



全国正常菌群学术讨论会

GNOTOBIOLGY

正常菌群与葡萄球菌A蛋白专辑

(会议资料汇编)

中国微生物学会人兽共患疾病病原学委员会
大连医学院科研处

一九八二·大连



中国蛋白质科学学会
CHINESE SOCIETY FOR PROTEIN RESEARCH

正常菌群与葡萄球菌人蛋白专辑

(含细菌学、免疫学)

中国蛋白质科学学会、中国微生物学会联合主办

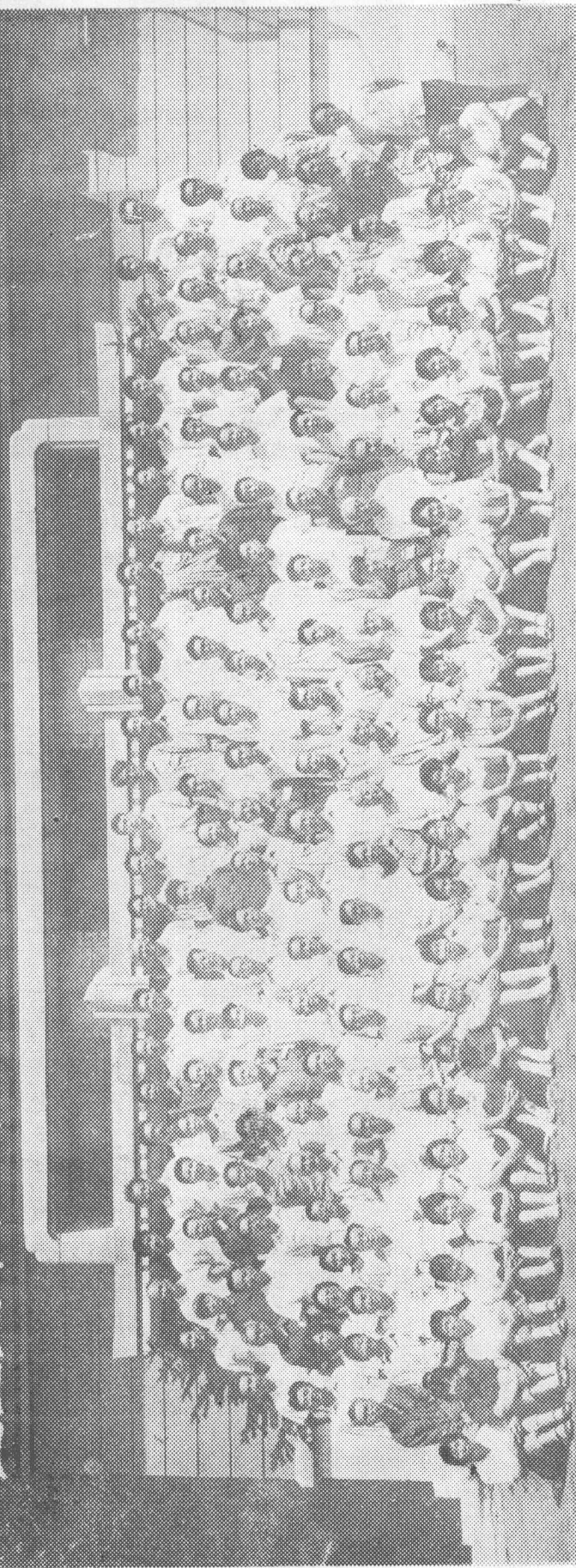
金 鑫 编 著 周 敏 编 著

上海科技出版社出版

全国正常菌群葡萄球菌甲蛋白学术讨论会合影

1981.8.9

于旅顺



全国正常菌群与葡萄球菌A蛋白学术会议总结

1981年8月4日至9日在大连市旅顺召开了全国正常菌群与葡萄球菌A蛋白学术会议。这次会议是由中国微生物学会人兽共患疾病病原学专业委员会召集和主持的。

这次会议主要内容:

一、介绍国内外有关正常菌群与葡萄球菌A蛋白的研究进展。

二、交流我国有关正常菌群与葡萄球菌A蛋白的科研成果。

三、评定活菌制剂“促菌生”及“SpA痢疾杆菌分型试剂”的学术水平及实际应用价值。

四、传达在日本东京召开的第七届国际悉生生物学会会议的内容。

参加会议的代表134人,来自全国各有关医疗、兽医、防疫、科研及大专院校等单位。大会共收到118篇论文,其中正常菌群52篇;葡萄球菌A蛋白66篇。

这次学术会议学习了目前国际学术会议的三种开会形式:

一、报告会 (Report)。

二、讨论会 (Symposium)。

三、壁报交流会 (Poster session)。

报告会的内容:第七届国际悉生生物学会会议的情况,其中包括悉生生物工程、悉生生物与菌群、营养代谢、免疫及肿瘤的关系;棒状杆菌与肿瘤;婴儿腹泻的起因;我国两年来葡萄球菌A蛋白的研究进展;悉生生物学发展史。讨论会与壁报交流会合在一起,分正常菌群与葡萄球菌A蛋白两部分进行。正常菌群部分包括悉生生物、生态学、活菌制剂、菌群与肿瘤、菌群与免疫及方法学六个专题;葡萄球菌A蛋白部分包括SPA协同凝集反应在细菌鉴定及快速诊断的应用、SPA菌种、SPA的提纯及抗人IgG的制备、标记SPA的应用及SPA作为免疫吸附剂的应用四个专题。

在会议中间,曾组织有关专家对婴幼儿腹泻和羔羊痢疾有良好疗效的DM423腊样需氧芽胞杆菌活菌制剂——促菌生,进行了学术评定,认为这是在国内首次应用菌群调整理论,制出有效的活菌制剂,对保护人民健康,促进畜牧业生产,显示了重要意义。对SPA痢疾杆菌分型试剂,也进行了学术评定,从理论及实际应用上均给予了肯定的评价。对上述两项成果建议有关单位生产商品制剂。

