

• 临床检验诊断应用实践专题 •

培养组学在疾病微生物组研究中的应用与进展

许佳^{1,2}, 张应淼¹ 综述, 卢忠心^{1,2△} 审校1. 华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院检验科, 湖北武汉 430014;
2. 湖北中医药大学检验学院, 湖北武汉 430065

摘要:随着人类微生物组计划的提出与实施,微生物菌群在疾病发生发展中的作用越来越被重视。测序技术被广泛应用于相关研究中,并取得了巨大进展,但该技术也存在检测阈值较高及无法获得活菌等不足。作为一门新兴技术,培养组学通过采用不同培养条件(如温度、pH 值、氧含量、营养物质和抗菌药物等)来模拟细菌的生存环境,以尽可能多地分离培养不同细菌群落,并对相应细菌进行准确鉴定。这一技术被广泛应用于不同疾病的微生物菌群特征研究中。该文综述了培养组学在各类疾病研究中的应用,并探讨了其与其他组学技术结合在微生物菌群研究中的良好前景。

关键词:培养组学; 测序技术; 微生物组; 疾病研究; 临床应用

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.17.006

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2025)17-2079-07

文献标志码:A

Applications and advances of culturomics in disease microbiome research

XU Jia^{1,2}, ZHANG Yingmiao¹, LU Zhongxin^{1,2△}

1. Department of Medical Laboratory, the Central Hospital of Wuhan, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430014, China; 2. School of Laboratory Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430065, China

Abstract: With the proposal and implementation of the Human Microbiome Project, the role of microbial communities in the occurrence and development of diseases has been increasingly valued. Sequencing technology has been widely applied in related research and has made great progress. However, there are also shortcomings such as high detection thresholds and inability to obtain viable bacteria. As an emerging technology, culturomics aims to isolate and cultivate as many different bacterial communities as possible by simulating the survival environments of bacteria and employing various culture conditions, and accurately identify the corresponding bacteria. This technique is widely applied in the study of microbial community characteristics across different diseases. This paper reviews the application of culturomics in disease research and explores its promising integration with other omics technologies in microbiome research. This technology is widely used for studying the microbial community characteristics of different diseases. This article reviews the application of culturomics in various disease research and explores its promising prospects in microbial community research when combined with other omics techniques.

Key words: culturomics; sequencing technology; microbiome; disease research; clinical applications

随着人类微生物组计划的提出与实施,人体内微生物菌群的基本组成及其对健康和疾病的影响引起了研究者们的广泛关注^[1]。微生物检测方法发展迅速,从传统的微生物培养技术到如今被广泛应用的 16S rRNA 测序和宏基因组测序等高通量测序技术,使得人类对微生物的研究不断深入。然而,传统的细菌培养方法不仅耗时长且阳性率较低,对于生长缓慢或生长条件苛刻的细菌,往往难以实现及时、准确地鉴定。虽然高通量测序技术能够在不依赖培养条件

的情况下,直接对样本中的 DNA 或 RNA 进行测序,并准确分析菌群特征及进行功能预测,但其仍然存在一些不足之处,例如检测阈值较高,可能无法检出一些丰度较低的细菌,且易受环境微生物的干扰,以及 DNA 提取方法和扩增效率的影响,同时也难以有效鉴别菌群状态,这些因素都降低了测序结果的准确性^[2]。因此,随着培养技术的革新和基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)的广泛应用,培养组学应运而生。这一新兴研究方法在微生物

△ 通信作者, E-mail:lzx71@yahoo.com.

网络首发 <https://link.cnki.net/urlid/50.1176.R.20250528.2201.002.html>(2025-05-29)

研究领域展现出了良好的前景。为此,本文将探讨培养组学在不同疾病研究中的应用进展,涵盖肠道、呼吸系统、消化系统、泌尿生殖系统和皮肤系统疾病等的微生物组研究,以及培养组学与其他组学技术结合在微生物菌群研究中的前景。

1 培养组学概述

“微生物培养组学”这一概念首次由 LAGIER 等^[3]于 2012 年提出并应用于人体肠道菌群研究中。研究者基于不同培养条件(如温度、pH 值、氧含量、营养物质和抗菌药物等)来模拟细菌生存环境,以尽可能多地分离培养不同细菌群落,并通过 MALDI-TOF MS 和 16S rRNA 测序技术,对相应细菌进行准确鉴定。其目标为通过优化培养条件,分离传统培养方法难以培养的微生物,扩大可培养微生物的范围,同时为微生物研究提供丰富的菌株资源。通过分离活菌,研究者可以进一步研究相关菌株的代谢活性、致病性

