

2. 杨宜生等: 畜牧兽医学报, 3: 181, 1984。
3. 姜天童等: 中国人兽共患病杂志, 2: 12, 1989。
4. Lefebvre J et al.: J Clin Microbiol, 26 (4): 726, 1988。

5. 严自助等: 上海免疫学杂志, 10(2): 113—116, 1990。
6. 中华流行病学杂志编辑部: 《立克次体衣原体弓形体》专辑, 第114页, 1983。
7. 徐帆等: 中华流行病学杂志(特刊)10(3): 153, 1989。

口服乳酸杆菌对大鼠粪便正常菌群的影响*

罗 予 李金陵 蔡访勤

(河南省医学科学研究所, 郑州)

摘要 本文报道了 Wistar 大鼠口服嗜酸性乳酸杆菌前、口服后 4 周和停药后一周的粪便菌群检查结果。服嗜酸性乳酸杆菌后, 厌氧菌群的双歧杆菌、拟杆菌和梭菌数量呈现增多趋势, 以双歧杆菌增加最多, 从 9.12 增加到 $9.77 \log_{10} \text{N CFU/g}$ 粪; 需氧菌群的肠球菌明显减少, 从 8.52 降到 $7.82 \log_{10} \text{N CFU/g}$ 粪, 停药后肠球菌又恢复到服前的水平; 大肠杆菌数量略有减少; 兼性厌氧菌的乳酸杆菌数量变化不大。嗜酸性乳酸杆菌分别同三种厌氧菌和肠球菌在体外试验的结果与前述试验结果相同。

关键词 嗜酸性乳酸杆菌; 肠道正常菌群

以厌氧菌为主体的肠道正常菌群对宿主的免疫功能、致癌和抑制癌变的作用均有密切关系。维持肠道的微生态平衡, 对增进机体健康是十分重要的。服用乳酸杆菌可抑制肠道致病菌和某些需氧菌的生长^[1,2], 而对肠道正常菌群的作用, 国内尚未见报道。本文报道口服乳酸杆菌对大鼠肠道正常菌群, 包括厌氧菌和需氧菌群的影响。

材 料 和 方 法

(一) 试验动物

Wistar 大白鼠 10 只, 雄性, 断奶一周, 体重 180—200g。

(二) 菌株

嗜酸性乳酸杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*) 系美国 Nebraska 大学 Shahani 教授赠送。将菌株接种到牛奶中, 置 42°C 孵育 3—4 小时, 测定 pH 在 4.5, 含菌量 $7.74 \pm 0.51 \log_{10} \text{N/ml}$ (5 个样品的平均值 \pm 标准差), 置 4°C 保存备用。

(三) 受检测的肠道菌群

厌氧菌: 包括双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*), 拟杆菌属 (*Bacteroides*) 和梭菌属 (*Clo-*

stridium); 兼性厌氧菌为乳酸杆菌 (*Lactobacillus*); 需氧菌: 大肠杆菌属 (*Escherichia coli*) 和肠球菌 (*Enterococci*)。所用培养基分别为双歧杆菌(简称 BL)、拟杆菌 (Bd)、梭菌 (Cd)、乳杆菌 (LBS)、伊红美蓝 (EMB) 和肠球菌 (EC) 的培养基平板^[3]。

(四) 检测方法

方法见文献[3]。粪便中厌氧菌培养, 采用厌氧罐培养法, 培养 48 小时。需氧菌在普通温箱培养 24 小时。兼性厌氧菌用上述两种条件分别培养。分别计算每克粪便中菌落形成单位 (Colony Forming Units per gram, CFU/g)。每只大鼠每天灌服含嗜酸性乳酸杆菌奶 4ml, 分两次灌, 四周后停药。在灌服嗜酸性乳酸杆菌前一周和停药后一周, 每只大鼠灌服 4ml/d 无菌奶为对照。在大鼠灌服嗜酸性乳酸杆菌前及之后 4 周, 停药后一周各检查一次粪菌群。粪总菌数用涂片染色检测。

(五) 嗜酸性乳酸杆菌与 分 在 体 外的生长竞争试验

从每只鼠的 BL、Bd、Cd 和 EC 平板

* 本工作为河南省医科院资助项目。

上,分别挑取2个典型菌落做增菌培养。将上述各增菌液0.1ml分别加到5ml的厌氧基础培养液中,并同时加入0.1ml的嗜酸性乳酸杆菌增菌液,做混合培养。另取各增菌液0.1ml分别加到5ml的厌氧基础培养液中做单独培养。厌氧菌培养48小时后,需氧菌培养24小时后,用平板菌落计数法测定每种细菌的CFU/ml。

