

乳酸杆菌对感染大肠杆菌 O157:H7 小鼠肠道黏膜免疫的影响

王婷婷 王雪芹 霍贵成*

(东北农业大学 乳品科学教育部重点实验室 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:【目的】分析小鼠在感染 *Escherichia coli* O157:H7 及补充嗜酸乳杆菌 KLDS AD1 和瑞士乳杆菌 KLDS1.8701 期间小肠黏膜中 SIgA 和细胞因子的变化规律, 结合小鼠表象特征, 探讨 2 株乳酸杆菌对小鼠腹泻的治疗效果。【方法】将小鼠分成 4 组, 空白组、致病对照组、嗜酸乳杆菌组和瑞士乳杆菌组, 对实验组小鼠连续 7 d 灌胃大肠杆菌致病后, 再连续 7 d 分别灌胃 2 株乳酸杆菌, 采集小鼠小肠利用 ELISA 法测得各组小鼠肠道组织中 SIgA 和 4 种细胞因子 IL-2、IFN- γ 、IL-4 和 IL-6 的含量。【结果】瑞士乳杆菌可极显著提高感染大肠杆菌 O157:H7 小鼠的体重, 嗜酸乳杆菌的效果较小; 感染 *E. coli* O157:H7 后, SIgA、IL-2 和 IFN- γ 的含量在第 3 天达到最大值, 第 5 天开始下降, 而 IL-4 和 IL-6 在第 5 天达到最大值, 第 7 天开始下降。补充嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌后, SIgA 和 4 种细胞因子的含量都迅速增加, 并保持较高水平, 与其他两组差异显著。【结论】嗜酸乳杆菌 KLDS AD1 和瑞士乳杆菌 KLDS 1.8701 都可通过增加细胞因子和 SIgA 的分泌增强肠道黏膜免疫, 对小鼠腹泻有一定的缓解作用。

关键词: 嗜酸乳杆菌, 瑞士乳杆菌, 大肠杆菌, 肠道黏膜, 细胞因子, 免疫球蛋白 A

Function of *Lactobacillus* on intestinal mucosal immunity of mice artificially infected with *Escherichia coli* O157:H7

WANG Ting-Ting WANG Xue-Qin HUO Gui-Cheng*

(Key Laboratory of Dairy Science, Ministry of Education, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

Abstract: [Objective] The possible immunomodulatory and anti-infectious effects of *Lactobacillus acidophilus* KLDS AD1 and *Lactobacillus helveticus* KLDS 1.8701 were evaluated on the intestinal mucosal immunity in the rats artificially infected with *Escherichia coli* O157:H7. [Methods] An model animal trial was carried out on rats divided into four treatments, challenged treatment with *E. coli* O157:H7 for seven days, artificially infected animals treated with *L. acidophilus* or *L. helveticus* for another seven days. The intestinal tissue was taken for assaying the secretory immunoglobulin A (SIgA) in intestinal fluid and cytokines (IL-2, IL-4, IL-6, IFN- γ) production in small intestinal tissue by ELISA. [Results] *L. helveticus* KLDS 1.8701 significantly attenuated the pathogenic influence of *E. coli* O157:H7 indicated by the high weight gain, better than *L. acidophilus* KLDS AD1. After treatment with *E. coli* O157:H7, the levels of SIgA, IL-2 and IFN- γ increased and reached to the

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2011AA100902, 2012AA022108); 食品安全与营养协同创新中心资助项目

*通讯作者: ✉: gchuo58@126.com

收稿日期: 2014-01-06; 接受日期: 2014-03-18; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-03-24

maximum value at the third days, decreased at the fifth day, then IL-4 and IL-6 reached to the maximum value and decreased at the seventh day. The levels of SIgA and all assayed cytokines were significantly increased after oral administration of *L. acidophilus* KLDS AD1 and *L. helveticus* KLDS 1.8701 at eighth day, and remained higher level than control and pathogenic groups. [Conclusion] *L. acidophilus* KLDS AD1 and *L. helveticus* KLDS 1.8701 improved the intestinal mucosal immune by stimulating cytokines and SIgA production, and conferred enhanced protection against *E. coli* O157:H7 infection.