在大会论文报告之后,还举行一次学术座谈会,主题是“病毒的起源与微生物的进化”,在会上各个不同学术观点进行了热烈争鸣,引起与会代表很大兴趣,认为受到一定启发,值得进一步研究探索。

会议在热烈的气氛中闭幕,与会代表认为这次学术活动收获较大:

一、正常菌群的研究工作,在国内已有30年的历史,召开全国性的学术会议进行

交流尚属首次，对这个专题的深入研究必将是一个促进。

二、SPA的研究工作，在国内虽仅有两年的历史，而能够从不同角度提出如此丰富的科研成果，是令人鼓舞的。

三、这次会议活动形式灵活多样，节省时间，收效良好，值得推广。

四、在学术会议期间，对某些科研成果项目进行学术评定，是一个新的尝试，尚需进一步总结经验。

中国微生物学会人兽共患疾病病原学专业委员会

一九八一年八月九日于旅顺

编 者 的 话

本专辑因篇幅所限，大部分论文已做了删节或摘要。部分论文的参考文献已被删掉，如读者需要，请向作者索取。除此，还有一些论文只好割爱。以上情况，请作者与读者谅解。

目 录

第一部分 正 常 菌 群

我国对菌群失调与菌群调整疗法的研究.....	魏 曦	(1—4)
悉生生物学的历史进程与展望.....	徐振国 魏 曦	(5—8)
克服菌群失调状态的研究新动向.....	康 白	(9—11)
对昆虫无致病性共生菌在立克次体科中的地位.....	魏文彬	(11—12)
动物体正常菌群.....	杜念兴	(13—20)
疱疹病毒的条件致病性.....	向近敏	(20—27)
正常菌群与机体的抗传染性免疫.....	郝维善	(28—32)
菌群失调与癌症.....	张延盛 赵裕琳	(32—35)
大肠菌群与大肠癌.....	来匡逮	(35—37)
人类皮肤正常微生物群问题.....	吴绍熙	(38—39)
第七届国际悉生生物学讨论会情况的汇报.....	范明远	(40—42)
对 DM423 菌株在调整肠菌群失调状态中的作用研究.....	康 白	(42—49)
促菌生对婴幼儿腹泻的治疗效果的临床观察.....	促菌生协作组	(50—54)
对促菌生在正常婴幼儿肠道内定值的调查.....	康白 张季阶	(55—57)
对健康婴幼儿正常肠菌群正常值的调查.....	康白 张季阶	(57—58)
促菌生对健康婴幼儿的正常肠菌群的影响.....	康 白 等	(58—60)
对婴幼儿大便涂片革兰氏染色所见临床意义的观察.....	康 白 等	(60—63)
DM423杆菌活菌制剂对羔羊腹泻的预防和治疗效果报告.....	张沛 康白	(63—66)
促菌生对羔羊痢疾治疗效果的观察(摘要).....	李文尊 康白	(66—67)
我国儿童、成人的粪便中主要菌群及在儿童腹泻时有关细菌 变动情况.....	张旭帆等	(67—69)
对几种消化系统疾病的肠菌群的初步调查.....	康白等	(70—71)
用无病原性大肠埃希氏菌川雅30号菌株(O ₁ :K ₄)防治仔猪黄痢效 果观察及试用报告.....	何明清	(72—74)
中国养猪业的无特定病原猪群的培育和推行方法的研究.....	方定一等	(74—78)
正常仔猪在哺乳期间肠道内大肠杆菌血清型定居与交替情况的 观察.....	方定一等	(78—81)
关于甲型链球菌与流感病毒共生关系的研究.....	方亮等	(81—83)
乳酪乳杆菌及其制剂的实验研究.....	瞿超 陈汶	(83—86)
“乳酪奶”治疗肠炎菌痢321例的疗效观察.....	乳酪奶协作组	(87—92)
人体阴道宫颈正常真菌群的研究.....	戴华生等	(92—94)

R378-53
2657

厌氧菌培养法	文希喆	(95—99)
一种简便的厌氧菌培养法	李忠元等	(99—102)
厌氧菌代谢产物的气相色谱分析的初步观察(摘要)	熊德鑫 李家宏	(102)
厌氧杆菌代谢产生的脂肪酸和醇的气相色谱分析方法	来匡逮	(103—105)
厌氧菌的两种简易培养方法——铁丝圈厌氧法与自制钯(铂)		
“冷”催化剂厌氧法	来匡逮 董国宾	(106—107)
正常肠菌群检查法(一)	大连医学院正常菌群实验室	(107—118)
正肠菌群检查法(二)	光冈知足	(118—133)

