

胃、肠溶胶囊递送鼠李糖乳杆菌效果对比研究

龚莉^{1,2}, 黄裕萍³, 张薄博³, 许锐鹏^{1,2}, 陈伊妮^{1,2}, 陆少莹^{1,2}, 李煜龙^{1,2*}

1. 广东强基药业有限公司, 广东 潮州 515638

2. 广东龙创基药业有限公司, 广东 潮州 521021

3. 汕头大学 理学院, 广东 汕头 515063

摘要: **目的** 对比胃、肠溶胶囊递送鼠李糖乳杆菌的效果。**方法** 通过单次 ig 给予鼠李糖乳杆菌胃溶胶囊和肠溶胶囊, 观察鼠李糖乳杆菌在大鼠肠道中不同肠段处的分布, 比较胃溶胶囊和肠溶胶囊递送鼠李糖乳杆菌至大鼠肠道的情况。给药后通过鼠李糖乳杆菌特异性引物进行 RT-PCR 检测乳杆菌浓度。**结果** 相比于空胶囊组, 胃溶胶囊和肠溶胶囊组大鼠的小肠和结肠肠段内容物中鼠李糖乳杆菌的浓度均显著升高。肠溶胶囊组比胃溶胶囊组更能显著地提高小肠中鼠李糖乳杆菌浓度, 肠溶胶囊组进入结肠需要的时间比胃溶胶囊组长, 但后期其进入结肠后, 也能显著提高结肠中鼠李糖乳杆菌浓度。**结论** 与胃溶胶囊相比, 肠溶胶囊能够更好地保护鼠李糖乳杆菌到达肠道, 且使用 RT-PCR 测定肠道中鼠李糖乳杆菌浓度的方法特异性强, 实验结果较为可靠, 可为临床应用提供有用的参考。

关键词: 胃溶胶囊; 肠溶胶囊; 鼠李糖乳杆菌; 大鼠肠道; 菌体浓度

中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2021)10-2017-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.10.005

Comparative study on the effect of *Lactobacillus rhamnosus* delivered by gastric and enteric capsules

GONG Li^{1, 2}, HUANG Yu-ping³, ZHANG Bo-bo³, XU Rui-peng^{1, 2}, CHEN Yi-ni^{1, 2}, LU Shao-ying^{1, 2}, LI Yu-long^{1, 2}

1. Qiangji Pharmaceutical Co., Ltd., Guangdong, Chaozhou 515638, China

2. Longchuangji Pharmaceutical Co., Ltd., Guangdong, Chaozhou 521021, China

3. College of Science, Shantou University, Shantou 515063, China

Abstract: Objective The distribution of *Lactobacillus rhamnosus* in different intestinal segments of rats was observed by single intragastric administration of *Lactobacillus rhamnosus* in gastric capsule and enteric capsule, and the delivery of *Lactobacillus rhamnosus* in intestinal tracts of rats was compared. **Methods** The distribution of *Lactobacillus rhamnosus* in different intestinal segments of rats was observed by single gavage of *Lactobacillus rhamnosus* gastric and enteric-soluble capsules, and the delivery of *Lactobacillus rhamnosus* to the intestine of rats was compared. After administration, *Lactobacillus rhamnosus* concentration was detected by real-time PCR using specific primers of *Lactobacillus rhamnosus*. **Results** Compared with the empty capsule group, the concentrations of *Lactobacillus rhamnosus* in the small intestine and colon of rats in gastric capsule and enteric-capsule groups were significantly increased. The enteric-capsule group could significantly increase the concentration of *Lactobacillus rhamnosus* in the small intestine than the stomach-capsule group, and the time of enteric-capsule group to enter the colon was longer than that of stomach-capsule group, but the enteric-capsule group could also significantly increase the concentration of *Lactobacillus rhamnosus* in the colon after its late entry into the colon. **Conclusion** Compared with stomach dissolved capsules, enteric dissolved capsules can better protect *Lactobacillus rhamnosus* to reach the intestinal tract, and real-time PCR method for the determination of *Lactobacillus rhamnosus* concentration is highly specific, the experimental results are more reliable, which can provide a useful reference for clinical application.

