

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2025.80422

具有拮抗幽门螺杆菌能力的乳酸菌筛选及分析

魏子程 范柳萍 李进伟

(江南大学食品学院, 江苏 无锡 214000)

摘要: [目的] 鉴定和筛选具有幽门螺杆菌拮抗活性的乳酸菌菌株, 解决目前抗生素耐药性逐年升高、幽门螺杆菌清除效果逐年下降的问题。[方法] 体外筛选具备抗幽能力的乳酸菌, 探究优选菌安全性及益生特性, 通过胃腺癌细胞系抗炎试验验证优选菌缓解幽门螺杆菌感染的效果。[结果] 优选菌对幽门螺杆菌的抑菌圈直径为 15.44 mm, 共聚集率为 32.84%, 抑制作用明显; 基因注释及药敏试验结果表明, 该优选菌安全性较高; 细胞炎症试验结果显示, 该优选菌最高能够缓解 78.18% 造模带来的 IL-8 分泌增加量。[结论] 该优选菌可抑制幽门螺杆菌生长, 缓解胃部炎症, 具有众多益生菌特性的同时具有低致病风险, 为对抗幽门螺杆菌相关胃肠道疾病提供了新的益生菌候选菌株。

关键词: 乳酸菌; 幽门螺杆菌; 抗菌活性; 共聚集; 基因注释

Screening and analysis of lactic acid bacteria with anti-*Helicobacter pylori* activity

WEI Zicheng FAN Liuping LI Jinwei

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214000, China)

Abstract: [Objective] To identify and screen lactic acid bacteria (LAB) strains with antagonistic activity against *Helicobacter pylori*, addressing the increasing antibiotic resistance and declining *H. pylori* eradication rates. [Methods] LAB strains with anti-*H. pylori* activity were screened *in vitro*. The safety and probiotic properties of the selected strain were investigated, and its efficacy in alleviating *H. pylori* infection was validated via anti-inflammatory assays using gastric adenocarcinoma cell lines. [Results] The selected strain exhibited a clear inhibition zone against *H. pylori* with a diameter of 15.44 mm and a co-aggregation rate of 32.84%. Genomic annotation and antimicrobial susceptibility testing indicated a high safety profile. Cell inflammation assays demonstrated that the strain could reduce IL-8 secretion induced by the model by up to 78.18%. [Conclusion] The selected LAB strain effectively inhibits *H. pylori* growth and alleviates gastric inflammation, combining multiple probiotic characteristics with low pathogenic risk, providing a new probiotic candidate for combating *H. pylori*-associated gastrointestinal diseases.

Keywords: lactic acid bacteria; *Helicobacter pylori*; antimicrobial activity; co-aggregation; genomic annotation

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 是一种微需氧的革兰氏阴性细菌, 生长期时呈螺旋状, 老化或死亡时呈球形, 主要定殖在人的胃部和十二指肠部位^[1]。目前, 全球范围内幽门螺杆菌的感染率已经超过了 50%, 且发展中国家的感染率远高于发达国家^[2]。幽门螺杆菌感染是消化性胃溃疡、慢性胃炎和胃癌等多种消化道疾病的重要致病因素, 根除幽门螺杆菌是预防胃肠道疾病的有效手段^[3]。为了治愈感染, 通常使用标准的三联疗法, 包括质

子泵抑制剂和两种抗生素 (克拉霉素和甲硝唑)^[4]。而目前的疗法频繁使用抗生素, 导致幽门螺杆菌出现的抗药性以及患者的不良反应大大降低了其治疗有效性^[5]。因此, 解决这个问题需要研究一些负面影响较小或无负面影响的新治疗物质。乳酸菌作为益生菌在病原体感染的临床治疗中备受关注, 它可以利用代谢产生的某些有效物质, 降低病原体的感染能力^[6]。此外, 益生菌在宿主体内的作用可以调节胃肠道环境, 增强宿主的健康^[7]。研究

通信作者: 范柳萍 (1972—), 女, 江南大学教授, 博士。E-mail: fanliuping@jiangnan.edu.cn

收稿日期: 2025-03-06 改回日期: 2025-05-29

引用格式: 魏子程, 范柳萍, 李进伟. 具有拮抗幽门螺杆菌能力的乳酸菌筛选及分析[J]. 食品与机械, 2025, 41(8): 1-9.

Citation: WEI Zicheng, FAN Liuping, LI Jinwei. Screening and analysis of lactic acid bacteria with anti-*Helicobacter pylori* activity[J]. Food & Machinery, 2025, 41(8): 1-9.

证明,罗伊氏乳杆菌 DSM17648、植物乳杆菌 CN2018 等菌株具有拮抗幽门螺杆菌并降低其定殖的作用效果。罗伊氏乳杆菌 DSM17648 菌株能够特异性地识别并结合幽门螺杆菌的表面蛋白结构,从而与幽门螺杆菌形成共聚合物,通过胃肠道蠕动将其排出体外,从而减少胃内的幽门螺杆菌负荷量^[8]。乳杆菌 CN2018 具有耐酸性,对幽门螺杆菌(以 *H. pylori* SS1 为例)生长和尿素酶活性有抑制作用,对幽门螺杆菌黏附人胃上皮细胞 SGC7901 有较强的抑制作用,对小鼠感染幽门螺杆菌具有预防或减轻感染程度的作用^[9]。嗜酸乳杆菌 LA88 对众多致病菌具有抑制作用^[10]。目前商业化拮抗幽门螺杆菌的乳酸菌,抑菌效果存在一定局限,常作为抗生素的辅助剂参与幽门螺杆菌清除。研究拟对自筛选乳酸菌进行拮抗幽门螺杆菌的效果评价,并对优选菌安全性进行评价,确保优选菌可用于幽门螺杆菌清除。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

68 株乳酸菌菌株:分离自多名健康志愿者的粪便样品;

罗伊氏乳杆菌 DSM17648、植物乳杆菌 CN2018 和嗜酸乳杆菌 LA88;仁和全域(上海)大健康研究院有限公司;

幽门螺杆菌 ATCC26695;北京百欧博伟生物技术有限公司;

人癌症细胞系 AGS、RPMI1640 细胞培养基:誉弛(上海)生物科技有限公司;

MRS 肉汤培养基、脑心浸液培养基(brain-heart infusion medium, BHI);杭州百思生物技术有限公司;

琼脂粉、细胞培养瓶、双抗(青霉素-链霉素):国药集团化学试剂有限公司;

哥伦比亚血琼脂基础培养基(columbia blood agar medium, CAB);青岛高科海博生物技术有限公司;

