

本文引文格式:管爱星,黄玉存,黄干荣,等. 益生菌的不同组合体外抗幽门螺杆菌作用的实验研究[J]. 右江民族医学院学报, 2023, 45(2): 208-212, 217.

【论著与临床报道】

益生菌的不同组合体外抗幽门螺杆菌作用的实验研究

管爱星^{1,5}, 黄玉存¹, 黄干荣^{2,3,4}, 覃艳春^{2,3,4}, 罗家镮^{2,3,4},
黄亮², 黄衍强^{2,3,4}, 黄赞松^{2,3,4,5}

1. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000;
2. 右江民族医学院基础医学院, 广西 百色 533000;
3. 广西病原微生物耐药防控科技创新合作基地, 广西 百色 533000;
4. 广西高校耐药微生物感染防治研究重点实验室, 广西 百色 533000;
5. 右江民族医学院附属医院消化内科, 广西 百色 533000)

摘要:目的 探索单种益生菌及两种益生菌联合对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的抗菌效果, 寻找最佳的抑菌组合。方法 用枯草芽孢杆菌、弯曲乳酸杆菌、嗜酸乳杆菌、粪肠球菌、长双歧杆菌等益生菌单独或两两联合与 *H. pylori* 共培养, 测量益生菌对 *H. pylori* 的抑菌圈直径, 并探索不同比例益生菌联合对 *H. pylori* 标准菌株和耐药菌株的抗菌效果。结果 单种的益生菌对 *H. pylori* 的抑制, 枯草芽孢杆菌的抑制效果较好。与单种益生菌相比, 枯草芽孢杆菌+嗜酸乳杆菌组合对耐药菌株的抑菌圈直径明显增大, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 益生菌不同比例混合, 枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=1:1比枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=1:10效果好($P < 0.05$), 但枯草芽孢杆菌与嗜酸乳杆菌比例为20:1、10:1、1:1三者之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 益生菌单用时, 枯草芽孢杆菌对敏感或耐药 *H. pylori* 均具有较好抑制作用, 联合益生菌的抑菌效果优于单独使用。联合应用枯草芽孢杆菌+嗜酸乳杆菌时, 其按20:1、10:1、1:1比例比1:10时对 *H. pylori* 抗菌效果更佳, 尤其是对临床耐药菌株。

关键词: 益生菌; 幽门螺杆菌; 耐药性; 抗菌; 体外实验

中图分类号: R573 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2023)02-0208-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.02.007

Experimental study on anti-helicobacter pylori effect of different combinations of probiotics *in vitro*

Guan Aixing^{1,5}, Huang Yucun¹, Huang Ganrong^{2,3,4}, Qin Yanchun^{2,3,4}, Luo Jiazi^{2,3,4},
Huang Liang², Huang Yanqiang^{2,3,4}, Huang Zansong^{2,3,4,5}

1. Graduate School, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
2. School of Basic Medicine, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
3. Guangxi Scientific and Technological Innovation Cooperation Base for Prevention and Control of Pathogenic Microorganisms Drug Resistance, Baise 533000, Guangxi, China;
4. Key Laboratory for Prevention and Control of Drug Resistant Microbial Infection Research in Universities of Guangxi, Baise 533000, Guangxi, China;
5. Department of Gastroenterology, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

基金项目: 国家自然科学基金项目(32060018); 中央引导地方发展项目(桂科 ZY20198004); 广西壮族自治区硕士研究生创新项目(YCSW2021337)

第一作者简介: 管爱星(1986-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 幽门螺杆菌的致病与耐药机制研究, E-mail: 425117899@qq.com

通讯作者简介: 黄赞松(1962-), 男, 医学硕士, 三级教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 广西科协决策咨询专家库专家, 广西高效优秀人才, 研究方向: ①幽门螺杆菌致病与耐药机制研究; ②肝癌基础与临床研究; ③急性胰腺炎的诊治研究, E-mail: 1019846481@qq.com