Key words: gastric soluble capsules; enteric capsules; *Lactobacillus rhamnosus*; rat intestinal; concentration of bacteria

收稿日期: 2021-06-30

作者简介: 龚莉, 女, 硕士, 制药工程专业。E-mail: 13502136589@139.com

*通信作者: 李煜龙 E-mail: 402274347@qq.com

乳杆菌是常见的肠道益生菌，对肠道微生态稳定及调节肠道免疫屏障具有重要作用，能够分泌乳酸、过氧化氢、细菌素等抗菌物质并通过竞争肠黏膜黏附位点和营养物质抑制病原菌的生长^[1]。鼠李糖乳杆菌的研究及应用较为广泛。研究发现鼠李糖乳杆菌可以增强肠道上皮屏障功能^[2]，减缓三硝基苯磺酸 (TNBS) 或葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导的小鼠急性结肠炎，并使炎症因子白细胞介素 (IL)-1 β 、IL-6、IL-12、IL-8 和肿瘤坏死因子 (TNF)- α 的表达下降，并使抗炎因子 IL-10、转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 的表达增加^[3-5]。临床试验也证实使用鼠李糖乳杆菌可缓解肠道炎症性疾病症状并降低复发率^[6-7]。Son 等^[8]还发现用鼠李糖乳杆菌进行小鼠结肠炎治疗可以使 DSS 引起的肠道菌群失调得到恢复。此外，鼠李糖乳杆菌用于小儿腹泻的治疗能够缩短腹泻持续时间，减少每日便数^[9-10]。从毒理学角度来说，鼠李糖乳杆菌的使用是具有一定安全性的，没有基因潜在毒性，并且在适量范围内不会引起副作用^[11]。因此，鼠李糖乳杆菌可作为益生菌产品，在一些肠道相关疾病的治疗上具有优良的应用前景。

益生菌产品市场近年逐渐普及，越来越受到人们的关注，其发挥的作用是要保证到达肠道的数量。活菌制剂进入消化道后大多数难以经受低 pH 值胃酸环境的作用，因此能够到达肠道发挥作用的活菌数较少^[12]。此外，当活菌或辅料长期与空气直接接触时，会导致活菌死亡及辅料氧化，产品稳定性差。因此，剂型对益生菌的活性具有重大意义^[13]。目前常见的益生菌产品剂型有液态制剂、片剂、粉剂、胶囊^[14]。液态制剂存在益生菌无法长期存活的问题，研究发现，液态制剂中活菌数 1 周内出现大幅下降^[12]；片剂在加工过程中需要高温干燥且容易受潮，因此片剂中的益生菌活菌数通常相对较少；粉剂大多数是通过低温冷冻干燥加工成的益生菌冻干粉制剂，用温水冲泡时水温较难控制，益生菌的活性难以保障^[15]；传统明胶胶囊的包装可以有效隔绝氧气，且溶出度较片剂快，但一般胶囊在胃部就会崩解^[16]，内部益生菌难以得到保护。相比之下，肠溶胶囊具有抗胃酸、肠道内溶解的优点^[17]，可以更好地保护益生菌抵达肠道发挥作用。

益生菌在胃肠道中的存活情况的研究大多数是采用模拟胃肠道消化环境的方法，且大多数是采用平板计数法^[18-19]，该方法测定菌落数操作复杂、

检测周期较长，很难反映出微生物具体的数量^[20]。为了准确地监测益生菌在体内的存活情况，需要使用更加具有特异性的菌种鉴定方法。Real-time PCR 法操作方便、检测时间短、特异性好、灵敏度高、定量准确^[21]，被广泛用于微生物快速检测。

