究。

日本的自然农业思想已在东南亚、美国、法国及其他欧洲国家得到响应。其根本原因是因其符合生态学规律。美国农业部 1980 年对有机农业或生态农业作出如下定义:“有机受精(生态农业)是一种完全不用或基本不用人工合成的肥料、农药、生长调节剂的生产体系”。在这一体系中,在最大可行范围内尽可能地采用作物轮作、作物秸秆、畜禽粪肥、豆科作物、绿肥、农场以外的有机废弃物和生物防治病虫害的方法来保持土地生产力和可耕性,供给作物营养,并防止病虫害和杂草的一种农业。

我国在二十世纪八十年代,北京师范大学生态学专家马世骏教授等提出生态农业,并指出应实行生态、社会和经济三大效益相结合的生态农业。1992 年,并由国家相关部委联合实施了全国 50 个生态农业县的建设。

生态农业向人类提两个大贡献:

微生态大循环的可持续性发展的连续性。由于按生态规律发展,排除了对连续性的外部干扰,不用化肥或农药能保持作物的自然发展趋向,保持生态平衡,提供最大的生物量,为人类健康作出最佳的贡献。

提供安全的有机食品或绿色食品。绿色食品是我国环保总局在 1994 年提出的一类清洁食品,其规格低于国际通用有机食品的规格。

有机食品

有机食品是当前世界上最受关注的食品。真正的健康食品,不仅在组分是安全的,在生产过程上也必须是安全的。

在国际上有一个国际农业运动联合会(IFOAM),专门管理有机食品的生产与销售。IFOAM 于 1972 年在法国成立,到 2002 年已有 100 多个国家 700 多个集体会员参加。我国在 1994 年也成立了相应的“国家环保总局有机食品发展中心(OFDC)”。世界各国都有相应的组织机构,其作用是监督、认证、交流和发展有机食品。在国际贸易上必须遵守这些规则,否则必将受到阻碍。

有机食品的管理,在全世界范围内对全球生态系的微生态大循环顺利运转是一件好事。

健康起源

土壤不是一个单纯的载体,它是一个非常复杂的包括大量生物和微生物的生态系。这个生态系在亿万年的长期历史过程中保持着生态平衡状态。在种群的常规过程中,微生态系也随之有规律的变化。当土壤遇到化学物质,如化肥、农药、杀虫药等污染时,土壤生态就会出现生态失调,土壤的生物种群就会在种类、数量、定位和宿主方面发生微生态失调。化肥是植物可直接吸收的营养成分,不需要根际微生物通过分解和合成供给植物的生长需要。这些根际微生物因失去分解和合成有机质的正常过程,因而其自身就会退化和消失。土壤推动了这些有益微生物,就会变得板结,失去水分,失掉活力,不仅减产,而且生长的植物也失去了健康。信用这种植物的根茎叶和种子的动物和人类也自然不会健康。

现代农业追求的就是真正的健康。健康的土壤→健康的植物→健康的动物→健康的人类→又回归健康的土壤。土壤是健康的起点,也是健康的终点,形成大循环,周而复始,循环无穷。微生态大循环就如此无始无终,亘古至今,哺育着生物,哺育着人类。健康的起源就是土壤。土壤是一切微生物的母亲。土壤生态系包括微生物、原生动物、昆虫和蚯蚓等的生物结构和活动,决定土壤是否肥沃,生态是否平衡,菌根菌的种类和数量与健康的植物有极为密切的相互关系。只有长期耕种的土壤,植物才长得好,而生土地或荒漠华的土壤,就长不好植物。这就是土壤微生态系遭到破坏的结果。健康的有机食品应当来源于健康的、正常的土壤生态系。

扩大生境

地球表面包括土地、水体和大气三维结构的自然生境。这个生境与其所载的全部生命构成统一的地球生态系。人类是地球生态系的一员。人类的智慧对地球生态系的干扰成为这个统一的能量运动、物质运转和信息运转承受日益难以承受的压力,甚至是灾难。

