

研究报告

### 3 株罗伊氏乳杆菌生物学特性的分析比较

李文静 梁运祥 赵述森\*

(华中农业大学生命科学技术学院 农业微生物学国家重点实验室 湖北 武汉 430070)

**摘要:**【目的】对 3 株罗伊氏乳杆菌的生物学特性进行分析比较, 为后期生产应用提供一定的参考。【方法】对实验室保藏的 3 株罗伊氏乳杆菌的生长曲线、pH 曲线、耐受人工胃液能力、耐受猪胆盐能力、黏附能力、抑菌能力和对抗生素的耐药性等特性进行了分析比较。【结果】3 株菌生长趋势大致相同; 3 株菌对人工胃液均具有良好的耐受性, 且可以有效地抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的生长; 菌株 L0 和 L2 对高胆盐的环境耐受性较差, 菌株 L1 则对高胆盐环境具有极强的耐受性; 菌株 L1 和 L2 具有很强的黏附能力; 3 株菌对 20 种抗生素表现出不同的耐受性。【结论】菌株 L1 的生物学特性明显优于其他两株菌株, 有利于后期的生产应用。

**关键词:** 罗伊氏乳杆菌, 耐受性, 黏附, 抑菌

### Comparative analysis of the biological characteristics of three strains of *Lactobacillus reuteri*

LI Wen-Jing LIANG Yun-Xiang ZHAO Shu-Miao\*

(State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China)

**Abstract:** [Objective] The study researched the biological characteristics of three *Lactobacillus reuteri* strains, providing guidance in industrial production. [Methods] We analyzed and compared diverse characteristics and capabilities of three *Lactobacillus reuteri* strains preserved in the lab, such as growth curve, pH curve, tolerance to artificial gastric intestinal juice, tolerance to porcine bile salt, adhesive capacity, antimicrobial activity, and tolerance to antibiotics. [Results] The growth trend of these 3 strains was similar. All of the 3 strains had a good tolerance to artificial gastric intestinal juice, and could inhibited the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* effectively. L0 and L2 showed poor tolerance in high porcine bile salt environment, while the performance of L1 was satisfactory. In addition, L1 and L2 had strong adhesive ability and the tolerances of 3 strains to 20 antibiotics were different. [Conclusion] L1 can be further applied in the industrial production since its biological characteristics are significantly better than the other two strains.

**Keywords:** *Lactobacillus reuteri*, Tolerance, Adhesion, Antibacterial activity

**Foundation item:** Key Technologies R & D Program of China (No. 2013BAD10B02)

\*Corresponding author: Tel: 86-27-87281040; E-mail: shumiaozhao@mail.hzau.edu.cn

**Received:** October 17, 2015; **Accepted:** January 05, 2016; **Published online** (www.cnki.net): January 11, 2016  
基金项目: 国家科技支撑计划项目(No. 2013BAD10B02)

\*通讯作者: Tel: 86-27-87281040; E-mail: shumiaozhao@mail.hzau.edu.cn

收稿日期: 2015-10-17; 接受日期: 2016-01-05; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-01-11

仔猪腹泻是影响养猪产业快速发展的主要疾病,在饲料中添加抗生素提高仔猪免疫力的做法在我国十分普遍。然而,在饲料中添加抗生素的弊端日益显现,我国在未来几年可能会禁止饲喂抗生素,因此,急需寻找新的抗生素替代品<sup>[1-3]</sup>。益生菌可以抑制病原菌的生长,调节宿主体内的微生物生态平衡,减少腹泻等疾病的发生。乳酸杆菌属均没有毒副作用,是一类很有应用价值的益生菌生产菌种,其中罗伊氏乳杆菌是已报道的几乎存在于所有哺乳动物和脊椎动物肠道内的乳杆菌,具有很强的黏附能力,可以调节肠道菌群分布<sup>[4]</sup>。