第二部分 葡萄球菌A蛋白

我国葡萄球菌A蛋白(SpA)研究的现状和展望(综述)	张颖悟	(134—143)
标记葡萄球菌A蛋白在免疫学中的应用(综述)	徐志凯	(144—151)
葡萄球菌蛋白A(SpA)在病毒学中的应用(综述)	孙淑忠	(152—157)
协同凝集试验和玻片凝集试验对脑膜炎奈瑟氏菌分群的比较		
	丁绍卿等	(158—160)
协同凝集反应作脑膜炎球菌的血清学分解和检测脑脊液中抗原		
的初步报告	张国芬等	(160—162)
应用协同凝集反应快速诊断流行性脑脊髓膜炎的研究	李俊植等	(163—165)
用葡萄球菌A蛋白标记乙型B群链球菌诊断血清的研制	洪超明等	(166—168)
SpA痢疾杆菌分型试剂在实际应用上的价值	董阳达等	(169—171)
用标记的SpA检查布氏杆菌的实验研究	李东阳等	(172—174)
A蛋白金黄色葡萄球菌协同凝集试验用于绿脓杆菌快速血清学		
分群	王世鹏等	(175—178)
特异抗体标记金黄色葡萄球菌 No.1800 株在炭疽病诊断上的研		
究	谢镜怀等	(178—180)
特异抗体标记金黄色葡萄球菌 No.1800 株在猪丹毒、猪肺疫、		
猪副伤寒及猪败血性链球菌区别诊断上的研究	谢镜怀等	(181—183)
SpA菌协同凝集试验在钩端螺旋体分群上的进一步研究	于思庶等	(184—188)
特异性抗体标记含A蛋白葡萄球菌 No.1800 株检查钩体抗原的		
实验研究	窦慧芬等	(189—193)
应用正交设计法优选特异性抗体标记葡萄球菌的条件及快速鉴		
定钩端螺旋体菌群的实验研究	冯日孝	(194—196)
SpA吸收法在测定特异性IgM中的应用	戴 斌	(199—201)
在免疫荧光试验中应用葡萄球菌检测抗Q热 IgG和IgM 抗体研		
究	徐启旺	(197—199)
用含蛋白A葡萄球菌作免疫吸附剂检测7型腺病毒的早期抗体		
	张建军	(201—203)

伤寒杆菌感染后IgG和IgM抗体消长规律的初步观察·····张颖悟等	(204—205)
酶标记葡萄球菌A蛋白及其在酶联免疫吸附试验中的应用···薛采芬等	(205—206)
用酶联A蛋白的“ELISA”方法检测乙脑抗体的初步报道··周志统等	(207—208)
酶标抗体与酶标葡萄球菌A蛋白在ELISA中检测病毒抗体的 比较·····于碧云等	(208—210)
酶标抗体及酶标葡萄球菌A蛋白染色法在炭疽快速诊断中的应用	
一、快速检测炭疽病人荚膜抗体的实验研究·····徐志凯	(211—212)
应用酶联A蛋白的“ELISA”方法检测抗DNA抗体探讨·····叶明等	(212—215)
测定日本血吸虫病人血清中抗DNA抗体的初步报告·····王宝山等	(215)
应用酶联A蛋白的酶联免疫吸附试验(PPA-ELISA)检测抗LSP 的初步探讨·····张希衡等	(216—217)
荧光素标记葡萄球菌(799)A蛋白(FPA)在检测抗核抗体中的 初步应用·····沈森局等	(217—219)
应用酶联A蛋白的“ELISA”方法检测隐球菌抗体的探讨··刘锦海等	(219—220)
酶标记葡萄球菌A蛋白检测甲状腺球蛋白抗体的研究·····朱运龙等	(220—224)
应用酶联A蛋白酶标记技术测定皮肤组织内免疫复合物·····刘锦海等	(225—226)
葡萄球菌A蛋白(SpA)在布鲁氏菌病诊断中的应用 I.以产生A 蛋白的葡萄球菌固定液代替抗人球蛋白血清作Coombs试 验·····马恒之等	(226—227)
用抗血清标记含SpA菌体检测小鼠T淋巴细胞的探讨·····王益寿等	(228—229)
抗IgG血清的新制备法——IgG-SpA菌免疫法·····张颖悟等	(229—231)
含A蛋白葡萄球菌自选株与标准株的比较·····张颖悟等	(231—232)

我国对菌群失调与菌群调整疗法的研究

中国医学科学院流行病学微生物学研究所 魏曦

正常微生物群 (Normal Microbiota) 包括微植物群 (Microflora) 与微动物群 (Microfauna)。正常微植物群包括正常菌群 (Normal Bacterial Flora) 与正常真菌群 (Normal Fungal Flora)。两者一般都可称为菌群 (Flora)。

正常微生物群是微生物 (Micro-organisms) 与宏生物 (Macro-organism) 在共同历史进化过程中形成的相互依赖和相互制约的生态学体系 (Ecosystem)。在正常情况下, 这些微生物对寄主或宏生物非但无害, 而且有益, 这就是生态平衡 (Eubiosis)。如果, 微生物与宏生物之间在质与量方面失去了平衡, 就将转变成生态失调 (Dysbiosis)。这种生态失调, 在临床上的一个表现就是菌群失调症 (Dysbacteriosis)。通过调整失去平衡的菌群来达到治疗的目的, 就是菌群调整疗法。

本文拟就我国自 1950 年以来, 对菌群失调及菌群调整疗法的研究概述于次。

概况及历史

1950 年我在大连医学院做微生物教研组的主任。在当时, 我们的教研组, 除了教学及科研工作外, 还承担了临床细菌学的检验任务。在临床检验工作中, 我们发现了一例由鼠型链丝杆菌 (*Streptothrix Moniliformis*) 引起的鼠咬热病人。^[1,2] 这例病人是经过 7 次血培养阳性结果证实的。这例病人经 8 天青霉素治疗, 疗效不理想, 后改用链霉素治疗, 病情缓解。但在缓解后不久又复恶化, 经血培养证实, 鼠型链丝杆菌已消失, 但出现了肺炎杆菌的阳性培养。该患在出现肺炎杆菌败血症之后 3 天, 终因中毒性休克而死亡。死亡后, 经尸检证实, 在患者的心脏、血、肝、脾及胃均分离出来了肺炎杆菌, 但未分离出来鼠型链丝杆菌。这是在我国首例报告的因抗菌素的应用所致的菌群失调或菌交替症病例。^[3] 这一事实使我预感到, 这将是光辉的抗菌素时代可能出现的一个阴影。因此, 在当时, 我就确立了这一研究课题, 并在我的同事中做了比较长期的安排。自 1950 年至现在, 我们进行了正常微生物群的生态学, 临床学及治疗学等方面的研究。

