

一株传统发酵食品来源乳杆菌的分离鉴定及辅助降血糖作用评价

毕云枫¹, 王善红¹, 赵子健², 杨 舸², 赵玉娟², 王 超², 段翠翠², 李盛钰^{2*}

(1. 吉林农业大学食品科学与工程学院, 长春 130118; 2. 吉林省农业科学院农产品加工研究所, 长春 130033)

摘要:采用 API 50 CHL 鉴定系统和 16S rDNA 序列比对方法鉴定菌株。利用高脂饲料结合链脲佐菌素建立小鼠糖尿病模型, 通过测定小鼠空腹血糖值、血脂、抗氧化指标、胰岛素等指标, 评价菌株 CH126 的辅助降血糖作用。结果表明: 综合 API 50 CHL 和 16S rDNA 序列分析结果鉴定菌株 CH126 为植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*)。II 型糖尿病小鼠灌胃植物乳杆菌 CH126 后, 与模型组相比, CH126 组能显著降低小鼠的空腹血糖值、血脂水平, 抑制氧化应激损伤, 改善肠道屏障功能, 提高胰岛素水平。综合以上数据表明植物乳杆菌 CH126 是具有辅助降血糖功能的益生菌。

关键词: 益生菌; 植物乳杆菌 CH126; 鉴定; 降血糖

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2020)06-0110-05

Isolation and Identification of a *Lactobacillus* Strain from Traditional Fermented Food and Evaluation of Its Auxiliary Hypoglycemic Effect

BI Yunfeng¹, WANG Shanhong¹, ZHAO Zijian², YANG Ge², ZHAO Yujuan², WANG Chao², DUAN Cuicui², LI Shengyu^{2*}

(1. College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118; 2. Institute of Agro-food Technology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: API 50 CHL identification system and 16S rDNA sequence alignment method were used to identify the strain. The model of diabetes mellitus in mice was established by high fat diet combined with streptozotocin. The auxiliary hypoglycemic effect of strain CH126 was evaluated by measuring fasting blood glucose, blood lipid, antioxidant index and insulin. The results showed that: the strain CH126 was identified as *Lactobacillus plantarum* by combining API 50 CHL and 16S rDNA sequence analysis. Compared with model group, *L. plantarum* CH126 could significantly reduce fasting blood glucose and blood lipid levels, inhibit oxidative stress injury, improve intestinal barrier function, and increase insulin level. The above data indicate that *L. plantarum* CH126 is a probiotic with the function of reducing blood sugar.

Key words: Probiotic; *Lactobacillus plantarum* CH126; Identification; Hypoglycemic activity

益生菌 (probiotic) 是指摄入一定的量, 对宿主健康有促进作用的活的微生物, 主要包括乳杆菌 (*Lactobacilli*) 和双歧杆菌 (*Bifidobacteria*)^[1]。其中包括植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) 在内的 14 种乳杆菌已被我国国家卫计委列入可食用的

微生物菌种名单。乳杆菌在预防和治疗腹泻^[2]、抗氧化^[3]、改善乳糖不耐受^[4]、提高免疫力^[5]、抗过敏^[6]等方面发挥着重要生理功能。乳杆菌在预防和治疗代谢调控类疾病中发挥重要作用, 如改善肠道黏膜屏障功能^[7]、降血脂^[8-9]、抗动脉粥样硬化^[10]、减肥^[11]等。糖尿病与高血脂、肥胖症等同属代谢紊乱类疾病, 且密切相关。最新研究发现, 一些乳杆菌具有辅助降血糖作用, 其降糖机制主要包括: 改善肠道黏膜屏障功能^[7]、促进胰岛素分泌和提高胰岛素敏感性、调节血脂代谢、降低慢性低度炎症等^[12-13]。辅助降血糖益生菌具有公认的食用安全性, 并能减少胰岛素或降糖药物的用量及降低糖尿病合并症的发病等, 其降血糖作用已经得到

收稿日期: 2018-12-11

基金项目: 吉林省农业科技创新工程重大项目 (CXGC2017ZD011); 国家现代农业 (奶牛) 产业技术体系建设专项项目 (CARS-36); 长春市产学研协同创新示范点建设专项项目 (16CX20)

