

分离自马奶及其制品中 7 株乳酸菌的安全性初步评价

王梦姣¹ 李少英^{1*} 郝苗苗¹ 宋晓敏¹ 马春艳¹ 李贞¹ 骆袁²

(1. 内蒙古农业大学 食品科学与工程学院 内蒙古 呼和浩特 010018)

(2. 呼和浩特铁路局 内蒙古 呼和浩特 010057)

摘要:【目的】通过小鼠的急性毒性、30 d 喂养及细菌移位试验,对马奶及其制品(酸马奶)中分离出来的 7 株肠球菌属乳酸菌进行初步安全性评价。【方法】分别对小鼠连续 7 d 及 30 d 灌胃不同剂量的肠球菌 JHZ9、JHZ15、JHZ17、JHZ22、JHZ25、JHZ28、JNN1,对其一般体征进行观察,记录体重和食物摄入量,最后进行大体解剖,观察肝、肾、脾、心、肺并称重,同时进行细菌移位试验。【结果】除 30 d 喂养中,试验菌株 JHZ17 的高剂量组与生理盐水组差异显著($P < 0.05$),7 d 急性毒性试验及 30 d 喂养试验中各试验组小鼠体重、食物摄入量与对照组相比无显著性差异($P > 0.05$),30 d 喂养后小鼠各脏器(心、肝、脾、肺、肾)指标与对照组无显著性差异($P > 0.05$),小鼠的经口急性毒性最大耐受剂量(MTD)大于 10^{10} CFU/(mL bw) 20 mL/(kg·d),属无毒级别,未发现细菌移位现象。【结论】肠球菌 JHZ9、JHZ15、JHZ17、JHZ22、JHZ25、JHZ28、JNN1 安全,无毒副作用。

关键词:乳酸菌,急性毒性,30 d 喂养,细菌移位

A preliminary safety evaluation of seven strains of lactic acid bacteria isolated from mare's milk and its products

WANG Meng-Jiao¹ LI Shao-Ying^{1*} HAO Miao-Miao¹ SONG Xiao-Min¹
MA Chun-Yan¹ LI Zhen¹ LUO Yuan²

(1. College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018, China)

(2. Hohhot Railway Administration, Hohhot, Inner Mongolia 010057, China)

Abstract: [Objective] The safety assessment of 7 strains of lactic acid bacteria (*Enterococcus* spp.) isolated from mare's milk and its products (koumiss) was investigated in a mice feeding trial. Acute toxicity, thirty days feeding and bacterial translocation were conducted. [Methods] Different dose of *Enterococcus* JHZ9, JHZ15, JHZ17, JHZ22, JHZ25, JHZ28 and JNN1 were administrated to treatment groups separately by gavage for 7 days and 30 days, while the general appearances, body weight and food consumption were observed and recorded daily. Mice were killed after 30 days and the kidney, spleen, liver, heart and lungswere observed and weighted, then collected for bacterial translocation experiment. [Results] Except that test bacterial strains JHZ17 in the high dose group

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31060014)

*通讯作者: Tel: 86-471-4308034; ✉: nmglshy@126.com

收稿日期: 2013-11-29; 接受日期: 2014-01-27; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-05-20

had significant difference with control group ($P < 0.05$). In both acute toxicity and thirty days feeding experiments, no significant differences ($P > 0.05$) were found between the treatment group and the control group in the weight of mice, food intake and the internal organ (heart, liver, spleen, lung and kidney) indices. The maximum tolerated dose (MTD) of acute toxicity is higher than 10^{10} CFU/(mL bw) 20 mL/(kg·d), within the range of non-toxic. No bacterial translocation was observed. **[Conclusion]** Lactic acid bacteria JHZ9, HZ15, JHZ17, JHZ22, JHZ25, JHZ28 and JNN1 have no toxicity and side effects.

Keywords: Lactic acid bacteria, Acute toxicity, Thirty days feeding, Bacterial translocation

马奶及酸马奶作为一种古老的传统乳制品,具有驱寒、活血、舒筋、补肾、健胃、养脾、强骨、增强免疫力等功效^[1],还具有降血压、降血脂、改善心脏功能等医用价值^[2],因此对分离自马奶及酸马奶中的乳酸菌有大量的研究报道,但对分离自其中的乳酸菌的安全性研究报道很少。乳酸菌作为益生菌中应用最广泛的菌种之一,被广泛应用于食物发酵,并被人认为摄入其发酵的食物是安全的^[3]。但也有研究结果表明能够从一些患者体内分离出乳酸菌,研究表明可以从心内膜炎^[4-5]、败血症^[6-7]、肝脓肿^[8]和尿路感染病人体内分离出乳酸菌,因此,益生乳酸菌安全性的问题持续上升。本试验对内蒙古锡林郭勒牧区的马奶及其制品(酸马奶)中分离出来的 7 株肠球菌属乳酸菌进行初步安全性评价,证明它们是否适宜人体食用,分别对 7 株肠球菌属乳酸菌进行了急性毒性试验、30 d 喂养试验及细菌移位试验。

