



辽宁科协资助

LIAONING KEXIE ZIZHU

辽宁省优秀自然科学著作·2015年

• 李华军 康白 主编

健康之星——双歧杆菌

The Guardian of Health



辽宁科学技术出版社

LIAONING SCIENCE AND TECHNOLOGY PUBLISHING HOUSE

辽宁省优秀自然科学著作

健康之星——双歧杆菌

李华军 康白 主编



辽宁科学技术出版社

沈阳

主 编 李华军 大连医科大学微生物生态学教研室
康 白 大连医科大学微生物生态学教研室
副主编 李 明 大连医科大学微生物生态学教研室
秦永新 大连医科大学附属医院

图书在版编目 (CIP) 数据

健康之星：双歧杆菌/李华军，康白主编. —沈阳：辽宁科学技术出版社，2016. 5

(辽宁省优秀自然科学著作)

ISBN 978-7-5381-9805-8

I. ①健… II. ①李… ②康… III. ①双歧杆菌属—研究 IV. ①Q939. 13

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 090690 号

出版发行：辽宁科学技术出版社

(地址：沈阳市和平区十一纬路 29 号 邮编：110003)

印 刷 者：辽宁省印刷技术研究所

经 销 者：各地新华书店

幅面尺寸：185mm×260mm

印 张：8.5

字 数：183 千字

印 数：1~1 000

出版时间：2016 年 5 月第 1 版

印刷时间：2016 年 5 月第 1 次印刷

责任编辑：李伟民

特邀编辑：王奉安

封面设计：嵘 嵘

责任校对：尹 昭

书 号：ISBN 978-7-5381-9805-8

定 价：30.00 元

联系电话：024-23284526

邮购热线：024-23284502

<http://www.lnkj.com.cn>

前 言

近年来,在全世界范围内崛起了一门新兴的生命科学——微生态学(microecology)。微生态学是研究正常微生物群与其宿主(人、动物、植物)相互关系的边缘科学,它侧重于正常微生物群对其宿主的生理性及有益性方面的研究,以便挖掘和利用天然的生理性微生物,回归自然,达到保障健康、提高健康水平的目的。

双歧杆菌是个出了名的细菌,不仅专业研究人员知道,一般老百姓也知道。这主要是新闻媒体的作用,因此将其称为“新闻细菌”。就如新闻人物一样,不管是褒,还是贬。总之,这个术语已经普及了。究其原因,就是因为其对人类有益,并且具有商业价值。本书的目的就是要说明双歧杆菌到底有什么作用,怎样发挥作用。

双歧杆菌的数量很大,在人体每克肠内容物有几千亿个(10^{11}),但并不是肠道微生物群中数量最多的,还有很多其他正常菌群,其数量也很多。总体说,人体正常菌群有几百万亿个(10^{14}),总质量有1 kg多,其体积相当一个人的肝脏大小。双歧杆菌就是这些众多的细菌(几百种)中的一员。

为了研究这些包括双歧杆菌在内的正常菌群(正常微生物群),近年来诞生了一门新的生命科学分支微生态学。微生态学是研究正常菌群与其宿主的相互关系的学科,并且是开发和利用这些正常菌群新资源的新学科。双歧杆菌还有乳酸杆菌是当代国内外利用最广泛的细菌,因此得到人们普遍重视。

现在看来,把双歧杆菌看作是微生态学研究的核心或重心,是应当得到公允的。双歧杆菌的数量、种类、生理作用、生态效应及其他方面,都不是孤立的,而是与其他相关细菌保持着动态平衡或动态失调共同构成生命现象的整体性和群体性。因此,从双歧杆菌入手,研究微生态学的原理和实践,从现象看本质,将是一条捷径。

双歧杆菌的产品,在国际上已广泛涌现出来,近年来我国已出现了许多双歧杆菌产品,有药品、口服液和双歧杆菌豆奶等。新的双歧杆菌产品已在不断出现。和双歧杆菌相联合的产品或类似产品也不断问世。生产的发展,必将要求或带动基础理论研究的发展。可以预见双歧杆菌的研究,必然会出现新的高潮。

双歧杆菌的研究,目前在国内外都是热点之一。我们有责任把这一课题做一总结,供同行讨论和指正。

中国微生态学拥有一大批仁人志士,不为名,不为利,一心想把这一新学科建立起来。为了这一伟大事业,他们呕心沥血,奋斗终身。《易经》上说:“形而上者

谓之道，形而下者谓之器，化而裁之谓之变，推而行之谓之通，举而措之天下之民，谓之事业。”意思说，要有观点（道），要有行动（器），要根据实际情况（变），要推广（通），要为天下人民着想，这才能叫作事业。因此，我们认为，中国的微生态学会会员绝大多数都是为了事业。

在书稿创作整理过程中，得到了大连医科大学学生陈楠、刘敏、胡瑞良、张晴、李芳等的帮助，在此一并表示真诚的感谢。

大连医科大学微生态学教研室

李华军 康 白

2015年4月30日

目 录

1 绪论·····	001
2 双歧杆菌的分类学·····	017
3 双歧杆菌的生物学·····	023
4 双歧杆菌的微生态学·····	035
5 双歧杆菌的病理生理学·····	058
6 动物的双歧杆菌·····	065
7 双歧杆菌的检测·····	070
8 微生态调节剂·····	079
9 双歧杆菌的应用·····	097
10 双歧杆菌的未来·····	119
参考文献·····	127