脱纤维绵羊血、无菌摇菌培养管、无菌培养皿、一次性无菌接种环、L 型涂布棒、菌种保藏管、药敏纸片:常德比克曼生物科技有限公司;

胎牛血清(FBS):浙江天杭生物科技股份有限公司;

比色皿、牛津杯:上海申迪玻璃仪器有限公司;

无菌棉签:无锡恒康医疗科技有限公司;

麦氏比浊管:温州康泰生物科技股份有限公司。

1.1.2 仪器与设备

II 级生物安全柜:HR1100-IIA2 型,青岛海尔生物医疗股份有限公司;

恒温培养摇床:MQD-S2R 型,上海旻泉仪器有限公司;

低温超速离心机:Velocity 14R 型,英国 Dynamica 公司;

紫外分光光度计:L8 型,上海仪电分析仪器有限公司;

聚合酶链式反应扩增仪:S1000 Touch 型,美国 Bio-Rad 公司;

三气培养箱:i160 型,美国 Thermo Fisher 公司;

全自动酶标仪:MULTISCAN GO 型,美国 Thermo fisher 公司;

细胞培养箱:HERAcell 150I 型,赛默飞世尔科技公司。

1.2 试验方法

1.2.1 乳酸菌培养条件 乳酸菌在 37℃ 的 MRS 肉汤培养基中培养 18 h,进行传代,活化两代后梯度稀释,接种于 MRS 琼脂培养基,取单菌落接种于 MRS 肉汤培养基,37℃ 培养 18 h 后,将发酵培养基在 3 000×g、4℃ 下离心 5 min,分别得到上清液和菌泥。菌泥使用磷酸盐缓冲溶液 PBS(pH 7.42±0.02)洗涤两次后使用体积分数为 30% 的甘油重悬,冻存于-80℃ 冰箱中。

1.2.2 幽门螺杆菌培养条件 使用含体积分数 7% 脱纤维羊血的哥伦比亚血琼脂培养基培养,幽门螺杆菌涂布于 CAB 培养基表面,使用三气培养箱在 37℃,微需氧(5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂)环境下培养 96 h,使用无菌棉签刮下培养完成的幽门螺杆菌,重悬于脑心浸液培养基中,得到幽门螺杆菌悬浮液。将菌悬液涂布于 CAB 上,重复上述操作进行传代,传代两次完成活化。活化后可缩短幽门螺杆菌培养时间至 72 h。

1.2.3 细胞培养条件 AGS 细胞使用含有体积分数 10% 胎牛血清和体积分数 1% 双抗的 RPMI1640 培养基,在 37℃,5% CO₂,95% 空气的湿润环境中孵育,每周更换 2~3 次培养液。

1.2.4 乳酸菌对幽门螺杆菌生长的抑制 采用牛津杯扩散法进行试验^[11]。刮取活化后的幽门螺杆菌菌落重悬于 BHI,使用移液枪吸取 100 μL 的重悬液涂布于 CAB,待培养基表面看不到水渍后,放置 3 个直径 7.80 mm 的牛津杯,吸取活化后的乳酸菌上清液 100 μL 滴加到牛津杯中,以 MRS 培养液为阴性对照,商业菌为阳性对照。将培养皿放置于三气培养箱中,调节 O₂、N₂、CO₂ 的体积分数分别为 5%、85%、10%,在温度为 37℃ 的条件下,培养 72 h 后测定各试验组抑菌圈大小,根据抑菌圈大小判定各菌株对幽门螺杆菌生长的抑制效果。

1.2.5 乳酸菌与幽门螺杆菌的共聚集 取活化好的乳酸菌在 3 000 r/min 下离心 5 min,用磷酸盐缓冲溶液 PBS(pH 7.42±0.02)洗涤 2 次,重悬于无菌的 PBS 中;用同样的方法收集活化好的幽门螺杆菌,洗涤 2 次后重悬于在人工胃液(NaCl 质量分数 0.5%,胃蛋白酶质量分数 0.3%,

pH 4.00±0.02),调节乳酸菌和幽门螺杆菌的菌数为 10^8 CFU/mL。将等体积的乳杆菌悬液(2 mL)与幽门螺杆菌悬液(2 mL)混合,用旋涡振荡器混合至少10 s。在37 °C下孵育2 h后,测定此时混合菌液在600 nm下的吸光度,按式(1)计算共聚集率^[12]。

$$c = \frac{A_1 + A_2 - 2A_3}{A_1 + A_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

c ——共聚集率,%;

A_1 ——混合培养前乳酸菌悬液在600 nm下的吸光度,L/(g·cm);

A_2 ——混合培养前幽门螺杆菌悬液在600 nm下的吸光度,L/(g·cm);

A_3 ——混合培养2 h后,乳酸菌与幽门螺杆菌混合悬液在600 nm下的吸光度,L/(g·cm)。

1.2.6 基因注释 首先对测序得到原始数据通过Fastp进行数据统计以及质量评估,同时进行质量剪切,得到相对准确的有效数据。使用SPAdes拼接二代测序数据。采用GapFiller对拼接得到的contig补GAP。利用Pilon进行序列矫正,修正拼接过程中的剪辑错误及小片段的插入缺失。最后使用NCBI-PGAP/Prokka软件预测基因元件。

1.2.7 系统发育树 将乳酸菌进行纯化培养,培养产物进行二代测序拼接后质检绘制基因草图,基于16S rDNA片段与NCBI数据库比对,得知该菌种属。分别以核心基因集的单拷贝基因集和基于全基因组的SNP位点为多序列比对结果,Neighbour-joining聚类的方式,构建系统发育树(核心基因树和SNP树),进一步确定细菌种属。

1.2.8 功能注释 基因草图基于COG、CAZy、KEGG数据库进行注释。COG数据库是一个用于同源蛋白注释的数据库,能够通过已知蛋白对未知序列进行功能注释,共有26个群组,每个群组对应不同的蛋白质功能,注释成功的基因按其功能分入不同的群组,比对软件:DIAMOND,结果过滤参数为 E 值 $<1e^{-5}$ ^[13]。CAZy数据库是碳水化合物酶相关的专业数据库,使用HMMER3将基因集蛋白序列与CAZy数据库进行比对,得到其对应的碳水化合物活性酶注释信息,筛选条件为 E 值 $<1e^{-5}$,匹配度 $>40\%$,最小长度 >50 ^[14]。KEGG数据库是整合了基因组、化学和系统功能信息的数据库,是理解生物系统高级功能的实用资源库。基于KO注释,根据KOs和途径之间的关系,将基因分为KEGG代谢途径,对齐工具是DIAMOND,结果过滤参数为 E 值 $<1e^{-5}$,匹配得分 >60 ^[15]。

