

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.09.014

素食人群与非素食人群肠道菌群分布对比分析*

曾钊宇, 刘兰星, 张 宇, 骆恒芳, 宋海涛, 潘成明, 胡森安, 陈 梅

广东省佛山市高明区人民医院检验科, 广东佛山 528500

摘要:目的 通过比较素食人群与非素食人群肠道菌群分布, 探讨饮食习惯与人体肠道菌群分布之间的关系。方法 将 50 例素食者纳入研究组, 50 例非素食者纳入对照组, 收集所有研究对象粪便标本, 测定粪便标本 pH 值, 使用经典的细菌分离培养和鉴定方法, 比较两组研究对象粪便标本的细菌总数及肠杆菌、肠球菌、拟杆菌、乳酸杆菌和双歧杆菌的数量。结果 研究组粪便标本 pH 值低于对照组粪便标本 pH 值, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组细菌总数差异无统计学意义($P > 0.05$), 研究组的双歧杆菌与乳酸杆菌数量明显少于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 从肠道益生菌数量的角度来看, 非素食饮食更有利于健康, 素食人群可通过服用微生态活菌制剂或适量增加蛋奶制品的摄入来增加肠道益生菌的数量, 以增强人体的抗病能力。

关键词:素食; 非素食; 肠道菌群

中图法分类号: R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)09-1196-04

Comparative analysis of intestinal flora distribution between vegetarian and non-vegetarian*

ZENG Zhaoyu, LIU Lanxing, ZHANG Yu, LUO Hengfang, SONG Haitao,

PAN Chengming, HU Sen'an, CHEN Mei

Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Gaoming District,

Foshan, Guangdong 528500, China

Abstract: **Objective** By comparing the distribution of intestinal flora between vegetarians and non-vegetarians, the relationship between diet habits and the distribution of intestinal flora in human body was discussed. **Methods** Collected fecal specimens from 50 vegetarians (study group) and 50 non-vegetarians (control group). Determined pH in fecal specimens, then isolated, cultured and identified bacteria by classical methods. Compared the total number of bacteria, and the amount of Enterobacter, Enterococcus, Bacteroides, Lactobacillus and Bifidobacterium between the two groups. **Results** Fecal pH in study group was lower than that in control group ($P < 0.05$). There was no difference on the total number of bacteria in the two groups ($P > 0.05$), the number of Bifidobacterium and Lactobacillus in study group were significantly lower than those in control group ($P < 0.05$). **Conclusion** According to the number of intestinal probiotics, non-vegetarian diet seems to be better for health. Vegetarians could increase the number of intestinal probiotics by taking microecologically viable preparations or increasing the intake of egg and milk products to enhance the body's resistance to disease.

Key words: vegetarian; non-vegetarian; intestinal flora

自 2003 年人类微生物组计划启动以来, 已经发现人体肠道中栖息约 1 000 多种细菌, 称为肠道菌群, 主要包括肠杆菌、肠球菌、拟杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌等菌属, 其数量约为一个健康人体细胞数的 10 倍, 其编码的基因数量超过人体所编码基因的 100 倍^[1-2]。它们通过菌群活动、代谢产物等来影响机体的代谢情况, 以维持人体内环境稳态^[3]。它们相互之间保持稳定平衡状态, 却又容易受到宿主年龄、遗传背景、膳食结构、生活环境及抗菌药物治疗等的影响, 以上因素可导致肠道菌群在数量、结构、菌群丰度及

生理状态方面表现出明显的差异^[4-5], 它们之间的这种差异受到国内外研究者的广泛关注。肠道菌群是一类作用非常广泛的互利共生微生物, 在疾病的发生、发展及治疗过程中发挥着不可替代的作用。可通过肠道特定微生物或菌群结构组成的变化来揭示肠道菌群、宿主与环境之间的相互关系。肠道菌群与肥胖^[6]、代谢性疾病^[7]、炎症性肠病^[8]、免疫失调疾病、传染性疾病^[9]及癌症^[10]等关系密切, 肠道微生态在上述不同疾病中的作用方式不尽相同, 并与病情发展、治疗方式及治疗效果联系密切。同时, 这种差异也提