及其与宿主之间的相互作用^[4]。

1.1 培养组学的技术流程 培养组学的技术流程是一个系统化的操作过程,研究者需要根据研究目标收集不同类型的样本(如唾液、粪便、分泌物或组织样本等),并对样本进行过滤、离心、稀释或增菌等预处理。随后,将预处理过的样本均匀涂布于合适的培养基,置于不同温度、氧含量等环境中进行培养,待长出单克隆菌落后,分别挑取单克隆菌落进行分离和纯化培养,最后利用 MALDI-TOF MS 和 16S rRNA 测序技术对分离的细菌进行鉴定,并保存相应菌株。此外,对于分离培养得到的临床少见菌、罕见菌或疑似细菌新种,还可以利用全基因组测序技术,在菌株水平上研究特定菌株的基因组成和功能特征,为后续研究其与宿主之间的相互作用提供理论依据。培养组学的技术流程见图 1。

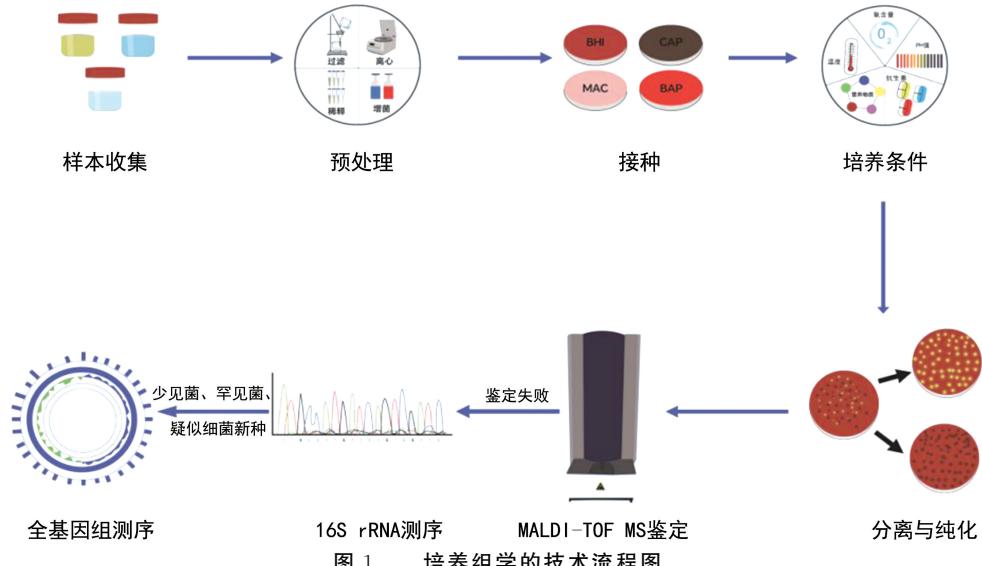


图 1 培养组学的技术流程图

1.2 培养条件的优化 培养组学的核心在于通过优化培养条件,突破传统培养方法的局限性,从而分离培养出更多种类的微生物,尤其是传统培养方法难以培养出来的微生物。目前,对于培养条件的优化主要包括以下 5 个方面,(1)温度:不同微生物对温度的需求差异较大。大多数人类肠道细菌在 37 ℃ 下生长最佳,但某些细菌可能在较低或较高的温度下表现出更好的生长特性。研究者可通过设置不同的温度梯度(如 25、37、42 ℃ 等),以覆盖更广泛的微生物种类;(2)pH 值:微生物对 pH 值的适应性各异。例如,胃部微生物偏好酸性环境(pH 1.5~3.5),而肠道微生物则适应中性或弱碱性环境(pH 6.5~7.5)。研究者可通过设置培养基不同的 pH 值(如 pH 5.0、6.0、7.0、8.0 等),以支持不同微生物的生长;(3)氧含量:微生物的生长对氧气的需求差异显著,培养条件下氧气的调控对于分离特定类型的细菌至关重要,研究者

可设置需氧培养、厌氧培养和微需氧培养 3 种不同氧含量的培养条件;(4)营养物质:微生物的生长需要各种营养物质,包括碳源、氮源、无机盐和生长因子等。根据目标微生物的特性,研究者可以调整培养基的成分,以促进特定细菌的生长;(5)抗菌药物:为了选择性培养某些微生物,研究者常在培养基中添加抗菌药物(如万古霉素、氨苄青霉素等),以抑制竞争性微生物的生长^[4-5]。

LAGIER 等^[3]通过结合不同的培养条件,最终采用 212 种不同的培养条件,从 3 份人类粪便样本中成功分离培养出 340 种细菌,其中包括 174 种此前从未在人体肠道中分离出的细菌和 31 个细菌新种。同时,LAGIER 等^[3]还利用焦磷酸测序技术对相应样本进行了宏基因组分析,鉴定出 698 种细菌。令人惊讶的是,在通过培养组学鉴定的 340 种细菌中,仅有 51 种细菌通过测序技术得到确认,这表明培养组学在一

