

DOI: 10.13376/j.cblls/2019091

文章编号: 1004-0374(2019)08-0749-07

· 评述与综述 ·

## 婴幼儿肠道菌群的定植与演替

周冠舟, 彭丽华\*, 杨云生\*

(解放军总医院第一医学中心消化科, 北京 100853)

**摘要:** 婴幼儿的肠道内栖息着数量巨大的微生物, 其中占据主导地位的是细菌, 其在维持内环境稳态、调节能量代谢等方面发挥着复杂的作用。婴幼儿肠道细菌的定植起始于子宫内阶段, 在围产期及出生后的相当一段时间内, 其组成结构会受到各种因素的影响, 如孕周、分娩方式、母乳的喂养等。现总结近期关于婴幼儿肠道菌群的相关研究进展, 并探讨其在婴幼儿肠道的定植过程及影响其演替的相关因素。

**关键词:** 婴幼儿; 肠道菌群; 定植; 演替

中图分类号: R333.3; R378 文献标志码: A

## The colonization and succession of infant gut microbiota

ZHOU Guan-Zhou, PENG Li-Hua\*, YANG Yun-Sheng\*

(Department of Gastroenterology, the First Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

**Abstracts:** Great amounts of microorganisms inhabit in infant gut, the majority of which is bacteria with an indispensable but complicated role in maintaining internal environmental homeostasis, regulating energy metabolism and other health promotion activities. When the colonization begins in utero, it will be affected by various factors including gestational age, delivery mode, feeding pattern during prenatal to perinatal to postnatal life. This review aims to make a summary of recent studies about infant gut microbiota and discuss the microbiota colonization and relevant factors.

**Key words:** infant; gut microbiota; colonization; succession

人体是一个庞大的生命体系, 其中包括了约  $10^{13}$  个细胞<sup>[1]</sup>, 各类细胞组成了具有不同功能的组织和器官, 从而相互配合维持着人体的正常生长与发育。人体中所包含的细菌数量和细胞处于同一量级, 其中超过 90% 的细菌都位于消化道(尤其是下消化道)的范围内<sup>[1]</sup>。肠道中的细菌和宿主, 以及同时栖息在肠道的真菌、病毒等, 构成了一个庞大的肠道微生态系统, 其在调节机体免疫、影响婴幼儿生长发育等方面发挥着复杂的功能。最近的一些研究表明, 婴幼儿肠道细菌菌群的建立可能起始于子宫内(in utero)阶段, 而非传统观念认为的子宫内是无菌环境, 新生儿肠道细菌的获得起源于出生时以及出生后的一段时间内。同时, 在分娩前后的一段时间内, 诸多因素, 如孕周、分娩方式、母亲的营养状态、分娩后的喂养方式等均可以影响婴幼儿肠道细菌的定植和演替。本文针对于婴幼儿肠道菌群

的研究进展, 旨在阐述婴幼儿肠道细菌的定植及其演替的动态过程, 并对影响这一过程的诸多因素进行简要阐述。

### 1 婴幼儿肠道菌群的定植

自从 1918 年 Arthur Kendall 提出“出生时的胃肠道是无菌的”这一概念, 婴儿最初的细菌定植一直被认为起始于分娩后与外界环境接触的过程中, 但逐渐增多的证据表明婴幼儿的肠道细菌定植似乎起始于子宫内。在许多母亲的胎盘或羊水以及胎儿的胎粪(新生儿的第一次大便)中均能够检测出细

收稿日期: 2019-03-20; 修回日期: 2019-04-17

基金项目: 北京市自然科学基金北京三元食品股份有限公司联合资助项目(S150010)

\*通信作者: E-mail: penglihua301@126.com (彭丽华); sunny301ddc@126.com (杨云生)