1 材料与方法

1.1 试验动物

健康昆明小白鼠,雌雄各半(体重 18-22 g),由内蒙古大学实验动物研究中心提供,清洁级,许可证号:SCXK(蒙)2002-0001。全部试验小鼠购买后适应环境 7 d。动物房温度 20-24 °C,相对湿度 50%-70%。足量供给小鼠饲料,自由采食,不限制饮水。

1.2 试验菌株

肠球菌 JHZ9、JHZ15、JHZ17、JHZ22、JHZ25、JHZ28 均来源于内蒙古锡林郭勒牧区酸马奶中,肠球菌 JNN1 来源于内蒙古锡林郭勒牧区马奶中,均

由李少英课题组提供。

标准菌株:粪肠球菌 CICC23658,购置于中国工业微生物菌种保藏管理中心。

1.3 试验方法

1.3.1 受试菌液的制备:将试验菌株接种于 MRS 液体培养基中活化 3 代,将活化好的第 3 代菌液 3 000 r/min 离心 10 min,弃掉上清液。加入与培养液等体积的无菌生理盐水,3 000 r/min 离心 10 min,弃掉上清液,如此离心洗涤 2 次,之后用无菌生理盐水将得到的菌体细胞调整到浓度为 10^{10} CFU/mL,制备成灌胃菌液(用于急性毒性试验)。用无菌生理盐水将得到的菌体细胞稀释,使得到的浓度分别为 10^{10} 、 10^9 、 10^8 CFU/mL,作为高、中、低剂量灌胃菌液(用于 30 d 喂养及细菌移位试验)。

1.3.2 急性毒性试验:将适应环境的雌、雄小鼠分为 10 组,分别为 JHZ9 试验组、JHZ15 试验组、JHZ17 试验组、JHZ22 试验组、JHZ25 试验组、JHZ28 试验组、JNN1 试验组、CICC23658 试验组、生理盐水对照组和正常对照组。每组雌、雄小鼠各 10 只。试验组分别用试验菌株 JHZ9、JHZ15、JHZ17、JHZ22、JHZ25、JHZ28、JNN1、CICC23658 的受试菌液灌胃,生理盐水对照组用无菌的 0.85% 的生理盐水(NaCl)灌胃,正常对照组不灌胃,灌胃剂量为 0.4 mL/20 g 体重,灌胃一次,连续观察 7 d。灌胃前一天小鼠禁食 16 h,不限饮水。灌胃前一天,灌胃后 1、3、5、7 d 记录小鼠体重变化,一般表现、行为及中毒表现。一般表现、行为及中毒表现主要包括:行为、动作、各种刺激反应、瞳孔大小、鼻孔、呼吸、粪便硬度颜色、皮毛、眼球、姿势等。

通过试验组小鼠与对照组小鼠的比较, 结合 GB 15193.3-2003 做出最终判断^[9]。

结果以平均数±标准差表示, 数据用 SAS 软件的 MEANS 程序和 ANOVA 程序进行统计分析, 用 OriginLab OriginPro 软件进行绘图。

1.3.3 30 d 喂养试验: 将适应环境的雌、雄小鼠分为 JHZ9 试验组、JHZ15 试验组、JHZ17 试验组、JHZ22 试验组、JHZ25 试验组、JHZ28 试验组、JNN1 试验组和 CICC23658 试验组, 每组又分为高剂量组(10^{10} CFU/mL)、中剂量组(10^9 CFU/mL)和低剂量组(10^8 CFU/mL)。各剂量组雌、雄小鼠各 5 只。同时设生理盐水对照组和正常对照组。

试验组分别用各试验菌株的高、中、低剂量受试菌液灌胃, 生理盐水对照组用 0.85% 无菌生理盐水(NaCl)灌胃, 正常对照组不灌胃, 灌胃剂量为 0.2 mL/(20 g weight·d), 连续灌胃 30 d, 每天灌胃一次, 每天灌胃时间相同。每天记录小鼠的一般表现、行为、中毒表现和死亡情况。每周称一次体重和 2 次食物摄入量。在第 31 天颈椎脱臼处死小鼠, 进行大体解剖, 观察肝、肾、脾、心、肺并称重^[10]。

食物利用率(%)=小鼠增加的体重/食物摄入量×100

脏器指数(肾、脾、肺、肝、心)=脏器(肾、脾、肺、肝、心)的重量(g)/小鼠体重(g)

结果以平均数±标准差表示, 数据用 SAS 软件的 MEANS 程序和 ANOVA 程序进行统计分析, 用 OriginLab OriginPro 软件进行绘图。

