

专家论坛专栏

编者按:体内微生物作为人体的重要屏障,守护着人体健康。人类婴幼儿时期建立的菌群,对一生的健康状况有着重要的影响;而口腔是人体与外界相通的主要通道,口腔内微生物的形态会持续影响体内微生态环境。本期专家论坛栏目特别邀请专家就婴幼儿益生菌、口腔益生菌的研究现状进行了科学的阐述。希望通过专家的深入解读,为公众进一步了解益生菌与健康的关系提供有益帮助。

(栏目策划:李 宁)

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2020.01.002

文章编号:2095-6002(2020)01-0012-05

引用格式:王世杰,何方,朱宏. 婴幼儿用益生菌的研究现状及面临的挑战[J]. 食品科学技术学报,2020,38(1):12-16.



WANG Shijie, HE Fang, ZHU Hong. Research status and challenges of probiotics for infants[J]. Journal of Food Science and Technology, 2020,38(1):12-16.

婴幼儿用益生菌的研究现状及面临的挑战

王世杰^{1,3}, 何方², 朱宏³

(1. 河北科技大学 生物科学与工程学院, 河北 石家庄 050018;

2. 日本高梨乳业株式会社, 日本 横滨 241-0023;

3. 石家庄君乐宝乳业有限公司, 河北 石家庄 050221)

摘要: 益生菌是活的微生物,当摄入足够数量时,对宿主起有益健康的作用。研究发现母乳中含有活的微生物,使婴幼儿用益生菌被广泛关注。目前,国际上没有对“婴幼儿用益生菌”明确统一的定义及共识。通过阐述婴幼儿用益生菌的种类、常用菌株、安全性、临床研究的现状,指出研究最多的是乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)和双歧杆菌属(*Bifidobacterium*),诸多报道显示其安全性良好,但是大多益生作用研究来自动物实验,成熟的、具有明确保健功能的益生菌菌株较少,尤其缺乏充分的临床研究。婴幼儿益生菌在研究和产业方面面临3方面挑战:现代肠道优势菌群新发现与传统益生菌菌株的矛盾,健康功能及作用缺乏像药物一样更深层面的精准机制解析,以及婴幼儿益生菌的法规与新菌株临床试验研究的矛盾。尽管面临诸多问题,但是,针对婴幼儿,特别是中国婴幼儿,特有的胃肠功能、免疫系统等尚未发育健全,这一独特的生理特点,开发婴幼儿用益生菌将具有重要前景。

关键词: 婴幼儿; 肠道菌群; 益生菌; 乳酸杆菌; 双歧杆菌

中图分类号: TS201.3

文献标志码: A

近年来研究发现,婴幼儿早期的肠道菌群异常,不仅与当下的便秘、腹泻等问题相关,而且与成年后的过敏、肥胖等多种疾病相关^[1-3],肠道微生物对宿

主的健康作用可能具有非常重要的远程效果^[3]。婴儿肠道细菌最初的来源包括产道、其他婴儿、环境、医护人员等,受多种因素影响^[4-5];抗生素使用、

收稿日期:2019-10-08

基金项目:河北省引进国外智力项目(2019YX021A);中央引导地方科技发展专项(19942817G);河北省科技重大专项项目(18047133Z)。

第一作者:王世杰,男,教授级高级工程师,博士,主要从事益生菌及功能性乳制品方面的研究。

剖宫产、人工喂养、环境接触、益生菌干预等因素均可影响婴儿肠道菌群的平衡^[1,4,6]。目前,随着母乳活性免疫成分、肠道菌群与婴幼儿健康关系的研究不断深入^[7-8],尤其研究发现母乳中含有活的微生物,表明生命早期的微生物可能会对婴幼儿健康有着重要的意义,提示婴幼儿食品用益生菌的研究应被受到更广泛的关注。

