

# 益生菌菌株精准鉴定的科学共识（2026年版）

（中国食品科学技术学会益生菌分会 北京 100048）

\*通信作者 中国食品科学技术学会益生菌分会 E-mail: cifst\_lab@163.com

**摘要** 益生菌的健康效应应具有菌株特异性，故菌株水平的精准鉴定是科学研究和产业规范发展的核心前提。本文梳理了国内外标准法规与监管要求，在明确益生菌的分类学原则及属、种、株定义的基础上，系统阐述从表型、分子分型到基于全基因组测序（WGS）的分层级鉴定技术路径。WGS 可提供高分辨率的基因组信息，已成为国际公认的菌株鉴定“金标准”，其中平均核苷酸一致性（ANI）分析、核心基因组多位点序列分型（cgMLST）和单核苷酸多态性（SNP）分析是实现精准鉴定的关键技术手段。鉴于不同菌种在进化速率和基因组稳定性上存在差异，菌株一致性判定应建立种属差异化的 SNP 阈值体系，并结合插入缺失（InDel）特征进行综合评估。未来，益生菌菌株鉴定技术将向“场景适配”的多元化体系发展，以 WGS 数据构建菌株“分子身份证”，并融合人工智能等前沿技术，为益生菌行业的科学监管与产业创新提供坚实支撑。

**关键词** 益生菌；分类学；菌株水平鉴定；全基因组测序；单核苷酸多态性

## Scientific Consensus on the Strain-Level Accurate Identification of Probiotics (2026)

（Probiotics Society of the Chinese Institute of Food Science and Technology, Beijing 100048）

**Abstract** The health effects of probiotics are strain-specific, making precise strain-level identification a core prerequisite for scientific research and the standardized development of the industry. This article, based on a review of domestic and international standards, regulations, and regulatory requirements, systematically expounds on the hierarchical technical pathways from phenotypic identification, molecular typing identification to whole-genome sequencing (WGS)-based identification, after clarifying the taxonomic principles of probiotics and the definitions of genus, species, and strain. Among them, WGS can provide high-resolution genomic information and has become the internationally recognized ‘gold standard’ for strain identification. The average nucleotide identity (ANI) analysis, core genome multi-locus sequence typing (cgMLST), and single nucleotide polymorphism (SNP) analysis are the key technical means and parameters for achieving precise identification. Given the differences in evolutionary rates and genomic stability among different species, the determination of strain consistency should establish a SNP threshold system differentiated by species and genus, and conduct a comprehensive assessment in combination with insertion and deletion (InDel) features. In the future, probiotic strain identification technology will develop towards a diversified system of ‘scenario adaptation’, constructing a ‘molecular ID card’ for strains based on WGS data and integrating cutting-edge technologies such as artificial intelligence, providing solid support for scientific regulation, and industrial innovation in the probiotic industry.

**Key words** probiotics; taxonomy; strain-level identification; whole genome sequencing (WGS); single nucleotide polymorphism (SNP)

益生菌是指当摄入足够数量时，对宿主健康有益的活的微生物<sup>[1]</sup>。近年来，其在食品、膳食补充剂及医疗等领域应用广泛<sup>[2]</sup>。研究表明，益生菌的功能性、安全性及稳定性具有菌株特异性<sup>[3-4]</sup>。精准识别菌株是确保其有效性与安全性的科学基础，也是规范产业发展的核心前提。当前，复合益生菌产品日益增多<sup>[5]</sup>，对菌株组成的精准界定、溯源追踪及一致性控制提出了更高要求<sup>[6]</sup>。以全基因组测序（Whole genome sequencing, WGS）为代表的分子生物学技术，为实现菌株水平的精准鉴定与监管提供了可靠手段<sup>[7]</sup>。在此背景下，形成益生菌“菌株”精准鉴定的科学共识，明确可验证的鉴定技术路径，将为菌株鉴别、产品开发、功效宣称、质量控制及监督管理等提供关键支撑，从而有力推动益生菌产业规范化发展<sup>[8-9]</sup>。

## 1 益生菌的分类学及属、种、株的定义

益生菌分类学地位建立在现代微生物分类学基础之上,是其安全性评价和功能性研究的前提与基本要求。根据微生物的遗传相似性与系统发育亲缘关系,被系统地划分为域(domain)、界(kingdom)、门(phylum)、纲(class)、目(order)、科(family)、属(genus)、种(species)、株(strain)等不同层级。