Abstract : **Objective** To explore the antibacterial effects of single probiotics and the combination of two probiotics on *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), and to find the best antibacterial combination. **Methods** *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus campylobacter*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Bifidobacterium longum*, and other probiotics were cultured alone or in combination with *H. pylori*. The diameter of bacteriostatic zone of probiotics against *H. pylori* was measured, and the antibacterial effects were explored in different proportion of probiotics on standard and drug-resistant strains of *H. pylori*. **Results** In terms of inhibiting *H. pylori* with single probiotics, *Bacillus subtilis* had the better effect. The diameter of antibacterial zone of the combination of *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus* on drug-resistant strains significantly increased, compared with that of single probiotics, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). When probiotics were mixed at different ratios, the effect of *Bacillus subtilis* : *Lactobacillus acidophilus* = 1 : 1 was better than that of *Bacillus subtilis* : *Lactobacillus acidophilus* = 1 : 10 ($P < 0.05$), but there was no statistical significance among the ratios (20 : 1, 10 : 1, 1 : 1) of *Bacillus subtilis* to *Lactobacillus acidophilus* ($P > 0.05$). **Conclusion** When probiotics are used alone, *Bacillus subtilis* has the better inhibitory effect on sensitive and drug-resistant *H. pylori*. The antibacterial effect of the combination of probiotics is better than that of single probiotics. The combination with *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus* mixed at the ratio of 20 : 1, 10 : 1 and 1 : 1 has the better antibacterial effect on *H. pylori* than that mixed at the ratio of 1 : 10, especially on clinical drug-resistant strains.

Key words : probiotics; *Helicobacter pylori*; drug resistance; antibacterial; *in vitro* experiment

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 是存在于人胃当中的有害细菌, 人群感染率约 50%, 是导致胃炎、胃溃疡等消化疾病的主要病原微生物^[1], 同时也是胃癌的高危因素^[2]。感染它后可按 Correa 提出的炎癌转化模式(胃炎—萎缩—肠化生—癌前病变) 导致胃癌的发生^[3]。根除 *H. pylori* 能有效治疗胃炎、胃溃疡等消化道疾病, 并且可以降低胃癌发病率、阻止癌前病变的进展^[4]。根除 *H. pylori* 治疗方法主要是含抗生素的四联疗法^[5], 然而随着抗生素的使用, 其产生的耐药逐渐升高, 且指南推荐的 10~14 d 的抗生素治疗, 会造成肠道菌群失调等不良反应^[6-7]。近年来发现, 根除 *H. pylori* 时, 添加益生菌能有效提高根除率、减轻肠道菌群失调等胃肠道不良反应^[8]。有研究表明, 益生菌及其代谢产物也具有一定的抗 *H. pylori* 效果^[9-11], 但具体的抑菌效果不明确, 特别是联合抑菌的效果, 什么组合抑菌最佳或者抑菌圈的直径是多少等不清楚。因此, 本研究先检测单个益生菌的抑菌效果, 再探讨不同组合的抑菌效果, 以寻找最佳的组合方式。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品及试剂 甲硝唑(上海麦克林生化科技股份有限公司)、阿莫西林(先声药业集团有限公司)、左氧氟沙星(扬子江药业集团有限公司)、克拉霉素(扬子江药业集团有限公司)、营养肉汤(杭州百思生物技术有限公司 BS1002)、营养琼脂(杭州百思生物技术有限公司 BS1101)、MRS 肉汤(青岛海博生物技术有限公司, 货号 HB0384-1)、MRS 琼脂(青岛海博生物技术有

限公司, 货号 HB0384-5)、Brain Heart infusion(BHI) 培养基(OXOID, 货号 CM1135B)、Columbia blood Agar base(培养基(OXOID, lot2179850)、TPY 琼脂(青岛海博生物技术有限公司, 货号 HB0397)、小牛血清[平睿生物科技(北京)有限公司]。