1 婴幼儿用益生菌

1.1 益生菌的种类

根据联合国粮农组织联合世界卫生组织(a joint inter government body of the Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Health Organization, FAO/WHO)于 2001 年的定义,益生菌是活的微生物,当摄入足够数量时,对宿主起有益健康的作用^[9]。在益生菌研究领域,目前研究最多是乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)和双歧杆菌属(*Bifidobacterium*),我国批复的“可用于婴幼儿食品中的菌种名单”中,有 5 株乳酸杆菌和 4 株双歧杆菌。乳酸杆菌和双歧杆菌虽然曾经都被称乳酸菌,但是这两大微生物在系统分类学、基础生理生化特性以及生态分布及功能上等很多方面有显著的区别,其中乳酸杆菌主要分布在人消化道的上部,主要是在小肠表面,而双歧杆菌,主要是在大肠里;乳酸杆菌的绝大部分是兼性厌氧,而双歧杆菌是严格的厌氧菌;乳酸杆菌在数量上要远远少于双歧杆菌;乳酸杆菌的代谢产物是乳酸,而双歧杆菌除乳酸以外还有醋酸,见表 1。

表 1 乳酸杆菌与双歧杆菌比较

Tab. 1 Comparison of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*

性状	乳酸杆菌	双歧杆菌
菌体形状	杆状、球状	Y 型
肠内定置位置	小肠	大肠
对胃酸的敏感性	相对较强	相对较弱
存在环境	动物、植物及自然界中广泛存在	人体及动物肠道内
主要代谢产物	乳酸	乳酸、醋酸、B 族维生素、叶酸

1.2 常用婴幼儿用益生菌菌株

目前,国际上没有对“婴幼儿用益生菌”明确、统一的定义及共识;在多数国家和地区,常用的益生菌均可被用作婴幼儿用益生菌。但是,在我国,法规对婴幼儿用益生菌有明确的规定,到目前为止,国家共批准了 9 株益生菌可用于婴幼儿食品,见表 2。在婴幼儿食品中常用的菌株主要来自成年人粪便、婴幼儿粪便、发酵乳制品、健康母乳等。

通常认为,这些益生菌可以维持“免疫不全期”婴幼儿肠道的菌群平衡,保持益生菌在肠道的优势地位,改善婴幼儿机体免疫力,预防和治疗腹泻,促进肠胃消化吸收,缓解过敏症状,改善乳糖不耐受等作用^[10-11]。然而,这些宣称的作用,大多来自动物试验,通过严格的随机对照试验(randomized control trial, RCT)设计并得到验证的婴幼儿人群功效试验,文献报道很少,同时被批准的 9 株益生菌均来自欧美等国家和地区,能否满足中国婴幼儿的营养及健康要求还要在今后的研究中进行更深入的研究。

表 2 可用于婴幼儿食品的益生菌菌种名单

Tab. 2 List of probiotics for infant food

菌种	拉丁学名	菌株号	所有者	来源
嗜酸乳杆菌	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	NCFM	杜邦丹尼斯克	①
动物双歧杆菌	<i>Bifidobacterium animalis</i>	Bb-12	丹麦科汉森	①
乳双歧杆菌	<i>Bifidobacterium lactis</i>	HN019/Bi-07	杜邦丹尼斯克/杜邦丹尼斯克	①
鼠李糖乳杆菌	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	LGG/HN001	Valio/杜邦丹尼斯克	①
罗伊氏乳杆菌	<i>Lactobacillus reuteri</i>	DSM17938	帝斯曼	②
发酵乳杆菌	<i>Lactobacillus fermentum</i>	CECT5716	西班牙 Biosearch Life 公司	③
短双歧杆菌	<i>Bifidobacterium breve</i>	M-16V	达能(日本森永)	③

①卫生部公告 2011 年第 25 号;②关于批准塔格糖等 6 种新食品原料的公告(2014 年第 10 号);③卫计委关于发酵乳杆菌 CECT5716 等 3 个菌种的公告(2016 年第 6 号)。

2 婴幼儿用益生菌的安全性及临床研究

2.1 婴幼儿用益生菌的安全性

婴幼儿益生菌首要的问题是安全。FAO/WHO关于食品益生菌评估的联合报道指出,近40年的研究中,已有超过140项成人临床研究收集了关于乳酸菌菌株的数据,这些研究共包含近8000名受试者,证明了这些菌株具有良好的耐受性。已有70多项临床研究,对4000多名摄入添加益生菌配方奶或食品的儿童和婴儿(包括足月儿和早产儿)进行研究,未发现与益生菌相关的不良反应。