菌的 DNA<sup>[2-4]</sup>。Jiménez 等<sup>[5]</sup>用带有标记的粪链球菌喂养健康母鼠, 结果发现怀孕母鼠的羊水中均能够检测出这一带有标记的细菌。新生儿的脐带血样本也能培养出肠球菌属以及链球菌属等细菌。如果按照以前的观点, 这似乎是不合情理的。传统观点认为, 出生时胎儿经过有菌的阴道或者是皮肤, 出生后吸吮母亲的母乳, 接触乳晕周围的皮肤, 这都是细菌得以传递的可能途径, 新生儿的肠道菌群应与母亲的阴道和皮肤菌群类似<sup>[6]</sup>; 但近年来的研究报告, 新生儿的胎粪和羊水能检测出不同的细菌成分, 这些细菌的组成有各自的特性与共性<sup>[7]</sup>。羊水中丰度最高的细菌为变形菌门, 而在新生儿的胎粪中, 变形菌门似乎是丰度最低的菌类, 但在胎粪中检测出的 75 科水平的细菌, 有超过 40 科均能在羊水以及胎盘中检测出, 其中包括链球菌科等, 而这种重叠在胎粪中的菌群与母亲阴道等处菌群却没有显示<sup>[8]</sup>, 表明其可能不是来源于分娩时的暴露, 而是在出生前就已经在胎儿肠道内定植。Chu 等<sup>[9]</sup>比较了剖宫产婴儿和自然分娩婴儿刚出生时肠道菌群的组成, 发现两者的差异并没有统计学意义。这同样证实了婴幼儿肠道细菌的定植不是发生在分娩过程中, 在母亲孕期就已经存在垂直传递。但这些刚出生的婴儿肠道菌群的组成表现出与身体其他部位(如牙周及鼻腔)的菌群组成不同的特征, 提示其可能存在独特的传递路径。母亲通过胎盘以及脐带与胎儿建立联系, 进行物质交换等一系列活动<sup>[10]</sup>。在正常的生理情况下, 肠道有着完整并严密的黏膜屏障, 而母亲孕期受到的外界环境多种应激(如抗生素)作用于其肠道, 引起肠道屏障通透性的改变, 从而为肠道细菌进入胎盘及羊水提供了可能<sup>[11]</sup>。母亲在孕期的营养状况也会影响到胎儿肠道菌群的定植。Wang 等<sup>[12]</sup>的研究指出, 妊娠期糖尿病同时会影响母亲和胎儿两者包括口腔以及肠道等多部位的菌群组成的变化, 并且同一部位的菌群变化趋势具有一致性。糖尿病状态改变了母体肠道的微环境, 影响了母体肠道的优势菌群, 细菌透过黏膜屏障等路径进入到羊水, 被胎儿所吞咽, 表现出和母体相同的菌群变化。

在出生以后, 婴儿在相当长的一段时间内以母亲的母乳为其唯一能量来源。母乳中包含着碳水化合物、蛋白质等婴儿生长所必需的成分, 也包含着相当数量的细菌, 成为新生儿肠道细菌的一个重要来源; 但是和新生儿的肠道菌群组成不同, 母乳中丰度高的细菌似乎来自于变形菌门<sup>[13]</sup>。对出生后第

一个月内的婴儿肠道菌群进行分析, 其将近 40% 的部分都是来自于母乳或者是乳晕周围的皮肤, 比如链球菌属与葡萄球菌属, 这些菌属在母乳中含量也很高, 并且母乳中细菌的碳水化合物和氨基酸等能量代谢通路处于高表达<sup>[14-15]</sup>, 表明了母乳中的细菌对于新生儿利用营养物质及生长发育的重要性。母乳喂养的持续时间对于新生儿的肠道菌群组成也有着重要的影响。Perez 等<sup>[16]</sup>在母乳中也检测出了来自于肠道细菌的 DNA, 构建了一条假想的从肠道到腺体细胞的细菌迁移途径。Funkhouser 等<sup>[17]</sup>发现, 类似的菌群垂直传递不仅发生在人类, 在其他动物, 如两栖类和鸟类中也能找到证据。然而, 目前对于新生儿最初的菌群定植是否发生在子宫内仍有争议。现在采用的 PCR 及高通量测序等方法具有高灵敏性, 很容易检出环境中被带入样本的细菌, 相关的实验缺乏必要的对照研究<sup>[18]</sup>, 使得研究结果仍有矛盾之处, 需要进一步探讨。

## 2 婴幼儿肠道菌群的演替及影响因素

一项追踪了 12 名新生儿出生 1 年以内肠道菌群演替的研究显示, 新生儿肠道菌群的组成主要包括四大门: 拟杆菌门(Bacteroidetes)、放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria)。从定植于子宫内开始, 这些肠道菌群不断和个体或外界的因素相互影响, 导致不同菌门丰度的变化(如拟杆菌门和厚壁菌门的增加), 形成了一段非线性的演替过程<sup>[19]</sup>。出生后首先在肠道占据统治地位的是兼性厌氧菌<sup>[20-22]</sup>, 如葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、链球菌属(*Streptococcus*)等, 这些最初定植的细菌消耗肠道的氧气, 改变肠道的 pH, 带来严格的专性厌氧菌的定植, 如拟杆菌属(*Bacteroides*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)等。此时肠道细菌的代谢组学也具有一些特征<sup>[23]</sup>。在出生后一段时间内的婴幼儿粪便中提取样本, 发现其有氧代谢途径高度表达, 而与氧化应激相对应的解毒途径也高度表达, 这表明其肠道菌群和此时的有氧环境高度适应。此时许多生物合成功能也处于相对活跃状态, 提示早期的肠道菌群处于一个代谢活跃阶段。而随着年龄增长, 肠道菌群表现出更加复杂的多样性<sup>[9,24-26]</sup>, 菌群的种类和总量逐渐增加, 代谢通路的表达也会增多。例如, 由于食物种类的更加复杂化以及能量获取方式的改变, 与维生素 B6、叶酸等成分相关的代谢通路开始表达, 而新生儿的肠道菌群主要表达与磷酸戊糖途径相关的代谢通