在2001年修订出版的《伯杰氏系统细菌学手册》(Bergey's Manual of Systematic Bacteriology)第2版中,国际公认的细菌分类依据已从传统的表型特征(如细胞形态、革兰氏染色反应、生化代谢特性等)转向以分子系统发育为核心的分类方法(基于16S rRNA基因序列分析)。这一转变奠定了现代微生物分类学的技术基础,也为益生菌的科学鉴定提供了统一标准。菌属指性状相近、亲缘关系密切的若干菌种集合,具有若干相似的鉴别特征或共同的起源特征<sup>[10]</sup>。菌种是指在表型特征和遗传背景上高度相似且与同属内其它种存在明确差异的一类细菌群体。菌株是种以下的细分单元,指源于纯培养分离物或单一微生物的生物种群<sup>[10]</sup>。菌株具有遗传稳定性,能在连续传代过程中将其特异性状稳定遗传至后代。

## 2 益生菌鉴定技术

在明确益生菌在属、种、株不同层级的分类学定义后,不同层级的鉴定对应不同的技术要求,属与种的鉴定侧重于分类学归属的确认,而菌株水平的鉴定则要求识别同种内不同遗传背景的个体。因此,构建分层级、系统化的菌株鉴定技术路径,是确保益生菌从基础研究到产业化应用全程可追溯、可验证的重要前提。

目前,益生菌的鉴定主要有3种方法。一是传统的分类学方法,主要依赖于细菌的表型特征和生理生化特性。这种方法一般只能鉴定到科或属水平,很难准确鉴定到种或株水平;二是分子生物学鉴定方法,自20世纪70年代以来逐步成为主流,主要依据16S rRNA基因序列的差异(同种相似度通常高于98.7%),或基于基因组DNA杂交系数(CoT值,同种一般大于70%),通常可鉴定至属或种水平,难以实现株水平的精确区分;三是基因组学鉴定方法,起始于2010年之后,是目前进行细菌种水平鉴定的可靠手段,也是实现益生菌菌株水平鉴定的主要方法,该方法基于全基因组序列信息,可提供更高分辨率的遗传特征分析,适用于精准鉴定与溯源。

### 2.1 “种水平”鉴定技术

#### 2.1.1 微生物表型鉴定方法

益生菌的传统鉴定方法基于微生物培养,通过平板培养进行菌株分离和纯化,借助形态观察和生化反应进行鉴别。该方法培养周期较长、操作繁琐,难以满足快速检测需求,且在复配菌株中难以区分相似种及亚种。随着技术的发展,益生菌鉴定技术经历了从生化鉴定系统(如梅里埃的API系统)、自动化生物鉴定设备(如Biolog微生物鉴定系统),以及与质谱技术结合的基质辅助激光解吸/飞行时间质谱法(MALDI-TOF MS)的演进,实现了从依赖人工经验向自动化、快速化与精准化的重要跃升<sup>[11]</sup>。

#### 2.1.2 微生物基因型鉴定方法

为突破表型鉴定的局限,基因型鉴定技术应运而生,主要是基于聚合酶链式反应(PCR)对特定DNA片段进行扩增、测序和分析,从而实现种水平的区分。细菌16S rRNA基因序列测序利用细菌核糖体RNA基因中保守区与高变区的特性,通过与数据库比对可实现种水平鉴定(匹配率通常达99%~100%)<sup>[12]</sup>。该方法虽已成为菌种鉴定的重要方法,但其对于亲缘关系极近的菌种分辨率有限。

### 2.2 “株水平”鉴定技术

#### 2.2.1 经典分子分型方法

菌株水平鉴定是区分同一物种内不同遗传谱系的关键,对菌株溯源具有重要意义。脉冲场凝胶电泳(Pulsed field gel electrophoresis, PFGE)技术分辨力高、重现性好,然而操作复杂、耗时,实验室

间标准化仍具挑战<sup>[13]</sup>。随机扩增多态性 DNA（Randomly Amplified Polymorphic DNA, RAPD）具有快速、简便的特点，然而稳定性较差<sup>[14]</sup>。核糖体分型（Ribotyping）重现性较好，然而分辨力受限于酶切位点分布及数据库覆盖范围<sup>[15]</sup>。多位点序列分型（Multilocus sequence typing, MLST）通过分析多个管家基因（通常为 7~10 个）的等位基因谱实现菌株的分型，结果准确，可重复性强，便于数据共享与比对，然而所选位点数量有限，对高度相似的菌株区分能力仍显不足。

### 2.2.2 基于全基因组测序的分型技术

随着高通量测序技术的发展，基于全基因组序列的分子分型方法正逐步成为株水平鉴定的新标准。核心基因组多位点序列分型（Core genome MLST, cgMLST）和全基因组多位点序列分型（Whole genome MLST, wgMLST）在传统 MLST 基础上，分别基于核心基因组或全基因组的数百至数千个基因位点进行高精度分型，显著提升了菌株区分的分辨率与可靠性，适用于近缘菌株的精细鉴别与长期分子监测。单核苷酸多态性（Single nucleotide polymorphism, SNP）分析通过在全基因组范围内识别菌株间的单个核苷酸差异，可构建高分辨率的系统发育树，清晰呈现菌株间的遗传关系与进化轨迹，已广泛应用于菌株特异性鉴定及溯源<sup>[16]</sup>。