1 绪 论

双歧杆菌是发现最早的生理性细菌之一。双歧杆菌研究的发展与微生物学的发展是相一致的。可以说，双歧杆菌的研究，带动并促进了微生物学的崛起。把双歧杆菌作为核心来研究人体正常微生物群的特征和基本规律，特别是研究其他生理性细菌，和其与这些正常微生物的相互关系，是这一新兴学科发展的客观需要。为了阐明微生物学的过去、现在和未来，本书将从双歧杆菌的发现、分类、基础研究和应用研究入手，来探索正常微生物群与人类生理、病理、疾病与保健的关系。总结过去，展望未来，以期推动微生物学的发展。

1.1 双歧杆菌概述

1.1.1 双歧杆菌的生物学特性

双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*) 是人类和动物 (包括昆虫) 正常肠内微生物群的主要成员之一。双歧杆菌属包括迄今已发现的48个种 (表1-1)。双歧杆菌为革兰氏阳

表 1-1 双歧杆菌的分类

种类	菌株型号	来源	序列分析情况
<i>Bifidobacterium actinocoloniiforme</i>	DSM 22766	大黄蜂消化道	—
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> 青春双歧杆菌	ATCC 15795	成人粪便	完成
<i>Bifidobacterium angulatum</i> 角双歧杆菌	ATCC 27535	成人粪便	草稿
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>animalis</i> 动物双歧杆菌动物亚种	ATCC 25527	污水	完成
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> 动物双歧杆菌链球型亚种	DSM 10140	发酵牛奶	完成
<i>Bifidobacterium asteroides</i> 星状双歧杆菌	ATCC 25910	蜜蜂的肠道	完成
<i>Bifidobacterium biavatii</i>	DSM 23969	罗望子排泄物	—
<i>Bifidobacterium bifidum</i> 分叉双歧杆菌	ATCC 29521	婴儿粪便	完成
<i>Bifidobacterium bohemicum</i>	DSM 22767	大黄蜂消化道	—
<i>Bifidobacterium bombi</i>	DSM 19703	大黄蜂消化道	—
<i>Bifidobacterium boum</i> 牛双歧杆菌	ATCC 27917	牛的瘤胃	—
<i>Bifidobacterium breve</i> 短双歧杆菌	ATCC 15700	婴儿粪便	完成
<i>Bifidobacterium callitrichos</i>	DSM 23973	狨猴粪便	—
<i>Bifidobacterium catenulatum</i> 小链状双歧杆菌	ATCC 27539	成人粪便	草稿
<i>Bifidobacterium choerinum</i> 豚双歧杆菌	ATCC 27686	小猪粪便	—

续表

种类	菌株型号	来源	序列分析情况
<i>Bifidobacterium coryneforme</i>	ATCC 25911	蜜蜂的肠道	—
<i>Bifidobacterium crudilactis</i>	LMG 23609	生奶酪	—
<i>Bifidobacterium cuniculi</i>	ATCC 27916	兔子粪便	—
<i>Bifidobacterium dentium</i> 齿双歧杆菌	ATCC 27534	口腔	完成
<i>Bifidobacterium gallicum</i>	ATCC 49850	人类粪便	草稿
<i>Bifidobacterium gallinarum</i>	ATCC 33777	鸡的盲肠	—
<i>Bifidobacterium indicum</i>	ATCC 25912	蜜蜂的肠道	—
<i>Bifidobacterium kashiwanohense</i>	DSM 21854	婴儿粪便	—
<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i> 长双歧杆菌婴儿亚种	ATCC 15697	婴儿粪便	完成
<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>longum</i> 长双歧杆菌长型亚种	ATCC 15707	成人粪便	完成
<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>suis</i> 长双歧杆菌猪亚种	ATCC 27533	小猪粪便	—
<i>Bifidobacterium magnum</i>	ATCC 27540	兔子粪便	—
<i>Bifidobacterium merycicum</i>	ATCC 49391	牛的瘤胃	—
<i>Bifidobacterium minimum</i> 最小双歧杆菌	ATCC 27538	污水	—
<i>Bifidobacterium mongoliense</i>	DSM 21395	发酵牛奶	—
<i>Bifidobacterium moukalabense</i>	JCM 18751	大猩猩的粪便	—
<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> 假链状双歧杆菌	ATCC 27919	婴儿粪便	草稿
<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> subsp. <i>globosum</i> 假长双歧杆菌球形亚种	ATCC 25865	牛的瘤胃	—
<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> subsp. <i>pseudolongum</i> 假长双歧杆菌假长亚种	ATCC 25526	猪的粪便	—
<i>Bifidobacterium psychraeophilum</i>	LMG 21775	猪盲肠	—
<i>Bifidobacterium pullorum</i>	ATCC 27685	鸡的粪便	—
<i>Bifidobacterium reuteri</i>	DSM 23975	狨猴粪便	—
<i>Bifidobacterium ruminantium</i> 反刍双歧杆菌	ATCC 49390	牛的瘤胃	—
<i>Bifidobacterium saeculare</i> 世纪双歧杆菌	ATCC 49392	兔子粪便	—
<i>Bifidobacterium sanguihui</i>	DSM 23967	罗望子排泄物	—
<i>Bifidobacterium scardovii</i>	DSM 13734	人类	—
<i>Bifidobacterium stellenboschense</i>	DSM 23968	罗望子排泄物	—
<i>Bifidobacterium stercoris</i>	JCM 15918	成人粪便	—
<i>Bifidobacterium subtile</i> 细长双歧杆菌	ATCC 27537	污水	—
<i>Bifidobacterium thermacidophilum</i> subsp. <i>porcinum</i> 嗜热双歧杆菌猪型亚种	DSM 17755	小猪粪便	—
<i>Bifidobacterium thermacidophilum</i> subsp. <i>thermacidophilum</i> 嗜热双歧杆菌嗜热亚种	DSM 15837	厌氧消化器	—
<i>Bifidobacterium thermacidophilum</i> 嗜热双歧杆菌	ATCC 25525	小猪粪便	完成
<i>Bifidobacterium tsurumiense</i>	JCM 13495	仓鼠牙斑	—