Keywords: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Escherichia coli*, Intestinal mucosal, Cytokines, Immunoglobulin A

出血性大肠杆菌 O157 (*Enterohemorrhagic Escherichia coli*, EHEC)是一种食源性致病菌,能引起以急性出血性腹泻为典型特征的疾病,典型菌株为 EHEC O157:H7,主要引起婴幼儿腹泻、出血性结肠炎和溶血性尿毒症等^[1]。肠道黏膜免疫系统作为机体防御的一道重要防线,可以阻止肠细胞与病原微生物直接接触,并经抗原刺激引起相应的免疫应答,在预防肠道疾病中起着重要的作用。病原菌侵入机体后,机体非特异性免疫机制被激活,病原菌首先被吞噬细胞识别并吞噬,并利用细胞内的降解物溶酶体将病原菌降解,而降解的产物可以激活特异性 T 淋巴细胞等其他免疫细胞分泌 IL-2、IL-6、IL-4 和 IFN- γ 等多种细胞因子。细胞因子具有抗感染、抗肿瘤,参与免疫调节和炎症反应等生物学作用,对于机体健康具有深远意义。分泌型免疫球蛋白 A (SIgA)是机体内最重要的一类免疫球蛋白,以 SIgA 为主的体液免疫是防御病原菌在肠道黏附和定殖的第一道防线^[2]。SIgA 介导的免疫应答与 T 细胞有密切关系,主要由黏膜相关淋巴组织中的 T 细胞及其分泌的多种细胞因子调节和促进 IgA 的分泌和合成。在研究肠道黏膜免疫反应时,SIgA 和细胞因子的含量也作为一个重要的参考指标^[3]。

益生菌刺激肠道黏膜免疫系统分泌抗体、细胞因子等免疫分子,能有效地预防和治疗大肠杆菌引起的腹泻^[4-5],作为一种抗生素替代品,受到越来越多的关注。副干酪乳杆菌 NTU 101 可以缓解 *E. coli* O157:H7 感染造成的炎症相关因子的减少,增强抗原呈递细胞的活性^[6],从而抵抗 *E. coli*

O157:H7 的感染,并使感染后小鼠的体重迅速恢复正常^[7]。嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌广泛存在于人和一些动物的肠道中,通过竞争定殖位点,产生有机酸如乳酸和醋酸降低肠道 pH,产生细菌素、过氧化氢等抑制病原菌^[8]如致病性大肠杆菌和沙门氏菌的生长^[9];通过调节肠道微生物区系^[10-11]和增强机体免疫功能^[12-13],预防腹泻等肠道疾病的发生^[14],维护人类健康。

本实验以嗜酸乳杆菌 KLDS AD1 和瑞士乳杆菌 KLDS 1.870 为目标益生菌,通过感染大肠杆菌 O157:H7 致病和灌胃乳酸杆菌的方法,研究 BALB/c 小鼠在感染 *E. coli* O157:H7 期间及感染后补充嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌期间肠道内 SIgA 和 IL-2、IL-4、IL-6 和 IFN- γ 四种细胞因子的变化规律,从肠道黏膜免疫的角度初步探讨嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌对小鼠腹泻的治疗效果。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

大肠杆菌 O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43889),由黑龙江省出入境检验检疫局提供;嗜酸乳杆菌 KLDS AD1 (*Lactobacillus acidophilus* KLDS AD1)和瑞士乳杆菌 KLDS 1.8701 (*Lactobacillus helveticus* KLDS 1.8701),购自东北农业大学教育部乳品科学重点实验室菌种库;BALB/c 小鼠,雌性,清洁级,6-8 周,购自北京维通利华实验动物技术有限公司;保持饲养环境温度(23 \pm 2 $^{\circ}$ C),每天人工灯光照明 12 h,标准小鼠饲料喂养,自由饮水;小鼠分泌性免疫球蛋白 A (SIgA) ELISA 试剂盒和小鼠白细胞介素(IL-2、IL-4、IL-6、

IFN- γ) ELISA 试剂盒, 美国 R&D 公司。

电热恒温培养箱 DHP-9272, 上海一恒科技有限公司; 全自动高压灭菌锅 HVE-50HIRAYAMA, 天津市泰斯特仪器有限公司; Model 680 型酶标仪, 美国 Beckman 公司; 洁净工作台 VD-1320, 北京东联哈尔仪器制造有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 灌胃液的制备: 将培养至稳定期的嗜酸乳杆菌 KLDS AD1、瑞士乳杆菌 KLDS 1.8701 和大肠杆菌菌液 $5\ 000\times g$ 、 $4\ ^\circ C$ 离心 10 min 收集菌体, 无菌 PBS 清洗 3 次, 悬浮于一定体积的无菌 PBS, 调整菌浓度为 10^8 CFU/mL, $4\ ^\circ C$ 储存备灌胃^[15]。

1.2.2 实验动物设计: 实验将小鼠分成 3 组(空白组、致病对照组、嗜酸乳杆菌组和瑞士乳杆菌组), 每天中午 12:00 灌胃, 灌胃体积按 10 mL/kg (菌悬液/小鼠体重)进行^[16]。实验设计方案如表 1 所示。