定程度上能够与宏基因组学互补，并在推动人体微生物菌群研究中发挥重要作用。

培养组学的应用极大地丰富了人体可培养细菌样本库。据报道，仅在 2018—2020 年，从人体分离培养的细菌种类数量就从 2 776 种增加至 3 253 种，其中绝大多数物种(63%)是通过培养组学方法分离鉴定的^[6]。除了 LAGIER 等^[3]，DUBOURG 等^[7]也通过培养组学从临床样本中分离并鉴定了大量细菌新种。这些研究充分证明了培养组学在临床研究中的不可或缺性。此外，测序技术难以有效鉴别菌群状态，这使得研究者们无法在菌株水平上进行某些特殊细菌的功能探索。而培养组学则可以很好地弥补这一不足，利用培养组学，研究者们不仅可以对特定样本的微生物菌群进行分析，还能分离培养得到活菌，这使得在菌株水平上研究特定细菌的功能及其与疾病的关系成为可能。

2 培养组学在不同疾病研究中的应用

培养组学最初用于研究人类肠道微生物的组成，随后逐渐扩展到呼吸系统、消化系统、泌尿生殖系统和皮肤系统疾病等多个领域。在不同疾病的微生物菌群特征研究及其诊断与治疗中，培养组学展现出巨大的潜力。

2.1 在肠道微生物组研究中的应用 肠道微生物参与人体多种生理过程，如食物消化、营养吸收和代谢调节等，其失衡与多种疾病的发生密切相关。尽管已有大量关于肠道菌群的研究，部分肠道微生物的可培养性及其具体作用机制仍是科学界的未解之谜。培养组学凭借其独特的优势，被广泛应用于肠道相关疾病微生物组的研究。

LIU 等^[8]通过对 239 份人类新鲜粪便样本进行培养分析，建立了一个可公开访问的人肠道菌株资源库(hGMB)，其中包含大部分常见和优势人类肠道微生物菌种，为进一步研究肠道菌群与疾病的关系提供了宝贵的菌株资源^[8]。刘莹等^[9]首次基于培养组学，利用光密度确定了最佳细菌接种量，探索出一种适用于临床的肠道菌群培养及鉴定方法。该方法不仅操作简便、成本低廉，还能有效培养和鉴定人体肠道中的优势菌群，并对肠道菌群相关指标进行分析，在治疗肠道菌群失调和指导临床抗菌药物使用方面显示出良好的潜力。众所周知，肠道存在大量益生菌，它们在维持肠道微生态平衡和改善疾病方面发挥着独特作用。WANG 等^[10]采用培养组学方法从人体粪便中分离纯化出 31 株细菌，进一步筛选出 3 株潜在的益生菌候选菌株，提出可对其进行深入研究并探索其在临床上的潜在作用。抗菌药物的过度使用容易引起肠道微生物失衡，导致艰难梭菌等病原体定植，甚至可能造成反复感染或死亡。尽管粪便微生物组移植可以用于治疗艰难梭菌感染(CDI)，但移植后的多重耐药问题仍然很棘手。对此，GHIMIRE 等^[11]通过

培养组学分离出肠道微生物，并测试 256 种细菌组合，筛选出了可以抑制体内艰难梭菌的特定组合，并有望作为对抗 CDI 的非抗菌药物替代方案。这一研究加深了人们对艰难梭菌与肠道微生物相互作用的理解，并有助于制订详细的细菌疗法。

2.2 在呼吸系统疾病微生物组研究中的应用 呼吸系统疾病是一类常见的临床疾病，其发生机制复杂多样。随着 MALDI-TOF MS 技术的快速发展，研究者们逐渐开始运用培养组学技术对呼吸系统疾病与微生物菌群之间关系进行探索。

肺部存在多种微生物菌群，这些菌群在维持肺部免疫稳态及调节呼吸系统疾病的进展中发挥着重要作用。不同肺部疾病的微生物组成存在显著差异，这些差异可能与疾病的发生、发展和治疗效果密切相关^[12-14]。为深入了解人体肺部可培养的细菌，刘月姣等^[15]利用培养组学技术对 3 例肺部肿块患者的双侧肺泡灌洗液样本进行了分离培养。分析结果显示，培养组学获得的结果与之前的测序结果基本一致，但培养组学能够在一定程度上对测序结果进行补充，将细菌鉴定至菌种水平，并获得活菌，这在研究重点菌株与肺部疾病之间的关系方面具有重要意义。另外，SUN 等^[16]通过结合培养组学与 16S rRNA 测序技术，对 25 例肺癌患者的唾液及癌侧和健侧的肺泡灌洗液(BALF)样本进行了细菌多样性和丰度的研究，发现癌侧微生物菌群发生了显著改变，其多样性与研究部位和肺癌的病理分型有关。同时，发生转移患者 BALF 样本中假单胞菌属显著高于无转移患者，推测其可能促进肺癌的远处转移。此外，该研究还发现布鲁氏菌在癌性肺中明显富集，提出布鲁氏菌可能作为肺癌的生物标志物，这些发现为肺癌的诊断与治疗提供了新的线索。国外一项研究也表明，培养组学有助于更好地理解个体肠道菌群与肺结核之间的关系。与肺结核患者相比，非肺结核患者肠道细菌多样性更高。此外，该研究证实了某些肠道微生物菌群(如酪黄肠球菌和蒙氏肠球菌)对肺结核的保护作用，提出肠道微生物菌群可能调节肺结核的表现，能够作为常规抗菌药物的益生菌佐剂，辅助治疗肺结核^[17]。