研究发现,益生菌能在宿主体内发挥作用的前提是到达肠道的活菌数在  $10^6$  CFU/mL 以上<sup>[5]</sup>。Hill 等<sup>[6]</sup>也提出,益生菌为服用足够数量后有益于宿主健康的活性微生物,强调了足够数量的活菌。仔猪胃肠道为低 pH、高胆盐的环境,因此,所应用菌株需具备一定的耐受性,到达肠道后,需能黏附小肠壁定殖才能发挥其作用。本实验分析比较了实验室保藏的 3 株罗伊氏乳杆菌的生物学特性,通过比较 3 株菌对低 pH 胃液和高胆盐环境的耐受性、对 HT-29 细胞的黏附性、抑菌能力和对抗生素的耐药性来选择一株生物学特性较好的菌株,为后期生产应用提供一定的参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验菌株与细胞:** *Lactobacillus reuteri* (罗伊氏乳杆菌)代号 L0,分离自某罗伊氏乳杆菌产品; *Lactobacillus reuteri* (罗伊氏乳杆菌, CICC6118)代号 L1; *Lactobacillus reuteri* (罗伊氏乳杆菌, CICC6132)代号 L2; *Escherichia coli* (大肠杆菌, CICC10389); *Staphylococcus aureus* (金黄色葡萄球菌, CICC10384)均购自中国工业微生物菌种保藏管理中心。结肠腺癌细胞系 HT-29 由中国科学院武汉病毒研究所赠送。

**1.1.2 培养基:** MRS 培养基和 LB 培养基制备参见文献<sup>[7]</sup>。

**1.1.3 主要试剂:** 胃蛋白酶(酶活力 1:10 000)、胰

蛋白酶(酶活力 250 NFU/mg)、猪胆盐、牛肉浸粉、大豆蛋白胨、酵母浸粉、琼脂均为生化试剂;无水乙酸钠、氯化钠、盐酸、磷酸氢二钾、七水硫酸镁、一水硫酸锰、柠檬酸铵均为分析纯;吐温 80 为化学纯。

**1.1.4 主要仪器:** DHG-9070A 恒温培养箱购自上海索普仪器有限公司;I 类 B 型医用型洁净工作台购自北京东联哈尔仪器有限公司;HQL150BLC 恒温摇床购自武汉中科科仪科技发展有限公司;鼓风干燥箱购自上海索普仪器有限公司;HH-6 数显恒温水浴锅购自常州温华仪器有限公司;分析天平购自梅特勒-托利多国际股份有限公司;722 s 可见分光光度计购自上海精密科学仪器有限公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 菌株鉴定:** 将从罗伊氏乳杆菌产品中得到的菌株 L0 与购买的菌株 L1、L2 培养后涂布 MRS 平板,观察其菌落形态;简单染色后显微镜下观察菌体形态。然后将 3 株菌进行 16S rRNA 基因 PCR 扩增,并将扩增产物委托武汉市易航生物有限公司进行测序。登录 NCBI 将所得序列与已知序列进行比对。同时将所测得的序列采用 MEGA 5.0 软件进行系统发育分析。

**1.2.2 生长曲线和 pH 曲线的比较:** 将 3 株菌株活化后,按 1%接种量接种于 MRS 液体培养基中,37 °C 静置培养,分别在第 0、3、6、9、12、15、18、21、24 h 取样测定  $OD_{600}$  和 pH,比较 3 株菌的生长曲线和 pH 曲线。

**1.2.3 耐受人工胃液能力的比较:** 参照文献<sup>[8]</sup>配制人工胃液。将 3 株菌活化后,分别取 1 mL 接种于 9 mL 人工胃液中,37 °C 静置培养,0、30、180 min 后分别用活菌平板计数法检测活菌数量。

**1.2.4 耐受猪胆盐能力的比较:** 分别配制 0、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%的猪胆盐 MRS 液。将 3 株菌活化后,分别取 1 mL 接种于 9 mL 不同浓度的猪胆盐 MRS 液,37 °C 静置培养 12 h,稀释 10 000 倍后取 100  $\mu$ L 涂布平板计数。若生长数目超过 30 个( $3 \times 10^6$  CFU/mL)则表明其生长良好,能耐该浓度的胆盐;若生长数目在 5–30 个则表明其生长

较差,耐该浓度胆盐能力差;若生长数目小于 5 个则表明其不生长,不能耐该浓度胆盐。

**1.2.5 黏附 HT-29 细胞能力的比较:**将 HT-29 细胞置于含 10%新生牛血清的 DMEM 细胞培养液中,在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件的培养箱中静置培养,每天更换培养液,5 d 传代一次,15–20 d 后进行黏附实验。将 HT-29 细胞接种于 24 孔培养板,静置培养过夜使其长成致密单层细胞,同时将 3 株罗伊氏乳杆菌接种于 MRS 液,37℃ 静置培养过夜,将菌液 3 000 r/min 离心 5 min 后弃上清,加入 DMEM 液重悬菌体,调整菌液浓度为  $1 \times 10^9$  CFU/mL。将菌液加入 24 孔培养板与细胞孵育 2 h,用 PBS 漂洗 5 次以除去未黏附的菌体,然后用胰酶将细胞从培养板中消化下来,稀释涂布 MRS 平板计数。