作者简介: 毕云枫 (1976-), 男, 副教授, 博士, 主要从事食品酶学与保健食品研究。

通讯作者: 李盛钰, 男, 博士, 副研究员, E-mail: lisy720@126.com

动物实验和临床证实,但作用机制研究有待进一步探讨。

本课题组从延边传统发酵辣萝卜中分离出一株新的乳酸菌,通过耐酸、耐胆盐、黏附特性、抗生素敏感性等实验发现该菌株具有良好的益生特性和黏附特性,本文对乳杆菌 CH126 进行生物学鉴定,同时探讨该菌株的辅助降血糖功能,为该菌株后续的产品开发和应用提供理论支持。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

SPF 级健康雄性 C57BL/6J 小鼠(长春市亿斯实验动物技术有限责任公司),牛胆盐、溶菌酶(北京鼎国昌盛生物技术有限公司),链脲佐菌素(STZ)(北京索莱宝科技有限公司),蛋白酶 K(美国 merk 公司),DNA Marker、引物合成(上海生物工程公司),EX taq 酶(日本 TaKaRa 公司),甘油三酯(TG)、试剂盒总胆固醇(TC)(南京建成生物工程研究所),丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、小鼠低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、过氧化氢酶(CAT)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、内毒素(ET)、游离脂肪酸(FFA)、胰岛素(INS)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、D-乳酸(D-Lactate) ELISA 试剂盒(上海江莱生物科技有限公司),API50CHL 其余所用试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

Sorvall Evolution RC 型高速冷冻离心机(美国 Thermo 公司),PCR 仪(德国 effendorf 公司),无菌超净工作台(哈尔滨东联电子技术开发有限公司),卓越型血糖仪(德国 Roche 诊断有限公司),ELx800 型全自动酶标仪(美国 BioTek 公司),高压蒸汽灭菌锅(日本 Sanyo 公司),pH 计(德国 Sartorius 公司)。

1.3 方法

1.3.1 菌株的分离与鉴定

菌株 CH126 是从延边传统发酵辣萝卜中自主分离得到,经菌落形态观察、革兰氏染色镜检及过氧化氢酶触试验等初步鉴定为乳杆菌(*Lactobacilli*)。采用梅里埃公司的 API 50 CHL 鉴定系统对乳杆菌 CH126 的发酵试验进行分析,具体操作按说明书进行,将碳水化合物发酵试验结果记录形成生化图谱,利用 API LAB PLUS (BioMérieux, France) 软件进行判定^[4]。同时采用改良 CTAB 法提取乳杆菌 CH126 的基因组 DNA,PCR 扩增乳杆菌 16S rDNA^[5],经纯化、测序并利用 BLAST 与

GenBank 库中已知菌株的序列信息进行同源性比对,鉴定菌株。使用 MEGA 6.0 软件对乳杆菌 CH126 的 16S rDNA 序列与标准序列进行系统发育分析,并采用 Neighbor-Joining 法绘制系统发育树。

1.3.2 菌株培养

使用前将乳杆菌 CH126 冻干粉接种至 MRS 液体培养基连续活化 3 代。菌株活化后接种于 MRS 液体培养基中,37℃ 培养 16 h,6 000 r/min,4℃ 离心 8 min,弃上清,菌泥利用灭菌的生理盐水洗涤 2 次后重悬,根据预实验中 OD_{600nm} 及平板计数结果,调整菌液浓度为 1×10⁹ CFU/mL,1×10¹⁰ CFU/mL,4℃ 冰箱保存。

1.3.3 乳杆菌 CH126 辅助降血糖作用研究

1.3.3.1 II 型糖尿病小鼠模型建立及分组

60 只 SPF 级健康雄性 C57BL/6J 小鼠,经普通饲料适应性喂养一周后,随机选取 10 只小鼠作为空白对照组,空白对照组从试验开始至结束均采用普通饲料饲喂;剩余 50 只小鼠连续 8 周饲喂高脂饲料,8 周后测定小鼠体重值,体重值增加超过空白对照组平均体重值 20% 即选定为肥胖模型,去除未成模小鼠,剩余小鼠空腹 12 h 后,连续三次腹腔注射链脲佐菌素 40 mg/kg;饲喂基础饲料 1 周(第 9 周)后,测定小鼠空腹血糖值(fasting blood glucose, FBG),其数值大于 11.1 mmol/L 即判定为 II 型糖尿病造模成功,去除未成模小鼠。从 II 型糖尿病模型小鼠中随机选取 30 只分为三组,每组 10 只,分为模型组、二甲双胍组、CH126 组,饲喂基础饲料(第 10 周~13 周),其中,二甲双胍组小鼠每天灌胃二甲双胍 120 mg/kg;CH126 组小鼠每天灌胃植物乳杆菌 CH126(1.0×10⁹ CFU/mL) 12 mL/kg;空白对照组和模型组小鼠每天灌胃 12 mL/kg 无菌 PBS 缓冲液。