鼻咽癌是呼吸系统常见的肿瘤之一，其详细病因尚未完全明确，可能与遗传、EB 病毒感染和环境等多种因素有关。LIAO 等^[18]在研究口腔微生物在鼻咽癌中的作用机制时，采用培养组学对 34 例鼻咽癌患者和 14 例对照者的鼻咽-口腔微生物进行了培养，证实了鼻咽癌患者中存在具核梭杆菌和中间普雷沃氏菌从口腔迁移至鼻咽部的情况，并进一步确定了迁移的微生物与鼻咽部 EB 病毒水平显著增加相关，同时对肿瘤局部微环境会造成一定影响。这一发现使得人们对鼻咽癌发病机制有了更深入的了解，研究者提出改善口腔卫生、鼻咽冲洗或使用益生菌等阻止口腔微生物向鼻腔迁移的治疗策略，这些方法可能成为预

防鼻咽癌的有效措施。

2.3 在消化系统疾病微生物组研究中的应用 口腔作为消化道的起始部位,也是人体最大的微生物生态系统之一,包含着大量的微生物。这些微生物与宿主之间形成某种共生关系,维持口腔微生态平衡,对于预防和治疗消化系统疾病具有重要意义^[19]。有研究表明,培养组学有助于分离和培养罕见的口腔微生物,其与宏基因组等其他组学的持续整合可促进对口腔微生物的组成、基因表达及与宿主间的相互作用的进一步理解,为预防、诊断和治疗微生物组相关的消化系统疾病提供有力的证据^[20]。王冰等^[21]利用培养组学对口腔不同部位的微生物进行分离与培养,鉴定出包括 5 个潜在新种在内的 144 种细菌,并对口腔微生物菌群进行了详细分析,为口腔相关疾病的诊断与治疗提供了重要参考。MARTELLACCI 等^[22]将培养组学应用于牙龈和种植体周围微生物菌群分析,分离出大量栖息在口腔中的苛养微生物,并发现与牙周炎和种植体周围病变相关的微生物。这一发现为种植体周围炎的诊断和治疗提供了新的视角。此外,该研究还提出培养组学可作为个性化医疗的辅助诊断工具,未来应将培养组学结果与患者的临床状态结合起来分析,以便为相关疾病制订适宜的诊疗方案。

肝脏是人体最大的消化器官,参与机体新陈代谢、生物转化和激素合成等关键过程,肝脏相关疾病的发病机制一直以来都是研究的焦点。MBAYE 等^[23]利用培养组学等技术对 41 例非酒精性脂肪性肝炎(NASH)患者和 24 例健康对照者的粪便样本微生物菌群进行了分析,发现产内源性乙醇(EtOH)的波尔特氏肠道梭状菌和发酵黏液乳杆菌在 NASH 患者中明显富集,提出这些不同的产 EtOH 的细菌可能在 NASH 疾病进展中发挥着特殊作用,并可作为 NASH 的诊断标志物和治疗靶点。另一项研究也通过培养组学分析了 8 例慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染患者和 10 例健康对照者的粪便样本中的微生物组成,共鉴定出 340 种细菌,发现梭菌属在 HBV 感染患者中明显富集,并从 HBV 感染患者样本中分离出两株产乙醇的波尔特氏肠道梭状菌,分析其可能与乙型肝炎疾病进展相关^[24]。这些研究进一步强调了培养组学在探究微生物菌群与肝脏相关疾病之间关系中的重要性。

DAHAL 等^[25]通过培养组学与测序技术,对活动性克罗恩病(CD)、溃疡性结肠炎(UC)和缺血性结肠炎(IC)患者的肠道微生物菌群进行了分析,发现与健康对照者相比,疾病状态下的肠道微生物菌群多样性和物种丰度均有所下降,以普氏栖粪杆菌和普雷沃氏菌属的丰度下降最为明显,而一些潜在致病菌如屎肠球菌、粪肠球菌和大肠埃希菌丰度则有所增加。进一步分析表明,沙克乳酸杆菌和瘤胃联合乳杆菌的丰度分别在 CD 和 UC 患者中有所增加,而屎肠球菌、粪肠

球菌和大肠埃希菌丰度在 IC 患者中显著增加,提示这些细菌可能分别作为鉴别 CD、UC 和 IC 的生物标志物,有望为相应疾病的诊断提供新的依据。

2.4 在泌尿生殖系统疾病微生物组研究中的应用 随着各种组学技术的发展,以及对身体各系统微生物菌群研究的深入,微生物菌群在泌尿生殖系统相关疾病中的作用也引起了广泛关注。国外一项研究首次通过培养组学方法分析了男男性行为(MSM)人群的尿液微生物菌群,发现 MSM 人群中存在独特的微生物种群。这一发现增加了人们对 MSM 相关泌尿系统疾病的理解,并丰富了泌尿生殖系统感染的诊断方法。然而,该研究也指出,仍需进一步的研究来确定尿液微生物菌群是否随着时间的推移而稳定,以及这些微生物对泌尿生殖系统疾病的特定致病机制^[26]。