1.2.3 小鼠的表象观测: 在实验小鼠灌胃期间, 每天观察并记录各组小鼠生长状态, 包括进食情况、外观毛发、粪便形态和体重。

1.2.4 小肠样本及处理方法: 在实验致病建模期间, 分别在第 1、3、5、7 和 8 天早上 9:00 (提前禁食)处死空白组和致病对照组小鼠(每组 3 只), 第 8 天开始补充益生菌后, 分别在第 9、11、13 和 15 天早上 9:00 (提前禁食)处死空白组、致病对照组、嗜酸乳杆菌组和瑞士乳杆菌组小鼠(每组 3 只), 解

剖取出小肠组织。

1.2.5 小鼠肠道黏膜中 SIgA 的测定: 将小肠纵向剪开, 用 5 mL 无菌 PBS 缓冲液冲洗小肠内容物, $10\ 000\times g$ 、 $4\ ^\circ C$ 离心 10 min, 取上清液一式多份, $-20\ ^\circ C$ 保存, 待所有样品收集完后用小鼠 SIgA ELISA 试剂盒检测^[17]。

1.2.6 小鼠肠黏膜中细胞因子的测定: 小肠称重后, 按照小肠:PBS=1:9 (质量体积比)的比例加入无菌 PBS 缓冲液(pH 7.2), 用组织匀浆器将其破碎, $5\ 000\times g$ 、 $4\ ^\circ C$ 离心 20 min, 取上清液一式多份, $-20\ ^\circ C$ 保存, 待所有样品收集完后用小鼠细胞因子(IL-2、IL-4、IL-6 和 IFN- γ) ELISA 试剂盒检测^[18-19]。

1.2.7 数据处理: 实验数据采用 $\bar{x}\pm s$ 示, SPSS 19.0 统计软件做 t 检验进行分析处理。以 0.05 作为差异显著性判断标准, 0.01 作为差异极显著性判断标准。

2 结果与讨论

2.1 乳酸杆菌对感染大肠杆菌 O157:H7 小鼠表象及体重的影响

在实验小鼠灌胃期间, 每天观察各组小鼠生长状态, 包括进食情况、外观毛发、粪便形态和体重。当小鼠出现水样稀便, 进食量减少或毛发无光泽时, 可以判断小鼠已经患病。本实验通过对小鼠的表象观察发现, 实验第 4 天, 致病小鼠开始精神萎靡, 毛发无光泽, 进食量减少, 出现水样粪便, 见图 1A, 表现出明显的病症, 说明病变模型建立成功。从第 8 天开始, 患病小鼠在分别灌胃嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌后进食量逐渐增加, 病症有所缓解, 第 15 天时粪便外观趋于正常, 见图 1B。小鼠体重变化见图 2。

由图 2 可知, 空白组小鼠体重保持相对稳定, 其它致病小鼠体重在开始灌胃大肠杆菌起就开始减少, 第 3 天致病组与空白组小鼠具有显著性差异。第 8 天对患病小鼠分别灌喂嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌后, 两组小鼠体重下降均有所缓解。其中, 嗜酸乳杆菌组小鼠在第 11 天才超过 7 d 时体重, 并

表 1 实验设计
Table 1 Experimental design

组别 Groups	动物数 Mice	饲喂安排 Feeding schedule	
		1-7 d	8-14 d
空白组 Normal control	27	PBS	PBS
致病对照组 Challenged control	27	大肠杆菌	PBS
嗜酸乳杆菌组 <i>L. acidophilus</i>	12	大肠杆菌	嗜酸乳杆菌
瑞士乳杆菌组 <i>L. helveticus</i>	12	大肠杆菌	瑞士乳杆菌

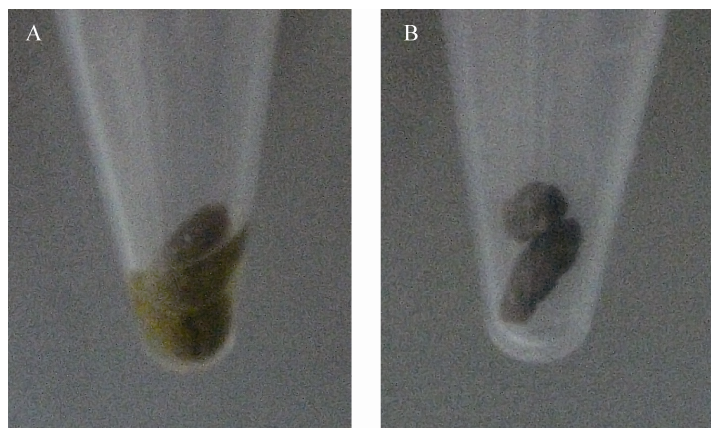


图 1 小鼠粪便形态

Figure 1 Fecal consistency of mice

注: A: 第 4 天时腹泻小鼠粪便的形态; B: 第 15 天时治疗小鼠粪便的形态.