生态学的研究

为了证实正常菌群对外袭菌具有拮抗作用, 我们首先在试管内进行了肠球菌与大肠杆菌的拮抗作用。试验结果证明, 肠球菌对痢疾杆菌志贺氏菌拮抗性最强, 对福氏菌其次, 对宋内氏菌最次, 对大肠杆菌无拮抗作用, 反而被抑制。^[4]

为了证明正常菌群的自然生态学状态, 我们选择家鼠做实验模型。为了观察鼠体的肠球菌对痢疾杆菌的影响。我们选择三种家鼠: 阴沟鼠、黑鼠及屋顶鼠做实验模型。选择这三种鼠的原因, 是因为我们在这以前曾经发现, 在自然条件下, 家鼠可以携带宋内氏痢疾杆菌。^[5]

试验方法是经口或经肛将痢疾杆菌注入鼠体内。注入后, 通过大便培养观察痢疾杆

菌及正常肠道需氧菌群的变化动态。实验结果指出,在经口或经肛灌注痢疾杆菌(志贺氏、福氏及宋内氏菌)后,痢疾杆菌的排菌情况,可分为以下3个阶段。第一阶段为可分离出试验菌株阶段;这个阶段在感染后1—7天;第二阶段为可分离出非典型痢疾杆菌阶段,这个阶段在感染后2—12天;第三阶段,痢疾杆菌,包括非典型的痢疾杆菌已经消失,这个阶段在感染后8—18天。第一阶段,痢疾杆菌呈培养状态,第二阶段,除非典型痢疾杆菌外,还逐渐出现肠球菌的增加,第三阶段显示肠球菌纯培养状态。在肠球菌出现纯培养状态的第二天,大肠杆菌又开始出现和逐渐增加,最后恢复正常,大肠杆菌与肠球菌各占一半,或前者略多于后者,三种痢疾杆菌的带菌时间,宋内氏菌最长(7—17天),福氏菌其次(8—12)天,志贺菌最短(7—9)天。

上述试验证明,肠球菌对痢疾杆菌具有明显拮抗性。在大量人工感染痢疾杆菌后,首先恢复的是肠球菌,其次才是大肠杆菌。为了进一步证明肠球菌对痢疾杆菌的拮抗作用。我们还以由上述家鼠分离的肠球菌做了试管内的对痢疾杆菌的拮抗试验。⁽⁶⁾试验结果指出,肠球菌在试管内,也具有对痢疾杆菌的拮抗作用。

由上述试验动物共分离出21株肠球菌,经形态、培养、生化及血清学鉴定,2株为粪链球菌(*Streptococcus faecalis*)及19株液化链球菌(*Str. Liquefaciens*)。

除了上述家鼠实验以外,我们还用豚鼠结膜做了实验。⁽⁷⁾试验菌株:大肠杆菌、液化链球菌及福氏痢疾杆菌(3型)。我们共用65只眼部完全健康的豚鼠做实验。实验结果指出,先接种肠球菌,后接种痢疾杆菌拮抗性最强,不发病;肠球菌与痢疾杆菌同时接种,拮抗性较差,发病,但症状减轻;先接种痢疾杆菌,后接种肠球菌,无拮抗作用,典型发病;大肠杆菌无拮抗作用。

以上是我们所进行的一些初步的有关正常肠菌群的生态学研究。

正 常 值

正常值是一个必须解决的问题。要研究正常菌群的意义,首先要确定正常值。关于正常值,世界许多研究者都有报告,但因时、因地和因技术方法的不同各有差别。但虽然有差别,人们还是初步知道每种菌的大致数量或按数量多少排个顺序。

在肠道正常菌群方面,在50年代,我们研究慢性腹泻时只做了需氧培养。这是很片面的,因为在肠道内更大量的还是厌氧菌。厌氧菌与需氧菌之比可能在一千比一或一万比一以上。目前我们所培养出来的细菌仍然不是全部,而很可能还是全部正常肠菌群的一个指标。

现将健康成人大肠菌群调查结果列于下表。

健康成人正常肠菌群平均正常值 (log₁₀g/克便)

调查年代	例数	肠球菌	肠杆菌	葡萄球菌	拟杆菌	分叉杆菌	小梭菌	酵母菌
1962 ⁽⁸⁾	24	7.01±0.15	8.17±0.12	3.99±0.75	8.83±0.11	8.92±0.12	8.07±0.7	—
1964 ⁽⁹⁾	10	7.40±1.1	8.76±0.6	—	7.93±1.2	8.25±1.6	—	—
1970 ⁽¹⁰⁾	24	7.63±0.63	8.58±0.62	—	7.49±0.58	8.54±0.74	—	—
1981 ⁽¹¹⁾	13	8.0±1.2	9.6±1.21	4.9±0.7	10.3±1.8	10.7±0.5	8.4±2.0	8.6±0.6

上述正常值调查结果，基本上是一致的。但是最近一次调查，厌氧菌有明显的增加。这可能是与技术的改进有关。

现在已进行的正常值调查是不充分的。我们应在不同季节、不同地区进行更广泛地调查，以便找出一个比较接近实际情况的结果。

临 床 观 察

根据试管内的和动物体的试验，在50年代晚期，我们试图在临床上做一些观察。我们首先对肠道需氧菌做了分析。⁽¹²⁾在27例慢性腹泻患者（诱因：9例不明，6例抗菌素应用，8例急性痢疾，4例急性肠炎）中，大肠杆菌在正常范围者8例，完全消失者5例，减少者14例；肠球菌相应地为6、8及13例。大肠杆菌与肠球菌同时消失者3例，同时正常者8例。在27例中，过路菌（绿脓杆菌、变形杆菌、产气杆菌）增加者占21例，其中6例系纯培养或接近纯培养。

