

含益生元配方奶粉对婴儿肠道微生物的影响

龙晓蕾, 刘美佟, 尹晓晨, 崔鲁炜, 胡余明

湖南省疾病预防控制中心, 湖南 长沙 410005

摘要: **目的** 通过观察健康婴儿纯母乳及含益生元配方奶粉两种喂养方式下婴儿肠道常见细菌数量, 探讨含益生元配方奶粉对婴儿肠道微生物的影响。 **方法** 以足月健康婴儿 311 例为研究对象, 奶粉喂养组 250 例给与含益生元配方奶粉喂养, 母乳喂养组 61 例给与纯母乳喂养。试验连续给与 90 d, 分别在试验前 3 d、试验第 30、60、90 d 及试验结束后 6 个月采集婴儿 72 h 全部粪便标本, 经传统方法培养后计数乳酸杆菌、肠球菌、肠杆菌、拟杆菌、双歧杆菌菌落拷贝数, 以 Log_{10} 对数值统计数据比较分析。 **结果** 试验前几种细菌拷贝数 Log_{10} 对数值在两组组间差异均无统计学意义 ($P>0.05$); 利用重复测量方差分析, 两组在试验各时间点几种细菌拷贝数 Log_{10} 对数值无显著差异 ($P>0.05$)。 **结论** 在调节婴儿肠道微生物促进肠道健康方面, 含益生元配方奶粉喂养与纯母乳喂养可以起到相似的效果。

关键词: 奶粉; 益生元; 母乳喂养; 肠道菌群

中图分类号: R446.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-3110(2020)08-0954-03 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2020.08.016

Effect of probiotic formula milk powder on intestinal microecology of infants

LONG Xiao-lei, LIU Mei-tong, YIN Xiao-chen, CUI Lu-wei, HU Yu-ming

Hunan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Changsha, Hunan 410005, China

Corresponding author: HU Yu-ming, E-mail: huyuming@vip.sina.com

Abstract: **Objective** To observe the counts of common intestinal bacteria in exclusively breast-fed healthy infants and prebiotic formula milk powder-fed healthy ones, and to explore the effect of milk powder with prebiotic formula on the intestinal microecology of infants. **Methods** Three hundred and eleven full-term healthy infants served as the research subjects. 250 infants of the milk powder group were fed with formula containing probiotics, and 61 infants of the breast-fed group were exclusively breast-fed. All the subjects were fed successively for 90 days. 72-hour faecal specimens of all the subjects were collected 3 days before the test, at days 30, 60 and 90 during the test, and 6 months after the test. The number of colonies like lactobacillus, enterococcus, enterobacter, bacteroides and bifidobacterium was counted after traditional culture, and the Log_{10} colony-forming units (CFU) were used for statistical analysis and comparison. **Results** Before the test, no statistically significant difference was found in the Log_{10} CFU of the above-mentioned bacteria between the two groups (all $P>0.05$). Repetitive measurement and analysis of variance revealed that there were no statistically significant differences in the Log_{10} CFU of the above-mentioned bacteria at each time point of the test between the two groups (all $P>0.05$). **Conclusions** As for adjusting the balance of intestinal microecology of infants and promoting their intestinal health, the effects of feeding infants with probiotic formula milk powder and exclusive breast milk are similar.

Key words: milk powder; prebiotics; breastfeeding; intestinal flora

肠道菌群作为人体内一个复杂的微生态系统, 在维持人体微生态的稳态中起到重要的作用^[1]。不同喂养方式可能对婴儿肠道菌群的分布有不同的影响, 主要包括纯母乳喂养、奶粉喂养和混合喂养的方式。纯母乳喂养是全球范围内提倡的婴儿健康饮食的重要方式, 母乳中含有的各种成分比例符合人体需要, 吸收率高, 是婴儿理想的食物来源^[2]。本研究选择含益生

元的配方奶粉给与健康足月婴儿 250 例; 纯母乳喂养 61 例, 连续观察 90 d, 在不同时间点收集并分析婴儿粪便内主要肠道细菌(乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌、肠杆菌、拟杆菌)菌落数量 Log_{10} 拷贝数, 探讨两种喂养方式对肠道微生物、婴儿腹泻的影响, 为合理选择喂养方式提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料 选取湖南省某地健康足月娩出婴儿, 20 d~3 月龄, 出生体重 2 500~4 000 g。如果存在以下情况者, 应予以排除: ①使用其他婴儿配方奶粉喂养

