文章编号:1000-5404(2007)04-0321-03

论著

细菌潜生体与IBS关系的初步研究

刘俊康,闫国华,章荣华,徐启旺 (第三军医大学医学检验系生物波研究室,重庆 400038)

提 要:目的 探讨肠道细菌潜生体(cryptic growth cell, CGC)与肠易激综合征(IBS)的关系。**方法** 应用显微培养结合形态观察等方法对IBS患者的粪便标本进行CGC检测,并在实验室进行CGC诱导产生和体内定植的模拟研究。**结果** IBS患者粪便标本中常存在大量CGC并可在体外传代;在发病期间,其粪便标本中CGC出现明显的自溶现象。模拟实验显示IBS患者常使用的抗生素多可诱导CGC形成和体内定植。**结论** 初步可推断CGC与IBS的发病有一定联系。

关键词: 生物波;肠易激综合征;细菌潜生体;抗生素
中图法分类号: Q-06;R363.2;R378.2 **文献标识码:** A

Relevance between bacterial cryptic growth cell and irritable bowel syndrome

LIU Jun-kang, YAN Guo-hua, ZHANG Rong-hua, XU Qi-wang (Research Center of Biowave, Department of Laboratory Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between bacterial cryptic growth cell (CGC) and irritable bowel syndrome (IBS). **Methods** The techniques of micro-culture and morphological observation were employed in examination of the CGC in feces specimens of patients suffering from IBS. Furthermore, the animal monitoring tests was applied in the aspects of CGC formation under inducing factors and colonization at local intestinal mucus. **Results** A great deal of CGC could be observed in the feces of IBS patients and exhibited continuous proliferation characteristics regardless of using or not using antibiotics. And the CGC in feces showed auto-lysis features when the patients suffered from the disease. The monitoring tests demonstrated that the antibiotics often used presently to IBS patients could induce the formation and colonization of intestinal bacterial CGC. **Conclusion** Based on the experimental and clinical data, we presume that there is a correlation between intestinal bacterial CGC and IBS.

Key words: biological waves; irritable bowel syndrome; bacterial CGC; antibiotics

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种严重危害人类健康的功能性疾病[1],以排便习惯的改变伴随腹痛为核心症状,以排便后腹痛缓解为重要特征[2]。起病隐匿,症状反复发作或慢性迁延,病程可达数年至数十年。其发病机制迄今未有定论。生物波研究较早地关注这一临床上的疑难问题,并开展治疗药物的研究[3]。本研究以生物波理论[4]为指导,以临床患者粪便标本检测结合实验室研究,探讨IBS发病与肠道细菌潜生体(cryptic growth cell, CGC)之间的关系,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

试剂:抗生素选用氟哌酸、小檗碱、呋喃唑酮、庆大霉素,购自第三军医大学西南医院药房。细菌定植检测使用0.01%高锰酸钾、0.1%美蓝等。

仪器:显微摄录像系统:主要由Olympus显微镜、Panasonic录像机、Dell计算机、VS2000采集卡组成。

动物:清洁级Wistar大鼠20只,雌雄不限,体质量220~250 g,由本校实验动物中心提供。

1.2 方法

1.2.1 IBS患者粪便标本中CGC检查方法 选择患IBS 5~20年的患者,收集其粪便标本,染色镜检CGC。显微培养观察其CGC体外稳定传代特征:将粪便标本稀释后,涂布在培养

基金项目:重庆市自然科学基金(CSTC,2006BB5068)
Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC, 2006BB5068)
作者简介:刘俊康(1968-),男,山西省忻州市人,博士,副教授,主要从事生物复杂性方面的研究。电话:(023)68752191,E-mail: tmmubc@163.com
通讯作者:徐启旺,电话:(023)68752191
收稿日期:2006-03-29;修回日期:2006-08-10

基上，以显微摄录像系统定位 CGC，从培养 4 h 起观察 CGC 生长情况。

1.2.2 体外诱导 CGC 形成方法 以 K-B 纸片法进行肠道菌药敏试验，抗生素选用氟哌酸、小檗碱、呋喃唑酮、庆大霉素。24 h 后从纸片周围挑取菌苔，涂片检查细菌形态，观察 CGC 形成情况。

1.2.3 体内诱导 CGC 形成实验方法 选用临床上较常用的氟哌酸，以人用量换算出大鼠用量，加在饮水中应用，8 h 取粪便标本涂片染色观察细菌形态改变。肠壁上定植 CGC 检测，按丛延广等[5]的方法进行。

