

嗜酸乳杆菌 NCFM[®]

— 一款功效经验证的益生菌

技术备忘录

简介

人们对饮食与健康之间关系的认识日渐提高，这已使得他们对在提供基本营养之余还能增强健康的产品需求日益高涨。有研究表明摄入益生菌或友善细菌有益于维持身体微妙的微生物平衡。众所周知，这种平衡可促进肠道健康并增强免疫系统及其他生理机能，由此成为全面提升人体健康的一项关键因素[Van-den-plas 等人，2015年；LeBlanc & LeBlanc，2014年；Kechagia 等人，2013年]。

益生菌属于活性微生物，它被宿主适量摄入可发挥健康益处。[Hill 等人，2014年]

大多数益生菌是乳杆菌或双歧杆菌，虽然有报告表明其他微生物属的一些菌株也具有益生特性。

益生菌的有益功效与降低某些疾病的危险因素或者改善人体自然机能并因此帮助保持消费者健康有关。迄今为止，有关这类功效的文档记录主要体现在两个领域，这也是杜邦益生菌研究的主要领域：

- 胃肠道健康
- 对免疫系统的有益调节

建议的益生菌健康益处有许多，我们对其中一些功效比另外一些更确定。但是，应该注意的是每种益生菌菌株都有其自身独特的健康益处，且没有哪种益生菌具有所提议的全部健康益处。此外，当一种益生菌菌株具有某种健康益处时，不得认为同一菌种的另一种菌株也具有类似特性。一种菌株的来源（例如人体胃肠道）并非对其具有益生菌特性的保证或前提条件。为了成功培养一种菌株，它必须满足某些要求。这些将改善其被摄入后在肠道中的功能，并提高在预用于消费者的最终产品中的存活率。

- 菌株必须安全，这点需要采用适当的分子技术来识别
- 菌株必须耐酸和耐胆汁
- 菌株必须具有经临床证明的健康益处
- 菌株应该具有良好的技术特性，例如在最终消费品（不论是食品还是膳食补充剂）中存活的能力，且当被添加到一种食品中时呈中性或者对食品成品的风味做出有利的贡献。

确定一种益生菌菌株的真正品质及价值的唯一确定的方式是通过系统的体外和体内研究，特别是人类临

床试验。嗜酸乳杆菌 NCFM[®]一直是所有这类研究的主题。多项综述对这种菌株的科学证据给予了高度评价 [Ouweland 等人 (eds)，2009年；Sanders 等人，2001年；Reid，1999年；Bull 等人，2013年]。

菌种特点

嗜酸乳杆菌是一种革兰阳性、不形成芽孢的、同型发酵、触酶阴性的杆菌。它是人体肠道、人体口腔和阴道中的常见寄居者。它还存在于一些传统的发酵乳制品（例如开菲尔酸奶）中，且如今被广泛用于益生菌食品和补充剂中。大量研究表明，不同嗜酸乳杆菌菌株的各种健康功效证实了其作为一种益生菌的用途。

筛选与分类法

如上所述的嗜酸乳杆菌生物群具有高度异质性[6]且在细菌识别并特征化方法的发展过程中经过多次分类学订正 [Bull 等人，2013年]。DBA-DNA 杂交研究结果表明，前述嗜酸乳杆菌菌种由六个不同的菌种组成，它们分成不同的 DNA 同调群。同调群 A1 被命名为嗜酸乳杆菌。这六个菌种非常难

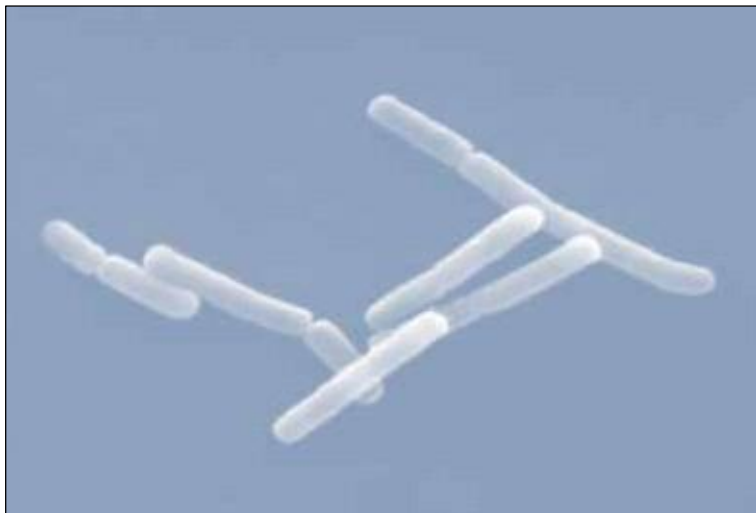


图 1. 嗜酸乳杆菌NCFM®扫描电子显微摄影

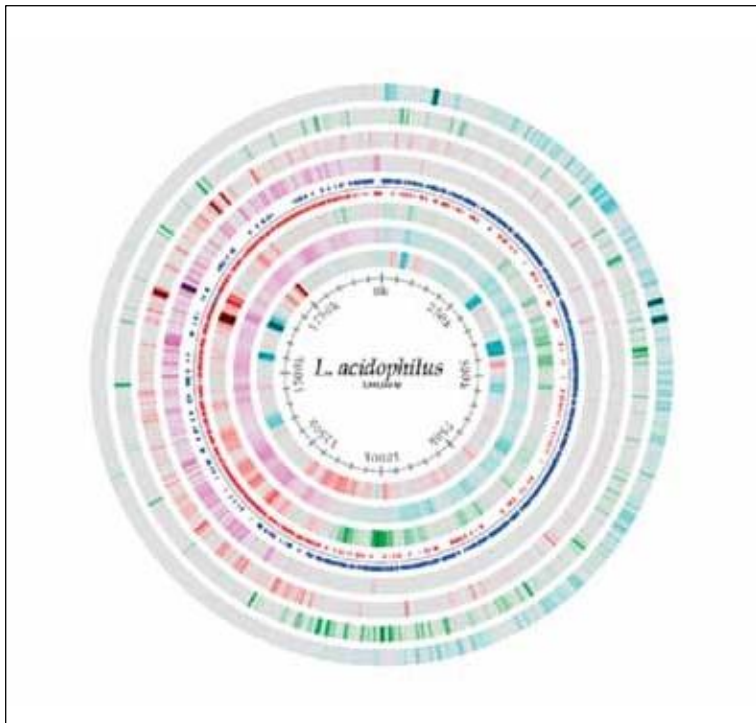


图 2. 嗜酸乳杆菌NCFM®基因图谱[Altermann 等人, 2005 年]

并且有时不可能通过表现型检测方法来区分，因此它们仍被视为“嗜酸乳杆菌群”的成员。

我们已经采用表现型和基因型方法确认嗜酸乳杆菌NCFM®（如图 1）是一种真正的 A1 型嗜酸乳杆菌，包括从采用 16S rRNA 基因测序与杂交到菌种特异探针和全基因组测序 [Altermann 等人 2005 年]（如图 2）。

早在 20 世纪 70 年代，人们首次从人体来源中分离出嗜酸乳杆菌 NCFM®。NCFM®的名称源于“北卡罗来纳州食品微生物学”，即北卡罗来纳州立大学（NCSU）的研究实验室，这里就是成功分离的地方。这种菌株在美国典型培养物保藏中心沉积为 ATCC 700396，并在 ATCC 安全保管为 SD5221。

嗜酸乳杆菌NCFM®别名

嗜酸乳杆菌NCFM®或 NCFM 原种培养基的单菌落分离物的文献中出现过多个菌株名称。被命名为 NCFM、NCK56、NCK45、N2、RL8KR、RL8KS 和 RL8K 的这些菌株本质上是相同的菌株，这点体现在它们相同的染色体 DNA 片段型态上。在由 Simenhoff 及其同事（1996 年）展开的研究当中，NCFM 被缩写成 LBA[Simenhoff & Dunn, 1996 年；Simenhoff 等人, 1996 年]。

基因组学

嗜酸乳杆菌NCFM®是该菌属的第一种菌株，我们已对其测序并注释（如图 2）。作为开发完整嗜酸乳杆菌NCFM®序列的合作伙伴 [Altermann 等人, 2005 年；Palomino 等人, 2015 年]，杜邦如今在多个层面上扩展了这类信息。基因组学研究已经识别出多个在益生菌功能很重要的区域，它们为嗜酸乳杆菌NCFM®维持或恢复胃肠道健康作用提供了支持。其中包括参与产生细菌素、糖和益生元代谢 [Barrangou 等人, 2003 年]、人类粒细胞系粘附性[Buck 等人, 2009 年]、乳糖代谢以及对包括酸和胆汁在内的生理相关刺激的忍受度[Altermann 等人, 2005 年；Azca-rate-Peril 等人, 2004 和 2005 年]的基因。代谢途径的基因组学重构反映了嗜酸乳杆菌

NCFM®对胃肠道环境的适应。目前正在评估目标基因中断，以帮助确定与特殊基因产物有关的益生菌功能，并验证和支持功能性益生菌目标[Goh 等人, 2009 年；O’Sullivan 等人, 2009 年；Pfeiler 等人, 2007 年；Azcarate-Peril 等人, 2009 年；Bull 等人, 2014 年]。基因组信息还被用来

开发菌株鉴别方法并改进工业制程。

一致的菌株鉴别

对于一种益生菌活性有文件记录的菌株而言，在处理过程中不遭受任何遗传或生理变化非常重要。为了保持每个菌株生产批次的质量、纯度和一致性，杜邦严格使用冷冻菌种库存来降低随着时间的推移而发生遗传漂变的风险并保持菌株完整性。杜邦还基于 16s rRNA 基因序列相似性对每批制作的培养基执行细菌鉴定。

安全摄入

长久以来，乳杆菌都被认为安全且适合人体摄入。绝少有感染病例与这类细菌有关，且多项已经公布的研究均阐述了它们的安全性 [Borriello 等人，2003 年；Hempel, 2011 年]。此外，在芬兰的 10 年调查中没有识别出一例嗜酸乳杆菌血症 [Salminen 等人，2002 年]。更确切地说，数十年来嗜酸乳杆菌一直在发酵乳制品及其他食品中被摄入，且被列入 *食品中有使用历史的微生物名单* [Bourdichon 等人，2012 年]。欧洲食品安全局 (EFSA) 还将这类菌种加入了安全合理推定清单 [EFSA BIOHAZ, 2013 年]。

自 30 多年前上市以来，人类已经安全地摄入了数十亿份含嗜酸乳杆菌 NCFM® 的食品及补充剂。

总体安全性

为了进一步评估嗜酸乳杆菌 NCFM® 的安全性，我们已针对

小鼠展开过多项毒性研究。研究采用三硝基苯磺酸 (TNBS) 来诱发结肠炎，由此评估这种菌株结肠炎小鼠模型中的安全性。

在健康小鼠中，采用嗜酸乳杆菌 NCFM® 灌胃没有对小鼠活力、重量和结肠炎症产生任何潜在的副作用。在采用 TNBS 治疗的小鼠 (结肠炎非常严重的小鼠) 中，高剂量 (1010 CFU) 的嗜酸乳杆菌 NCFM® 没有导致生物体移位和肠道微生物群的异常移位。也没有观察到结肠炎有任何重大改善 [Daniel 等人，2006 年]。

这种安全性在新生和成年免疫缺陷小鼠的研究当中得到了进一步确认，研究过程中对小鼠喂食嗜酸乳杆菌 NCFM® 没有观察到死亡的情况 [Wagner 等人，1997a 年]。

为了研究嗜酸乳杆菌 NCFM® 与确定临床终点相结合的安全性和耐受性，我们分析了接受 West 等人 (2014 年) 试验的一组健康、活跃的成年人的血常规和临床化学标记物。结合补充嗜酸乳杆菌 NCFM® 和乳双歧杆菌 Bi-07™ (每种菌株 5×10^9 CFU) 对这些标记物没有任何影响 [Cox 等人，2014 年]。这类数据提供证据表明健康、活跃的成年人连续 5 个月使用这种益生菌补充剂没有出现任何明显的安全性或耐受性问题。

总而言之，我们已经单独采用 NCFM® 且将其与其他益生菌和/或益生元组合展开过 48 项人类临床试验。这些试验中的研究对象从婴儿到老年人 (年龄从 6 个月到 65 岁)

不等。大部分研究是针对健康的研究对象展开的，但一些研究也涉及患特应性皮炎 (AD)、功能性肠病或者要求抗生素治疗的传染病的研究对象。所有试验都未报告存在任何与 NCFM® 有关的安全问题。

抗生素易感模式

抗生素易感模式是说明一种生物体容易由于人类治疗所用抗生素而失活可能性的一种重要方式。抗生素抗性是微生物的一种天然特性，且在人类使用抗生素之前就存在。在许多情况下，抗性是由于缺失特定的抗生素靶点或者是自然选择的结果。抗生素抗性可定义成一些细菌在通常抑制或杀灭其他细菌的某些物质中存活甚至生长的能力。这种抗性可能是：

- **内在或固有的：**某一菌种的大多数 (如果并非所有的的话) 菌株通常对某种抗生素并不敏感。这种抗生素对这类细胞没有影响，不能杀灭或抑制细菌，这是由于缺失抗生素靶点等原因。
- **后天获得的：**某一菌种的大多数菌株通常对某种特定的抗生素敏感。但是，一些菌株可能具有抗性而能在抗生素暴露中适应生存。针对这种情况，可能的解释包括：
 - 抗生素靶点编码基因突变会降低抗生素的效率。这种类型的抗生素抗性通常是不可转移的
 - 可能已经从另一种细菌处获得抗性基因

表 1. 抗生素易感性剖象

采用 ISO 10932 IDF223 方法和 VetMIC Lact-1 及 2 微稀释平板确定的嗜酸乳杆菌NCFM®抗菌谱，其中包括由 EFSA 研究小组推荐的动物饲料添加剂和产品及物质（FEEDAP）的所有抗生素。MIC 记录如下表所示。所有 MIC 数值均低于或等于为嗜酸乳杆菌界定的微生物学折点（MBP）[EFSA FEEDAP 研究小组，2012 年]。

	庆大霉素	卡那霉素	链霉素	四环素	红霉素	克林霉素	氯霉素	氨苄西林	万古霉素	维吉尼霉素*
	Gm	Km	Sm	tc	em	Cl	Ch	amp	va	vi*
NCFM®	MiC µg/ml									
	最大值	最大值	最大值	最大值	最大值	最大值	最大值	最大值	最大值	最大值
嗜酸乳杆菌	2	32	2	2	0.06	0.5	4	0.5	<0.25	<0.5
嗜酸乳杆菌 MBP**	16	64	16	4	1	1	4	1	2	4

* 维吉尼霉素不再包括在 FEEDAP 推荐的抗生素清单当中。

在后天获得的抗性当中，后者最受关注，因为它也可能传递给其他（可能致病的）细菌。对嗜酸乳杆菌NCFM®基因组展开的分析证实了与抗生素抗性有关的可转移遗传成分[Altermann 等人，2005 年]。嗜酸乳杆菌NCFM®的抗生素易感模式总结见表 1[Klare 等人，2007 年]。

这些结果表明，嗜酸乳杆菌NCFM®不具有后天获得的抗生素抗性。

产生 L/D-乳酸

乳酸是乳杆菌及其他微生物发酵过程最重要的代谢终产物。数千年来，乳酸发酵一直被用来生产发酵食品。根据分子结构，乳酸菌分成两种光学异构体。一种是 L(+)-乳酸菌，而另一种是其镜像，即 D(-)-乳酸菌。在人体、动物、植物和微生物中，L(+)-乳酸菌是碳水化合物和氨基酸代谢过程的主要中间和最终产物。

这对在厌氧条件下产生能源来说很重要。

在人体及动物器官内部，D(-)-乳酸菌的内源合成量非常少。这种异构体通常以纳摩尔浓度存在于哺乳动物的血液中，且可能由源于脂质或氨基酸代谢的甲基乙二醛形成。身体还具有 D-氢氧基酸去氢酶活力，但 L(+)-乳酸的活力要低得多。嗜酸乳杆菌NCFM®表达 L-乳酸脱氢酶和 D-乳酸脱氢酶，因此产生 L(+)-和 D(-)-乳酸（如表 2）。

虽然没有任何真实的科学证据表明添加产生 D(-)-乳酸的乳酸菌会对健康的婴儿或任何健康人[Conolly 等人，2005 年]产生不利影响，杜邦仍然遵循 CODEX 建议[CODEX STAN 72-1981，2007 年修订]不在 12 个月以下婴儿食品中使用会产生 D(-)-乳酸的培养物。

产品稳定性

如今人们都有一个普遍的共识，那就是必须摄入足量的益生菌才能提供所需要的健康益处。很可能不同的菌株和不同的功效要求不同的剂量。事实表明嗜酸乳杆菌NCFM®是一种非常多功能的菌株。食品及补

表 2.

L/D 乳酸产生 摩尔比率	60/40 德国宝灵曼/德国/ r-biopharm D-乳酸/ L-乳酸 UV 法
内部生成的数据	

充剂制造商们发现嗜酸乳杆菌 NCFM®特别受欢迎有多种原因, 包括:

- 已经证实的健康益处
- 可用作一种高计数冻干材料
- 专利稳定化系统, 为非液体产品提供显著的稳定性益处[109]。
- 在各种不同应用中具有卓越的稳定性, 包括牛奶、酸奶、配方奶粉 (婴幼儿配方奶粉、固体饮料类、胶囊和片剂)、巧克力棒等 [Gilliland 等人, 2002 年; Hughes & Hoover, 1995 年; Sanders 等人, 1996 年; Iturrira-Laverty 等人, 1999 年; Trahan, 2008 年; 杜邦技术备忘录 3514、2093、2088]。

在一款产品的保质期内提供适当剂量的嗜酸乳杆菌 NCFM®取决于许多因素, 例如配制、加工、包装和贮藏温度及湿度。考虑这些因素并展开稳定性试验很重要, 这样才能开发出稳定可靠的产品。

嗜酸乳杆菌 NCFM®是一种安全的益生菌, 在典型的使用条件下对感官及其他产品性质没有不良影响。

健康相关的特性

嗜酸乳杆菌 NCFM®已得到广泛的研究, 并由此发表了 125 项体外、47 项动物和 54 项临床试验同行评审研究。这些研究专注于表现各种有益效果的特性, 例如耐酸和耐胆汁性、肠道和口腔表面粘附性、抗菌活性和粘结各种环境毒素的能力、在动物模型中的作用机制以及在人类临床试验中的功效。这些研究的

主要成果总结如下。

对肠道健康的益处

肠道微生物对健康的重要性

人体胃肠道 (GI) 是一套极其复杂的生态系统, 且代表宿主与环境的最大接触面积。这套生态系统的组成如下:

- 胃肠上皮
- 免疫细胞
- 常住微生物群

长期以来, 人体胃肠道的主要功能被认为是消化和吸收营养物质并排出废弃终产物。但近年来, 人们认识到胃肠道实现了对我们的健康至关重要的许多其他功能。

胃肠道中有大量微生物细胞

(10¹⁴), 相当于人体构成细胞的 10 倍以上 (Luckey, 1972 年)。据估计, 肠道微生物群包括至少 1000 个菌种, 虽然所有细菌当中有 95-99% 都属于 10 个菌属。肠道微生物群的许多成员都是有益的, 但其他可能有害或者其功能未知。乳酸杆菌和双歧杆菌等菌属的浓度较高通常被认为与胃肠道较为健康有关。