1.2.9 安全性注释 对优选菌的毒力基因和耐药基因进行注释筛选^[16]。分别基于毒力基因数据库(VFDB)和耐药基因数据库(CARD)对菌株基因组中的基因序列进行注释,查看菌株基因组中是否存在不安全基因。根据

VFDB数据库文件本地建立数据库,使用NCBI Blast+2.15.0+工具调取乳酸菌基因草图中的蛋白质序列与建立好的数据库进行比对,设置结果过滤参数为 E 值 $<1e^{-10}$,最小长度 >50 ,匹配度 >50 ^[17]。根据CARD耐药基因数据库,对乳酸菌JD17的抗生素抗性基因进行了预测,设置过滤参数 E 值 $<1e^{-2}$,覆盖率 >70 ,匹配度 >40 ^[18]。

1.2.10 药敏试验 取活化好的乳酸菌,采用纸片扩散试验法检测其抗生素敏感性^[19]。将培养好的菌液充分振荡混匀,取1.5 mL离心,菌泥用1.5 mL磷酸盐缓冲溶液PBS(pH 7.42±0.02)冲洗两次,然后用麦氏比浊管调整至麦氏浊度为0.5左右。取100 μL菌液,用涂布棒均匀涂抹在MRS琼脂培养基中,待培养基表面看不见水渍后,用无菌镊子取不同类型药敏纸片贴于培养基表面,轻压放置,静置一段时间后放入37 °C培养箱中正置培养48 h,测量抑菌圈直径。

1.2.11 细胞炎症试验 试验分为前处理和后处理两部分。前处理试验使用乳酸菌上清液预处理AGS细胞2 h,吸弃处理液,使用含有1 ng/mL的IL-1β的RPMI1640培养基培养AGS细胞,在5%二氧化碳培养箱中,37 °C下培养16 h,将培养得到的混合液转移至离心管中,在3 000 r/min下离心10 min取上清液,根据试剂盒使用说明书测定分泌的IL-8^[20]。设计未经过乳酸菌上清液和IL-1β处理的AGS细胞为空白对照组,未经过乳酸菌上清液处理仅经过IL-1β处理的AGS细胞为造模组。后处理试验使用AGS细胞使用含有1 ng/mL的IL-1β的RPMI1640培养基预孵育2 h,吸弃培养液,使用含有1 ng/mL的IL-1β的乳酸菌上清液同AGS细胞共培养24 h,将培养得到的混合液转移至离心管中,在3 000 r/min下离心10 min取上清液,根据试剂盒使用说明书测定分泌的IL-8^[21]。设计未经过乳酸菌上清液和IL-1β处理的AGS细胞为空白对照组,未经过乳酸菌上清液处理仅经过IL-1β处理的AGS细胞为造模组。

1.2.12 数据处理 使用Origin 2018作图。样本间差异采用SPSS 27进行统计分析,数值以平均值±标准偏差表示。以0.05为显著水平,进行单因素方差分析(ANOVA)。所有试验均重复进行3次。

2 结果与分析

2.1 具有拮抗幽门螺杆菌能力的乳酸菌筛选结果

2.1.1 乳酸菌对幽门螺杆菌生长的抑制 幽门螺杆菌生长抑制试验是筛选LAB的关键和直接指标之一,试验菌株的抑菌圈直径减去空白对照的抑菌圈直径得到净抑菌圈数值,68株菌的净抑菌圈大小见表1。MRS肉汤培养基作为空白对照,测得抑菌圈直径为7.80 mm,3株商业化菌株植物乳杆菌CN2018、嗜酸乳杆菌LA88和罗伊士乳杆菌DSM17648作为阳性对照,抑菌圈直径分别为

(14.79±0.58), (14.55±1.16), (14.09±0.87) mm。68 株菌中 JD5、JD8、JD14、JD17、YX2、YX3、QX4、WJX2 的抑菌圈大于 3 株商业菌, 抑菌直径分别为 (14.82±0.54), (16.53±0.78), (15.19±0.83), (15.44±1.05), (15.94±0.77), (15.01±0.35), (15.04±0.88), (15.87±0.45) mm, 认为该 8 株菌相较于其他菌种具备更强的抑制幽门螺杆菌生长的能力。张美怡^[22]采用类似的方法从发酵食品、乳制品及人类肠道中筛选出 66 株对幽门螺杆菌抑菌圈直径为 9.41~13.88 mm 的乳酸菌。将乳杆菌的上清液 pH 值调至 7.00 后, 所有的乳杆菌均未出现抑菌圈, 且用盐酸调至 pH 3.6 的 MRS 培养基也没有抑菌效果, 考虑抑菌效果主要与乳杆菌发酵产物中有机酸有关。通过乳杆菌的抑菌试验共筛选到了 8 株体外抑制幽门螺杆菌生长作用效果优于商业菌株的乳杆菌, 初步推测抑菌成分可能主要是产物中的有机酸。

2.1.2 乳酸菌与幽门螺杆菌共聚集作用 乳酸菌与幽门螺杆菌发生的共聚集可以竞争性地抢占幽门螺杆菌表面的糖类受体位点, 有效降低幽门螺杆菌在体内定殖的概率^[23]。试验中 68 株乳酸菌对幽门螺杆菌的共聚集率数据

见表 1。3 株商业化菌株中罗伊氏乳杆菌与幽门螺杆菌具有最高的共聚集率, 植物乳杆菌 CN2018 为 (23.50±2.33)%, 嗜酸乳杆菌 LA88 为 (21.74±1.43)%, 罗伊士乳杆菌 DSM17648 为 (34.29±2.88)%。自筛选菌株与幽门螺杆菌的共聚集率大多介于 20% 与 30% 之间, 其中共聚集率大于 30% 的只有 5 株菌, 分别是 (30.21±2.56)% 的 WJX1、(30.05±3.12)% 的 JD12、(31.25±3.77)% 的 JD13、(32.84±2.89)% 的 JD17、(32.55±2.76)% 的 JD18, JD17 与幽门螺杆菌具有最高的共聚集效果。综合幽门螺杆菌生长抑制试验结果, JD17 在抑制幽门螺杆菌生长和与幽门螺杆菌共聚集试验中均表现出优异特性, 故认为 JD17 对幽门螺杆菌具有较强抑制效果, 作为优选菌株。

