

青年人肠道菌群分布及关键益生菌群落结构分析

张 敏¹ 范小兵² 杭晓敏² 李堃宝¹ 杨 虹^{1*}

(¹上海交通大学生命科学与技术学院 上海 200240)

(²上海交大昂立股份有限公司生物医药研究所 上海 200030)

摘 要:以 30 例 20~25 岁中国青年人的肠道菌群为研究对象,采用纯培养方法和 16S rDNA 测序等分子生物学技术并结合代谢产物 β -半乳糖苷酶和短链脂肪酸的测定,分析了此年龄段健康人群肠道菌群分布和益生菌群落结构。实验表明,高厌氧菌水平和高 B/E 值(175.66)反映出此年龄段人群良好的肠道环境;肠道关键益生菌群落结构分析表明,双歧杆菌由 1~4 种菌种组成,青春双歧杆菌(检出率 93.3%,占总双歧杆菌数量百分比 > 85%)、长双歧杆菌(检出率 86.7%,占总双歧杆菌数量百分比 10%)为肠道优势双歧杆菌,其余菌种在不同人肠道中的差异数量只占不到 5%,此年龄段青年人肠道具有呈现稳定的双歧杆菌群落结构,肠道双歧杆菌群落结构与膳食结构、生活环境等因素相关性不大,主要与人的生理年龄紧密相关;卷曲乳杆菌和唾液乳杆菌为青年人肠道优势乳杆菌(检出率分别为 86.7%和 93.3%,两者之和占总乳杆菌的数量百分比为 60%~75%),但其余乳杆菌在不同人肠道中的之间的差异数量达到 20%~30%,肠道乳杆菌群落结构与饮食结构、生活环境等因素紧密相关,不同个体具有各自独特的乳杆菌群落组成。

关键词:肠道菌群,群落结构,双歧杆菌,乳杆菌, β -半乳糖苷酶

中图分类号:Q93 **文献标识码:**A **文章编号:**0001-6209(2004)05-0621-06

人体肠道中栖息着大约 400~500 多种细菌,称为肠道菌群(Intestinal Flora),对促进食物消化、产生维生素等营养物质、抵御外来致病菌侵入、刺激免疫系统等方面有着重要作用。双歧杆菌和乳杆菌是两种最重要的肠道益生菌,其数量和组成对维持健康肠道环境和提高免疫系统功能起着关键作用^[1]。众多研究结果表明,年龄、人种、膳食结构、生活习惯、抗生素治疗等会影响人肠道微生态系统及其群落结构,从而直接影响人体健康。直到现在为止,针对中国人群肠道菌群组成和益生菌群落结构的分析还仅限于在属水平上研究。欧洲研究者在种水平上对肠道菌群的研究报道,虽然对我们有一定的参考价值,但毕竟人种不同、生活环境和饮食习惯等也有很大差异,故针对欧洲人群的研究结果对我们而言也仅是参考而已。因此,针对中国人群在种的水平上对关键益生菌,如双歧杆菌和乳杆菌在肠道种中的群落分布和数量进行研究将具有多方面的理论和实践价值。

本文拟以 30 例 20~25 岁健康青年人的肠道菌群为研究对象,也是为其他年龄段的后续研究提供基础。本文采用微生物分离培养方法结合分子生物

学技术,研究肠道菌群的分布,特别是在种的水平上研究双歧杆菌和乳杆菌的群落结构和数量分布,同时辅以 β -半乳糖苷酶和短链脂肪酸等重要代谢产物的分析,以期在更精确的水平上揭示此年龄段我国青年人的关键肠道菌群区系分布,探讨反映健康肠道环境状态的菌群特征,为建立中国人群肠道环境健康程度的评价指标和体系提供基础,为开发调节肠道菌群的微生态制剂提供指导。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象:30 名 20~25 岁的健康青年人(男性 18 人,女性 12 人,均无胃肠道疾病病史,采样前 2 周内未服用过任何抗菌类药物)。