常住微生物参与许多代谢过程, 例如将未经消化的碳水化合物发酵成短链脂肪酸, 并参与脂质代谢和维生素合成。肠道微生物群的另一项重要功能是刺激免疫系

统成熟并提供保护对抗进入的、可能致病的微生物。当这种高度复杂的微生物群落脆弱的生态平衡状态由于环境或生理因素而被打乱时, 身体易患传染或免疫炎性疾病的几率就会提高。这时则有必要重新建立一个有利的微生物群。研究表明, 特定的益生菌菌株可用来优化肠道微生物群的组成和活力, 并因此降低出现一系列疾病和不良状态的风险 [Guarino 等人 (eds), 2013 年; Ouwehand 等人 (eds), 2006 年; Scott 等人, 2015 年; Lin 等人, 2014 年]。

耐酸和耐胆汁性以及在肠道内的存活

根据普遍接受的益生菌定义, 益生菌微生物在摄入时应该是活的, 这样才能实现健康益处。这一定义表明, 一种益生菌必须能够在胃肠道中存活, 且根据一些解释暂时定殖在宿主的肠粘膜上。各种不同的特性被认为与在胃肠道存活有关, 其中最重要的是对胃内高酸性条件以及小肠中存在的胆汁盐浓度的耐受性 (如第 6 页表 3 所示)。

体外研究表明嗜酸乳杆菌 NCFM®能够抵抗与胃部相似的低 pH 值条件。这种菌株还能在十二指肠中所存在的胆汁浓度下存活。

表 3. 嗜酸乳杆菌NCFM®的耐酸和耐胆汁性

		++++ 优秀 +++ 非常好 ++ 好 + 一般
耐酸性	++++	(>90%在 pH 3.5、37°C 下在氢氯酸和胃液素 (1%) 中存活 1 个小时)
胆汁盐耐性	++++	(>90%在 0.3%的含胆汁盐的培养基中存活)
胃液素抗性	+++	(>60%在 pH 2 下、在 0.3%的含胃液素培养基中存活 1 个小时)
胰酵素抗性	++++	(>60%在 pH 8 下、在 0.1%的含胰酵素培养基中存活 2 个小时)

(内部生成的数据)

另一项研究表明，通过非发酵型低脂牛奶摄入嗜酸乳杆菌NCFM®显著增加了健康男性粪便中的乳杆菌数量[Gilliland 等人，1978 年]。

进一步研究评估了两种益生菌，即嗜酸乳杆菌NCFM®和乳双歧杆菌对 6-24 个月幼儿粪便微生物群组成的影响。研究表明，在两个月时间内摄入相应的益生菌菌株后粪便中的嗜酸乳杆菌NCFM®和乳双歧杆菌量均显著增加，由此证实了这类培养基在胃肠道中的存活能力 [Larsen 等人，2008 年]。

粘附肠道粘膜

虽然粘附作用并非一种菌株表现益生菌特性的先决条件，但与肠道粘膜的相互作用被认为至关重要，其原因有多种。粘附肠道粘膜可能延长益生菌菌株常住肠道内的时间。这种与粘膜的相互作用让益生菌紧密接触肠道免疫系统，从而有更好的机会去调节免疫应答。这还可能通过限制定殖肠道中的能力来保护免受肠内病原菌的影响。嗜酸乳杆菌NCFM®粘附不同人体上皮细胞系

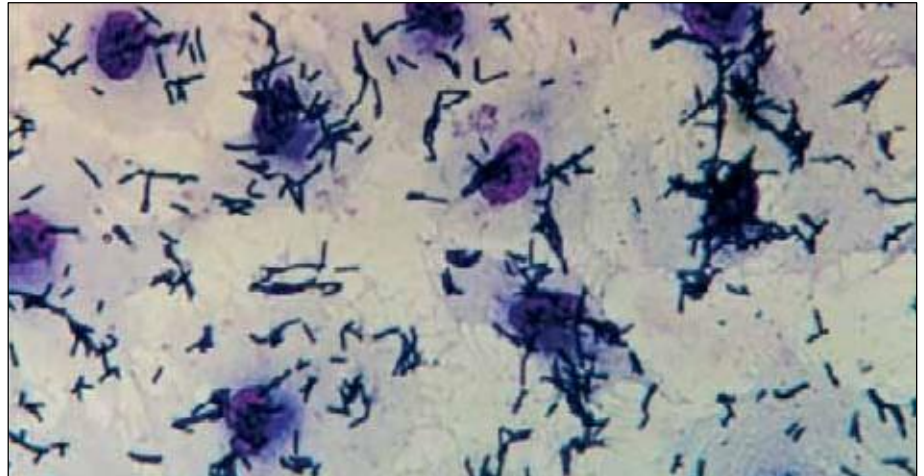


图 3. 嗜酸乳杆菌NCFM®表现出对人胎儿小肠粘膜上皮细胞的强大粘附作用[Kleeman & Klaenhammer, 1982 年]。

的能力已经在多项研究中得到了证实[Kleeman & Klaenhammer, 1982 年; Greene & Klaenhammer, 1994 年]。

研究还表明，可以通过添加 Ca²⁺来改进粘附性能(如图 3) [Kleeman & Klaenhammer, 1982 年]。对嗜酸乳杆菌NCFM®的基因组分析表明存在多种可能对粘附过程具有重要性的基因，包括粘液粘附蛋白、纤维粘连蛋白及其他。胞外多糖编码的基因集群可能对粘附能力有贡献[Altermann

等人，2005 年; Buck 等人，2005 年]。我们还进一步采用体外细胞系 Caco-2 和 HT-29 来衡量嗜酸乳杆菌NCFM®的粘附性(如表 4)。虽然这并不是对益生菌粘附人体肠道粘膜能力的全面测试，对这些细胞系的粘附被视为证明是其具有粘连肠道组织潜力的一项良好指标。嗜酸乳杆菌NCFM®表现出非常好的、对培养的肠道细胞(HT-29 和/或 Caco-2 细胞)的粘附作用。

表 4. 嗜酸乳杆菌NCFM®对人体肠道细胞的体外粘附作用

	++++ 优秀 +++ 非常好 ++ 好 + 一般
对人体上皮细胞的粘附作用	ht-29: +++ Caco2: +++

(内部生成的数据)

为了确定可能参与嗜酸乳杆菌 NCFM®存活及其在人体消化系统中定殖的假定基因，我们采用了胃肠道的体外人体消化模型。在暴露于可能促进嗜酸乳杆菌 NCFM®在胃部苛刻条件下存活的胃液中时，我们显著上调特定的编码应激反应相关蛋白编码基因。在十二指肠液和胆汁培养过程中上调纤维粘连蛋

白编码基因和粘蛋白结合蛋白。这类诱导可能对嗜酸乳杆菌 NCFM®粘附肠道上皮细胞有贡献[Weiss & Jespersen, 2008年]。

病原菌抑制作用

益生菌所提供的胃肠道病原菌保护对肠内微生物群的治疗性调节来说非常重要。益生菌能够抑制、取代并与病原菌竞争，虽然这些能力因菌株的不同而异。益生菌菌株对抗病原微生物的推定作用机理包括产生抑制性化合物、与病原菌竞争粘附点或营养来源、抑制细菌毒素的产生或作用、能够共簇集病原菌以及刺激免疫系统。多项研究表明，嗜酸乳杆菌 NCFM®对常见胃肠道病原菌及食源性微生物具有颞抗作用。

通常采用琼脂抑制试验来研究体外抑制作用，该试验将含病原菌的软琼脂放置在培养基集落上，由此在集落周围形成抑制区。这种作用可

表 5. 嗜酸乳杆菌 NCFM®的体外病原菌抑制作用

	++++ Excellent	+++ Very Good	++ Good	+ Fair
体外病原菌抑制作用	沙门氏菌: +	金黄色葡萄球菌: ++++	大肠杆菌: +++	单增李斯特氏菌: +

(内部生成的数据)

能是由于产生了充当抗菌剂并竞争营养物质的酸、过氧化氢、细菌素及其他物质。但应该指出的一点是，这些结果对体内情形的外推并不是直截了当的。表 5 中的评估基于这样一项体外试验。

采用嗜酸乳杆菌 NCFM®与鼠伤寒沙门氏菌、产气荚膜梭菌、大肠杆菌或金黄色葡萄球菌联合培养基的研究表明，抗菌活性不能归因于 pH 值的降低（因为该值保持在 5.7 以上）。过氧化氢的形成是这种抑制作用的部分原因[Gilliland & Speck, 1977年]。嗜酸乳杆菌 NCFM®产生抗菌物质的能力得到了这种菌株的基因组序列的证实，在产生和处理抗菌物质时识别并牵涉到 12 种假定基因[Altermann 等人, 2005 年]。乳杆菌能够产生一系列抗菌物质，其中有机酸、过氧化氢和二乙酰是最广为人知的[Ouwehand & Vesterlund, 2004 年]。

研究发现嗜酸乳杆菌 NCFM®产生一种名叫 lactacin B 的细菌素。体外抑制试验表明，一系列活性仅针对其他乳杆菌菌株和粪肠球菌，而不

针对病原菌[Barefoot & Klaenhammer, 1983 及 1984 年; Dobson 等人, 2007 年]。

益生菌需要具有凝集和共簇集能力，因为这与病原菌紧密地相互作用有关，或许能够阻止或降低它们与粘膜的粘附作用。嗜酸乳杆菌 NCFM®表现出自凝集和共簇集能力，尤其是在体外与溶组织梭菌和金黄色葡萄球菌[Collado 等人, 2008 年]。

对嗜酸乳杆菌 NCFM®的体外研究表明其能够抑制普通拟杆菌（46.7%）、溶组织梭菌（29.1%）、艰难梭菌（33.5%）、金黄色葡萄球菌（45.7%）、产气肠杆菌（41.3%）和单增李斯特菌（15.4%）对肠道粘膜的粘附[Collado 等人, 2007 年]。

该菌株还能够体外取代普通拟杆菌（60.6%的吸附菌）、溶组织梭菌（61.1%的吸附菌）、艰难梭菌（52.9%的吸附菌）、金黄色葡萄球菌（20.5%的吸附菌）、产气肠杆菌（55.4%的吸附菌）、和单增李斯特菌（51.9%的吸附菌）[Collado 等人, 2007 年]。另一项体外研究专门研究包括嗜酸乳杆菌 NCFM®在内的不同乳杆菌对蜡样芽孢杆菌的生长抑制作用。在与脱脂牛奶培养基中病原菌的联合培养基中，

蜡样芽孢杆菌的萌发和产孢受到抑制，且不影响嗜酸乳杆菌NCFM®的生长。乳杆菌所产生的有机酸抑制了蜡样芽孢杆菌的生长[Kim 等人，2000年]。

我们曾采用纸片扩散法并在一种液体培养基中联合培养嗜酸乳杆菌NCFM®和病原菌来研究过嗜酸乳杆菌NCFM®及其他乳杆菌和双歧杆菌在体外抑制大肠杆菌和鼠伤寒沙门氏菌等常见肠道病原菌的能力。

这两种方法表明嗜酸乳杆菌NCFM®对上述两种病原菌的生长具有强大的抑制作用。在这类实验条件下，抗菌活性具有菌株特异性，且并不仅仅是由于pH值的原因[Kim 等人，2002年]。

隐孢子虫属原动物寄生虫是引起全世界范围内家畜和人类腹泻的原因，其中牛科动物微小隐孢子虫和人隐孢子虫是绝大多数感染的原因所在。一项体外研究表明嗜酸乳杆菌NCFM®的无细胞上清液显著降低了上述两种病原菌的细胞培养基感染性[Glass 等人，2004年]。

利用益生元

胃肠道细菌成功利用肠道内各种碳水化合物化合物的能力可能提供一项竞争优势。益生元属于非消化性食物成分，它们选择性地刺激常住宿主肠道中的有益微生物菌株的生长和/或活性[Hutkins 等人，2015年]。果寡糖（FOS）是一系列已被详尽研究过的果糖聚合物，它们对宿主微生物群具有有益功效。FOS在人体上消化道中不被消化，但会在常住下消化道的许多细菌作用下降解。

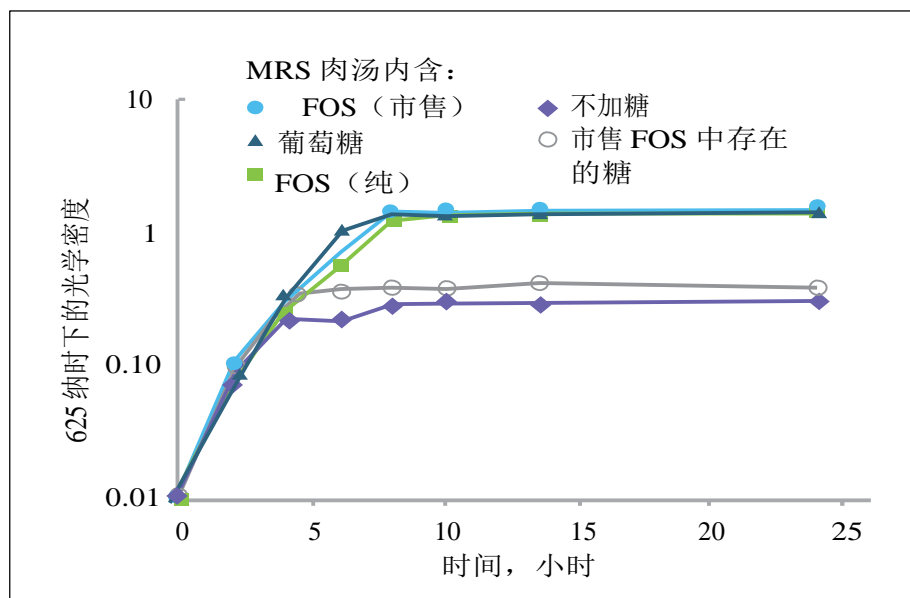


图4. 嗜酸乳杆菌NCFM®利用FOS

先前已经公布过嗜酸乳杆菌NCFM®利用各种FOS低聚物的能力[Kaplan & Hutkins, 2005年] (如图4)。

更多研究也表明了这种菌株利用水解菊粉[Barrangou 等人，2003年]及其他益生元的能力，由此提供了制备合生素功能食品的机会[Barrangou 等人，2006年；Huebner 等人，2007年；Swanson 等人，2002年]。

嗜酸乳杆菌NCFM®拥有一套高效且表征良好的FOS输送和降解系统[Barrangou 等人，2003年]。这套特殊的系统可能赋予嗜酸乳杆菌NCFM®在肠道中的竞争优势，因为底物被输送给细胞再水解，由此降低了单一碳水化合物成为肠道环境中竞争菌株的可发酵碳源的可能性。此外，嗜酸乳杆菌NCFM®基因组编码了各种不同的、与碳水化合物利用有关的基因，包括单糖、二糖和多糖类[Altermann 等人，2005年]。这为适应肠道环境提供了支持。

为了增进对嗜酸乳杆菌NCFM®代谢特性的了解，一项最新研究专门探究了与葡萄糖相比益生元在潜在益生性纤维二糖中生长时的不同蛋白质丰富度变化。目前研究成果表明，纤维二糖能够影响嗜酸乳杆菌NCFM®与宿主相互作用的益生菌活性[van Zanten 等人，2013年]。

减少不必要的粪便酶活性及其他癌症相关标记物

由存在于胃肠道中的各种微生物所产生的偶氮还原酶、硝基还原酶和β-葡萄糖醛酸苷酶等粪便酶能够将消化物中的前致癌原转化成致癌物质。通过调节这类微生物的活性，可以降低这些酶的水平。Goldin 和 Gorbach 很好地概述了粪便酶活力的重要性[Goldin & Gorbach, 1984年]，而 Uccello 等人提供了有关粪

便酶活力相关性以及益生菌对结肠癌潜在作用的更新参考文献 [Uccello 等人, 2012 年]。

人们已展开多项研究来评估嗜酸乳杆菌 NCFM® 对动物及人类肠道负面的潜在致癌活性的影响。

大鼠研究已经证实, 摄入嗜酸乳杆菌 NCFM® 的动物的粪便偶氮还原酶、β-葡萄糖醛酸苷酶和硝基还原酶活力有所下降。这项研究还证实由 1,2-二甲基胍诱发的肿瘤发病率降低 [Goldin & Gorbach, 1977、1980 和 1984 年]。异常隐窝病灶 (ACF) 指作为结肠癌推定前兆的结肠损伤。研究发现啮齿动物 ACF 与人体结肠癌风险和腺瘤大小及数量具有相关性。如今, ACF 系统被广泛用来研究癌症发生调节因子, 例如筛分饮食中可能导致或抑制结肠癌的化合

物。大鼠研究表明, 给动物喂食嗜酸乳杆菌 NCFM® 使其由偶氮甲烷诱发的 ACF 有所减少 [Rao 等人, 1999 年]。

一项小鼠研究表明, 将嗜酸乳杆菌 NCFM® 作为预防药摄入时可以抵消传染性增生 (即不受控制的组织生长) 的影响, 虽然在受病原体 (柠檬酸杆菌) 感染并同时摄入嗜酸乳杆菌 NCFM® 的情况下无法做到这点 [Varcoe 等人, 2002 年]。

三项人体干预试验表明偶氮还原酶、β-葡萄糖醛酸苷酶和硝基还原酶有所减少 [Goldin & Gorbach, 1977 年; Goldin 等人, 1980 年; Goldin & Gorbach, 1984 年]。研究对象每天以添加到牛奶中的浓缩物的形式摄入 109-1010 CFU 嗜酸乳杆菌 NCFM®。图 5 清楚地表明在摄入嗜酸乳杆菌 NCFM® 的过程中所有三种酶的活性都降低了。嗜酸乳杆菌 NCFM® 是否对人体致癌物有任何影响是不确定的, 因为在人体肠道中被酶激活的推定致癌物目前尚且未知。

改善乳糖不耐受

不能消化乳糖在某些人群中很常见, 主要是北欧和西欧以外地区人群。对这类人来说, 摄入乳制品或其他含乳糖的制品可能导致胃肠道不适, 例如腹泻、胃肠气胀、腹胀和绞痛。这会导致他们将乳制品从其饮食中剔除, 并因此排除掉一种重要的钙来源。

乳糖不耐受者通常可以很好地耐受酸奶, 这是因为酸奶存在具有 β-半乳糖苷酶活性的活细菌。其他含 β-半乳糖苷酶的微生物, 例如嗜酸乳杆菌 [Nielsen & Gilliland, 1992 年], 具有类似功效。一项乳糖不耐受的客观衡量指标是呼出气体中的氢含量。氢气来源于结肠中依靠乳糖的微生物生长。一些研究表明, 摄入嗜酸乳杆菌 NCFM® 降低了呼气氢水平 [Kim & Gilliland, 1983 年], 由此表明乳糖消化得到了改善。