## 3 益生菌菌株鉴定的“金标准”

分子分型技术为菌株识别提供了重要手段，然而基于片段分析或有限基因位点的方法在区分亲缘关系极近的菌株时仍存在分辨率局限。WGS 能够获取微生物完整的遗传信息，实现从全基因组层面对菌株进行高精度数字化鉴别。基于此，WGS 已从科研工具逐步发展为国际公认的益生菌菌株鉴定的“金标准”，为建立统一且可追溯的菌株鉴定体系奠定了技术基础<sup>[17]</sup>。

### 3.1 高质量的基因组序列是益生菌菌株鉴定的核心基础

获得益生菌菌株高质量的全基因组序列，是 WGS 精准鉴定的前提。以 Illumina、MGI 平台为代表的短读长测序技术，通量高、准确性强且成本低，而以 PacBio、Nanopore 平台为代表的长读长测序技术，可产生超长读长序列（10~100 kb），有助于跨越重复区域和解析复杂结构。二者联合应用，可有效解决基因组组装中的断裂、错配等问题，从而获得完成图或接近完成图的益生菌菌株基因组，为后续精准鉴定、功能预测、安全性评价奠定基础。为确保基于 WGS 的益生菌菌株鉴定结果可靠、稳定且具有可比性，必须对测序产生的原始数据进行严格的质量控制，包括：测序数据的质量评估与过滤（测序深度、错误率、污染检测）、基因组组装质量评估（N50 值、完整度与冗余）、注释一致性与分析流程标准化等<sup>[3,18-20]</sup>。此外，建立并完善参考数据库对菌株的准确分型及鉴定也至关重要。

### 3.2 全基因组 ANI 阈值是益生菌物种与菌株鉴定的关键依据

基于基因组的分类学研究通常以其平均核苷酸一致性（Average nucleotide identity, ANI） $\geq 95\% \sim 96\%$  作为细菌种水平的鉴定阈值，这也是描述新细菌物种的金标准<sup>[20-24]</sup>。另一方面，基因组学分析还可校正传统方法的错误，例如乳酸杆菌属（*Lactobacillus*）经大规模基因组分析重新分类为 24 个属<sup>[25-26]</sup>，芽孢杆菌属（*Bacillus*）重新分类为 18 个属<sup>[27]</sup>。目前，国际原核生物分类学界公认的数据库 LPSN（List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature）中已经接受上述物种的分类学地位变化和新的分类学名称。研究表明，当 ANI $\geq 98.5\%$  时，同一物种的不同菌株通常在系统发育分析中形成稳定且可重复的亚群结构，同一物种的不同菌株常形成稳定亚群，因此该值常作为“可能对应亚种水平”的经验性参考阈值<sup>[24,28]</sup>。然而，需要注意的是，该阈值并非严格意义上的物种分类界限，而是基于统计分布和系统发育一致性得出的实践性判断。由于不同细菌类群在进化速率、基因组重组频率以及水平基因转移程度等方面存在差异，因此种水平或亚种水平的 ANI 边界阈值在不同物种中也可能存在一定的差异，且均需 $\geq 95\%$ （欧洲食品安全局（European Food Safety Authority, EFSA）建议 $> 94\%$ <sup>[18]</sup>）。有研究认为，同一菌株的不同分离物或生产批次，其基因组应表现出近乎完全一致的遗传特征<sup>[29]</sup>。当两个基因组满足全基因组共线性高度一致，ANI $> 99.9\%$ ，差异仅局限于少量随机突变位点时，可判定为同一菌株<sup>[28-29]</sup>。该阈值对于识别真实的菌株延续性，排除生产或保存过程中的潜在