1.1.2 菌株 *H. pylori* 标准菌株 26695 及 *H. pylori* 耐药菌株 159、286 由右江民族医学院耐药微生物感染防治研究中心提供; 益生菌(枯草芽孢杆菌、弯曲乳酸杆菌、嗜酸乳杆菌、粪肠球菌、长双歧杆菌)来源于右江民族医学院耐药微生物感染防治研究中心。

1.1.3 主要仪器 三气培养箱(Binder model CB16 0, Germany)、恒温震荡培养箱(上海智城分析仪器制造有限公司)、电热恒温培养箱(上海齐欣科学仪器有限公司)、多功能酶标仪(BioTek, America)、离心机(湘南湘仪有限公司)、紫外分光光度仪(HITACHI, Japan)、超低温冰箱(海尔 DW-86L388A)、电冰箱(海尔 BCD-601WDPR)、生物安全柜(山东博科科学仪器有限公司)、生物显微镜(广州明美光电技术有限公司)、全立式高压灭菌器(GR60DP)、电热古风干燥箱(DHT-G1358)、精细天平(OHAUS)、移液枪(艾本德)等。

1.2 方法

1.2.1 配制培养基 称取 MRS 琼脂培养基 33.1 g 溶于 500 mL 蒸馏水中, 营养琼脂 16.5 g 溶于 500 mL 蒸馏水中, 高压灭菌锅 121 °C 灭菌 30 min, 冷却至 50 °C 倾倒入 100 mm 平板; 称取哥伦比亚培养基 13.3 g 溶于 270 mL 蒸馏水中, 高压灭菌锅 121 °C 灭菌 30 min, 冷却至 50 °C, 再加入占总体积 10% 的小牛血清, 轻摇

混匀后倾倒入平板,4℃保存备用。

1.2.2 细菌培养 从-80℃超低温冰箱取出 *H. pylori* 菌株,待其融化后离心,取沉淀涂于的哥伦比亚培养基上,置于三气培养箱(85%氮气、5%氧气、10%二氧化碳)37℃恒温培养3~4 d。从-80℃超低温冰箱取出弯曲乳酸杆菌、嗜酸乳杆菌、粪肠球菌、长双歧杆菌、枯草芽孢杆菌,待其自然融化,离心,取沉淀分别涂于 MRS 琼脂、哥伦比亚培养基、TPY 固体培养基和营养琼脂培养基上,37℃恒温培养1~2 d。

1.2.3 菌悬液的制备 取少许对数生长期的 *H. pylori* 菌落,加入含10%血清的 BHI 培养基中,1 mL 移液器吹打混匀,三气培养箱内 37℃震荡培养2~3 d,获得 *H. pylori* 菌悬液;取少许处于对数期的弯曲乳酸杆菌、嗜酸乳杆菌、粪肠球菌、长双歧杆菌、枯草芽孢杆菌,分别放入 MRS 培养基、TPY 培养基和营养肉汤中培养12~48 h,获得益生菌菌悬液。

1.2.4 *H. pylori* 药敏检测 将抗菌药物阿莫西林、克拉霉素、甲硝唑、左氧氟沙星分别配成1 mg/mL;将细菌96孔板第一孔先加培养基173.6 μL,再加6.4 μL 抗菌药物,倍比稀释至第8孔;取已准备的 *H. pylori* 菌悬液,调整度 OD600 为 0.3(1.0×10⁸ CFU/mL),稀释10倍,为1.0×10⁷ CFU/mL 备用;再取稀释的菌悬液10 μL 加至第1~8孔,同时设阳性和阴性对照孔,置于三气培养箱内培养72 h,以完全抑制细菌生长的最低药物浓度作为 MIC,并根据中国抗生素应用指南,判定 *H. pylori* 对抗生素敏感(S)或耐药(R)。

1.2.5 益生菌对 *H. pylori* 抑制实验

1.2.5.1 *H. pylori* 铺板 如1.2.4所述,将 *H. pylori* 菌悬液稀释为1.0×10⁶ CFU/mL;取100 μL 加入含10%小牛血清的哥伦比亚培养基上,无菌接种环密涂,再置于三气培养箱内37℃培养3~4 h。