1.3.3.2 小鼠血糖值测定

分别于实验的第 10 周、第 11 周、第 12 周和第 13 周,小鼠每天禁食不禁水 12 h,尾静脉采血测定小鼠空腹血糖值,并计算该周的平均值。

1.3.3.3 血清指标测定

实验第 13 周末结束后,小鼠禁食不禁水 12 h,摘眼球取血,3 000 r/min,4℃,离心 10 min,收集血清,-80℃ 冻存备用。按照试剂盒说明书检测小鼠血清中 MDA、HDL、SOD、TG、CAT、LDL、TC、GSH-Px、D-Lac、FFA、ET、INS 等指标。

1.3.4 统计分析

实验数据处理采用 SPSS 23.0 统计分析,结果

以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各实验组间数据采用方差比较分析。以 P 值表示统计学差异, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 乳杆菌 CH126 的分离鉴定

乳杆菌 CH126 在 MRS 琼脂培养基中生长良好,菌落呈圆形、乳白色,表面凸起、光滑,边缘整齐。采用 API 50 CHL 鉴定系统对分离菌株 CH126 进行 49 种碳水化合物的发酵鉴定,试验结果利用 API LAB PLUS 软件判定为植物乳杆菌,属于极好的鉴定 ($\%id \geq 99.9$)。

采用改良的 CTAB 法提取乳杆菌的基因组 DNA,经琼脂糖电泳检测(图 1A)呈清晰、单一条带,较为完整且纯度较高。利用课题组设计的乳杆菌 16S rDNA 引物对该基因组进行 PCR 扩增,产物经琼脂糖电泳检测(图 1B)在 1 500 bp 处出现单一荧光条带,与目标片段长度一致。利用 EZ-10 柱式 PCR 产物纯化试剂盒将扩增的 16S rDNA 片段回收、测序,获得的基因 16S rDNA 序列信息利用 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) BLAST 软件在

线分析进行同源性比对,结果发现该菌株与植物乳杆菌 L2 (Genebank: MH916634.1)、植物乳杆菌 P1-2 (Genebank: LC424332.1) 等序列的同源性达 99%,因此将菌株 CH126 鉴定为植物乳杆菌。植物乳杆菌 CH126 16S rDNA 序列系统发育树如图 2 所示,植物乳杆菌 CH126 与植物乳杆菌模式菌株 *L. plantarum* L12、*L. plantarum* WCFS1、*L. plantarum* P1-2 聚在同一分支上,因此同源性接近,而与 *L. brevis* strain ATCC 14687、*L. casei* stain ATCC 393、*L. fermentum* CECT 562 处于不同分支,同源关系较远,进一步印证了 16S rDNA 序列鉴定的结果。

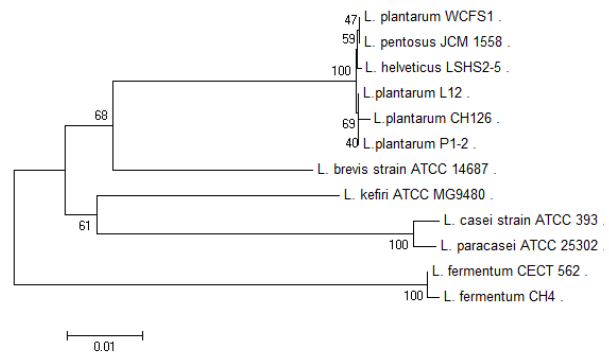


图 2 基于 16S rDNA 基因序列的系统发育树

综合 API 50 CHL 和 16S rDNA 序列分析结果,将乳杆菌 CH126 鉴定为植物乳杆菌。

2.2 植物乳杆菌 CH126 辅助降血糖作用研究

2.2.1 植物乳杆菌 CH126 对 II 型糖尿病小鼠空腹血糖浓度的影响

与空白对照组相比,第 10 周时模型组小鼠空腹血糖浓度明显升高,且随后几周趋于稳定,说明高脂饮食结合链脲佐菌素建立 II 型糖尿病小鼠模型成功;与模型组相比,CH126 组小鼠空腹血糖浓度明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),但高于二甲双胍组(表 1)。在实验过程中,CH126 组血糖值呈下降趋势,从第 11 周开始,小鼠空腹血糖值得到