1.3.4 细菌移位试验: 将上述小鼠在第 31 天于无菌环境下大体解剖, 用下述 3 种方法进行试验。在无菌范围内用灭菌的手术刀将各个脏器切开, 用无菌棉签擦拭脏器剖面, 涂布于 MRS 固体培养基, 37 °C 培养 48 h; 在无菌范围内, 用灭菌的接菌环刮取脏器剖面后, 用平板划线法划线于 MRS 固体培养基, 37 °C 培养 48 h; 将各个脏器在无菌范围内制备成组织抹片, 进行革兰氏染色, 镜检^[11-12]。

观察有无菌落生长, 若培养后的 MRS 固体培养基上没有生长乳酸菌, 说明无细菌移位现象发

生, 反之, 则发生细菌移位; 组织抹片镜检未发现乳酸菌, 说明无细菌移位现象, 反之镜检到乳酸菌, 则发生细菌移位。

2 结果与分析

2.1 急性毒性试验结果

以不同试验菌液的 10^{10} CFU/mL 浓度分别灌胃雄雌小鼠, 观察 7 d, 各组小鼠生长、行为和精神状况良好, 毛发、摄食、饮水、排泄正常, 未见明显的中毒症状, 也无死亡。灌胃肠球菌 JHZ9、JHZ15、JHZ17、JHZ22、JHZ25、JHZ28、JNN1 的全部试验小鼠及对照组小鼠一般表现均如表 1 所示。体重增加趋势如图 1 所示, 各试验组小鼠体重增长趋势正常, 7 d 平均体重增长 3.5–4.5 g, 灌胃不同试验菌液的试验组小鼠体重与对照组相比, 均无显著性差异 ($P>0.05$)。小鼠的经口急性毒性最大耐受剂量(MTD) 大于 10^{10} CFU/(mL bw) 20 mL/(kg·d)。

2.2 30 d 喂养试验结果

2.2.1 试验菌株对小鼠体重及食物利用率的影响: 用 7 株试验菌株及 1 株标准菌株的高剂量 (10^{10} CFU/mL)、中剂量 (10^9 CFU/mL) 和低剂量 (10^8 CFU/mL) 分别灌胃试验小鼠 30 d, 各组小鼠的一般表现、行为和精神状况良好, 摄食、饮水、排泄正常, 未见明显的中毒表现, 也无死亡。体重增长正常, 见图 2、3、4, 试验菌株各剂量组小鼠 1–7 d 平均体重增长 4–6 g, 以后 3 周每周体重增加趋于稳定, 每周平均体重增长 1–2 g, 各剂量组小鼠 30 d 平均体重增长 8–10 g。经方差显著性分析, 与对照组相比, 除高剂量组 (10^{10} CFU/mL) 中试验菌株 JHZ17 与生理盐水组差异显著 ($P<0.05$), 但未发现灌胃菌株 JHZ17 高剂量组的小鼠有任何异常, 其余均与对照组无显著性差异 ($P>0.05$)。

7 株试验菌株各剂量组小鼠饮食状况良好, 各剂量组试验小鼠的食物利用率与对照组相比无显著性差异 ($P>0.05$), 如表 2 所示。

表1 7 d 急性毒性全部试验小鼠中毒表现观察
Table 1 The observation of poisoning in mice for toxicity test of 7 days

器官系统 Organ system	观察及检查项目 Observation and inspection program	一般表现 General behavior
中枢神经系统及躯体运动 The central nervous system and body movement	行为	无异常动作姿势, 无异常叫声
	动作	动作正常, 无震颤
	刺激反应	应激反应正常
自主神经系统 Autonomic nervous system	瞳孔大小	正常, 无放大缩小
	分泌	不流泪
呼吸系统 Respiratory system	鼻孔	不流鼻涕
	呼吸速率	呼吸正常
胃肠系统 Gastrointestinal system	腹形	正常, 未发现腹泻或便秘
	粪便硬度和颜色	粪便成型, 颜色正常
生殖泌尿系统 Genitourinary system	阴户, 乳腺	无膨胀
	会阴部	无污秽
皮肤和毛皮 The skin and fur	颜色, 张力	正常, 不松弛, 没有皮疹
	完整性	个别公鼠被咬伤, 其余正常, 不竖毛
眼 Eye	眼球	不突出
	透明度	不浑浊