性、多形态、专性厌氧，主要寄居在人类、动物及蜜蜂肠道内的生理性细菌。该菌无芽胞、荚膜及鞭毛，无运动性，触酶、硝酸盐还原、靛基质产生、明胶液化及精氨酸水解均阴性。抗酸染色阴性。多形性是本菌属的一个重要特征，同一菌种可因培养条件不同而呈不同形态，更重要的是在同一培养条件下，不同的种在形态和排列上可表现出该种所固有的特征。如在 TPY 培养基中穿刺培养，分叉双歧杆菌 (*B. bifidum*) 类似长颈酒瓶；最小双歧杆菌 (*B. minimum*) 菌体是较小的；大双歧杆菌 (*B. magnum*) 菌体则较大；动物双歧杆菌 (*B. animalis*) 菌体中央膨大；角双歧杆菌 (*B. angulatum*) 的排列多呈 V 形或栅状；小鸡双歧杆菌 (*B. pullorum*) 呈规则的链状排列；星状双歧杆菌 (*B. asteroides*) 呈独特的星状排列；小链双歧杆菌 (*B. catenulatum*) 可由 3~4 个或更多的球形菌排成链状，链的末端变细。上述特征对属内各种之间的鉴别有一定意义。

新分离的菌株一般呈均一的或分叉的 Y 形、V 形，菌体粗细不均匀，呈棒状或匙状，形态受营养条件的影响。电镜下观察亚细胞结构因种、株及培养基的不同而有差别。细胞壁厚度波动在 20~50 nm。有的菌株胞浆膜表面被直径 11~23 nm 的颗粒覆盖，胞浆内颗粒多少不一，有的充满核糖体，中介体呈管状或层状。细胞周围可见散在的黏液层及空泡。

葡萄糖经果糖-6-磷酸途径发酵生成 1.5 : 1.0 mol (醋酸 : 乳酸) 的有机酸比例，不生成 CO₂、丁酸及丙酸。(G+C)% 为 57%~68%。最低生长温度为 25~28℃，最高生长温度为 43~45℃，适宜生长温度为 37~41℃。专性厌氧，但不同的种对氧的敏感性是不同的。某些种当有 CO₂ 存在时，对氧可以耐受。初代培养适宜 pH 为 6.5~7.0，在 pH 4.5~5.0 或 pH 8.0~8.5 时不能生长。

在 TPY 琼脂培养基上的菌落表面光滑，凸起，边缘整齐呈奶油色、瓷白色，质地柔软。在液体培养基中生长呈弥漫性混浊，有小的块状物沉于管底。双歧杆菌专性厌氧，发酵糖类产酸不产气，发酵葡萄糖主要生成乙酸和乳酸。不同的种对糖的发酵能力不同。葡萄糖酵解通过果糖-6-磷酸途径，主要形成 3 mol 醋酸和 2 mol 乳酸，二者理论比值为 1.5 : 1.0。还产生小量甲酸、乙醇及琥珀酸，不产丁酸和丙酸。触酶阴性，仅印度双歧杆菌 (*B. indicum*) 及星状双歧杆菌，当培养在有空气条件下、培养基中有或无氯化血红素时，触酶可为阳性。能够利用铵盐作为唯一氮源，但有些种还需要有机氮才能生长。如猪双歧杆菌 (*B. suis*)、大双歧杆菌和兔双歧杆菌 (*B. cuniculi*) 等。尿素酶活性在所检查的 21 个种 414 株双歧杆菌中，除兔双歧杆菌外，在所有其他种中，均有尿素酶阳性的菌株。猪双歧杆菌的多数菌株对尿素酶的水解能力是强的，并且 80% 的菌株尿素酶阳性。而短双歧杆菌 (*B. breve*) 和长双歧杆菌 (*B. longum*) 中尿素酶阳性菌株不到 10%。分叉双歧杆菌对尿素的水解能力是弱的。一般不还原硝酸盐，但当培养在有溶解能力的红细胞的条件下，则可以还原硝酸盐。不产生靛基质和硫化氢。

1.1.2 双歧杆菌的微生物学定义

迄今为止，可以认为，双歧杆菌是最主要的人和动物肠道内的双歧杆菌生理性细菌之一。双歧杆菌虽然数量大，每克肠内容物含活菌数超过 10⁹ 个，但无毒、无害，而且具

有许多生态效应或生理意义。双歧杆菌参与了宿主的消化、营养、代谢、吸收、免疫及抗感染过程。人类从出生到死亡,双歧杆菌一直伴随着存在,只是在患病、衰老或其他不利条件下才减少,甚至消失。