Note: A: Feces of diarrhea mice on 4 d; B: Feces of treated mice on 15 d.

开始上升,在 15 d 时仍然低于致病前的初始体重,而瑞士乳杆菌组小鼠体重在第 9 天时就有所上升,并在第 15 天时达到初始体重。致病对照组小鼠体重在停止灌喂大肠杆菌后仍持续下降。说明瑞士乳杆菌可以缓解小鼠由于感染大肠杆菌 O157:H7 造成的体重减轻、腹泻等症状,而嗜酸乳杆菌的效果较缓慢。

2.2 乳酸杆菌对感染大肠杆菌 O157:H7 小鼠肠道黏膜免疫的影响

2.2.1 乳酸杆菌对感染大肠杆菌 O157:H7 小鼠肠黏膜 SIgA 的影响: SIgA 经肠黏膜上皮细胞释放到肠腔中不仅可以溶解细菌和抑制病原菌的定殖^[20], 还可以通过结合微生物等抗原形成抗原-抗体复合物^[21], 便于巨噬细胞的吞噬和清除, 同时, SIgA 可以中和病毒和毒素, 降低肠道感染的危害, 维护肠道健康^[22]。小鼠在前 7 天感染 *E. coli* O157:H7 及在第 8 天开始补充 2 株乳酸杆菌后肠道内 SIgA 的变化见图 3。

由图 3 可知, 空白组小鼠肠黏膜中 SIgA 的含量处于平稳水平; 与空白组相比, 小鼠在感染大肠杆菌 O157:H7 后小肠黏膜中 SIgA 的分泌量在第 3 天达到最高水平, 差异性极显著, 但在第 7 天开始明显下降, 并在第 11 天开始低于对照组, 在 13 d 时有显著差异; 第 8 天对感染大肠杆菌后的小

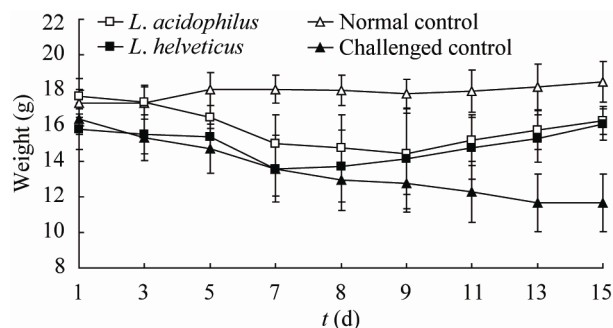


图 2 嗜酸乳杆菌对感染大肠杆菌 O157:H7 小鼠体重的影响

Figure 2 Effect of *Lactobacillus* on weight of mice infected with *E. coli* O157:H7

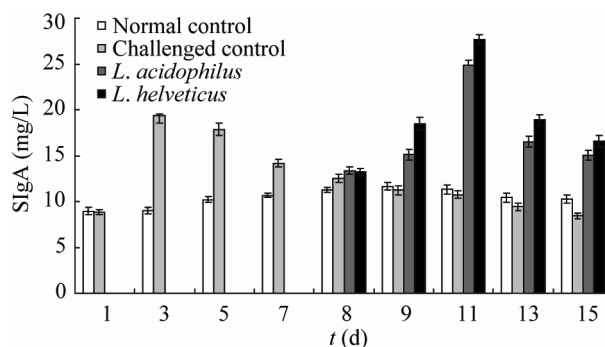


图 3 乳杆菌对小鼠小肠黏膜 SIgA 含量的影响

Figure 3 Effect of *Lactobacillus* on the content of SIgA in intestinal mucosa

鼠分别灌喂嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌,两组小鼠肠黏膜中 SIgA 含量在第 9 天均迅速增加,与空白组差异极显著,在第 11 天达到最高水平。两株乳酸杆菌引起的 SIgA 含量最大值远远高于大肠杆菌引起的最高水平,且瑞士乳杆菌组含量大于嗜酸乳杆菌组。

2.2.2 乳酸杆菌对感染大肠杆菌 O157:H7 小鼠肠黏膜 IFN- γ 含量的影响: IFN- γ 由 Th1 细胞分泌,不仅可以激活 NK 细胞,增强其抗病毒、抗肿瘤作用;同时还能抑制 B 细胞分泌 IgE,从而抑制 IgE 水平过高而导致的 I 型超敏反应的发生^[23],是一种具有重要免疫调节作用的细胞因子。小鼠在前 7 天感染 *E. coli* O157:H7 及在第 8 天开始补充乳酸杆菌后肠道内 IFN- γ 的变化见图 4。