目前关于益生菌胃溶、肠溶胶囊对益生菌的保护作用对比主要是通过比较体外模拟胃、肠环境对 2 种胶囊的胶囊体破坏及对内部益生菌活性影响来实现，关于胃、肠溶胶囊递送益生菌情况的动物体内实验对比鲜有报道。本研究通过分别给予大鼠灌以装填鼠李糖乳杆菌粉末的胃溶胶囊和肠溶胶囊，然后用 RT-PCR 方法检测鼠李糖乳杆菌在肠道中的浓度，观察鼠李糖乳杆菌在大鼠肠道内不同肠段中的分布，比较胃溶胶囊和肠溶胶囊递送鼠李糖乳杆菌的情况，为鼠李糖乳杆菌肠溶胶囊在治疗肠道疾病的临床应用提供有益的参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

成年、未交配雄性 SD 大鼠 30 只 (4 周龄，体质量 149~179 g，SPF 级) 购于北京维通利华实验动物技术有限公司 [动物生产批号 SCXK (京) 2016-0006]。所有实验大鼠饲养于广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心，所有操作均在该研究中心完成。

1.2 实验动物伦理与动物福利

本实验动物管理与使用计划书由中心动物管理与使用委员会伦理审查批准 [实验动物管理与使用计划书 (编号 IA-EL2020019-01)]。实验过程中动物的使用符合 3R (reduction, replacement, refinement) 原则。研究中所有实验动物相关的操作已按《关于善待实验动物的指导性意见》和《广东省实验动物管理条例》实施。

1.3 主要试剂与仪器

1.3.1 主要试剂 鼠李糖乳杆菌胃溶胶囊，规格为 25 mg/粒，批号 W20200702；鼠李糖乳杆菌肠溶胶囊，规格为 25 mg/粒，批号 C20200603、C20200702；空心胶囊 (大鼠用)，批号 K20200702；鼠李糖乳杆菌标准对照品 (浓度为 1.1×10^{11} CFU/g)，批号 20201212；以上试剂均由广东强基药业有限公司提供。粪便基因组 DNA 提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公司；Man Rogosa Sharpe (MRS) 琼脂培养基购自广东环凯微生物科技有限公司；Talent 荧光定量检测试剂盒 (SYBR green) 购自北京天根

生化科技有限公司；鼠李糖乳杆菌特异性引物购自广州鼎国生物技术有限公司，引物序列 rhaF: 5'-GACGCAGCCGGTTGACCCAA-3'；rhaR: 5'-GGCGGCAGTTGCCCCAGAAT-3'。

1.3.2 主要仪器 电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司, 型号 BP3100S、TE4100-L、BSA2202S]; 3111 二氧化碳培养箱(美国 Thermo Fisher 公司); BSG-6EX 生物安全柜(珠海市造鑫

企业有限公司); CLG-40M 全自动高压灭菌仪(日本 ALP 公司); DHG-9245A 鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司); HH-4 数显恒温水浴锅(常州国华电器有限公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 鼠李糖乳杆菌胃、肠溶胶囊的制备方法 本实验所用鼠李糖乳杆菌胃、肠溶胶囊均为广东强基药业有限公司生产, 其生产主要流程见图 1。

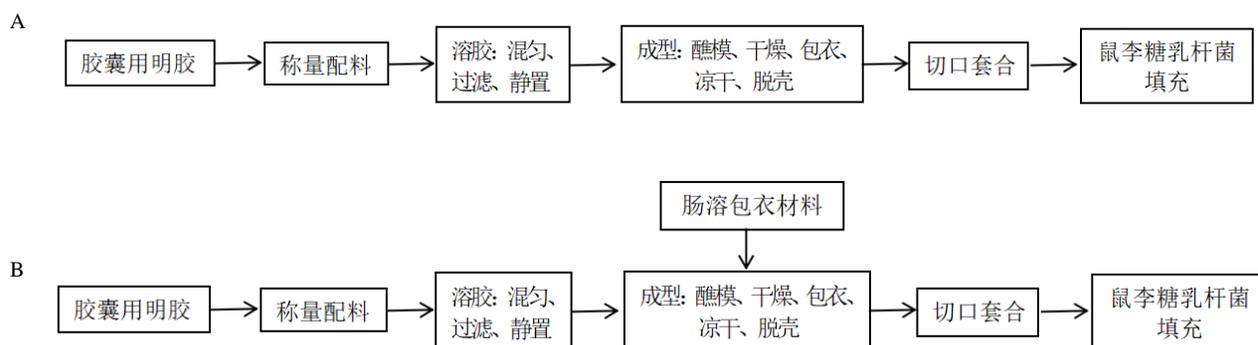


图 1 鼠李糖乳杆菌胃溶胶囊 (A)、肠溶胶囊 (B) 生产流程
 Fig. 1 Gastric Capsules (A) and Enteric Capsules (B) production process