人体卵母细胞微环境是卵泡液,这对于卵母细胞的卵泡生长、排卵和成熟至关重要。为探究卵泡液中是否存在微生物及其对体外受精结果的影响,WEI 等^[27]通过培养组学与测序技术对相关样本进行了分析,证实卵泡液并非无菌,卵泡液中的微生物可能可以作为体外受精结果的预测因子,为体外受精的相关治疗提供依据。另一项研究使用培养组学比较了宫颈癌女性和非宫颈癌女性的宫颈微生物菌群,发现厚壁菌门在非宫颈癌女性中占主导地位,而宫颈癌女性则以厚壁菌门和变形菌门为主。该研究提出,微生物的组成及其相互作用对于维持宫颈微环境的平衡至关重要^[28]。女性阴道微生物受月经周期、年龄、怀孕、种族和抗菌药物使用等多种因素的影响,在机体代谢和免疫功能方面发挥着关键作用,并与多种影响女性健康的疾病相关^[29]。ABOU 等^[30]采用 35 种不同的培养条件探索单个女性阴道样本的微生物菌群的细菌多样性,共培养出 206 种细菌,包括 65 种此前从未在阴道菌群中发现的细菌及 1 个细菌新种。这表明基于多种培养条件的方法能够更好地分析阴道微生物菌群,为进一步研究由阴道菌群紊乱引起的微生态失调或疾病感染奠定了基础。

生殖系统微生物菌群的组成通常被认为与个体生殖能力有关,了解子宫内膜的微生物组成有助于进一步研究其在女性怀孕过程中可能发挥的作用。鉴于测序技术在分析微生物富集较少部位(如子宫内膜)时的局限性,国外有研究者提出培养组学可以作为研究女性生殖系统微生物菌群的有效替代方法之一^[31]。VANSTOKSTRAETEN 等^[32]收集了 10 例不孕女性子宫内膜活检样本,在多种需氧和厌氧条件下完成长达 30 d 的培养,证明了培养组学可用于研究子宫内膜微生物菌群,并提出 WASPLab 作为一种先进的微生物实验室自动化系统,可以帮助解决培养组学工作量大、操作烦琐和耗时较长等问题。此外,国外一项前瞻性队列研究通过培养组学对体外受精患者的子宫内膜微生物菌群进行了分析,发现乳酸菌属

与持续妊娠率显著相关,而葡萄球菌亚种和肠杆菌科细菌则与着床率呈负相关。这一发现为体外受精患者的诊断和治疗提供了新的方向^[33]。这说明培养组学可以被很好地运用于子宫内膜等低生物量部位的微生物菌群分析,为后续研究其他低生物量部位的微生物菌群特征提供了思路。

2.5 在皮肤疾病微生物组研究中的应用 皮肤作为人体最大的器官,拥有高度多样化的微生物菌群,是机体抵抗外来病原体入侵的第1道屏障。皮肤相关菌群在维持皮肤稳态过程中扮演着重要角色,并与多种皮肤疾病的发生和进展密切相关^[34-35]。

既往研究结果显示,皮肤治疗药物的使用可能干扰皮肤正常菌群的组成,减少皮肤菌群的多样性,并引发特应性皮炎(AD)等皮肤疾病^[36]。BURNHAM等^[37]使用培养组学技术分析了社区健康居民与重症监护病房(ICU)患者在接受皮肤局部抗菌疗法前后的微生物菌群特征及其丰度和多样性水平。该研究发现,治疗后社区健康居民的皮肤菌群多样性和丰度没有明显变化,而ICU患者经过治疗后皮肤菌群的多样性和丰度均有所下降,这可能与ICU患者身体免疫力较低有关。这表明局部抗菌疗法对健康人皮肤菌群影响不大,但在对ICU患者使用抗菌药物时则需特别谨慎,以避免破坏其皮肤菌群的稳定性并导致细菌耐药性的产生。AD作为一种炎症性皮肤病,其发病机制复杂,目前关于皮肤菌群与免疫系统相互作用在AD疾病进展中的作用研究仍处于起步阶段。国外一项研究采用培养组学等对AD患者的皮肤微生物菌群进行了分析,发现金黄色葡萄球菌丰度在AD组中升高,且与高水平的免疫球蛋白E相关,并通过一系列机制促进AD疾病的进展,而表皮葡萄球菌是唯一在AD组和对照组均被发现的细菌,与金黄色葡萄球菌发挥着相反的作用。因此,促进表皮葡萄球菌等皮肤共生体的抗炎特性可以作为防止AD进展的有效策略之一^[38]。