2.2 基因注释结果

2.2.1 基因组属性 全基因组大小为 3 237 888 bp, 平均 G+C 含量为 45%, 编码区共有基因 3 079 个, 占全基因组的 84.397%, 其中 3 011 个是编码序列 (coding sequence, CDS) 片段, JD17 基因组属性见表 2。基于核心基因集的单拷贝基因集和基于全基因组的 SNP 位点为多序列比对结果构建的两个系统发育树, 结果均显示菌株 JD17 与菌

表 1 乳酸菌抑制幽门螺杆菌试验数据

Table 1 Experimental data on the inhibition of *Helicobacter pylori* by LAB

名称	抑菌圈直径/mm	共聚集率/%	名称	抑菌圈直径/mm	共聚集率/%	名称	抑菌圈直径/mm	共聚集率/%
MRS	0	0	F1	5.50±1.67	4.58±0.21	ZTZ1	2.16±0.29	25.07±1.79
LA88	6.99±0.58	21.74±1.43	F2	3.75±0.47	20.52±1.30	ZTZ2	0	21.29±1.73
CN2018	6.75±1.16	23.50±2.33	F3	1.19±0.33	14.00±1.50	ZTZ3	3.99±0.81	15.12±1.27
DSM17648	6.29±0.87	34.29±2.88	WYH1	5.86±0.83	9.72±0.43	ZTZ4	1.08±0.32	8.09±0.68
QX1	1.13±0.40	26.48±1.87	WYH2	6.38±0.56	26.01±2.77	JD1	5.43±1.11	23.33±1.56
QX2	6.43±0.52	23.30±1.43	WYH3	1.33±0.36	28.93±2.46	JD2	6.04±0.43	26.58±1.22
QX3	5.65±0.37	14.26±1.23	WYH4	5.43±0.57	9.88±0.66	JD3	6.47±0.97	19.28±1.77
QX4	7.24±0.88	22.27±2.35	WYH5	3.00±0.45	29.69±2.35	JD4	5.54±0.76	18.15±1.35
QX5	1.25±0.51	20.82±1.45	WYH6	4.99±0.47	17.86±1.19	JD5	7.02±0.54	23.87±2.78
WJX1	6.77±0.45	30.21±2.56	WZC1	6.51±1.20	18.94±1.64	JD6	6.05±0.88	29.49±2.83
WJX2	8.07±0.45	26.50±2.72	WZC2	1.42±0.49	27.99±2.77	JD7	0	20.50±1.43
WJX3	6.62±0.61	7.54±0.30	WZC3	4.83±0.73	29.80±2.58	JD8	8.73±0.78	28.62±12.55
WJX4	2.47±0.33	25.64±2.78	WZC4	0	24.77±2.18	JD9	3.76±0.38	29.74±2.34
WJX5	4.46±0.67	26.32±2.47	YJW1	1.06±0.28	5.71±0.43	JD10	0.35±0.22	29.56±3.21
YX1	6.08±0.57	5.65±0.27	YJW2	3.88±0.79	13.27±0.96	JD11	4.30±0.67	23.34±2.43
YX2	8.14±0.77	22.75±1.57	YJW3	4.67±0.37	19.82±2.07	JD12	2.02±0.33	30.05±3.12
YX3	7.21±0.35	19.01±1.74	YJW4	1.17±0.38	10.91±1.08	JD13	6.84±0.55	31.25±3.77
YX4	6.41±1.07	12.00±0.83	YJW5	2.74±0.68	21.96±1.97	JD14	7.39±0.83	25.82±2.43
YX5	3.27±0.49	28.70±2.36	YBQ1	0	28.46±3.01	JD15	6.86±0.92	27.47±3.13
WC1	0	25.08±2.78	YBQ2	4.73±0.77	20.71±1.79	JD16	2.28±0.55	9.38±0.52
WC2	0	9.33±0.46	YBQ3	5.72±1.11	16.31±1.35	JD17	7.64±1.05	32.84±2.89
WC3	5.89±0.56	15.76±1.47	YBQ4	0	23.48±1.37	JD18	5.98±0.63	32.55±2.76
WC4	6.41±0.98	26.92±2.59	YBQ5	2.13±0.55	26.90±2.64	JD19	3.45±0.56	13.52±1.38
WC5	1.09±0.25	16.61±1.45	YBQ6	1.23±0.37	6.22±0.29	JD20	2.96±0.46	27.15±2.71

株 *Lactobacillus plantarum* ZS2058 GCA_0012960951 的亲缘关系最近,考虑菌株 JD17 较大概率为植物乳杆菌。

表2 菌株 JD17 基因组属性

Table 2 Genomic attributes of strain JD17

属性	单位	数值
基因组大小	bp	3 237 888
G+C 含量	%	45
编码基因数目		3 079
编码基因平均长度	bp	888
COG 数据库注释基因数		2 056
GO 数据库注释基因数		462
CAZy 数据库注释基因数		75
KEGG 数据库注释基因数		888
ncRNA 数目		1
rRNA 数目		7
tRNA 数目		60

2.2.2 功能注释结果 乳酸菌 JD17 的 3 011 个 CDS 片段中有 2 056 个被 COG 数据库注释,功能主要集中在氨基酸转运与代谢、碳水化合物转运与代谢、翻译、核糖体结构与生物合成、转录等。CAZy 数据库成功注释 75 条 CDS 片段,其中 37 条与糖苷水解酶有关、20 条与糖基转移酶有关、16 条与糖类酯解酶有关、2 条与氧化还原酶有关、0 条与多糖裂解酶有关,可见该菌可能不具备分解多糖的能力。KEGG 数据库成功注释 888 条 CDS,分别归于细胞过程、环境信息处理、遗传信息处理、代谢、生物系统五大通

路。其中代谢通路的基因数目最多,环境信息处理通路次之。基于 COG 与 KEGG 注释结果,对 JD17 菌株的基因组进行分析。

在乳酸菌 JD17 的基因组中,鉴定出许多与胃肠道耐受相关的基因,包括对温度、pH、渗透和氧化应激相关的应激蛋白及蛋白酶,如表 3 所示。UspA 是通用应激蛋白,clp 和 HslV 等蛋白酶参与多种应激反应。clpB 被证实参与热应激反应,此外,groEL、dnaJ、dnaK、grpE 伴侣复合物和 HSP20 的存在也显示 JD17 具备很好的热休克响应潜力^[24]。同时 JD17 的基因组中也注释到存在冷应激蛋白编码基因。JD17 编码 groEL、dnaK、dnaJ 和 clp 蛋白酶伴侣蛋白,能够防止应激时细胞内蛋白质聚集^[25]。在 JD17 中鉴定的蛋白酶伴侣蛋白也可能在 JD17 的蛋白质合成和应激过程中,对细胞质中蛋白质的不可逆聚集起到保护作用。乳酸菌编码多种耐酸机制,包括 F1F0-atp 酶和谷氨酸脱羧酶,在酸性环境中维持细胞内稳定的 pH 值。乳酸菌 JD17 的基因组中包含完整的质子泵 F1F0-atp 酶系统(atpA-atpH)和 6 个 Na⁺/H⁺ 抗转运蛋白的基因,其中 4 个基因同时可以编码 K⁺/H⁺ 抗转运蛋白。它们可以通过消耗细胞 ATP 转运 H⁺,维持细胞内 pH 稳定,适应酸性环境或酸胁迫^[26]。另外,谷氨酸脱氢酶可以将谷氨酸转化为 γ -氨基丁酸(GABA),中和胞内氢离子,缓解酸性应激。