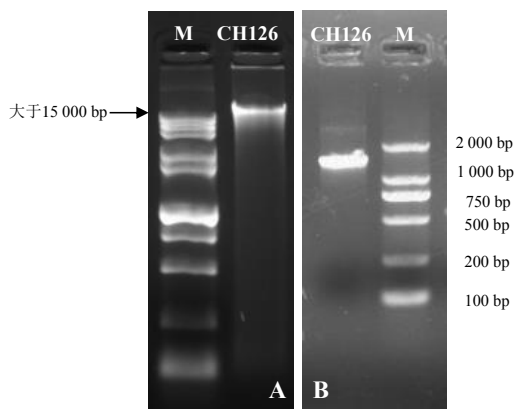


图 1 植物乳杆菌 CH126 基因组 DNA (A) 及 16S rDNA 基因扩增 (B) 电泳图谱

表 1 植物乳杆菌 CH126 对 II 型糖尿病小鼠空腹血糖值的影响

组别	空腹血糖浓度			
	第 10 周	第 11 周	第 12 周	第 13 周
空白对照组	6.21±0.24	6.75±0.31	6.75±0.11	6.64±0.21
模型组	19.00±0.41	18.95±1.24	18.17±0.58	18.77±1.02
二甲双胍组	17.17±0.36*	16.26±0.64**	12.95±0.43**	10.47±0.36**
CH126 组	18.06±1.01*	16.43±0.87**	14.13±0.14**	12.35±0.32**

注:与模型组相比,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$,下同

明显抑制 ($P < 0.01$)。上述结果证明,植物乳杆菌 CH126 能显著降低 II 型糖尿病小鼠的空腹血糖浓度,对高血糖症有一定的治疗作用。

2.2.2 植物乳杆菌 CH126 对 II 型糖尿病小鼠血脂水平的影响

由表 2 可以看出,模型组小鼠血清中 TC、TG、

表2 植物乳杆菌 CH126 对 II 型糖尿病小鼠血脂水平的影响

组别	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL (μ mol/L)	LDL (μ mol/L)
空白对照组	1.16±0.22	4.37±0.35	6.20±1.03	0.42±0.19
模型组	1.48±0.27	5.50±0.46	5.58±0.76	0.70±0.26
二甲双胍组	1.21±0.15*	4.72±0.28**	6.13±0.84**	0.46±0.17**
CH126 组	1.28±0.31*	4.76±0.20**	6.49±0.91**	0.58±0.25

LDL 含量较空白对照组明显升高, HDL 含量降低, 说明高脂饮食能够引起小鼠体内血脂代谢紊乱; 与模型组相比, CH126 组小鼠血清中 TC、TG 含量显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), HDL 含量显著升高 ($P<0.01$)。表明植物乳杆菌 CH126 能明显改善 II 型糖尿病小鼠的高血脂症状。

2.2.3 植物乳杆菌 CH126 对 II 型糖尿病小鼠血清中抗氧化指标的影响

如表 3 所示, 与空白对照组相比, 模型组小鼠

血清中 MDA 水平升高, SOD、CAT、GSH-Px 水平降低, 提示 II 型糖尿病所引起的过氧化损伤能够导致模型组小鼠抗氧化活力下降; 与模型组相比, CH126 组小鼠血清中 MDA 含量降低, SOD、CAT、GSH-Px 活力均明显提高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 且总体水平接近二甲双胍组。表明植物乳杆菌 CH126 能够抑制 II 型糖尿病小鼠血清中 MDA 活力, 显著提高 SOD、CAT 和 GSH-Px 活性, 明显抑制糖尿病造成的氧化损伤。

表3 植物乳杆菌 CH126 对 II 型糖尿病模型小鼠血清中抗氧化指标的影响

组别	MDA (nmol/mL)	SOD (U/mL)	CAT (U/mL)	GSH-Px (nmol/mL)
空白对照组	2.88±0.34	59.17±2.99	25.82±4.16	145.37±10.24
模型组	4.42±0.64	40.34±6.51	14.75±3.01	69.54±6.35
二甲双胍组	3.15±0.57*	57.14±9.16**	24.75±4.26**	99.42±8.17**
CH126 组	3.58±0.39	56.48±4.32**	23.89±1.94**	91.24±5.65*