路。虽然会受到众多因素影响, 婴幼儿的肠道菌群还是朝着和母亲肠道菌群相似的方向演变, 而最终达到一个稳定的状态。

## 2.1 孕周与肠道菌群

孕周的长短影响着肠道菌群的发展与成熟过程。早产儿是指胎龄在 37 周以前的活产的婴儿, 其全身多器官功能与适应能力均弱于足月儿, 其肠道菌群的组成与足月儿也有显著的差异。足月儿出生后第一周内肠道菌群中通常放线菌门和拟杆菌门占比较大, 而早产儿则为相对丰度更高的变形菌门。早产儿肠道菌群中某些有益菌 (如双歧杆菌) 的相对丰度较足月儿低, 并且母亲阴道中一些常驻菌 (如乳酸杆菌) 丰度也较足月儿低。在肠道菌群多样性方面, 早产儿也弱于足月儿, 但早产儿和足月儿肠道菌群的差异随着婴幼儿年龄的增长逐渐缩小, 在 6 个月左右时早产儿的肠道菌群组成基本与足月儿类似<sup>[27-30]</sup>。Ho 等<sup>[31]</sup>根据早产儿肠道菌群中  $\gamma$ - 变形菌纲 (Gammaproteobacteria) 相对丰度的高低将其分为了两组模式: 一组早产儿的早期粪便样本 ( $\leq 2$  周) 中  $\gamma$ - 变形菌纲相对丰度较低, 且随时间增加; 另一组早产儿开始时的  $\gamma$ - 变形菌纲相对丰度较高, 在第 3 周内会短暂下降。而是否经历阴道分娩以及产前类固醇水平是决定其组成类型的重要因素。孕龄的长短还可以通过影响母亲阴道以及母乳内的细菌组成对婴幼儿肠道菌群造成影响<sup>[32]</sup>。关于肠道菌群代谢模式的研究也显示出早产儿与足月儿之间的差异。对出生后 1 个月的早产儿与足月儿进行代谢组学分析, 发现对乙酰氨基酚的代谢产物在早产儿中明显高于足月儿, 显示出早产儿与抗生素使用之间的关系; 而传统意义上认为有害的某些代谢产物如胆汁酸也有增高<sup>[33]</sup>。早产儿这一独特的肠道菌群组成模式, 可以影响到一系列基因的表达 (主要与固有免疫与炎症反应相关), 如白细胞黏附、迁移及趋化等<sup>[34]</sup>。某些早产儿还可以上调 TLR-4, 促进 NF- $\kappa$ B 的激活、相关炎症细胞因子的表达以及凋亡基因的富集。与足月儿相比, 这种处于失调状态下的早产儿肠道菌群结构, 与一系列的炎症反应和疾病 (如自身免疫病、坏死性结肠炎等) 的发生有着密切联系<sup>[35-37]</sup>。一项关于早产儿与坏死性结肠炎的研究表明, 早产儿肠道菌群中变形菌门的丰度较高, 其携带有脂多糖的细菌数也较足月儿多。脂多糖影响了肠道内 TLR-4 的表达上调, 抑制了正常肠道上皮的增殖过程, 导致上皮细胞凋亡, 肠道屏障通透性增加, 从而促进坏死性结肠炎的发生<sup>[38]</sup>。