中国食品科学技术学会益生菌分会发布《益生菌科学共识》里指出,益生菌安全性问题主要表现在以下4个方面:益生菌进入血液引起的人体全身性感染;益生菌产生有害的代谢活性产物对人体产生的不良反应;食用益生菌制剂后对敏感个体的免疫刺激作用;益生菌菌种在长期使用后所携带耐药基因的转移。目前,研究主要集中在由益生菌所携

带耐药基因转移引起的耐药性问题。针对我国“名单制”的管理模式,不断完善食品安全国家标准体系,以更好地保障此类产品的安全性,尤为重要。

2.2 婴幼儿用益生菌的临床研究

目前,文献报道中通过RCT,验证其功能的菌株非常有限,主要有 *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG)、*Bifidobacterium lactis* Bb12、*Bifidobacterium longum* BL999、*Lactobacillus rhamnosus* LPR、*Lactobacillus reuteri* ATCC 55730、*Lactobacillus reuteri* DSM 17938等,见表3^[12]。这些研究:1)验证了其安全性,研究中给健康婴儿食用添加益生菌的奶粉,均未出现不良事件。2)研究中有一些有益的临床效果,但没有强有力的证据支持推荐它们在日常使用;尤其,在影响肠绞痛、哭闹、腹泻,促进生长等方面的作用不显著。3)由于研究的数据量太少,不显著的研究结果并不能否定益生菌的作用及其在婴幼儿中应用的潜质,因此,在临床方面仍需大量研究。4)少有针对性健康可能的远程效果相关研究。

表3 婴幼儿益生菌临床研究综述

Tab. 3 Summary of clinical research on probiotics in infants

益生菌菌株	检测指标及阴性结果	检测指标及阳性结果
<i>L. rhamnosus</i> GG (LGG)	肠绞痛、哭闹、易怒、耐受性方面均无显著性差异	LGG组比对照组生长略快;LGG组排便次数(9.1 ± 2.6)大于对照组(8.0 ± 2.8) ($P < 0.05$);LGG组大便黏稠度(9.5 ± 1.2)比对照组(10.2 ± 1.7)更疏松($P < 0.05$)
<i>B. lactis</i> Bb12	生长、呼吸道感染、抗生素使用、哭闹、大便频率、大便黏稠度、不良事件方面均无显著性差异	胃肠道感染,存在一定的矛盾:其中一项RCT, $n = 119$, RR = 2.6, 95% CI = 1.6 ~ 4.4;另一项RCT, $n = 59$, 腹泻天数下降(0.37 vs 0.59, $P < 0.001$)
<i>B. lactis</i> 、 <i>S. thermophilus</i>	生长、胃肠道感染、不良事件方面均无显著性差异	肠绞痛和易怒频次下降($P < 0.001$)
<i>B. longum</i> BL999	生长、肠绞痛、哭闹、易怒、消化耐受性、不良事件方面均无显著性差异	更可能出现松软粪便(OR = 2.8, 95% CI = 1.05 ~ 7.5)
<i>B. longum</i> BL999 联合 <i>L. rhamnosus</i> LPR	生长、呼吸道感染、抗生素使用、肠绞痛、哭闹、易怒、耐受性、大便频率、大便黏稠度、过敏、不良事件方面均无显著性差异	
<i>L. reuteri</i> ATCC 55730	生长、呼吸道感染、肠绞痛、哭闹、易怒、耐受性、大便黏稠度、不良事件方面均无显著性差异	胃肠道感染:干预组数量更低;干预组降低了抗生素处方数量($P = 0.02$)
<i>L. reuteri</i> DSM 17938	生长、不良事件方面均无显著性差异	大便出现硬便频率下降($P = 0.001$),出现软便频率升高($P = 0.018$)
<i>L. salivarius</i> CEC5713	生长、肠绞痛、哭闹、易怒、耐受性方面均无显著性差异	胃肠道感染:RR = 0.3(95% CI = 0.1 ~ 0.5) ($P < 0.05$) 呼吸道症状:干预组的呼吸道感染发生率明显低于对照组(36例 vs 53例, $P < 0.05$)
<i>L. johnsonii</i>	生长、胃肠道感染、呼吸道症状方面均无显著性差异	