混入风险具有重要意义。

### 3.3 益生菌菌株鉴定需建立差异化的 SNP 阈值体系并纳入 InDel 分析

SNP 分析为菌株水平鉴定提供了最高分辨率的信息, 可在全基因组范围内识别菌株间的单个核苷酸差异, 是实现菌株精准区分的关键技术手段。在实际应用中, 美国食品和饲料安全基因组学跨机构合作组织根据广义的法则与 WGS 数据比对, 使用 $\leq 20$  个 SNP 作为菌株鉴定阈值; 美国食品药品监督管理局 (U.S Food and Drug Administration, FDA) 也在其 GenomeTrakr Network 中使用基于 SNP 的方法进行菌株鉴定<sup>[30]</sup>。然而, 由于不同菌属 (种) 的进化速率和基因组稳定性存在差异<sup>[31-32]</sup>, 因此不同菌种的菌株间 SNP 数量存在差异。本文列举部分生产用菌株在传代过程中的变异情况 (见表 1), 采用统一的绝对 SNP 阈值可能导致误判<sup>[33]</sup>。此外, 插入缺失 (Insertion and deletion, InDel) 同样是菌株间遗传差异的重要来源。在菌株同一性判定中, 若两株菌的基因组存在 InDel 差异, 即使 SNP 数量在阈值范围内, 也可能提示其并非同一菌株。因此, 亟须通过系统性的基因组稳定性研究, 针对不同益生菌菌属的遗传特性建立差异化的 SNP 阈值体系, 并结合 InDel 特征进行综合评估, 为菌株一致性判定提供科学依据。

表1 部分生产用菌株传代过程中的基因组稳定性  
Table 1 Genetic stability of production strains during passaging

菌种	拉丁文	菌株	传代数	不同代数菌株基因组 ANI 值/%	不同代数菌株 SNP 数量/个*
动物双歧杆菌乳亚种	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	V9 <sup>[34]</sup>	100 代	>99.99	42
动物双歧杆菌乳亚种	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Probio-M8 <sup>[35]</sup>	100 代	>99.00	31
干酪乳酪杆菌	<i>Lactocaseibacillus casei</i>	Zhang <sup>[36]</sup>	100 代	>99.88	37
副干酪乳酪杆菌	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i>	DG <sup>[37]</sup>	超过 10 年工业生产	>99.99	5
鼠李糖乳酪杆菌	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	GG <sup>[38]</sup>	约 50 代	>99.97	6
鼠李糖乳酪杆菌	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	Probio-M9 <sup>[39]</sup>	100 代	>99.00	16
植物乳植杆菌	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	p8 <sup>[40]</sup>	100 代	>99.96	13

\*: 不同代数菌株中, 共鉴定到的 SNP 数量。

## 4 国内外标准法规对益生菌鉴定的监管要求

在益生菌监管方面, 全球多个国家和地区采取“名单制”准入管理模式, 在管理精度、审批机制和更新方式上各有特点。

### 4.1 国内外对益生菌的主要监管模式

欧盟食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA) 通过安全资格认证体系 (Qualified presumption of safety, QPS) 对益生菌进行管理, 对其分类学地位一般要求鉴定至菌种水平。美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 分别在“公认安全 (Generally recognized as safe, GRAS)”和“新膳食成分 (New dietary ingredient, NDI)”的框架下对食品和膳食补充剂用益生菌进行管理, 通常由企业以菌株水平申报, 由政府负责审核批准。在澳大利亚和新西兰, 除传统常用菌种外的益生菌一般作为“新食品原料”进行管理, 由澳新食品标准局 (Australia New Zealand Food Standards Agency, FSANZ) 负责菌株水平审批。在我国, 国家卫生健康委员会发布《可用于食品的菌种名单》和《可用于婴幼儿食品的菌种名单》, 并以公告形式实施动态增补, 其中食品用菌种管理至菌种或菌株水平, 婴幼儿食品用菌种管理至菌株水平。总体来看, 各国监管普遍强调益生菌的明确分类学地位与安全性和可追溯性, 并呈现出由“种水平”向“株水平”精细化管理发展的趋势。

### 4.2 国际组织制定的益生菌评价与鉴定指南

在国际益生菌鉴定相关技术标准及指南方面, 联合国粮农组织/世界卫生组织《食品益生菌评价指南》<sup>[1]</sup>、国际益生菌协会 (International Probiotics Association, IPA) 《益生菌认定指南, 2017》<sup>[41]</sup>等均指出益生菌具有菌株特异性, 应开展菌株水平精准鉴定。中国食品发酵工业研究院牵头发布的《国际乳品联合会 (IDF) 公报 No.513/2021 益生菌菌株水平鉴定指南》<sup>[3]</sup>指出, 菌株水平精准鉴定是安全性评价、功能性开发及产业化应用的基础, 常用的基因型菌株鉴定方法包括基于 WGS 的 SNP 和

MLST 分析、PFGE、Ribotyping、RAPD、菌株特异性 PCR 等，不同分型方法原理和效果具有差异性，应根据菌株自身特点和应用场景选择适合的方法。EFSA 在《用于支持食品链产品风险评估的微生物特性鉴定指南》<sup>[42]</sup>中指出，推荐采用 WGS 方法，如 ANI 等对微生物进行准确的菌种水平分类学地位确认。美国药典 USP-NF<64>《益生菌检测》<sup>[43]</sup>推荐采用特异性 PCR 等分子生物学方法实现菌株水平鉴定。