## 2.2 分娩方式与肠道菌群

近年来, 剖宫产的发生率逐年上涨, 分娩的方式也会对肠道菌群的演替过程施加影响。顺产和剖宫产过程中胎儿和母亲接触的部位不同 (阴道或是皮肤); 剖宫产分娩出来的婴儿住院时长一般会超过顺产, 增加了医院内感染或者是抗生素使用的可能性; 剖宫产与顺产胎儿母亲的母乳成分有区别, 某些激素与细胞因子的水平也有差异。这些都是影响肠道菌群定植的重要因素<sup>[39-42]</sup>。一项关于分娩方式对婴幼儿肠道菌群组成影响的系统综述指出, 总体来说, 剖宫产婴幼儿肠道菌群的成熟晚于顺产儿, 其多样性也显著低于顺产儿<sup>[43]</sup>。在出生后的早期一段时间内 (7 d), 剖宫产儿的厚壁菌门相对丰度显著高于其他门, 其亚种多样性也较高, 而这一特点与顺产儿放线菌门和拟杆菌门丰度高显著不相符, 并且双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*) 这一在顺产婴幼儿中占据主导地位的种群在剖宫产儿中往往含量低。这可能说明放线菌门和拟杆菌门中的某些菌种是定植于阴道的菌群, 或者是在新生儿经阴道分娩时存在有某种垂直传播机制的菌群, 而剖宫产的婴儿在分娩过程中与阴道接触的几率较低, 所以并没有这些菌种的定植。出生后的 1 个月内, 剖宫产婴儿的双歧杆菌属丰度逐渐上升, 其肠道菌群组成开始与顺产儿有部分重叠。此时是肠道菌群增殖旺盛的一个时期, 有氧代谢途径开始下调 (肠道内氧气逐渐被最初定植的兼性厌氧菌耗竭), 而蛋白质合成以及转录与翻译相关的代谢通路表达上调。在出生 1~2 个月以内, 剖宫产与顺产儿的肠道菌群组成模式开始趋于相似, 虽然在放线菌门和拟杆菌门还有一些菌种的含量上存在差别, 但在厚壁菌门与变形菌门方面, 其差异无统计学意义。随着年龄增长, 这种差异逐渐消失, 两种不同分娩方式下的婴幼儿肠道菌群组成趋于相似。但是对分娩方式为剖宫产的婴儿成年以后的肠道菌群分析表明, 其和经历顺产的成年人肠道菌群组成仍有差别, 如脆弱拟杆菌的比例显著降低, 而与此相对应的丙酸盐的含量也降低 (拟杆菌可以生产丙酸盐)<sup>[44]</sup>。

总的来说, 剖宫产婴儿的肠道菌群中厌氧菌的相对丰度低于顺产儿, 其肠道菌群组成的多样性也低于顺产儿<sup>[45-46]</sup>。这种微生物成熟的延迟以及单一菌群的特点造成了其肠道微生态的不稳定性, 从而容易引起菌群失调, 导致一些感染性疾病、自身免疫性疾病 (如炎症性肠病) 以及代谢障碍性疾病 (如 2 型糖尿病) 等的发生<sup>[47-49]</sup>。

### 2.3 母乳喂养和肠道菌群

母乳的喂养也能够影响新生儿的肠道菌群组成。一项对照研究显示,配方奶粉喂养的新生儿有着和母乳喂养的新生儿不同的肠道菌群结构<sup>[50]</sup>。在门的水平上,母乳喂养的新生儿放线菌门的含量显著高于配方奶粉组,其变形菌门的含量却低于配方奶粉组。在具体的菌属层面上,母乳喂养的婴幼儿其肠道菌群中有着更高含量的双歧杆菌属和乳酸杆菌属。同时,母乳喂养组婴幼儿肠道菌群的多样性显著低于配方奶粉组。另外一项关于母乳和配方奶粉对新生儿肠道菌群影响的结果表明,两者的肠道菌群结构有着相似的方面。相比于兼性厌氧菌,其专性厌氧菌的含量更高。放线菌门在两者中都是占主导地位的菌种。但是两者也存在一些差异,比如配方奶粉喂养的新生儿肠道中,厚壁菌门的丰度高于母乳组,双歧杆菌属也存在差异(短双歧杆菌、分叉双歧杆菌在母乳组含量更高,而长双歧杆菌在配方奶粉组含量更高),母乳组肠道菌群的多样性也低于配方奶粉组<sup>[51]</sup>。Ho等<sup>[52]</sup>关于单一母乳和混合喂养的一项Meta分析指出,母乳喂养的同时加入配方奶粉对婴幼儿肠道菌群的多样性、不同细菌类别的丰度以及细菌的代谢途径等都会有影响。其中,混合喂养(配方奶粉和母乳)的婴幼儿肠道菌群中拟杆菌门与厚壁菌门的丰度明显较纯母乳喂养组增多,而这种差别与分娩方式也相关,即喂养方式与分娩方式(顺产或剖宫产)存在着相互交叉的影响,改变着肠道菌群的组成结构,并且混合喂养组肠道菌群的多样性更加丰富。肠道菌群的功能与代谢方面也表现出差异。混合喂养的婴幼儿肠道菌群中与糖类代谢以及脂肪酸合成相关的途径明显上调,一些维生素和辅因子(co-factor)的代谢途径则明显降低。HMOs(human milk oligosaccharides)是母乳中含量第三丰富的固体成分,其不能被人体所吸收和利用,但却能被肠道细菌所酵解并供能,可以刺激肠道婴儿双歧杆菌等菌种的生长,改变婴幼儿的肠道菌群结构,对于预防婴儿坏死性结肠炎也有作用<sup>[53-55]</sup>。有趣的是,那些被认为对人体有害的细菌(比如肠杆菌科),HMOs却不能显示出对其促进生长的作用,而且并不是所有双歧杆菌的亚种均能够利用HMOs<sup>[56]</sup>,还存在有少部分不能利用HMO的亚种。至于这些现象产生的原因,还有待于更深入的研究。