2 结果

2.1 IBS 患者粪便标本中 CGC 检查结果

IBS 患者粪便标本中 CGC 检查结果见图 1，显示有大量纤细状细菌 CGC，一些染成蓝紫色。与其中共同存在的细菌繁殖体相比，长度是后者的十几倍到几十倍，着色较浅显示自溶状态。发病期间粪便中 CGC 检查结果见图 2，染成红色部分显示断裂群集、自溶明显。



图 1 IBS 患者粪便标本中 CGC （革兰染色 ×1 000）

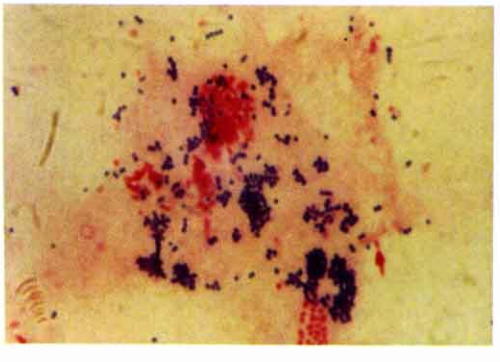


图 2 IBS 患者发病期间粪便标本 CGC （革兰染色 ×1 000）

2.2 IBS 患者粪便中 CGC 体外传代培养结果

患者粪便中 CGC 在体外传代培养形成的菌落，包含大量纤细状 CGC，见图 3。

2.3 抗生素体外诱导 CGC 形成结果

肠道细菌在氟哌酸和呋喃唑酮作用下其药敏纸片抑菌圈内和边缘可见大量 CGC，而用小檗碱、庆大霉素者则基本没有，见图 4。



图 3 IBS 患者粪便中 CGC 体外传代形成菌落
（相差显微镜 ×1 000）

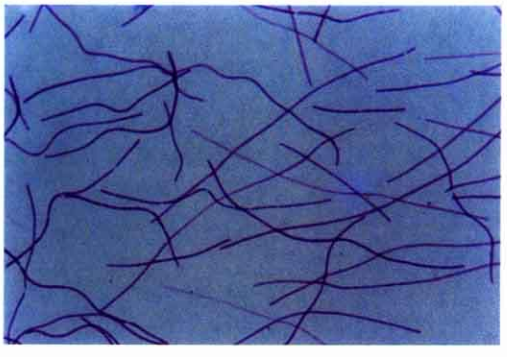


图 4 氟哌酸体外诱导 CGC 形成结果 （革兰染色 ×1 000）

2.4 氟哌酸大鼠体内诱导 CGC 形成定植结果

应用氟哌酸后 24 h，大鼠回盲部肠黏膜原位有大量 CGC 定植，见图 5。

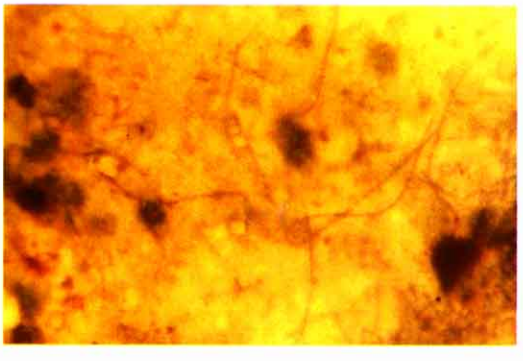


图 5 大鼠回盲部肠黏膜原位 CGC 定植结果
（美蓝高锰酸钾复合染色 ×1 000）

3 讨论

有关肠道感染与 IBS 研究较多，文献[6]报道有痢疾史的患者易患 IBS，强调了感染与肠道应激状态

的关系。本研究侧重于临床上对感染患者以及常见的以腹痛腹泻为主要症状的患者的治疗所可能带来的影响。从接触到的IBS患者来看，其中约70%有长时间的抗生素服用史，抗生素种类涉及小檗碱、氟哌酸、呋喃唑酮、庆大霉素等。本实验表明了以氟哌酸为代表的目前临床常用药物多可诱导CGC，而与正常人不同的是IBS患者粪便标本中也多能检出CGC，并且在症状加重时CGC有明显的断裂、自溶现象，这两个层次上的对应关系，强烈地提示肠道CGC定植和自溶与IBS发病有关。本实验结果表明抗生素诱导的CGC有细胞壁不完整的表现，在这种结构特点上类似L型细菌，CGC概念的提出是基于这种生长状态的细菌在合适生长条件下有返祖的生长特征，这一点是L型细菌缺乏的。关于CGC来源菌属问题，已有研究探讨[7]，本研究未做交代，意在从肠道菌群的总体上考察细菌状态的变化与IBS发病的关系。针对应用抗生素后形成CGC的细菌来源种属，Maxwell等[8]指出应用抗生素后功能性肠病发病率显著上升。结合本研究结果，则其合理的推论应当是诱导CGC产生的抗生素应用后引起功能性肠病的发病率上升。关于CGC如何引起IBS发病，目前研究较少。CGC较长时间定植，对局部细胞活性的影响是一个重要方面[9]。再者，IBS发病过程中CGC出现自溶现象，提示内毒素等物质的释放也许是一个重要的中介因素。内毒素可引起IL-1和CRF的释放，进而引起脑-肠轴的改变[10]，这方面有待进一步研究。

参考文献：

[1] Thompson W G, Heaton K W, Smyth G T, *et al*. Irritable bowel syndrome in general practice: prevalence, characteristics, and referral [J]. Gut, 2000, 46(1): 78-82.