1.1.2 样本采集:用灭菌小棒挑取自然排出的新鲜粪便 3~5g,放入无菌容器,立即送检。

1.1.3 样本处理:于新鲜粪便中加入 50mL 粪便稀释液^[2],振荡成匀浆,并依次稀释 10⁻¹倍至 10⁻⁷。

1.2 肠道菌群分离培养

实验选择了 7 类肠道细菌,并检测了总好氧和总厌氧菌的数量。所用选择性分离培养基如下:

* 通讯作者。Tel:86-21-54743343; Fax: 86-21-54743348; E-mail: hongyang@sjtu.edu.cn

作者简介:张 敏(1979-),女,上海市人,硕士研究生,主要从事肠道微生物研究。E-mail: minz@citiz.net

其他作者:沙大年²,奚万艳¹,王一鸣¹

收稿日期:2004-02-09,修回日期:2004-04-26

TSB(总好氧菌), MacConkey(肠杆菌), Slanetz & Bartley Medium(肠球菌), Schaedler Anaerobe Broth(总厌氧菌), TPY(双歧杆菌), 改良 MC(乳杆菌), Schaedler Anaerobe Broth 添加新霉素(类杆菌), SPS(产气荚膜梭菌)以及 Egg Yolk(肉毒梭菌)。Slanetz & Bartley Medium 和 Schaedler Anaerobe Broth 购自 Oxoid Ltd, 其余均购自上海市疾病预防控制中心培养基室。好氧菌培养 18~24h, 厌氧菌采用 GENbox 厌氧培养系统(bioMérieux)培养 36~48h。菌群值经对数换算, 以 \log_{10} CFU/g(湿重)表示。

1.3 选择性培养基菌落的形态观察和生理生化鉴定

形态观察(显微镜 OLYMPUS BH-2); 生理生化鉴定指标: 糖发酵、吲哚、过氧化氢酶、硝酸盐还原、 H_2S 等, 属鉴定按伯杰氏细菌鉴定手册进行。

1.4 菌落计数

每克粪便中的 CFU(Colony Forming Unit)=(菌落数/涂布量)×稀释倍数×稀释液体积/重量, 菌群数量经对数换算, 以 \log_{10} CFU/g(湿重)表示。X±SD(平均值±标准偏差)统计采用 *t* 检验。

1.5 双歧杆菌和乳杆菌菌种的分子鉴定

1.5.1 基因组 DNA 提取 按文献[3]方法进行。

1.5.2 16S rDNA PCR 扩增: 50 μ L 标准 PCR 反应体系: 10 pmol 引物对 Im3/Im26(Im3: 5'-CGG GTGCTTCCACTTTCATG-3'; Im26: 5'-GATTCTGGCTCAGGATGAACG-3')或 L159/L677(L159: 5'-GGAAACAG(A/G)TGCTAATACCG-3'; L677: 5'-CACCGCTACACATGGAG-3') 2 μ L dNTP(10mmol/L), 5 μ L 10×*Taq* 酶缓冲液、2 μ L 模板 DNA 和 2.5U *Taq* DNA 聚合酶(上海申能博彩)。所有 PCR 反应于 PE2400 扩增仪上按下述程序进行: 94℃ 变性 5min; 循环 35 次: 94℃ 变性 1min, 退火 1min(采用降落 PCR 方式进行, 即前 12

次循环每循环一次降低 0.5℃), 由 61℃ 降低至 55℃, 再 55℃ 循环 23 次, 72℃ 延伸 2min。

1.5.3 PCR 扩增产物序列分析: PCR 扩增产物经纯化后于 ABI 373A 自动 DNA 测序仪测序, 其序列送交 DDBJ(DNA Data Bank of Japan)数据库获 Accession Number(AB125903~125926, 见表 3), 相似性在 GenBank 数据库中使用 BLAST 工具进行比较。

1.6 β -半乳糖苷酶的测定

按文献[4]中的方法进行。

1.7 短链脂肪酸测定

气相色谱仪 HP6890, 毛细管柱 Crosslinked 5% PH ME Siloxane, 进样口 200℃, 检测器(FID)250℃, 柱温 29℃ 始程序升温, 缓慢升温至 40℃ 后迅速升温至 173℃。