#### 4.3 我国逐步建立和完善益生菌评价与鉴定规范体系

我国在益生菌评价方法上亦形成了较为全面的规范体系，《GB 31615.2-2025 食品安全国家标准 食品用菌种安全性评价程序》<sup>[45]</sup>明确指出应基于表型和基因型进行菌种鉴定。中国食品科学技术学会《T/ CIFST 009-2022 食品益生菌通则》<sup>[45]</sup>提出，食品用益生菌应结合表型特征和基因测序技术实现菌株水平鉴定。2023 年起，我国陆续立项多个食品用菌种检验系列国家标准，为监管实施和产品质量控制提供系统化技术支撑。

## 5 益生菌鉴定的技术挑战与解决路径

益生菌的菌株特异性是发挥健康效应的关键科学基础。伴随着全球监管的日趋严格，菌株水平的精准鉴定已成为行业核心议题。益生菌精准鉴定是科学阐释其功能，确保其应用安全与质量稳定的根本依据。以 WGS 为代表的分子技术，可在基因组水平实现高分辨率精细解析，为菌株水平的精准鉴定提供了关键技术支撑。然而，将此类技术能力转化为稳定、可操作且国际互认的标准化方法体系，仍面临从理论到实践的多重挑战。因此，系统剖析挑战并规划应对路径，对于驱动产业创新，支撑科学监管与保护消费者权益具有至关重要的意义。

### 5.1 主要技术挑战

#### 5.1.1 “菌株”的基因组量化边界尚待形成共识

如何基于基因组数据精确定义“菌株”，成为首要的技术挑战。基因组变异指标—SNP 和 InDel 将成为量化菌株间遗传差异的标准。然而，不同菌属的进化速率、重组频率存在固有差异，工业菌株在传代过程中积累的中性变异，也为“菌株身份”的长期一致性认定带来实际操作的复杂性。亟须通过系统性的基因组稳定性研究，为不同益生菌类群建立差异化的参考阈值框架。

#### 5.1.2 基于 WGS 的标准化鉴定流程有待统一

基于 WGS 的精准鉴定，其可靠性取决于从实验操作到生物信息学分析的全流程标准化水平。当前，DNA 提取方法、测序平台（短读长与长读长平台）以及关键参数（覆盖深度、读长策略）尚未形成行业共识。从基因组组装质量评估（如 Contig N50、完整度与污染度）到变异检测（SNP、InDel 识别算法与过滤阈值）同样缺乏统一的分析流程规范。

#### 5.1.3 高质量参考数据库建设滞后且共享机制缺失

菌株精准鉴定的前提是拥有高质量、信息完备的参考数据库。当前，公共数据库中许多益生菌菌株的参考基因组序列仍不完整或存在标注错误，注释质量参差不齐。同时，商业菌株基因组数据因知识产权考量而未公开共享，形成“数据孤岛”。亟须推动建立益生菌高质量基因组数据库，并探索分级共享与受控访问机制，在保护商业机密与促进数据互认之间寻求平衡。

### 5.2 解决路径

#### 5.2.1 构建“场景适配”的精准鉴定技术体系

未来益生菌鉴定技术将朝着多元化与场景化方向发展，形成分层级的技术体系，以适配不同应用场景的核心需求。针对知识产权保护 and 备案、注册，建议将高质量的 WGS 数据确立为强制性核心证据并纳入监管体系，为菌株身份精准溯源提供法律依据。针对生产质量控制与市场监管，开发高度特异性的分子标记快速检测方法，用于种子批一致性验证和对市售产品中多种宣称益生菌的同步、快速筛查与鉴别。

#### 5.2.2 探索前沿物理化学鉴定技术

表面增强拉曼光谱（SERS）技术，无需培养，可在单细胞水平获取基于微生物细胞壁成分、代

谢物的独特化学指纹图谱。通过构建标准化的菌株 SERS 指纹数据库与智能识别算法,未来该技术有望实现不同产品中菌种(株)组成和活性的同步检测。

### 5.2.3 基于 AI 的菌株鉴定技术

目前全球已有几十万株益生菌全基因组序列,随着宏基因组数据的增加,新的菌株基因组数据将呈现指数级增长。人工智能和大模型将在菌株的判别和鉴定中发挥重要作用,特别是在功能菌株的挖掘方面。

## 6 专家共识

综上所述,本文通过对益生菌菌株鉴定技术、国内外监管情况等系统进行系统分析,汇聚多为专家意见,形成以下 5 点共识:

共识一:菌株水平精准鉴定是益生菌产业规范发展的科学基石

益生菌的分类学地位应建立在现代微生物分类学基础之上,通过结合形态学、生理生化特征和分子生物学技术等多相鉴定技术体系,明确其种水平的分类学地位,是进一步开展株水平鉴定的必要前提。由于益生菌的功效与安全性具有菌株特异性,因此在菌株水平对其进行精准鉴定,是实现安全性评价与功能开发以及产业化应用的重要基础。当前,全球各国监管强调益生菌明确分类学地位对其安全性与可追溯性的重要意义,并呈现出由“种水平管理”向“株水平精细化管理”转变的趋势。