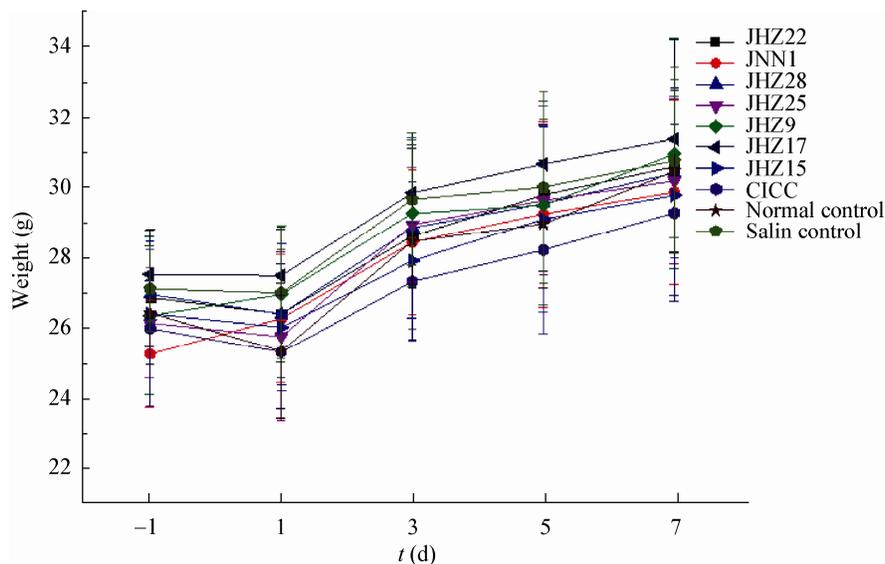


图1 急性毒性试验中试验菌株对小鼠体重的影响

Figure 1 The weight growth trends of mice for toxicity test (7 days)

注: -1: 灌胃前一天.

Note: -1: The day before given the test substance.

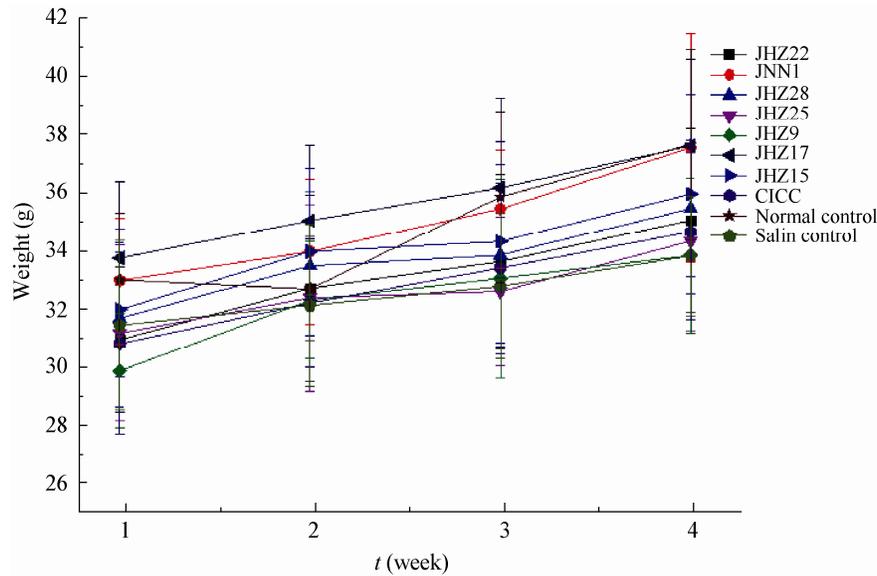


图 2 试验菌株高剂量组(10^{10} CFU/mL)对小鼠体重的影响

Figure 2 Weight growth trends of mice group fed with high dose (10^{10} CFU/mL) for 30 days feeding

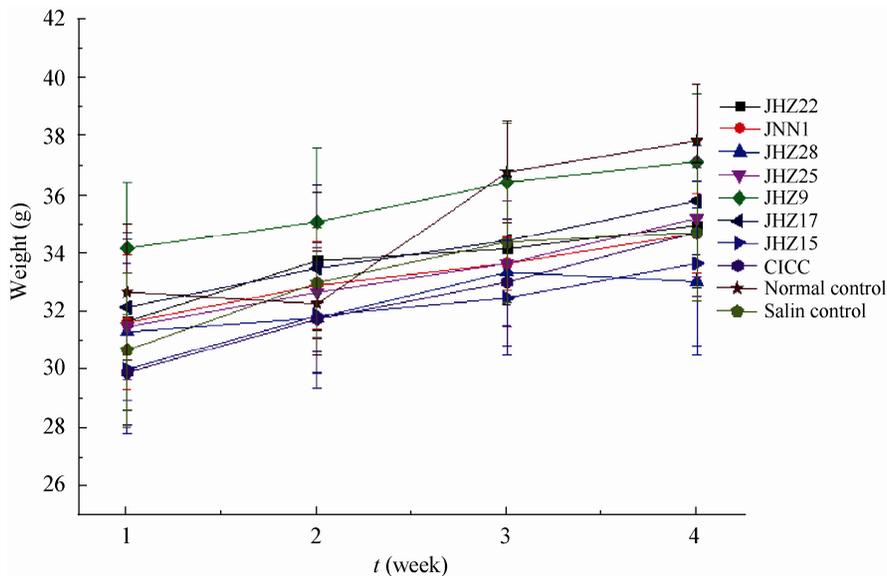


图 3 试验菌株中剂量组(10^9 CFU/mL)对小鼠体重的影响

Figure 3 Weight growth trends of mice group fed with intermediate dose (10^9 CFU/mL) for 30 days feeding