1.2.5.2 单种益生菌抑制 *H. pylori* 将枯草芽孢杆菌、粪肠球菌、嗜酸乳杆菌、弯曲乳杆菌、长双歧杆菌,分调整菌液浓度 OD600 为 0.3(1.0×10⁸ CFU/mL),稀释1000倍,为1.0×10⁵ CFU/mL,备用;分别取准备好的枯草芽孢杆菌、粪肠球菌、嗜酸乳杆菌、弯曲乳杆菌、长双歧杆菌菌悬液2 μL,滴加于经过培养3~4 h后的哥伦比亚培养基上,小心平移,重新放入三气培养箱内,37℃共培养2~3 d。测量并记录益生菌对 *H. pylori* 的抑菌圈的直径。

1.2.5.3 两种益生菌组合抑制 *H. pylori* 将准备好的1.0×10⁵ CFU/mL 枯草芽孢杆菌、粪肠球菌、弯曲乳杆菌、嗜酸乳杆菌,以枯草芽孢杆菌+粪肠球菌、枯草芽孢杆菌+嗜酸乳杆菌、枯草芽孢杆菌+弯曲乳酸杆菌、粪肠球菌+弯曲乳杆菌、粪肠球菌+嗜酸乳杆菌、弯曲乳酸杆菌+嗜酸乳杆菌菌种的6种组合,并按

20:1、10:1、1:1、1:10、1:20 比例的菌量配成组合益生菌液,充分混匀成混悬液,取2 μL 混悬液滴加于涂有 *H. pylori* 的哥伦比亚培养基上,小心平移,重新放入三气培养箱内,37℃培养2~3 d,测量并记录两种益生菌联合后对 *H. pylori* 的抑菌圈直径。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 对实验数据进行分析,计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *H. pylori* 菌株药敏检测结果 根据 CLSI 药敏实验标准(2022),*H. pylori* 菌株 26695 为标准菌株,其对阿莫西林、克拉霉素、甲硝唑、左氧氟沙星的药敏结果均敏感;菌株159、286 为多重耐药菌株,对阿莫西林、克拉霉素、甲硝唑、左氧氟沙星中的两种及两种以上的抗生素耐药。见表1。

表1 *H. pylori* 菌株对抗生素的 MIC 单位:μg/mL

<i>H. pylori</i>	阿莫西林	克拉霉素	甲硝唑	左氧氟沙星
26695	0.0625(S)	0.125(S)	0.125(S)	0.5(S)
159	0.125(S)	0.125(S)	4(S)	2(R)
286	1(S)	8(R)	32(R)	2(R)

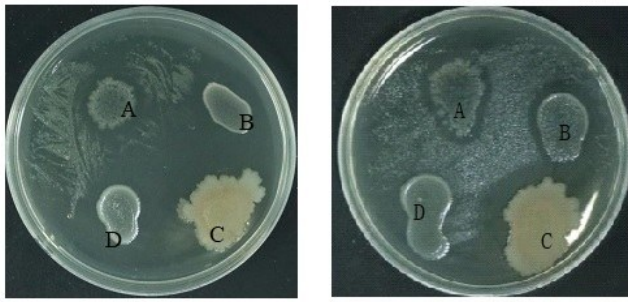
注:S为敏感,R为耐药。

2.2 单独使用益生菌对 *H. pylori* 的抗菌作用 检验单种的益生菌抑制 *H. pylori* 生长时,对于标准菌株26695,枯草芽孢杆菌的抑制效果最好,粪肠球菌次之(见表2、图1),嗜酸乳杆菌和弯曲乳杆菌的抑菌效果相当($P > 0.05$);对于耐药菌株(159和286),枯草芽孢杆菌的抑菌效果也是最佳(见表2、图1),嗜酸乳杆菌和弯曲乳杆菌的抑菌效果相当($P > 0.05$),长双歧杆菌和蜡样芽孢杆菌与 *H. pylori* 共培养时,未见其产生抑菌效果。