[2] 潘国宗，鲁素彩，韩少梅. 肠易激综合征症状学诊断标准的研究[J]. 中华内科杂志, 1999, 38(2): 81-84.

[3] 徐启旺. 肠易激综合征的细菌潜生体发病机制：细菌潜生体与肠易激综合征和炎性肠病的关系[J]. 科学·中文版, 1998, (10): 59-61.

[4] Liu J K, Chen J, Xu W W. Bioware[J]. Biowave Science & Aplied Oncology, 2006, 1(1): 8-9.

[5] 丛延广，刘俊康，袁泽涛，等. 潜生体定植的原位观察技术研究[J]. 中国微生态学杂志, 2000, 12(2): 70-71.

[6] 潘国宗，鲁素彩，柯美云，等. 北京地区肠易激综合征的流行病学研究：一个整群、分层、随机的调查[J]. 中华流行病学杂志, 2000, 21(1): 26-29.

[7] 章荣华，闫国华，刘俊康，等. 肠道细菌潜生体形成的诱导因素实验分析[J]. 实用诊断与治疗杂志, 2006, 20(6): 391-395.

[8] Maxwell P R, Rink E, Kumar D, *et al*. Antibiotics increase functional abdominal symptoms[J]. Am J Gastroenterol, 2002, 97(1): 104-108.

[9] 窦　君，闫国华，刘俊康，等. 肠易激综合征细胞功能实验室诊断指标的建立[J]. 胃肠病学, 2003, 8(3): 154-158.

[10] Dinarello C A, Ikejima T, Warner S J, *et al*. Interleukin 1 induces interleukin 1. I. Induction of circulating interleukin 1 in rabbits *in vivo* and in human mononuclear cells *in vitro* [J]. J Immunol, 1987, 139(6): 1902-1910.

（编辑　汪勤俭）

欢迎订阅2007年《中国神经再生研究(英文版)》杂志

《中国神经再生(英文版)》(Nerve Regeneration Research)，是面向神经再生研究与专业人员，有特色、有品位、高层次、高水平、高质量的全英文版的学术期刊。2006年创刊，CN 11-5422/R，ISSN 1673-5374，国内外公开发行，月刊，A4开本，96页/期。

本刊关注国际神经再生研究方面的热点和重大应用性课题，跟踪国际神经再生研究方面高科技的前沿成果。创刊后便被世界著名出版商荷兰Elsevier Science出版集团的Science Direct On Site(SDOS)数据库全文收录，并被中国核心期刊遴选数据库、中国学术期刊全文数据、中文科技期刊数据库、《中国学术期刊文摘(英文版)》、中文生物医学文献数据库收录。

本刊重视神经再生研究领域具有前瞻性、创造性和较高学术水平的基础研究、应用基础研究以及相关临床研究，力求每一篇文章都清楚阐述与他人、他篇的不同之处。从接到投稿至录用通知为30天，一般稿件作者修回到发表为90天，欢迎投稿。15元/册，2007年邮发代号8-585。

订阅信箱：沈阳1234邮政信箱　　邮　　编：110004

投稿E-mail：sjzs101@163.com；sjzs102@163.com　　咨询E-mail：sjzs100@163.com

电　　话：(024)23381085　　传　　真：(024)23394178

更多信息详见www.sjzsyj.com