作者简介: 龙晓蕾(1982-), 女, 硕士, 主要从事病原生物学相关研究工作。

通信作者: 胡余明, E-mail: huyuming@vip.sina.com。

的婴儿,或监护人不同意给婴儿更换研究指定的婴儿配方奶粉;②不是完全用婴儿配方食品喂养的婴儿;③正接受治疗的患儿或处于患严重疾病恢复期的婴儿;④对乳蛋白过敏或乳糖不耐受的婴儿、患有苯丙酮尿症等先天性遗传缺陷的婴儿;⑤其他不适合喂养配方奶粉的婴儿。研究对象共计 311 例,该项目通过湖南省疾病预防控制中心伦理委员会审查。

1.2 分组与干预 受试对象法定监护人完全了解本研究的目的、方法、内容和注意事项,签订知情同意书,根据自愿原则确定母乳组、奶粉组,综合婴儿几种细菌的分布、性别组成、出生天数、体重、身高进行平衡。奶粉组选取含益生元的配方奶粉进行喂养,母乳组给与纯母乳喂养。研究周期为 90 d,停止干预后两组自由选择喂养方式。分别在研究前 3 d、第 30 d、第 60 d、第 90 d 和研究停止后 6 个月 5 个时间点收集婴儿排泄的粪便,置于无菌容器中,保存在 2 ℃~8 ℃立即送检测机构进行检测,并对其监护人进行问卷调查。

1.3 样本处理与培养 取 0.1 g 粪便标本进行 10 倍稀释,取稀释标本 0.1 ml,加入不同的选择培养基平皿中并涂布均匀。需氧菌置细菌培养箱 37 ℃培养,厌氧菌置于 5%二氧化碳培养箱中培养 24~48 h。根据细菌菌落颜色、大小、光泽度、湿润度、革兰氏染色及生化反应等方法对菌落进行鉴定,同时计数菌落数。

1.4 问卷调查 制定详细的问卷调查方案,包括婴儿

性别、出生日期、出生身高、出生体重、胎次、婴儿一般身体状况,是否接受过其他食品喂养,食用配方奶粉或母乳后的表现,登记采样时间等。

1.5 质量控制 为保证实验质量,奶粉组应维持纯配方奶粉喂养,母乳组维持纯母乳喂养。奶粉组按要求填写奶粉领用记录与食用记录,包括每日饮奶次数和每次奶量等,每月进行电话回访及现场指导,嘱其监护人按实验计划维持喂养方式。大便标本采集后置于无菌容器中,保存在 2 ℃~8 ℃,及时送检,操作人员严格按照规程进行检验。问卷调查选择具有专业素质的调查员,熟悉当地语言,掌握访问基本技能。本实验涉及的 5 次调查尽量选择同一调查员,减少人为误差。研究数据采用双人双机录入,确保数据录入正确。

1.6 统计学处理 应用 Excel 2007, SPSS 18.0 软件,计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用成组 *t* 检验,两组在多个时间点的分析采用重复测量的方差分析,率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基线数据分析 分析试验前各组婴儿 72 h 粪便内几种细菌的拷贝数,经 χ^2 检验,成组 *t* 检验比较,性别组成、出生体重、身高、天数、胎次、几种细菌在两组间差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1、表 2。

表 1 研究对象一般情况

组别	例数	男性(n,%)	出生体重(g, $\bar{x}\pm s$)	出生身高(cm, $\bar{x}\pm s$)	出生天数(d, $\bar{x}\pm s$)	胎次(次, $\bar{x}\pm s$)
奶粉组	250	133(53.2)	3 274.0 \pm 446.5	50.1 \pm 1.4	61.1 \pm 27.3	1.7 \pm 0.6
母乳组	61	26(42.6)	3 333.9 \pm 460.7	50.1 \pm 1.6	56.9 \pm 25.0	1.6 \pm 0.7
合计	311	159(51.1)	3 285.8 \pm 448.4	50.1 \pm 1.5	60.3 \pm 26.3	1.6 \pm 0.6
<i>t</i> 或 χ^2 值	-	0.818	0.933	-0.140	-1.075	1.229
<i>P</i> 值	-	0.366	0.351	0.888	0.283	0.220