### 2.4 抗生素与肠道菌群

抗生素在临床上应用日益频繁,关于其对婴幼

儿肠道菌群影响的相关研究也逐渐增多。Zou等<sup>[57]</sup>的一项研究显示,怀孕期间母亲对于抗生素的暴露会影响新生儿肠道菌群的组成。产前使用了抗生素的母亲,其新生儿肠道菌群中变形菌门的比例显著增高,但厚壁菌门的比例却低于未使用抗生素组。对比出生后第7天和第14天的结果,变形菌门的差异仍然显著,而厚壁菌门的差异却逐渐缩小。一项研究孕期万古霉素的使用对于新生儿肠道菌群结构的影响的结果显示,暴露组的新生儿肠道菌群内变形菌门的比例增高,伴随着拟杆菌门比例的下降,并且其 $\alpha$ 多样性和 $\beta$ 多样性均会降低<sup>[58]</sup>。其影响机制可能是直接影响了母亲的阴道菌群,也可能是通过影响母乳的菌群组成从而影响子代的肠道菌群。分娩后新生儿对于抗生素的暴露也会导致其肠道菌群的改变。Molly等<sup>[59]</sup>报道,暴露于抗生素(如青霉素和氨苄西林等)的新生儿其肠道菌群中致病性菌群(如肠杆菌科)的相对丰度会增加,有益的肠道菌群(如双歧杆菌科)反而会减少,并且这种改变持续至少3个月以上,还伴随着IL-17水平的变化,这可能与坏死性结肠炎发病率的上升有关。此外,抗生素的使用还会导致一些耐药基因的富集(如*ermF*)。长期使用抗生素还会导致婴儿肠道菌群趋向于单一化,从而降低其多样性与稳定性<sup>[60]</sup>。抗生素对肠道菌群造成的影响取决于抗生素的种类、用药途径、用药时间以及用量等。Zwittink等<sup>[61]</sup>的一项研究显示,早产儿短期静脉应用阿莫西林/头孢他啶( $\leq 3$  d)或者长期应用( $\geq 5$  d)均会导致出生后3周内双歧杆菌数量的显著下降;但在比较出生后第6周的婴幼儿肠道菌群时,这种差异只表现在长期应用抗生素组。出生后第1周静脉注射抗生素对婴儿肠道菌群有很大影响。然而,快速停止抗生素治疗可以减轻其影响,甚至恢复其原有结构。一项比较青霉素-拉氧头孢和哌拉西林-他唑巴坦对新生儿肠道菌群影响的研究显示,使用这两组抗生素均会造成新生儿肠道菌群结构的改变(如链球菌属比例的上升),伴随着肠道菌群多样性的下降。但是这两组抗生素造成的区别也有所差异<sup>[62]</sup>,如哌拉西林-他唑巴坦会导致肠球菌属比例的显著增多,青霉素-拉氧头孢则没有显示出明显影响,而且前者对于新生儿肠道菌群的多样性下降的影响程度比后者更明显。

### 2.5 影响肠道菌群的其他因素

此外,母亲的饮食习惯(如素食或者偏食海鲜、肉类等)、家庭生活环境(如是否存在猫、狗等宠物)、

家庭成员数量等都可能对婴幼儿肠道菌群的演替造成影响<sup>[63-66]</sup>。

### 3 婴幼儿肠道菌群演替的趋势与肠型的概念

Bergström 等<sup>[67]</sup>基于一项关于丹麦新生儿肠道菌群的纵向队列研究提出了肠型 (Enterotype) 的概念, 认为 36 个月以上的婴幼儿肠道菌群可以根据其组成不同划分为 3 种类型, 分别是 *Bacteroides* spp. (BE)、*Prevotella* spp.(PE) 和 *Ruminococcus* spp.(RE)。从出生到 36 个月的建立与演替过程中, 这 3 种肠型表现出了不同的演替趋势。在刚出生的新生儿体内, BE 与 PE 的相关菌种在肠道菌群中检测不出, 推测其初始定植阶段未发生在子宫内, 而是发生在出生后和外界环境的交互中。而到了第 9 个月时, BE 中的大部分菌种相对丰度明显高于 PE, 表明此时的肠道环境更适于 BE 这种肠型的存在。而到 18 个月时, 部分婴儿 PE 中某些菌群丰度开始上升, 而两种肠型的菌群组成的差别也日益明显。直到 36 个月, 此时大部分婴幼儿的肠道菌群趋于稳定, 表现出具有独特肠道细菌组成模式的肠型。肠型的形成也受到诸多因素的影响, 某些膳食模式 (如地中海饮食) 包含较多植物性食物成分, 如膳食纤维, 可以使得肠型向 PE 的方向发展, 而过多的脂质则会导致 BE 的形成<sup>[68-69]</sup>。但是关于肠型的概念仍存在一定争议, 未被广泛接受, 还需要进一步的研究来支持该理论。