其中, 胃溶胶囊在胃酸 (pH1.0) 中崩解时间为 20 min 内, 肠溶胶囊在胃酸中不崩解, 在肠溶 (pH 6.8 磷酸盐缓冲液) 中崩解时间为 30 min 内。

1.4.2 剂量设计 参考《药理实验方法学》^[22]和《中药药理研究方法学》^[23]受试物相关的信息和相关文献资料^[24-25], 设计本实验的药物剂量。本实验所用胶囊囊体长 5 mm, 容量约 20 μ L; 大鼠常规 ig 容积为 10 mL/kg。结合前期实验结果, 本研究设计胶囊给药粒数均为 8 粒 (鼠李糖乳杆菌的量均为 200 mg) 进行 ig 给药。

1.4.3 分组及给药 选用检疫合格的 SD 大鼠, 按体质量随机均分为 3 组, 分别为空胶囊组、鼠李糖乳杆菌胃溶胶囊组和鼠李糖乳杆菌肠溶胶囊组, 每组 6 只动物。其中空胶囊组为未装填鼠李糖乳杆菌的胃溶胶囊, 各组给药剂量均为 8 粒。

分组后各组单次 ig 给予相应药物, 给药前 1 天晚上 21:00 时各组动物开始禁食至次日给药后 6 h 取材。给药当天 9:00 时各组动物单次 ig 给予相应药物, 收集给药后 6 h 的各组大鼠小肠和结肠肠段内容物, 收集方法: 摘取出完整的小肠和结肠, 从小肠和结肠起始端用灌胃针分别注入 10、5 mL 生理盐水, 收集小肠和结肠末端流出的肠段内容物, 重复收集 3 次, 过 200 目筛后将收集到的小肠和结

肠肠道内容物进行后续实验。

1.4.4 肠溶胶囊鼠李糖乳杆菌浓度检测 在前期鼠李糖乳杆菌肠溶胶囊 6 h 组的实验基础上, 另外选用检疫合格的 SD 大鼠 12 只, 按体质量随机分为 2 组, 分别为鼠李糖乳杆菌肠溶胶囊 9 h 组和鼠李糖乳杆菌肠溶胶囊 12 h 组, 每组 6 只动物, 各组给药剂量均为 8 粒胶囊。

给药当天 13:30 时各组动物开始禁食, 当天 23:30 时各组动物单次 ig 给予相应药物, 收集给药后 9、12 h 的各组大鼠小肠和结肠肠段内容物, 收集方法同“1.4.3”。

1.5 观察指标

1.5.1 一般状况观察 观察动物外观体征、行为活动、分泌物、呼吸、排泄物和死亡情况等, 至少观察 1 次, 及时做好记录, 发现死亡或濒死动物, 及时解剖检查。

1.5.2 RT-PCR 检测乳杆菌浓度 标准对照品基因组 DNA 提取: 称取 0.3 g 鼠李糖乳杆菌标准对照品 (浓度为 1.1×10^{11} CFU/g), 溶于 2.4 mL 灭菌生理盐水中, 充分溶解混匀, 采用 DNA 提取试剂盒提取 DNA, -20°C 保存备用。

标准曲线的制备: 将提取到的标准对照品 DNA 按 500 倍稀释后依次 10 倍梯度稀释, 得到 8 个稀

释浓度 ($2 \times 10^{-3} \sim 2 \times 10^{-10}$) 的标准对照品, 作为模板用于 Rt-PCR 扩增。各梯度浓度的标准品 DNA 按照实时荧光定量 PCR 反应体系及反应条件进行扩增, 根据的荧光信号分析得到 C_t 值, 以 C_t 值为纵坐标, 对数浓度为横坐标制作标准曲线。