表2 益生菌单独对 *H. pylori* 的抑菌圈直径

菌种	26695	159	286
枯草芽孢杆菌	36.19±1.07	21.00±1.08	30.97±1.46
粪肠球菌	21.36±0.49 ^a	13.71±0.88 ^a	14.43±0.68 ^a
嗜酸乳杆菌	19.87±1.66 ^a	16.13±0.87 ^{ab}	16.73±0.80 ^{ab}
弯曲乳杆菌	18.80±0.79 ^{ab}	15.24±1.03 ^{ab}	17.07±2.40 ^{ab}
长双歧杆菌	0±0 ^{acef}	0±0 ^{ace}	0±0 ^{ace}
蜡样芽孢杆菌	0±0 ^{acef}	0±0 ^{ace}	0±0 ^{ace}
<i>F</i>	735.341	375.203	277.422
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②与枯草芽孢杆菌组比较,a: $P < 0.001$;与粪肠球菌组比较,b: $P < 0.05$,c: $P < 0.001$;嗜酸乳杆菌组比较,e: $P < 0.001$ 。



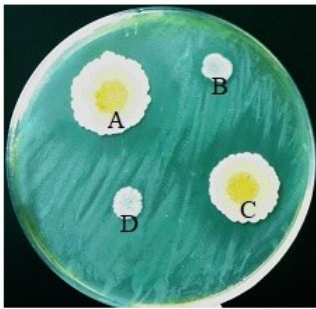
HP26695 标准株 HP286 耐药株

注:A.嗜酸乳杆菌;B.弯曲乳杆菌;

C.枯草芽孢杆菌;D.粪肠球菌。

图 1 益生菌对 *H. pylori* 的抑制作用

2.3 单独或者联合使用两种益生菌对 *H. pylori* 的抑菌效果 如图 2 所示,枯草芽孢杆菌+粪肠球菌 1:1 混合比单独的枯草芽孢杆菌抑制 *H. pylori* 效果较好。如表 3 所示,枯草芽孢杆菌+粪肠球菌、枯草芽孢杆菌+嗜酸乳杆菌 1:1 混合的抑制 *H. pylori* 效果较好。



注:A.枯草芽孢杆菌+粪肠球菌;B.粪肠球菌+弯曲乳杆菌;C.枯草芽孢杆菌;D.粪肠球菌。

图 2 益生菌对 *H. pylori* 286 的抑制作用

表 3 联合益生菌对 *H. pylori* 的抑制作用

益生菌菌种	26695	159	286
枯草芽孢杆菌+粪肠球菌	++++	+	++
枯草芽孢杆菌+嗜酸乳杆菌	++++	++	++++
枯草芽孢杆菌+弯曲乳杆菌	+++	++	++
粪肠球菌+嗜酸乳杆菌	+	+	+
粪肠球菌+弯曲乳杆菌	+	+	+
嗜酸乳杆菌+弯曲乳杆菌	+	-	+

注:“-”为 <20 mm;“+”为 20~25 mm;“++”为 25~30 mm;“+++”为 30~35 mm;“++++”为 >35 mm。

2.4 不同比例的枯草芽孢杆菌+粪肠球菌联合抑制 *H. pylori* 效果 对于耐药菌株 159、286,与枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=1:1 比较,枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=20:1、枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=10:1 抑菌圈直径增大,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与枯草芽

孢杆菌:粪肠球菌=1:10 比较,枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=20:1、枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=10:1 抑菌圈直径增大,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=1:20 比较,枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=20:1、枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=10:1 抑菌圈直径增大,差异有统计学意义($P < 0.05$)。但是枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=20:1 与枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=10:1 比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 枯草芽孢杆菌+粪肠球菌不同比例对 *H. pylori* 的抑菌圈直径 ($n=3$,单位:mm)