由图 4 可知,小鼠在感染 *E. coli* O157:H7 后肠黏膜中 IFN- γ 的含量在第 3 天迅速上升并达到最大值,随后持续下降,在第 7 天低于空白组;第 8 天对致病小鼠分别灌喂瑞士乳杆菌和嗜酸乳杆菌,在第 9 天两组小鼠肠黏膜中 IFN- γ 含量迅速增加,与空白组和致病对照组具有极显著差异。其中瑞士乳杆菌组在第 9 天达到最大值,在 11 d 以后开始下降,嗜酸乳杆菌在 11 d 达到最大值。2 株乳酸杆菌引起的 IFN- γ 含量远远高于大肠杆菌 O157:H7 引起的最高值。

2.2.3 乳酸杆菌对感染大肠杆菌 O157:H7 小鼠肠黏膜 IL-2 含量的影响: IL-2 是一种调节体内免疫

反应的多肽类激素,主要由 T 细胞合成,可以缓解由于感染致病菌而引起的免疫抑制,降低炎症的负面影响^[24],IL-2 水平与 T 细胞免疫功能呈正态分布^[25]。

由图 5 可知,空白组小鼠肠黏膜中 IL-2 的含量虽有所变化,但波动不大;致病对照组小鼠在感染 *E. coli* O157:H7 后肠黏膜中 IL-2 含量在第 3 天迅速增加到最大值,在 7 d 后迅速减少,并在第 9 天低于空白组,差异极显著;致病小鼠分别灌喂嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌后肠黏膜中 IL-2 含量在第 9 天开始增加,嗜酸乳杆菌组在第 11 天达到最大值;瑞士乳杆菌组在 13 d 达到最大值,且两组含量均明显高于大肠杆菌引起的 IL-2 的增加,并在 15 d 仍明显高于空白组和致病对照组,具有极显著差异。

2.2.4 乳酸杆菌对感染大肠杆菌 O157:H7 小鼠肠黏膜 IL-4 含量的影响: 由图 6 可知,空白组小鼠肠黏膜中 IL-4 的含量处于相对平稳状态。致病对照组小鼠在感染大肠杆菌 O157:H7 后肠黏膜内的 IL-4 在第 3 天有所下降,在第 5 天增加,随后又下降,与空白组差异不明显;感染大肠杆菌 O157:H7 小鼠分别灌喂瑞士乳杆菌和嗜酸乳杆菌后肠黏膜中 IL-4 含量增加,并分别在 9 d 和 11 d 达到最大值,与其他空白组和致病对照组具有极显著差异。

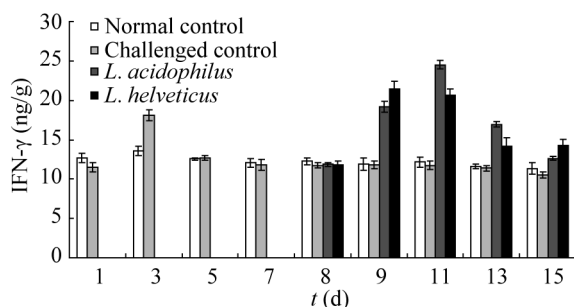


图 4 嗜酸乳杆菌对小鼠小肠黏膜 IFN- γ 含量的影响
Figure 4 Effect of *Lactobacillus* on the content of IFN- γ in intestinal mucosa

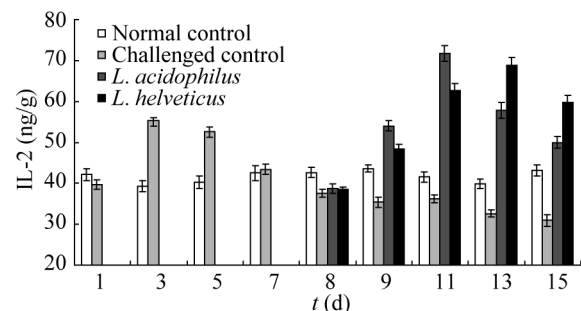


图 5 嗜酸乳杆菌对小鼠小肠黏膜 IL-2 含量的影响
Figure 5 Effect of *Lactobacillus* on the content of IL-2 in intestinal mucosa

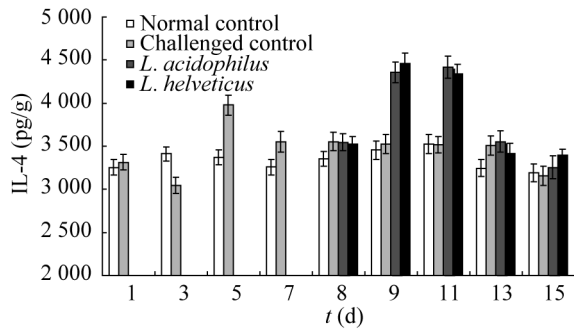


图 6 嗜酸乳杆菌对小鼠小肠黏膜 IL-4 含量的影响
Figure 6 Effect of *Lactobacillus* on the content of IL-4 in intestinal mucosa