* 基金项目: 广东省佛山市自筹经费类科技计划项目(2017AB001074)。

作者简介: 曾钊宇, 男, 副主任技师, 主要从事临床微生物和分子生物学检验研究。

示不同患者在疾病治疗、康复过程中应采取个体化的营养和药物治疗策略^[11],通过不同的膳食模式来改变肠道不同菌群的丰度和分布,进而改善人体的新陈代谢,促进患者康复,甚至可能在降低疾病、癌症的发生率方面发挥作用^[12-13]。由于历史的渊源,宗教的影响,人们观念的转变,全球 69 亿人口中有 2.5% 是素食者^[13]。据新华社报道,中国素食人口已经超过 5 000 万^[14]。2018 年在《自然》杂志发表的一篇文章中,以色列魏茨曼研究所发现,人体肠道菌群的组成主要取决于饮食和生活方式,遗传因素的作用非常小,饮食与肠道菌群之间相互影响,相辅相成^[15]。本研究通过对素食人群与非素食人群的肠道菌群作对比,找出两者之间的差异。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 50 例素食者纳入研究组,素食者定义为不吃任何动物食物的人,且素食饮食时间超过 6 个月,其中男 15 例,女 35 例;年龄 28~73 岁,平均(43.20±9.92)岁。50 例非素食者纳入对照组,非素食饮食时间超过 6 个月,其中男 15 例,女 35 例;年龄 26~71 岁,平均(41.10±8.97)岁。两组研究对象年龄及性别构成比比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。所有研究对象均无胃肠道疾病病史,采样前 1 个月均未使用抗菌药物、微生态活菌制剂和泻药。

1.2 仪器与试剂 MicroScan WalkAway40 全自动细菌鉴定及药敏仪,以及其配套鉴定板,需氧培养箱,厌氧培养袋,pH 试纸,加样器,EMB 琼脂平板(主要含有酪蛋白样的氨基酸混合物、酵母浸液、适量的无机盐、0.04% 的伊红 Y、0.006 5% 的美兰和供做试验的糖),PSE 琼脂平板(主要含蛋白胨、酵母浸粉、牛胆汁物、氯化钠、枸橼酸钠、枸橼酸铁铵、叠氮化钠、七叶苷等),改良 MRS 琼脂平板(主要含蛋白胨、牛肉膏粉、酵母粉、玉米淀粉、无水酸钠、枸橼酸钠、葡萄糖、乳糖、硫酸锰、无水酸镁等),BBE 琼脂平板(主要含胰蛋白胨、大豆胨氯化钠、牛胆粉、七叶苷、枸橼酸铁铵、氯化血红素、庆大霉素),LBS 琼脂平板(主要含酵母浸粉、胰酪蛋白胨、磷酸二氢钾、硫酸亚铁、硫酸镁、葡萄糖、乙酸钠、枸橼酸铵、硫酸锰等),琼脂平板均购自上海科玛嘉微生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 采用灭菌小棒挑取自然排出的新鲜粪便,放入无菌容器,30 min 内送检。

1.3.2 稀释 取 8 支无菌试管,编为 1~8 号,每管加入 0.9 mL 生理盐水,称取新鲜粪便 0.1 g 于 1 号试管中,振荡混匀,配成稀释度为 10^{-1} 的粪便混悬液;从 1 号管取 0.1 mL 粪便混悬液加入 2 号管,振荡混匀,配成稀释度为 10^{-2} 的粪便混悬液;再从 2 号管取 0.1 mL 粪便混悬液加入 3 号管,振荡混匀,配成稀释度为 10^{-3} 的粪便混悬液;按此方法连续稀释至 8 号管,得到稀释度为 10^{-1} 至 10^{-8} 共 8 个水平的粪便混悬液。

1.3.3 肠道菌群的分离培养及鉴定 在各个稀释度的粪便混悬液中取 0.05 mL,用分区划线方法分别接种至血琼脂平板(计算菌落总数)和选择性琼脂平板上,肠杆菌用 EMB 琼脂平板,肠球菌用 PSE 琼脂平板,双歧杆菌用改良 MRS 琼脂平板,拟杆菌用 BBE 琼脂平板,乳酸杆菌用 LBS 琼脂平板进行分离培养。需氧菌(37℃)培养 18~24 h,厌氧菌(37.5℃)培养 24~48 h(厌氧培养),如无细菌生长,继续培养至 1 周。