2 结果和讨论

2.1 肠道菌群研究分析

2.1.1 肠道菌群群落分布及 B/E 值: 从肠道菌群值(表 1)来看, 厌氧菌中数量最多的是类杆菌, 双歧杆菌和乳杆菌次之。产气荚膜梭菌和肉毒梭菌是肠道致病菌, 因样本差异大。与其他年龄段的人群相比^[5], 本文的厌氧菌数值(尤其是双歧杆菌, 达 10^9 ~ 10^{10} CFU/湿重)比较高, 体现了此年龄段人群的生理年龄和状况。厌氧菌数量会随年龄增加而发生变化, 尤其是双歧杆菌数量的下降是通常是人体衰老程度的一个标志。B/E 值是双歧杆菌与肠杆菌的比值, 是反映肠道定植抗力的一个指标。本实验研究中的青年人平均 B/E 值为 175.66(表 1), 大大高于正常基准线(B/E=10), 但相比于 7~18 岁的青少年(B/E>1000)^[5], 此值有较大幅度下降。这可能与双歧杆菌随着年龄增长, 成年后在肠道细菌总数

表 1 肠道菌群数量及 B/E 值

Table 1 Quantity of intestinal flora and B/E value

Type of bacteria	Male (n = 18)		Female (n = 12)	
	X ± SD [\log_{10} CFU/g (wet)]	Detection rate/%	X ± SD [\log_{10} CFU/g (wet)]	Detection rate/%
Total aerobic	8.23 ± 0.73	100	7.67 ± 0.73	100
<i>Escherichia</i>	7.61 ± 0.52	100	7.08 ± 0.82	100
<i>Enterococcus</i>	6.22 ± 1.22	100	5.43 ± 0.88	100
Total anaerobic	10.24 ± 0.31	100	10.21 ± 0.44	100
<i>Bifidobacterium</i> spp.	9.36 ± 0.28	100	9.06 ± 0.46	100
<i>Lactobacillus</i>	8.48 ± 0.74	100	7.82 ± 1.03	100
<i>Bacteriodes</i>	9.88 ± 0.36	100	10.04 ± 0.46	100
<i>C. perfringens</i>	5.57 ± 1.16	72.2	4.57 ± 0.81	58.3
<i>C. botulinum</i>	5.97 ± 1.15	61.1	4.62 ± 0.90	58.3
B/E	92.71 (Male average)		300.08 (Female average)	
Average B/E	175.66			

里的比例下降有关。经 t 检验,肠道菌群数量和检出率在性别之间基本无显著差异($p > 0.05$)。女性 B/E 值(300.08)要高于男性(92.71),反映出女性肠道环境优于男性。

2.1.2 关键益生菌群落结构分析:采用双歧杆菌

(*Bifidobacterium* spp.)特异性引物对 Im26/Im3^[6]和乳杆菌(*Lactobacillus*)特异性引物对 L159/L677^[7],对分离出的双歧杆菌和乳杆菌进行 16S rDNA PCR 扩增、测序、序列分析后获得 5 种双歧杆菌和 5 种乳杆菌(表 2)与基因库种菌株的相似性为 94%~100%。