**1.2.6 体外抑菌能力的比较:**分别将指示菌和罗伊氏乳杆菌接种于 LB 培养基和 MRS 培养基中,37℃ 静置培养 15 h。用乳酸调节 MRS 液的 pH 值,使其与罗伊氏乳杆菌发酵液的 pH 值相同,将其作为对照。取 100 μL 指示菌发酵液均匀涂布 LB 平板,待平板干后放置牛津杯,孔径为  $6.00 \pm 0.10$  mm,在各牛津杯中分别加入罗伊氏乳杆菌发酵液和对照液,先于 4℃ 放置 6 h,后置于 37℃ 培养箱 18 h,观察有无抑菌圈并测定其直径<sup>[9]</sup>。

**1.2.7 对抗生素耐药性的比较:**将 3 株菌活化后,按 1%接种量接种于 MRS 液体培养基中,37℃ 静置培养 15 h,调整菌体浓度为  $1 \times 10^9$  CFU/mL,取 100 μL 涂布平板,待平板稍干后,用无菌镊子将药敏纸片贴于培养基表面,37℃ 培养 18 h 后测定透明圈直径。

**1.2.8 数据处理:**每组实验重复 3 次,结果表示为  $\bar{x} \pm s$ 。运用 SPSS 19.0 软件进行分析,采用单因素方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株鉴定

3 株菌在 MRS 平板上生长菌落均呈圆形,乳白色,表面光滑;显微镜观察菌体呈杆状。将获得的

序列在 GenBank 中比对,3 株乳酸菌 16S rRNA 基因 PCR 扩增产物比对结果:菌株 L0 与 *L. reuteri* CICC 6119 的 16S rRNA 基因序列的一致性达到了 99%,L1 与 *L. reuteri* ZJ615 的 16S rRNA 基因序列的一致性达到了 100%,L2 与 *L. reuteri* CICC 6132 的 16S rRNA 基因序列的一致性达到了 99%。初步鉴定 3 株菌为罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)。通过系统发育树比较 3 株菌的亲缘关系,见图 1。

### 2.2 生长曲线和 pH 曲线的比较

由图 2 可知,3 株罗伊氏乳杆菌的生长趋势大致相同,3 株菌在 0–3 h 均生长缓慢,在 3–9 h 为对数生长期, $OD_{600}$  变化很大,菌株迅速增长,9 h 后变化趋势趋于平缓。虽然生长趋势大致相同,但很明显 3 株菌的生物量区别较大, $L0 > L2 > L1$ 。3 株菌的 pH 变化趋势基本相同,最终都稳定在 4.5 附近。

### 2.3 耐受人工胃液能力的比较

乳酸菌经口服进入受体内发挥作用,首先要能耐受低 pH 的胃液。通常胃液的 pH 值在 3.0 左右,

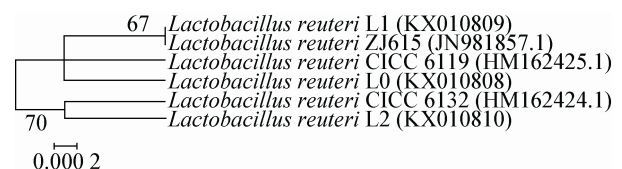


图 1 基于 16S rRNA 基因序列的系统发育树

Figure 1 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences

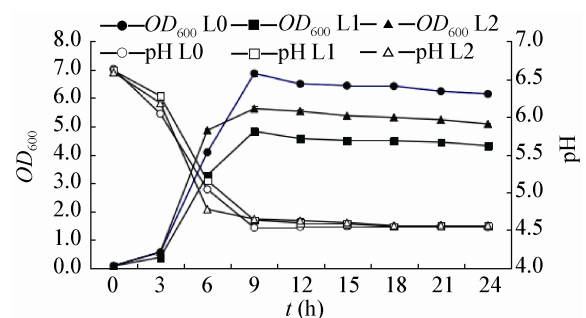


图 2 罗伊氏乳杆菌的生长曲线和 pH 曲线

Figure 2 Growth curve and pH curve of *Lactobacillus reuteri*

流体食物在胃内停留的时间为 1–2 h<sup>[10]</sup>。由表 1 可以看出, 3 株菌都可以耐受 pH 2.5 的人工胃液达 180 min, 活菌数高达  $10^9$  CFU/mL, 存活率均大于 80%, 说明 3 株菌都能较好地耐受低 pH 的胃液, 可以顺利通过胃存活。

