

## 儿童肠道双歧杆菌和乳杆菌种群结构分析

金红芝<sup>1</sup> 范小兵<sup>2</sup> 杭晓敏<sup>2</sup> 李堃宝<sup>1</sup> 杨 虹<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>上海交通大学生命科学技术学院 上海 200240)

(<sup>2</sup>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 21 例 2~5 岁中国儿童的肠道菌群为研究对象,利用传统培养计数法和分子生物学技术,对此年龄段健康儿童的肠道菌群分布及其中关键益生菌的种群结构进行了定量研究。实验表明,儿童肠道厌氧菌的数量高达  $10^9$  CFU/g(湿重),其肠道菌群的定植抗力(平均 B/E = 2.38)较强;不同的个体之间所能检测到的关键益生菌的种类有所不同,一般能检测到其中的 1~4 种双歧杆菌和 1~5 种乳杆菌;长双歧杆菌和假小链双歧杆菌的平均数量多达  $10^7$  CFU/g(湿重),检出率分别为 90.48% 和 85.71%,为儿童肠道内双歧杆菌的优势菌种;*L. mucosae* 和发酵乳杆菌的数量较多,平均为  $3.68 \log_{10}$  CFU/g(湿重)和  $3.97 \log_{10}$  CFU/g(湿重),检出率分别为 71.43% 和 52.38%,为稳定定植于儿童肠道内的优势乳杆菌;不同种类的益生菌在不同样本之间的数量组成均存在有很大差异,双歧杆菌的样本差异为 1.86~3.85,乳杆菌的为 2.43~4.07。

**关键词:**肠道菌群,群落结构,双歧杆菌,乳杆菌

**中图分类号:** Q938 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209(2005)04-0567-04

人体肠道菌群(Intestinal flora)栖息着大约 30 属 500 多种细菌,在促进食物消化、合成蛋白质和维生素等营养物质、抵御外来致病菌侵入以及增强机体免疫能力等方面有着重要作用。正常菌群的种类、数量和分布不是固定不变的,而是受年龄、人种、膳食结构、生活习惯等因素的影响而不同<sup>[1,2]</sup>。研究发现服用益生菌制剂只是增加人体肠道内有益菌的数量是不够的,还应该调整肠道内的双歧杆菌(*Bifidobacterium*)或乳杆菌(*Lactobacillus*)的种群组成,补充机体内关键益生菌的优势菌种,使其恢复到正常的水平<sup>[3,4]</sup>。因此,在种水平上针对不同人种、不同年龄阶段的人体肠道菌群分布及其关键益生菌组成结构的研究,对于纠正菌群失调、提高健康水平、发展相应微生态制剂等具有非常重要的意义。目前,欧盟国家在这方面已有较多的报道,而国内针对中国人群在肠益生菌种水平上的研究工作还亟待展开。本实验室已报道了对于 20~25 岁中国青年的肠道菌群分布及关键益生菌种群结构的研究。本文是针对 2~5 岁健康中国儿童的肠道菌群,采用活菌定量计数法和分子生物学技术对其进行了研究,特别是在种水平上研究了其中双歧杆菌和乳杆菌的种群结构和数量分布,以期在更精确的水平上揭示我国儿童关键益生菌的种群结构。在种水平上针对

中国儿童肠道内关键益生菌的研究,也为儿童肠道环境健康程度的评价指标和体系的建立、益生菌菌种的筛选、肠道微生态保健品的研发以及肠道疾病临床辅助治疗提供了基础。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

**1.1.1 研究对象:**21 名 2~5 岁的健康儿童(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 样本采集与处理:**用灭菌小棒挑取自然排出的新鲜粪便 3~5g,放入无菌采集管内,立即送检。在采集管中加入 50mL 粪便稀释液<sup>[5]</sup>,振荡成匀浆,并依次稀释  $10^{-1}$  至  $10^{-7}$ 。