1.3.4 粪便 pH 值测定 将 pH 值试纸插入粪便中,30 s 内读取结果。

1.3.5 细菌形态观察及鉴定 观察平板菌落纯度及形态,涂片革兰染色观察菌株的纯度及菌落形态,然后将菌株接种至 3 mL 接种液(经高压消毒的去离子水),至少制成相当于 Mc-Fsrland 3 标准液但不高于 Mc-Fsrland 5 标准液的浑浊悬浊液。然后,用加样器在含有基底的每一个孔和 2 个控制孔中加入 50 μ L 细菌悬浮液。将已接种的鉴定板放置在 MicroScan WalkAway40 细菌鉴定与药敏仪中,35~37℃ 的条件下孵育 24 h。记录鉴定板相应细菌的鉴定结果数据。

1.3.6 菌落计数 活菌集落单位=(标本质量+稀释量)/标本质量 $\times$ 稀释度 $\times$ 菌落个数。菌落数量经对数换算,以湿重 $\log_{10}$ CFU/g 表示。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计分析,计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验或方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组肠道细菌数量比较 研究组与对照组细菌总数比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。研究组乳酸杆菌、双歧杆菌、肠杆菌数量明显少于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组拟杆菌与肠球菌数量差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1、2。

表 1 两组肠道细菌数量比较 ($\bar{x}\pm s, \log_{10}$ CFU/g)

组别	<i>n</i>	细菌总数	肠杆菌	肠球菌	拟杆菌	乳酸杆菌	双歧杆菌
研究组	50	11.48±0.28	7.97±0.59	6.78±0.71	8.76±0.54	9.65±0.48	9.13±0.43
对照组	50	11.53±0.31	8.45±0.82	7.01±0.64	8.44±0.79	10.86±0.54	9.89±0.68

表 2 两组肠道细菌的方差分析结果

细菌	变异来源	SS	DF	MS	F	P
细菌总数	总变异	17.82	99			
	组间	0.07	1	0.07	0.38	>0.05
	组内	17.75	98	0.18		
肠杆菌	总变异	101.20	99			
	组间	4.40	1	4.40	4.44	<0.05
	组内	96.80	98	0.99		
肠球菌	总变异	90.09	99			
	组间	1.33	1	1.33	1.46	>0.05
	组内	88.76	98	0.91		
拟杆菌	总变异	90.49	99			
	组间	2.56	1	2.56	2.84	>0.05
	组内	87.93	98	0.90		
乳酸杆菌	总变异	51.69	99			
	组间	36.61	1	36.61	214.07	<0.01
	组内	15.08	98	0.15		
双歧杆菌	总变异	64.35	99			
	组间	14.44	1	14.44	28.31	<0.01
	组内	49.91	98	0.51		

注:SS 为离均差平方和;DF 为自由度;MS 为均方。

2.2 两组研究对象的粪便 pH 值比较 研究组的 pH 值明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1。

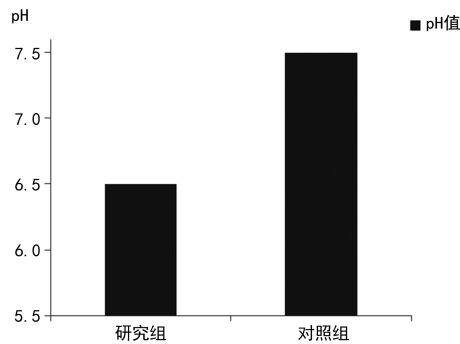


图 1 两组研究对象的粪便 pH 值比较

3 讨 论

本研究分析了两个群体,研究组($n=50$)为素食者,对照组($n=50$)为非素食者,为了保证两组间的差异最小化,对年龄和抗菌药物使用等因素进行了一些限制。本研究结果显示,肠道菌群数量最多的为乳酸杆菌,双歧杆菌次之,这说明肠道菌群大多数以厌氧菌为主。研究组的粪便标本细菌总数与对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),研究组粪便中的乳酸杆菌、双歧杆菌和肠杆菌明显少于对照组($P < 0.05$),肠球菌与拟杆菌差异无统计学意义($P > 0.05$)。

本研究结果还显示,研究组的 pH 值明显低于对照组,这与研究组长期进食高碳水化合物和高纤维含量食物有关。研究组肠道菌群有助于宿主消化食物,

菌群分泌的外酶对食物的降解会产生大量的短链脂肪酸,如醋酸酯、丙酸酯、丁酸盐等,这些脂肪酸使肠道形成酸性环境,导致 pH 值长期保持在 5.5~6.5 的同时,又反过来影响细菌的生长,如肠杆菌科细菌更喜欢在 pH 值 >6.5 的环境中生长,所以素食人群肠杆菌数量明显少于非素食人群。