双歧杆菌主要栖居于人和动物的肠道,小肠上部几乎检测不出,小肠下部数量可达 $10^3 \sim 10^5/\text{g}$,大肠粪便中可达 $10^8 \sim 10^{12}/\text{g}$ 。此外,在口腔和阴道中也有双歧杆菌栖居。许多种动物如鸡、猪、犬、小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠、猿、猴、家兔、牛、羊、马,甚至蜜蜂的肠道中都有双歧杆菌,并且大都以优势菌群存在。在污水中可分离到青春、角、小链、假小链等10个种的双歧杆菌。在临床标本中常可分离到齿双歧杆菌,过去命名的阑尾炎双歧杆菌(*B. appendicitis*)为齿双歧杆菌的同义词,艾氏双歧杆菌(*B. eriksonii*)在遗传学上被认为是齿双歧杆菌。该菌可能具有致病性。偶尔可从临床标本中分离到长双歧杆菌和短双歧杆菌。

宿主对双歧杆菌生物学特性也有相应的影响,宿主的年龄、生理现象、营养、健康状况、患病状态都会对双歧杆菌的定性、定量和定位产生作用。

双歧杆菌与其宿主在长期历史进化过程中已经形成一个和谐的微生态系。保持这个微生态系的发育与发展,对人类健康与长寿,对动物的品质和产量均具有极为重要的意义。

已病治病是机械医学的行为,未病防病是生物医学的行为,无病保健是生态医学的行为。医学吸收了生态学观点便形成了生态医学。生态医学是现代医学最高发展阶段,生态医学的高级阶段强调人体与内环境的统一。属于微生态学范畴。而微生态平衡是微生态学中的核心问题。因此,根据微生态学原理,为了调整微生态平衡,利用正常微生物群成员或其促进物质制成的生态制剂或称微生态调节剂的出现,是历史的必然,且近年来在国内外迅速崛起。生态制剂的作用不能与治疗药或特异性预防制剂(如疫苗、菌苗)等量齐观,后两者要有明确的针对性和特异性,而前者是针对广泛的“健康”。因此,生态制剂的重心是无病保健,其主要作用应侧重其生态效应。双歧杆菌是人体肠道正常菌群的优势菌种。主要分布在结肠黏膜表面,是重要的肠道生理菌,具有维护肠道微生态平衡的重要作用,在迅速崛起的生态制剂中是佼佼者。近年来国内外许多研究表明它具有多方面的生态效应,我国在微生态学带头人康白教授的大力倡导下,在双歧杆菌生态效应的研究方面取得了许多新的进展。

1.1.3 微生态调节剂

由于双歧杆菌的生物学特性和微生态学意义研究不断进展,现在国内、国际均将其产品应用于人类或动物疾病的治疗和预防、保健和延年益寿,已经出现的产品有饮料、沃格特(酸奶)、药品和食品或饲料添加剂。所有这些都称为微生态调节剂。

国际上,现在应用的微生态调节剂包括益生菌、益生元及合生素3种类型。双歧杆菌作为一种益生菌,单独或其他益生菌(如乳杆菌、粪链球菌、酵母菌或芽胞菌)制成复合益生菌制品,已经广泛应用。为了增进益生菌的作用,又采用其生长促进物质,如双歧因子或各种寡糖类(oligosaccharide)物质即所谓益生元,以辅助其效应。如果将

益生菌与益生元合起来，制成微生态调节剂，这就是合生素。目前这3种类型的产品并驾齐驱地迅速发展起来，为人类健康和发展，正在或将要做出重大奉献。

1.2 双歧杆菌研究的历史

1.2.1 双歧杆菌的发现

1.2.1.1 双歧杆菌被发现的历史背景

双歧杆菌是1899年在法国巴黎巴斯德研究院由蒂瑟尔发现的。这一发现，并非偶然。一是客观存在，二是时代背景。当时正是19世纪90年代初。这是一个各种细菌大发现时代。这里三位伟人的功绩是不可忽视的。首先是巴斯德。巴斯德是化学家，他从发酵角度，认为肠内菌是有益的，并且由于他对法国柞蚕业和造酒业在细菌学的研究方面做出了重大贡献，挽救了法国当时赖以生存的重要工业，因而推动了细菌学的发展。其次是德国的科赫，他发明了固体培养基，因而相继发现了炭疽杆菌、结核杆菌和霍乱弧菌，掀起了当时科学界猎逐病原菌的高潮。再次就是俄国的细菌学家梅契尼科夫。当时他在巴斯德研究院做研究工作，并兼任巴斯德研究院的副院长。在假期他与他的学生曾在长寿之国保加利亚考察。他发现那里的游牧民族都喝当地居民叫作沃格特的酸奶，并分离出一种乳杆菌，他将其命名为保加利亚乳杆菌 (*L. bulgaricus*)。梅契尼科夫认为，人肠内的大肠杆菌是有害的，如果饮用沃格特，可抑制大肠杆菌，从而延年益寿，他本人自从发现沃格特以后，一直坚持饮用这种饮料。

上述三位是当时的科学界名流，对人类肠道内微生物意义提出对立的两种观点：一派认为是有害的，应该予以排除；另一派认为是有益的，如果没有肠内菌，势必无法生存。前者是梅契尼科夫的观点，后者是巴斯德的观点。其实这两派都对，只是因为看问题的侧面不同。概括地说，在正常情况下，肠内微生物与其宿主保持平衡就是有益的，如果发生了失调就是有害的。

德国的科赫不仅在发现致病菌方面起了先锋作用，而且在研究手段方面，特别是固体培养方法，也给双歧杆菌的发现提供了物质基础。在上述时代背景下，双歧杆菌的发现就有了思想基础与物质基础。