农业是最早的干扰,农业包括种植业、畜牧业和养殖业,其次是工业污染,加上人口压力使得这个地球生态系不堪重负。农业从土地经营,又向水体扩张。这些都是宏观生态学研究的范围。但是还有一个在表面上看到的、摸不着的微观生态学领域。一个领域是宏观生态学的灵魂,每一个宏观生态学运转过程都伴随着微生态运转的内存的规律。这就是微生态大循环的规律。一切生命的发生、发展与消亡都是宏观生物与微生态相互作用的统一过程。这一过程是连续的、瞬息不停地、永恒地运动着,与整个地球生命共存共亡。生命是永恒的,微生态系统的发展是持续的。微生态过程,从土壤的植物,向动物,再向人类运转,然后再由植物、动物和人类的排泄物和尸体转回土壤,进行新一轮的运

转，周而复始，循环无穷。

人类农业活动，从土地已扩充到水体（海洋、湖泊、河流），亦即绿色农业扩充到蓝色农业。不论绿色农业或蓝色农业都有微生物的参与，都有微生态过程的连续运动，都有微生态存在物高速、连续和永恒的运转。因此另一个更重要的农业白色农业也诞生了。

白色农业的出现，说明微生物学与微生态学在农业领域的重要性。白色农业是实验室农业，需要穿白大衣，因而得名。1999 年第一届国际白色农业研究会上，得到以下几点共识：

白色农业又可称为微生物工业型农业或微生物农业。

白色农业的科学基础是微生物学，它的技术基础是生物工程或生态工程。

白色农业已形成六个分支：微生物食品、微生物肥料、微生物农兽药、微生物能源、微生物生态环境保护。

白色农业能节省耕地、节水和节能源。白色农业可不用或少用化肥、化学农药和化学杀虫药可生产出合格的有机食品或绿色食品。

白色农业更重要的是能解决“人畜争粮”问题。根据联合国 FAO（粮食组织）统计，世界年产粮食总量中的 42% 为人类的口粮，而 43% 为畜牧业所用粮食。“人畜争粮”是世界粮食短缺的重要原因之一。白色农业可用微生物发酵饲料节约大量粮食。

白色农业可以保护生态平衡。动物，特别是草食动物，如牛、羊、马等，正常情况下食草，而改用精饲料，造成菌群失调或生态失调，并进而引起人类生态失调，破坏微生态大循环，其影响是深远的。因此，白色农业是保护生态平衡的重要措施，也提高了对微生态大循环重要性的认识。

引子工程

发酵引子是指微生物发酵时所用的种子液。发酵工程是特定的微生物在发酵罐、发酵容器或发酵池内与培养基质相混合，在适当温度下，经过一定时间使发酵基质发生变化，有利于人、畜使用和植物成长的人为工程。发酵是人类生存的不可缺少活动。发酵有自然发酵与人工发酵两种。人工发酵是模仿自然发酵而设计的人工工程。

中国农家的传统发酵工艺是广泛的和多样的。诸如酿酒、发酱、泡菜、发酵食品、发酵饲料、发酵饮料（酸奶）和发酵肥料（生物肥）都是其固有的发酵工艺。各国、各民族都有其各自不同的发酵模式，但其基本目的都是一样：使基质更有利于人类需要。动植物和人类都依赖于发酵过程及其产物的作用。一切生物都直接或间接地离不开发酵。

传统发酵与现代发酵都是人类所必需的，要想全用现代发酵取代传统发酵是不可能。但是，用现代发酵科学进步知识，来改进和推动传统发酵工艺，使

其自由自在意识向自为意识转化, 为中国农业现代化作贡献是完全可能的。

中国的传统农业和日本提倡自然法和现代的生态农业都包括发酵活动, 畜禽及人类粪尿处理、绿肥沤制、秸秆发酵、食品发酵等都需要有一个科学、规格的、合适的效应最佳的发酵引子。

“引子”生产需要现代化的微生物发酵工程设备和发酵的基础理论作为后盾才能进行。要想把发酵产品卖给农民不现实, 不可能把生物肥商品卖给农民, 这与生态农业的原理相违背, 用合格的“引子”卖给农家, 利用农家现有的设备(粪坑、缸、水泥池等), 因地制宜, 指导农民按发酵原理进行发酵。

引子工程是在一定区域内建造一个或几个大型的现代化的发酵设备来完成这一任务。“引子”商品应通过国家相应技术部门认证, 国家要有统一标准, 经过正规途径正常销售。“引子”应有不同规格, 有适用于小型农场、畜牧场和水产养殖场等的发酵“引子”, 也适用于农户自家的积肥、秸秆发酵、发酱、食品发酵和腌渍蔬菜等分散的小包装的“引子”。