后来，我们又做了另一批临床观察。在这个观察中，共收集233个病例，其中慢性迁延型痢疾27例，急性典型痢疾32例，其他慢性腹泻174例。这些病例都做了常住菌、过路菌及致病菌的培养。慢性痢疾主要表现为常住菌减少、消失和过路菌的增加或占绝对优势。急性典型痢疾，除在病程早期，痢疾杆菌占优势外，多表现为常住菌消失，其中厌氧菌（拟杆菌与分叉杆菌）消失率为66.6%。

慢性腹泻主要表现为常住菌异常（增加、减少或消失），一般过路菌并不表现过量的增加。

最近，我们又对婴幼儿腹泻的肠菌群进行了涂片与培养检查。检查结果表明，分叉杆菌与婴幼儿肠道的健康有密切关系。这种菌的减少与消失常常伴随临床上的腹泻的表现。⁽¹³⁾

对菌群失调的认识

实验及临床的观察指出，临床上的菌群失调状态是客观存在的。这种状态给临床医生提供了一个新的课题。他们对其诊断、治疗和预防都应给予以足够的重视。

菌群失调的诱因主要是抗菌素、同位素、激素、感染及慢性消耗性疾病等。其主要表现有如下三方面：

1. 比例失调：常住菌在数量上的比例失调，主要表现为慢性疾病状态，例如慢性腹泻，慢性气管炎等。比例失调又可分为三度：Ⅰ度为可逆性失调，去掉诱因，可自然恢复；Ⅱ度为慢性失调，诱因去掉后，失调状态仍然持续存在，如慢性腹泻；Ⅲ度为急性失调，常住菌为过路菌或外袭菌代替或常住菌某一成员极度过盛繁殖，在临床上表现为急性感染状态。⁽¹⁴⁾

2. 定位转移：常住菌由正常定居部位转移到非正常定居部位常可引起发病，例如在抗菌素诱导下所致的大肠杆菌性肺炎。

3. 自身感染：在激素及同位素的影响下或机体抵抗力下降时，正常菌群侵入深部组织和血行。

菌群调整疗法

对已确定的菌群失调状态，可采取以下三种调整措施：⁽¹⁵⁾

1. 营养调整：对常住菌减少或消失的病例给与适当的营养物质，例如大肠杆

菌消失时,可给与乳糖,肠球菌消失时可给予叶酸,分叉杆菌消失时给半乳糖果糖(Lactulose)、棉子糖及野芝麻糖等等。

2. 抗菌调整:根据药敏试验,抑制过盛菌,扶植不足菌。

3. 活菌制剂:活菌制剂,在国外比较盛行,如大肠杆菌制剂、乳酸杆菌制剂、分叉杆菌制剂等,有的国家还选择抗菌素依赖菌株,以利于其定植。我国目前实际应用的只有乳酶生(表飞明)一种。这是不能满足临床需要的。

近年来,我国还试制了分叉杆菌制剂、杜氏乳杆菌(阴道杆菌)制剂,在临床上也显示了一定疗效,目前正在临床观察中。^[15]另外,大连的研究人员还从土壤中分离出来一种需氧芽胞杆菌(DM423菌株)。^[16]用这种菌制成的活菌制剂(促菌生)对婴幼儿腹泻、急性肠炎与痢疾都具有较好的疗效。^[17,18]除了人医以外,在兽医界,促菌生也获得较好结果。^[19,20]

另外,湖北鄖阳地区曾用乳酪乳杆菌制成一种乳酪奶在临床上进行了比较广泛的试用,据临床观察证实,对婴幼儿腹泻、急性痢疾及肠炎均显示了一定疗效。^[21,22]

除了这些活菌制剂外,我们还需要更多的活菌制剂。我们相信,在不久的将来,会有很多活菌制剂出现。为了克服抗菌素临床应用中所出现的许多弊端,这将是很有必要的。

今年,我在6月27日至7月3日东京召开的第七届国际微生物学会会上把我们的工作向国际微生物学界做了报告。国际的学者,对我们的工作有很好的评价,他们说过去对中国的情况不了解,这次才知道中国在正常微生物群和微生物学方面也做了大量工作。英国的Trexler教授曾在许多场合推崇我们的工作,他认为我们开拓了一条新路。实际上,六十年代初期我们已做了饲养无菌动物的准备工作。^[23]

其次大会学术秘书小泽敦教授说,中国找到的DM423菌具有很重要的意义,值得深入研究。世界知名的正常微生物群专家光冈知足教授也说,把这株无毒的腊状芽胞杆菌应用于医学是一个新的进展,尽管欧洲曾有人把该菌应用兽医方面。

我报告后,有人要向我们学习,例如荷兰的Waaig教授就很恳切地向我求教。美国的13届国际肿瘤学会总秘书E. A. Mirand教授就邀我参加明年在美国西雅图召开的微生物学的肿瘤会议。

以上情况说明,我国在学术上完全有可能在不太久的将来赶上和超过世界先进水平。只要我们不懈地努力,这一目的是一定能达到的。

参 考 文 献

1. 魏曦、康白:一例鼠咬热的报告,中华医学杂志 48(6):376—377,1962
2. 魏曦、康白:鼠型链丝杆菌的分离与鉴定,中华医学会第八届大会报告论文,1950
3. 康白、范明远、魏曦:菌群失调与菌交替症,中华医学杂志 48(3):201—204,1962
4. 康白等:对家鼠携带痢疾杆菌的研究Ⅰ,微生物学报 6(3):369—392,1958
5. 康白、周惠民:从鼠体内分离出宋内氏痢疾杆菌的报告,中华医学杂志 (9):730—732,1957
6. 康白等:对家鼠携带痢疾杆菌的研究Ⅱ,微生物学报 6(3):569—572,1958
7. 康白、来匡逮:肠球菌在肠鼠结膜内对痢疾杆菌的拮抗作用,中华医学杂志 48(8):512,1962
8. 来匡逮等:对健康成人大便菌群的研究,未发表资料
9. 康白等:对肠菌群失调状态及调整菌群疗法的研究,未发表资料
10. 王蓉芳等:乳酪奶治疗肠炎痢菌321例的疗效观察,未发表资料
11. 康白等:对几种肠道病肠菌群状态的调查,未发表资料