RCT为randomized controlled trial(随机对照试验),RR为risk ratio(风险率),OR为odds ratio(比值比),vs为versus(对比),95%CI为95% confidence interval(95%置信区间)。

3 婴幼儿益生菌研究面临的问题

3.1 现代分析技术对传统益生菌菌株认识的挑战

传统上,益生菌主要是乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*) 和双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*), 然而随着宏基因组等分子生物学技术发展,发现肠道的优势菌株并不是这两类菌。Lim 等^[2] 分析婴幼儿时期的肠道菌群分布于厚壁菌门 (Firmicutes) 梭菌纲 (Clostridia)、丹毒丝菌纲 (Erysipelotrichi)、芽孢杆菌纲 (Bacilli), 放线菌门 (Actinobacteria) 放线菌纲 (Actinobacteria), 拟杆菌门 (Bacteroidetes) 拟杆菌纲 (Bacteroidia), 变形杆菌门 (Proteobacteria) γ -变形菌纲 (Gamma-proteobacteria)、 β -变形菌纲 (Beta-proteobacteria), 疣微菌门 (Verrucomicrobia) 疣微菌纲 (Verrucomicrobiae), 梭杆菌门 (Fusobacteria) 梭杆菌纲 (Fusobacteriia), 以及其他未知的细菌分类家族。这些结果提示: 1) 由于双歧杆菌、乳酸杆菌不是肠道中的优势菌, 传统的以双歧杆菌和乳杆菌为主的益生菌, 是否作为益生菌最好的选择, 将受到极大的挑战; 2) 现代分子生物学的结果大大扩大了益生菌种类可能的范围, 肠道中如此大量的微生物, 为更大范围的益生菌选育提供了可能; 3) 基于肠道宏基因组与特殊疾病的相关性研究, 为开发新型的益生菌开辟了新思路。

3.2 益生菌的保健功能及作用机制问题

目前,成熟的、具有明确保健功能的益生菌株较少,尤其缺乏充分的临床研究,从而难以支撑益生菌株可靠的功能性宣称,影响益生菌的应用推广。因此,益生菌的研究需要开展更多完整的、严谨的 RCT 及临床研究。同时,目前大多数的临床研究,短者几周,长者几个月,时间较短;现代的研究显示肠道菌群具有长效作用,从而开展更为长期的临床研究,甚至贯穿一生的研究,需要给予关注。同时,基于目前针对婴幼儿的肠道系统、免疫系统等问题,有针对性开发益生菌及其功能特性值得关注。

益生菌的健康作用机制不清,通常认为益生菌发挥功能可能有 3 种途径: 1) 调节肠道微生态环境。2) 调节机体免疫抗性。3) 改善定殖抗性。这些机制主要是基于现象层面的说明,缺乏更深层面的解释,尤其,没有明确的作用通路和明确的功效成分,从而对益生菌的应用缺乏像药物一样的精准指导。

3.3 婴幼儿益生菌的法规问题

我国知名企业都在开展婴幼儿用益生菌的开

发,然而,新资源申报中遇到的问题是需要开展婴幼儿喂养实验,同时,研究机构处于安全及法规要求,需要开展婴幼儿喂养试验用菌株为国家法规允许使用的菌种,该矛盾成为我国婴幼儿益生菌开发面临的主要问题。

传统的益生菌菌种,如酸奶等发酵食品中分离出的乳酸菌,包括多种乳酸杆菌以及链球菌(如嗜热链球菌),因已有长期食用安全历史,被认为无致病性、无毒性、不产毒素、属于 GRS (general regard as safe)。但是部分新的益生菌,主要是分离自健康人体肠道的菌株,这些新菌种能否被视为有与传统食用菌种一致的安全性,目前在国内外专家间仍然有较大的争议。

4 展望

近年来,益生菌及其相关产业迅猛发展,欧睿国际最新数据显示,全球益生菌市场价值约 400 亿欧元。大部分益生菌相关产品在发达国家已形成了较成熟的市场。我国益生菌的市场发展前景巨大,2020 年产品规模将会接近 850 亿元。针对婴幼儿,特别是中国婴幼儿,特有的胃肠功能、免疫系统等尚未发育健全,这一独特的生理特点,开发婴幼儿用益生菌将具有重要前景。