待测物基因组 DNA 提取: 将收集到的小肠和结肠肠道内容物采用基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA, 并与标准对照品 DNA 用相同的反应体系和反应程序进行 RT-PCR 的扩增, 根据荧光信号分析得到 C_t 值, 将获得的 C_t 值带入标准曲线中计算待测物的浓度。

PCR 反应体系: 在 qPCR 专用的 8 连管中加入表 1 中所列试剂的反应体系, 混匀后于 qPCR 仪中进行检测。RT-PCR 的反应条件为: 95 °C 预变性 3 min, 1 个循环; 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火/延伸 15 s, 40 个循环。在每个循环的 60 °C 阶段结束后收集荧光信号并进行熔解曲线分析。

表 1 PCR 反应体系
Table 1 PCR reaction system

试剂	20 μ L 反应体系/ μ L
2 \times Talent qPCR PreMix	10
正向引物 (10 μ mol \cdot L $^{-1}$)	0.6
反向引物 (10 μ mol \cdot L $^{-1}$)	0.6
cDNA 模板	1
50 \times ROX \times Reference Dye	0.4
RNase-free ddH $_2$ O	至 20

1.6 统计分析方法

所有数据均输入 Excel 进行统计分析, 在对动物体质量用 t 检验或 t' 检验进行分析统计。对动物体质量各组间数据进行正态分布检验, 两组数据比较先进行方差分析, 方差齐性用 t 检验, 方差不齐采用 t' 检验。

2 结果

2.1 一般状况观察

鼠李糖乳杆菌胃溶胶囊组有 2 例动物 (2/6) 在给药 6 粒胶囊后发生死亡, 解剖发现其死亡原因是由于食管内有大部分胶囊堵塞引起, 原因分析为鼠李糖乳杆菌胃溶胶囊较空胶囊和鼠李糖乳杆菌肠溶胶囊偏大, 故容易引发动物在 ig 过程中堵塞从而导致死亡; 其余各组动物顺利完成给药。

2.2 RT-PCR 检测的线性关系

标准曲线斜率为 -3.585, 相关系数为 0.997。因此, 用于该 Real-time PCR 的标准对照品、特异性引物、反应体系及程序都符合检测要求, 建立的标准曲线可用来计算未知样品的鼠李糖乳杆菌的浓

度。标准曲线: $Y = -3.585 X + 44.677$, $R^2 = 0.994$, 线性范围为 0.44~7.44 CFU/mL。

2.3 熔解曲线

RT-PCR 反应完毕后进行熔解曲线分析, 图 2 为鼠李糖乳杆菌标准品及待测样品的熔解曲线, 可见各样品的熔解曲线均为单峰, 说明 SYBR Green 荧光染料结合的目的 DNA 片段扩增产物单一, 避免了 RT-PCR 检测过程中的假阳性结果, 与文献报道一致^[26]。

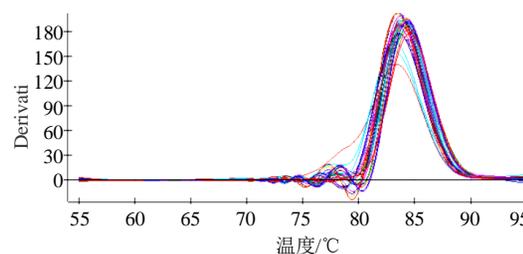


图 2 鼠李糖乳杆菌 RT-PCR 的熔解曲线

Fig. 2 Fusion curve of *Lactobacillus rhamnosus* by RT-PCR

2.4 大鼠各肠段的鼠李糖乳杆菌浓度

给药 6 h 后, 与空胶囊组相比, 鼠李糖乳杆菌胃溶胶囊和肠溶胶囊组大鼠小肠和结肠肠段内容物中鼠李糖乳杆菌的浓度均显著升高 ($P < 0.05$)。与胃溶胶囊组相比, 肠溶胶囊组小肠中的鼠李糖乳杆菌浓度更高, 但结肠中的鼠李糖乳杆菌浓度胃溶胶囊组高于肠溶胶囊组。各组大鼠肠段内鼠李糖乳杆菌分布见表 2。