共识二:全基因组测序(WGS)已成为国际公认的菌株鉴定“金标准”

获得完整度高、错误率低的高质量全基因组序列,是 WGS 鉴定的核心前提。通过短读长与长读长测序联合应用,可有效解决组装中的断裂与错配等问题,获得完成图的基因组,为菌株精准鉴定提供可靠的遗传蓝图。基于 WGS 的 ANI 分析、cgMLST 和 SNP 分析等方法,可实现从种、亚种到菌株水平的精准鉴定。SNP 分析为菌株水平鉴定提供了最高分辨率的信息,是实现菌株精准区分的关键技术手段。

共识三:益生菌菌株一致性判定应建立种属差异化的 SNP 阈值体系

SNP 分析可在全基因组范围内识别菌株间的单个核苷酸差异,由于不同细菌类群在进化速率、基因组重组频率以及基因组稳定性等方面存在固有差异,因此采用统一的绝对 SNP 阈值可能导致误判。此外,InDel 同样是菌株间遗传差异的重要来源,若两株菌的基因组存在 InDel 差异,也可能提示其并非同一菌株。因此,通过系统性的基因组稳定性研究,针对不同益生菌种属的遗传特性建立差异化的 SNP 阈值体系,并结合 InDel 特征进行综合评估,可为菌株一致性判定提供科学依据。

共识四:建立标准化流程和高质量数据库是突破菌株鉴定瓶颈的关键

基于 WGS 的益生菌菌株鉴定,其结果可靠性与可比性高度依赖于全流程的标准化。在测序数据产出后,需贯穿实验与数据分析环节,建立统一的生物信息学分析流程,对原始数据进行严格的质量控制,涵盖数据质量评估与过滤、基因组组装质量评估、注释一致性等关键步骤,并通过方法验证,确保不同实验室、不同平台产出的鉴定结果具备可比性。为此,亟须推动构建经过严格质控,包含完整元数据(如菌株来源、功能特性、安全性数据等)的益生菌专用基因组数据库,并探索分级共享与受控访问机制,在保护商业机密与促进数据互认之间实现平衡。

共识五:益生菌鉴定技术将走向“场景适配”和人工智能时代

以高质量完整组装的 WGS 数据作为强制性核心证据,构建益生菌菌株的“分子身份证”,在满足政府管理要求的同时,可为其快速、高通量的菌株溯源提供分子标记基础。在此基础上开发特异性的分子标记快速检测技术,实现对市售产品中多种益生菌菌株的同步筛查与鉴别,为市场监管提供有效工具。同时,探索表面增强拉曼光谱等前沿技术,有望实现不同产品中菌种(株)组成和活性的同步检测。随着菌株基因组数据呈现指数级增长,人工智能和大模型将在菌株的判别和鉴定中发挥重要作用,尤其有助于功能菌株的挖掘,可为益生菌产业的创新与规范发展提供坚实支撑。

## 项目组专家

何国庆 浙江大学  
朱宝利 中国科学院微生物研究所  
姚 粟 中国食品发酵工业研究院  
董 英 江苏大学  
艾连中 上海交通大学  
徐 进 国家食品安全风险评估中心  
孙志宏 内蒙古农业大学  
张家超 海南大学  
翟齐啸 江南大学  
张国华 山西大学

## 共同执笔人

陆文伟 江南大学  
陈 楠 中国科学院微生物研究所  
刘艺茹 中国食品发酵工业研究院  
裴彰明 江南大学  
赵飞燕 内蒙古农业大学  
姜帅铭 海南大学  
罗江钊 中国食品科学技术学会