## 2.4 耐受猪胆盐能力的比较

乳酸菌通过低 pH 胃液后顺利进入小肠, 小肠中因胆盐形成的高渗透压环境是另一障碍。小肠内的胆盐浓度在 0.03%–0.30% 的范围内波动<sup>[11]</sup>。由表 2 可以看出, 随着猪胆盐浓度的增加, 菌株生长情况变差甚至不生长, L0 和 L2 菌株在 0.3 g/100 mL 的猪胆盐培养基中均不生长, 不能耐受高浓度的胆盐培养基, 而 L1 菌株在 0.4 g/100 mL 的猪胆盐培养基中仍能生长良好, 对胆盐具有良好的耐受能力。

## 2.5 黏附 HT-29 细胞能力的比较

乳酸菌在受体内发挥作用, 除了能耐受胃肠道的不利环境, 还需具有良好的黏附能力, 能够在肠

壁定殖并大量繁殖。由表 3 可以看出, 菌株 L0 黏附 HT-29 细胞能力较差, 推测该菌株不能在肠道内良好定殖, 菌株 L1 和 L2 黏附 HT-29 细胞能力很强, 推测其可以顺利在肠道内定殖以发挥作用。

## 2.6 体外抑菌能力的比较

采用牛津杯法研究了 3 株罗伊氏乳杆菌对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌能力。3 株菌发酵液最终 pH 值均为 4.5 左右。由表 4 可以看出, 3 株菌对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均表现出一定的抑制特性, 与对照组比较差异极显著, 抑制金黄色葡萄球菌能力强于抑制大肠杆菌能力。

## 2.7 对抗生素耐药性的比较

3 株罗伊氏乳杆菌对不同类别药物敏感性试验结果见表 5。“S”代表敏感, 表示由被测菌株所引起的感染可以用常用剂量该抗菌药物治疗; “I”代表中介, 表示被测菌株可以通过提高剂量被抑制, 或在药物生理性浓集的部位被抑制; “R”代表耐药, 被测细菌不能被常用剂量抗菌药物抑制, 或属于具有特定耐药机理<sup>[12]</sup>。由表 5 可知, 该 3 株罗伊氏乳杆菌对一些抗生素的耐受性具有一定的差异, 同时, 对一些抗生素具有相同的耐受性, 3 株菌对呋

表 1 罗伊氏乳杆菌对 pH 2.5 人工胃液的耐受性  
Table 1 Tolerance of *Lactobacillus reuteri* to artificial gastric intestinal juice at pH 2.5 ( $10^8$  CFU/mL)

菌株 Strains	Time (min)		
	0	30	180
L0	24.26±0.86	22.59±1.12**	20.52±1.51**
L1	19.46±1.10	17.04±0.52**	16.00±0.85**
L2	20.38±1.09	19.43±0.97	18.68±1.00**

注: 与本组 0 min 比较, \*表示差异显著( $P<0.05$ ), \*\*表示差异极显著( $P<0.01$ )。

Note: In a row, compared with 0 min, \*:  $P<0.05$ , \*\*:  $P<0.01$ .

表 2 3 株罗伊氏乳杆菌在不同浓度猪胆盐中的存活情况  
Table 2 Survival of the three *Lactobacillus reuteri* at high porcine bile salt concentrations

菌株 Strains	猪胆盐浓度 Bile salt concentration (g/100 mL)				
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
L0	+	(+)	—	—	—
L1	+	+	+	+	(+)
L2	+	+	—	—	—

注: +: 生长良好; (+): 生长较差; —: 不生长。

Note: +: Growth well; (+): Weak growth; —: No growth.