菌株	159	286
枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=20:1	25.97±0.57	36.67±0.67
枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=10:1	25.86±0.73	37.80±0.46
枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=1:1	24.07±0.62 ^a	34.57±1.30 ^{ab}
枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=1:10	22.83±1.24 ^{ab}	34.67±0.54 ^{ab}
枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=1:20	22.62±1.08 ^{ab}	33.37±1.06 ^{ac}
F	9.848	12.199
P	0.002	0.001

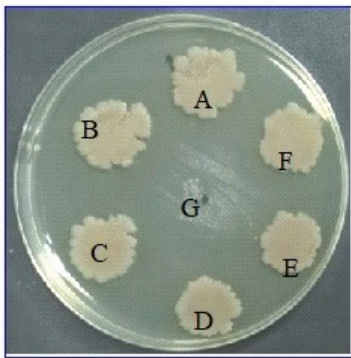
注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②与枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=20:1 比较,a: $P < 0.05$;与枯草芽孢杆菌:粪肠球菌=10:1 比较,b: $P < 0.05$,c: $P < 0.001$ 。

2.5 不同比例的枯草芽孢杆菌+嗜酸乳杆菌联合抑制 *H. pylori* 的效果 对于耐药菌株 159、286,与枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=1:20 比较,枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=20:1、枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=10:1、枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=1:1 的抑菌圈直径明显增大,差异有统计学意义($P < 0.05$),但是枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=20:1、枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=10:1、枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=1:1 之间的抑菌圈直径大小差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 5、见图 3。

表 5 枯草芽孢杆菌+嗜酸乳杆菌对 *H. pylori* 抑菌圈直径 ($n=3$,单位:mm)

菌株	159	286
枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=20:1	29.82±1.48	37.23±1.10
枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=10:1	30.69±1.50	36.90±0.30
枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=1:1	30.18±2.42	37.03±1.33
枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=1:10	27.04±1.27 ^b	34.57±2.71
枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=1:20	25.40±2.28 ^{abc}	32.17±2.31 ^{abc}
F	4.622	4.589
P	0.023	0.023

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②与枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=20:1 比较,a: $P < 0.05$;与枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=10:1 比较,b: $P < 0.05$;与枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=1:1 比较,c: $P < 0.05$ 。



注:A. 枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=20:1;B. 枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=10:1;C. 枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=1:1;D. 枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=1:10;E. 枯草芽孢杆菌:嗜酸乳杆菌=20:1;F. 枯草芽孢杆菌;G. 嗜酸乳杆菌。

图 3 不同比例的枯草芽孢杆菌+嗜酸乳杆菌组成的复合益生菌对 *H. pylori* 26695 的抑制效果

3 讨论

H. pylori 是消化系统的致病菌,自 1983 年 Marshall 等首次从胃炎患者中分离培养成功后,就开始用抗生素根除治疗 *H. pylori*^[12]。但随着抗生素广泛应用,*H. pylori* 的耐药性逐渐增加,开发有效的抗 *H. pylori* 药物是亟待解决的问题^[13]。益生菌作为对人体有益的细菌,能通过细菌的相互竞争、分泌抗菌物质、阻止病原菌黏附等多种途径发挥抗菌效果^[14],是解决 *H. pylori* 耐药的有效途径。相关研究表明,乳酸菌分泌的抗菌成分在体外发挥抗 *H. pylori* 效果^[15],另外乳杆菌还能通过共聚集发挥抗 *H. pylori* 作用^[16],具有替代抗生素治疗 *H. pylori* 的潜能。研究比较深入的还有罗伊氏乳杆菌、鼠李糖乳杆菌等,都具有一定的抗 *H. pylori* 作用,其抗 *H. pylori* 作用的机制与其能产生多种抗菌物质有关^[17-18]。另外,虽然有研究表明双歧杆菌也具有一定的协同抗 *H. pylori* 作用^[19],但本研究通过长双歧杆菌滴加于涂有 *H. pylori* 的哥伦比亚培养基内,放置三气培养箱内共培养,并未见有抗菌效果,原因可能是微氧环境下长双歧杆菌不能生长,无抗菌代谢物质产生。本研究在比较单种益生菌对 *H. pylori* 的抗菌效果时发现,枯草芽孢杆菌具有良好的抗菌效果。考虑到菌群构成了一个复杂的系统,本研究首次用两种益生菌的联合,检测包含有枯草芽孢杆菌的益生菌联合对 *H. pylori* 抗菌效果。发现两种益生菌的组合比单一使用枯草芽孢杆菌的抑菌效果更明显,这可能与细菌之间的相互作用及枯草芽孢杆菌能产生多种抗菌代谢产物有关。在选择两种益生菌组合时,枯草芽孢杆菌+嗜酸乳杆菌的组合与枯草芽孢杆菌+粪肠球菌的组合对 *H. pylori* 耐药菌种的抑制效果相当,但前者对 *H. pylori* 敏感菌