表 2 研究对象肠道常见细菌资料($\bar{x}\pm s$)

组别	细菌菌落拷贝数[CFU(Log ₁₀)]				
	乳酸杆菌	肠球菌	肠杆菌	拟杆菌	双歧杆菌
奶粉组	4.67 \pm 0.58	5.00 \pm 0.53	7.15 \pm 0.58	7.69 \pm 0.43	7.55 \pm 0.43
母乳组	4.78 \pm 0.57	5.15 \pm 0.63	7.17 \pm 0.69	7.82 \pm 0.58	7.64 \pm 0.54
合计	4.65 \pm 0.58	5.03 \pm 0.55	7.16 \pm 0.60	7.72 \pm 0.47	7.58 \pm 0.45
<i>t</i> 值	1.304	1.837	0.026	1.547	1.147
<i>P</i> 值	0.181	0.067	0.821	0.126	0.255

表 3 两组间不同时间点各菌落拷贝数[CFU(Log₁₀), $\bar{x}\pm s$]

菌种	组别	试验前	30 d	60 d	90 d	回访	重复测量方差分析
乳酸杆菌	奶粉组	4.67 \pm 0.58	4.51 \pm 0.31	4.93 \pm 0.55	4.42 \pm 0.23	4.65 \pm 0.35	$F_{交互}=1.695, P=0.186$
	母乳组	4.78 \pm 0.57	4.56 \pm 0.74	4.99 \pm 0.57	4.27 \pm 0.40	4.58 \pm 0.33	$F_{干预}=0.034, P=0.856$
肠球菌	奶粉组	5.00 \pm 0.53	4.62 \pm 0.40	5.10 \pm 0.46	4.72 \pm 0.43	4.67 \pm 0.35	$F_{交互}=0.014, P=0.908$
	母乳组	5.15 \pm 0.63	4.60 \pm 0.76	5.18 \pm 0.60	4.69 \pm 0.38	4.74 \pm 0.34	$F_{干预}=1.015, P=0.382$

2.2 各个时间点肠道主要细菌比较 利用重复测量方差分析对两组间不同时间点乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌、肠杆菌、拟杆菌 Log₁₀ 拷贝数的结果进行比较。结果表明,两种喂养方式研究对象的几种细菌数量差异无统计学意义($P>0.05$),测量时间和喂养方式间无交互作用($P>0.05$),见表 3。

续表 3

菌种	组别	试验前	30 d	60 d	90 d	回访	重复测量方差分析
肠杆菌	奶粉组	7.15±0.58	7.34±0.31	7.67±0.42	7.28±0.36	7.34±0.28	$F_{交互}=0.803, P=0.559$
	母乳组	7.17±0.69	7.38±0.66	7.74±0.57	7.20±0.31	7.33±0.27	$F_{干预}=0.712, P=0.495$
拟杆菌	奶粉组	7.69±0.43	7.42±0.32	7.76±0.42	7.36±0.34	7.46±0.27	$F_{交互}=1.519, P=0.167$
	母乳组	7.82±0.58	7.41±0.68	7.81±0.56	7.29±0.34	7.48±0.25	$F_{干预}=0.145, P=0.866$
双歧杆菌	奶粉组	7.55±0.43	7.34±0.31	7.73±0.42	7.34±0.35	7.39±0.29	$F_{交互}=1.408, P=0.205$
	母乳组	7.64±0.54	7.36±0.68	7.77±0.57	7.27±0.28	7.41±0.24	$F_{干预}=0.189, P=0.828$

注:球形度检验均不符合球形性,进行 Greenhouse-Geisser 校正。

3 讨论

母乳是婴幼儿最理想的食物,益生元是母乳中仅次于乳糖和脂肪的第三大营养成分,能够调节肠道微生态、改善脂质代谢、促进矿物质吸收、提高免疫力,从而增进婴幼儿健康^[3-5]。母乳中的低聚糖能够刺激双歧杆菌、乳杆菌等益生菌的生长,维持肠道微生态的平衡^[6-8]。有研究表明纯母乳喂养婴儿乳酸杆菌、双歧杆菌等肠道益生菌数量较普通人工喂养婴儿肠道内数量高^[9-10]。