银屑病是一种慢性炎症性皮肤病,通常病程较长且易复发,部分患者几乎终生无法痊愈,对患者的身心健康产生较大的影响。LANGAN等^[39]联合培养组学与测序技术对银屑病患者病变部位与正常部位的皮肤菌群进行了分析,发现银屑病的进展与厚壁菌门丰度增加和放线菌门丰度减少有关,此外,患者皮肤菌群多样性在患病期间降低,但在经过适当治疗后有所恢复,这为研究银屑病的发病机制提供了新的思路,提示患者皮肤菌群的多样性可能有助于对银屑病治疗结果的预测。

微生物菌群在慢性创伤恢复中的重要性已得到广泛认可,但具体机制及个体差异等尚未明确^[40]。OATES等^[41]利用培养组学等技术对26例慢性创伤患者的皮肤菌群进行了研究,结果显示,实验组皮肤菌群多样性高于对照组,但两组皮肤菌群中分离出的

已知病原菌的多样性没有明显差异。这一结果与WOLCOTT等^[42]通过测序技术对2936例慢性创伤患者微生物菌群的研究结果基本一致。这些基于培养组学的皮肤疾病研究为相关疾病的诊断和治疗提供了独特的见解,充分证明了使用培养组学方法开展皮肤疾病的研究的可行性,并值得继续推广。

2.6 在临床上的其他应用 培养组学还可以应用于糖尿病足感染(DFI)的相关研究。国外一项研究对16例DFI患者伤口浅表处取样进行培养,通过使用10种不同类型的培养基共分离出204种细菌,其中厚壁菌门细菌占50.0%,变形菌门细菌占44.4%,放线菌门细菌占5.6%^[43]。该研究还指出,不同培养基之间的培养效率存在显著差异,常规用于DFI培养的哥伦比亚血琼脂和巧克力琼脂平板的检出率仅为53.0%,而使用显色性嗜血杆菌和抗万古霉素肠球菌培养基时检出率为83%,加入肉汤大豆胨琼脂培养基的检出率达到88%。这表明运用培养组学方法选择合适的培养基对于准确鉴定DFI相关微生物菌群组成具有重要意义,需进一步展开研究以寻求更快更高效的DFI诊断方法。

常染色体显性遗传性脑动脉病伴皮质下梗死及白质脑病(CADASIL)是一种遗传性脑小血管病。LIU等^[44]使用培养组学等多组学技术对24例CADASIL患者和28例健康对照者的粪便样本进行分析,证实了CADASIL患者的肠道微生物菌群发生了明显改变,患者的脑-肠微生物轴之间存在紧密联系。此外,该研究探讨了培养组学来源的变形梭杆菌在CADASIL疾病进展中可能的作用机制,为CADASIL的发病机制研究提供了新的方向。

培养组学也被用于探究人类肠道微生物与长寿之间的关系。LI等^[45]使用培养组学和宏基因组学对12例百岁老人及其周边的13例邻居的粪便样本进行了培养和分析,发现与普通人相比,百岁老人的肠道微生物菌群中丁酸盐产生菌的丰度显著降低,而大肠埃希菌、猪脱硫弧菌和史密氏甲烷杆菌的丰度显著升高,且菌群的丰度随着年龄的增长不断变化。这提示百岁老人独特的微生物菌群可能有助于促进健康与长寿,为进一步研究肠道微生物与长寿之间的关系奠定了基础。

此外,培养组学也广泛应用于动物微生物菌群的分析。张微等^[46]开展的一项研究结合了培养组学与MALDI-TOF MS技术,对医院环境中昆虫样本的微生物菌群进行了深入分析。该研究结果表明,联合这两种方法可以高效地鉴定出医院环境中昆虫样本中的菌株种属,为评估临床感染风险和制订预防控制策略提供了新思路,同时也为后续类似研究提供了参考。

2.7 培养组学应用的局限性 尽管培养组学在疾病微生物组研究中展现出显著优势,但其仍存在一些局

限性:(1)培养组学需要对大量样本进行分离和培养,实验过程复杂且耗时较长,对于生长缓慢或生长条件苛刻的微生物,获得纯培养物所需要的时间则更久,这限制了其在大规模样本研究中的应用;(2)尽管通过优化培养基和培养条件提高了微生物的可培养性,但仍有部分不可培养的微生物或依赖宿主环境的共生菌难以在现有实验室条件下生长,这可能导致研究者对微生物多样性的低估;(3)单独使用培养组学无法准确探究微生物的功能特性及其与宿主之间的相互作用,需要结合宏基因组学、代谢组学等其他组学技术才能更全面地揭示微生物的功能及其在疾病发生发展中的作用。未来的研究应致力于解决上述问题,以推动培养组学在疾病预防、诊断和治疗中的应用。

3 结语与展望

综上所述,培养组学在探究不同疾病的微生物菌群特征及疾病的诊断和治疗中发挥着重要作用,尤其是与宏基因组学等联合使用时,可以达到互补的效果,有助于更全面地分析患者的微生物菌群。虽然培养组学目前存在工作量较大、难以覆盖所有微生物及功能研究受限等不足之处,但其仍是疾病微生物组研究中不可或缺的方法。在未来,随着培养技术的不断优化、多组学的联合使用及人工智能的持续发展,培养组学有望为疾病微生物组研究提供更强大的支持,并在更多领域得到广泛的应用和推广。