对于胃肠道环境中可能存在的持续性渗透应激,乳酸菌 JD17 的基因组中编码了 ABC 家族的多组分结合蛋白依赖转运系统(opuABCD),使细胞能够在响应外部渗透压的情况下积累适应渗透环境的酸性和碱性化合物^[27]。

表3 乳酸菌 JD17 胃肠道耐受基因

Table 3 Gastrointestinal tolerance genes of *Lactobacillus plantarum* JD17

应激蛋白类别	基因位点	基因名	基因功能
通用应激家族蛋白	ctg00007_01732	<i>UspA</i>	通用应激蛋白
	ctg00012_02624	<i>UspA</i>	通用应激蛋白
蛋白酶和伴侣	ctg00004_01105	<i>clpP</i>	ATP 依赖性 clp 蛋白酶的亚基
	ctg00008_01890	<i>HslV</i>	ATP 依赖性蛋白酶 HslVU(clpYQ), ATP 酶亚基
	ctg00008_01891	<i>HslV</i>	ATP 依赖性蛋白酶 HslVU(clpYQ), 肽酶亚基
	ctg00008_01940	<i>clpB</i>	ATP 依赖性 clp 蛋白酶 ATP 结合亚基 clpB
热休克应激	ctg00009_02110	<i>clpX</i>	ATP 依赖性 clp 蛋白酶 ATP 结合亚基 clpX
	ctg00009_02030	<i>dnaK</i>	分子伴侣 dnaK(Hsp70)
	ctg00004_01152	<i>groEL</i> 、 <i>HSPD1</i>	groEL 伴侣蛋白(HSP60 家族)
	ctg00004_01153	—	groES 伴侣蛋白(HSP10)
	ctg00009_02029	—	dnaJ 类分子伴侣
	ctg00001_00364	<i>HSP20</i>	分子伴侣;HSP20 家族蛋白
	ctg00003_00879	<i>HSP20</i>	分子伴侣;HSP20 家族蛋白
	ctg00005_01282	<i>HSP20</i>	分子伴侣;HSP20 家族蛋白
	ctg00009_02031	<i>grpE</i>	分子伴侣 grpE

续表 3

应激蛋白类别	基因位点	基因名	基因功能	
酸应激	ctg00007_01751	<i>ATPF1E, atpC</i>	F 型 H ⁺ 转运 ATP 酶亚基 ϵ	
	ctg00007_01752	<i>ATPF1B, atpD</i>	F 型 H ⁺ 转运 ATP 酶亚基 β	
	ctg00007_01753	<i>ATPF1G, atpG</i>	F 型 H ⁺ 转运 ATP 酶亚基 γ	
	ctg00007_01754	<i>ATPF1A, atpA</i>	F 型 H ⁺ 转运 ATP 酶亚基 α	
	ctg00007_01755	<i>ATPF1D, atpH</i>	F 型 H ⁺ 转运 ATP 酶亚基 δ	
	ctg00007_01756	<i>ATPF0B, atpF</i>	F 型 H ⁺ 转运 ATP 酶 b 亚基	
	ctg00007_01757	<i>ATPF0C, atpE</i>	F 型 H ⁺ 转运 ATP 酶亚基 c	
	ctg00007_01758	<i>ATPF0A, atpB</i>	F 型 H ⁺ 转运 ATP 酶亚基 a	
	ctg00003_00875	—	NhaP 型 Na ⁺ /H ⁺ 和 K ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	
	ctg00003_00875	—	NhaP 型 Na ⁺ /H ⁺ 和 K ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	
	ctg00003_00924	—	NhaP 型 Na ⁺ /H ⁺ 和 K ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	
	ctg00004_01078	—	NhaP 型 Na ⁺ /H ⁺ 和 K ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	
	ctg00006_01628	—	NhaP 型 Na ⁺ /H ⁺ 和 K ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	
	ctg00001_00309	—	Na ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	
	ctg00005_01269	—	Na ⁺ /H ⁺ 逆向转运蛋白	
	ctg00005_01324	<i>gadB, gadA</i>	谷氨酸脱羧酶	
	渗透性应激	ctg00001_00145	<i>opuA</i>	渗透保护剂转运系统 ATP 结合蛋白
		ctg00002_00631	<i>opuA</i>	渗透保护剂转运系统 ATP 结合蛋白
		ctg00001_00146	<i>opuBD</i>	渗透保护剂转运系统渗透酶蛋白
ctg00002_00632		<i>opuBD</i>	渗透保护剂转运系统渗透酶蛋白	
ctg00002_00634		<i>opuBD</i>	渗透保护剂转运系统渗透酶蛋白	
ctg00002_00633		<i>opuC</i>	渗透保护剂转运系统底物结合蛋白	
ctg00004_01053		<i>ppk</i>	多磷酸激酶	
氧化应激蛋白	ctg00007_01669	—	硫氧还蛋白及其还原酶	
	ctg00024_03122	—	硫氧还蛋白及其还原酶	
	ctg00024_03123	—	硫氧还蛋白及其还原酶	
	ctg00002_00698	<i>fabI</i>	烯酰基-[酰基载体蛋白]还原酶(NADH)	
	ctg00002_00698	<i>fabI</i>	烯酰基-[酰基载体蛋白]还原酶(NADH)	
	ctg00001_00351	—	NADH 黄素氧化还原酶, 老黄酶家族	
	ctg00009_02184	—	NADH 黄素还原酶	
	ctg00001_00202	<i>ndh</i>	NADH 脱氢酶, 含 FAD 亚基	
	ctg00010_02266	<i>ndh</i>	NADH 脱氢酶, 含 FAD 亚基	
	ctg00005_01444	<i>katE, catB, srpA</i>	过氧化氢酶	
	ctg00001_00284	<i>gpx</i>	谷胱甘肽过氧化物酶	
	ctg00001_00144	<i>GSR, gor</i>	谷胱甘肽还原酶	
	ctg00008_01876	<i>GSR, gor</i>	谷胱甘肽还原酶	
	ctg00011_02500	<i>GSR, gor</i>	谷胱甘肽还原酶	
	ctg00013_02680	<i>GSR, gor</i>	谷胱甘肽还原酶	
	ctg00024_03117	<i>GSR, gor</i>	谷胱甘肽还原酶	
ctg00004_01125	<i>trxB</i>	硫氧还蛋白还原酶		
ctg00024_03120	<i>trxB</i>	硫氧还蛋白还原酶		