**1.1.3 主要试剂和仪器:**GENbox 厌氧培养系统(bioMérieux),显微镜 OLYMPUS BH-2, PE2400 扩增仪(Applied Biosystems), ABI 373A 自动 DNA 测序仪测序;溶菌酶、蛋白酶 K、2.5U *Taq* 聚合酶(上海申能博彩生物科技有限公司)。

**1.1.4 选择性培养基:**TSB(总好氧菌),MacConkey(肠杆菌),Slanetz & Bartley Medium(Oxoid, England, 肠球菌),Schaefer Anaerobe Broth(Oxoid, England, 总厌氧菌),TPY(双歧杆菌),改良 MC(乳杆菌),

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

作者简介:金红芝(1980-),女,山东聊城人,硕士研究生,主要从事肠道微生物研究。E-mail: naiejm@sju.edu.cn

其他作者:沈云春<sup>1</sup>

收稿日期:2004-12-15, 修回日期:2005-03-21

Schaedler Anaerobe Broth 添加新霉素(类杆菌), SPS (产气荚膜梭菌), Egg Yolk(肉毒梭菌)以及 MYF(蜡样芽孢杆菌)。除 Slanetz & Bartley Medium 和 Schaedler Anaerobe Broth 外,其余培养基均购自上海市疾病预防控制中心培养基室。

## 1.2 分离和计数

培养条件:总好氧菌和肠杆菌 37℃, 肠球菌 44.5℃, 在普通温箱中培养 18~24h; 厌氧菌采用 GENbox 厌氧培养系统, 37℃培养 36~48h。

菌落计数:每克样本中的菌数(CFU/g) = (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。

种属鉴定:菌落特征, 菌体形态, Gram 染色特性, 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, 按细菌系统鉴定手册<sup>[6]</sup>进行。

## 1.3 双歧杆菌和乳杆菌菌种的分子鉴定

1.3.1 DNA 提取 按文献<sup>[7]</sup>所述方法进行。

1.3.2 16S rDNA PCR 扩增:双歧杆菌种特异性引物<sup>[8]</sup>: 5'-CGGGTCTICCCACTTTTCATG-3' (Im3), 5'-GATTCTGGCTCAGGATGAACC-3' (Im26); 扩增产物长度约为 1500bp。乳杆菌种特异性引物<sup>[9]</sup>: 5'-GGAAACAG(A/G)TGCTAATACCG-3' (L159), 5'-CACCGCTACACATGGAG-3' (L677); 扩增产物长度约为 600bp。引物由上海申能博彩生物科技有限公司合成。参照文献<sup>[8,9]</sup>进行 PCR 扩增。

1.3.3 PCR 产物测序及分析:PCR 产物经纯化、测序后, 在 DDBJ 数据库中使用 BLAST 工具进行同源性分析, 并将其序列送交 GenBank 数据库获 Accession Number(表 2)。

## 2 结果和讨论

### 2.1 肠道菌群群落分布及 B/E 值

从肠道菌群值(表 1)来看, 双歧杆菌、乳杆菌和类杆菌(*Bacteriodes*)等厌氧菌的数量高达  $10^9$  CFU/g(湿重), 且样本差异小, 它们与宿主共生, 是肠道菌群的主要构成者。而肠杆菌(*Escherichia*)、肠球菌(*Enterococcus*)等条件性致病菌的数量比较小, 为肠道非优势菌, 其中肠球菌的检出率(85.7%)较低。产气荚膜梭菌(*C. perfringens*)、肉毒梭菌(*C. botulinum*)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)等病原菌的数量少, 样本差异大, 检出率低, 肠道微生态平衡时不会致病。B/E 值是指粪便中双歧杆菌与肠杆菌数量的比值, 作为肠道微生物定植抗力指标, 可以从正反两方面的对比来评价肠道菌群结构的状况, 其

数值大于 1 表示肠道定植抗力正常<sup>[11]</sup>。本研究中儿童的平均 B/E 值为 2.38, 大大高于正常基准线, 说明儿童肠道菌群的定植抗力较强, 可有效抑制外来致病菌的定植。