株的抑菌效果更好,具体机制有待进一步深入研究。

综上所述,本研究发现:①单种益生菌中,枯草芽孢杆菌对敏感或耐药 *H. pylori* 均具有较好抑制作用,联合益生菌的抑菌效果优于单独使用;②枯草芽孢杆菌+嗜酸乳杆菌联合时,对 *H. pylori* 抗菌效果更佳,尤其是对临床耐药菌株。本研究为益生菌治疗 *H. pylori* 感染提供了新的思路,尤其是为益生菌对 *H. pylori* 耐药的治疗提供了实验依据。

参考文献:

- [1] 胡英,王静,高天. 幽门螺杆菌感染诊治策略探讨[J]. 临床荟萃,2020,35(8):745-748.
- [2] 马刚,张汝鹏,梁寒. 幽门螺杆菌与胃癌相关的研究进展[J]. 中国肿瘤临床,2023,50(1):44-48.
- [3] FANG X Q, WU X Q, XIANG E F, et al. Expression profiling of CPS₁ in correa's cascade and its association with gastric cancer prognosis[J]. Oncol Lett, 2021, 21(6): 441.
- [4] 郭继尧,杜奕奇,李兆申. 根除幽门螺杆菌是降低胃癌发病率的必由之路[J]. 中国实用内科杂志,2019,39(6): 506-510.
- [5] 刘文忠.《幽门螺杆菌感染的处理:马斯特里赫特 VI/佛罗伦萨共识报告》解读[J]. 胃肠病学,2021,26(11): 676-686.
- [6] 郑攀,祝荫. 高耐药形势下如何提高幽门螺杆菌的根除率[J]. 上海医学,2022,45(11):750-754.
- [7] CHEN Y, LIU Q Y, HU F L, et al. Identifying the best regimen for primary eradication of *Helicobacter pylori*: a analysis of 240 cases[J]. Microbiologyopen, 2020, 9(11): e1120.
- [8] 郑合芳. 益生菌联合四联疗法治疗幽门螺杆菌感染性胃溃疡效果观察[J]. 中国乡村医药,2022,29(11):22-23.
- [9] KEIKHA M, KARBALAEI M. Probiotics as the live microscopic fighters against *Helicobacter pylori* gastric infections[J]. BMC Gastroenterol, 2021, 21(1):388.
- [10] LIANG B, YUAN Y, PENG X J, et al. Current and future perspectives for *Helicobacter pylori* treatment and management: from antibiotics to probiotics [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12:1042070.
- [11] HE C, XIE Y, ZHU Y, et al. Probiotics modulate gastrointestinal microbiota after *Helicobacter pylori* eradication: a multicenter randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. Front Immunol, 2022, 13:1033063.
- [12] SONNENBERG A, LASH R H, GENTA R M. A national study of *Helicobacter pylori* infection in gastric biopsyspecimens[J]. Gastroenterology, 2010, 139(6): 1894-1901, e12.
- [13] 赵飞燕,崔立红. 幽门螺杆菌治疗进展[J]. 胃肠病学和肝病杂志,2022,31(5):492-497.