益生菌具有成为维持肠道氧化还原平衡的抗氧化剂的巨大潜力。研究^[28]表明,保持高效的代谢和氧化稳态可以对抗时间衰老和相关疾病,延长健康寿命。乳酸菌 JD17 具有完整的 NADH 系统(NADH 氧化酶和 NADH 过氧化物酶)、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶、硫氧还蛋白和硫氧还蛋白还原酶^[26]。过氧化氢酶和 NADH 氧化酶/过氧化物酶直接参与过氧化氢和活性氧的解毒。谷胱甘肽过氧化物酶降解过氧化物,保护细胞免受氧化损伤。谷胱甘肽还原酶是一种重要的抗氧化酶,负责维持谷胱甘肽,谷胱甘肽是主要的抗氧化代谢产物之一^[24]。

综上所述,乳酸菌 JD17 具有较强的胃肠道耐受潜力,极有可能能够在胃肠道中定植生存,并且 JD17 拥有完整的 NADH 系统、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶和硫氧还蛋白还原酶等氧化还原酶的编码基因,具有成为维持肠道氧化还原平衡的抗氧化剂的巨大潜力。

2.2.3 安全性注释 基于 CARD 数据库进行的耐药基因注释结果显示,JD17 有 48 条匹配度大于 30% 的抗生素抗性基因,主要是针对四环素类抗生素、大环内酯类抗生素、林可酰胺类抗生素、糖肽类抗生素、喹诺酮类抗生素、氨基糖苷类抗生素等发挥作用,通过主动排出抗生素、改变抗生素靶点、保护抗生素靶点等方式来提高耐药性。因抗生素抗性基因数目较多,故需结合药敏试验结果综合分析 JD17 对抗生素的耐药性。

基于 VFDB 数据库注释结果显示,JD17 共有 13 条毒力基因匹配度 >50%,分别与应激蛋白、定植、黏附、耐胆汁、抗吞噬作用有关,根据 KEGG 和 COG 等其他功能数据库的注释,这些潜在毒力基因大多被注释为生物合成代谢和脂多糖生物合成的基因,并不会产生具有毒性作用的次生有害代谢物。另外,VFDB 数据库是针对致病菌进行的毒力注释,它的注释结果和表达形式并不一定适用乳酸菌。例如 ctg00004_01105 能够防止应激时细胞内蛋白质聚集,有助于乳酸菌的生存,对于致病菌来说可能被鉴定为病原体,但对于乳酸菌等益生菌来说,这些基因有助于益生菌在胃肠道中的生存和定植。注释结果中匹配度最高的一条毒力基因仅有 75.3%,低于中国《保健食品原料用菌种安全性检验与评价技术指导原则》中要求的 85%,故认为 JD17 不具备产生毒力作用的毒力基因,具有安全性。

综上所述,JD17 不具备产生毒力作用的毒力基因,但其具有一定的耐药基因,接下来将通过药敏试验探究其耐药性。

2.3 药敏试验结果

乳酸菌一直被公认为是一种安全的细菌,但随着抗生素在动物性食品中的广泛使用,科学家发现乳酸菌、双歧杆菌等非致病微生物也对抗生素具有耐药性,且存在传递耐药基因的风险,因此需要对乳酸菌的耐药性进行评价^[29]。

用 10 种不同的抗生素对乳酸菌 JD17 进行药敏试验,

包括耐药基因注释中提到的四环素类抗生素、大环内酯类抗生素、林可酰胺类抗生素、糖肽类抗生素、喹诺酮类抗生素、氨基糖苷类抗生素,结果如表 4 所示。JD17 虽注释出大环内酯类和林可酰胺类耐药基因,但并不对这两类抗生素抵抗。林可酰胺类、四环素类、氨基糖苷类 3 种抗生素对 JD17 也能起到较好的抑制作用。JD17 仅对喹诺酮类和糖肽类抗生素抵抗,表现出明显耐药性。但植物乳杆菌种属天然对糖肽类抗生素抵抗,这也符合 JD17 是植物乳杆菌的鉴定结果。总而言之,JD17 对多种抗生素敏感,耐药性低,安全性高,应用潜力较好。

表 4 乳酸菌 JD17 对不同抗生素耐药性[†]

Table 4 *Lactobacillus plantarum* JD17 exhibits resistance to different antibiotics

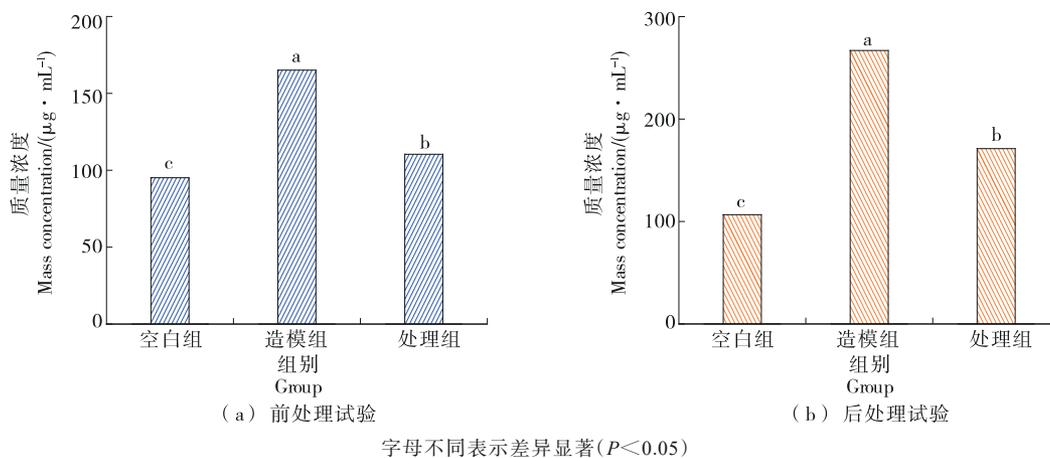
抗生素种类	名称	抑菌圈/mm	敏感性
青霉素类	青霉素	27.04	S
	氨苄西林	26.48	S
大环内酯类抗生素	红霉素	24.65	S
酰胺醇类	氯霉素	24.45	S
头孢菌素类	头孢曲松	18.91	S
林可酰胺类	林可霉素	18.83	S
四环素类	四环素	14.04	I
氨基糖苷类	庆大霉素	12.28	I
喹诺酮类	环丙沙星	6.00	R
糖肽类	万古霉素	6.00	R