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	Children(n = 21)		Adult(n = 18) <sup>10</sup>	
	x ± s $\log_{10}$ CFU/g(wet)	Detection rate/%	x ± s $\log_{10}$ CFU/g(wet)	Detection rate/%
Total aerobic	8.15 ± 0.65	100	8.23 ± 0.73 <sup>a</sup>	100
<i>Escherichia</i>	7.38 ± 0.98	100	7.61 ± 0.52 <sup>a</sup>	100
<i>Enterococcus</i>	5.38 ± 2.53	85.7	6.22 ± 1.22 <sup>a</sup>	100
Total anaerobic	10.21 ± 0.52	100	10.24 ± 0.31 <sup>a</sup>	100
<i>Bifidobacterium</i> spp.	9.08 ± 0.51	100	9.36 ± 0.28 <sup>a</sup>	100
<i>Lactobacillus</i>	9.07 ± 0.45	100	8.48 ± 0.74 <sup>b</sup>	100
<i>Bacteriodes</i>	9.49 ± 0.52	100	9.88 ± 0.36 <sup>a</sup>	100
<i>C. perfringens</i>	2.33 ± 2.86	42.9	5.57 ± 1.16 <sup>c</sup>	72.2
<i>C. botulinum</i>	4.33 ± 2.71	76.2	5.97 ± 1.15 <sup>c</sup>	61.1
<i>Bacillus cereus</i>	4.05 ± 2.87	71.4	-	-
Average B/E	2.38		2.24 <sup>d</sup> /175.66 <sup>a</sup>	

The values for children and adults do not differ(t test;  $p > 0.01$ ); <sup>b</sup>The values for children and adults are different( $p < 0.05$ ); <sup>c</sup>The values for children and adults are different( $p < 0.01$ ); <sup>d</sup>The  $\log_{10}$ (number) of 175.66 that is suitable to compare with 2.38.

经 t 检验, 与张敏<sup>[10]</sup>利用相同方法研究所得的健康青年人(20~25岁)的肠道菌群值相比, 儿童肠道菌群中肠球菌的检出率(85.7%)较低, 产气荚膜梭菌、肉毒梭菌的检出数量少且差异显著( $P < 0.01$ ), 乳杆菌数量明显较高( $P < 0.05$ ), 其余菌群均无明显差异( $P > 0.01$ )。儿童的平均 B/E 值要高于青年人的平均 B/E 值(2.38 > 2.24), 提示儿童的肠道菌群比青年人的对于致病菌具有较强的抵抗力。研究结果表明儿童的肠道菌群分布与青年人的相近, 已经趋于稳定、成熟; 且致病菌的数量少, 乳杆菌的数量明显较多, 平均 B/E 值较高, 表明其肠道微生态环境比青年人的要优越。

### 2.2 关键益生菌群落结构分析

本实验采用双歧杆菌特异性引物对 Im26/Im3 和乳杆菌特异性引物对 L159/L677, 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 6 种双歧杆菌和 6 种乳杆菌(表 2)。

2.2.1 肠道双歧杆菌种群结构的分析: 本研究自儿童粪便样品中检测到 6 种双歧杆菌(表 3), 对照其菌值顺序由多到少依次为: 长双歧杆菌(*B. longum*)、假小链双歧杆菌(*B. pseudocatenulatum*)、青春双歧杆菌(*B. adolescentis*)、两歧双歧杆菌(*B. bifidum*)、婴儿双歧杆菌(*B. infantis*)、嗜热嗜酸双歧杆菌(*B. thermacidophilum*)。其中, 长双歧杆菌与假