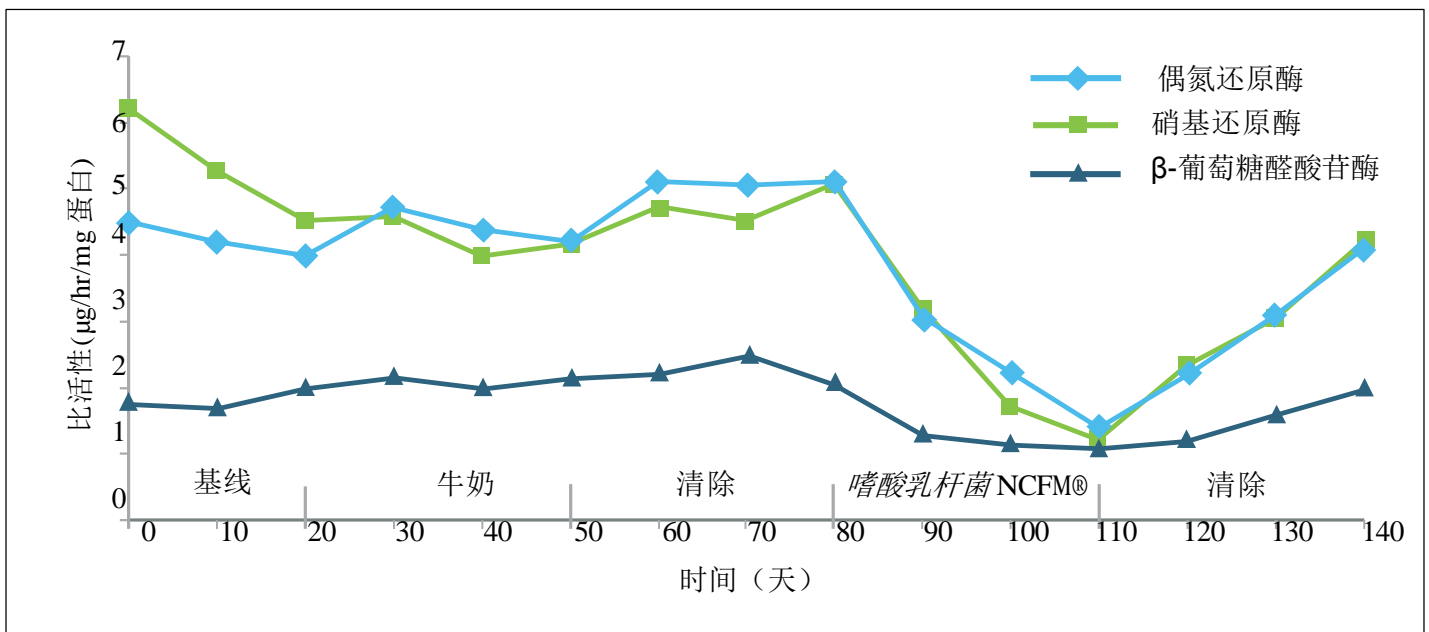


图 5. 嗜酸乳杆菌 NCFM® 对人类粪便酶活性的影响 [Goldin & Gorbach, 1984 年]

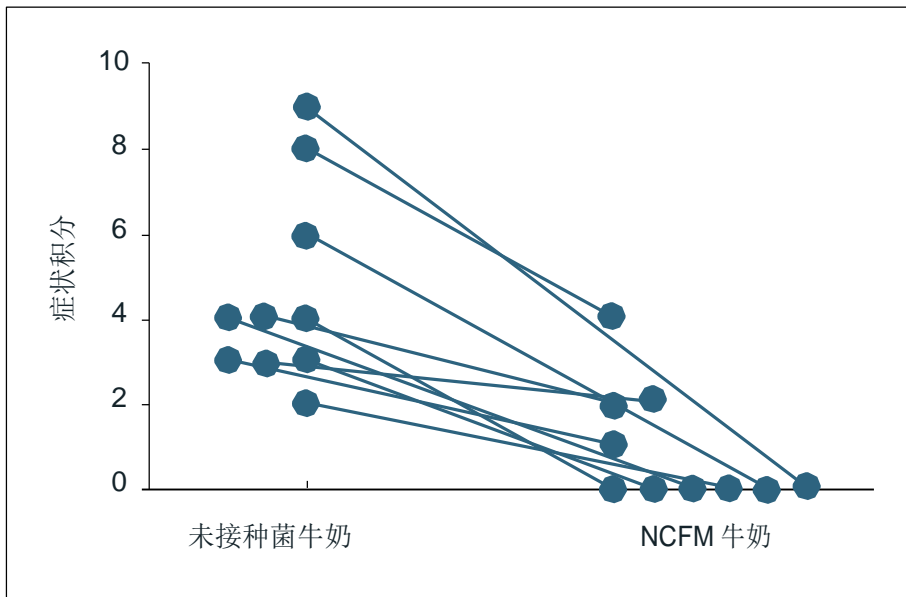


图 6. 乳糖不耐受症状的减少[Montes 等人, 1995 年]

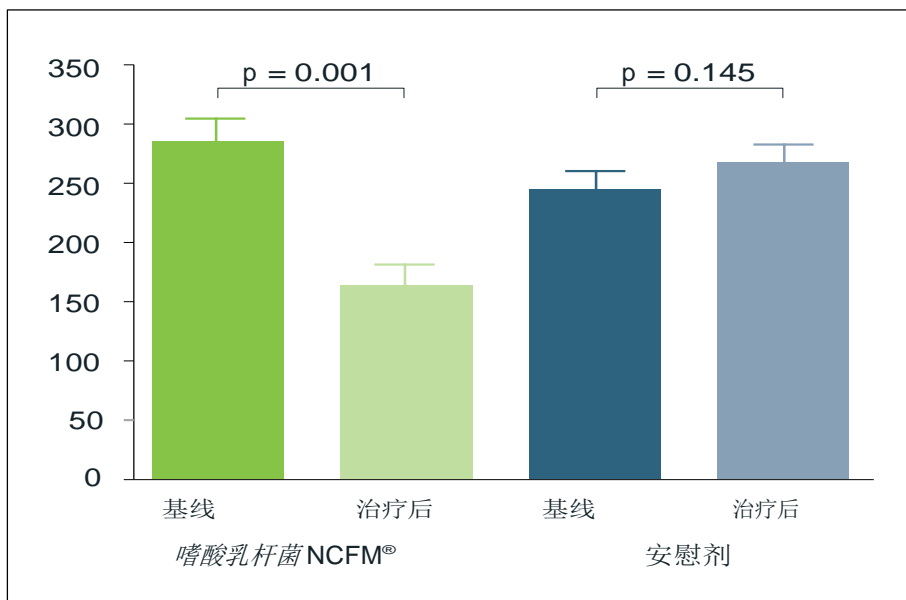


图 7. SBBO 患者血清二甲胺的减少[Dunn 等人, 1998 年]

对乳糖不耐受儿童展开的其他研究并未发现这种减少情况，但的确观察到症状减轻[Montes 等人, 1995 年]（如图 6）。

改善 SBBO 症状

与人体肠道微生物群相关的有益功效已形成良好的文档记录[Alonso & Guarner, 2013 年]。但存在出现微生物群相关状况的病例。其中一例是小肠细菌过度生长（SBBO），

肾病患者会发生这种情况。SBBO 是产生尿毒素的罪魁祸首，包括致癌物二甲胺（DMA）和亚硝基二甲胺（NDMA），它们导致营养健康水平下降。研究已证实罹患终末期肾衰竭的人摄入嗜酸乳杆菌 NCFM® 后血清 DMA 和 NDMA 水平显著降低（如图 7）[Dunn 等人, 1998 年]，且体重、和热量摄入等营养参数改善[Dunn 等人, 1998 年；Simenhoff 等人, 1996 年；Simenhoff & Dunn, 1996 年]。

总而言之，摄入嗜酸乳杆菌 NCFM® 可以通过影响病理生物来正调节肠道微生物群。它还可以显著减少有毒代谢终产物的产生，并促进患者营养状况的改善。这些成果证实了与摄入嗜酸乳杆菌 NCFM® 有关的健康促进特性，特别是其可能通过多种作用模式帮助重新平衡肠道生理学的能力。

降低腹泻发病率

通过一项双盲、安慰剂对照、随机的人类临床研究来评估嗜酸乳杆菌 NCFM®，这项研究是三种菌株配制（还包括罗伊氏乳杆菌和乳双歧杆菌 Bi-07™）的一部分。研究共计征募了 243 名 12-36 个月龄儿童。在连续 14 周的干预期内，与安慰剂相比，益生菌组的记录显示腹泻发病率和间歇发作频率均出现统计显著性降低[Ruiz-Palacios 等人, 1996 年]。此外，研究还发现嗜酸乳杆菌 NCFM® 和乳双歧杆菌 Bi-07™ 以及可溶性纤维的组合使得 HIV 呈阳性的腹泻研究对象的排便次数以及洛哌丁胺用量显著减少[Heiser 等人, 2004 年]。

抗生素治疗期间微生物群的稳定化 众所周知，益生菌能够以一种菌株特异性的方式降低抗生素相关腹泻（AAD）和艰难梭菌相关性腹泻（CDAD）的风险[Pattani 等人, 2013 年]。

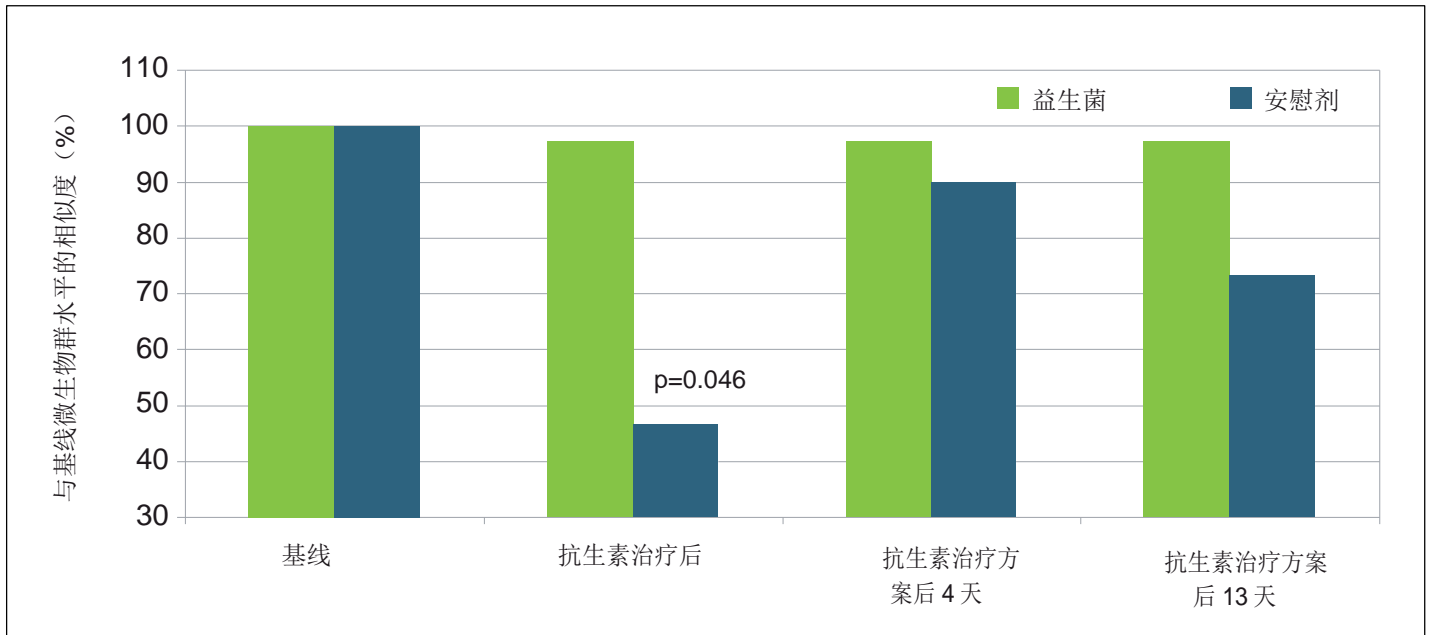


图 8. 含嗜酸乳杆菌NCFM®的益生菌混合物保护粪便微生物群免受抗生素破坏，这表现在与基线微生物群组成相比安慰剂组微生物群的相异度提高上[Engelbrektsen 等人，2009 年]。

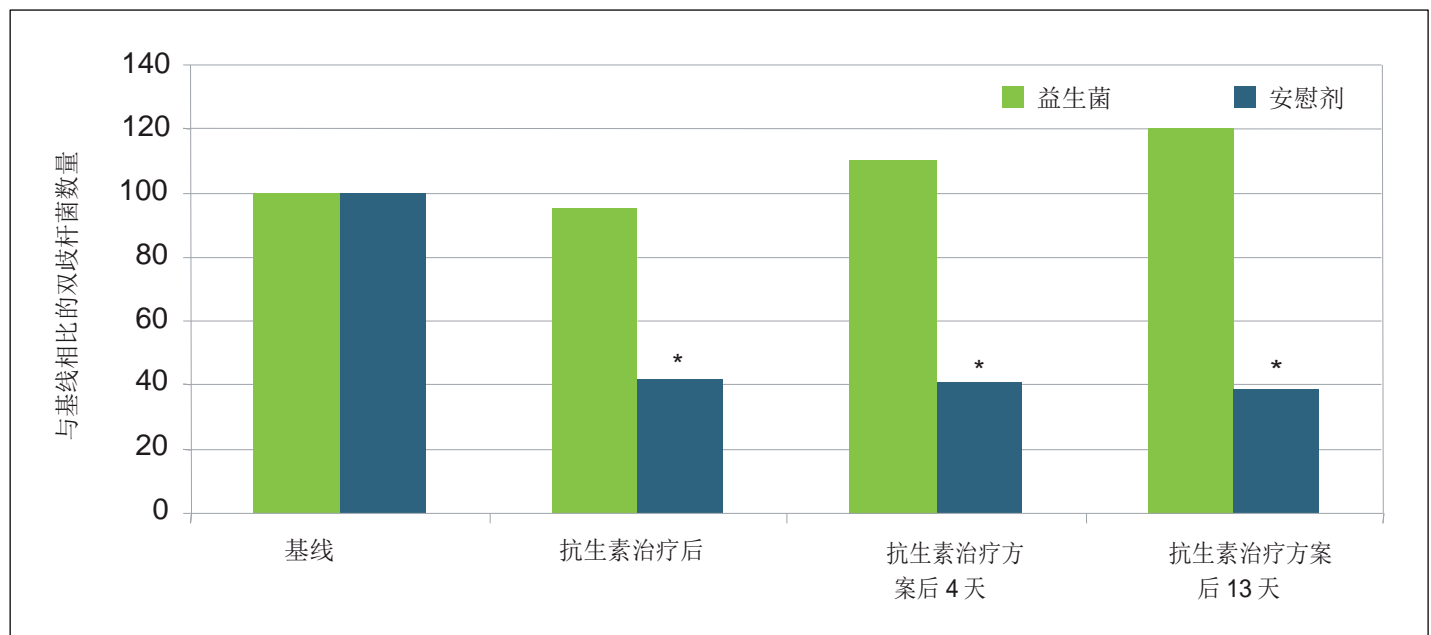


图 9. 含嗜酸乳杆菌NCFM®的益生菌混合物促进摄入抗生素的研究对象在治疗后粪便中双歧杆菌水平的保持[Engelbrektsen 等人，2009 年]。

将嗜酸乳杆菌NCFM®加入五种菌株制剂中来研究其稳定在抗生素治疗期间及之后肠道微生物群的能力。这项人体试验发现益生菌产品减少了由抗生素诱发的、对总微生物群的干扰（如图 8）。此外，在停止抗生素治疗后两周期间，益生菌产品仍然使双歧杆菌保持在

与安慰剂组相比显著偏高的水平（如图 9）[Engelbrektsen 等人，2009 年]。

另一项研究专门探究嗜酸乳杆菌NCFM®与乳双歧杆菌Bi-07™的益生菌组合对健康成年人在抗生素暴露期间及之后粪便微生物群的影响。

在抗生素治疗结束时，与安慰剂组相比，摄入此益生菌组合的研究对象的粪便中嗜酸乳杆菌NCFM®和乳双歧杆菌的数量显著增多。此外，乳双歧杆菌水平在益生菌摄入完毕后恢复到基线水平，且他们的乳杆菌水平在抗生素暴露

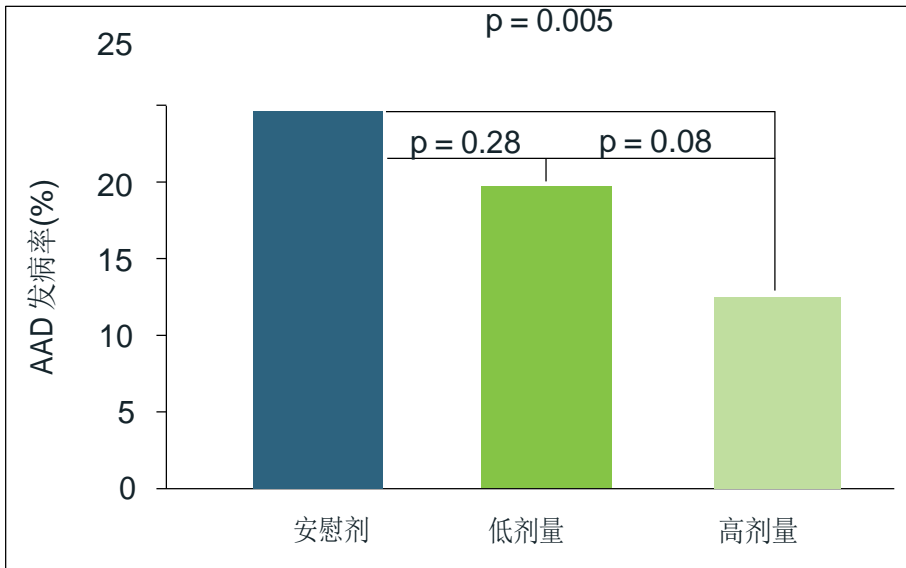


图 10. 按研究组区分的抗生素相关腹泻 (AAD) 发病率。低剂量: 4.17×10^9 个菌落形成单位 (CFU); 高剂量: 1.70×10^{10} CFU; 安慰剂: 微晶纤维素

期间保持稳定。在安慰剂组中, 乳双歧杆菌水平在研究结束时仍未恢复到基线水平。胃肠道症状普遍轻微, 且不同治疗组之间不存在差异。

总之, 摄入这种益生菌组合主要导致粪便中研究产品所含菌种水平提高。含嗜酸乳杆菌 NCFM® 的研究产品可能减轻抗生素治疗引起的副作用 [Forssten 等人, 2014 年]。

进一步研究的目的是为了确定四种菌株益生菌组合对需要抗生素治疗的成年住院患者的 AAD 和 CDAD 发病率及胃肠道症状严重程度的剂量反应效应。所有患者被随机分成三个研究组: 1.70×10^{10} CFU/天益生菌 (高剂量)、 4.17×10^9 CFU/天益生菌 (低剂量) 或安慰剂组。

研究所采用的市售 HOWARU® Restore 复合益生菌包含等量的嗜酸

乳杆菌 NCFM®、副干酪乳杆菌 Lpc-37™、乳双歧杆菌 Bi-07™ 和乳双歧杆菌 Bi-04™。

根据抗生素投药时间而定, 连续 10-21 天每天摄入这种研究产品 (摄入此研究产品直到最后一次抗生素投药后 7 天)。

结果表明, 与安慰剂组相比, 两个益生菌组的所有衡量指标均有改善。在高剂量组中观察到最低 AAD 发病率, 安慰剂组的发病率最高, 低剂量组居中 (如图 10)。安慰剂组的 CDAD 发病率最高, 且高剂量和低剂量组的发病率相同。

高剂量和低剂量组的平均水样排便次数和平均腹泻持续时间均显著减少。与安慰剂相比, 高剂量显著减少了腹胀、发烧和腹痛情况。

总之, 接受试验的四种菌株益生菌组合 (其中包括嗜酸乳杆菌 NCFM®) 似乎以一种剂量依赖的方式降低了 AAD、CDAD 和胃肠道症状的风险 [Ouweland 等人, 2014 年]。

对微生物群的有益调节

人们就一款含嗜酸乳杆菌 NCFM® (109 CFU/剂) 和纤维二糖 (5 克) 的新型合生素对人体肠道微生物群组成和代谢活性的影响展开研究。

招募健康的志愿者参与一项双盲、随机、安慰剂对照交叉研究, 他们连续 3 周每天摄入合生素产品或安慰剂。此研究证实了含嗜酸乳杆菌 NCFM® 的合生素与纤维二糖相结合提高了健康研究对象体内的双歧杆菌和乳杆菌水平 [van Zanten 等人, 2014 年]。

另一项随机对照试验采用补充乳双歧杆菌 Bi-07™ 和嗜酸乳杆菌 NCFM® 以及异麦芽低聚糖益生元的发酵乳来展开, 研究过程中 100 位健康的成年人连续两周每天口服。