表 2 益生菌分离菌株的分子鉴定结果

Table 2 Molecular Identification result of separated probiotics strains

Identified strain No.	BLAST results		Identified strain accession No.
	Similar strain	Similarity/%	
ZB3	<i>B. infantis</i>	99	AB125903
ZB1, ZB6	<i>B. adolescentis</i>	98, 97	AB125904, AB125906
ZB412, ZB4, B48	<i>B. pseudocatenulatum</i>	99, 99, 100	AB125909, AB125913, AB125917
ZB27, ZB2	<i>B. longum</i>	99, 97	AB125916, AB125915
ZB53, ZB57, ZB56	<i>B. animalis</i>	97, 96, 100	AB125919, AB125920, AB125926
ZL15	<i>L. crispatus</i>	96	AB125905
ZL51, ZL5, ZL517	<i>L. helveticus</i>	99, 98, 99	AB125907, AB125908, AB125912
ZL4	<i>L. fermentum</i>	98	AB125910
ZL3	<i>L. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>	99	AB125914
ZL34, ZL216, ZL2, ZL151	<i>L. salivarius</i>	99, 96, 94, 97	AB125918, AB125911, AB125923, AB125922
ZL611, ZL7, ZL6	<i>L. plantarum</i>	95, 98, 96	AB125921, AB125925, AB125924

B: *Bifidobacterium*; L: *Lactobacillus*.

双歧杆菌随着年龄、饮食、环境、疾病、药物等会在时空、种类和数量上产生相应的动态变化,随着年龄增长,数量越来越少。本实验分离并鉴定出 5 种双歧杆菌(表 3),即:青春双歧杆菌(*B. adolescentis*)、长双歧杆菌(*B. longum*)、婴儿双歧杆菌(*B. infantis*)、假小链双歧杆菌(*B. pseudocatenulatum*)和动物双歧杆菌(*B. animalis*),其中青春双歧杆菌在为青年人肠道中为的优势菌种,平均占在总双歧杆菌数量的中平均占 85% 以上、长双歧杆菌 $\approx 10\%$ 、婴儿双歧杆菌和假小链双歧杆菌均 $< 1\%$ 。动物双歧杆菌量很少。前 3 种双歧杆菌在青年人肠道内有稳定的定植,而且性别之间无差异。假小链双歧杆菌和动物双歧杆菌(不常见)的检出表明了青年人肠道双歧杆菌的丰富多样性。婴儿双歧杆菌拥有 63.3%

的样本检出率,但所占数量百分比很小,这是表明随着年龄增长,可能是婴儿型双歧杆菌由婴儿期的优势双歧杆菌渐渐减少的反映,可见我们认为青年年龄段人群虽然呈现出成年肠道双歧杆菌菌群特征,但仍然保留了从幼儿—少年—青年过度而来的肠道菌群特征。

在 Mangin 等^[8]研究认为,法国青年人群肠道双歧杆菌主要有长双歧杆菌、两歧双歧杆菌和青春双歧杆菌,其中长双歧杆菌和青春双歧杆菌为两种优势的菌种。Satokari 等^[6]以 6 位 21~55 岁的芬兰人为研究对象,发现肠道中的双歧杆菌主要为青春双歧杆菌, *B. ruminis*, *B. dentium* 和假小链双歧杆菌,多数人肠道内存在着一个 ≤ 4 种菌种组成的双歧杆菌群体,每个人肠道的双歧杆菌群体组成是相当对稳定的。Matsuki 等^[9]发现,成人肠道双歧杆菌中,小链双歧杆菌(*B. catenulatum*)和假小链双歧杆菌检出率占样本总数的 92%,长双歧杆菌和青春双歧杆菌分别占 65% 和 60%。Mullié 等^[10]对法国 19~29 岁的人群粪便样本进行分析,获得两歧双歧杆菌、青春双歧杆菌、*B. dentium*、*B. catenulatum*、假小链双歧杆菌和长双歧杆菌等,每份样本中有不超过 4 种双歧杆菌不等,大多为 2 种,青春双歧杆菌检出率占 71.4%,长双歧杆菌和两歧双歧杆菌为 28.6%, *B. dentium* 为 14.3%。由此可见,欧洲青年人肠道中,主要存在不超过 4 种双歧杆菌菌种,其中

表 3 益生菌菌种检出率和检出数量百分比

Table 3 Detection rate and amount percentage of probiotics strains

Strains	Detection rate /%	Amount percentage /%
<i>B. adolescentis</i>	93.3	> 85
<i>B. longum</i>	86.7	≈ 10
<i>B. infantis</i>	63.3	< 1
<i>B. pseudocatenulatum</i>	16.7	< 1
<i>B. animalis</i>	6.7	Very few
<i>L. crispatus</i>	86.7	60~75
<i>L. salivarius</i>	93.3	
<i>L. fermentum</i>	33.3	< 20~30
<i>L. helveticus</i>	16.7	
<i>L. plantarum</i>	26.7	

Amount percentages represent the average value of the 30 subjects.