### 4 结语

随着肠道微生态研究的不断深入, 人们已经意识到肠道内这座巨大基因库对于人体发育过程所起到的作用, 并且以此为基础发展了肠道微生态学这一学科。肠道微生态的调节开始作为一些疾病的临床治疗手段之一。但是目前来说, 关于肠道细菌的研究尚不够深入, 影响肠道菌群定植及演替的因素还未能完全阐释清楚, 对于肠道菌群对人体产生的作用的研究也停留在初级阶段。在未来的研究中, 需要更规范的样本收集和更深入的研究方法, 对肠道菌群的具体结构与功能进行进一步研究, 从而得到关于肠道菌群在婴幼儿体内的定植和演替过程以及个体差异产生原因的更加明确的答案。

#### [参 考 文 献]

- [1] Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol*, 2016, 14: e1002533
- [2] Stout MJ, Conlon B, Landeau M, et al. Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations. *Am J Obstet Gynecol*, 2013, 208: 226.e1-7
- [3] Bushman FD. De-discovery of the placenta microbiome. *Am J Obstet Gynecol*, 2019, 220: 213-4
- [4] Stinson LF, Keelan JA, Payne MS. Characterization of the bacterial microbiome in first-pass meconium using propidium monoazide (PMA) to exclude nonviable bacterial DNA. *Lett Appl Microbiol*, 2019, 68: 378-85
- [5] Jiménez E, Fernández L, Marín ML, et al. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Curr Microbiol*, 2005, 51: 270-4
- [6] Ferretti P, Pasolli E, Tett A, et al. Mother-to-infant microbial transmission from different body sites shapes the developing infant gut microbiome. *Cell Host Microbe*, 2018, 24: 133-45.e5
- [7] Collado MC, Rautava S, Aakko J, et al. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Sci Rep*, 2016, 6: 23129
- [8] Walker RW, Clemente JC, Peter I, et al. The prenatal gut microbiome: are we colonized with bacteria in utero? *Pediatr Obes*, 2017, 12: 3-17
- [9] Chu DM, Ma J, Prince AL, et al. Maturation of the infant microbiome community structure and function across multiple body sites and in relation to mode of delivery. *Nat Med*, 2017, 23: 314-26
- [10] D'Argenio V. The prenatal microbiome: a new player for human health. *High Throughput*, 2018, 7: E38
- [11] Murphy K, Curley D, O'Callaghan TF, et al. The composition of human milk and infant faecal microbiota over the first three months of life: a pilot study. *Sci Rep*, 2017, 7: 40597
- [12] Wang J, Zheng J, Shi W, et al. Dysbiosis of maternal and neonatal microbiota associated with gestational diabetes mellitus. *Gut*, 2018, 67: 1614-25
- [13] Morkkala K, Røytiö H, Munukka E, et al. Gut microbiota richness and composition and dietary intake of overweight pregnant women are related to serum zonulin concentration, a marker for intestinal permeability. *J Nutr*, 2016, 146: 1694-700
- [14] Pannaraj PS, Li F, Cerini C, et al. Association between breast milk bacterial communities and establishment and development of the infant gut microbiome. *JAMA Pediatr*, 2017, 171: 647-54
- [15] Fitzstevens JL, Smith KC, Hagadorn JI, et al. Systematic review of the human milk microbiota. *Nutr Clin Pract*, 2017, 32: 354-64
- [16] Perez PF, Doré J, Leclerc M, et al. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics*, 2007, 119: e724-32
- [17] Funkhouser LJ, Bordenstein SR. Mom knows best: the universality of maternal microbial transmission. *PLoS*