蒂瑟尔是在1899年12月2日在巴黎生物学会学术会议上发表他的论文。题目是“肠内菌群——乳幼儿的正常与病态”，副标题是“乳幼儿肠内菌群的研究——正常与疾病”。蒂瑟尔发现，天然营养儿和人工营养儿的大便内有一种革兰氏阳性的多形态的杆菌，而且天然营养儿较人工营养儿更多，甚至是纯种状态。但是，不论哪种营养方式的婴幼儿在患腹泻时，这种杆菌就会减少或消失。奥地利医生莫罗在1900年也发现了相同的结果，并且发现婴幼儿离乳后这种杆菌随即减少，并接近于成人状态。

1.2.1.2 双歧杆菌的发现顺序

双歧杆菌的发现，除了受巴斯德、科赫、梅契尼科夫三位科学巨匠的影响外，还受时代的历史现实的影响。在欧洲，当时以德、法为核心掀起了猎逐各种疾病病原体的热潮。当时发现新的细菌层出不穷，几乎每天都有发现新的细菌的消息。不仅在欧洲广泛

传播着，而且通过电波传到北美洲及世界各先进国家。刚刚明治维新的日本，也派了大批留学生到欧洲来研究细菌。蒂瑟尔就在这种浪潮中发现了双歧杆菌。

蒂瑟尔 1890 年在巴黎波斯克特儿童医院 Grauche 教授指导下读研究生，他的题目是“对婴幼儿消化不良病因的研究”。经过 10 a 艰苦的努力，在他的两位朋友 Zuber 与 Veillon 的帮助下，终于在 1899 年，在母乳喂养的婴儿正常大便内发现了双歧杆菌。从此开辟了百年来双歧杆菌研究的新篇章，同时也揭开了研究生理性细菌的新纪元。细菌的发现顺序如表 1-2 所示。

表 1-2 细菌的发现顺序

年份	菌种名称	发现者
1883	霍乱弧菌	Koch
1884	白喉杆菌	Loeffler
	伤寒杆菌	Gaffky
	链球菌	Rosenbach
	葡萄球菌	Rosenbach
1885	淋病球菌	Neisser
	大肠杆菌	Eschenich
1886	肺炎双球菌	Frankel
1887	布氏杆菌	Bruce
	脑膜炎双球菌	Weichselbaum
1889	破伤风杆菌	北里柴三郎
1891	放线菌	Wolff-Israel
1894	鼠疫杆菌	北里柴三郎, Yersin
1898	痢疾杆菌	志贺 洁
1899	双歧杆菌	蒂瑟尔

表 1-2 指出，截至 1899 年，共发现的 15 个细菌，其中只有双歧杆菌 1 个是生理性细菌，其余 14 个都是病原菌。蒂瑟尔的功绩就在于他开辟了病理细菌学与生理细菌学的两个命题。

1.2.2 双歧杆菌的生物学研究

自 1899 年蒂瑟尔发现双歧杆菌以来，双歧杆菌的微生物学研究已从初级阶段进入高级阶段，现今属于现代化阶段。

1.2.2.1 双歧杆菌的形态学

双歧杆菌是革兰氏阳性多形态杆菌，蒂瑟尔 1899 年刚发现时曾指出从婴幼儿正常大便分离出来时是多形态的，呈 Y 形、V 形弯曲状、刮勺状，其典型的形态特征是有分叉的杆菌。但在经过人工培养后可为直杆状。这种表型变异是可逆的。在 20 世纪 80 年代初期已经证明，通过配对的无菌小鼠可使已变成杆状的双歧杆菌恢复到分叉状。大连医

科大学研制双歧杆菌制剂——回春生的生产菌种青春双歧杆菌也从分叉状转化为杆状。经过配对无菌小鼠传代又恢复成分叉状。双歧杆菌的形态学,经过长期的众多学者的观察已经证明是客观存在的一种生物学现象。

1.2.2.2 厌氧性

双歧杆菌不形成芽胞,无运动性,专性厌氧,最适生长温度为 37~41℃,最适发酵温度为 35~40℃,最低生长温度为 25~28℃,最高生长温度为 43~45℃,起始生长 pH 6.7~7.0,在 pH 4.5 以下或 pH 8.5 以上的环境都不生长。双歧杆菌的厌氧性已有了详细的研究。在 20 世纪初就已发现该菌是专性厌氧菌。但由于厌氧技术的不成熟常常有许多菌株不能分离成功。在早期还认为这些在大便涂片能看到的革兰氏阳性杆菌大部分是死菌。但是,到了 20 世纪 50 年代末期,德国柏林自由大学的 Haenel 教授把各种厌氧培养法联合使用,结果证明 90% 以上都是活菌。现在的厌氧方法已成功地分离出双歧杆菌的多个种。双歧杆菌的厌氧法,在刚分离时厌氧性特别强,但有的菌株却经过传代后可变成微需氧。这种厌氧性也可通过动物传代恢复原来的专性厌氧状态。

1.2.2.3 双歧杆菌在人体的分布及演替过程

双歧杆菌主要分布于人的肠道中,特别是大肠中,在成人的粪便中,其数量可达 $10^8 \sim 10^{12}/g$ 。此外,在口腔、阴道也有一定数量的双歧杆菌存在。迄今,尚未见有关其致病性的报道。