但由于母亲乳汁分泌不足、患有代谢性疾病等原因,一些婴儿不能接受纯母乳喂养,此时应选择适合婴儿的配方奶粉代替母乳。婴儿配方奶粉所含的营养物质在数量、质量、生理功能等方面都追求尽量接近母乳^[4]。顾红兵等^[11]选取含益生元配方组与母乳喂养组共 100 例进行 3 个月喂养试验,结果表明含益生元配方组婴儿粪便双歧杆菌生长数量与母乳喂养组比较无统计学差异。Stiverson 等^[12]实验发现,低聚半乳糖等益生元可以促进婴儿粪便中的双歧杆菌和长双歧杆菌增殖。Konl 等^[13]采用添加低聚半乳糖、低聚果糖复合益生元(0.8g/ml)的配方奶粉给与婴儿进行 6 周的喂养试验,结果表明婴儿体内双歧杆菌数目与母乳喂养的婴儿相似,与本研究的结论相近。

本研究选取的配方奶粉添加了低聚果糖、低聚半乳糖等益生元成分,连续给与健康足月婴儿喂养 90 d,采用重复测量方差分析对两组婴儿喂养 30、60、90 d、停止干预 6 个月后粪便内肠道乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌、肠杆菌、拟杆菌菌落拷贝数 Log_{10} ,与纯母乳组进行比较,差异均无统计学意义。各时间点两组间成组 t 检验,差异均无统计学意义。本实验选取的婴儿配方奶粉相对于普通配方奶粉补充了益生元成分,与母乳中含有的益生元成分相似,含益生元成分的婴儿配方奶粉喂养在影响婴儿肠道菌群分布的方面可起到与母乳相接近的效果,从而促进婴儿健康发育。为母亲乳汁分泌不足、患有代谢性疾病或存在垂直传播风险疾

病等原因不能接受纯母乳喂养的婴儿,选择适当的配方奶粉进行喂养,提供了一定的实验依据,为正确、合理选择喂养方式提供了参考依据,具有一定的现实意义。

参考文献

- [1] 刘昌孝. 肠道菌群与健康、疾病和药物作用的影响[J]. 中国抗生素杂志, 2018,43(1):1-14.
- [2] 房新平. 母乳中生物活性物质概述[J]. 中国奶牛, 2014,31(18):39-42.
- [3] 蒋晨, 周刊, 侯晓华. 益生元效应:回顾与展望[J]. 临床消化病杂志, 2017,29(3):176-179.
- [4] 中国营养学会膳食指南修订专家委员会妇幼人群指南修订专家工作组. 6 月龄内婴儿母乳喂养指南[J]. 临床儿科杂志, 2016,34(4):287-291.
- [5] 尹进, 陈贵秋, 胡余明, 等. 不同喂养方式对婴儿肠道微生态的影响[J]. 实用预防医学, 2018,25(3):308-310.
- [6] Bindels LB, Delzenne NM, Cani PD, et al. Towards a more comprehensive concept for prebiotics[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2015,12(5):303-310.
- [7] 杨凯, 张天博, 薛江超, 等. 益生元组合在婴幼儿配方奶粉中的应用[J]. 中国奶牛, 2017,34(12):46-49.
- [8] Wang Y. Prebiotics: present and future in food science and technology[J]. Food Res Int, 2009,42(1):8-12.
- [9] 王小卉, 杨毅, 徐秀, 等. 不同喂养方式对婴儿肠道菌群的影响[J]. 中国儿童保健杂志, 2004,12(1):40-42.
- [10] 贾宏信, 苏米亚, 陈文亮, 等. 婴儿喂养方式的改变对肠道菌群多样性的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2016,28(12):1365-1369.
- [11] 顾红兵, 康爱建. 三种不同喂养方式对婴儿肠道菌群的影响[J]. 山东大学学报(医学版), 2014,52(z1):75-76.
- [12] Stiverson J, Williams T, Chen J, et al. Prebiotic oligosaccharides: comparative evaluation using *in vitro* cultures of infants' fecal microbiomes[J]. Appl Environ Microbiol, 2014,80(23):7388-7397.
- [13] Konl J, Scholtens P, Kafka C, et al. Colon microflora in infants fed formula with galacto- and fructo-oligosaccharides: more like breast-fed infants[J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2005,40(1):36-42.

收稿日期:2019-09-10