表 2 各肠段鼠李糖乳杆菌的浓度

Table 2 Concentration of *Lactobacillus rhamnosus* in different intestinal segments

组别	小肠鼠李糖乳杆菌浓度/ ($\times 10^4$ CFU/mL)	结肠鼠李糖乳杆菌浓度/ ($\times 10^4$ CFU/mL)
空胶囊	0.50 \pm 0.24	0.27 \pm 0.15
胃溶胶囊	5.80 \pm 0.99**	20.73 \pm 8.75**
肠溶胶囊	198.27 \pm 147.14***	5.03 \pm 2.03***

与空胶囊组比较: ** $P < 0.01$; 与胃溶胶囊组比较: # $P < 0.05$

** $P < 0.01$ vs empty capsule group; # $P < 0.05$ vs gastric soluble capsules group

2.5 肠溶胶囊组大鼠各肠段的鼠李糖乳杆菌浓度

与给药后 6 h 组相比, 肠溶胶囊 9 h 和 12 h 组小肠中的鼠李糖乳杆菌浓度均显著下降 ($P < 0.01$), 而结肠中的鼠李糖乳杆菌浓度显著升高 ($P < 0.01$), 见表 3。

表3 给药后不同时间、不同肠段鼠李糖乳杆菌的浓度
Table 3 Concentration of *Lactobacillus rhamnosus* in different intestinal segments at different time after administration

组别	小肠鼠李糖乳杆菌浓度/ ($\times 10^4$ CFU/mL)	结肠鼠李糖乳杆菌浓度/ ($\times 10^4$ CFU/mL)
肠溶胶囊 6 h	198.27 \pm 147.14	5.03 \pm 2.03
肠溶胶囊 9 h	77.40 \pm 20.49**	209.61 \pm 135.51**
肠溶胶囊 12 h	54.04 \pm 8.12**	446.11 \pm 371.71**

与鼠李糖乳杆菌肠溶胶囊 6 h 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs *Rhamnose lactobacillus* Enteric-Soluble Capsule group

3 讨论

RT-PCR 检测能否构建成功的关键是特异性引物设计^[27], 当出现非特异性信号, 熔解曲线为双峰时, 说明扩增过程中形成了引物二聚体^[27-28]。本实验使用的鼠李糖乳杆菌引物具有较好的特异性, 熔解曲线均为单峰, 说明引物是特异性扩增, 且无引物二聚体产生。因此本实验使用的 RT-PCR 检测方法是较为可靠的, 能够准确地反映体内鼠李糖乳杆菌数量的变化趋势。

胃溶胶囊组到达胃部之后逐渐崩解, 释放出内部鼠李糖乳杆菌, 该菌经过胃部后仍有小部分存活并且到达小肠部位进行定植; 而肠溶胶囊组则是在肠道逐渐崩解^[29], 使内部大量鼠李糖乳杆菌释放出来; 可以看到, 不管是胃溶胶囊还是肠溶胶囊, 都能使大鼠小肠鼠李糖乳杆菌浓度提高, 但肠溶胶囊组提高小肠内该菌浓度比胃溶胶囊组效果更加显著, 6 h 后前者小肠内鼠李糖乳杆菌浓度是后者的 34 倍。韩庆惠等^[30]研究发现益生菌肠溶胶囊在人工胃液中基本上不溶解, 而在人工肠液中处理 30 min 即完全溶出, 且肠溶胶囊组中益生菌存活率大大提高, 与本实验中肠溶胶囊组更能保护鼠李糖乳杆菌安全到达肠道, 比胃溶胶囊组更能提高小肠中鼠李糖乳杆菌菌体浓度的结果一致, 因此肠溶胶囊确实能够保护益生菌更好地通过胃部酸性环境并在肠道中定点释放。

食物的状态对大鼠胃排空和小肠推移运动具有一定的影响^[31]。消化期胃排空速度与食物的理化性质及化学组成有关, 可消化固体的排空速度比不可消化固体快^[32-33]。胃溶胶囊在胃部时已经基本上被消化, 完全失去其固体形态, 流动性增强; 而肠溶胶囊则是在到达肠道后才开始逐渐被消化, 流动性稍差, 因此胃溶胶囊组胃排空时间及通过小肠到