悉生生物学的历史进程与展望

中国医学科学院实验动物中心 徐振国

中国医学科学院流行病学微生物学研究所 魏 曦

国际悉生生物学讨论会 (International Symposium on Gnotobiology) 已召开过六次。我国派代表团参加第七次国际悉生生物学讨论会这还是第一次。第七次国际悉生生物学讨论会于1981年6月29日至7月3日在日本东京召开。由中国医学科学院组成的中国医学科学院代表团以流行病学微生物学研究所名誉所长、中国微生物学会副理事长魏曦教授为团长, 卢耀增为副团长, 团员范明远、徐振国一行四人, 应邀出席了这次会议。参加本届讨论会的有日本、美国、瑞士、英国等17个国家共290余名代表。大会交流的大型论文63篇, 简明壁报(Poster Session)交流的论文91篇, 包括有关宿主微生物(细菌、寄生虫)关系方面的论文有66篇; 有关悉生生物学技术方面论文38篇; 有关悉生生物与免疫学、悉生生物与肿瘤方面的论文50篇, 共154篇。魏曦教授交流了关于人类肠道正常菌群的研究, 受到与会者许多代表的重视。

会议主席由日本东海大学医学部部长佐佐木正五担任。

一、悉生生物学历史回顾

会议开始后, 首先由日本、澳大利亚等7国代表介绍了本国悉生生物学研究的情况。悉生生物学以无菌隔离技术提供的各种实验动物为主要手段, 研究实验动物本身以及各种动物特别是动物与微生物之间相互依存和制约关系。19世纪末, 细菌学家巴斯德(Pasteur)根据生物在进化过程中, 动物与微生物之间的长期依存关系, 认为动物的生存没有微生物的存在是不可能的, 由此开始了无菌动物的培育工作。并做了不少实验动物与微生物的研究工作, 悉生生物学就是从这场论战中诞生了。

生物化学家尼开(Nenki)是巴斯德论说的反对者。但他并没有有力的证据来证明自己的论点。1895年凯特勒斯(Schottellius)倡议应用豚鼠进行无菌动物的培育。但未获得结果。1895年牛台尔和西尔夫得(Nuital and thierfelder)以牛奶为饲料把经破腹产获得的豚鼠的仔畜养活了十天。1898年凯特勒斯将鸡在无菌条件下养活了17天。1902年

12. 康白等: 对慢性腹泻病人肠菌群失调状态的研究, 中华医学杂志 50(3):137—141, 1964
13. 康白等: 对婴幼儿腹泻大便涂片革兰氏染色所见的观察, 未发表资料
14. 康白、魏曦: 正常菌群在防治肠道传染病中的意义, 流行病学杂志(1): 80—85, 1975.
15. 康白、魏曦: 菌群失调与菌群调整疗法, 中华医学杂志 63(4):249, 1977
16. 康白: 对DM423菌株在调整肠菌群失调状态中的作用的研究, 未发表资料
17. 金恒久、康白: 用促菌生治疗婴幼儿腹泻的疗效观察, 未发表资料
18. 温怡裘、康白: 用促菌生治疗几种肠道病的疗效观察, 未发表资料
19. 张沛、康白: DM423杆菌活菌制剂对羔羊腹泻的预防和治疗效果的报告, 未发表资料
20. 李文尊、康白: 促菌生对羔羊痢疾的治疗效果观察, 未发表资料
21. 耀超: 乳酪杆菌及其制剂的实验研究, 未发表资料
22. 王蓉芳等: 乳酪奶与抗菌素治疗婴幼儿腹泻的疗效观察, 未发表资料
23. 康白: 无菌动物研究的进展, 生物科学动态(4):38—39, 1964

凯特乐斯又将无菌鸡养活了三十天。1914年柯寒梯和瓦鲁门(Cohendy and Wallman)把无菌豚鼠养活到29天。1921年枯斯特(Kuster)育成无菌鸡。这段时间的研究集中的观察了肠道菌群与宿主之间的营养关系。至此,基本上明确了动物机体内在没有微生物存在的情况下也能生存的概念。由于无菌隔离器不完善,虽已获得无菌动物饲养的成功,但都不能长期饲养。

以后的数年内又有许多学者对无菌动物的饲养和无菌隔离器的改进做过努力,(如Glimstedt 1932; Balzam、木村廉、内藤, 1937)但都没有大的建树。

美国学者锐尼尔(Reyniers)在梯克斯(Trexler)和伊文(Ervin)的帮助下,终于在1943年制成新型全不锈钢大型无隔离器。1948年瑞典枯斯塔夫森(Gustafsson)也造成大型不锈钢无菌隔离器。1951年日本宫川正澄制成全闭锁式不锈钢无菌动物培育器,并于1957年改建成带有机械手的远距离操作的无菌隔离器。由于无菌动物饲养设施的改进,大型闭锁式隔离器问世,为无菌动物培育提供了必要的条件。终于在1948年锐尼尔和枯斯塔夫森同时报道了无菌大白鼠繁殖群培育成功。1959年普来森(Pleasant)报道育成了小鼠、家兔、豚鼠等无菌动物的群体。随后又育成了无菌鸡、猫、羊、狗等各种常用的无菌实验动物。