† S 表示非常敏感;I 表示相对敏感;R 表示抵抗。

2.4 乳酸菌对 AGS 细胞炎症的抑制作用

当成功定植于胃部之后,幽门螺杆菌会释放细胞毒素相关蛋白(Cag A)和空泡细胞毒素(Vac A)等毒力因子损伤胃部细胞,这通常会带来一系列的炎症反应,乳酸菌作为一类重要的益生菌,通常对炎症因子有抑制作用,可通过调节炎症信号通路、抑制炎症介质释放等机制治疗炎症^[30]。

乳酸菌 JD17 处理 AGS 细胞,发现 JD17 具备降低细胞炎症因子的能力,试验分为前处理和后处理两组,试验结果如图 1 所示。其中前处理试验结果显示,空白对照组分泌的 IL-8 质量浓度为(95.14±1.74) pg/mL,造模组分泌的 IL-8 质量浓度为(165.13±1.35) pg/mL,相较于空白组 IL-8 质量浓度增加 69.99 pg/mL,而经乳酸菌 JD17 预处理后的 AGS 细胞分泌的 IL-8 质量浓度为(110.41±8.81) pg/mL,相较于空白组 IL-8 质量浓度增加 15.27 pg/mL,相较于造模组 IL-8 质量浓度减少 54.69 pg/mL,缓解了 78.18% 由 IL-1 β 刺激带来的 IL-8 分泌增加量。可见使用乳酸菌 JD17 预处理 AGS 细胞能够显著降低炎症因子 IL-8 的分泌量,缓解细胞炎症。



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 乳酸菌对 AGS 细胞炎症的抑制作用
Figure 1 Inhibitory effect of LAB on AGS cell inflammation

后处理试验结果显示,空白对照组分泌的 IL-8 质量浓度为 (106.67 ± 15.29) pg/mL,造模组分泌的 IL-8 质量浓度为 (266.93 ± 7.16) pg/mL,相较于空白组 IL-8 质量浓度增加 160.26 pg/mL,经乳酸菌 JD17 预处理后的 AGS 细胞分泌的 IL-8 质量浓度为 (171.11 ± 7.08) pg/mL,相较于空白组 IL-8 质量浓度增加 64.44 pg/mL,相较于造模组 IL-8 质量浓度减少 95.82 pg/mL,缓解了 59.79% 由 IL-1 β 刺激带来的 IL-8 分泌增加量。可见使用乳酸菌 JD17 后处理 AGS 细胞同样能够降低炎症因子 IL-8 的分泌量,减轻细胞炎症,但效果略差于前处理方法。

综上所述,乳酸菌 JD17 在一定程度上能够缓解胃细胞炎症,具有较好的应用开发前景。

3 结论

该研究成功筛选并鉴定了对幽门螺杆菌具有较强拮抗活性的乳酸菌菌株。乳酸菌对幽门螺杆菌的拮抗机制包括分泌代谢产物(例如乳酸、细菌素等)抑制幽门螺杆菌活性与与幽门螺杆菌发生共聚集作用产生共聚体从而影响幽门螺杆菌定殖,故通过牛津杯扩散试验和共聚集试验在体外测定了 68 株健康人类粪便来源的乳酸菌对幽门螺杆菌的拮抗能力,通过与 3 株商业乳酸菌比较优选得到一株对幽门螺杆菌具有较好抑制效果的乳酸菌,命名为 JD17,而后通过基因组测序将菌株 JD17 鉴定为植物乳杆菌,同时发现 JD17 基因组中具有赋予其胃肠道耐受性、应激反应和抗氧化活性的基因。这些基因组特征表明,JD17 很好地适应了胃肠道的生存和功能,具有作为益生菌的应用潜力,对 JD17 进行毒力基因注释和耐药基因注释、同时结合抗生素敏感性试验,发现 JD17 安全性较高,它几乎不具备毒力基因且对多种抗生素敏感,转移抗生素抗性基因的风险低。最终通过 AGS 细胞的抗炎试验表明,乳酸菌 JD17 在缓解与幽门螺杆菌感染相关的胃部炎症方面具有一定的应用潜力。

总之,乳酸菌 JD17 在缓解幽门螺杆菌感染和相关胃部炎症方面具有重要前景,同时在人体内还具有一定的益生潜力,在食品工业中的应用前景广阔。可以考虑将 JD17 制备成为益生菌菌粉直接食用,从而直接发挥益生效果;或将 JD17 应用于食品的发酵过程,在增添食品风味的同时为食品赋予更好益生效果,从而在饮食的过程中预防和缓解幽门螺杆菌感染及胃部炎症。未来的研究将探索该菌的体内疗效及其对胃肠道健康的潜在长期益处。

参考文献

- [1] PEEK JR R M, BLASER M J. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas[J]. Nature Reviews Cancer, 2002, 2(1): 28-37.
- [2] SJOMINA O, PAVLOVA J, NIV Y, et al. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection[J]. Helicobacter, 2018, 23: e12514.
- [3] FORD A C, YUAN Y, MOAYYEDI P. *Helicobacter pylori* eradication therapy to prevent gastric cancer: systematic review and meta-analysis[J]. Gut, 2020, 69(12): 2 113-2 121.
- [4] PUIG I, BAYLINA M, SANCHEZ-DELGADO J, et al. Systematic review and meta-analysis: triple therapy combining a proton-pump inhibitor, amoxicillin and metronidazole for *Helicobacter pylori* first-line treatment[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2016, 71(10): 2 740-2 753.
- [5] HU Y, ZHU Y, LU N H. Novel and effective therapeutic regimens for *Helicobacter pylori* in an era of increasing antibiotic resistance[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2017, 7: 168.
- [6] ARENA M P, CAPOZZI V, RUSSO P, et al. Immunobiosis and probiosis: antimicrobial activity of *Lactic Acid Bacteria* with a focus on their antiviral and antifungal properties[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102: 9 949-9 958.
- [7] KHANEGHAH A M, ABHARI K, EŞ I, et al. Interactions between probiotics and pathogenic microorganisms in hosts and foods: a review[J]. Trends in Food Science and Technology,