青春双歧杆菌为优势菌种、长双歧杆菌的为常见菌种。这与本研究所得中国青年人肠道的双歧杆菌状况基本一致。然而关于婴儿双歧杆菌,上述文章基本无报道。鉴于婴儿双歧杆菌与年龄的密切关系,可以认为这并不是由于饮食或环境不同等造成的,而是研究对象的生理年龄不同引起的。上述报道的研究对象为欧洲成年人群,同年龄人群的生理成熟度要稍高于亚洲人,从少年过渡而来的特征更早的消失。此外,上述文献报道的个别不普遍菌种可能是不同人种肠道环境的菌群组成适应性的差别等因素造成。

结果表明,健康青年人肠道双歧杆菌的优势菌种、数量及组成种类都较稳定。样本间差异种类的数量 < 5%,再综合欧洲研究者的研究结果,可以看出:肠道双歧杆菌群落组成及数量与人种、膳食结构、生活环境等因素相关性不大,主要与生理年龄紧密相关决定。

由表 3 可见,本研究中青年人肠道乳杆菌主要有以下 5 种:卷曲乳杆菌(*L. crispatus*)、唾液乳杆菌(*L. salivarius*)、发酵乳杆菌(*L. fermentum*)、瑞士乳杆菌(*L. helveticus*)和植物乳杆菌(*L. plantarum*)。其中,卷曲乳杆菌和唾液乳杆菌的样本检出率高,分别为 86.7% 和 93.3%,且两者之和的数量占总乳杆菌数的 60% ~ 75%,可见,这两种细乳杆菌为稳定定植于肠道内的优势菌种。其余乳杆菌菌种的数量在不同各样本之间差异较大,检出率较低,数量较少,平均占总乳杆菌的 20% ~ 30% 左右。此外,直接从相同粪便样品本提取基因组总 DNA,进行初步的及随后的 DNA 指纹图研究发现(另文发表),还得到了一些分离培养未检出的乳杆菌,如鼠李糖乳杆菌(*L. rhamnosus*)、德氏乳杆菌(*L. delbrueckii*)和米酒乳杆菌(*L. sakei*)等。

Heilig G 等^[7]以 8 位法国成人作为研究对象,分离检出了以下乳杆菌:*L. ruminis*, *L. sakei*, *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. rhamnosus*, *L. gasseri* 等,其中 *L. ruminis* 比较占这为优势菌种,文章认为,个体之间乳杆菌菌株的群落组成和数量的差异很大。Klaenhammer 等^[11]研究发现,人体肠道的乳杆菌主要由 *L. gasseri*、*L. reuteri*、卷曲乳杆菌和唾液乳杆菌组成,植物乳杆菌、*L. johnsonii*、*L. casei* 和 *L. brevis* 偶尔出现。综合以上对欧洲人群的研究结果发现,不同个体间肠道乳杆菌组成和优势菌种不一,同一研究中不同样本也有较大差异。乳杆菌的检出种类和优势菌种也是呈现丰富多样。而本研究

中呈发现卷曲乳杆菌和唾液乳杆菌在健康中国青年人肠道中为出常见和优势的乳杆菌,其它乳杆菌的检出种类和数量也与欧洲人有较大差异。尤其是西方人长期食用大量乳制品,造成其肠道中生活着更多的 *L. delbrueckii*、*L. casei* 等乳杆菌。

本研究结果表明:肠道内乳杆菌差异种类的数量要达到 20% ~ 30%,再综合欧洲研究者的研究结果,可以看出:肠道乳杆菌的群落结构主要与受分析人群的人种、生活习惯、膳食结构和外部环境等因素有关。

2.2 肠道菌主要代谢产物的分析

2.2.1 β -半乳糖苷酶(β -D-galactosidase)