2.2.5 乳酸杆菌对感染大肠杆菌 O157:H7 小鼠肠黏膜 IL-6 的影响: 由图 7 可知, 致病对照组小鼠在灌喂大肠杆菌 O157:H7 后肠黏膜内的 IL-6 在第 3 天开始增加, 并达到最高水平, 与对照组相比差异极显著, 随后逐渐下降, 并在第 11 天低于对照组; 感染大肠杆菌 O157:H7 小鼠后在第 8 天分别灌喂瑞士乳杆菌和嗜酸乳杆菌, 两组小鼠肠黏膜中 IL-6 含量均在第 9 天迅速增加, 其中瑞士乳杆菌在第 9 天达到最大值, 嗜酸乳杆菌在 11 d 达到最大值。两株乳酸杆菌组在第 15 天仍保持较高水平, 与空白组和致病对照组差异极显著。

2.3 讨论

小鼠在感染大肠杆菌后表现出一系列的病理变化, 如腹泻、食欲低下、精神萎靡, 体重明显下降等, 与自然发病的大肠杆菌病典型病例变化相似^[26]。乳酸杆菌的补充改善了小鼠的病症, 对体

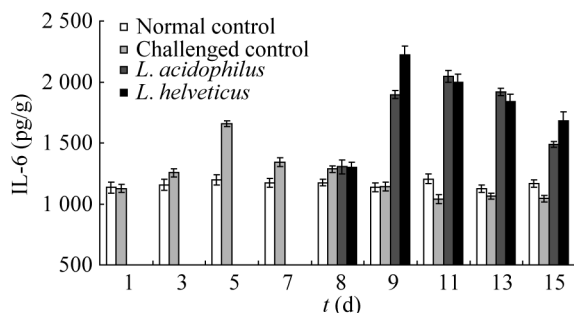


图 7 嗜酸乳杆菌对小鼠小肠黏膜 IL-6 含量的影响
Figure 7 Effect of *Lactobacillus* on the content of IL-6 in intestinal mucosa

重下降有一定的缓解作用, 但是与未感染大肠杆菌的小鼠体重相比, 仍有一定的差距, 说明乳酸杆菌的作用具有一定的延时性, 可能需要长期服用。与空白组相比, 小鼠在感染大肠杆菌后 SIgA、IL-2 和 IFN- γ 的水平在第 3 天达到最高点, 之后迅速下降, IL-4 和 IL-6 水平在第 5 天开始增加, 之后下降。表明, 小鼠机体在受到大肠杆菌刺激后会产生一定的免疫调节反应, 分泌细胞因子, 但是随着大肠杆菌的持续侵入, 小鼠肠道免疫机制遭到破坏, 使得细胞因子的分泌受到抑制。与空白组和致病对照组相比, 感染小鼠在灌喂嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌后, 肠道中 SIgA、IL-2、IFN- γ 、IL-4 和 IL-6 水平均显著提高, 且由嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌刺激所引起的 4 种细胞因子和 SIgA 的分泌量远远高于大肠杆菌所引起的分泌量, 并且分泌持续时间长。因此, 细胞因子的分泌量和分泌持续时间可能是导致大肠杆菌和乳酸杆菌所引起小鼠机体反应不同的原因之一。这些细胞因子在肠道免疫中发挥重要作用, 其中 SIgA 不仅能有效抑制肠道内蛋白酶的水解还能阻断致病菌及病毒在肠上皮的黏附及穿透, 从而有效防止腹泻的发生^[27]。益生菌可以通过正常机体内 TLR 与细胞因子来增强免疫反应。嗜酸乳杆菌通过 TLR9 来传导信号, 增加小鼠 PP 结中的 IFN- γ 阳性细胞的数量^[28]。瑞士乳杆菌则同时依赖 TLR2 和 TLR4 两种 TLR 受体来诱导 IL-6 的分泌^[29]。小鼠免疫水平的上升提高了其食欲和精神状况, 从而缓解了小鼠体重下降和腹泻现象。TLR5 可以识别大肠杆菌的鞭毛蛋白^[10,30], 虽然也能引发细胞因子的分泌, 但是分泌量和分泌持续时间与乳酸杆菌有所不同。因此两株乳酸杆菌可以通过调节细胞因子而调节免疫机制, 从而对大肠杆菌引起的疾病有一定的治疗作用, 这些结果与之前的研究结果相吻合^[14,17]。许多益生菌也已经被证实可以通过调节宿主免疫系统预防致病菌感染和疾病的发生。Ogawa 等证实了干酪乳杆菌可以增强局部免疫应答, 减少 *E. coli* O157:H7 毒素的产生^[31]。Perdigon 等证实干酪乳杆菌 CRL431 通过增强肠腔内 SIgA 的