“引子”工程能把高科技与分散农业生产工艺引向现代华的生态农业大方向。国际上, 生产有机食品的生态农业受到极大重视。根据 2002 年 IFOAM 的统计, 在全产农业生产中, 能够提供合格有机食品的生态农场是因国度不同, 大约占 3—10%, 而且有迅速增长的趋势。农业部部长康纳丝提出行 2010 年有机食品的销售占食品总销售额的 20%, 奥、瑞典、丹麦等北欧国家有机食品生产发展迅速, 并立法来推进 方面的快速发展。美国到 1988 年据农业部的统计, 已有生产有机食品的生态农场 3 万个。日本, 1988 年 11 月 10 日日本农林水产省公布了有机肥的基本标准, 2001 年 4 月日本开始正式实施有机食品国家标准和认证制度(JAS 法)。我国在 1990 年, 浙江临安的有机绿茶经荷兰认证组织(SKAL)认证出口荷兰。我国在 1994 年经国家环保总局的批准, 成立了国家环保有机食品发展中心(OFDC), 促进了我国有机食品的发展, 上海有机蔬菜生产得到重视。2001 年上海区县建立十个有机食品生产示范园艺场。有机食品虽然价格高一些, 但仍受消费者欢迎, 供不应求。

上述国内外发展形式证明, 有机食品的生产、生态农场的建立, 势在必行, 建立生产有机食品的生态农场、发酵工艺必然大发展, 因此“发酵引子”的生产和销售必然得到好效应。

呼吸道微生态学初探

深圳市儿童医院内科(518026) 郑跃杰

微生态学(Microecology)是研究正常微生物群与其宿主相互关系的生命科学。1985 年 Volker Rush 博士定义为“细胞或分子水平的生态学”, 也就是

说微生物生态学是生态学的微观层次。微生物生态系统是由宿主、栖居的微生物和环境构成的彼此相互作用、相互依赖、有机联系的整体，人体有五大微生物系统：胃肠道、口腔、呼吸道、泌尿生殖道和皮肤，其中胃肠道微生物系统与人体关系最密切、最重要，研究的也最早、最深入。相对而言，对呼吸道微生物系统认识较少，远没有受到重视。

正常呼吸道由鼻、咽、喉、气管、支气管、细支气管及肺泡组成，以环状软骨为界分为上、下呼吸道，上呼吸道包括鼻、咽及喉，下呼吸道包括气管、支气管、细支气管及肺泡。由于呼吸道与外界相通，出生后上呼吸道很快定植有各种微生物，经过“演替过程”形成正常菌群，一般认为，下呼吸道在正常情况下是无菌的。与胃肠道的两端开放性、流动性及内容物营养丰富相比，呼吸道为一盲管结构、内容物为空气，其正常微生物群的密集度和多样性远低于胃肠道。

一、上呼吸道正常菌群^[1-2]

正常鼻腔中定植有金黄色葡萄球菌及表皮（白色）葡萄球菌。鼻咽部定植有甲型（ α 溶血性）链球菌、奈瑟氏菌、棒状杆菌、韦荣氏菌、葡萄球菌、肺炎链球菌、化脓性链球菌、流感嗜血杆菌及念珠菌等，其中甲型链球菌在众多菌群中，密度及丰度最高，为上呼吸道的优势菌（峰顶菌？），构成了人体上呼吸道的生物屏障，在抵御外来菌入侵、调节上呼吸道各菌群的平衡及刺激粘膜免疫等方面发挥着生理作用，其他菌群为次优势菌或劣势菌，在环境及宿主因素改变时，可能过度生长或移位，造成致病（条件致病）。正常上呼吸道菌群见表一、二及三。

表一、正常上呼吸道菌群

部位	主要菌群	次要菌群
鼻腔	金黄色葡萄球菌	表皮葡萄球菌，各型链球菌，棒状杆菌
咽喉	甲型溶血性链球菌	奈瑟氏菌，棒状杆菌，葡萄球菌，肺炎链球菌，化脓性链球菌，流感嗜血杆菌，韦荣氏菌（厌氧菌），念珠菌等