试验结果

(一) 粪便菌群定量检查结果(表1)

1. 厌氧菌群: 大鼠服用嗜酸性乳酸杆菌

后,双歧杆菌的数量在服用3周后逐渐增多,由9.12增至9.52 \log_{10} N CFU/g 粪,停药1周后仍增多到9.77 \log_{10} N CFU/g 粪。明显高于口服前的数量($P < 0.05$); 拟杆菌和梭菌的数量在服后略有增加,停药后又减少。

2. 需氧菌群: 大鼠服用嗜酸性乳酸杆菌后,大肠杆菌的数量在服后3、4周开始下降,由6.70降到停药后的6.33 \log_{10} N CFU/g 粪;肠球菌的数量在服后第2周明显减少,由8.52减至7.90 \log_{10} N CFU/g 粪 ($P < 0.05$), 停药后又增多到8.85 \log_{10} N CFU/g 粪。

表1 大鼠口服嗜酸性乳酸杆菌前、后粪正常菌群变化($\bar{x} \pm S.D.$ \log_{10} N CFU/g 粪)

粪便菌群		口服前	口服后(周)				停药后1周
			1	2	3	4	
厌氧培养	双歧杆菌	9.12 \pm 0.55	8.78 \pm 0.87	9.14 \pm 0.38	9.51 \pm 0.39	9.52 \pm 0.31	9.77 \pm 0.27*
	拟杆菌	7.81 \pm 0.92	7.79 \pm 0.39	7.90 \pm 0.43	8.05 \pm 0.91	7.68 \pm 0.60	7.63 \pm 0.83
	梭菌	8.75 \pm 0.73	8.02 \pm 0.94	8.77 \pm 0.56	8.91 \pm 0.50	8.96 \pm 0.48	8.79 \pm 0.48
	乳酸杆菌	9.41 \pm 0.36	8.99 \pm 0.35	9.42 \pm 0.35	9.04 \pm 0.62	9.19 \pm 0.46	8.92 \pm 0.35
需氧培养	大肠杆菌	6.70 \pm 0.14	6.76 \pm 0.36	6.79 \pm 0.44	6.66 \pm 0.36	6.63 \pm 0.21	6.33 \pm 0.51*
	肠球菌	8.52 \pm 0.71	8.32 \pm 0.20	7.82 \pm 0.51*	7.94 \pm 0.39*	7.90 \pm 0.54*	8.85 \pm 0.19
	乳酸杆菌	8.74 \pm 0.25	8.46 \pm 0.22*	8.65 \pm 0.35	8.63 \pm 0.55	8.60 \pm 0.54	8.83 \pm 0.59

注: *同口服嗜酸性乳酸杆菌前的数量比较 $P < 0.05$ 。

表2 大鼠口服嗜酸性乳酸杆菌前、后粪总菌数变化($\bar{x} \pm S.D.$ \log_{10} N CFU/g 粪)

	口服前	口服后(周)				停药后1周
		1	2	3	4	
总菌数	11.29 \pm 0.12	11.30 \pm 0.10	11.22 \pm 0.34	11.24 \pm 0.06	11.20 \pm 0.08	11.15 \pm 0.15

表3 嗜酸性乳酸杆菌与各种肠道菌在体外的生长竞争试验(\log_{10} N CFU/ml)

菌种	共同培养 $\bar{x} \pm S.D.$ (a)	单独培养 $\bar{x} \pm S.D.$ (b)	a - b
双歧杆菌	8.60 \pm 0.27	7.79 \pm 0.92	0.81
嗜酸性乳酸杆菌	7.74 \pm 1.07	6.97	0.77
拟杆菌	7.19 \pm 0.33	6.53 \pm 1.56	0.66
嗜酸性乳酸杆菌	6.68 \pm 0.31	6.97	-0.29
梭菌	7.44 \pm 1.46	6.56 \pm 1.09	0.88
嗜酸性乳酸杆菌	6.66 \pm 0.65	6.97	-0.31
肠球菌	8.99 \pm 0.55	9.40 \pm 0.56	-0.41
嗜酸性乳酸杆菌	9.35 \pm 0.38	9.47 \pm 0.57	-0.12