## 参考文献

- [1] FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food [M]. Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization, 2022: 8.
- [2] GRUJOVIĆ M Ž, SEMEDO-LEMSADDEK T, MARKOVIĆ K G. Application of probiotics in foods: A comprehensive review of benefits, challenges, and future perspectives[J]. Foods, 2025, 14(17): 3088.
- [3] International Dairy Federation (IDF). Bulletin of the IDF No.513/2021: Probiotics strain identification[M]. International Dairy Federation, 2021: 1.
- [4] MCFARLAND L V, EVANS C T, GOLDSTEIN E J C. Strain-specificity and disease-specificity of probiotic efficacy: A systematic review and meta-analysis[J]. Frontiers in Medicine (Lausanne), 2018, 5: 124.
- [5] KOUHOUNDE S, ADÉOTI K, MOUNIR M, et al. Applications of probiotic-based multi-components to human, animal and ecosystem health: concepts, methodologies, and action mechanisms[J]. Microorganisms, 2022, 10(9): 1700.
- [6] AHIRE J J, ROHILLA A, KUMAR V, et al. Quality management of probiotics: Ensuring safety and maximizing health benefits[J]. Current Microbiology, 2023, 81(1): 1.
- [7] WANG N L, WU Y R, LIU Y, et al. Probiotic strain identification and safety assessment of unlabeled bacteria in infant products[J]. International Journal of Food Microbiology, 2026, 445: 111500.
- [8] BINDA S, HILL C, JOHANSEN E, et al. Criteria to qualify microorganisms as ‘probiotic’ in foods and dietary supplements[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 1662.
- [9] MAO D, ZHAO L, ZHAO B, et al. Development of a strain-specific detection and quantification method for *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* HN019 using WGS-SNP analysis and qPCR. Microorganisms, 2025, 13(7): 1596.
- [10] 中国营养学会. 益生菌术语: T/CNSS 032-2024[S]. 北京: 中国营养学会, 2024.
- [11] ARBEFEVILLE S S, TIMBROOK T T, GARNER C D. Evolving strategies in microbe identification-a comprehensive review of biochemical, MALDI-TOF MS and molecular testing methods[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2024, 79(12 Suppl 2): i2-i8.
- [12] LI M N, HAN Q, WANG N, et al. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification and infectious disease diagnosis[J]. Bioc hemical & Biophysical Research Communications, 2024, 739: 150974.
- [13] LI I C, WU R, HU C W, et al. Comparison of conventional molecular and whole-genome sequencing methods for differentiating *Salmonella enterica* serovar schwarzengrund isolates obtained from food and animal sources[J]. Microorganisms, 2021, 9(10): 2046.
- [14] BAGLEY M J, ANDERSON S L, MAY B. Choice of methodology for assessing genetic impacts of environmental stressors: polymorphism and reproducibility of RAPD and AFLP fingerprints[J]. Ecotoxicology, 2001, 10(4): 239-244.
- [15] KIEHLBAUCH J A, PLIKAYTIS B D, SWAMINATHAN B, et al. Restriction fragment length polymorphisms in the ribosomal genes for species identification and subtyping of aerotolerant *Campylobacter* species[J]. Journal of Clinical Microbiology, 1991, 29(8): 1670-1676.
- [16] BOGAERTS B, VAN DEN BOSSCHE A, VERHAEGEN B, et al. Closing the gap: Oxford Nanopore Technologies R10 sequencing allows comparable results to Illumina sequencing for SNP-based outbreak investigation of bacterial pathogens[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2024, 62(5): e0157623.
- [17] ROE A L, BOYTE M E, ELKINS C A, et al. Considerations for determining safety of probiotics: A USP perspective[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2022, 136: 105266.