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/%	
Bf1, Bf4, Bm21, Ba33, Ba3	<i>B. pseudocatenulatum</i>	99, 98, 98, 99, 98	AY766404, AY766405, AY766406, AY766407, AY766408
Ba2, Bm26, Bm29, Ba1	<i>B. longum</i>	98, 98, 98, 99	AY766409, AY766410, AY766411, AY766412
Bf5	<i>B. adolescentis</i>	98	AY766413
Bm31	<i>B. thermacidophilum</i>	96	AY766414
Ba211	<i>B. infantis</i>	99	AY766415
Ba47	<i>B. bifidum</i>	99	AY766416
La1, La3	<i>L. ruminis</i>	100, 100	AY766418, AY766419
LMa1, La5	<i>L. salivarius</i>	100, 100	AY766420, AY766421
LMa3	<i>L. gasseri</i>	97	AY766422
LMa25, La24, La21	<i>L. mucosae</i>	99, 100, 100	AY766424, AY766426, AY766427
L545	<i>L. fermentum</i>	99	AY766430
LM54	<i>L. plantarum</i>	98	AY766431

小链双歧杆菌的平均数量多达  $10^7$  CFU/g(湿重), 检出率分别为 90.48% 和 85.71%, 为儿童肠道内双歧杆菌的优势菌种。青春双歧杆菌和两歧双歧杆菌的数量较少, 只有在较少样本中检测到, 检出率分别为 33.33% 和 19.05%。婴儿双歧杆菌与嗜热嗜酸双歧杆菌数量最少, 只是在个别样本中能够检测到。无论是哪一种双歧杆菌, 它们的数量在样本之间的差异(1.86~3.85) 都比较大。且不同的样本之间所能检测到的双歧杆菌的种类是有差异的, 一般能检测到其中的 1~4 种双歧杆菌。

表 3 益生菌菌种检出数量和检出率

Table 3 Quantity of probiotics strains and Detection rate

Strains	$\bar{x} \pm s$ $\log_{10}$ CFU/g (wet)	Detection rate/%
<i>Bifidobacterium</i>		
<i>B. longum</i>	7.94 ± 2.78	90.48
<i>B. pseudocatenulatum</i>	7.26 ± 3.15	85.71
<i>B. adolescentis</i>	2.59 ± 3.84	33.33
<i>B. bifidum</i>	1.65 ± 3.48	19.05
<i>B. infantis</i>	0.41 ± 1.86	4.76
<i>B. thermacidophilum</i>	0.41 ± 1.89	4.76
<i>Lactobacillus</i>		
<i>L. mucosae</i>	4.68 ± 3.85	71.43
<i>L. fermentum</i>	3.97 ± 3.91	52.38
<i>L. salivarius</i>	2.82 ± 3.75	38.10
<i>L. ruminis</i>	2.80 ± 4.07	33.33
<i>L. gasseri</i>	2.08 ± 3.04	33.33
<i>L. plantarum</i>	0.96 ± 2.43	14.29

国外文献<sup>[12, 43]</sup>报道, 肠道双歧杆菌种群组成及数量与生理年龄紧密相关, 婴儿肠道内的双歧杆菌主要由两歧双歧杆菌、短双歧杆菌(*B. breve*)和婴儿双歧杆菌组成, 幼年时主要由青春双歧杆菌、小链双歧杆菌(*B. catenulatum*)和假小链双歧杆菌组成, 而成人后主要由青春双歧杆菌和长双歧杆菌组成。张敏<sup>[10]</sup>研究发现中国青年人的肠道中含有 5 种双歧杆菌, 即: 青春双歧杆菌、长双歧杆菌、婴儿双歧杆

菌、假小链双歧杆菌和动物双歧杆菌(*B. animalis*), 其中青春双歧杆菌和长双歧杆菌为青年人双歧杆菌中的优势菌种。本研究表明, 2~5 岁中国儿童肠道中主要双歧杆菌种类中既有幼年期占优势的假小链双歧杆菌, 又有成人中占优势的长双歧杆菌, 此外还含有青年人常见菌种青春双歧杆菌以及婴儿中主要双歧杆菌两歧双歧杆菌、婴儿双歧杆菌等, 其种群结构兼有婴儿与成人肠道双歧杆菌的两方面的特征, 种群特征属于由婴儿向成年的过渡类型; 这与本实验所选择的研究对象正处在幼年期的生理年龄有关。与国外对于人在幼年时肠道双歧杆菌的研究结果相比较, 中国儿童肠道主要的双歧杆菌中不包含青春双歧杆菌, 而且没有检测到小链双歧杆菌, 这可能与人种差异有关。