由于金属无菌隔离器笨重、造价昂贵、使用不便等缺点,无菌动物的研究工作仅限于几个大的有名望的实验室内,无法推广。1957年梯克斯(Trexler)试制成功塑料薄膜无菌隔离器。这种无菌隔离器具有透明性好、柔软、有弹性、造价低廉、协带方便、不形成负压减少了通过空气污染的机会、可根据需要做成不同形状,这就具有操作使用简单方便的优点,就大大方便了无菌动物饲养的推广。塑料薄膜无菌隔离器的出现,是无菌动物研究工作的一场伟大革命。使无菌隔离技术的推广在任何环境下都能采用成为可能。

随着科学的发展,向实验动物提出了更高的要求,就是如何消除实验动物自身疾病对实验结果的干扰。实践证明,除了通过破腹产所获得的仔畜,饲养在严格的隔离屏障内,没有另外的办法可以消除实验动物本身所带的传染性疾患。这样,为提高广泛使用的实验动物的质量所作的努力,也成为推动无菌动物发展的另一动力。使无菌隔离技术的运用,从研究微生物与宿主之间的相互依存关系,推广到高质量实验动物的生产。无菌动物(Germ free 简称GF动物)、单菌动物(由GF动物接种一种已知的微生物)、双菌动物、多菌动物(由GF动物接种两种或两种以上的已知微生物)、无特殊病原体动物(Special Pathogen Free由GF动物接种多种已知的微生物,但不含有特定的其他致病菌)总称为悉生动物(Gnotobiotic Animal)。悉生动物大规模地生产,广泛应用于医学研究的各个领域,取得了普通动物所无法发现的丰硕成果,这就丰富了无菌动物研究内容。近二十年来是无菌动物研究的飞跃阶段,形成了跨越生物学、医学、兽医学新的研究学科——悉生生物学(Gntobiology)。

老一代悉生生物学家,曾在斯德哥尔莫(1958)、阿姆赫尔斯(1963)、华盛顿(1966)进行过三次国际性悉生生物学讨论。1967年在日本又召开了一次规模较大的悉生生物学讨论。并正式定名为“第二届世界悉生生物学讨论会”(II International Symposium on Gnotobiology)。并确定每三年召开国际性悉生生物学讨论会一次。本届会议上,拟定

1984年将在美国召开第八届世界悉生生物学讨论会，美国米兰德 (E. A. Mirand) 当选为下届讨论会主席。

二、悉生动物在医学研究中的应用

悉生生物学的研究，离不开无菌动物，离不开无菌隔离技术。只能在这种条件下才有可能了解到单一微生物和机体之间的关系。多种微生物存于同一机体内，可以观察微生物与微生物之间与机体之间相互关系和菌群失调的现象。物理、化学等其他致病因子给某种悉生生物，则可观察机体、微生物、致病因子三方面相互作用关系。

由于悉生动物有上述优点，所以成为当前医学研究大力提倡使用的实验动物。开斯 (R. Kissig) 比较了使用各种动物所作的实验结果，提出在医学研究中，实验动物选择的原则 (见表)。

医学科学各研究领域应用不同类型实验动物的选择

研究领域	不 同 类 型 的 实 验 动 物						
	无 菌 动 物 (GF)		悉 生 动 物 (GN)		无特殊病原体动物 (SPF)		普通动物 (C. V.)
	短期实验	长期实验	短期实验	长期实验	短期实验	长期实验	
老年病学		+		+	-	-	×
微生物学	+	+	+	+	-	-	×
病毒学	+	+	-	-	-	-	
肿瘤学	+	+	+	+	-	-	×
免疫学	+	+	-	-	-	-	×
药理学	-	+	+	+	+	-	×
生化学	+	+	+	+	+	+	+
生理学	+	+	+	+	+		
营养生理学	+	+	+	+	-	-	×
遗传学		+		+	+		
病理学	+	+	+	+	+		
器官移植	+	+	+	+	-	-	
实验外科		+	+	+	+	-	

注 “+”可用或必须用“-”不可用或不适用“×”不用或不能用。摘自：R. Kissig

应用悉生动物在医学研究中所取得的成绩是巨大的。在微生物学和免疫方面的研究尤为突出。例如：维持机体适当免疫反应上，饲料以及饲料中的抗原物质，具有一定的重要性。研究中发现某些天然饲料能保护无菌大鼠免于因鼠伤寒菌的感染而死亡。纯化的低分子蛋白饲料，却没有这种作用。由此可以测定常栖菌群在机体内维持适当的特异性和非特异性免疫反应刺激作用。机体常栖菌群被除去后，就可能用无抗原性饲料，以测定天然饲料中已杀死的细菌和其他抗原性分子的免疫作用。这种经口慢性“菌苗接种”可能是对感染的抵抗能力的重要来源。而且当除外了机体大量的、不能控制的抗原刺激以后，对探讨“自然”抵抗力的机理以及在某种刺激以后所产生的免疫能力各阶段的发展情况，就非常容易了。这就有可能研究真正的原发性免疫反应的动态。当研究细胞间介免疫及其在恶性肿瘤预防上的作用时，更需要测定微生物在刺激体液和细胞间介免疫反应中的作用，对自家免疫病的进一步认识，也是借助于对微生物在激发自家免疫反应中可能作用的进一步探讨。这些深入细致的细菌学和免疫反应的基本机理，只有通

过悉生动物才能进行。

另外在对老年病学的研究。过去认为衰老起源于机体的内在因素或与饮食有关。但对老年无菌大白鼠进行动态观察，心、肾、肝、脑等重要脏器没有发现任何与年龄相关的病理改变，而对照组则相反。这样有可能发现衰老的真正的直接原因，从而寻找控制衰老发生的办法。也发现某些肠道微生物和胆汁酸的代谢有密切关系，它有促进胆汁酸排泄作用，降血液中胆固醇浓度，防止动脉粥样硬化的发生。为控制心血管疾病的研究，提出了新的研究课题。