3 乳酸杆菌的数量: 大鼠服用嗜酸性乳酸杆菌前、后其数量变化不大。

(二) 大鼠粪便细菌总数检测结果(表 2)

细菌总数在 $11.15-11.30 \log_{10} \text{N CFU/g}$ 粪之间。

(三) 体外生长竞争试验结果(表 3)

1. 三种厌氧菌分别同嗜酸性乳酸杆菌共同培养的数量, 均比其单独培养时为多。

2 肠球菌与嗜酸性乳酸杆菌共同培养的数量比单独培养时减少。

3 嗜酸性乳酸杆菌同双歧杆菌共同培养的数量比单独培养时增多, 而同拟杆菌或梭菌共同培养的数量则比单独培养时减少。

上述实验结果表明: 大鼠服用嗜酸性乳酸杆菌后, 对粪便厌氧菌中的双歧杆菌、拟杆菌和梭菌菌群生长起扶植作用; 对粪便需氧菌中的大肠杆菌和肠球菌菌群生长则起限制作用, 对粪便中的乳酸杆菌数量和粪便细菌总数影响很小。

讨 论

目前, 乳酸杆菌制品已在人群中应用, 亦应用于家畜、家禽的防病和增重。本实验结果说明大鼠摄取乳酸杆菌后, 加强了以厌氧菌为优势菌群的肠道正常菌群, 限制了需氧菌群的生长。这有助于宿主调整正常菌群, 维持肠道微生态环境的平衡。

摄食乳酸杆菌有助于宿主调整肠道菌群平衡, 可能有以下几方面因素: 乳酸杆菌能分解胆汁酸, 而游离自由胆汁酸, 对肠道其它菌种不利^[2]; 乳酸杆菌能产生抗生物物质而不利病原性细菌生长^[4]; 乳酸杆菌产生的酸(乳酸、甲酸、醋酸等)、 H_2O_2 和其它发酵终产物^[5], 这些都对非乳酸杆菌不利。乳酸杆菌为兼性厌氧菌, 能消耗肠道内的氧而对厌氧菌有利, 对需氧菌不利。本实验证明肠球菌和大肠杆菌减少, 可

能是由于这些因素的联合作用。

Friend 和 Shahani 给志愿者口服嗜酸性乳酸杆菌后, 粪便大肠杆菌数量减少, 粪便细菌的 β -葡萄糖苷酸酶 (β -glucuronidase) 活性和 β -葡萄糖苷酶 (β -glucosidase) 活性均降低^[3]。Goldin 有类似的发现, 摄食嗜酸性乳酸杆菌的人类粪便细菌的硝基还原酶 (nitroreductase) 和 β -葡萄糖苷酸酶活性均明显降低, 停药 30 天后, 此两种酶活性又恢复到原水平^[6]。目前的资料已知, 上述粪便细菌酶能使前致癌物转化为致癌物或致癌作用增强, 如硝基还原酶能将无害的芳香性硝基化合物, 还原成具有致癌作用的亚硝基胺和 N-羟基复合物^[1,6,7]。因此, 在食物中补充乳酸杆菌, 对调整肠道菌群的分布和代谢酶活性都是有益的, 有可能降低肠道腐败作用和结肠癌发病率^[7]。

De Simone 报告, 口服乳酸杆菌能激发 Peyer 淋巴节结和脾的免疫功能增强, 体外试验表明了乳酸杆菌使人 T 淋巴细胞产生 γ -干扰素增加 3—4 倍^[8]。我们在实验中也发现乳酸杆菌能增强小鼠脾细胞和腹腔渗出细胞的免疫功能, 对 L929 纤维母细胞瘤细胞杀伤作用增强。

以上实验提示, 在食物中补充乳酸杆菌, 这对宿主的健康是十分有益的。

参 考 文 献

1. Friend B A and Shahani K M: *J Food Product*, 47: 717—733, 1984.
2. Gilliland S E and Speck M L: *Appl Environ Microbial*, 33: 15—18, 1977.
3. 魏曦主编: 正常菌群与健康, 第一版。上海科技出版社, 60—67, 1985。
4. Sandine W E: *J Food Prot*, 42: 259—262, 1979.
5. Sharpe M E: *J Soc Dairy Tech*, 32: 9—18, 1979.
6. Goldin B R et al.: *J Natl Cancer Inst*, 64: 255—261, 1980.
7. Ayebo A D et al.: *Milchwissenschaft*, 35: 730—733, 1980.
8. De Simone C: *Int J Immunother*, 11: 19—23, 1986.