在干预前后采用培养方法研究这些研究对象的粪便细菌组成。在干预之后, 与对照组相比, 我们观察到试验组的研究对象的粪便双歧杆菌和乳杆菌增加, 且粪便肠杆菌减少。

给小鼠口服相同的发酵乳补充剂, 然后采用相同的培养方法展开免疫

和粪便细菌分析。在小鼠身上也观察到对肠道微生物群组成有着相同的影响。此外，研究发现实验组小鼠的特异性免疫标志物显著增多，这表示对宿主动物体液和细胞介导免疫具有积极的效果。总而言之，这种合生素产品显著增加了人类研究对象及小鼠的乳杆菌和双歧杆菌数量，且因此有助于改善肠道健康[Wang 等人，2012年]。

以前有一项人体试验表明，每天摄入约含 10^9 CFU 嗜酸乳杆菌 NCFM®和鼠李糖乳杆菌 HN001™的益生菌奶酪显著增加了自然杀伤（NK）细胞毒性以及有粒细胞和单核细胞的吞噬活性[Ibrahim 等人，2010年]。

此研究评估摄入相同的益生菌奶酪以及观察到的系统免疫益处是否与肠道微生物群以及所选粪便免疫标志物的变化有关。

研究表明，让健康的老年志愿者摄入益生菌奶酪导致肠道微生物群特异性组分发生改变，但肠道内主要细菌群没有显著影响。这表示由益生菌诱发的微生物群变化对某些肠道细菌群具有特异性。确切地说，摄入奶酪显著提高了粪便中鼠李糖乳杆菌和嗜酸乳杆菌 NCFM®的水平。

重要的是，与对照奶酪的导入期相比，摄入益生菌奶酪与老年人艰难梭菌数量减少趋势有关。这种影响对在研究开始时藏有艰难梭菌的老年人亚群体中具有统计显著性。由于其对抗生素相关腹泻的作用，艰难梭菌基础水平的下降可能对老年人健康具有临床相关的益处。

最后，我们在研究过程中没有观察到肠道免疫标志物发生了任何变化，这表明摄入益生菌奶酪的有益功效主要在于系统自然免疫上。此外，粪钙卫蛋白和 β -防御素浓度没有发生任何变化，这表明益生菌治疗没有在肠道内造成任何不良炎症反应[Lahtinen 等人，2012年]。

此外，两项研究的结果表明从奶酪中摄入的嗜酸乳杆菌 NCFM®在经过胃肠道传输后仍然存活。

嗜酸乳杆菌 NCFM®和乳糖醇组合对老年人肠道和免疫参数的影响

大量研究表明，老化对微生物群具有显著影响。且普遍有报告称生物多样性减少、稳定性下降且肠道微生物群个体差异变大也与老化有关[Rondanelli 等人，2015年]。总体而言，这类数据支持饮食、微生物群与健康状况之间的关系，表明饮食驱动型微生物群改变对以不同健康衰退速度老化的作用[Clackson, 2012年]。益生菌、益生元和合生素可能

通过改变肠道环境和微生物群组成并通过刺激免疫系统来改善老年人的健康状况。

我们展开了一项研究来专门探究益生菌和益生元组合（合生素）对选定肠道和免疫健康标志物的影响，包括常在老年时衰退的参数。

此研究所采用的合生素组合之所以被选中，是因为其组分与肠道微生物群的互补效应。其中包括嗜酸乳杆菌 NCFM®益生菌和乳糖醇益生元，每天摄入两次且每日总剂量为 10 克乳糖醇和 2×10^{10} CFU 益生菌。

在连续两周的时间内，年龄在 65 岁以上的健康老年研究对象在一项双盲平行试验中每天两次摄入安慰剂或合生素组合。

摄入嗜酸乳杆菌 NCFM®与乳糖醇组合轻微改善排便频率有关，且没有任何副作用。此外，这增加了粪便中的嗜酸乳杆菌 NCFM®和双歧杆菌数量并提高了粪便亚精胺（一种重要的 DNA 合成多胺）和前列腺素 E2（一种潜在的内生抑制炎症因子）浓度。结果表明微生物群组成和粘膜功能有所改善[Ouwehand 等人，2009年]。

在上述临床干预框架下，还展开了另一项研究采用分子法进一步描述

相同的合生素治疗对老年研究对象微生物群组成的影响。采用实时定量聚合酶链式反应（定量聚合酶链式反应）及特定引物在干预期之前、期间及之后均监测到主要细菌群的变化。采用非选择性 DNA 方法研究总粪便微生物群中的普遍变化。

微生物群剖析显示微生物群落中某些相关的变化，由此表明在合生素补充过程中双歧杆菌水平提高。PCR 定量检测证实了微生物群组成的变化，例如有记录表明总内生双歧杆菌和乳杆菌水平提高了。这类结果表明，这种治疗的功效对被普遍认为有益健康的某些细菌类群具有特异性。

总而言之，两项研究都观察到补充合生素产品的老年研究对象发生了推定的有益变化[Björklund 等人，2011 年]。

嗜酸乳杆菌 NCFM® 与益生元组合对慢性便秘的影响

功能性便秘是一种常见的、恼人的胃肠疾病，它严重影响着生活质量。对这种疾病的治疗仍然具有挑战性。有关益生菌对这种疾病管理的研究日益增加。一项最新的元分析提供了证据表明益生菌总体改善了结肠转运时间（CTT）、排便频率和粪便性状；但特定的益生菌仅改善了其中一些结果[Dimidi 等人，2014 年]。益生元与益生菌的组合可能对肠道转运发挥协同作用。

也有报告称聚葡萄糖对粪便性状和排便功能产生了积极影响[Björklund 等人，2011 年]。因此，此研究的目的是为了研究酸奶中的聚葡萄糖（Litesse®）、嗜酸乳杆菌 NCFM® 和乳双歧杆菌 HN019™ 组合对慢性便秘研究对象肠道转运的影响。

此研究的结果表明，摄入含聚葡萄糖、乳双歧杆菌 HN019™ 和嗜酸乳杆菌 NCFM® 的酸奶两周后显著缩短了 CTT，并且这是治疗便秘的一种选择[Magro 等人，2014 年]。

类似地，采用低聚果糖与副干酪乳杆菌 Lpc-37™、鼠李糖乳杆菌 HN001™、嗜酸乳杆菌 NCFM® 和乳双歧杆菌 HN019™（ 10^8 - 10^9 CFU）组合对便秘成年女性展开的研究表明，30 天之后志愿者们排便频率增加，且粪便性状和形状改善而比安慰剂组更加接近正常参数，且分别从第二和第三周开始出现显著益处。腹部症状不存在显著性差异，但合生素组对腹痛、腹胀和胃肠气胀的 AGACHAN 评分与安慰剂组相比有所改善。

总之，膳食补充含嗜酸乳杆菌 NCFM® 的合生素改善了慢性便秘女性的排便参数和便秘严重程度，且不影响腹部症状[Waitzberg 等人，2013 年]。

嗜酸乳杆菌 NCFM® 与乳双歧杆菌 Bi-07™ 组合对功能性肠病的影响

功能性肠病（FBD）是普通人群中最常见的胃肠疾病。最新数据支持肠道微生物群对功能性肠病的致病作用，由此表明操纵肠道微生物群可能对 FBD 患者有益[Hong & Rhee，2014 年]。

此研究的目的在于探究嗜酸乳杆菌 NCFM® 和乳双歧杆菌 Bi-07™ 混合物对非便秘型 FBD 患者的临床功效。连续 8 周、每天两次提供由等量的两种益生菌组成（ 10^{11} CFU/剂）的混合物或安慰剂作为研究产品。

研究成果表明，与安慰剂组相比，益生菌组在 4 周和 8 周之后胃肠气胀症状显著改善（如第 15 页图 11 所示）。

此研究产品耐受良好。两组均未报告任何不良反应。此外，肠道炎症粪便标志物增加的缺少表明对此产品无炎症反应。

重要的是，对粪便微生物群的遗传分析证实了干预组存在测试益生菌菌株。在从活跃组患者处提取的干预后粪便样品中，两种细菌的水平均显著提高，而取自安慰剂组患者的样品中没有发现这种提高。

研究成果表明，嗜酸乳杆菌 NCFM® 与乳双歧杆菌 Bi-07™ 的组合

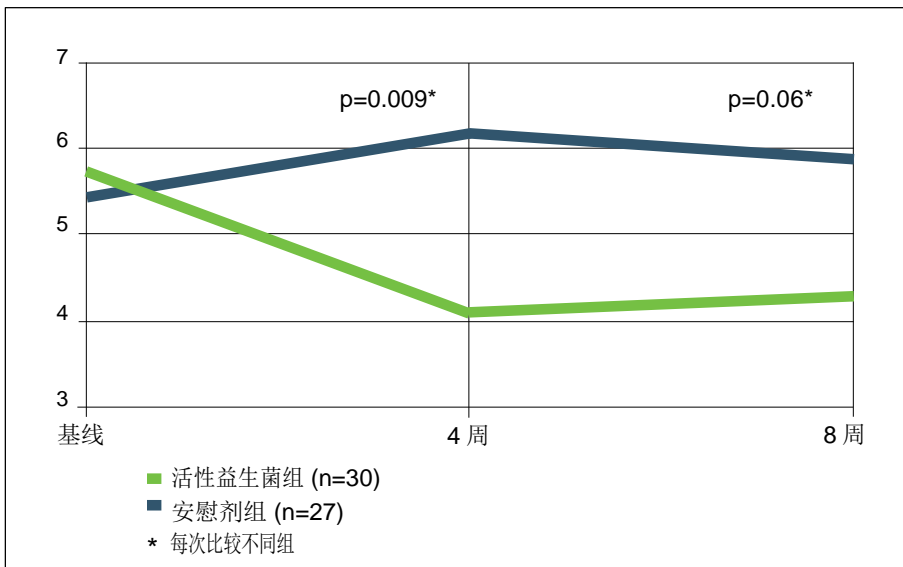


图 11. 在基线、干预 4 周和 8 周时的胃肠气胀严重程度

可能有助于减轻功能性肠病患者的胃肠气胀症状[Ringel-Kulka 等人, 2011 年]。

考虑到 FBD 患者肠胃气胀症状的普遍存在、它们对患者健康的总体影响以及缺乏有效的治疗, 这种益生菌组合可能是用来管理有这类症状患者的重要且有用的补充。

减少腹痛

腹痛常见于普通人群及肠易激综合征患者身上, 它是由于内脏高敏感所致。

大量体外及动物研究表明, 肠道微生物组与通路介导的内脏(源于内脏器官)痛觉之间存在相互作用。因此, 假设摄入特定的益生菌可能对治疗由于 IBS 导致的内脏高敏感和腹痛有助益。

先前的一项动物研究[<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17159985>]发现口服嗜酸乳杆菌 NCFM® 诱发负责向肠道神经系统传输伤害性(疼痛相关)信号的肠上皮细胞中 μ -阿片和大麻素受体的表达, 且表明缓解了疼痛和炎症[Chichlowski & Rudolph, 2015 年]。嗜酸乳杆菌 NCFM® 介导了肠道内的止痛作用——这与吗啡的功效类似。这类结果表明肠道微生物学影响了我们的内脏感觉。这项分两组的双盲研究的目的是为了确定嗜酸乳杆菌 NCFM® 是否是临床试验中的一种活性成分, 并探究对轻至中度腹痛人群的作用机制。患者连续 21 天每天单独摄入嗜酸乳杆菌 NCFM® 或结合乳双歧杆菌 Bi-07™, 每天的总剂量为 2×10^{10} CFU。

总之, 研究表明嗜酸乳杆菌 NCFM® 单独, 而不是嗜酸乳杆菌 NCFM® 与乳双歧杆菌 Bi-07™ 结合调节了 μ -阿

片受体的表达及活性[Ringel-Kulka 等人, 2014 年]。

一项最新研究专门研究了包含 2.5×10^{10} CFU 嗜酸乳杆菌 NCFM® 与乳双歧杆菌 Bi-07™ 的益生菌组合对接受过结肠镜检查患者的腹部气胀、腹痛和肠功能紊乱等腹部症状的功效。

总而言之, 此研究表明, 与安慰剂相比, 从结肠镜检查后第一天晚上开始每天摄入益生菌显著减少了疼痛天数[D'Souza 等人, 2015 年]。

上述研究结果增进了我们对可能的作用机制的了解, 即益生菌(尤其是嗜酸乳杆菌 NCFM®)调节了人体肠道痛感。这些研究表明, 益生菌干预是治疗腹痛和肠易激综合征的最新方法。

幼儿口服补充合生素的益处

在两项人类临床研究中, 评估适合 1 至 10 岁儿童的合生素营养补充剂(还包括乳双歧杆菌 Bi-07™ 和果寡糖)中的嗜酸乳杆菌 NCFM®。一项多中心、开放、随机、对照研究涵盖一至六岁的急性疾病儿童, 他们需要抗生素治疗来抵抗细菌性感染。这些儿童摄入合生素营养补充剂(PS)、不含合生素成分的营养补充剂(P)或水果风味饮料(D)进行治疗。摄入合生素配方(PS)组的总能量摄入、体重增加和粪便乳杆菌水平显著偏高。该组的复发率

或新细菌感染率也是最低的，虽然这并不具有统计显著性。在抗生素治疗结束时，粪便双歧杆菌水平不存在显著性差异，虽然 PS 组更高。此外，各组的疾病或治疗持续时间也不存在显著性差异。所有这三种补充剂都耐受良好。在儿童罹患急性疾病期间，适当的营养尤其重要，这样他们才能摄入最多的能量和液体并加快康复过程。此研究表明使用含嗜酸乳杆菌 NCFM® 的营养补充剂对正在接受抗生素治疗的儿童有益且安全 [Schrezenmeir 等人，2004 年]。

第二项研究，即一项持续 4 个月的双盲随机研究，在巴西、墨西哥、葡萄牙和西班牙等 13 个地点同时展开。目的是为了评估接受含或不合生素的营养补充剂的儿童的疾病发病率和持续时间以及人体测量数据。

参与此研究的儿童为一至六岁、体重偏轻（根据世界卫生组织/国家卫生统计中心定义）但健康的儿童。

总而言之，两组的疾病发病率、生病天数以及抗生素使用情况类似。但是，在摄入合生素配方的组别中，至少发病过一次的、三至五岁的研究对象的生病天数显著减少。这表明，该配方能帮助

一些儿童缩短生病持续时间。在合生素组中，所有年龄儿童便秘情况显著减少。所有研究对象都经历了身高、体重及体重/身高比的增长。

合生素与对照组的增长率不存在差异。此研究所采用的两种补充剂均耐受良好，且副作用的总发生率都非 常 低 [http://www.danisco.com/fileadmin/user_upload/healthnutrition/Clinical_studies/howaru-duf-synbiotic-fisb.pdf]。

对免疫系统的有益调节

益生菌理念与免疫系统

人体免疫系统是一套保护人体免受外来传染致病剂（细菌、病毒和寄生虫）和恶性细胞及其他有毒因子侵害的、非常高效且复杂的系统。发挥最佳功能的免疫系统是一项重要的传染和非传染性疾病防护措施。胃肠道是人体最大的免疫器官，其中估计包含 80% 产生抗体的细胞。肠道微生物群代表人体免疫防御系统的其中一个关键要素 [Calder 等人，2013 年]。

新生儿的免疫系统功能尚不成熟。幼儿暴露于抗原下对促进肠粘膜免疫系统的发展并维持免疫自稳至关重要。源于肠道微生物群及环境中的微生物抗原在促进肠道相关淋巴组织（GALT）成熟及正常疾病抵抗力方面发挥着关键作用。这点在对无菌小鼠的研究中得到了证实。无菌动物的免疫系统发育不良，其肠

道粘膜中的 IgA 浆细胞和上皮内淋巴细胞数量较少。与传统饲养的动物相比，它们的疾病易感性更高。西方社会微生物暴露减少还与特异性及自身免疫性疾病有关 [Calder 等人，2013 年；Versini 等人，2015 年]。

有大量证据表明特定的益生菌菌株能够刺激和调节天然和后天获得的免疫应答的多个方面。这可以通过刺激肠道免疫系统或者调节免疫细胞产生及功能 [Lei 等人，2015 年]。

能够调节某些免疫功能的益生菌可能改善对口服疫苗接种的反应、缩短持续时间或降低某些类型感染的风险，或者降低过敏症及其他免疫性疾病的风险或减轻症状 [Duerkop 等人，2009 年；Hardy 等人，2013 年]。调节免疫系统是有关杜邦™丹尼斯克®系列益生菌的密集研究的一个领域。目的是为了了解每种菌株如何帮助维持和平衡最佳免疫功能。免疫系统受名叫细胞因子的化合物所控制。细胞因子是细胞产生的激素类似蛋白质，会影响其他细胞的行为且因此在调节免疫系统功能方面发挥着重要作用。细胞因子表达可以通过特定的益生菌来调节。然而，从体外和人体研究方面来解释细胞因子水平的健康相关性仍是一项挑战。

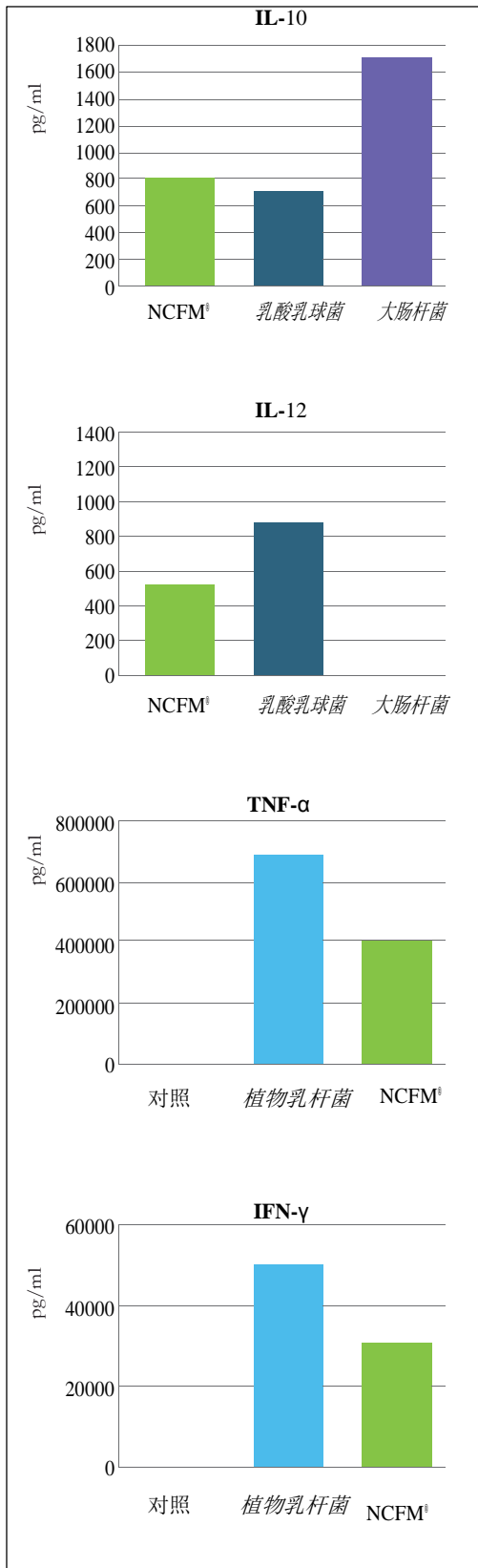


图 12. 由嗜酸乳杆菌NCFM®诱发的体外细胞因子表达
(TNF-α / IFN-γ 内部生成数据, 未公布)