2.2.2 小鼠脏器指标的测定: 30 d 喂养结束后对小鼠进行大体解剖, 各组织器官正常, 未见器质性病变, 各脏器颜色正常, 质软, 无肿块。各试验菌株对各组织器官的影响见表 3, 7 株试验菌株及 1 株标准菌株的各试验组小鼠的肾体比、脾体比、肺体

比、肝体比、心体比与对照组小鼠相比, 均无显著性差异($P>0.05$), 说明灌胃试验菌株对小鼠各组织器官无影响。肾脏、肝脏是身体中最重要的解毒排毒器官, 通过对其试验的结果也可反映出灌胃受试物的毒性程度^[13]。

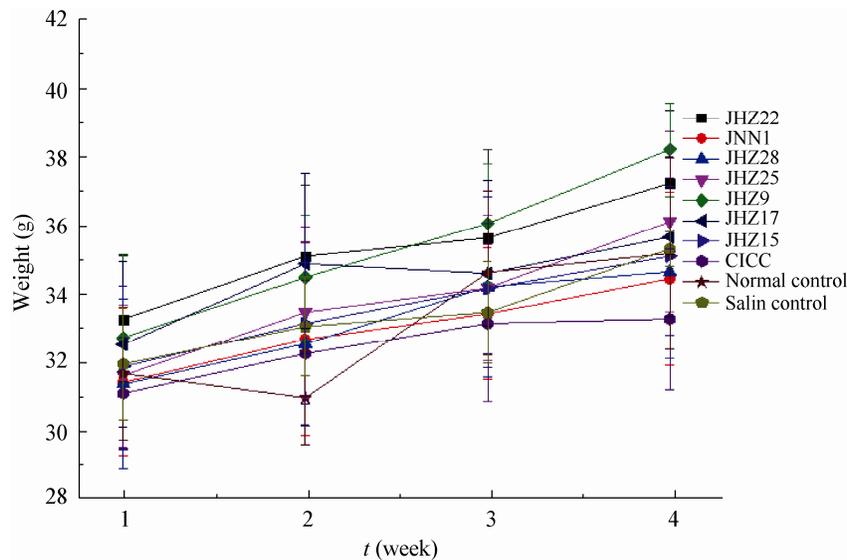


图 4 试验菌株低剂量组(10^8 CFU/mL)对小鼠体重的影响

Figure 4 Weight growth trends of mice group fed with low dose (10^8 CFU/mL) for 30 days feeding

2.2.3 细菌移位试验结果: 经上述试验方法涂布的 MRS 固体培养基和用平板划线法划线的 MRS 固体培养基, 培养 48 h 后均未见乳酸菌的生长, 细菌抹片经革兰氏染色镜检也未见乳酸菌的生长, 如图 5 所示。故无细菌移位现象发生。

3 结论与讨论

本文对内蒙古锡林郭勒牧区的马奶及其制品(酸马奶)中分离出来的 7 株肠球菌属乳酸菌进行初步安全性评价, 马奶及酸马奶作为我国内蒙古、新疆等少数民族的传统乳制品, 已有千百年的食用历史^[2,14], 因为其长时间的食用历史可被认为是安全的。经本研究可初步证实, 分离自内蒙古马奶及酸马奶中的 7 株肠球菌属乳酸菌是基本安全的, 急性毒性试验及慢性毒性试验的最大剂量浓度为 10^{10} CFU/mL 的试验菌液, 剂量大于人体可能摄入量的 100 倍^[15]。急性毒性实验结果表明小鼠无死亡, 无不良反应, 未得出半数致死量 LD_{50} , 且试验组与对照组相比无显著性差异, 最大耐受剂量 (MTD) 大于 10^{10} CFU/(mL bw) 20 mL/(kg·d), 根据国标 GB15193.3-2003, 试验菌株为无毒级别。30 d

喂养中高、中、低剂量组小鼠均无死亡, 体重增加除高剂量组中试验菌株 JHZ17 与生理盐水组差异显著 ($P < 0.05$), 其余均与对照组无显著性差异 ($P > 0.05$), 食物利用率实验组与对照组相比无显著性差异。经解剖, 各组小鼠组织器官正常, 未见病变, 肾体比、脾体比、肺体比、肝体比、心体比均与对照组无显著性差异。

Wolochow 率先于 1966 年创造了细菌移位 (Bacterial translocation, BT) 一词, 其定义是: 肠道内活菌通过黏膜上皮进入固有层, 随后进入肠系膜淋巴结甚至远处器官的现象^[16]。如今, 细菌移位一词是指原存在于肠腔内的细菌和(或)内毒素, 通过某种途径越过肠黏膜屏障, 进入肠系膜淋巴结、门静脉系统, 继而进入体循环以及肝、脾、肺等远隔器官的过程^[17]。