分泌抑制沙门氏菌和大肠杆菌的感染^[32-33]。

3 结论

嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌能极显著提高感染大肠杆菌小鼠肠道内 SIgA 和肠黏膜中 IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ 的分泌量,并能延缓其下降速度,对小鼠体重下降和腹泻具有一定的缓解作用,可能与乳酸杆菌对肠道黏膜免疫具有增强作用有一定的关系。

参考文献

- [1] 杜崇涛. 大肠杆菌 O157噬菌体的分离鉴定及其初步应用[D]. 吉林: 吉林大学硕士学位论文, 2008.
- [2] 武金宝, 王继德, 张亚历. 肠黏膜屏障研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2003, 11(5): 619-623.
- [3] Jain S, Yadav H, Sinha PR. Probiotic dahi containing *Lactobacillus casei* protects against *Salmonella enteritidis* infection and modulates immune response in mice[J]. Journal of Medicinal Food, 2009, 12(3): 576-583.
- [4] Konstantinov SR, Smidt H, Akkermans ADL, et al. Feeding of *Lactobacillus sobrius* reduces *Escherichia coli* F4 levels in the gut and promotes growth of infected piglets[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 66(3): 599-607.
- [5] Taras D, Vahjen W, Macha M, et al. Performance, diarrhea incidence, and occurrence of *Escherichia coli* virulence genes during long-term administration of a probiotic *Enterococcus faecium* strain to sows and piglets[J]. Journal of Animal Science, 2006, 84(3): 608-617.
- [6] Tsai YT, Cheng PC, Liao JW, et al. Effect of the administration of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101 on Peyer's patch-mediated mucosal immunity[J]. International Immunopharmacology, 2010, 10(7): 791-798.
- [7] Tsai YT, Cheng PC, Pan TM. Immunomodulating activity of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101 in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7-infected mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(21): 11265-11272.
- [8] Kailasapathy K, Chin J. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp.[J]. Immunology and Cell Biology, 2000, 78(1): 80-88.
- [9] 田芬, 陈俊亮, 粘靖祺, 等. 嗜酸乳杆菌和双歧杆菌益生特性的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(7): 139-142.
- [10] Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic actions—a review[J]. International Journal of Medical Microbiology, 2010, 300(1): 57-62.
- [11] Wohlgemuth S, Loh G, Blaut M. Recent developments and perspectives in the investigation of probiotic effects[J]. International Journal of Medical Microbiology, 2010, 300(1): 3-10.
- [12] Van Baarlen P, Wells JM, Kleerebezem M. Regulation of intestinal homeostasis and immunity with probiotic lactobacilli[J]. Trends in Immunology, 2013, 34(5): 208-215.
- [13] Konstantinov SR, Smidt H, De Vos WM, et al. S layer protein A of *Lactobacillus acidophilus* NCFM regulates immature dendritic cell and T cell functions[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2008, 105(49): 19474-19479.
- [14] Tsai YT, Cheng PC, Pan TM. The immunomodulatory effects of lactic acid bacteria for improving immune functions and benefits[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 96(4): 853-862.
- [15] Dogi CA, Galdeano CM, Perdigon G, et al. Gut immune stimulation by non pathogenic Gram(+) and Gram(-) bacteria. Comparison with a probiotic strain[J]. Cytokine, 2008, 41(3): 223-231.
- [16] Yang H, Liu S, Ibrahim SA, et al. Oral administration of live *Bifidobacterium* substrains isolated from healthy centenarians enhanced immune function in BALB/c mice[J]. Nutrition Research, 2009, 29(4): 281-289.
- [17] LeBlanc J, Fliss I, Matar M, et al. Induction of a humoral immune response following an *Escherichia coli* O157:H7 infection with an immunomodulatory peptidic fraction derived from *Lactobacillus helveticus*-fermented milk[J]. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 2004, 11(6): 1171-1181.
- [18] Salva S, Villena J, Alvarez S. Immunomodulatory activity of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from goat milk: Impact on intestinal and respiratory infections[J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 141(1): 82-89.
- [19] 贾玉臣, 陈庆森, 王友湘, 等. 瑞士乳杆菌对小鼠肠道黏膜免疫应答及细胞因子的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(23): 335-339.
- [20] 王友湘, 陈庆森. 益生菌和肠道黏膜免疫关系的研究进展[J]. 食品科学, 2007, 28(8): 537-542.
- [21] Delcenserie V, Martel D, Lamoureux M, et al. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract[J]. Current Issues in Molecular Biology, 2008, 10(1/2): 37-54.
- [22] 李伟, 陈庆森. 肠道黏膜免疫屏障及其菌群与机体健康关系的研究进展[J]. 食品科学, 2008, 29(10): 649-655.
- [23] 姜艳美, 王加启, 邓露芳, 等. 益生菌对宿主体免疫调节作用研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2008(3): 139-142.
- [24] 孙磊, 郭永明, 李政霞. IL-2对肺癌化疗耐药影响的研究进展[J]. 中华实用医药杂志, 2011, 11(1): 23-24.
- [25] 口锁堂, 吴焕淦, 施达仁. 白介素与溃疡性结肠炎[J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(4): 405-411.
- [26] 任玉红, 黄素珍. 肉仔鸡急性大肠杆菌病病理学观察[J]. 肉品卫生, 1997(10): 1-3.
- [27] Famularo G, Moretti S, Marcellini S, et al. Stimulation of immunity by probiotics[A]//Probiotics 2: Applications and practical aspects[M]. London: Chapman & Hall, 1997: 133-161.