- Biol, 2013, 11: e1001631
- [18] Perez-Muñoz ME, Arrieta MC, Ramer-Tait AE, et al. A critical assessment of the "sterile womb" and "in utero colonization" hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome*, 2017, 5: 48
- [19] de Muinck EJ, Trosvik Pål. Individuality and convergence of the infant gut microbiota during the first year of life. *Nat Commun*, 2018, 9: 2233
- [20] Mulligan CM, Friedman JE. Maternal modifiers of the infant gut microbiota: metabolic consequences. *J Endocrinol*, 2017, 235: R1-12
- [21] Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, et al. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol*, 2007, 5: e177
- [22] Penders J, Thijs C, Vink C, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*, 2006, 118: 511-21
- [23] Gosalbes MJ, Compte J, Moriano-Gutierrez S, et al. Metabolic adaptation in the human gut microbiota during pregnancy and the first year of life. *EBioMedicine*, 2019, 39: 497-509
- [24] Pham VT, Lacroix C, Braegger CP, et al. Early colonization of functional groups of microbes in the infant gut. *Environ Microbiol*, 2016, 18: 2246-58
- [25] Yee AL, Miller E, Dishaw LJ, et al. Longitudinal microbiome composition and stability correlate with increased weight and length of very-low-birth-weight infants. *mSystems*, 2019, 4: e00229-18
- [26] Vallès Y, Artacho A, Pascual-García A, et al. Microbial succession in the gut: directional trends of taxonomic and functional change in a birth cohort of Spanish infants. *PLoS Genet*, 2014, 10: e1004406
- [27] Hill CJ, Lynch DB, Murphy K, et al. Evolution of gut microbiota composition from birth to 24 weeks in the INFANTMET Cohort. *Microbiome*, 2017, 5: 4
- [28] Bajorek S, Parker L, Li N, et al. Initial microbial community of the neonatal stomach immediately after birth. *Gut Microbes*, 2018, 10: 289-97
- [29] Chernikova DA, Madan JC, Housman ML, et al. The premature infant gut microbiome during the first 6 weeks of life differs based on gestational maturity at birth. *Pediatr Res*, 2018, 84: 71-9
- [30] Korpela K, Blakstad EW, Moltu SJ, et al. Intestinal microbiota development and gestational age in preterm neonates. *Sci Rep*, 2018, 8: 2453
- [31] Ho TTB, Groer MW, Kane B, et al. Dichotomous development of the gut microbiome in preterm infants. *Microbiome*, 2018, 6: 157
- [32] Khodayar-Pardo P, Mira-Pascual L, Collado MC, et al. Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota. *J Perinatol*, 2014, 34: 599-605
- [33] Freitas AC, Bocking A, Hill JE, et al. Increased richness and diversity of the vaginal microbiota and spontaneous preterm birth. *Microbiome*, 2018, 6: 117
- [34] Lu L, Yu Y, Guo Y, et al. Transcriptional modulation of intestinal innate defense/inflammation genes by preterm infant microbiota in a humanized gnotobiotic mouse model. *PLoS One*, 2015, 10: e0124504
- [35] Lu J, Claud EC. Connection between gut microbiome and brain development in preterm infants. *Dev Psychobiol*, 2019, 61: 739-51
- [36] Graspeuntner S, Waschina S, Künzel S, et al. Gut dysbiosis with bacilli dominance and accumulation of fermentation products precedes late-onset sepsis in preterm infants. *Clin Infect Dis*, 2019, 69: 268-77
- [37] Denning NL, Prince JM. Neonatal intestinal dysbiosis in necrotizing enterocolitis. *Mol Med*, 2018, 24: 4
- [38] Lindberg TP, Caimano MJ, Hagadorn JI, et al. Preterm infant gut microbial patterns related to the development of necrotizing enterocolitis. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2018, 18: 1-10
- [39] Wampach L, Heintz-Buschart A, Fritz JV, et al. Birth mode is associated with earliest strain-conferred gut microbiome functions and immunostimulatory potential. *Nat Commun*, 2018, 9: 5091
- [40] Tribe RM, Taylor PD, Kelly NM, et al. Parturition and the perinatal period: can mode of delivery impact on the future health of the neonate? *J Physiol: Lond*, 2018, 596: 5709-22
- [41] Moossavi S, Sepehri S, Robertson B, et al. Composition and variation of the human milk microbiota are influenced by maternal and early-life factors. *Cell Host Microbe*, 2019, 25: 324-35.e4
- [42] Mueller NT, Zhang M, Hoyo C, et al. Does cesarean delivery impact infant weight gain and adiposity over the first year of life? *Int J Obes (Lond)*, 2019, 43: 1549-55
- [43] Rutayisire E, Huang K, Liu Y, et al. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol*, 2016, 16: 86
- [44] Nagpal R, Yamashiro Y. Gut microbiota composition in healthy Japanese infants and young adults born by C-section. *Ann Nutr Metab*, 2018, 73: 4-11
- [45] Chong CYL, Bloomfield FH, O'Sullivan JM. Factors affecting gastrointestinal microbiome development in neonates. *Nutrients*, 2018, 10: E274
- [46] Akagawa S, Tsuji S, Onuma C, et al. Effect of delivery mode and nutrition on gut microbiota in neonates. *Ann Nutr Metab*, 2019, 74: 132-9
- [47] Sandall J, Tribe RM, Avery L, et al. Short-term and long-term effects of caesarean section on the health of women and children. *Lancet*, 2018, 392: 1349-57
- [48] Beaugerie L, Langholz E, Nyboe-Andersen N, et al. Differences in epidemiological features between ulcerative colitis and Crohn's disease: the early life-programmed versus late dysbiosis hypothesis. *Med Hypotheses*, 2018, 115: 19-21
- [49] Arboleya S, Suárez M, Fernández N, et al. C-section and the neonatal gut microbiome acquisition: consequences for future health. *Ann Nutr Metab*, 2018, 73: 17-23
- [50] Fan W, Huo G, Li X, et al. Diversity of the intestinal microbiota in different patterns of feeding infants by Illumina high-throughput sequencing. *World J Microbiol*