细胞因子及其他免疫标志物的表达

体外实验被广泛用来界定益生菌的细胞因子表达谱并因此确定其免疫学功效。通过衡量在与外周血单个核细胞 (PBMCs) 相互作用过程中益生菌的影响, 生成可以帮助确定每种菌株为实现均衡免疫健康做贡献的信息。在体外研究嗜酸乳杆菌NCFM®诱发 PBMC 分泌特定细胞因子的能力: 白细胞介素 (IL) IL-10 和 IL-12。IL10/IL-12 比率被普遍用来区分具有促炎和抗炎作用的菌株。这类结果与乳酸乳球菌菌株及非致病性大肠杆菌菌株作比较。发现嗜酸乳杆菌NCFM®诱发 IL-10 的程度略高于乳酸乳球菌, 且略低于大肠杆菌。诱发 IL-12 的程度低于乳酸乳球菌, 且高于大肠杆菌 (如图 12) [Foligne 等人, 2007a 年]。这种类型的细胞因子表达可能使免疫系统转向所谓的 Th1 型反应, 由此在防止肿瘤、细胞内细菌、病毒及抗变态反应方面发挥重要作用。

体外研究还表明, 嗜酸乳杆菌NCFM®拥有上调参与细胞介导免疫的细胞因子, 即肿瘤坏死因子 (TNF) -α 和干扰素 (IFN) -γ, 的能力。

植物乳杆菌菌株被用作比较的基准 (未公布数据) (如图 12)。IFN-γ 提高了 Th1 细胞活性及巨噬细胞功能, 而 TNF-α 让系统做

好由嗜中性白血球、巨噬细胞和自然杀伤细胞展开“巡逻”活动的准备。这些数据表明嗜酸乳杆菌NCFM®可能通过促使产生对激活免疫应答很重要的细胞因子而改善人体防御系统。这种细胞因子数据表明, 嗜酸乳杆菌NCFM®可能促使 Th1 类细胞成熟, 这是由于其上调 IFN-γ 及其与 IL-12 相比稳定表达 IL-11 的能力。

还有采用骨髓来源树突状细胞 (BMDCs) 展开的体外研究进一步研究了嗜酸乳杆菌NCFM®的免疫调节特性[Foligne 等人, 2007b 年; Zoumpopoulou 等人, 2009 年]。我们曾展开一项研究来探究益生菌在树突状细胞 (DCs) 中的抗炎潜力。DC 属于在调节对自身及外来抗原免疫应答并诱发和维持免疫耐受性方面起着核心作用的抗原提呈细胞 (APC) 组。研究表明, 在采用某些益生菌菌株等各种刺激物激活之后, DC 达到成熟并导致功能改变, 例如分泌细胞因子和趋化因子[Foligne 等人, 2007b 年]。另一项研究专门探究肠上皮细胞 (IEC)、BMDC 与细菌在体外的相互作用。研究发现嗜酸乳杆菌NCFM®没有诱发对 IEC 的任何刺激, 不论是否存在 BMDC。

在 BMCD 直接与嗜酸乳杆菌NCFM®相互作用过程中, 我们观察到 IL-2、IL-6、IL-10、IL-12 和 TNF-α 的表达。嗜酸乳杆菌NCFM®未通过 IEC 单层细胞激活 BMCD[Zoumpopoulou 等人, 2009 年]。

与许多其他细菌一样，嗜酸乳杆菌有一个结晶表面（S）层，它由一种特定的 S-层 A 蛋白组成。该 S 层代表最外层的细胞壁组分，且具有许多不同的功能，包括对特定环境条件的反应。这还表明乳酸菌粘附肠道上皮细胞和细胞外基质成分很重要[Buck 等人，2005 年]。

一项体外研究专门探究嗜酸乳杆菌 NCFM®及其细胞表面成分与 DC 的相互作用。嗜酸乳杆菌 NCFM®附着到 DC 上并诱发浓度依赖性的 DC 激活。此研究进一步表明这种细菌粘附到 DC 特异性受体上。嗜酸乳杆菌 NCFM®缺乏 S-层 A 蛋白的突变体粘附此受体的能力显著降低。此研究的主要结论是嗜酸乳杆菌 NCFM®的 S-层 A 蛋白与主要受体相互作用并调节 DC 免疫功能 [Konstantinov 等人，2008 年]。

虽然嗜酸乳杆菌 NCFM®及其他乳杆菌的细胞表面成分能够激活 DC 等各种抗原提呈细胞的功能，这种免疫调节的机理普遍未知。

利用细胞因子表达数据作为一项预测性检验，嗜酸乳杆菌 NCFM®不太可能成为一项强大的炎症减轻因素，这是由于其相对较低的 IL-10 诱发率。这已经在化学诱导炎症动物模型中得到确认。本检验表明嗜酸乳杆菌 NCFM®与对照品相比并没有显著减少肠道炎症[Foligne 等人，2007a 年]。

环氧合酶表达及肠道通透性

肠道充当内部屏障，阻止致病性细菌及其他有害物质进入身体。肠道的内表面由一层细胞（上皮）组成，它被一层在屏障效应机制方面发挥关键性作用的粘膜层（主要由蛋白偶联碳水化合物组成的粘弹性层）所覆盖。紧密连接是让上皮细胞相互偶联的蛋白质结构。这些结构控制并维持平衡的肠道通透性。通透性提高与某些疾病（例如过敏症和炎症性肠病）有关，因此适当调节紧密连接的功能对这类疾病的预防很重要。一项体外研究衡量了益生菌菌株的无细胞上清液（CFS）及病原菌（大肠杆菌 *E. coli* O157:H7）对紧密连接完整性以及环氧合酶

（COX）表达的影响。由两种不同的基因编码而成的 COX-1 和 2 均为前列腺素生成酶，且对胃肠道健康很重要。COX-2 是可以在大部分组织中诱导的，且慢性过度表达是一项炎症和癌症的特征。COX-1 可永久表达，且对正常组织功能和修复至关重要。为了促进肠道健康，则需要在维持甚至提高 COX-1 活性的同时降低异常 COX-2 活性。嗜酸乳杆菌 NCFM®的 CFS 并未增加紧密连接强度，反而由于高乳酸含量而使之略微降低，而由于乳酸被人体结肠中的微生物群落迅速代谢导致在体外没有观察到这种影响。这种降低幅度显著低于由致病性大肠杆菌所

导致的降幅，且在测定 COX 基因时没有造成任何异常免疫应答。嗜酸乳杆菌 NCFM®使 COX-1 和 COX-2 都保持在基础水平，相反致病性大肠杆菌使 COX-1 水平降低、COX-2 水平上升 [Putala 等人，2008 年]。

对小鼠模型中柠檬酸杆菌结肠炎的功效

肠致病性大肠杆菌（EPEC）是小儿腹泻的一种常见病原菌，它会导致肠道粘膜中的特征性组织病理学损伤。小鼠病原菌柠檬酸杆菌导致鼠科动物肠道内类似的损伤，且被用作本研究的模型。在柠檬酸杆菌感染之前，或者在六至八周大时伴随暴露于柠檬酸杆菌下，连续四周、每周两次采用嗜酸乳杆菌 NCFM®接种两周大的 BALB/c 小鼠。此后，每周两次摄入这种益生菌。此研究的主要成果是嗜酸乳杆菌 NCFM®接种显著减少了柠檬酸杆菌感染、抑制其繁殖并方便其清除。研究发现，这种功效在采用嗜酸乳杆菌 NCFM®提前接种的小鼠身上更加明显，由此表明具有比同时摄入这种益生菌菌株更好的保护作用。

细菌移位减少表明，采用嗜酸乳杆菌 NCFM®提前接种还能阻止小鼠的局部或全身感染散播。益生菌治疗还刺激了结肠中的调节性细胞因子表达（转化生长因子（TGF）- β 、IL-10）。研究还发现，在诱发肠道 IgA 分泌及下调促炎细胞因子表达（TNF- α 、

IL-6 和 IL-12) 方面, 采用嗜酸乳杆菌 NCFM® 提前接种比伴随使用这种益生菌菌株更加有效 [Chen 等人, 2005 年]。

在另一项研究中, 相同的鼠科动物模型被用来进一步评估益生菌治疗对减轻小鼠的柠檬酸菌族相关结肠炎的功效, 并探究 DC 对调节宿主应答的作用。所获得的结果与上述研究结果相一致。采用嗜酸乳杆菌 NCFM® 提前接种降低了小鼠对柠檬酸菌族感染的易感性、缓解了结肠病理并降低了排泄物中柠檬酸菌族的分泌。这种益生菌治疗还刺激了宿主产生较高水平的 IgA, 并增强了对细菌的保护性抗原特异性免疫应答。研究表明, 当嗜酸乳杆菌 NCFM® 致敏 DC 被过继转移给小鼠而不是通过口服摄入这种菌株时, 则对在存在肠道细菌感染时的粪便细菌数量、IgA 水平、结肠组织病理学及肠系膜淋巴结中细胞因子水平有类似影响 [Chen 等人, 2009 年]。

这些成果表明, DC 在益生菌减轻柠檬酸杆菌结肠炎的能力方面起着关键性作用, 且嗜酸乳杆菌 NCFM® 接种将刺激 DC 的功能, 由此进一步增加由 DC 触发的免疫应答。研究的结论是嗜酸乳杆菌 NCFM® 可充当有效的免疫调节剂, 并刺激对肠道细菌感染的免疫应答。

实验性白色念珠菌感染防护

念珠菌酵母通常存在于大部分人体内, 但由于药物治疗或原发疾病等原因导致不受控制地过度生长会造成念珠菌症, 即由念珠菌属且主要是白色念珠菌导致的真菌感染 (真菌病)。念珠菌症涵盖从体表感染 (例如鹅口疮和阴道炎) 到全身且可能严重的疾病不等。念珠菌感染发病率的提高及其对抗真菌抗生素抗性的日益提高为探索将益生菌用于预防和治疗念珠菌症的全新研究工作提供了强大动力 [Wagner 等人, 1997 年]。

有一项研究关注先前定植嗜酸乳杆菌 NCFM® 及其他益生菌如何影响免疫缺陷小鼠的抗体应答, 并与由仅定植白色念珠菌的消化道产生的抗体应答相比较 [Wagner 等人, 2000a 年]。此研究表明, 虽然这种益生菌并未诱发对其自身抗原的强烈抗体应答, 他们改变了小鼠对白色念珠菌的抗体应答。作者观察到这种益生菌的混合免疫调节作用。

这种益生菌菌株诱发了对一些白色念珠菌抗原的抗体应答, 但抑制了对其他白色念珠菌抗原的抗体应答。然而, 这些数据表明, 有效地延长了采用白色念珠菌定植 [Wagner 等人, 1997 年] 的免疫缺陷小鼠存活时间的嗜酸乳杆菌 NCFM® 等益生菌

也强烈地刺激了这些小鼠体内对白色念珠菌抗原的抗体的产生。

这表明, 在提供念珠菌症保护时, 共生菌群应该视作体液免疫系统的的一个重要组分。某些益生菌还可明确地提高或抑制对通过消化道粘膜表面摄入的抗原的抗体应答 [Wagner 等人, 2000a 年]。

热灭活嗜酸乳杆菌 NCFM® 表现出更加有限的保护作用 [Wagner 等人, 2000b 年]。

另一项研究已经评估了嗜酸乳杆菌 NCFM® 及另一种嗜酸乳杆菌菌株的能力来保护免疫缺陷小鼠免遭口胃管和全身性念珠菌症 [Wagner 等人, 1998 年]。与采用白色念珠菌单杂交的小鼠相比, 采用白色念珠菌及任何一种嗜酸乳杆菌菌株来双杂交的小鼠的胃及肠道内白色念珠菌数量显著减少。消化道中存在任何一种嗜酸乳杆菌菌株降低了小鼠播散性念珠菌症的发病率。与另一种嗜酸乳杆菌菌株相比, 嗜酸乳杆菌 NCFM® 提供了更好的内起源、全身性 (播散性) 念珠菌症保护。两种嗜酸乳杆菌菌株都延长了小鼠在定植白色念珠菌后的存活时间 (与采用白色念珠菌单杂交的小鼠性比)。但是, 嗜酸乳杆菌 NCFM® 提供了最有效的保护。与采用白色念珠菌单杂交的小鼠相比, 采用白色念珠菌及任何一种嗜酸乳杆菌菌株双杂交小鼠的幼鼠生长显著改善。评估采用其中一种嗜酸乳杆菌菌株或白色

念球菌单杂交的或者采用其中一种嗜酸乳杆菌菌株或白色念球菌双杂交的小鼠的血清免疫球蛋白免疫应答。

与无菌小鼠相比，采用嗜酸乳杆菌单杂交的小鼠血清 IgG 和 IgM 增多。采用白色念球菌单杂交的小鼠有更多的 IgG、IgA 和 IgM，虽然这三种免疫球蛋白的增幅比采用嗜酸乳杆菌 NCFM® 和白色念球菌双杂交的小鼠更高。较新的数据表明采用嗜酸乳杆菌菌株和白色念球菌双杂交的小鼠生成比采用白色念球菌单杂交的小鼠更多的抗体。这些结果表明，嗜酸乳杆菌 NCFM® 可以为免疫缺陷小鼠提供重要的念球菌症保护，且相同菌种的不同菌株提供不同程度的生物治疗功效[Wagner 等人，1998 年]。

总之，由于嗜酸乳杆菌 NCFM® 抵抗常见肠道病原菌及其毒素的抗菌活性，它可以改善肠道微生物群的组成，从而可能导致降低腹泻及其他肠病的风险，并提供全身性感染防护作用。这类研究表明，有益功效还可部分归因于免疫刺激，即增强的巨噬细胞、淋巴细胞和多形核白细胞应答。

改善接种效果

我们展开了一项动物研究来专门研究炭疽杆菌感染的替代性疫苗策略。嗜酸乳杆菌 NCFM® 的重组菌株被用来通过特定的树突状细胞诱导肽提供对树突状细胞 (DCs) 的炭疽

杆菌保护性抗原 (PA)。小鼠口服接种这类保护性抗原肽诱导了对炭疽杆菌强大的保护性免疫力。此外，中和 PA 抗体及 IgA 表达细胞的血清抗 PA 滴定量水平全都与皮下注射标准重组 PA 加氢氧化铝相当。这种 DC 靶向抗原口服给药策略的进一步发展可以通过可能具有对病原菌的粘膜免疫应答的细菌佐剂来提供一种安全且具有防护性的疫苗 [Mohamadzadeha 等人，2009 年]。

小鼠免疫功能的增强

另一项研究专门研究了嗜酸乳杆菌 NCFM® 与乳双歧杆菌 Bi-07™ 组合对小鼠特定免疫标志物的剂量依赖性功效。此研究给小鼠喂食三种不同剂量的益生菌制剂，其中初始细胞总数 $>3.5 \times 10^9$ cfu/g (0.25、0.50、1.50 克/千克体重)。在中等和高剂量时观察到迟发性超敏反应 (DTH) 增加。这是与身体以前遇到过的抗原的一种反应。赋予免疫系统对过去感染“记忆”的记忆型 T 细胞和抗原特异性白细胞被更快激活，童儿提供更快的感染防护。

补充高剂量的益生菌还导致 NK 活性显著提高。NK 细胞属于自然免疫的主要细胞效应物，且对抵御病毒感染和肿瘤细胞至关重要。这类结果表明，以某些剂量水平补充这种益生菌组合可以增强小鼠的免疫功能[Cai 等人，2008 年]。

刺激免疫球蛋白

在一种动物模型中进一步检验嗜酸乳杆菌 NCFM® 积极影响粘膜和全身性免疫应答的能力。研究表明，作为同时还包含嗜热菌、保加利亚乳杆菌和婴儿双歧杆菌的酸奶的一种组分，嗜酸乳杆菌 NCFM® 改善了霍乱毒素接种后小鼠的特定肠道和血清 IgA 产生 [Tejada-Simon 等人，1999 年]。

一项衡量接种后主要免疫应答的人类研究评估了嗜酸乳杆菌 NCFM® 刺激特异性免疫的能力。在口服接种霍乱疫苗前一周，健康的志愿者口服安慰剂 (麦芽糊精) 或嗜酸乳杆菌 NCFM®。从第 0 天开始补充嗜酸乳杆菌 NCFM® 或安慰剂并持续 21 天。研究对象每天摄入包含 $10E^{10}$ CFU 嗜酸乳杆菌 NCFM® 的两颗胶囊，或者两颗麦芽糊精 (对照品) 胶囊。在第 7 天和第 14 天，研究对象口服疫苗。在第 0、21 和 28 天取血液样本，并决定抗原特异性抗体 (免疫球蛋白、IgA、IgG、IgM)。这些免疫球蛋白在身体的免疫防御策略中发挥着不同的作用。与安慰剂组相比，补充嗜酸乳杆菌 NCFM® 往往会在第 21-28 天期间增加特定的血清 IgA。这表明嗜酸乳杆菌 NCFM® 刺激特异性免疫 (如第 21 页上的图 13 所示) [Paineau 等人，2008 年]。

改善免疫标志物

在一项随机对照交叉临床试验中，研究一款市售益生菌奶酪作为一种

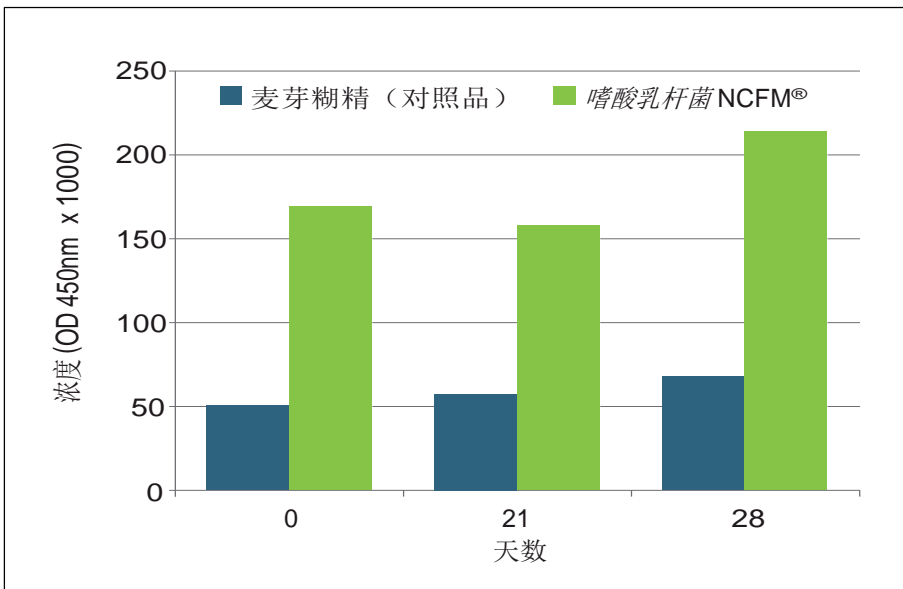


图 13. 与安慰剂相比，补充嗜酸乳杆菌 NCFM®后口服疫苗人体中的特异性 IgA 滴定度水平[Paineau 等人，2008 年]。

益生菌食品而改善老年人的选定免疫标志物的潜力。

三十一位健康的老年志愿者摄入包含大约 10^9 CFU/天的鼠李糖乳杆菌 HN001™和嗜酸乳杆菌 NCFM®的益生菌奶酪。在连续 4 周的益生菌干预之前摄入不含益生菌的奶酪两周（导入），而在干预之后再采用相同的对照奶酪完成持续 4 周的清洗期。

摄入益生菌奶酪显著提高了 NK 细胞杀伤目标肿瘤细胞的能力。发现对照和益生菌奶酪都导致有粒细胞和单核细胞的吞噬活性显著提高。

我们发现奶酪是益生菌研究的一种有效载体，且研究表明日常降幅摄入这种益生菌奶酪可以帮助增强免疫系统，且将其加入日常饮食中可以改善老年人对有害外部挑战的免

疫应答[Ibrahim 等人，2010 年]。

总而言之，研究表明嗜酸乳杆菌 NCFM®可以一种对在肠道外细胞介导免疫系统致敏很重要的方式调节免疫应答标志物。从体外、人类及动物研究所提供的数据来看，我们可以得出如下结论：嗜酸乳杆菌 NCFM®可以通过促进和激活对提供感染防护很重要的免疫应答来改善人体防御系统。