β -半乳糖苷酶的活性与肠道菌群组成紧密相关^[12],肠道益生菌数量多、占优势时, β -半乳糖苷酶的活性高,反之则低。研究^[12]认为 β -半乳糖苷酶由双歧杆菌、乳杆菌等有益菌大量产生,因此在医疗保健领域,酶活力的变化还可为肠道微生态的改善提供指示作用。

β -半乳糖苷酶活力可以定义为释放的游离 *o*-nitrophenol 的多少,直接表示为分光光度计的吸光值 (OD_{425})。本研究以总厌氧菌数 (\log_{10} CFU/g) 为 *x* 轴, ($\log_{10} OD_{425}$ /g) 为 *y* 轴作图(图 1),发现酶活与厌氧菌数量之间存在较大相关性,回归后获方程(图 1, $y = 0.3448x - 1.2092$),其中 *y* 表示 $\log_{10} OD_{425}$ /g, *x* 表示 \log_{10} CFU/g。可见,总厌氧菌数量越高, β -半乳糖苷酶活力也越大。建立这一曲线的意义在于可通过直接测定粪便样品的 β -半乳糖苷酶来大致判断厌氧菌数量级水平和肠道环境的健康状况,从而较传统的培养计数方法节省大量的时间和精力,达到快速检测的目的。

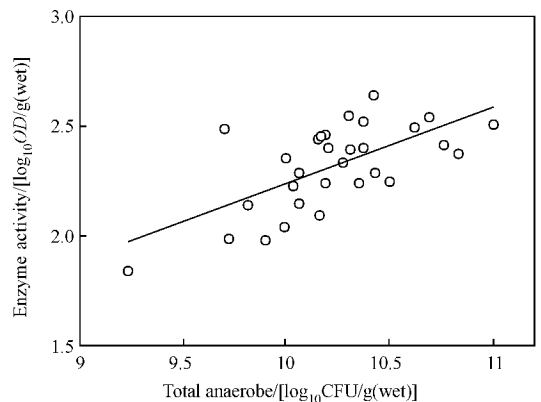


图 1 酶活与菌数的关系

Fig. 1 Correlation of enzyme and bacteria quantity

Every point represents one subject.

2.2.2 短链脂肪酸(Short-Chain Fatty Acid, SCFA):

益生菌对肠道的主要贡献之一就是能代谢产生短链

脂肪酸、可降低肠道 pH 值、提供肝代谢能量、促进改善脂质代谢、促进肠道蠕动等,对人体健康具有着十分重要的作用。粪便 SCFA 的含量可反映人体肠道厌氧菌的活性和代谢情况(表 4)。

表 4 粪便中短链脂肪酸平均含量 [mg/g (wet)] $\bar{x} \pm SD$]

Table 4 Short-Chain Fatty Acid average content [mg/g (wet)] $\bar{x} \pm SD$] in feces

Acetic	Propionic	Butyric	Lactic acid
1.09 \pm 0.66	0.56 \pm 0.39	0.34 \pm 0.20	2.43 \pm 1.64

Average value Of 30 subjects.

一般认为乙酸 2 ~ 4mg/g,丙酸 0.8 ~ 1.5mg/g,丁酸 0.5 ~ 1mg/g 均属正常值。乳酸含量会随乳酸菌数量或饮食而波动较大(0.5 ~ 3mg/g)。实验测定的较高本研究样本中乳酸含量较高(2.43 \pm 1.64)表明,青年人群肠道中益生菌(乳酸主要由双歧杆菌、乳杆菌等益生菌产生)含量较高。乙酸、丙酸和丁酸的含量稍低于一般报道值,可能与 SCFA 以盐的形式存在、不易酯化以及粪便杂质干扰等因素有关。