表 3 罗伊氏乳杆菌对 HT-29 细胞的黏附性  
Table 3 Adhesion of *Lactobacillus reuteri* to HT-29 cells

菌株 Strains	黏附活菌数/100 细胞 Adhesion bacteria/100 cells ( $\pm s$ )
L0	90.26±2.46
L1	1 603.17±17.66
L2	1 289.42±49.01

表 4 3 株罗伊氏乳杆菌的抑菌活性  
Table 4 Antibacterial activity of the three *Lactobacillus reuteri*

供试菌株 Tested strains	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i> (mm)	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> (mm)
CK	11.58±0.17	8.00±0.10
L0	14.06±1.08**	15.19±0.91**
L1	14.76±1.24**	15.08±0.66**
L2	14.00±1.12**	15.23±0.58**

注: 各组与对照组比较, \*\*: 差异极显著( $P<0.01$ )。

Note: In a column, compared with CK, \*\*:  $P<0.01$ .

表 5 3 株罗伊氏乳杆菌对 20 种抗生素的耐药性比较  
Table 5 Antimicrobial activity of the three strains of *Lactobacillus reuteri* to twenty antibiotics

抗生素名称 Name of antibiotics	纸片含药量 Dosage of drug (μg)	抑菌圈判断标准 The standard of bacteriostatic circle (mm)			菌株 Strains		
		耐药(R) Resistant	中介(I) Intermediate	敏感(S) Susceptible	L0	L1	L2
青霉素 Penicillin	10 IU	≤28	—	≥29	R	R	R
苯唑西林 Oxacillin	1	≤10	11–12	≥13	R	R	R
氨苄西林 Ampicillin	10	≤13	14–16	≥17	I	S	S
羧苄西林 Carbenicillin	100	≤19	20–22	≥23	R	I	S
哌拉西林 Piperacillin	100	≤17	18–20	≥21	S	I	S
头孢氨苄 Cephalexin	30	≤14	15–17	≥18	S	R	I
头孢唑林 Cefamezin	30	≤14	15–17	≥18	R	S	S
头孢拉定 Cefradine	30	≤14	15–17	≥18	R	R	R
头孢呋辛 Cefuroxim	30	≤14	15–17	≥18	S	S	S
头孢他啶 Ceftazidime	30	≤14	15–17	≥18	S	R	I
头孢曲松 Ceftriaxone	30	≤13	14–20	≥21	S	I	I
头孢哌酮 Cefoperazone	75	≤15	16–20	≥21	S	R	S
麦迪霉素 Aboren	30	≤14	15–18	≥19	S	S	S
诺氟沙星 Norfloxacin	10	≤12	13–16	≥17	R	R	R
氧氟沙星 Ofloxacin	5	≤12	13–15	≥16	R	R	R
环丙沙星 Ciprofloxacin	5	≤15	16–20	≥21	R	R	R
万古霉素 Vancomycin	30	—	—	≥17	R	R	R
多粘菌素 B Polymyxin B	300 IU	—	—	—	R	R	R
复方新诺明 Compound sulfamethoxazole	25	≤10	11–15	≥16	I	R	R
呋喃唑酮 Furazolidone	300	≤14	15–16	≥17	R	R	R

喃唑酮、青霉素、苯唑西林、头孢拉定、诺氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星、万古霉素、多粘菌素 B 等药物不敏感。所以，在动物日粮中罗伊氏乳杆菌可以选择与其不敏感的药物配合使用。

3 讨论

生长曲线主要反映了一种微生物的生长状况和数量。研究发现，益生菌进入肠道之后，若其生长速度缓慢，则很难在微生物竞争中处于优势地位，成为优势菌群。在本实验中，3 株罗伊氏乳杆菌均在 3 h 就已进入了对数生长期，说明它们都可以在肠道中迅速繁殖，占据优势地位。到 9 h 时，

3 株菌均达到了最大值，对数生长期较短，因此在后期培养中，应补充营养物质以提高菌体浓度。3 株菌的最大值相差较大，菌株 L0>L2>L1。3 株菌的 pH 曲线大致相同，说明罗伊氏乳杆菌在生长过程中会产生有机酸，在菌株生长的对数期 pH 下降最快，说明菌株在对数期产酸最快，产酸过多会抑制菌体生长，因此，可以通过实时调节 pH 来增加菌体浓度。

乳酸菌经口服进入受体内发挥作用，首先要能耐受低 pH 的胃液。胃液中有胃酸及各种酶类，通常胃酸的 pH 在 3.0 左右。邵景海等<sup>[13]</sup>研究了一株