对呼吸道疾病症状的影响：

益生菌组合对桦树花粉过敏的影响

我们展开了一项随机、安慰剂对照、双盲研究来专门研究桦树花粉过敏症状是否与肠道微生物群改变有关，且益生菌是否有功效。此研究所采用的益生菌菌株，即嗜酸乳杆菌 NCFM®和乳双歧杆菌 BI-04™的组合，是基于它们具有抗炎特性或者预期能够诱

发抗过敏细胞因子（根据前述体外和动物试验评估）来选定的。

总之，此研究表明摄入这种益生菌组合对鼻腔嗜伊红血球有积极的影响，这表现出与过敏性鼻炎的临床及免疫参数的强大相关性，且还表现出鼻塞流涕等鼻部症状减轻的趋势。

从 3 月到 4/5 月间，摄入这种益生菌组合还导致粪便中的乳双歧杆菌和嗜酸乳杆菌数量显著增多。直到六月份干预结束时，这些数量仍然处于较高水平。在桦树花粉季节，微生物群发生了整体变化，

在该季节的高峰期主要微生物群组增多。这种情况在益生菌和安慰剂组中都能观察到，由此表明它并非受干预的影响。这类研究结果表明益生菌可能提供一种替代性或补充性的花粉过敏治疗方法[Ouwehand 等人，2009 年]。研究发现嗜酸乳杆菌 NCFM®具有各种不同的免疫调节特性。这些为所观察到的、菌株的许多健康益处提供了一个机械基础，且表明了健康应用中的新潜在目标。

减少感冒与流感症状

普通感冒指一组不同的、大多轻微的上呼吸道（URTI）疾病，它们影响我们的日常生活且被视为一项主要的公共健康问题。

一项涉及 300 多位三至六岁健康儿童的研究专门研究了嗜酸乳杆菌

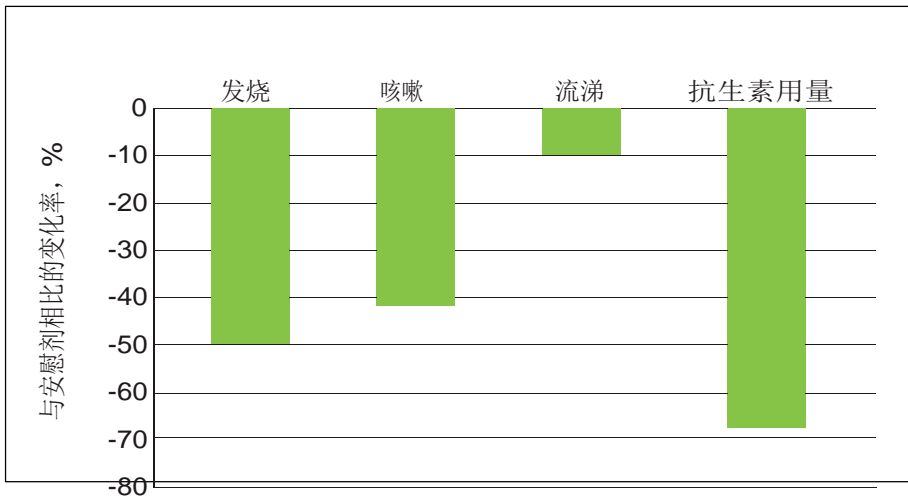
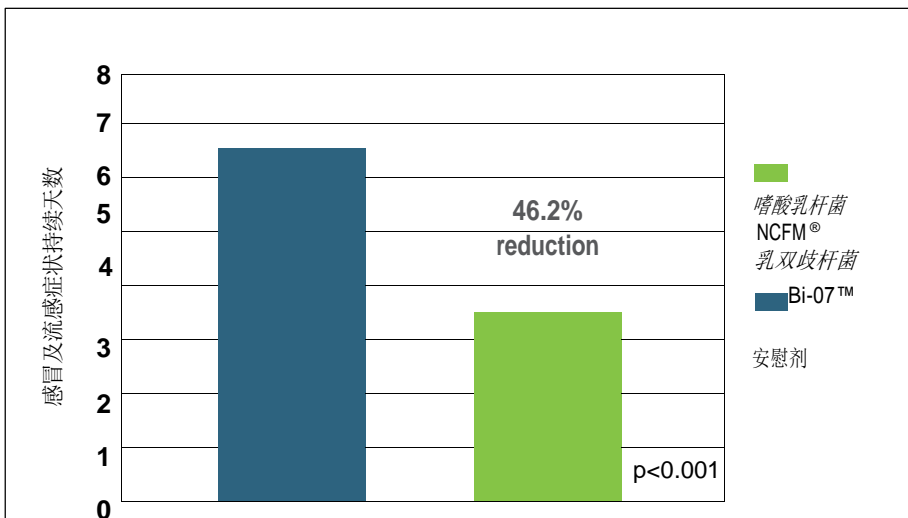


图 14. 与安慰剂相比, 嗜酸乳杆菌NCFM®对上呼吸道感染发病率的减少情况[Leyer 等人, 2009 年]。

NCFM®及嗜酸乳杆菌NCFM®和乳双歧杆菌Bi-07™组合对呼吸道健康的影响。每天摄入总剂量为 1×10^{10} CFU 的两种益生菌。此研究从 11 月持续开展至 5 月份, 这是儿童由于气候条件严酷而特别容易罹患季节性疾病的时节。与安慰剂相比, 嗜酸乳杆菌NCFM®显著降低了发烧的发病率及持续时间、URTI 症状以及抗生素用量 (如图 14)。



在摄入嗜酸乳杆菌NCFM®和乳双歧杆菌Bi-07™组合的组别中, 我们观察到对感冒和流感样症状更加显著的影响且大幅减少了抗生素用量、缩短了生病天数 (如图 15 和 16) [Prov Patent Appl, 2006; Leyer 等人, 2009 年]。

图 15. 临床研究表明, 与安慰剂相比, 嗜酸乳杆菌NCFM®使疾病持续天数缩短近一半

据报告, 急性 URTI, 例如感冒和咳嗽, 是影响运动员的主要疾病原因之一, 且可能削弱训练活动。我们针

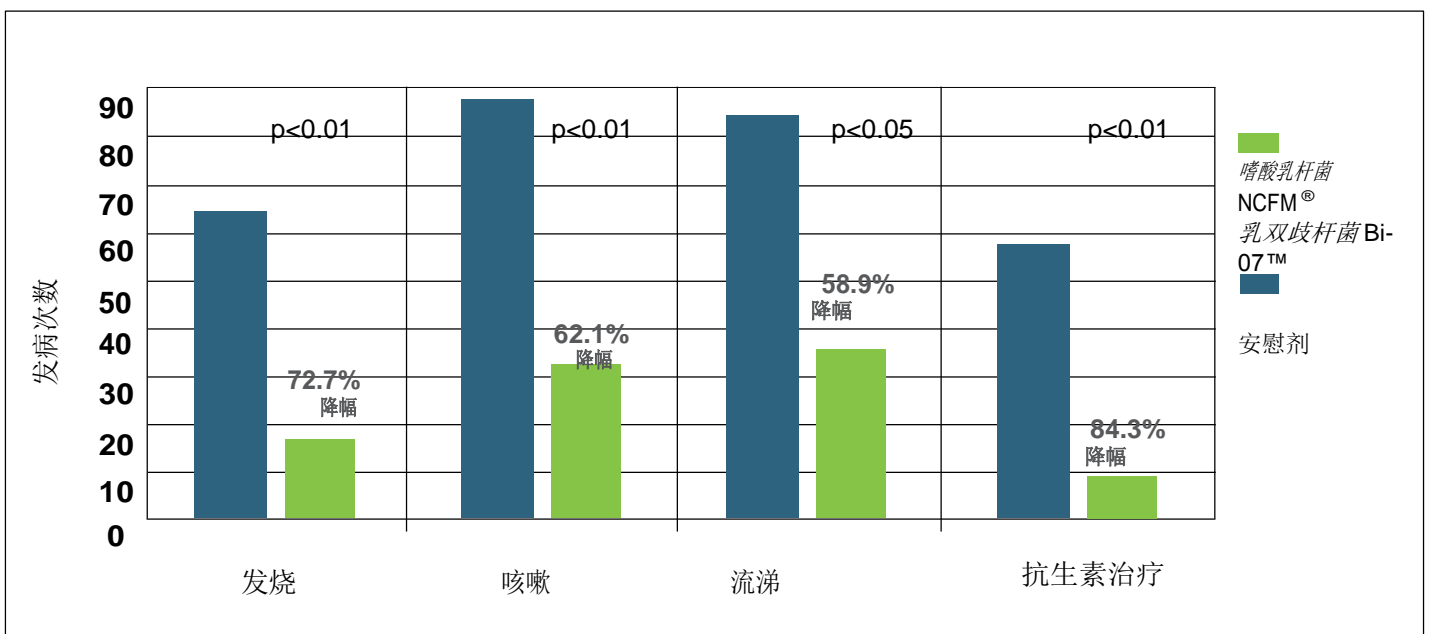


图 16. 临床研究表明, 与安慰剂组相比, 嗜酸乳杆菌NCFM®组的症状显著减少, 且抗生素治疗次数减少 84.3%。

对健康且体力活跃的成年人研究了每天摄入每种菌株总剂量为 5×10^9 CFU 的嗜酸乳杆菌 NCFM® 和乳双歧杆菌 Bi-07™ 组合对训练表现及呼吸道疾病症状的影响。在整个主要感冒及流感季节连续 5 个月摄入益生菌，并研究补充对强度（1-10 度）、频率（天/周）、持续时间（小时/周）和培训负荷（锻炼持续时间与强度的乘积）。此外，参与者们报告自我评估的呼吸道和胃肠道疾病症状及体育活动情况。

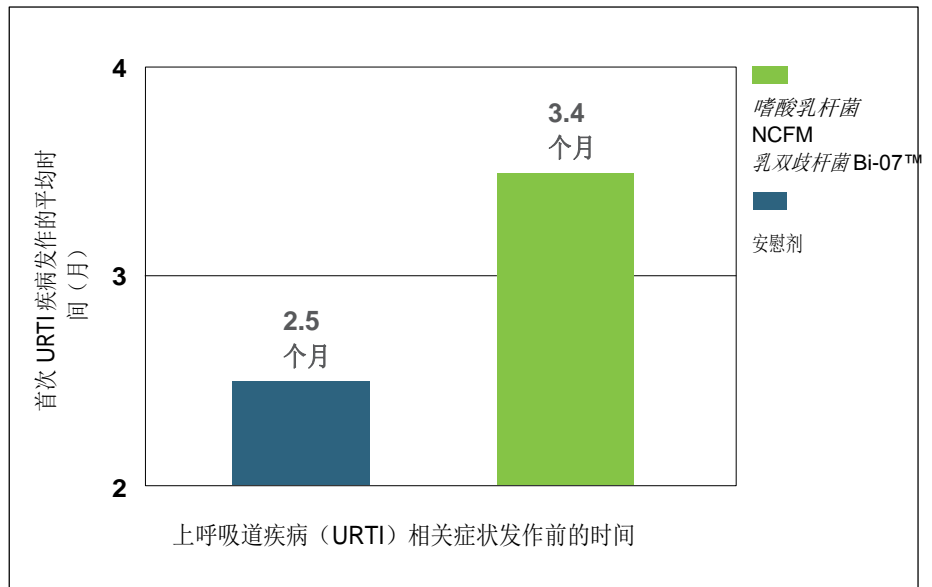


图 17. 与安慰剂相比，嗜酸乳杆菌 NCFM® 延迟了 URTI 疾病发作的时间。

研究表明，摄入益生菌组合的研究对象的 URTI 疾病发作时间显著延迟（如图 17）。最值得注意的成果是，与安慰剂组相比，益生菌组的参与者们报告锻炼持续时间和训练负荷显著下降，由此表明体育活动水平提高（如图 18）。

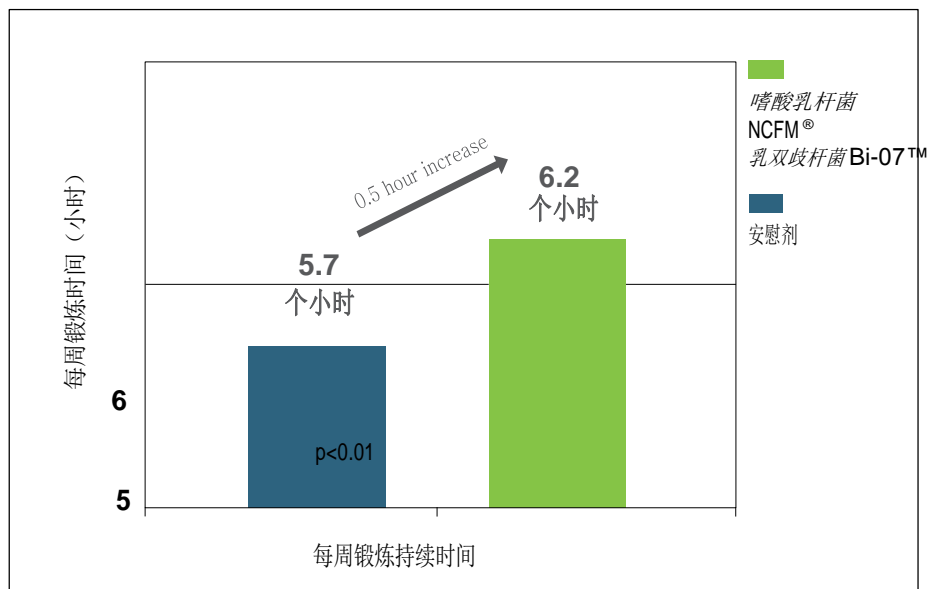


图 18. 与安慰剂相比，嗜酸乳杆菌 NCFM® 延长了锻炼的持续时间。

总之，上述研究成果表明补充嗜酸乳杆菌 NCFM® 和乳双歧杆菌 Bi-07™ 是支持训练期间免疫系统健康的营养辅助物 [West 等人，2014a 年]。

益生菌降低上呼吸道疾病易感性的免疫机制尚不确定。为了深入了解可能解释在每天补充嗜酸乳杆菌 NCFM® 和乳双歧杆菌 Bi-07™ 组合之后所观察到的呼吸疾病减少情形的机制，分析此群组子集的周围血液的血浆细胞因子、自然杀伤细胞活力及噬菌作用。

总而言之，健康且体力活跃的人连续 150 天、每天补充嗜酸乳杆菌 NCFM® 和乳双歧杆菌 Bi-07™ 益生菌对天然免疫系统的参数没有显著影响。然而，要得出有关补充组合益生菌对 URTI 风险的益处并不部分与免疫系统调节（尤其是淋巴细胞介导的功能）有关这样的结论还为时过早 [West 等人，2014b 年]。

其他健康相关的特性

草酸盐降解活力

人体内积聚草酸会导致许多病理状态，包括高草酸尿症、肾结石、肾衰竭、心肌病和心传导疾病。我们展开了一项研究来评估 60 种乳酸菌菌株的草酸盐降解活力，其中包括嗜酸乳杆菌 NCFM®。

研究发现嗜酸乳杆菌NCFM®的草酸盐降解活力为100%，与阳性对照食草酸杆菌DSM 4420一样高。其他嗜酸乳杆菌菌株的活力为35-100%。这表明使用具有草酸盐降解活力的益生菌菌株对罹患草酸盐相关疾病的个人有益[Turroni等人，2007年]。嗜酸乳杆菌NCFM®降解草酸盐的能力

预计是由于存在草酰辅酶A (CoA) 脱羧酶和甲酰-CoA 转移酶基因[Azcarate-Peril等人，2006年]。

口服粘附

研究发现嗜酸乳杆菌NCFM®会适度粘附唾液包被的羟磷灰石（作为牙齿模型）而在暴露于唾液中时存续24个小时且仅轻微丧失活力。结合其抗菌特性，这表明这种菌株多口腔健康有助益[Haukioja等人，2006年]。

对血清胆固醇的影响

还有报告表明益生菌能够降低总胆固醇及LDL胆固醇水平。然而，迄今为止的人体研究得出的结果自相矛盾，并没有明确观察到由于摄入益生菌而降低胆固醇水平的情况。嗜酸乳杆菌NCFM®研究[Gilliland等人，1985年；Gilliland & Walker，1990年]已经表明清除实验室生长培养基中胆固醇的能力。有报告称，在存在胆汁且没有氧气——这是肠道内存在的两项条件——的情况下，嗜酸乳杆菌NCFM®能够吸收胆固醇。研究还表明，这种菌株含有参与胆汁代谢的胆盐水解酶基因[McAuliffe等人，2005年；Walker & Gilliland，1993年]。然而，这些体外研究的重

要性尚未在人类研究中得到证实。

一项有关不同乳制品对血清胆固醇影响的人体研究采用含嗜酸乳杆菌NCFM®的甜味噬酸菌牛奶。作者得出的结论是，连续3周摄入甜味噬酸菌牛奶、酸奶和酪乳制品时，它们对血清胆固醇没有任何显著影响[Thompson等人，1982年]。

泌尿生殖应用

阴道内应用益生菌被广泛用来控制阴道或泌尿生殖感染的发病率。然而，仅有极少数临床研究已经公布。通过多项实验室化验来检验认为有助于预防尿路及阴道感染的嗜酸乳杆菌NCFM®特性[Reid，2000年]。研究表明嗜酸乳杆菌NCFM®产生了一种在模型系统中抑制超过90%的粪肠球菌1131粘附的生物表面活性剂。

研究还发现嗜酸乳杆菌NCFM®在体外粘附尿路上皮及阴道上皮细胞。此外，在这些细胞中提前培养嗜酸乳杆菌NCFM®，然后暴露于三种尿路病原菌（大肠杆菌Hu734、肺炎克雷伯氏菌和绿脓杆菌AK1）发现嗜酸乳杆菌NCFM®竞争性地排除这些病原菌，分别抑制掉30%、11%和30%。产生过氧化氢可能在竞争性排除这些尿路生殖病原菌方面发挥作用。我们发现嗜酸乳杆菌NCFM®产生H₂O₂，但与各种不同的乳酸菌菌株相比量较低。嗜酸乳杆菌NCFM®的功效表明其在控制阴道或尿路感染方面有潜在应用机会。

影响胰岛素敏感性

越来越充实的证据表明，肠道微生物群在肥胖产生、肥胖相关炎症及胰岛素抗性方面发挥着重要作用。这表明微生物群可能成为治疗代谢疾病的一个靶点，而不吃益生菌是一种方法。动物研究数据表明，色何如益生菌可能改善葡萄糖稳态。动物模型中的炎症标志物和脂质谱显著改善，但人体研究数据则存在争议（Razmpoosh等人，2015年）。

抑制摄入益生菌的人类及动物研究对象的炎症反应被认为是益生菌对葡萄糖稳态的潜在作用机制。

（Ruan等人，2015年；Firouzi等人，2013年；Tremaroli & Bäckhed，2012年）

展开一项双盲、安慰剂对照、随机试验来专门研究口服补充嗜酸乳杆菌NCFM®对胰岛素敏感性正常或削弱的研究对象的胰岛素敏感性炎症反应的影响。

主要成果是嗜酸乳杆菌NCFM®组的志愿者保持胰岛素敏感性，而安慰剂组的敏感性有所下降。然而，两种基线炎症标志物和全身性炎症反应都不受干预的影响。因此，这种对胰岛素敏感性的优化功效是否与免疫功能有感尚不明确。