3 结论

本研究获得的肠道菌群分布表明,30 例 20 ~ 25 岁健康青年人肠道具有高水平的厌氧菌数值和 B/E 值(平均 175.66)。

针对中国青年人群,在种的水平上对肠道关键益生菌群落结构的研究结果显示,此群体人群肠道中,双歧杆菌通常由 1 ~ 4 种菌种组成,青春双歧杆菌是优势菌种(检出率 93.3%,占总双歧杆菌数量百分比 > 85%),长双歧杆菌比较常见(检出率 86.7%,占总双歧杆菌数量百分比 10%);其余双歧杆菌在各对象样本间的差异数量 < 5%;双歧杆菌群落结构在不同个体间相对稳定,同时婴儿双歧杆菌的检出暗示了年龄增长的过渡特征性。卷曲乳杆菌和唾液乳杆菌平均占有为肠道优势地位乳杆菌(检出率分别为 86.7% 和 93.3%,两者之和占总乳杆菌的数量百分比为 60% ~ 75%),其余乳杆菌种类和数量差异较大,对象不同人群对象之间差异数量可达 20% ~ 30%。

分析本研究结果与欧洲研究者的研究结果的不同,可以得出,肠道双歧杆菌群落结构与种族、膳食结构、生活环境等因素相关性不大,主要与人的生理年龄紧密相关,因此,双歧杆菌的数量和组成通常被作为人体生理年龄的指标。肠道乳杆菌群落结构与种族、饮食结构、生活环境等因素紧密相关,不同个体具有各自独特的乳杆菌群落组成,乳杆菌的群落

结构更多地代表了种族、膳食结构和生活环境的多样性。

β -半乳糖苷酶和短链脂肪酸的检测,都将为建立一种快速估计粪便总厌氧菌数和反映肠道益生菌数量和活性水平的评价方法奠定良好的基础。

对肠道菌群分布、益生菌群落结构和代谢产物的研究,不仅能更深入地了解肠道菌群,也为建立人体肠道环境健康程度的评价指标和体系、益生菌菌种筛选、肠道微生态保健领域研发和肠道疾病临床辅助治疗提供基础和参考。

参 考 文 献

- [1] Tannock G W. Studies of the intestinal microflora : a prerequisite for the development of probiotics. *Int Dairy Journal*, 1998, **8**(5 - 6): 527 - 533.
- [2] 黎永学,姜明杰. 一种改良大便双歧杆菌技术方法. *中国微生态学杂志*, 2002, **14**(3): 177 - 178.
- [3] 杭晓敏,杨虹, Come W. 垃圾填埋场中厌氧真菌 18S rDNA 的 PCR 扩增及鉴定. *生物工程学报*, 2001, **17**(5): 515 - 519.
- [4] Apte S C, Davies C M, Peterson S M. Rapid Detection of Faecal coliforms in Sewage using a colorimetric assay of β -D-Galactosidase. *Wat Res*, 1995, **29**(7): 1803 - 1806.
- [5] 冉陆,陈稚峰. 北京地区 184 例健康人肠道菌群值的调查. *中国微生态学杂志*, 1999, **11**(1): 10 - 12.
- [6] Satokari R M, Vaughan E E, Akkermans A D L, et al. Bifidobacterial diversity in human feces detected by genus-specific PCR and denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**(2): 504 - 513.
- [7] Heilig H G H J, Zoetendal E G, Vaughan E E, et al. Molecular diversity of *Lactobacillus* spp. And other lactic acid bacteria in the human intestine as determined by specific amplification of 16S ribosomal DNA. *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68**(1): 114 - 123.
- [8] Mangin I, Bouhnik Y, Bissetti N, et al. Molecular monitoring of human intestinal *Bifidobacterium* strain diversity. *Res Microbiol*, 1999, **150**(5): 343 - 350.
- [9] Matsuki T, Watanabe K, Tanaka R, et al. Distribution of bifidobacterial species in human intestinal microflora examined with 16S rRNA-gene-targeted species-specific primers. *Appl Environ Microbiol*, 1999, **65**: 4506 - 4512.
- [10] Mulli C, Odou M F, Singer E, et al. Multiplex PCR using 16S rRNA gene-targeted primers for the identification of bifidobacteria from human origin. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, **222**(1): 129 - 136.
- [11] Klaenhammer T R. Genetics of intestinal lactobacilli. *Int Dairy Journal*, 1995, **5**(8): 1019 - 1058.
- [12] Brigidi P, Vitali B, Swennen E, et al. Effects of probiotic administration upon the composition and enzymatic activity of human fecal microbiota in patients with irritable bowel syndrome of functional diarrhea. *Res Microbiol*, 2001, **152**(8): 735 - 741.