参考文献:

- [1] TAMBURINI S, SHEN N, WU H C, et al. The microbiome in early life: implications for health outcomes [J]. *Nature Medicine*, 2016, 22(7): 713 - 722.
- [2] LIM E S, ZHOU Y, ZHAO G, et al. Early life dynamics of the human gut virome and bacterial microbiome in infants [J]. *Nature Medicine*, 2015, 21(10): 1228 - 1234.
- [3] GENSOLLEN T, IYER S S, KASPER D L, et al. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system [J]. *Science*, 2016, 352(6285): 539 - 544.
- [4] BLASER M J, DOMINGUEZ-BELLO M G. The human microbiome before birth [J]. *Cell Host and Microbe*, 2016, 20(5): 558 - 560.
- [5] LIM E S, WANG D, HOLTZ L R. The bacterial microbiome and viromemilestones of infant development [J]. *Trends in Microbiology*, 2016, 24(10): 801 - 810.
- [6] BÄCKHED F, ROSWALL J, PENG Y, et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life [J]. *Cell Host and Microbe*, 2015, 17

- (5): 690–703.
- [7] PANNARAJ P S, LI F, CERINI C, et al. Association between breast milk bacterial communities and establishment and development of the infant gut microbiome[J]. *JAMA Pediatrics*, 2017, 171(7):647–654.
- [8] JOST T, LACROIX C, BRAEGGER C P, et al. Vertical mother-neonate transfer of maternal gut bacteria via breastfeeding[J]. *Environmental Microbiology*, 2014, 16(9):2891–2904.
- [9] FAO/WHO Working Group. Guidelines for the evaluation of probiotics in food[R/OL]. [2019-10-08]. https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf.
- [10] 洪青,刘振民,杭锋. 益生菌/益生元对婴幼儿健康作用的研究进展[J]. *食品工业*, 2018, 39(5): 296–299.
- HONG Q, LIU Z M, HANG F. Advances in research on health benefits of probiotic and prebiotic in infants and young children[J]. *Food Industry*, 2018, 39(5): 296–299.
- [11] 颜姜瑜,叶子园. 婴幼儿益生菌食品的应用现状及发展前景[J]. *广东化工*, 2018, 45(12): 159–160.
- YAN J Y, YE Z Y. Application status and development prospect of probiotics food for infants and young children [J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2018, 45(12): 159–160.
- [12] SKÓRKA A, PIEŚCIK-LECH M, KOŁODZIEJ M, et al. To add or not to add probiotics to infant formulae? An updated systematic review[J]. *Beneficial Microbes*, 2017, 8(5):717–725.

Research Status and Challenges of Probiotics for Infants

WANG Shijie^{1,3}, HE Fang², ZHU Hong³

(1. *College of Bioscience and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China;*

2. *Takanashi Milk Products Co Ltd, Yokohama 241–0023, Japan;*

3. *Shijiazhuang Junlebao Dairy Co Ltd, Shijiazhuang 050221, China)*

Abstract: Probiotics are living microorganisms, and when consumed in sufficient quantities, they are beneficial to the host. Studies have found that breast milk contains living microorganisms, so probiotics for infants and young children are widely concerned. At present, there is no world widely clear and unified definition and consensus on “probiotics for infants and young children”. This paper described the types, common strains, safety and clinical research status of probiotics for infants and young children, and pointed out that the most studies focused on *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. Many reports showed that the safety of probiotics was good, but most function researches were from animal experiments, and there were few probiotics strains with mature and clear health function, especially lacking of sufficient clinical research. There were three challenges in the research and industry of infant probiotics: the contradiction between the new discovery of modern intestinal dominant flora and traditional probiotic strains, the lack of accurate mechanism analysis of health function in a deeper level like drugs, and the contradiction between the regulations of infant probiotics and clinical trial research of new strains. Although there were many problems, the incomplete gastrointestinal function and immune system of infants determined the bright prospect of probiotics development especially in China.

Keywords: infants; intestinal flora; probiotics; *Lactobacillus*; *Bifidobacterium*

(责任编辑:李 宁)