- [18] European Food Safety Authority (EFSA). EFSA statement on the requirements for whole genome sequence analysis of microorganisms intentionally used in the food chain[J]. *EFSA Journal*, 2024, 22(8): e8912.
- [19] 深圳市标准化协会. 基于全基因组测序的益生菌菌株分型鉴定指南: T/SZAS 22-2020[S]. 深圳: 深圳市标准化协会, 2020. Shenzhen Association of Standardization. The guide to genotyping of the probiotics at strain level by whole genome sequencing: T/SZAS 22-2020[S]. Shenzhen: Shenzhen Association of Standardization, 2020.
- [20] RIESCO R, TRUJILLO M E. Update on the proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2024, 74(3): 006300.
- [21] 王静, 张文羿. 副干酪乳杆菌系统发育组学分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2022, 41(7): 1461-1474. WANG J, ZHANG W Y. Phylogenomics Analysis of *Lactobacillus paracasei*[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2022, 41(7): 1461-1474.
- [22] ZHOU X Y, YANG B, STANTON C, et al. Comparative analysis of *Lactobacillus gasseri* from Chinese subjects reveals a new species-level taxa[J]. *BMC Genomics*, 2020, 21(1): 119.
- [23] KONSTANTINIDIS K T, TIEDJE J M. Towards a genome-based taxonomy for prokaryotes[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(18): 6258-6264.
- [24] CHUN J, OREN A, VENTOSA A, et al. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2018, 68(1): 461-466.
- [25] WITTOUCK S, WUYTS S, MEEHAN C J, et al. A genome-based species taxonomy of the *Lactobacillus* genus complex[J]. *mSystems*, 2019, 4(5): e00264-19.
- [26] ZHENG J S, WITTOUCK S, SALVETTI E, et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2020, 70(4): 2782-2858.
- [27] GUPTA R S, PATEL S, SAINI N, et al. Robust demarcation of 17 distinct *Bacillus* species clades, proposed as novel *Bacillaceae* genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses: description of *Robertmurraya kyonggiensis* sp. nov. and proposal for an emended genus *Bacillus* limiting it only to the members of the *Subtilis* and *Cereus* clades of species[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2020, 70(11): 5753-5798.
- [28] JAIN C, RODRIGUEZ-R L M, PHILLIPPY A M, et al. High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 5114.
- [29] OLM M R, BROWN C T, BROOKS B, et al. dRep: A tool for fast and accurate genomic comparisons that enables improved genome recovery from metagenomes through de-replication[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(12): 2864-2868.
- [30] STEVENS E L, CARLETON H A, BEAL J, et al. Use of whole genome sequencing by the federal interagency collaboration for genomics for food and feed safety in the United States[J]. *Journal of Food Protection*, 2022, 85(5): 755-772.
- [31] SALVETTI E, TORRIANI S, FELIS G E. The genus *Lactobacillus*: A taxonomic update[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2012, 4(4): 217-226.
- [32] ARDALANI O, PHANEUF P V, MOHITE O S, et al. Pangenome reconstruction of *Lactobacillaceae* metabolism predicts species-specific metabolic traits[J]. *mSystems*, 2024, 9(7): e00156-24.
- [33] TREANGEN T J, ROCHA E P. Horizontal transfer, not duplication, drives the expansion of protein families in prokaryotes[J]. *PLoS Genetics*, 2011, 7(1): e1001284.
- [34] 刘凯龙, 黄天, 刘晓晔, 等. 动物双歧杆菌乳亚种 V9 连续传代过程中遗传稳定性评价[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(9): 12-22. LIU K L, HUANG T, LIU X Y, et al. Evaluation of genetic stability during continuous passage of the *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* V9[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2023, 23(9): 12-22.
- [35] 刘晓晔, 刘凯龙, 李伟程, 等. 乳双歧杆菌 Probio-M8 连续传代过程中遗传稳定性分析[J]. *营养学报*, 2023, 45(5): 504-511. LIU X Y, LIU K L, LI W C, et al. Genetic stability analysis of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Probio-M8 during continuous passage culture [J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2023, 45(5): 504-511.
- [36] 郑新飞, 刘凯龙, 黄天, 等. 干酪乳杆菌 Zhang 连续传代过程中的遗传稳定性研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2024, 43(12): 55-63. ZHENG X F, LIU K L, HUANG T, et al. Genetic stability of *Lactobacillus casei* Zhang during continuous passaging[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2024, 43(12): 55-63.
- [37] BRUNELLI L, PEROTTI S, GARGARI G, et al. Genetic and phenotypic stability of *Lactocaseibacillus paracasei* DG (DSM 34154) over 10 years of industrial production[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2025, 91(5): e02394-24.
- [38] STAGE M, WICHMANN A, JØRGENSEN M, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG genomic and phenotypic stability in an industrial production process[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(6): e02780-19.
- [39] 黄天, 刘凯龙, 刘晓晔, 等. 鼠李糖乳杆菌 Probio-M9 连续传代过程中的遗传稳定性[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(11): 24-35. HUANG T, LIU K L, LIU X Y, et al. Genetic Stability of *Lactocaseibacillus rhamnosus* Probio-M9 during Continuous Subculturing[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2023, 23(11): 24-35.
- [40] 王可欣, 刘晓晔, 李伟程, 等. 植物乳植杆菌 P-8 连续传代过程中遗传稳定性分析[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(9): 4154-4167. WANG K X, LIU X Y, LI W C, et al. Genetic stability of *Lactiplantibacillus plantarum* P-8 during continuous subculturing[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(9): 4154-4167.
- [41] International Probiotics Association (IPA). Probiotics identification guidelines[M]. International Probiotics Association, 2017: 2.
- [42] EFSA Scientific Committee, BENNEKOU S H, ALLENDE A, et al. Guidance on the characterisation of microorganisms in support of the risk assessment of products used in the food chain[J]. *EFSA Journal*, 2025, 23(11): e9705.
- [43] United States Pharmacopeia (USP). General Chapter, <64> Probiotics Tests: USP-NF[S]. Rockville, MD: United States Pharmacopeia, 2025.
- [44] 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品用菌种安全性评价程序: GB 31615. 2-2025[S]. 北京: 中国标准出版社, 2025. National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. National food safety standard Safety evaluation procedures for food bacteria: GB 31615.2-2025[S]. Beijing: Standards Press of China, 2025.

- [45] 中国食品科学技术学会. 食品用益生菌通则: T/CIFST009-2022[S]. 北京: 中国食品科学技术学会, 2022.  
Chinese Institute of Food Science and Technology. General standard of probiotics for food use: T/CIFST009-2022[S]. Beijing: Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022.