- 2020, 95: 205-218.
- [8] LIANG B, YUAN Y, PENG X J, et al. Current and future perspectives for *Helicobacter pylori* treatment and management: from antibiotics to probiotics[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022, 12: 1042070.
- [9] 陈卫, 田丰伟, 陈晓华, 等. 一种抗幽门螺杆菌感染的植物乳杆菌及其用途: CN102174450A[P]. 2011-09-07.
CHEN W, TIAN F W, CHEN X H, et al. A plant derived *Lactobacillus* resistant to *Helicobacter pylori* infection and its use: CN102174450A[P]. 2011-09-07.
- [10] 方曙光, 董瑶, 盖忠辉, 等. 一种改善阴道环境的嗜酸乳杆菌 LA88 及其培养方法与应用: CN114591875B[P]. 2022-07-29.
FANG S G, DONG Y, GAI Z H, et al. A *Lactobacillus acidophilus* LA88 and its cultivation method and application for improving vaginal environment: CN114591875B[P]. 2022-07-29.
- [11] 杨洋洋, 徐云凤, 郭卫平, 等. 一株产细菌素乳酸菌的筛选鉴定及对金黄色葡萄球菌的抑菌作用[J]. *食品与机械*, 2024, 40(11): 35-40.
YANG Y Y, XU Y F, GUO W P, et al. Screening and identification of a bacteriocin producing lactic acid bacterium and its antibacterial effect on *Staphylococcus aureus*[J]. *Food & Machinery*, 2024, 40(11): 35-40.
- [12] HUANG H, PENG F, LI J, et al. Isolation and characteristics of *Lactic acid bacteria* with antibacterial activity against *Helicobacter pylori*[J]. *Food Bioscience*, 2021, 44: 101446.
- [13] CEN S, YIN R, MAO B, et al. Comparative genomics shows niche-specific variations of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from human, *Drosophila melanogaster*, vegetable and dairy sources[J]. *Food Bioscience*, 2020, 35: 100581.
- [14] LOMBARD V, GOLACONDA RAMULU H, DRULA E, et al. The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42: D490-D495.
- [15] KANEHISA M, GOTO S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(1): 27-30.
- [16] 宋晟, 高晗, 严礼, 等. 生鲜畜禽肉中沙门氏菌全基因组分析与分子溯源[J]. *食品与机械*, 2020, 36(9): 55-62, 169.
SONG S, GAO H, YAN L, et al. Whole genome analysis and molecular tracing of *Salmonella* in fresh livestock and poultry meat[J]. *Food & Machinery*, 2020, 36(9): 55-62, 169.
- [17] CHEN L, YANG J, YU J, et al. VFDB: a reference database for bacterial virulence factors[J]. *Nucleic Acids Research*, 2005, 33(Suppl 1): 325-328.
- [18] WU J J, ZHOU Q Y, LIU D M, et al. Evaluation of the safety and probiotic properties of *Lactobacillus gasseri* LGZ1029 based on whole genome analysis[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2023, 184: 114759.
- [19] 刘祺琛, 康文丽, 魏雪, 等. 生殖道乳酸菌分离及益生功能评价[J]. *中国乳品工业*, 2025, 53(4): 28-36.
LIU Q C, KANG W L, WEI X, et al. Isolation of *Lactic acid bacteria* from reproductive tract and evaluation of probiotic function[J]. *China Dairy Industry*, 2025, 53(4): 28-36.
- [20] KIM Y, SEO J H, KIM H. β -Carotene and lutein inhibit hydrogen peroxide-induced activation of NF- κ B and IL-8 expression in gastric epithelial AGS cells[J]. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2011, 57(3): 216-223.
- [21] GUTIERREZ-OROZCO F, STEPHENS B R, NEILSON A P, et al. Green and black tea inhibit cytokine-induced IL-8 production and secretion in AGS gastric cancer cells via inhibition of NF- κ B activity[J]. *Planta Medica*, 2010, 76(15): 1 659-1 665.
- [22] 张美怡. 具有抗幽门螺杆菌感染作用乳杆菌的筛选及其临床效果评价[D]. 无锡: 江南大学, 2020: 17.
ZHANG M Y. Screening and clinical functional evaluation of *Lactobacillus* strains for their anti-*Helicobacter pylori* effects [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020: 17.
- [23] 李露露. 乳杆菌与幽门螺旋杆菌共聚集的影响因素分析[D]. 无锡: 江南大学, 2022: 4.
LI L L. Analysis of factors influencing the co aggregation of *Lactobacillus* and *Helicobacter pylori*[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022: 4.
- [24] LIANG M H, JIANG J G, WANG L, et al. Transcriptomic insights into the heat stress response of *Dunaliella bardawil*[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2020, 132: 109436.
- [25] ANDREA AZCARATE-PERIL M, ALTERMANN E, GOH Y J, et al. Analysis of the genome sequence of *Lactobacillus gasseri* ATCC 33323 reveals the molecular basis of an autochthonous intestinal organism[J]. *Am Soc Microbiol*, 2008, 74(15): 4 610-4 625.
- [26] PAPANIMITRIOU K, ALEGRIA Á, BRON P A, et al. Stress physiology of *Lactic acid bacteria*[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2016, 80(3): 837-890.
- [27] GUCHTE M V D, SERRA P, CHERVAUX C, et al. Stress responses in lactic acid bacteria[J]. *Springer Netherlands*, 2002, 82(1/2/3/4): 187-216.
- [28] MARTEMUCCI G, PORTINCASA P, DI CIAULA A, et al. Oxidative stress, aging, antioxidant supplementation and their impact on human health: an overview[J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2022, 206: 111707.
- [29] 李宇行, 何继玮, 钱敏, 等. 市售发酵食品中乳酸菌的耐药性评估及传播风险研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2024, 43(6): 21-30.
LI Y X, HE J W, QIAN M, et al. Evaluation of resistance and transmission risk of *Lactic acid bacteria* in commercially available fermented foods[J]. *Journal of Food and Biotechnology*, 2024, 43(6): 21-30.
- [30] 孙晋涛, 顾鑫淑, 王金全, 等. 乳酸菌缓解伴侣动物肠道炎症的作用机制及研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2025(5): 2 442-2 448.
SUN J T, GU X S, WANG J Q, et al. Mechanism and recent advances of lactic acid bacteria in treating intestinal inflammation in companion animals[J]. *Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2025(5): 2 442-2 448.