一些乳酸菌可能有致病性, 是潜在的致病菌, 会产生毒素; 并且有些乳酸菌具有耐药性, 而这些耐药性可能会转移到致病菌中使致病菌产生耐药性。严重创伤会破坏肠道黏膜使肠道细菌发生细菌移位, 这些潜在的致病乳酸菌、毒素及产生耐药性的致病菌穿过肠壁, 入侵肠外组织, 如肠系膜淋巴结、血液以及肝、脾等脏器, 进而激发全身性炎症

表 2 不同试验组小鼠每周食物利用率
Table 2 The food utilization rate of mice in different dose group (% , $x \pm s$)

菌株 Bacterial strains	浓度 Concentration (CFU/mL)	第一周 The first week	第二周 The second week	第三周 The third week	第四周 The forth week
JHZ22	10^{10}	70.80±5.80	29.00±2.01	12.40±1.94	45.30±2.50
	10^9	86.60±5.69	37.00±1.13	6.50±2.34	12.30±1.68
	10^8	110.40±1.85	33.90±6.10	9.30±0.80	29.10±2.62
JNN1	10^{10}	110.50±3.38	18.30±4.00	23.90±0.10	41.80±2.06
	10^9	101.70±7.30	22.70±2.58	13.60±1.27	18.00±0.60
	10^8	64.70±4.73	19.40±3.70	6.60±3.94	48.90±1.88
JHZ28	10^{10}	73.50±6.01	30.60±1.20	4.70±8.30	27.40±1.82
	10^9	92.20±5.52	7.20±3.28	31.10±2.32	-7.60±1.51
	10^8	78.90±2.67	20.90±1.17	25.40±6.20	6.80±6.00
JHZ25	10^{10}	76.50±8.38	23.60±1.10	3.60±9.40	32.80±1.51
	10^9	76.50±2.8	21.40±1.79	13.60±1.37	25.10±3.50
	10^8	88.10±4.34	29.80±2.26	12.20±8.10	37.20±1.60
JHZ9	10^{10}	39.70±5.21	53.10±3.21	14.30±7.30	16.40±7.90
	10^9	122.20±6.90	15.70±3.40	21.90±1.05	10.00±5.50
	10^8	85.40±5.64	30.90±3.90	25.30±4.40	34.70±1.22
JHZ17	10^{10}	98.70±6.02	24.40±0.60	21.70±1.73	25.20±7.30
	10^9	82.10±7.32	25.00±3.00	17.40±7.40	23.50±2.55
	10^8	97.90±5.95	45.40±1.05	-5.10±3.00	20.60±1.48
JHZ15	10^{10}	95.90±2.01	37.00±6.60	3.70±1.61	33.30±1.91
	10^9	82.20±4.96	34.80±0.70	12.70±1.45	22.20±7.40
	10^8	117.00±1.73	22.70±9.30	17.80±3.20	14.20±9.80
CICC	10^{10}	64.60±8.61	25.60±1.90	19.10±8.70	21.40±1.90
	10^9	70.30±7.71	36.20±2.11	21.80±0.70	28.70±2.26
	10^8	79.90±4.02	23.90±8.10	16.80±1.31	1.40±1.12
Normal control		98.60±4.41	-4.10±7.17	55.90±5.90	19.20±0.90
Saline control		78.10±3.53	25.10±3.80	13.10±1.00	10.30±2.05

注: 实验组与对照组相比, 无显著性差异, $P > 0.05$ 。

Note: There were no significant differences in the measurements between the control group and the test groups ($P > 0.05$).

表3 30 d 喂养 7 株试验菌株对小鼠脏器的影响
 Table 3 The internal organ indices of mice fed with different doses of 7 test bacterial strains per day for a period of 30 days ($\bar{x}\pm s$)