人体从出生后的几小时到衰老死亡,双歧杆菌与之终生相伴。随着个体的生长发育、患病及衰老,双歧杆菌也在发生种类和数量上的变化,这些变化均直接或间接地影响机体的荣衰。新生儿出生后不久,肠道内首先出现以大肠杆菌为首的需氧及兼性厌氧菌的优势菌群,这些菌在肠道内消耗了氧气,降低了肠道局部的氧化还原电势,促进了双歧杆菌这类厌氧菌在肠道的定植。一般在生后 6~8 d,肠道内即建立起以双歧杆菌占绝对优势的菌群。它们发酵糖类,产生大量的乙酸和乳酸,抑制了具有潜在致病性的肠杆菌等的生长繁殖,逐渐达到肠道微生态的平衡。这种平衡状态下的肠菌群对婴幼儿的营养代谢、抗感染及生长发育具有重要意义。足月儿、母乳喂养儿较易顺利完成这一肠道菌群的演替过程,而早产儿、低出生体重儿及人工喂养儿的双歧杆菌的优势菌群的建立较迟缓,易出现微生态失调,因而引起一系列疾病,如:营养不良、反复感染、腹泻等,严重者影响婴幼儿的身体乃至智力的发育。

双歧杆菌在成年人的肠道中已不占首位,而是以类杆菌的数量最多。尽管如此,双歧杆菌仍发挥着重要的生理作用。成年人的双歧杆菌,在种类上与婴幼儿有差别,主要是青春双歧杆菌,长双歧杆菌及分叉双歧杆菌。随着机体的衰老,双歧杆菌的数量逐渐下降,变形杆菌、梭菌等的数量增加;而在长寿老人的肠道中,双歧杆菌仍以较高水平存在。故人们认为双歧杆菌具有延年益寿的功效。

当机体处于病理状态时,双歧杆菌发生病理性演替,如在肝炎、肝硬化、胃溃疡、十二指肠溃疡、溃疡性结肠炎、大肠癌、慢性肠炎等情况下,双歧杆菌的数量明显减少,其他如大肠杆菌、葡萄球菌等数量增加。这种失调的状态,或为结果,或为原因,进一

步加重机体的病理状态。当滥用抗生素时,大量的抗生素进入体内,杀死了敏感细菌,引起菌群失调,使双歧杆菌的数量下降,极易导致内源性感染或二重感染的发生。

1.2.2.4 双歧杆菌的生理学研究

双歧杆菌主要分布在人体肠道中,部分温血动物如猪、狗、老鼠和蜜蜂的消化道中也大量存在。近年来人们就双歧杆菌的生理学做了大量研究。现在对双歧杆菌的代谢、营养要求、温度、pH、生化特性等方面有了现代化的研究。这些研究成果使得双歧杆菌的应用研究有了坚实的基础。双歧杆菌与人体终生相伴,它具有一系列的生理功能,说明它与人类的健康息息相关。

(1) 降低血内毒素的作用。人体肠道内存在着需氧及兼性厌氧的革兰氏阴性杆菌,如大肠杆菌、变形杆菌、绿脓杆菌等,它们在生长、繁殖、死亡及崩解的过程中,不断释放出内毒素,经门静脉吸收入血后,构成血内毒素的主要来源,当肠道微生态处于平衡状态时,双歧杆菌以绝对的优势占据了肠道微生态空间,它有力地控制了肠道内的需氧及兼性厌氧的革兰氏阴性杆菌的生长繁殖,使之以较低的数量存在于肠道中,从而减少了血内毒素的来源,降低了血内毒素的水平。在患肝炎、肝硬化或接受大量放射线照射等情况下,肠道内的双歧杆菌的数量下降,需氧及兼性厌氧的革兰氏阴性杆菌大量繁殖,释放出大量内毒素,使血内毒素水平随之升高,严重危害机体的各个系统。大连医科大学研制的回春生制剂,是一种双歧杆菌活菌制剂,通过口服,可以迅速补充肝炎、肝硬化病人肠道中的双歧杆菌,从而降低需氧及兼性厌氧菌的数量,降低血内毒素水平,减少内毒素对肝脏的损害,促进肝脏功能的恢复,收到良好的临床效果。

(2) 维持和调整肠道微生态系平衡。电镜下可以发现,双歧杆菌在肠道内与肠黏膜密切结合,在肠黏膜表面形成几乎呈纯培养状态的以双歧杆菌为主体的微生物膜。这种状态一方面有利于双歧杆菌与其宿主细胞发生物质、能量及信息的交换,另一方面,它形成一个生物学屏障,阻止致病菌。肠黏膜表层为需氧的大肠杆菌和肠球菌,称为腔菌群或外籍菌群,各细菌间通过生物拮抗保持平衡。婴幼儿尤其是新生儿和早产儿,由于免疫功能不足,巨噬细胞趋化力低,补体不足,IgA 缺乏,杀菌力低,败血症、脑膜炎和坏死性肠炎等全身感染性疾病的发生率高,细菌多来源于肠道的内源性细菌。

1.2.3 双歧杆菌分类学的研究

由于双歧杆菌生物学特性的研究不断发展与进步,有关这方面的科学信息不断增加,双歧杆菌的分类也是经历过不完善到比较完善,不全面到逐渐全面的发展过程。双歧杆菌的分类可分为以下几个阶段:

1.2.3.1 混乱时期

在整个细菌分类尚不完善的情况下,1899年蒂瑟尔发现双歧杆菌后,就将该菌命名为普通分叉杆菌(*Bacillus bifidus communis*)。在后来看来这个分类是不妥的,因为一则双歧杆菌无芽胞,二则不是需氧菌。对此,1919年Orla-Jensen建议把*Bacillus bifidus*改为*Bacterium bifidus*,并在1924年又提出改为双歧杆菌(*Bifidobacterium*),但未能被很多人接受。在杂志上仍有*Bacillus bifidus*,*Bacteroids bifidus*(双歧类杆菌),*Lactobacilius*

bifidus (分叉乳杆菌) 及 *Actinomycetes bifidus* (分叉放线菌) 等的提法。甚至还有人提议建立一个新的菌属, 叫作蒂瑟尔分叉菌 (*Tissier bifidus*)。

上述混乱状态使得双歧杆菌属曾经被列入乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*)、放线菌属 (*Actinomycetales*)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*) 及丙酸杆菌属 (*Propionibacterium*)。

1.2.3.2 稳定时期

经过混乱时期, 对双歧杆菌的分类已统一了认识, 进入稳定时期。双歧杆菌从 1899 年蒂瑟尔发现以来到 1974 年正式列为属的分类已经历了 75 a 之久。1974 年正式确定的双歧杆菌菌属 (Genus: *Bifidobacterium*), 包括 21 个种 (Species), 载入国际细菌分类专书《伯杰氏鉴定细菌学》第 8 版。1986 年载入第 9 版后又增加 3 个种, 计 24 个种。到 90 年代初再增加 4 个种, 共为 28 个种。目前一共为 48 个种。

1.2.3.3 现代时期

1971 年, Sacardovi 等根据糖发酵结果及 DNA 杂交试验, 对双歧杆菌属内的种 (species) 和亚种 (Subspecies) 进行分类学研究。从此对从人、动物 (猪、犬、牛、鸡、大鼠、小鼠、豚鼠) 及蜜蜂分离的菌种进行了生物学、分子生物学及遗传学的分类研究, 从而使双歧杆菌的分类学进入了现代化时期。根据 DNA 的同源性研究和糖发酵研究发现双歧杆菌属共分为 48 个种, 而人类来源的只有 12 个种, 其中能在人体肠道内定植并能用于制备保健食品的双歧杆菌主要有分叉双歧杆菌 (*B. bifidum*)、长双歧杆菌 (*B. longum*)、婴儿双歧杆菌 (*B. infantis*)、短双歧杆菌 (*B. breve*)、青春双歧杆菌 (*B. adolescentis*)、角双歧杆菌 (*B. angulatum*)、小链双歧杆菌 (*B. catenulatum*)、假小链双歧杆菌 (*B. pseudocatenulatum*) 及牙双歧杆菌 (*B. dentium*)。

1.2.4 双歧杆菌的微生态效应研究

自发现双歧杆菌以来, 因其具有一系列微生态效应而引起世人的注意。这些微生态效应研究包括以下几方面。

1.2.4.1 保健作用

蒂瑟尔与 Moro 就是因为双歧杆菌在母乳喂养儿大便内大量存在而发现其对婴幼儿具有许多生态效应。当时就发现, 双歧杆菌的存在, 对婴幼儿具有营养、免疫和抗感染作用, 而且还具有抗过敏、调整肠功能及改善营养等作用。由于母乳中含有促进双歧杆菌促进因子即双歧因子, 1954 年美国宾州大学的 Gyogey 等曾对母乳中的双歧杆菌结构与作用做了系统的研究, 促进了在国际上开发、添加双歧因子及使牛乳人乳化的研究工作。他们试验用的双歧杆菌种被命名为宾西法尼亚双歧杆菌变种 (*L. bifidum var pennsylvanicus*)。该菌株被国际上许多研究者作为参考菌株。

(1) 抑制腐败菌生长。

①双歧杆菌可迅速在肠黏膜增殖, 形成有益菌屏障, 密布于肠黏膜上形成菌膜, 使致病菌无法定植。

②双歧杆菌产生的醋酸、乳酸使肠道 pH 降低, 达到抑制腐败菌的目的。

③产生似细菌素的蛋白质, 有一定的杀菌作用。

④双歧杆菌可使偶联型胆汁酸分解为游离型胆汁酸,该种酸对细菌抑制作用更强。

(2) 营养作用。双歧杆菌在人体肠道内能合成维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆、维生素 K 等,被人体缓慢地吸收,双歧杆菌 B 族维生素的生成量可达 120.3 μg/mL。

1.2.4.2 微生态效应

在婴幼儿微生态学的研究带动下,科学家把双歧杆菌及其他生理性细菌与宿主生理学规律联系起来的微生态系研究作为双歧杆菌研究的核心部分,现在取得了大量科学信息。这些信息证明以下事实。

(1) 调整肠功能紊乱。双歧杆菌具有调整肠功能紊乱作用,可以调整腹泻与便秘,即双向调节。日本光冈知足教授、本间道教授报道了大量日本方面取得的成就。我国生产的双歧杆菌制品也具有明显的作用。这种调整作用对肠炎、痢疾及其他肠道病有治疗和预防作用。其作用机制是双歧杆菌分泌的大量短链脂肪酸,降低 pH 酸化肠道,抑制腐败菌,调整肠菌群结构。

(2) 降低血内毒素。腐败菌产生许多代谢产物,如吲哚、甲酚、胺等需要在肝脏中用酸解毒,随尿以葡糖醛酸盐和硫酸盐等形式排出。研究证明,双歧杆菌具有降低血内毒素水平。其机制是控制产生内毒素的革兰氏阴性杆菌,阻断血内毒素的产生来源。