2.2.4 植物乳杆菌 CH126 对 II 型糖尿病小鼠血清中 D-Lac、FFA、ET 水平的影响

与空白对照组相比, 模型组小鼠血清中 D-Lac、FFA、ET 水平升高; 与模型组相比, CH126 组小鼠血清中 D-Lac、FFA 水平分别下降到 2.17 μ mol/mL、

689.27 μ g/L, ET 水平降低到 71.34 EU/L ($P<0.05$) (表 4)。与空白对照组相比, 模型组小鼠血清中胰岛素水平降低; 与模型组相比, CH126 组小鼠血清中胰岛素水平显著升高 ($P<0.05$)。

表4 植物乳杆菌 CH126 对 II 型糖尿病小鼠血清中 D-Lac、FFA、ET、INS 水平的影响

组别	D-Lac (μ mol/mL)	FFA (μ g/L)	ET (EU/L)	INS (mU/L)
空白对照组	1.96±0.23	567.14±6.48	59.47±4.92	39.92±0.89
模型组	3.05±0.47	722.48±5.34	82.16±5.84	24.38±0.7
二甲双胍组	2.11±0.26*	665.38±4.67	64.55±7.69**	34.73±0.54
CH126 组	2.17±0.38*	689.27±4.59	71.34±6.60*	30.57±0.64*

3 讨论

肥胖是诱发 II 型糖尿病的重要因素, 肥胖引起的血脂指标变化可以作为糖尿病改善的重要参考依据。本研究以高脂饲料结合 STZ 建立糖尿病模型, 评价植物乳杆菌 CH126 对 II 型糖尿病模型鼠脂质谱的影响。连续灌胃植物乳杆菌 CH126 菌液, 显著改善 II 型糖尿病模型鼠 TC、TG、LDL 和 HDL 值。一些研究也证实益生菌能显著改善 II 型糖尿病实验模型的血脂指标。Tabusi 等^[16]研究发

现益生菌发酵骆驼奶能显著降低 II 型糖尿病大鼠的 TC、TG、LDL-C 及空腹血糖的水平, 通过调节脂质代谢及改善胰岛 β 细胞的功能而参与血糖的调节。食用含有嗜酸杆菌 La5 和乳酸杆菌 Bb12 的益生菌酸奶可以降低 II 型糖尿病患者血清 TC 和 LDL-C 浓度^[17]。Wacim 等^[18]研究显示, 口服植物乳杆菌 TN627 后可降低 TC、TG 及 LDL-C 的水平, 增加 HDL-C 的水平, 能有效预防成年大鼠的糖尿病并发症。含嗜酸乳杆菌和干酪乳杆菌的益生菌 dahi 显著抑制高果糖诱导的糖尿病动物总胆固

醇、LDL-C 和 VLDL-C 水平的升高,并改善 HDL-C 的降低^[19]。这些报道与本研究结果一致。

II 型糖尿病患者肠道菌群改变,肠道屏障功能受损,导致脂多糖吸收入血,使其长期处于慢性低度炎症。D-乳酸是肠道固有细菌的代谢产物,血液中的 D-乳酸菌基本上来源于肠道。II 型糖尿病患者肠道屏障功能受损,D-乳酸透过肠道黏膜进入血液循环,使血液 D-乳酸水平增高。D-乳酸水平可作为检测 II 型糖尿病患者肠道屏障通透性,判断肠道内毒素和细菌易位的指标^[20-21]。本研究结果表明,II 型糖尿病模型鼠血清内毒素和 D-乳酸浓度明显增加,直接表明肠道通透性改变。饲喂植物乳杆菌 CH126 可显著降低 D-乳酸浓度。据此推测,CH126 通过改善肠上皮的屏障功能,对 II 型糖尿病引起的肠道屏障功能损伤具有一定的保护作用,这可能是从血液中清除内毒素和 D-乳酸的结果。