菌株 Bacterial strains	浓度 Concentration (CFU/mL)	脏器指数 Internal organ indices				
		肾体比 Kidney	脾体比 Spleen	肺体比 Lungs	肝体比 Liver	心体比 Heart
JHZ22	10 ¹⁰	0.007 28±0.000 62	0.003 58±0.000 57	0.008 08±0.001 18	0.007 61±0.000 77	0.006 95±0.001 28
	10 ⁹	0.006 61±0.000 94	0.003 59±0.000 46	0.006 33±0.000 78	0.009 80±0.002 44	0.007 13±0.001 18
	10 ⁸	0.006 46±0.001 27	0.003 73±0.000 63	0.007 05±0.001 13	0.008 19±0.001 58	0.007 82±0.000 84
JNN1	10 ¹⁰	0.006 80±0.000 46	0.004 51±0.001 02	0.008 85±0.000 34	0.046 94±0.003 40	0.005 99±0.001 28
	10 ⁹	0.006 97±0.000 48	0.004 39±0.001 22	0.008 86±0.000 67	0.045 25±0.006 32	0.006 14±0.001 20
	10 ⁸	0.007 73±0.001 52	0.003 97±0.001 16	0.008 64±0.000 87	0.051 41±0.006 41	0.006 19±0.001 18
JHZ28	10 ¹⁰	0.008 08±0.001 18	0.005 22±0.000 68	0.011 83±0.004 15	0.056 60±0.001 55	0.007 62±0.000 60
	10 ⁹	0.006 33±0.000 78	0.003 89±0.001 19	0.008 66±0.003 07	0.045 67±0.005 01	0.007 97±0.001 93
	10 ⁸	0.007 05±0.001 13	0.004 62±0.000 28	0.008 70±0.000 28	0.054 92±0.002 07	0.007 61±0.000 92
JHZ25	10 ¹⁰	0.007 61±0.000 77	0.004 59±0.001 39	0.008 75±0.001 48	0.053 51±0.004 71	0.008 15±0.001 68
	10 ⁹	0.009 80±0.002 44	0.003 98±0.001 65	0.006 85±0.001 04	0.053 05±0.009 24	0.006 52±0.000 47
	10 ⁸	0.008 19±0.001 58	0.005 17±0.002 34	0.012 08±0.005 38	0.053 90±0.015 30	0.009 68±0.003 63
JHZ9	10 ¹⁰	0.006 95±0.001 28	0.004 31±0.001 30	0.007 47±0.001 22	0.047 25±0.002 53	0.005 18±0.000 19
	10 ⁹	0.007 13±0.001 18	0.003 80±0.000 46	0.008 99±0.001 29	0.046 47±0.004 37	0.006 14±0.001 10
	10 ⁸	0.007 82±0.000 84	0.004 96±0.001 72	0.009 41±0.002 31	0.056 82±0.008 95	0.006 54±0.001 83
JHZ17	10 ¹⁰	0.007 56±0.001 09	0.004 30±0.000 88	0.008 63±0.001 21	0.051 97±0.003 56	0.006 81±0.001 85
	10 ⁹	0.007 50±0.000 84	0.004 11±0.001 19	0.009 36±0.001 86	0.051 13±0.002 96	0.006 55±0.001 57
	10 ⁸	0.006 94±0.001 20	0.004 24±0.000 67	0.009 62±0.004 26	0.047 84±0.006 64	0.006 14±0.001 76
JHZ15	10 ¹⁰	0.007 74±0.001 08	0.004 48±0.000 83	0.008 75±0.000 56	0.053 50±0.002 39	0.006 25±0.000 98
	10 ⁹	0.006 59±0.000 99	0.003 27±0.000 67	0.010 02±0.002 77	0.050 27±0.004 15	0.007 50±0.001 42
	10 ⁸	0.007 04±0.000 84	0.004 54±0.001 53	0.008 12±0.002 62	0.050 02±0.003 93	0.006 02±0.001 34
CICC	10 ¹⁰	0.007 91±0.001 59	0.003 83±0.001 45	0.011 04±0.003 63	0.054 43±0.003 52	0.006 25±0.001 18
	10 ⁹	0.007 06±0.000 12	0.004 33±0.001 64	0.009 33±0.002 18	0.048 64±0.004 83	0.007 48±0.001 20
	10 ⁸	0.007 29±0.000 99	0.003 47±0.001 08	0.009 84±0.003 02	0.046 75±0.003 86	0.006 70±0.000 55
Normal control		0.007 10±0.000 76	0.004 28±0.001 66	0.007 44±0.001 07	0.047 91±0.004 22	0.006 64±0.001 10
Saline control		0.007 53±0.001 21	0.004 22±0.001 65	0.007 33±0.000 62	0.050 23±0.005 89	0.006 30±0.001 03

注：实验组与对照组相比，无显著性差异 $P>0.05$ 。

Note: There were no significant differences in the organ indices ($\bar{x}\pm s$) between the control group and the groups fed with different concentrations of test bacterial strains ($P>0.05$).