参考文献

- [1] TURNBAUGH P J, LEY R E, HAMADY M, et al. The human microbiome project[J]. *Nature*, 2007, 449(7164): 804-810.
- [2] FEERO W G. Bioinformatics, sequencing accuracy, and the credibility of clinical genomics[J]. *JAMA*, 2020, 324(19): 1945-1947.
- [3] LAGIER J C, ARMOUGOM F, MILLION M, et al. Microbial culturomics: paradigm shift in the human gut microbiome study[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2012, 18(12): 1185-1193.
- [4] DIAKITE A, DUBOURG G, DIONE N, et al. Optimization and standardization of the culturomics technique for human microbiome exploration[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 9674.
- [5] CHANG Y, HOU F, PAN Z, et al. Optimization of culturomics strategy in human fecal samples[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 2891.
- [6] DIAKITE A, DUBOURG G, RAOULT D. Updating the repertoire of cultured bacteria from the human being[J]. *Microb Pathog*, 2021, 150: 104698.
- [7] DUBOURG G, BARON S, CADORET F, et al. From culturomics to clinical microbiology and forward[J]. *Emerg Infect Dis*, 2018, 24(9): 1683-1690.
- [8] LIU C, DU M X, ABUDUAINI R, et al. Enlightening the taxonomy darkness of human gut microbiomes with a cultured biobank[J]. *Microbiome*, 2021, 9(1): 119.
- [9] 刘莹, 谭寅凤, 张迎, 等. 基于培养组学的肠道菌群培养及鉴定方法研究[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2021, 22(6): 762-768.
- [10] WANG W, LIU W, CHU W. Isolation and preliminary screening of potentially probiotic *Weissella confusa* strains from healthy human feces by culturomics[J]. *Microb Pathog*, 2020, 147: 104356.
- [11] GHIMIRE S, ROY C, WONGKUNA S, et al. Identification of *Clostridioides difficile*-inhibiting gut commensals using culturomics, phenotyping, and combinatorial community assembly[J]. *mSystems*, 2020, 5(1): 19.
- [12] SOMMARIVA M, LE NOCI V, BIANCHI F, et al. The lung microbiota: role in maintaining pulmonary immune homeostasis and its implications in cancer development and therapy[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(14): 2739-2749.
- [13] RUSSO C, COLAIANNI V, IELO G, et al. Impact of lung microbiota on COPD[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(6): 1337.
- [14] XIA X, CHEN J, CHENG Y, et al. Comparative analysis of the lung microbiota in patients with respiratory infections, tuberculosis, and lung cancer: a preliminary study[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 1024867.
- [15] 刘月姣, 李俭杰, 孙一凡, 等. 利用培养组学技术分离培养肺部微生物群研究[J]. 微生物学报, 2022, 62(3): 1110-1118.
- [16] SUN Y, LIU Y, LI J, et al. Characterization of lung and oral microbiomes in lung cancer patients using culturomics and 16S rRNA gene sequencing[J]. *Microbiol Spectr*, 2023, 11(3): e0031423.
- [17] FELLAG M, GOUBA N, BEDOTTO M, et al. Culturomics discloses anti-tubercular enterococci exclusive of pulmonary tuberculosis: a preliminary report[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(10): 1544-1554.
- [18] LIAO Y, WU Y X, TANG M, et al. Microbes translocation from oral cavity to nasopharyngeal carcinoma in patients[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 1645.
- [19] SJÖGREN P, NILSSON E, FORSELL M, et al. A systematic review of the preventive effect of oral hygiene on pneumonia and respiratory tract infection in elderly people in hospitals and nursing homes: effect estimates and methodological quality of randomized controlled trials[J]. *J Am Geriatr Soc*, 2008, 56(11): 2124-2130.
- [20] LIN Y, LIANG X, LI Z, et al. Omics for deciphering oral microecology[J]. *Int J Oral Sci*, 2024, 16(1): 218-220.
- [21] 王冰, 孙媛媛, 马郁芳, 等. 基于培养组学的健康口腔细菌分离鉴定初探[J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(2): 175-178.
- [22] MARTELLACCI L, QUARANTA G, FANCELLO G, et al. Characterizing peri-implant and sub-gingival microbiota through culturomics: first isolation of some species in the oral cavity, a pilot study[J]. *Pathogens*, 2020, 9(5):