国外研究学者发现,除了年龄、性别、饮食等因素外,微生物相互作用于不同肠道间的物质转运、不同细菌的定植密度和营养物质的供应,硫酸盐、胆汁酸及细菌的适应性都可能与肠道微生物菌群的组成和活性相关,这也是导致素食人群双歧杆菌数量相对较少的原因之一^[16-17]。另外,素食人群缺少蛋奶制品的摄入,可能导致乳酸杆菌和双歧杆菌等肠道益生菌进入人体机会的减少,这也是素食人群的乳酸杆菌和双歧杆菌数量较少的原因。

非素食人群有充足蛋奶制品的摄入,肠杆菌更喜欢蛋白质作为主要能量来源,这也解释了肠杆菌在对照组中含量较高的原因。在非素食性饮食中,细菌能通过蛋白质的水解来增加肠道的 pH 值。

乳酸杆菌和双歧杆菌是人体肠道主要的益生菌,肠道益生菌数量减少可能会导致机体抗病能力的下降,从肠道益生菌数量的角度来看,非素食饮食更有利于健康。素食人群可通过服用微生态活菌制剂或适量增加蛋奶制品的摄入来增加肠道益生菌的数量,以增强人体的抗病能力。

肠道菌群受到年龄、遗传背景、膳食结构、生活环境及抗菌药物治疗的影响,饮食是影响肠道菌群的一个重要因素。目前,对不同饮食习惯的人群使用常规的微生物培养方法对其粪便菌群的研究只发现了一小部分的差异,因为肠道菌群大部分都是厌氧菌,常规微生物培养方法只能培养鉴别出小部分的肠道细菌,随着分子生物学检测技术的出现,现在可更快速、敏感、准确地检出肠道细菌,这也是笔者下一步努力的方向。此外,人类对肠道菌群的研究几乎都是依赖于检测粪便标本,而粪便标本不能完全反映肠道菌群的状况,但利用粪便标本调查肠道菌群的好处是显而易见的,标本易获得,对研究对象无创。与国外的研究相比,本研究样本均来自中国人,得出的数据更有参考价值。但本次研究的样本量少,说服力不够,还需要更多的独立试验来证明本研究结论。

参考文献

[1] RAJILIC-STOJANOVIC M, DE VOS W M. The first 1 000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota[J]. FEMS Microbiol Rev, 2014, 38(5): 996-1047.
[2] YANO J M, YU K, DONALDSON G P, et al. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis[J]. Cell, 2015, 161(2): 264-276. (下转第 1201 页)

MRI 诊断 ARM 时,患儿不会受到辐射、创伤,且该方法应用范围广、分辨率较高,存在较多的优势。相关研究发现,MRI 对瘘管诊断的准确率为 76%^[12]。MRI 诊断 ARM 有较高的价值,另外,MRI 矢状位、T2WI、T1WI 成像可以对直肠盲端与 PC 线之间的关系进行清晰显示,且可以准确地对肛门窝与直肠盲端之间的距离进行测量,最终有利于对肛门直肠畸形的类型进行确定。

综上所述,倒立位 X 线片与 MRI 均是检查 ARM 的重要方法,但是 MRI 检查对患儿造成的创伤更小,检查结果更准确,可以替代倒立位 X 线片,临床利用价值较高,适宜临床上多加推广。

参考文献

- [1] 朱才娣,黄冰,周俊霖,等. MRI 远端结肠造影检查对先天性肛门直肠畸形造瘘术后瘘管的诊断价值[J]. 临床放射学杂志,2018,37(4):684-688.
- [2] 朱才娣,肖新兰,丁山,等. MRI 诊断先天性肛门直肠畸形的价值[J]. 放射学实践,2018,77(1):74-79.
- [3] 郭翠萍,杨昕,陈琬,等. MRI 在先天性肛门直肠畸形中的应用价值[J]. 实用放射学杂志,2018,68(3):423-425.
- [4] 刘菁华,杨秀军. 3. 0T 磁共振胆胰管成像在儿童先天性胆道畸形诊断中的价值[J]. 中华实用儿科临床杂志,2017,32(18):1425-1428.
- [5] 王琳,杜晶,方华,等. 乳腺病灶超声造影特征及定量分析