本研究通过体外实验分析,证明了辅助降糖植物乳杆菌 CH126 是一株具有优良益生特性的益生菌新菌株。植物乳杆菌 CH126 可以通过降低空腹血糖、改善血脂代谢紊乱,提高抗氧化能力,改善肠道屏障功能,促进胰岛素分泌,达到辅助降血糖的目的。综上所述,植物乳杆菌 CH126 可应用于糖尿病人群辅助调节血糖的健康食品中。

参考文献:

- [1] M Araya, L Morelli, G Reid, et al. Guidelines for the evaluation of probiotics in food[R]. London Ontario, 2002.
- [2] Tiwari G, Tiwari R, Pandey S, et al. Promising future of probiotics for human health: Current scenario[J]. Drug Discovery and Therapeutics, 2012, 3(1):17-28.
- [3] Orlando A, Refolo M G, Messa C, et al. Antiproliferative and proapoptotic effects of viable or heat-killed *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 and *Lactobacillus rhamnosus* GG in HGC-27 gastric and DLD-1 colon cell lines[J]. Nutrition & Cancer, 2012, 64(7):1103-1111.
- [4] Elbanna K, Hadad S E, Assaeedi A, et al. In vitro and in vivo evidences for innate immune stimulators lactic acid bacterial starters isolated from fermented camel dairy products[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 12553.
- [5] Kourelis A, Zinonos I, Kakagianni M, et al. Validation of the dorsal air pouch model to predict and examine immunostimulatory responses in the gut[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 108(1): 274-284.
- [6] Parvez S, Malik K, Kang S, et al. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 100(6):1171-1185.
- [7] Kerry R G, Patra J K, Gouda S, et al. Benefaction of probiotics for human health: A review[J]. Journal of Food & Drug Analysis, 2018,26(3):927-939
- [8] Lau K, Benite P, Ardisson A, et al. Inhibition of type 1 diabetes correlated to a *Lactobacillus johnsonii* N6. 2-mediated Th17 bias [J]. Journal of Immunology, 2011, 186(6): 3538-3546.
- [9] Pereira D I, Gibson G R. Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(9): 4689-4693.
- [10] Chen L, Liu W, Li Y, et al. *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 attenuates the atherosclerotic progression through modulation of oxidative stress and inflammatory process[J]. International Immunopharmacology, 2013, 17(1):108-115.
- [11] Grethel T, Choque D, Wirla M S C, et al. Role of prebiotics in regulation of microbiota and prevention of obesity[J]. Food Research International, 2018, 113:183-188.
- [12] Kobyliak N, Conte C, Cammarota G, et al. Probiotics in prevention and treatment of obesity: a critical view[J]. Nutrition & metabolism, 2016, 13(1):14.
- [13] Zhang Q, Wu Y, Fei X. Effect of probiotics on glucose metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Medicina, 2016, 52(1):28-34.
- [14] 张雪,李达,赵玉娟,等.内蒙古奶豆腐中产胞外多糖乳酸菌的分离筛选[J].食品科学,2010,31(1):141-144.
- [15] 赵玉娟,李盛钰,牛春华,等.鼠李糖乳杆菌 JAAS8 胞外多糖聚合和转运相关基因的克隆及生物信息学分析[J].基因组学与应用生物学,2010,29(3):447-452.
- [16] Manaer T, Lan Y, Yi Z, et al. Anti-diabetic effects of shubat in type 2 diabetic rats induced by combination of high-glucose-fat diet and low-dose streptozotocin[J].Journal of Ethnopharmacology, 2015, 169:269-274.
- [17] Ejtahed H S, Mohtadi-Nia J, Homayouni-Rad A, et al. Effect of probiotic yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* on lipid profile in individuals with type 2 diabetes mellitus[J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94(7): 3288-3294.
- [18] Wacim B, Khaled H, Riadh B S, et al. *Lactobacillus plantarum* TN627 significantly reduces complications of alloxan-induced diabetes in rats[J]. Anaerobe, 2013, 24(12):4-11.
- [19] Yadav H, Jain S, Sinha P R. Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats[J]. Nutrition, 2007, 23(1):62-68.
- [20] Sandoe J A T, Witherden I R, Wilcox M H, et al. Correlation between enterococcal biofilm formation in vitro and medical device-related infection potential in vivo[J]. Journal of Medical Microbiology, 2003, 52(7):547-550.
- [21] 程君涛,肖光夏,冯智,等.腹内高压致肠黏膜屏障损伤的实验研究[J].中华烧伤杂志,2006,22(2):83-87.

(责任编辑:王丝语)