在进行益生菌治疗之后，检测75%的粪便样本中的嗜酸乳杆菌NCFM®。这再次证实了嗜酸乳杆菌NCFM®在胃肠道中存活的能力[Andreasen等人，2010年]。

益处总结

嗜酸乳杆菌NCFM®已经在北美市场上销售 30 余年，且在国际市场上销售超过 15 年。近几十年来，有关嗜酸乳杆菌NCFM®的重大研究让人们深入了解这种菌株的益生功能。超过 200 份出版物，其中超过 50 份与人体研究、同行评审期刊有关，描述了嗜酸乳杆菌NCFM®、益生菌混合物及共生产品的多方面特性，包括嗜酸乳杆菌NCFM®的特征化、安全性及功效。基于这类数据，我们得出如下结论：嗜酸乳杆菌NCFM®具备一系列健康相关的特性，具体汇总如下：

• 改善胃肠道健康

- 提高体内自然有益菌水平
- 辅助消化与健康
- 减轻胃肠道不适
- 维持健康微生物群的平衡
- 有益地影响肠道微生物群组成及活力
- 减少乳糖不耐受症状
- 非常适合肠道生存
- 高度耐受胃肠道条件
- 对肠道细胞系的强大粘附力
- 正如体外及动物试验所证实的那样，提供肠道病原菌保护

• 对免疫功能的有益调节

- 正如人体临床研究所证实的那样，可能改善特异性免疫应答
- 如促炎 IL-12 和消炎 IL-10 等诱导细胞因子在体外表现得那样，可能影响免疫调节
- 可能减少呼吸道感染症状

• 长期安全使用历史

参考文献:

- Alonso, V.R. and Guarner, F. (2013) Linking the gut microbiota to human health. *British Journal of Nutrition*, 109, S21–S26
- Altermann, E., Russell, W.M., Azcarate-Peril, M.A., Barrangou, R., Buck, B.L., McAuliffe, O., Souther, N., Dobson, A., Duong, T., Callanan, M., Lick, S., Hamrick, A., Cano, R. and Klaenhammer, T.R. (2005). Complete genome sequence of the probiotic lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus* NCFM®. *Proc Natl Acad Sci USA*. 102(11): 3906-12.
- Andreasen, A.S., Larsen, N., Pedersen-Skovsgaard, T., Berg, R.M., Møller, K., Svendsen, K.D., Jakobsen, M., and Pedersen, B.K. (2010). Effects of *Lactobacillus acidophilus* NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects. *Br J Nutr*. 104: 1831-1838.
- Azcarate-Peril, M. A., Altermann, E., Hoover-Fitzula, R.L., Cano, R.J. and Klaenhammer, T.R. (2004). Identification and inactivation of genetic loci involved with *Lactobacillus acidophilus* acid tolerance. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(9):5315-22.
- Azcarate-Peril, M. A., McAuliffe, O., Altermann, E., Lick, S., Russell, W.M. and Klaenhammer, T.R. (2005). Microarray analysis of a two-component regulatory system involved in acid resistance and proteolytic activity in *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:5794-5804.
- Azcarate-Peril, M. A., Tallon, R. and Klaenhammer, T.R. (2009). Temporal gene expression and probiotic attributes of *Lactobacillus acidophilus* during growth in milk. *J. Dairy Sci.* 92:870-88.
- Azcarate-Peril, M.A., Bruno-Barcena, J.M., Hassan, H.M., Klaenhammer, T.R. (2006). Transcriptional and functional analysis of oxalyl-coenzyme A (CoA) decarboxylase and formyl-CoA transferase genes from *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol.* 72(3):1891-1899.
- Barefoot, S. F. and Klaenhammer, T. R. (1984). Purification and characterization of the *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin lactacin B. *Antimicrob. Agents Chemotherapy* 26:328-334.
- Barefoot, S. F. and Klaenhammer, T. R. (1983). Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:1808-1815.
- Barrangou, R., Altermann, E., Hutkins, R., Cano, R. and Klaenhammer, T.R. (2003). Functional and comparative genomic analyses of an operon involved in fructooligosaccharide utilization by *Lactobacillus acidophilus*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 100:8957-8962.

- Barrangou, R., Azcarate-Peril, M.A., Duong, T., Connors, S.B., Kelly, R.M. and Klaenhammer, T. (2006). Global analysis of carbohydrate utilization by *Lactobacillus acidophilus* by cDNA microarrays. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 3816-3821.
- Björklund, M., Ouwehand, A.C., Forssten, S.D., Nikkilä, J., Tiihonen, K., Rautonen, N., Lahtinen, S.J. (2011). Gut microbiota of healthy elderly NSAID users is selectively modified with the administration of *Lactobacillus acidophilus* NCFM and lactitol. *Age (Dordr)*.
- Borriello, S.P., Hammes, W.P., Holzapfel, W., Marteau, P., Schrezenmeir, J., Vaara, M. and Valtonen, V. (2003). Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin. Infect. Dis.* 36:775-780.
- Bourdichon, F., Casaregola, S., Farrokh, C., Frisvad, J.C., Gerds, M.L., Hammes, W.P., Harnett, J., Huys, G., Laulund, S., Ouwehand, A., Powell, I.B., Prajapati, J.B., Seto, Y., Schure, E.T., Boven, A.V., Vankerckhoven, V., Zgoda, A., Tuijelaars, S., Hansen, E.B. (2012). Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. *Int J Microbiol* 154(3):87-97
- Buck, B.L., Azcarate-Perlin, M.A. and Klaenhammer, T.R. (2009). Role of autoinducer-2 on the adhesion ability of *Lactobacillus acidophilus* J. *Appl. Microbiol.* 107 (1): 269-279.
- Buck, B.L., Altermann, E., Svingerud, T. and Klaenhammer, T.R. (2005). Functional Analysis of Putative Adhesion Factors in *Lactobacillus acidophilus* NCFM® *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (12): 8344–8351.
- Bull, M., Plummer, S., Marchesi, J. and Mahenthalingam, E. (2013). The life history of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic: a tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success. *FEMS Microbiol Lett* 349, 77–87
- Bull, M.J., Jolley, K.A., Bray, J.E., Aerts, M., Vandamme, P., Maiden, M.C.J., Marchesi, J.R. and Mahenthalingam, E. (2014). The domestication of the probiotic bacterium *Lactobacillus acidophilus*. *Sci. Rep.* 4, 7202; DOI:10.1038/srep07202
- Cai, M., Cui, A., Huang, Q. and Huang, J.-K. (2008). Animal studies on enhancement of immune function by dietary probiotic supplementation of *Lactobacillus acidophilus* NCFM® and *Bifidobacterium lactis* Bi-07. *Chinese Journal of Microecology* 20, (1):17-19.
- Calder, P.C. (2013) Feeding the immune system. *Proc Nutr Soc.* 72(3):299-309. doi: 10.1017/S0029665113001286.
- Chen, C.C., Louie, S., Shi, H.N., Walker, W.A. (2005). Pre-inoculation with the probiotic *Lactobacillus acidophilus* early in life effectively inhibits murine *Citrobacter rodentium* colitis. *Pediatr Res* 58:1185–1191.
- Chen, C.C., Chiu, C.H., Lin, T.Y., Ning Shi, H. and Walker, W.A. (2009). Effect of probiotics *L. acidophilus* on *C. rodentium* colitis: the role of dendritic cells. *Pediatr Res.* 65 (2): 169-175.
- Chichlowski, M. and Rudolph, C. (2015) Visceral Pain and Gastrointestinal Microbiome. *J Neurogastroenterol Motil*, Vol. 21 (2) pISSN: 2093-0879 eISSN: 2093-0887 <http://dx.doi.org/10.5056/jnm15025>
- Claesson, M.J., Jeffery, I.B., Conde, S., Susan E. Power, S.E., O'Connor, E.M., Cusack, S., Harris, H.M.B., Coakley, M., Lakshminarayanan, B., O'Sullivan, O., Fitzgerald, G.F., Deane, J., Michael O'Connor, M., Harnedy, N, O'Connor, K., O'Mahony, D., van Sinderen, D., Wallace, M., Brennan, L., Stanton, C., Marchesi, J.R., Fitzgerald, A.P., Shanahan, F., Colin Hill, C., R.P. and O'Toole, P.W. (2012) Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature* 488, 178 doi:10.1038/nature11319
- CODEX STAN 72-1981 revision 2007. Available at: www.codexalimentarius.net/download/standards/288/CXS_072e.pdf
- Collado, M.C., Meriluoto, J., Salminen, S. (2008). Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. *Eur Food Res Technol.* 226 (5): 1065-1073.
- Collado, M.C., Meriluoto, J. and Salminen, S. (2007). Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus. *Letters in Applied Microbiology.* 45:454-460.
- Connolly, E., Abrahamsson, T. and Björkstén, B. (2005). Safety of D(-)-Lactic Acid Producing Bacteria in the Human Infant. *J. Ped. Gastro. Nutr.* 41: 489-492
- Cox, A.J., West, N.P., Horn, P.L., Lehtinen, M.J., Koerbin, G., Pyne, D.B., Lahtinen, S.J., Fricker, P.A. and Cripps, A.W. (2014). Effects of probiotic supplementation over 5 months on routine haematology and clinical chemistry measures in healthy active adults. *Eur J Clin Nutr.* doi:10.1038/ejcn.2014.137
- Daniel, C., Poiret, S., Goudercourt, D., Dennin, V., Leyer, G. and Pot, B. (2006). Selecting Lactic Acid Bacteria for Their Safety and Functionality by Use of a Mouse Colitis Model. *Applied and Environmental Microbiology.* 72(9):5799–5805.
- Dobson, A.E., Sanozky-Dawes, R.B and Klaenhammer, T.R. (2007). Identification of an operon and inducing peptide involved in the production of lactacin B by *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Applied Microbiology* 103: 1766–1778.

- D'Souza, B., Slack, T., Wong, S. W., Lam, F., Muhlmann, M., Koestenbauer, J., Dark, J. and Newstead, G. (2015). Randomized controlled trial of probiotics after colonoscopy. *ANZ Journal of Surgery*. doi: 10.1111/ans.13225
- Duerkop, B.A., Vaishnava, S. and Hooper, L.V. (2009) Immune Responses to the Microbiota at the Intestinal Mucosal Surface. *Immunity*. 31: 368–376.
- Dunn, S.R., Simenhoff, M.L., Ahmed, K.E., Gaughan, W.J., Eltayeb, B.O., Fitzpatrick, M.-E.D., Emery, S.M., Ayres, J. W. and Holt, K.E. (1998). Effect of oral administration of freeze-dried *Lactobacillus acidophilus* on small bowel bacterial overgrowth in patients with end stage kidney disease: reducing uremic toxins and improving nutrition. *Int. Dairy J.* 8:545-553.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2013). Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2013 update). *EFSA Journal* 11(11):3449, 106 pp. doi:10.2903/j.efsa.2013.3449
- EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) (2012). Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. *EFSA Journal* 10(6):2740 doi: 10.2903/j.efsa.2012.2740
- Engelbrektson, A.L., Korzenik, J.R., Pittler, A., Sanders, M.E., Klaenhammer, T.R., Leyer, G. and Kitts, C.L. (2009). Probiotics to minimize the disruption of faecal microbiota in healthy subjects undergoing antibiotic therapy. *Journal of Medical Microbiology*. 58:663-670.
- Firouzi, S., Barakatun-Nisak, M.Y., Ismail, A., Majid, H.A. and Nor Azmi, K.N. (2013) Role of probiotics in modulating glucose homeostasis: evidence from animal and human studies. *Int J Food Sci Nutr*, 64(6): 780–786
- Foligne, B., Nutten, S., Grangette, C., Dennin, V., Goudercourt, D., Poiret, S., Dewulf, J., Brassart, D., Mercenier, A. and Pot, B. (2007). Correlation between in vitro and in vivo immunomodulatory properties of lactic acid bacteria. *World Journal of Gastroenterology* 13(2):236-243.
- Foligne, B., Zoumpopoulou, G., Dewulf, J., Ben Younes, A., Chareyre, F., Sirard, J.-C., Pot, B. and Grangette, C. (2007). A Key Role of Dendritic Cells in Probiotic Functionality. *PLoS ONE* 2(3): e313.
- Forssten, S., Evans, M., Wilson, D., Ouwehand, A.C. (2014). Influence of a probiotic mixture on antibiotic induced microbiota disturbances. *World J Gastroenterol*. 20(33):11878-85
- Gilliland, S.E., Reilly, S.S., Kim, G.B. and Kim, H.S. (2002). Viability during storage of selected probiotic lactobacilli and bifidobacteria in a yogurt-like product. *J. Food Sci.* 67(8): 3091-3095.
- Gilliland, S.E., Speck, M.L., Nauyok, C.F. Jr and Giesbrecht, F.G. (1978). Influence of consuming nonfermented milk containing *Lactobacillus acidophilus* on faecal flora of healthy males. *J. Dairy Sci.* 61:1-10.54.
- Gilliland, S.E. and Speck, M.L. (1977). Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and foodborne pathogens in associative cultures. *J. Food Protect.* 40:820-823.
- Gilliland, S. E., Nelson, C. R. and Maxwell, C. (1985). Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 49:377-381.
- Gilliland, S. E. and Walker, D. K. (1990). Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. *J. Dairy Sci.* 73:905-911.
- Glass, M.D., Courtney, P.D., LeJeune, J.T. and Ward, L.A. (2004). Effects of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus reuteri* cell-free supernatants on *Cryptosporidium* viability and infectivity in vitro. *Food Microbiol.* 21:423-429.
- Goh, Y.J., Azcarate-Peril, M.A., O'Flaherty, S., Durmaz, E., Valence, F., Jardin J., Lortal, S. and Klaenhammer, T.R. (2009). Development and Application of a upp-Based Counterselective Gene Replacement System for the Study of the S-Layer Protein SlpX of *Lactobacillus acidophilus* NCFM®. *Appl. Environ Microbiol.* 75:3093-3105.
- Goldin, B.R. and Gorbach, S.L. (1984). The effect of oral administration on *Lactobacillus* and antibiotics on intestinal bacterial activity and chemical induction of large bowel tumors. *Dev Indust Microbiol.* 25:139-150.
- Goldin, B.R. and Gorbach, S.L. (1977). Alterations in faecal microflora enzymes related to diet, age, *Lactobacillus* supplements, and dimethylhydrazine. *Cancer*; 40:2421-2426.
- Goldin, B.R. and Gorbach, S.L. (1980). Effect of *Lactobacillus acidophilus* dietary supplements on 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride-induced intestinal cancer in rats. *J. Natl Cancer Inst.* 64(2):263-265.
- Goldin, B.R., Swenson, L., Dwyer, J., Sexton, M. and Gorbach, S.L. (1980). Effect of diet and *Lactobacillus acidophilus* supplements on human fecal bacterial enzymes. *J. Natl. Cancer Inst.* 64(2):255-261.

- Goldin, B.R. and Gorbach, S.L. (1984). The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. *Am J. Clin Nutr.* 39:756-761.
- Greene, J.D. and Klaenhammer, T.R. (1994). Factors involved in adherence of lactobacilli to human Caco-2 cells. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 4487-4494.
- Guarino, A., Quigley, E.M.M., Walker, W.A. (eds). *World Review of Nutrition and Dietetics, Vol. 107. Probiotic Bacteria and Their Effect on Human Health and Well-Being.* Karger, Basel 2013.
- Hardy, H., Harris, J., Lyon, E., Beal, J. and Foey, A.D. (2013) Probiotics, Prebiotics and Immunomodulation of Gut Mucosal Defences: Homeostasis and Immunopathology. *Nutrients* 5, 1869-1912; doi:10.3390/nu5061869
- Haukioja, A., Yli-Knuutila, H., Loimaranta, V., Kari K., Ouwehand A.C., Meurman J.H. and Tenovuo, J. (2006). Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria in vitro. *Oral Microbiol Immunol.* 21: 326–332.
- Heiser, C.R., Ernst, J. A., Barrett, J.T., French, N., Schutz, M. and Dube, M.P. (2004). Probiotics, soluble fiber, and L-Glutamine (GLN) reduce nelfinavir (NFV)- or lopinavir/ritonavir (LPV/r)-related diarrhea. *J. Int. Assoc Physicians AIDS Care (Chic Ill)*; 3(4):121-129.
- Hempel, S., Newberry, S., Ruelaz, A., Wang, Z., Miles, J.N.V, Suttorp, M.J., Johnsen, B., Shanman, R., Slusser, W., Fu, N., Smith, A., Roth, E., Polak, J., Motala, A., Perry, T. and Shekelle, P.G. (2011). Safety of Probiotics to Reduce Risk and Prevent or Treat Disease. Evidence Report/Technology Assessment No. 200. AHRQ Publication No. 11-E007. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality. Available at: www.ahrq.gov/clinic/tp/probiotictp.htm.
- Hill, C. et al. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 11, 506–514, doi:10.1038/nrgastro.2014.66
- Hong, S.N. and Rhee, P.L. (2014). Unraveling the ties between irritable bowel syndrome and intestinal microbiota. *World J Gastroenterol.* 20(10): 2470-2481
- Huebner, J., Wehling, R., Hutkins, R.W. (2007). Functional activity of commercial prebiotics. *Int. Dairy J.* 17:770-775.
- Hughes, D.B. and Hoover, D.G. (1995). Viability and enzymatic activity of bifidobacteria in milk. *J. Dairy Sci.* 78:268-276.
- Hutkins, R.W. et al (2016). Prebiotics: why definitions matter. *Curr Opin Biotechnol.* 37:1-7. doi: 10.1016/j.copbio.2015.09.001. [Epub ahead of print]
- Ibrahim, F., Ruvio, S., Granlund, L., Salminen, S., Viitanen, M. and Ouwehand, A.C. (2010). Probiotics and immunosenescence: cheese as a carrier. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 59: 53-59.
- Iturriria-Laverty, K., Tong, P.S. and Sanders, M.E. (1999). Microbiological stability of probiotic and starter bacteria in commercial yogurt and cottage cheese. *J. Dairy Sci.* 82 (Suppl. 1):6. Abstract D23.
- Kaplan, H. and Hutkins, R.W. (2000). Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:2682-2684.
- Kaplan & Hutkins 2005
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC110601/pdf/am002682.pdf>
- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N. and Fakiri, E.M. (2013). Health Benefits of Probiotics: A Review. *ISRN Nutrition.* Article ID 481651, <http://dx.doi.org/10.5402/2013/481651>
- Kim, Y.H., Ahn, Y.T., Jang, Y.H. and Kim H.U. (2000). A study on the growth inhibition of *Bacillus cereus* by lactobacilli. *J. Animal Sci & Technol. (Kor.)* 42 (3): 331-338.
- Kim, E.A., Baick, S.C. and Chung, W.H. (2002). A study on growth inhibition of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* by lactic acid bacteria. *J. Animal Sci & Technol. (Kor.)* 44(4): 491-498.
- Kim, H.S. and Gilliland, S.E. (1983). *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. *J. Dairy Science.* 66(5):959-966.
- Klare, I. Konstabel, C., Werner, G., Huys, G., Vankerckhoven, V., Kahlmeter, G., Hildebrandt, B., Müller-Bertling, S., Witte, W. and Goossens, H. (2007). Antimicrobial susceptibilities of *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Lactococcus* human isolates and cultures intended for probiotic or nutritional use. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 59, 900–912
- Kleeman, E.G. and Klaenhammer, T.R. (1982). Adherence of *Lactobacillus* species to human fetal intestinal cells. *J. Dairy Sci.* 65:2063-2069.