2.2.2 肠道乳杆菌种群结构的分析: 不同样本之间能够检测到的乳杆菌的种类也有很大差异, 一般能够检测到 1~5 种乳杆菌。本研究发现, 2~5 岁儿童肠道菌群乳杆菌主要有以下 6 种乳杆菌组成(如表 3): *L. mucosae*、发酵乳杆菌(*L. fermentum*)、唾液乳杆菌(*L. salivarius*)、瘤胃乳杆菌(*L. ruminis*)、加氏乳杆菌(*L. gasseri*)和植物乳杆菌(*L. plantarum*)。其中, *L. mucosae* 和发酵乳杆菌的数量较多, 平均为  $3.68 \log_{10}$  CFU/g(wet) 和  $3.97 \log_{10}$  CFU/g(wet); 检出率比较高, 分别为 71.43% 和 52.38%, 为稳定定植于儿童肠道内的优势乳杆菌。而唾液乳杆菌、瘤胃乳杆菌、加氏乳杆菌的数量少, 检出率也很低。植物乳杆菌只能在个别样本中检测到。而且研究结果发现, 不同样本之间乳杆菌种群的组成和数量存在有很大差异(2.43~4.07)。

国外一些研究表明: 发酵乳杆菌、唾液乳杆菌、干酪乳杆菌(*L. casei*)能够在人的口腔和直肠内检

测到,而瘤胃乳杆菌、*L. paracasei*、卷曲乳杆菌(*L. crispatus*)、阴道乳杆菌(*L. vaginalis*)和加氏乳杆菌常能够在人粪便样品中检测到<sup>[14,15]</sup>。Heilig 等人<sup>[9]</sup>利用分子生物学方法对人肠道乳杆菌结构进行了跟踪研究,发现瘤胃乳杆菌是肠道乳杆菌的优势菌种,普遍存在,数量很多;且发现不同个体之间乳杆菌种群组成和数量差异很大。由上可知,本实验对于中国儿童肠道乳杆菌的研究结果与国外对于欧洲人群肠道乳杆菌的研究结果基本一致,只是乳杆菌的优势乳杆菌和不同菌种的检出数量与欧洲人有较大差异。这可能与中西方的生活习惯、膳食结构、外部环境以及受分析的人种不同有很大关系。张敏<sup>[10]</sup>研究发现中国青年人的肠道乳杆菌主要由卷曲乳杆菌、唾液乳杆菌、发酵乳杆菌、瑞士乳杆菌(*L. helveticus*)和植物乳杆菌等5种乳杆菌组成;其中,卷曲乳杆菌和唾液乳杆菌为优势菌种,其余乳杆菌菌种的数量在不同样本之间差异较大。比较可知,儿童与青年人的肠道乳杆菌的种群结构和优势菌种都存在差异,随着年龄的增长,人肠道乳杆菌的组成与数量会产生动态的变化。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] 金红芝,李堃宝. 人肠道微生态系统的研究进展. 自然杂志, 2004, **26**(2): 88-91.  
 [ 2 ] Wilhelm H H, Ulrich S. Introduction to pre-and probiotics. *Food Research International*, 2002, **35**: 109-116.  
 [ 3 ] Sullivan D J O. Screening of intestinal microflora for effective