- 联合应用与动态增强 MRI 诊断效能的比较研究[J]. 中国超声医学杂志,2017,80(6):505-508.
- [6] AHMED H U,EL-SHATER B A,BROWN L C,et al. Diagnostic accuracy of multi-parametric MRI and TRUS biopsy in prostate cancer (PROMIS): a paired validating confirmatory study[J]. Lancet,2017,389(171):815-822.
- [7] 李晨,吴明晓,罗晓捷,等. 经直肠腔内超声及实时组织弹性成像在老年人直肠肿瘤良恶性诊断中的应用[J]. 中华老年医学杂志,2017,36(12):1335-1339.
- [8] 白玉作. 肛门直肠畸形治疗的热点问题探讨[J]. 第三军医大学学报,2018,40(23):2122-2125.
- [9] 吴杨,向波,谢小龙,等. 先天性肛门直肠畸形直肠前庭瘘患儿术后排便功能的随访和评估[J]. 第三军医大学学报,2018,40(23):2142-2146.
- [10] 李静,高威,左伟,等. 先天性肛门直肠畸形患儿父母生活质量和社 会支持研究进展[J]. 中华疾病控制杂志,2017,64(6):632-634.
- [11] 张敏,孙静,王至立,等. 先天性复杂肛门直肠畸形合并畸形的临床分析[J]. 第三军医大学学报,2018,40(17):1590-1594.
- [12] CAIRO S B,GASIOR A,ROLLINS M D,et al. Challenges in transition of care for patients with anorectal malformations[J]. Dis Colon Rectum,2018,61(3):390-399.

(收稿日期:2019-09-23 修回日期:2020-01-10)

(上接第 1198 页)

- [3] Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome[J]. Nature,2012,486:207-214.
- [4] 彭海玲,耿嘉蔚,王玲,等. 简述影响肠道菌群结构因素[J]. 中国保健营养,2016,26(15):39-40.
- [5] 邵加庆. 代谢性疾病防控的新大陆——肠道菌群[J]. 医学研究生学报,2016,29(1):16-20.
- [6] 罗再,曾巨丹,冯琛卓. 肠道菌群差异与健康的研究进展[J]. 中国病理生理杂志,2016,32(7):1336-1341.
- [7] 刘海龙,张维华,吴晓康. 肠道菌群在 2 型糖尿病发病作用中的研究进展[J]. 现代检验医学杂志,2017,32(4):157-159.
- [8] 闫一帆,姜敏,孙明军. 炎症性肠病与肠道菌群[J]. 国际消化病杂志,2015,52(2):84-87.
- [9] 郭慧玲,邵玉宇,孟和毕力格,等. 肠道菌群与疾病关系的研究进展[J]. 微生物学通报,2015,42(2):400-410.
- [10] 李海燕,初龙,李伟,等. 肠道菌群与癌症关系研究进展[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2016,36(6):477-479.
- [11] 张旭光,才绍江,王岚,等. 不同膳食模式对个体代谢和肠道菌群影响的研究进展[J]. 中华内分泌代谢杂志,2016,32(2):165-170.

- [12] ZACKULAR J P,BAXTER N T,IVERSON K D,et al. The gut microbiome modulates colon tumorigenesis[J]. mBio,2013,4(6):e00692-e00713.
- [13] KIM M S,HWANG S S,PARK E J,et al. Strict vegetarian diet improves the risk factors associated with metabolic diseases by modulating gut microbiota and reducing intestinal inflammation[J]. Environ Microbiol Rep,2013,5(5):765-775.
- [14] 佚名. 素食者与素食食品浪潮[J]. 新经济导刊,2014,14(11):78.
- [15] ROTHSCCHILD D,WEISSBROD O,BARKAN E,et al. Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota[J]. Nature,2018,555:210-215.
- [16] ENCK P,ZIMMERMANN K,RUSCH K,et al. The effects of ageing on the colonic bacterial microflora in adults[J]. Z Gastroenterol,2009,47(7):653-658.
- [17] ENCK P,ZIMMERMANN K,RUSCH K,et al. The effect of maturation on the colonic microflora in infancy and childhood[J]. Gastroenterol Res Pract,2009,2009:752401.

(收稿日期:2019-09-13 修回日期:2020-01-12)