- Konstantinov, S.R., Smidt, H., de Vos, W.M., Bruijens, S.C., Singh, S.K., Valence, F., Molle, D., Lortal, S., Altermann, E., Klaenhammer, T.R. and van Kooyk, Y. (2008). S layer protein A of *Lactobacillus acidophilus* NCFM® regulates immature dendritic cell and T cell functions. *Proc Natl Acad Sci* 105(49): 19474-9.
- Lahtinen, S.J., Forssten, S., Aakko, J., Granlund, L., Rautonen, N., Salminen, S., Viitanen, M. and Ouwehand, A.C. (2012). Probiotic cheese containing *Lactobacillus rhamnosus* HN001 and *Lactobacillus acidophilus* NCFM® modifies subpopulations of fecal lactobacilli and *Clostridium difficile* in the elderly. *Age (Dordr)*. 34(1):133-43. doi: 10.1007/s11357-011-9208-6
- Larsen, N., Vogensen, F.K., Michaelsen, K.F. and Jakobsen M. The Effect of *L. acidophilus* NCFM® and *B. lactis* Bi-07 on the diversity of lactobacilli and bifidobacteria in the human intestinal tract. 3rd International Probiotic Conference 4-7 June 2008, High Tatras, Slovakia.
- LeBlanc, A. and LeBlanc, J.G. (2014). Effect of probiotic administration on the intestinal microbiota, current knowledge and potential applications. *World J Gastroenterol*. 20(44): 16518-16528
- Lei, Y.M.K., Nair, L. and Alegre, M.-L. (2015). The interplay between the intestinal microbiota and the immune system, *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 39(1), 9-19, <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinre.2014.10.008>.
- Leyer, G.J., Li, S., Mubasher, M.E., Reifer, C., Ouwehand, A.C. (2009). Probiotic Effects on Cold and Influenza-Like Symptom Incidence and Duration in Children. *Pediatrics*; 124 (2): 172-179.
- Lin, C.S., Chang, C.J., Lu, C.C., Martel, J., Ojcius, D.M. Ko, Y.F., Young, J.D. and Lai, H.C. (2014). Impact of the Gut Microbiota, Prebiotics, and Probiotics on Human Health and Disease. *Biomed. J*. 37:259-268
- Luckey, TD (1972); Introduction to intestinal microecology; *Am. J. Clin. Nutr.* 25: 1292-95
- Magro, D.O., de Oliveira, L.M., Bernasconi, I., Ruela Mde, S., Credidio, L., Barcelos, I.K., Leal, R.F., Ayrizono Mde, L., Fagundes, J.J., Teixeira, Lde B, Ouwehand, A.C. and Coy, C.S. (2014). Effect of yogurt containing polydextrose, *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* HN019: a randomized, double-blind, controlled study in chronic constipation. *Nutr J*. 13:75
- McAuliffe, O., Cano, R.J. and Klaenhammer, T.R. (2005). Genetic analysis of two bile salt hydrolase activities in *Lactobacillus acidophilus* NCFM®. *Appl Environ Microbiol*. 71(8):4925-4929.
- Mohamadzadeha, M., Duong, T., Sandwick, S.J., Hoover, T. and Klaenhammer, T.R. (2009). Dendritic cell targeting of *Bacillus anthracis* protective antigen expressed by *Lactobacillus acidophilus* protects mice from lethal challenge. *PNAS* 106 (11): 4331-4336
- Montes, R.G., Bayless, T.M., Saavedra, J.M. and Perman, J.A. (1995). Effect of milks inoculated with *Lactobacillus acidophilus* or a yogurt starter culture in lactose-maldigesting children. *J. Dairy Sci.* 78:1657-1664.
- Nielsen, J.W. and Gilliland, S.E. (1992). The lactose hydrolyzing enzyme from *Lactobacillus acidophilus*. *Cult Dairy Prod*. 27(1):20-27.
- O'Sullivan, O., O'Callaghan, J., Sangrador-Vegas, A., McAuliffe, O., Slattery, L., Kaleta, P., Callanan, M., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P. and Beresford, T. (2009). Comparative genomics of lactic acid bacteria reveals a nichespecific gene set. *BMC Microbiol*. 9:50 doi:10.1186/1471-2180-9-50.
- Ouwehand, A.C. and Lahtinen, S. (2009). *Lactobacillus acidophilus* NCFM®. In: Handbook of probiotics and prebiotics. Lee, Y.K. & Salminen, S. (eds.) John Wiley & Sons.
- Ouwehand, A. C. and Vaughan, E.E. (eds). *Gastrointestinal Microbiology*. Informa Healthcare. 2006
- Ouwehand, A.C. and Vesterlund, S. (2004). Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In: Salminen, S., von Wright, A., Ouwehand, A.C. (eds). *Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects*. New York: Marcel Dekker: 375-395.
- Ouwehand, A.C., DongLian, C., Weijian, X., Stewart, M., Ni, J., Stewart, T. and Miller, L.E. (2014). Probiotics reduce symptoms of antibiotic use in a hospital setting: a randomized dose response study. *Vaccine*. 32(4):458-63.
- Ouwehand, A.C., Tiihonen, K., Saarinen, M., Putaala, H. and Rautonen, N. (2009). Influence of a combination of *Lactobacillus acidophilus* NCFM® and lactitol on healthy elderly: intestinal and immune parameters. *Brit. J. Nutr.* 101: 367-375.
- Ouwehand, A.C., Nermes, M., Collado, M.C., Rautonen, N., Salminen, S., Isolauri, E. (2009). Specific probiotics alleviate allergic rhinitis during the birch pollen season. *World J. Gastroenterol* 15 (26): 3261-3268.
- Paineau, D., Carcano, D., Leyer, G., Darquy, S., Alyanikian, M.-A., Simoneau, G., Bergmann, J.F., Brassart, D., Bornet, F. and Ouwehand, A.C. (2008). Effects of seven potential probiotic strains on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 53(1):107-13.

- Palomino, M.M., Allievi, M.C., Fina, M.J., Waehner, P.M., Acosta, M.P., Sanchez Rivas, Cand, Ruzal, S.M. (2015). Draft genome sequence of the probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. *Genome Announc* 3(1):e01421-14. doi:10.1128/genomeA.01421-14.
- Pattani, R., Palda, V.A., Hwang, S.W. and Shah, P.S. (2013). Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infection among hospitalized patients: systematic review and meta-analysis. *Open Med.* 8;7(2):e56-67. eCollection.
- Pfeiler, E.A., Azcarate-Peril, M. A. and Klaenhammer, T.R. (2007). Characterization of a novel bile-inducible operon encoding a two-component regulatory system in *Lactobacillus acidophilus*. *J. Bacteriol.* 189(13): 4624- 634.
- Putala, H., Salusjärvi, T., Nordström, M., Saarinen, M., Ouwehand A.C., Bech-Hansen, E. and Rautonen N (2008). Effect of four probiotic strains and *Escherichia coli* O157:H7 on tight junction integrity and cyclo-oxygenase expression. *Res in Microbiol* 159: 692-698.
- Rao C., Sanders, M.E., Indranie, C., Simi, B. and Reddy, B.S. (1999). Prevention of colonic preneoplastic lesions by the probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFM® in F344 rats. *Int. J. Oncol.* 14:939-944.
- Razmpoosh, E., Javadi, E.M., Ejtahed, H.S. and Mirmiran, P. (2015) Probiotics as beneficial agents in the management of diabetes mellitus: a systematic review. *Diabetes Metab Res Rev* doi: 10.1002/dmrr
- Reid, G. (1999). The scientific basis for probiotic strains of *Lactobacillus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:3763-3766.
- Reid, G. (2000). Investigation of the properties of *Lactobacillus acidophilus* NCFM™ as a possible probiotic for the urogenital tract. *International Dairy Journal* 10, (5-6): 415-419.
- Ringel-Kulka, T., Palsson, O.S., Maier, D., Carroll, I., Galanko, J.A., Leyer, G. and Ringel, Y. (2011). Probiotic *Bacteria Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* Bi-07 Versus Placebo for the Symptoms of Bloating in Patients With Functional Bowel Disorders. A Double-blind Study. *J Clin Gastroenterol.* 45: 518-525.
- Ringel-Kulka, T., Goldsmith, J.R., Carroll, I.M., Barros, S.P., Palsson, O., Jobin, C. and Ringel Y. (2014) *Lactobacillus acidophilus* NCFM affects colonic mucosal opioid receptor expression in patients with functional abdominal pain - a randomised clinical study. *Aliment Pharmacol Ther.* doi: 10.1111/apt.12800.
- Rondanelli, M., Giacosa, A., Faliva, M.A, Perna, S., Allieri, F. and Castellazzi, A.M. (2015). Review on microbiota and effectiveness of probiotics use in Older. *World J Clin Cases* 2015 February 16; 3(2): 156-162
- Ruan, Y., Sun, J., He, J., Chen, F., Chen, R. and Chen, H. (2015). Effect of Probiotics on Glycemic Control: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. *Plos One.* doi:10.1371/journal.pone.0132121
- Ruiz-Palacios, G., Guerrero, M.L., Hilty, M., Dohnalek, M., Newton, P., Calva, J.J., Costigan, T., Tuz F. and Arteaga F. (1996). Feeding of a probiotic for the prevention of community acquired diarrhea in young Mexican children. *Pediatric Research* 39 (Part 2):104, Abstr. #1089.
- Salminen, M.K., Tynkkynen, S., Rautelin, H., Saxelin, M., Vaara, M., Ruutu, P., Sarna, S., Valtonen, V. and Järvinen, A. (2002). *Lactobacillus* Bacteremia during a Rapid Increase in Probiotic Use of *Lactobacillus rhamnosus* GG in Finland. *Clinical Infectious Diseases*; 35:1155–60.
- Sanders, M.E. and Klaenhammer, T.R. (2001). The scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM® functionality as a probiotic. *J. Dairy Sci.* 84:319-331
- Sanders, M.E., Walker, D.C., Walker, K.M., Aoyama, K. and Klaenhammer, T.R. (1996). Performance of commercial cultures in fluid milk applications. *J. Dairy Sci.* 79:943-955. (Strain LH1 = NCFM®)
- Schrezenmeir, J., Heller, K., McCue, M., Lam, W., Burow., H., Kindling- Rohracker, M., Fischer, W., Sengespeik, H.C., Comer, G.M. and Alarcon, P. (2004). Benefits of Oral Supplementation with and without Synbiotics in Young Children With Acute Bacterial Infections. *Clinical Pediatrics* 43;239-249.
- Scott, K.P., Antoine, J.M., Midtvedt, T. and van Hemert, S. (2015). Manipulating the gut microbiota to maintain health and treat disease. *Microbial Ecology in Health & Disease.* 26: 25877 - <http://dx.doi.org/10.3402/mehd.v26.25877>
- Simenhoff, M. L., Dunn, S.R., Zollner, G.P., Fitzpatrick, M.-E.D., Emery, S.M., Sandine, W.E. and Ayres, J. W. (1996). Biomodulation of the toxic and nutritional effects of small bowel bacterial overgrowth in end-stage kidney disease using freeze-dried *Lactobacillus acidophilus*. *Mineral and Electrolyte Metab.* 22:92-96.
- Simenhoff, M. L. and Dunn, S.R. (1996). Altered gut flora in uremia. *J. Renal Nutr.* 6:68-74.

- Swanson, K.S., Grieshop, C.M., Flickinger, E.A., Bauer, L.L., Chow, J., Wolf, B.W., Garleb, K.A. and Fahey, G.C. Jr. (2002). Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and faecal protein catabolite concentrations in healthy adult dogs. *J. Nutr.*: 132(12):3721-3731.
- Tejada-Simon, M. V., Lee, J. H., Ustunol, Z. and Pestka, J. J. (1999). Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* to potentiate immunoglobulin. A responses to cholera toxin in mice. *J. Dairy Sci.* 82:649-660.
- Thompson, L.U., Jenkins, D.J.A, Amer, M.A.V., Reichert, R., Jenking, A. and Kamulsky J. (1982). The effect of fermented and unfermented milks on serum cholesterol. *Amer. J. Clin. Nutr.* 36:1106-1111.
- Trahan, C.E. (2008). *Lactobacillus acidophilus* NCFM® Survival in Acidified Yogurts. MSc thesis North Carolina State University.
- Tremaroli, V. and Bäckhed, F. (2012). Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* 489, 242–249 doi:10.1038/nature11552
- Turroni, S., Vitali, B., Bendazzoli, C., Candela, M., Gotti, R., Federici, F., Pirovano, F. and Brigidi, P. (2007). Oxalate consumption by lactobacilli: evaluation of oxalyl-CoA decarboxylase and formyl-CoA transferase activity in *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Applied Microbiology* 103:5, 1600–1609.
- Uccello, M., Malaguarnera, G., Basile, F., D'agata, V., Michele Malaguarnera, M., Bertino, G. Vacante, M., Drago, F. and Biondi, A. (2012). Potential role of probiotics on colorectal cancer prevention. *BMC Surgery* 12 (Suppl 1):S35
- van Zanten, G.C., Sparding, N., Majumder, A., Lahtinen, S.J., Svensson, B. and Jacobsen, S. (2015). The Differential Proteome of the Probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFM Grown on the Potential Prebiotic Cellobiose Shows Upregulation of Two α -Glycoside Hydrolases. *BioMed Research International*. Article ID 347216.
- van Zanten, G.C., Krych, L., Røytiö, H., Forssten, S., Lahtinen, S.J., Abu Al-Soud, W., Sørensen, S., Svensson, B., Jespersen, L. and Jakobsen, M. (2014). Synbiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFM and cellobiose does not affect human gut bacterial diversity but increases abundance of lactobacilli, bifidobacteria and branched-chain fatty acids: a randomized, double-blinded cross-over trial. *FEMS Microbiol Ecol.* 1–12
- Vandenplas, Y., Huys, G., Daubec, G. (2015). Probiotics: an update. *J Pediatr (Rio J)*. 91(1):6-21
- Varcoe, J., Zook, C., Sui, J., Leighton, S., Busta, F. and Brady L. (2002). Variable response to exogenous *Lactobacillus acidophilus* NCFM® consumed in different delivery vehicles. *J. Appl. Microbiol.* 93: 900-906.
- Varcoe J.J., Krejcarek, G., Busta, F. and Brady, L. (2003). Prophylactic feeding of *Lactobacillus acidophilus* NCFM® to mice attenuates overt colonic hyperplasia. *J. Food Prot.* 66(3):457-465
- Versini, M., Jeandel, P.Y., Bashi, T., Bizzaro, G., Blank, M., Shoenfeld, Y. (2015). Unraveling the Hygiene Hypothesis of helminthes and autoimmunity: origins, pathophysiology, and clinical applications. *BMC Med.*13:81. doi: 10.1186/s12916-015-0306-7.
- Wagner R., Warner, T., Robert, L., Farmer, J. and Balish, E. (1997a). Colonization of congenitally immunodeficient mice with probiotic bacteria. *Infect. Immun.* 65: 3345-3351.
- Wagner R.D., Pierson, C., Warner, T., Dohnalek, M., Farmer, J., Roberts, L., Hilty, M. and Balish, E. (1997b). Biotherapeutic effects of probiotic bacteria on candidiasis in immunodeficient mice. *Infect Immun.* 65(10):4165-4172
- Wagner, R.D., Dohnalek, M. Hilty, M., Vazquez-Torres, A. and Balish, E. (2000a). Effects of probiotic bacteria on humoral immunity to *Candida albicans* in immunodeficient bg/bg-nu/nu and bg/bg-nu/+ mice. *Rev Iberoam Micol* 17: 55-59.
- Wagner R.D., Pierson, C., Warner, T., Dohnalek, M., Hilty, M. and Balish, E. (2000b). Probiotic effects of feeding heat-killed *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* to *Candida albicans*-colonized immunodeficient mice. *J. Food Prot.* 63(5):638-644.
- Wagner, R. D., Warner, T., Roberts, L., Farmer, J., Dohnalek, M., Hilty, M. and Balish, E. (1998). Variable biotherapeutic effects of *Lactobacillus acidophilus* isolates on orogastric and systemic candidiasis in immunodeficient mice. *Rev Iberoam Micol* 15:271-276.
- Waltzberg, D.L., Logullo, L.C., Bittencourt, A.F., Torrinhas, R.S., Shiroma, G.M., Paulino, N.P. and Teixeira-da-Silva, M.L. (2013). Effect of synbiotic in constipated adult women. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of clinical response. *Clinical Nutrition* 32 27e33
- Walker, D. K. and Gilliland, S. E. (1993). Relationships among bile tolerance, bile salt deconjugation, and assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.* 76:956-961.

Wang, S., Zhu, H., Lu, C., Kang, Z., Luo, Y., Feng, L. and Lu, X. (2012). Fermented milk supplemented with probiotics and prebiotics can effectively alter the intestinal microbiota and immunity of host animals. *J. Dairy Sci.* 95 :4813–4822

Weiss, G.M. and Jespersen, L. (2008). Gene expression in *Lactobacillus acidophilus* during passage through an in vitro gastro-intestinal tract model. In: TNO Beneficial Microbes Conference: Abstracts of Lectures and Posters. TNO, Holland p. 84.

West, N.P., Horn, P.L., Barrett, S., Hilary S. Warren, H.S., Lehtinen, M.J., Koerbin, G., Brun, M., Pyne, D.B., Lahtinen, S.J., Fricker, P.A. and Cripps, A.W. (2014). Supplementation with a single and double strain probiotic on the innate immune system for respiratory illness. *e-SPEN Journal* <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnme.2014.06.003>

West, N.P., Horn, P.L., Pyne, D.B., Gebiski, V.J., Lahtinen, S.J., Fricker, P.A. and Cripps, A.W. (2014) Probiotic supplementation for respiratory and gastrointestinal illness symptoms in healthy physically active individuals. *Clinical Nutrition* 33 581e587

Zoumpopoulou, G., Tsakalidou, E., Dewulf, J., Pot, B. and Grangette, C. (2009). Differential crosstalk between epithelial cells, dendritic cells and bacteria. *Int. J. Food Micro.* 131: 40-51.

DuPont Technical Memorandum 3514: HOWARU® Premium probiotics for chocolate confectionary. (2007).

DuPont Technical Memorandum 2093: Probiotic Cheese. (2008).

DuPont Technical Memorandum 2088: HOWARU® Dophilus Premium probiotic for fermented milk and yogurt. (2007).

Provisional Patent Application. Ser. No. 60/848,662 filed on 2 October 2006.

U.S. patent 6,653,062/PCT WO 02/09515 A1

关于杜邦™丹尼斯克® (DuPont™ Danisco®)

杜邦™丹尼斯克®是一系列产品的品牌名称，该系列产品帮助以更高成本效率和更低环境影响加强生物保护、改进营养疗法并改良口味和质地，从而满足食品与饮料、膳食补充剂和宠物食品制造商的需要。凭借杜邦全球食品科学与技术人员的通力合作，丹尼斯克®系列产品取得了在不同应用及加工领域的独特、广泛系列专门技术的支持。

本出版物中所包含的信息基于我们的研究与开发工作，且据我们所知均为可靠信息。这类企业间信息预用于食品、饮料和补充剂生产商，而不预用于食品、饮料或补充剂成品的最终消费者。这类信息按“现状”提供，且其使用由接收方自行承担风险。接收方应该全权决定杜邦产品的提议用途对特定用途的适合性和合法性。本文件中的任何信息和声明不得视为许可行使或建议侵犯杜邦或其他当事人的任何专利或其他知识产权。杜邦特此明确声明对下列项目概不负责：(I) 与此类信息有关的任何及所有责任，包括但不限于对其准确性、完整性或适用性法相关的任何责任；及 (II) 有关该类信息或其任何部分的任何及所有明示或默示之声明或保证，包括对所有权、不侵犯任何其他当事人版权或专利权、适销性、针对特定用途的适用性的所有声明和保证，以及由于法律、法规、贸易惯例或交易习惯所引发的保证。

©2013年杜邦或其关联公司版权所有。杜邦公司
椭圆形标志、杜邦™、创造科学™、丹尼斯克®以及所有标注有®或™的产品均为美国杜邦公司 (E.I. du Pont de Nemours and Company) 及其关联公司之注册商标或商標。

杜邦营养与健康事业部

电话: +33 1 56 60 47 00 传真: +33 1 56 60 47 02

probiotics@dupont.com · www.danisco.com/health