(3) 降低胆固醇。双歧杆菌与肠球菌可以降低血胆固醇,阻断肝肠循环,从而降低血胆固醇浓度,对防止动脉硬化和高血压起一定作用。

①吸收理论。双歧杆菌吸收肠道中的胆固醇以减少机体对胆固醇的吸收。

②沉淀理论。借助其胆盐水解酶活性将胆盐转化为脱结合态,导致在 pH 低于 6.0 时,胆盐的溶解度较低,并与胆固醇形成沉淀,使胆固醇随粪便一起排泄,从而降低血清胆固醇的水平。

③抑制胆固醇合成途径中 β-羟基、β-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶的活性,控制胆固醇的合成而降低血清胆固醇的含量。

(4) 抗肿瘤作用。近 20 a 的研究表明,双歧杆菌可通过调整肠菌群,减少能使前致癌物质转化为致癌物质的葡萄糖醛酸酶、硝基还原酶、偶氮还原酶的生成量。双歧杆菌还可提高宿主的免疫力,从而预防癌症的发生。大量动物实验表明,摄入双歧杆菌活菌或死菌均可提高机体的抗体水平,激活巨噬细胞的吞噬活性,这对提高机体的抗感染能力,预防、抑制和杀死肿瘤细胞的产生具有重要作用。

(5) 提高免疫力。双歧杆菌及其他生理性细菌具有提高宿主免疫力的作用。中国、日本和美国的研究者研究指出双歧杆菌能提高非特异性的体液免疫和细胞免疫。近年来的报道指出,双歧杆菌可明显地促进黏膜免疫功能。

(6) 延年益寿作用。早在 1905 年梅契尼科夫就写了一本书——《延年益寿》。他是对长期饮用保加利亚乳杆菌发酵而成的沃格特的长寿的保加利亚游牧民族的实地调查为内容,提出乳酸菌(包括双歧杆菌及乳酸链球菌)能够防治老年病和延年益寿。90 年代日本光冈知足博士调查了日本的长寿村老人的肠菌群。结果发现,长寿老人与年轻的健康老人相比较,其大便内的双歧杆菌并不减少。我国对广西巴马长寿老人的调查也得

到同样的结果。双歧杆菌抗衰老的原因,是因为双歧杆菌能抑制腐败菌,减少代谢产物中的氨、硫化氢、靛基质、酚、皂酚及粪臭素等有害物质。双歧杆菌的微生物生态效应,除了上述几方面,目前正从亚细胞水平、基因水平、分子水平研究其与宿主细胞之间的能量转化、物质转化及信息转化的更加深入的领域。双歧杆菌的研究是一个最具有光辉前景的微生物生态学热点之一。

1.3 双歧杆菌研究的重要性

由于近 20 a 来微生物学的崛起和医学革命的进展,使双歧杆菌研究的重要性愈来愈被学术界认识。由于双歧杆菌制剂在世界范围获得广泛应用,广大群众已经认识到其重要性,这就为双歧杆菌研究奠定了发展基础。为了说明双歧杆菌研究的重要意义,本节从医学革命的发展、微生物生态学崛起及微生物生态调节剂的广泛应用作以论述。

1.3.1 医学革命的发展

1.3.1.1 机械医学革命

现代医学是从传统医学发展起来的。传统医学受古代或中世纪的传统观念支配,主要以推理或演绎为依据。到了 19 世纪早期,欧洲进入文艺复兴时期,欧洲文艺复兴时的观念是中世纪观念的对立物。由以蒸汽机为主的机械工业的发展,促进了医学的革命,医学由古代医学跃进为机械医学。机械医学把人体比作机器。机器需要燃料方能运转,人体需要食物才能生存。机器坏了,需要修理,人生病了需要治疗。这种观念忽视了人体作为生物的特殊性,机器坏了不修理不能自然修复,而人体患病了却可自然治愈。

到了 19 世纪末 20 世纪初,现代微生物学及其他医学分支发展起来了,人们发现机械医学远远落后时代发展,特别是各种烈性传染病病原体的发现,更加显示人体生物学本性,因而产生了医学由机械学观念向生物学观念转战。

1.3.1.2 生物医学革命

从 19 世纪末到 20 世纪 50 年代,医学主要是生物医学革命观念支配。医学出现了飞跃的发展,直到现在医学还是主要受生物学观点支配,但是事物总是向前发展的,要进行新的质的飞跃。因此,从 50 年代开始,生态学观念逐渐形成。从 20 世纪末到 21 世纪初,必将是生态医学的发展,人类将进入更加繁荣昌盛的世界。

1.3.1.3 生态医学革命

从微生物生态学观点出发,人体不仅仅是一个生物体,而且是地球上生态系中的一员,人类只有在生态系的统一能量、物质及信息运转中才能生存与繁衍。医学吸收了生态学观点,便形成为生态医学。生态医学分初级阶段与高级阶段。初级阶段主要侧重在外环境——自然环境与社会环境对人体的相互作用。这还不全面,人体不仅要与外环境统一,而且要与内环境统一。前者属宏观生态学范畴。后者属微观生态学或微生物生态学范畴。医学从生物医学进展为生态医学,又是一种新的飞跃。

1.3.1.4 医学观念与行为的进化

观念决定行为。医学观念决定医学行为已得到医学发展史的验证。已病治病是机械