- [28] Dogi CA, Weill F, Perdigon G. Immune response of non-pathogenic Gram(+) and Gram(-) bacteria in inductive sites of the intestinal mucosa: Study of the pathway of signaling involved[J]. Immunobiology, 2010, 215(1): 60-69.
- [29] Vinderola G, Matar C, Perdigon G. Role of intestinal epithelial cells in immune effects mediated by gram-positive probiotic bacteria: involvement of toll-like receptors[J]. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 2005, 12(9): 1075-1084.
- [30] Maynard CL, Elson CO, Hatton RD, et al. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system[J]. Nature, 2012, 489(7415): 231-241.
- [31] Ogawa M, Shimizu K, Nomoto K, et al. Protective effect of *Lactobacillus casei* strain shirota on shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 infection in infant rabbits[J]. Infection and Immunity, 2001, 69(2): 1101-1108.
- [32] Perdigón G, Alvarez S, De Ruiz Holgado AP. Immunoadjuvant activity of oral *Lactobacillus casei*: influence of dose on the secretory immune response and protective capacity in intestinal infections[J]. Journal of Dairy Research, 1991, 58(4): 485-496.
- [33] Gobbato N, Maldonado Galdeano C, Perdigón G. Study of some of the mechanisms involved in the prevention against *Salmonella enteritidis* serovar Typhimurium infection by lactic acid bacteria[J]. Food and Agricultural Immunology, 2008, 19(1): 11-23.

征 稿 简 则

1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的,以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:工业微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、基础微生物学、农业微生物学、食品微生物学、兽医微生物学、药物微生物学、医学微生物学、病毒学、酶工程、发酵工程、代谢工程等领域的最新研究成果,产业化新技术和新进展,以及微生物学教学研究和改革等。设置的栏目有:研究报告、专论与综述、生物实验室、高校教改纵横、名课讲堂、教学与科研成果展示、显微世界、专题专栏、专家论坛、书讯、会讯等。

2 投稿方式

投稿时请登陆我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>, 点击作者投稿区,第一次投稿请先注册,获得用户名和密码,然后依照提示提交稿件,详见主页“投稿须知”。

作者必须在网站投.doc 格式的电子稿,凡不符合(投稿须知)要求的文稿,本部恕不受理。

3 写作要求

来稿要求论点明确,数据可靠,简明通顺,重点突出。

3.1 图表

文中的图表须清晰简明,文字叙述应避免与图表重复。所有小图的宽度应小于 8 cm (占半栏),大图的宽度应小于 17 cm (通栏)。

3.2 参考文献及脚注

参考文献按文内引用的先后顺序排序编码,未公开发表的资料请勿引用。我刊的参考文献需要注明著者(文献作者不超过 3 人时全部列出,多于 3 人时列出前 3 人,后加“等”或“et al.”,作者姓前、名后,名字之间用逗号隔开)、文献名、刊名、年卷期及页码。国外期刊名必须写完整,不用缩写,不用斜体。参考文献数量不限。

参考文献格式举例:

期刊: [1] 刘杰,成子强,史宣玲. SARS 冠状病毒 *nsp14* 基因的克隆和表达[J]. 微生物学通报, 2007, 34(2): 1-3.

[2] Kajiura H, Mori K, Tobimatsu T, et al. Characterization and mechanism of action of a reactivating factor for adenosylcobalamin-dependent glycerol dehydratase[J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(39): 36514-36519.

图书: [3] 钱存柔,黄仪秀. 微生物实验教程[M]. 北京: 北京大学出版社, 2000: 4.

[4] 董志扬,张树政,方宣钧,等. 海藻的生物合成及抗逆机理//华珞等. 核农学进展[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 115-120.

脚注(正文首页下方):

基金项目: 基金项目(No.)

*通讯作者: Tel: ; Fax: ; E-mail:

收稿日期: 2014-00-00; 接受日期: 2014-00-00; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-00-00

(下转 p.2099)