达结肠的时间更短, 所以在给药后 6 h 观察到胃溶胶囊组在结肠中的鼠李糖乳杆菌浓度高于肠溶胶囊组。

当肠溶胶囊抵达肠道时逐渐崩解, 使得小肠部位的鼠李糖乳杆菌浓度逐渐上升; 随着消化过程的进行, 小肠内未能定植的鼠李糖乳杆菌经肠道蠕动向前移动, 逐渐进入大肠然后到达结肠中, 因此小肠中鼠李糖乳杆菌浓度随时间的推移逐渐下降, 而结肠中鼠李糖乳杆菌浓度逐渐上升。结肠中鼠李糖乳杆菌浓度高主要是因为结肠分泌的碳酸氢盐使大肠液呈碱性^[34], 且结肠中缓慢的运动及适宜的温度^[35], 使得鼠李糖乳杆菌能够在结肠中大量增殖。李让等^[35]发现给大鼠进行双歧杆菌灌胃 3 h 后, 双歧杆菌才开始出现在结肠中, 且结肠中适宜环境使得双歧杆菌浓度逐渐升高, 与本文实验结果一致。

实验结果表明肠溶胶囊比胃溶胶囊更适合作为鼠李糖乳杆菌益生菌产品用于治疗肠道相关疾病的剂型。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 时云朵, 孙 豪. 乳酸菌改善肠道防御功能的研究进展 [J]. 饲料博览, 2018(4): 44-51.
- [2] Fatmawati N N D, Gotoh K, Mayura I P B, et al. Enhancement of intestinal epithelial barrier function by *Weissella confusa* F213 and *Lactobacillus rhamnosus* FBB81 probiotic candidates in an *in vitro* model of hydrogen peroxide-induced inflammatory bowel disease [J]. *BMC Res Notes*, 2020, 13(1): 489.
- [3] Lavari L, Burns P, Páez R, et al. Study of the effects of spray drying in whey-starch on the probiotic capacity of *Lactobacillus rhamnosus* 64 in the gut of mice [J]. *J Appl Microbiol*, 2017, 123(4): 992-1002.
- [4] Wang Y, Gong L, Wu Y P, et al. Oral administration of *Lactobacillus rhamnosus* GG to newborn piglets augments gut barrier function in pre-weaning piglets [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2019, 20(2): 180-192.
- [5] Liu Z, Liu F, Wang W, et al. Study of the alleviation effects of a combination of *Lactobacillus rhamnosus* and inulin on mice with colitis [J]. *Food Funct*, 2020, 11(5): 3823-3837.
- [6] Schultz M, Timmer A, Herfarth H H, et al. *Lactobacillus* GG in inducing and maintaining remission of Crohn's disease [J]. *BMC Gastroenterol*, 2004, 4: 5.
- [7] Dieleman L A, Goerres M S, Arends A, et al. *Lactobacillus* GG prevents recurrence of colitis in HLA-B27 transgenic