在肿瘤发生学的研究中，发现某些微生物能使硝酸盐转化为亚硝酸盐，继而转化为亚硝胺，变成强致癌物。因此，普通动物应用亚硝胺非常容易地诱发消化道肿瘤，但在无菌动物则十分困难。相反无菌小鼠自发性尿道癌发病率很高。而普通动物则非常少见。这些事实，为肿瘤发生学的研究，发现了另外的途径。

无菌隔离技术应用于临床治疗，是最近几年中发展起来的。使患者居住于隔离器内可以避免周围环境对患者的感染，同时也可以避免某些传染病患者污染环境。特别是对肿瘤和血液病的治疗，由于消除了治疗过程中感染的问题，可以最大限度的使用抗癌药物或射线的剂量。从而提高了治疗效果。无菌隔离器内治疗烧伤、皮肤病、外科手术以及遗传性免疫缺陷的病人也被广泛采用。较开放性环境下治疗，获得了更好的效果。

三、无菌隔离技术的现状

从第七届世界悉生生物学讨论会上所获得的资料，以及在日本参观所看到的情况来看，无菌隔离器(isolator System)的制作已经达到比较完善的程度。有适用于实验室饲养少量动物的小型无菌隔离器，也有适用饲养场繁育用的大型无菌隔离器。有适用小动物的，也有适用于饲养包括猪牛狗等较大动物用的，有适用于临床治疗的，也有适用运送传染病人的。特点是根据不同的使用目的，其外型多种多样。在无菌隔离器的病房内装有电视、电话、饮食用具等。与普通病房并无两样，所不同的是有一层塑料薄膜与周围环境相隔绝。

悉生生物学研究，在我国很久以前就开始了。20多年前魏曦教授就进行了人类肠道正常菌群的研究。现代化悉生生物学研究是最近几年开始的。中国医学科学院药物研究所，从1979年建立了无特殊病原体环境，进行无胸腺鼠的培养。生物制品检定所1980年建立无特殊病原体环境，进行无胸腺小鼠饲养，获得小批量生产。为了创造悉生生物学研究条件，中国医学科学院实验动物中心从1980年开始进行无菌动物培育的研究，经过一年多的努力已经成功地仿造无菌隔离器，对适用喂养各种实验动物仔畜所需要的人工饲料进行了探索。饲养无菌动物所必须的技术操作，进行了培训。培育无菌家兔、豚鼠已取得了初步的结果。

克服菌群失调状态的研究新动向

大连医学院 康白

菌群失调是正常菌群生态学紊乱的一种表现。正常菌群在正常情况下，菌与菌，菌与寄主保持一个正常的生态平衡（Eubiosis）。这种平衡的紊乱，就将出现生态失调（Dysbiosis）。生态失调的临床表现一般叫作菌群失调或菌群失调症。实际上菌群失调这一术语并不确切，而合理的术语应当是正常微生物失调或生态失调。微生物失调可将所有正常微生物（细菌、真菌、病毒，以及微生物等）包括在内，而生态失调又可将微生物及其寄主全部包括在内。因此生态失调，最适宜于表征这一客观实际。

能引起生态失调的因素很多。对微生物的因素主要是抗菌素与其他化学疗法；对寄主的因素主要是免疫抑制剂、电离辐射、细胞毒类制剂、营养、慢性消耗性疾病等。对微生物的因素和对寄主的因素并不能截然分开，而是相互转化和相互影响的。这种情景，只有用生态学的观点，才能反映出来。

由于医学科学的发展，上述引起微生物生态失调的因素愈来愈产生了不可忽视的作用。事实上，菌群失调的临床表现愈来愈多，而且也愈来愈被人们所重视。

克服菌群失调状态的研究，在国内外，正方兴未艾。根据最近的资料，大致以下几个方面，值得引起我们注意。

1. 盲目的抗菌法：“解铃还须系铃人”。抗菌素引起的菌群失调，还要用抗菌素来对付。对在用抗菌素过程中所引起的二重感染或菌群失调，仍然用加大剂量的或扩大种类的抗菌疗法予以克服。这是当前一般医生所采取的方法。但是，这是一个没有足够理论根据的，而且非常危险的方法。这种危险的根源就在于盲目性，而且由于抗菌素的选择，使那些具有耐药性的潜在病原性微生物得以大量繁殖，从而造成不可收拾的局面。滥用抗菌素，引起菌交替，造成病人死亡的例子，是屡见不鲜的。例如白色念珠菌、葡萄球菌、绿脓杆菌、肺炎杆菌等的二重感染的病人，常常在抗菌素大量应用过程中失去了生命。

抗菌素，在克服菌群失调方面之所以无能为力，一方面在于其应用的盲目性，另一方面在于细菌的耐药性。细菌的耐药性是一个很难克服的大问题。现在已查明，细菌的耐药性是受耐性因子（Resistance factor）支配的。耐性因子是一种细菌的质粒（Plasmid）。这种质粒是细菌染色体外的遗传物质，可同步地随细菌繁殖流传于后代，也可在同类细菌中传递，即所谓耐药性传递。耐性因子，有单剂性（对一种抗菌素）和多剂性（对多种抗菌素）之分。具有耐性因子的细菌，可因抗菌素的选择而产生和发展。本来是少数菌，因抗菌素的应用消灭了敏感菌，而使其上升为大多数菌。水涨船高，愈用抗菌素，耐药性细菌愈多。这就是抗菌素不能根本解决问题的关键所在。国外有一个学者说得好，“由于有耐性因子的存在，细菌（微生物）与不断更新地生产