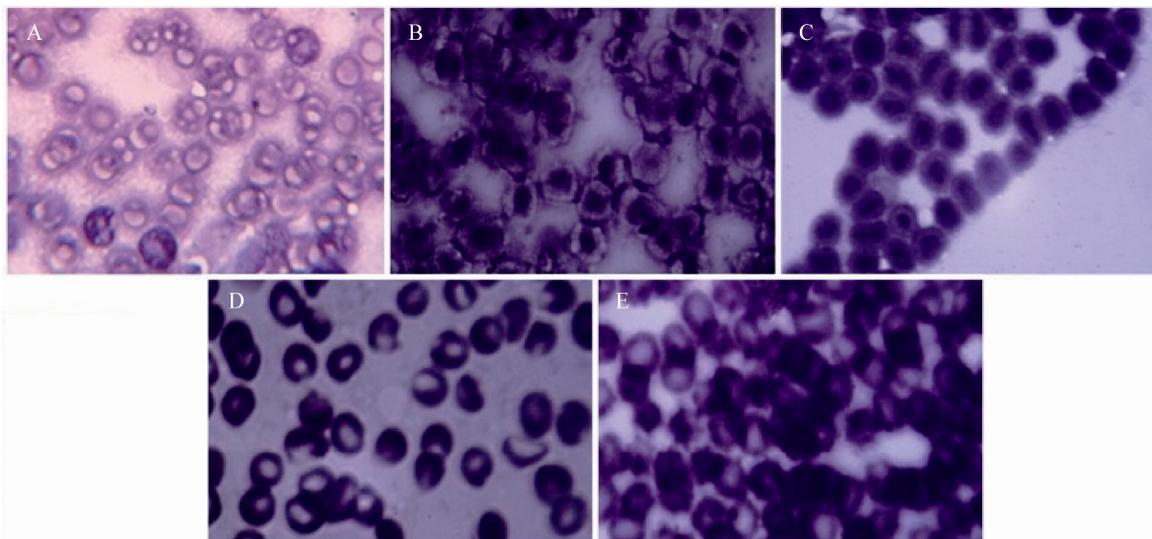


图 5 试验组小鼠脏器组织抹片(1 000×)

Figure 5 The organ smear of mice fed with 8 test bacterial strains (1 000×)

Note: A: Spleen; B: Kidney; C: Heart; D: Lungs; E: Liver.

反应,导致脓毒症、多脏器功能不全,甚至多脏器功能衰竭^[18]。本试验在 MRS 琼脂培养基及细菌抹片上均未检测出乳酸菌生长,说明 7 株试验菌株不会发生细菌移位。

根据 GB 15193.1-2003 食品安全性毒理学评价程序^[19],食品毒理学评价试验分为 4 个阶段:第一阶段:急性毒性试验;第二阶段:遗传毒性,传统致畸试验,30 d 喂养试验;第三阶段:亚慢性毒性试验;第四阶段:慢性毒性试验(包括致癌试验)。乳酸菌作为食品新资源和新资源食品,根据规定可先进行第一、二阶段的毒性试验,经初步评价后,决定是否需要进行进一步的毒性试验。

结合本试验第一、二阶段的毒性试验,可初步评价分离自内蒙古马奶及酸马奶中的 7 株肠球菌属乳酸菌是基本安全的。但为了完全确定其安全性,仍需进行遗传毒性试验、传统致畸试验及相关血液学指标的测定。

参 考 文 献

- [1] 王瑞珍. 酸马奶的营养成分与保健特性[J]. 养殖技术顾问, 2012(10): 247-248.
- [2] 熬道夫, 布日额. 酸马奶酒的研究进展[J]. 中国民族医药杂志, 2008(4): 65-67.

- [3] 刘小青, 万翠香, 徐锋. 乳酸菌的安全性研究[J]. 中国微生态学杂志, 2009(10): 952-955.
- [4] Presterl E, Kneifel W, Mayer HK, et al. Endocarditis by *Lactobacillus rhamnosus* due to yogurt ingest ion?[J]. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 2001, 33(9): 710-714.
- [5] Wallet F, Dessein R, Armand S, et al. Molecular diagnosis of endocarditis due to *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*[J]. Clinical Infectious Diseases, 2002, 35(10): 117-119.
- [6] Salminen MK, Rautelin H, Tynkynen S, et al. *Lactobacillus* bacteremia, clinical significance, and patient outcome, with special focus on probiotic *L. rhamnosus* GG[J]. Clinical Infectious Diseases, 2004, 38(1): 62-69.
- [7] Aguirre M, Collins MD. Lactic acid bacteria and human clinical infection[J]. Journal of Applied Microbiology, 1993, 75(2): 95-107.
- [8] Cukovic-Cavka S, Likic R, Francetic I, et al. *Lactobacillus acidophilus* as a cause of liver abscess in a NOD/CARD 15 positive patient with Crohns disease[J]. Digestion, 2006, 73(1): 107-110.
- [9] GB 15193.3-2003. 急性毒性试验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003: 17-31.
- [10] GB 15193.13-2003. 30天和90天喂养试验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003: 17-31.
- [11] 黄丽, 李盛钰, 赵玉娟. 植物乳杆菌 c88对小鼠急性毒性和细菌移位实验研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(6): 9-14.
- [12] 赵玉娟, 李盛钰, 牛春华. 植物乳杆菌 K25对小鼠急性毒性和细菌移位实验研究[J]. 中国乳品工业, 2012, 40(5): 9-12.
- [13] 孙洁宇, 高鹏飞, 麻士卫, 等. 益生菌 *Lactobacillus*