- rats after antibiotic treatment [J]. *Gut*, 2003, 52(3): 370-376.
- [8] Son S J, Koh J H, Park M R, *et al.* Effect of the *Lactobacillus rhamnosus* strain GG and tagatose as a synbiotic combination in a dextran sulfate sodium-induced colitis murine model [J]. *J Dairy Sci*, 2019, 102(4): 2844-2853.
- [9] Li Y T, Xu H, Ye J Z, *et al.* Efficacy of *Lactobacillus rhamnosus* GG in treatment of acute pediatric diarrhea: A systematic review with meta-analysis [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(33): 4999-5016.
- [10] Szajewska H, Kołodziej M, Gieruszczak-Białek D, *et al.* Systematic review with meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus* GG for treating acute gastroenteritis in children—a 2019 update [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2019, 49(11): 1376-1384.
- [11] Zhang B, Lynch B, Zhao J, *et al.* *Lactobacillus rhamnosus* MP108: Toxicological evaluation [J]. *J Food Sci*, 2021, 86(1): 228-241.
- [12] 阳 晖, 蒋爱民, 刘思聪, 等. 肠溶性益生菌微胶囊的研究 [J]. *食品研究与开发*, 2006, 27(1): 76-79.
- [13] 孙雯娟, 张 波, 李大魁, 等. 益生菌制剂的发展现状与临床应用进展 [J]. *中国医院药学杂志*, 2015, 35(9): 850-857.
- [14] 袁秀丽, 吕嘉彬, 韩 迪, 等. 益生菌制品的研究进展 [J]. *中国乳品工业*, 2010, 38(4): 46-49.
- [15] 李 静. 益生菌制剂服用三不宜 [J]. *家庭医药*, 2014(2): 41.
- [16] 章国林. 药用胃溶明胶空心胶囊 [D]. 绍兴: 浙江益立胶囊股份有限公司, 2016.
- [17] 李 征, 李 玥, 唐 苗, 等. 肠溶胶囊的研究进展 [J]. *广州化工*, 2016, 44(12): 31-32, 60.
- [18] 辛 羚, 郭本恒, 吴正钧. 3 株乳杆菌在模拟消化环境中存活性能的研究 [J]. *中国乳品工业*, 2005, 33(5): 15-17.
- [19] 张 帆. 肠溶性双歧杆菌微胶囊制备及其相关特性的研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2008.
- [20] 石 一, 武颂文, 李文涓, 等. 荧光定量 PCR 方法分析鲜鸡蛋贮藏过程蛋壳表面优势菌的变化 [J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(23): 207-212.
- [21] Løvdal T, Hovda M B, Björkblom B, *et al.* Propidium monoazide combined with real-time quantitative PCR underestimates heat-killed *Listeria innocua* [J]. *J Microbiol Methods*, 2011, 85(2): 164-169.
- [22] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 150-152.
- [23] 李仪奎. 中药药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 220-221.
- [24] 石春卫. 鼠李糖乳杆菌对 BALB/c 小鼠肠道菌群丰度和 T 细胞亚群的影响 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2016.
- [25] 杨振泉, 贡湘磊, 叶 平, 等. 肠道菌群中鼠李糖乳杆菌的菌落免疫印迹计数与分离 [J]. *现代食品科技*, 2016, 32(7): 60-65.
- [26] 魏 霜, 孟 茹, 乾义柯, 等. 基于 DPO 引物的实时荧光 PCR 检测微生物肥料中的鼠李糖乳杆菌 [J]. *新疆农业科学*, 2017, 54(1): 124-131.
- [27] 赵雪姣. 锐顶镰刀菌的 RT-qPCR 检测及黄芪对其侵染响应的代谢组分析 [D]. 太原: 山西大学, 2020.
- [28] 王 泳. 基于 qPCR 技术定量分析益生菌制剂对肠道菌群的影响 [D]. 天津: 天津商业大学, 2018.
- [29] 刘筱英. 服用肠溶衣片时不要拆开 [J]. *家庭医药*, 2013(11): 41.
- [30] 韩庆惠, 李连会, 符岳中, 等. 双歧杆菌微囊肠溶胶囊的制备 [J]. *现代食品科技*, 2005(4): 51-53.
- [31] 王立东, 王 燕, 魏开元. 不同食物对大鼠胃排空和小肠推移运动的影响 [J]. *生理科学*, 1984(Z1): 37.
- [32] Chaudhuri T K, Fink S. Update: Pharmaceuticals and gastric emptying [J]. *Am J Gastroenterol*, 1990, 85(3): 223-230.
- [33] 黎家庆, 苏中杰. 胃的运动与排空 [J]. *医学综述*, 2000, 6(4): 178-179.
- [34] 袁育明. 人体内的 pH 值 [J]. *解放军健康*, 2000(4): 36.
- [35] 李 让, 乔雪薇, 刘松玲, 等. 长双歧杆菌 BBMN68 在胃肠道中生物分布规律研究 [J]. *中国乳业*, 2015, 166(10): 72-76.

[责任编辑 高 源]