Distribution of Youth Intestinal Flora and Analysis of Key Probiotics Community

ZHANG Min¹ FAN Xiao-Bing² HANG Xiao-Min² LI Kun-Bao¹ YANG Hong^{1*}

(¹ School of Life Science and Biotechnology, Shanghai JiaoTong University, Shanghai 200240, China)

(² Shanghai Jiao Da Onlly Co., Ltd, Shanghai 200030, China)

Abstract: Study on intestinal flora of 30 Chinese youth (age 20 ~ 25) was conducted, including bacterium separating, counting, analysis and 16S rDNA sequencing and identification of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*, simultaneously with detection of β -galactosidase and short-chain fatty acids. The results showed that large quantity of anaerobe and B/E values (175.66) indicate the healthy intestinal condition of youth. Study on key probiotics community revealed that *Bifidobacterium* community usually composed of 1 ~ 4 strains and *B. adolescentis* (Detection rate 93.3%, amount percentage > 85%) and *B. longum* (Detection rate 86.7%, amount percentage 10%) were dominant strains in youth intestine; amount of other *Bifidobacterium* occupy less than 5%. It showed that *Bifidobacterium* community was relative stable and seems to have very close relation to the people's age but have less relation to diets and living environment. Comparatively, *Lactobacillus* had a more complex community, *L. crispatus* and *L. salivarius* (Detection rate 86.7% and 93.3% respectively, amount percentage 60% ~ 75%) were dominant strains, other *Lactobacillus* strains were various among subjects and whose amount percentage difference reaches 20% ~ 30%. It showed that *Lactobacillus* community may more depend on diets and individuals. Study on Chinese youth intestinal flora, especially on strain-level of probiotics, together with detection of β -galactosidase and short-chain fatty acids in the feces will be very helpful for deep understanding of intestinal microecology, developing effective probiotics products and building an evaluation system to reflect intestinal environment.

Key words: Intestinal flora, Community, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, β -D-galactosidase

* Corresponding author. Tel 86-21-54743343; Fax: 86-21-54743348; E-mail: hongyang@sjtu.edu.cn

Other author: SHA Da-Nian², XI Wan-Yan², WANG Yi-Ming¹

Received date 02-09-2004

《微生物学报》真诚欢迎刊登广告

《微生物学报》(双月刊)创刊于1953年,由中国微生物学会和中国科学院微生物研究所主办,是我国微生物学领域唯一的综合性学报级期刊和自然科学核心期刊,被国内外多家重要的文摘刊物和数据库收录。曾多次被评为优秀科技期刊。

本刊历史悠久,发行量大,内容涵盖面广,主要报道普通微生物学、工业、农业、医学和兽医微生物学、病毒学、免疫学以及生物工程等方面的研究成果和科研进展。一直受到国内外科研工作者、高等院校师生和相关企业界的欢迎。

本刊可以为您定期发布与微生物学相关的试剂、药品、仪器、设备及生物技术等方面的产品信息,可为您开拓在微生物学领域新的发展空间。另外,与生命科学有关的各类服务信息也在本刊发布之列。本刊科学严谨,信守协议,由中国科学院科学出版社广告部代理广告业务(广告经营许可证:京东工商广字第0034号)。编辑部备有最新的期刊简介和报价单,欢迎与我们联系。

通讯地址:100080 北京海淀中关村 中国科学院微生物研究所内 《微生物学报》编辑部

电话(010)62630422 传真(010)62554303 电子信箱:actamico@sun.im.ac.cn

联系人:王晋芳 王敏