- 365-372.
- [23] MBAYE B, MAGDY WASFY R, BORENTAIN P, et al. Increased fecal ethanol and enriched ethanol-producing gut bacteria *Limosilactobacillus fermentum*, *Enterocloster bolteae*, *Mediterraneibacter gnavus* and *Streptococcus mutans* in nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1279354.
- [24] MAGDY W R, MBAYE B, BORENTAIN P, et al. Ethanol-producing enterocloster bolteae is enriched in chronic hepatitis B-associated gut dysbiosis: a case-control culturomics study[J]. *Microorganisms*, 2023, 11(10): 2437-2444.
- [25] DAHAL R H, KIM S, KIM Y K, et al. Insight into gut dysbiosis of patients with inflammatory bowel disease and ischemic colitis[J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1174832.
- [26] SAWHNEY S S, JOHNSON C, SHUPE A, et al. Assessment of the urinary microbiota of msm using urine culturomics reveals a diverse microbial environment[J]. *Clin Chem*, 2021, 68(1): 192-203.
- [27] WEI W, ZHOU Y, ZUO H, et al. Characterization of the follicular fluid microbiota based on culturomics and sequencing analysis[J]. *J Med Microbiol*, 2023, 72(8): 1741-1746.
- [28] MULATO-BRIONES I B, RODRIGUEZ-ILDEFONSO I O, JIMÉNEZ-TENORIO J A, et al. Cultivable microbiome approach applied to cervical cancer exploration[J]. *Cancers (Basel)*, 2024, 16(2): 314-318.
- [29] ABOU C L, FENOLLAR F, DIOP K. Bacterial vaginosis: what do we currently know[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 672429.
- [30] ABOU C L, BENATMANE A, IWAZA R, et al. Culturomics reveals a hidden world of vaginal microbiota with the isolation of 206 bacteria from a single vaginal sample[J]. *Arch Microbiol*, 2023, 206(1): 20.
- [31] VANSTOKSTRAETEN R, DEMUYSER T, PIÉRARD D, et al. Culturomics in unraveling the upper female reproductive tract microbiota[J]. *Semin Reprod Med*, 2023, 41(5): 151-159.
- [32] VANSTOKSTRAETEN R, MACKENS S, CALLEWAERT E, et al. Culturomics to investigate the endometrial microbiome: proof-of-concept[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(20): 12212.
- [33] CARIATI F, CAROTENUTO C, BAGNULO F, et al. Endometrial microbiota profile in in-vitro fertilization (IVF) patients by culturomics-based analysis[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1204729.
- [34] TOMIDA S, NGUYEN L, CHIU B H, et al. Pan-genome and comparative genome analyses of *propionibacterium acnes* reveal its genomic diversity in the healthy and diseased human skin microbiome[J]. *mBio*, 2013, 4(3): 3-13.
- [35] ZHANG X E, ZHENG P, YE S Z, et al. Microbiome: role in inflammatory skin diseases[J]. *J Inflamm Res*, 2024, 17: 1057-1082.
- [36] LIMA K M, DAVIS R R, LIU S Y, et al. Longitudinal profiling of the burn patient cutaneous and gastrointestinal microbiota: a pilot study[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 10667.
- [37] BURNHAM C A, HOGAN P G, WALLACE M A, et al. Topical decolonization does not eradicate the skin microbiota of community-dwelling or hospitalized adults[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(12): 7303-7312.
- [38] LABOREL-PRÉNERON E, BIANCHI P, BORALEVI F, et al. Effects of the *staphylococcus aureus* and *staphylococcus epidermidis* secretomes isolated from the skin microbiota of atopic children on CD4⁺ T cell activation [J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0141067.
- [39] LANGAN E A, KÜNSTNER A, MIODOVNIK M, et al. Combined culture and metagenomic analyses reveal significant shifts in the composition of the cutaneous microbiome in psoriasis[J]. *Br J Dermatol*, 2019, 181(6): 1254-1264.
- [40] TIPTON C D, WOLCOTT R D, SANFORD N E, et al. Patient genetics is linked to chronic wound microbiome composition and healing[J]. *PLoS Pathog*, 2020, 16(6): e1008511.
- [41] OATES A, BOWLING F L, BOULTON A J, et al. Molecular and culture-based assessment of the microbial diversity of diabetic chronic foot wounds and contralateral skin sites[J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(7): 2263-2271.
- [42] WOLCOTT R D, HANSON J D, REES E J, et al. Analysis of the chronic wound microbiota of 2 963 patients by 16S rDNA pyrosequencing[J]. *Wound Repair Regen*, 2016, 24(1): 163-174.
- [43] ZŁOCH M, MAŚLAK E, KUPCZYK W, et al. Culturomics approach to identify diabetic foot infection bacteria[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17): 9574.
- [44] LIU S, MEN X, GUO Y, et al. Gut microbes exacerbate systemic inflammation and behavior disorders in neurologic disease CADASIL[J]. *Microbiome*, 2023, 11(1): 202.
- [45] LI C, LUAN Z, ZHAO Y, et al. Deep insights into the gut microbial community of extreme longevity in south Chinese centenarians by ultra-deep metagenomics and large-scale culturomics[J]. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2022, 8(1): 28.
- [46] 张微, 崔生辉, 翁蕊, 等. 培养组学联合 MALDI-TOF MS 技术对医院环境中昆虫标本的菌群分析[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(7): 775-780.