(下转第 217 页)

- 102-108.
- [5] LI B Q, CHEN J, WU T X, et al. Fast determination of four active compounds in Sanqi Panax Notoginseng injection samples by high-performance liquid chromatography with a chemometric method[J]. *J Sep Sci*, 2015, 38(9): 1449-1457.
- [6] 卢小叶, 吕倩忆, 李棋龙, 等. Zea-longa 评分与改良 Garcia 评分应用于针刺治疗 CIRI 大鼠神经功能缺损评估的研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2021, 41(9): 1356-1360.
- [7] WANG J, LU J X, XIE X W, et al. Blend of organic acids and medium chain fatty acids prevents the inflammatory response and intestinal barrier dysfunction in mice challenged with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 58: 64-71.
- [8] ZHOU B L, YUAN Y T, ZHANG S S, et al. Intestinal flora and disease mutually shape the regional immune system in the intestinal tract[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 575.
- [9] SEO K, SEO J, YEUN J, et al. The role of mucosal barriers in human gut health[J]. *Arch Pharm Res*, 2021, 44(4): 325-341.
- [10] PLUTA R, JANUSZEWSKI S, CZUCZWAR S J. The role of gut microbiota in an ischemic stroke[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 915.
- [11] XIAO S W, JIANG S, QIAN D W, et al. Modulation of microbially derived short-chain fatty acids on intestinal homeostasis, metabolism, and neuropsychiatric disorder[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104(2): 589-601.
- [12] KURASHIMA Y, KIYONO H. Mucosal ecological network of epithelium and immune cells for gut homeostasis and tissue healing[J]. *Annu Rev Immunol*, 2017, 35: 119-147.
- [13] GWAK M G, CHANG S Y. Gut-brain connection; microbiome, gut barrier, and environmental sensors[J]. *Immune Netw*, 2021, 21(3): e20.
- [14] SUZUKI T. Regulation of the intestinal barrier by nutrients; the role of tight junctions[J]. *Anim Sci J*, 2020, 91(1): e13357.
- [15] ROHR M W, NARASIMHULU C A, RUDESKI-ROHR T A, et al. Negative effects of a high-fat diet on intestinal permeability: a review[J]. *Adv Nutr*, 2020, 11(1): 77-91.
- [16] SUNDMAN M H, CHEN N K, SUBBIAN V, et al. The bidirectional gut-brain-microbiota axis as a potential nexus between traumatic brain injury, inflammation, and disease[J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 66: 31-44.

收稿日期: 2022-12-22; 修回日期: 2023-01-30

(上接第 212 页)

- [14] 商燕燕, 李滢, 谢新强, 等. 益生菌抑制幽门螺杆菌的作用机制及研究进展[J]. *微生物学报*, 2022, 62(11): 4336-4352.
- [15] WHITESIDE S A, MOHIUDDIN M M, SHLIMON S, et al. *In vitro* framework to assess the anti-*Helicobacter pylori* potential of lactic acid bacteria secretions as alternatives to antibiotics[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 5650.
- [16] 张华月. 具有幽门螺杆菌共聚集能力乳杆菌的筛选及临床功效评价[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
- [17] 张美怡, 翟齐啸, 赵建新, 等. 鼠李糖乳杆菌 JS-SZ-2-1 抗幽门螺杆菌感染的临床效果评价[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(23): 29-34.
- [18] 成虹. 益生菌或可根治幽门螺杆菌[J]. *健康向导*, 2021, 27(4): 12-13.
- [19] DI PIERRO F, BERTUCCIOLI A, SAPONARA M, et al. Impact of a two-bacterial-strain formula, containing bifidobacterium animalis lactis BB-12 and enterococcus faecium L3, administered before and after therapy for *Helicobacter pylori* eradication[J]. *Minerva Gastroenterol Dietol*, 2020, 66(2): 117-123.

收稿日期: 2023-01-02; 修回日期: 2023-02-08