- probiotic bacteria. *J Agric Food Chem*, 2001, **49**: 1751-1760.  
 [ 4 ] Fang He, Ouweland A C, Isolauri E, et al. Comparison of mucosal adhesion and species identification of bifidobacteria isolated from healthy and allergic infants. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2001, **30**: 43-47.  
 [ 5 ] 黎永学,姜明杰. 一种改良大便双歧杆菌技术方法. 中国微生物生态学杂志, 2002, **14**(3): 177-178.  
 [ 6 ] 东秀珠,蔡妙英,等. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001, 349-398.  
 [ 7 ] Pennacchia C, Ercolini D, Blaiotta G, et al. Selection of *Lactobacillus* strains from fermented sausages for their potential use as probiotics. *Meat Science*, 2004, **67**: 309-317.  
 [ 8 ] 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.  
 [ 9 ] 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.  
 [ 10 ] 张敏,范小兵,杭晓敏,等. 青年人肠道菌群分布及关键益生菌群落结构分析. 微生物学报, 2004, **44**(6): 621-626.  
 [ 11 ] 吴仲文,李兰娟,马伟杭,等. 肠道微生物定植抗力的新指标——B/E值. 浙江预防医学, 2000, **12**(7): 7-8.  
 [ 12 ] Mullié 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**: 129-136.  
 [ 13 ] Venema K, Maathuis A J H. A PCR-based method for identification of bifidobacteria from the human alimentary tract at the species level. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, **224**: 143-149.  
 [ 14 ] McCartney A L, Wenzhi W, Tannock G W. Molecular analysis of the composition of the bifidobacterial and *Lactobacillus* microflora of humans. *Appl Environ Microbiol*, 1996, **62**: 4608-4613.  
 [ 15 ] Tannock G W, Tilsala-Timisjarvi A, Rodtong S, et al. Identification of *Lactobacillus* isolates from the gastrointestinal tract, silage, and yoghurt by 16S-23S rRNA gene intergenic spacer region sequence comparisons. *Appl Environ Microbiol*, 1999, **65**: 4264-4267.

## Analysis of the probiotic *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* community in child intestinal flora

JIN Hong-zhi<sup>1</sup> FAN Xiao-bing<sup>2</sup> HANG Xiao-min<sup>2</sup> LI Kun-bao<sup>1</sup> YANG Hong<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> School of Life Science and Biotechnology, Shanghai JiaoTong University, Shanghai 200240, China)

(<sup>2</sup> Shanghai Jiao Da Onlly Co., Ltd, Shanghai 200030, China)

**Abstract:** To investigate the distribution of child intestinal flora and the composition of its key probiotics community, study on intestinal flora of 21 Chinese children (age 2 ~ 5) was conducted, which included bacteria isolation and counting, 16S rDNA sequencing and homology analysis. For identification of the key probiotics such as *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in children feces at the species level, the specific primers Im26/Im3 and L159/L677 for PCR amplification of partial 16S rDNA were used. The results show that the composition of child intestinal flora is relatively stable and almost same to the intestinal flora of the youth (age 20 ~ 25). Culture-based approaches show that the key probiotic community in feces at the species level was highly different in composition and numbers from individual to individual. *B. longum* and *B. pseudocatenulatum*, which are detected at levels of 10<sup>7</sup> CFU/g (wet) in samples and the detection rates are 90.48% and 85.71% respectively, are believed to be major bifidobacterial species in child intestinal microbiota. In addition, *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. infantis* and *B. thermacidophilum* have also been found. *L. mucosae*, *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. ruminis*, *L. gasseri* and *L. plantarum* are isolated from the stools. *L. mucosae* (3.68 log<sub>10</sub> CFU/g (wet), detection rate 71.43%) and *L. fermentum* (3.97 log<sub>10</sub> CFU/g (wet), detection rate 52.38%) are two dominant species of *Lactobacillus*. Study on Chinese child intestinal flora, especially on the compositions and numbers of key probiotics in the feces will be very helpful to the development of effective probiotics in future.

**Key words:** Intestinal flora, Community, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*

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

Other author: SHEN Yun-chun<sup>1</sup>

Received date: 12-15-2004