- Biotechnol, 2013, 29: 2365-72
- [51] Praveen P, Jordan F, Priami C, et al. The role of breastfeeding in infant immune system: a systems perspective on the intestinal microbiome. *Microbiome*, 2015, 3: 41
- [52] Ho NT, Li F, Lee-Sarwar KA, et al. Meta-analysis of effects of exclusive breastfeeding on infant gut microbiota across populations. *Nat Commun*, 2018, 9: 4169
- [53] Craft KM, Townsend SD. Mother knows best: deciphering the antibacterial properties of human milk oligosaccharides. *Acc Chem Res*, 2019, 52: 760-8
- [54] Reverri EJ, Devitt AA, Kajzer JA, et al. Review of the clinical experiences of feeding infants formula containing the human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose. *Nutrients*, 2018, 10: E1346
- [55] Baranowski JR, Claud EC. Necrotizing enterocolitis and the preterm infant microbiome. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1125: 25-36
- [56] Gotoh A, Ojima MN, Katayama T. Minority species influences microbiota formation: the role of *Bifidobacterium* with extracellular glycosidases in bifidus flora formation in breastfed infant guts. *Microb Biotechnol*, 2019, 12: 259-64
- [57] Zou Z, Liu D, Li H, et al. Prenatal and postnatal antibiotic exposure influences the gut microbiota of preterm infants in neonatal intensive care units. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2018, 17: 9
- [58] Nyangahu DD, Lennard KS, Brown BP, et al. Disruption of maternal gut microbiota during gestation alters offspring microbiota and immunity. *Microbiome*, 2018, 6: 124
- [59] Gibson MK, Crofts TS, Dantas G. Antibiotics and the developing infant gut microbiota and resistome. *Curr Opin Microbiol*, 2015, 27: 51-6
- [60] Yassour M, Vatanen T, Siljander H, et al. Natural history of the infant gut microbiome and impact of antibiotic treatment on bacterial strain diversity and stability. *Sci Transl Med*, 2016, 8: 343ra81
- [61] Zwitter RD, Renes IB, van Lingen RA, et al. Association between duration of intravenous antibiotic administration and early-life microbiota development in late-preterm infants. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2018, 37: 475-83
- [62] Zhu D, Xiao S, Yu J, et al. Effects of one-week empirical antibiotic therapy on the early development of gut microbiota and metabolites in preterm infants. *Sci Rep*, 2017, 7: 8025
- [63] Tun HM, Konya T, Takaro TK, et al. Exposure to household furry pets influences the gut microbiota of infant at 3-4 months following various birth scenarios. *Microbiome*, 2017, 5: 40
- [64] Barrett HL, Gomez-Arango LF, Wilkinson SA, et al. A vegetarian diet is a major determinant of gut microbiota composition in early pregnancy. *Nutrients*, 2018, 10: E890
- [65] Laursen MF, Zachariassen G, Bahl MI, et al. Having older siblings is associated with gut microbiota development during early childhood. *BMC Microbiol*, 2015, 15: 154
- [66] Lundgren SN, Madan JC, Emond JA, et al. Maternal diet during pregnancy is related with the infant stool microbiome in a delivery mode-dependent manner. *Microbiome*, 2018, 6: 109
- [67] Bergström A, Skov TH, Bahl MI, et al. Establishment of intestinal microbiota during early life: a longitudinal, explorative study of a large cohort of Danish infants. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80: 2889-900
- [68] Shankar V, Gouda M, Moncivaiz J, et al. Differences in gut metabolites and microbial composition and functions between Egyptian and U.S. children are consistent with their diets. *mSystems*, 2017, 2: e00169-16
- [69] Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, 2011, 334: 105-8