罗伊氏乳杆菌对 pH 2.5 人工胃液的耐受性, 处理 4 h 后活菌数达到  $10^6$  CFU/mL。李清等<sup>[14]</sup>研究了一株乳酸菌对人工胃肠液的耐受性, 在 pH 为 2.5 的人工胃液中处理 3 h, 活菌数接近  $10^8$  CFU/mL, 存活率 31.62%。本实验中 3 株菌都可以耐受 pH 2.5 的人工胃液达 180 min, 活菌数高达  $10^9$  CFU/mL, 存活率均大于 80%, 比较其他研究, 该 3 株菌对人工胃液具有极好的耐受性。

乳酸菌通过低 pH 胃液后顺利进入小肠, 小肠中因胆盐形成的高渗透压环境是另一障碍。益生菌要在小肠中发挥益生调节功能, 还需耐受一定浓度的胆盐作用<sup>[15]</sup>。本实验中, 随猪胆盐浓度的增加, 菌株生长情况变差甚至不生长, L0 和 L2 菌株在 0.3 g/100 mL 的猪胆盐培养基中均不生长, 而 L1 菌株在 0.4 g/100 mL 的猪胆盐培养基中仍能生长良好, 对胆盐具有良好的耐受能力, 在后期对益生菌的研究中具有明显的优势。

乳酸菌黏附并定殖于肠黏膜上皮细胞是其发挥作用的首要条件, 并且生理性细菌的黏附可能参与了正常菌群的生物屏障形成机制<sup>[16]</sup>。罗伊氏乳杆菌在肠道中的定殖具有普遍性, 有研究表明, 罗伊氏乳杆菌可以黏附人结肠的上皮细胞<sup>[17]</sup>。本实验对 3 株罗伊氏乳杆菌的黏附性进行了研究, 菌株 L0 黏附 HT-29 细胞能力较差, 不利于菌株在肠道内良好定殖, 菌株 L1 和 L2 黏附 HT-29 细胞能力很强。李平兰<sup>[18]</sup>等研究了 24 株乳酸菌对 HT-29 细胞的体外黏附实验, 乳杆菌中黏附能力最好的为黏附  $10.2 \pm 1.8$  个/细胞, 本实验中 L1 可黏附  $16.03 \pm 0.18$  个/细胞, 优于其黏附能力。说明该菌株可以顺利在肠道内定殖以发挥作用。

本文分析比较了 3 株罗伊氏乳酸菌的生物学特性。通过生长曲线和 pH 曲线的对比可以看出, 在培养过程中适当的补充营养物质并及时调节培养 pH 可以有效地提高菌体浓度。3 株菌对胃肠道环境具有良好的耐受性, 并可以抑制胃肠道病原菌, 和现有抗生素很好地配合使用。其中菌株 L1 相对其他两株菌株表现了更好的生物学特性, 具有良好的胃

液、胆盐耐受性, 并能很好地黏附于小肠黏膜。因此, 菌株 L1 在益生菌研究方面具有极大的应用潜力。

## 参考文献

- [1] Thacker PA. Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review[J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2013, 4(1): 35
- [2] Shen ZY, Zhao SM, Liang YX. Screening of lactic acid bacteria strains for pig additives and the study of its probiotic properties *in vitro*[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2007, 26(3): 348-352 (in Chinese)  
沈中艳, 赵述森, 梁运祥. 耐胃肠道环境及肠道病原菌拮抗的猪源乳酸菌的分离与筛选[J]. 华中农业大学学报, 2007, 26(3): 348-352
- [3] Wang Z, Zeng XM, Mo YM, et al. Identification and characterization of a bile salt hydrolase from *Lactobacillus salivarius* for development of novel alternatives to antibiotic growth promoters[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(24): 8795-8802
- [4] Pang J, Zhou N, Liu P, et al. Beneficial effects of *Lactobacillus reuteri* to human and animals[J]. China Biotechnology, 2011, 31(5): 131-137 (in Chinese)  
庞洁, 周娜, 刘鹏, 等. 罗伊氏乳杆菌的益生功能[J]. 中国生物工程杂志, 2011, 31(5): 131-137
- [5] Gismondo MR, Drago L, Lombardi A. Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 1999, 12(4): 287-292
- [6] Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic[J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2014, 11(8): 506-514
- [7] He SJ, Chen WL. The Experiment of Microbiology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2007: 155-157 (in Chinese)  
何绍江, 陈雯莉. 微生物学实验[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 155-157
- [8] Pedersen C, Jonsson H, Lindberg JE, et al. Microbiological characterization of wet wheat distillers' grain, with focus on isolation of lactobacilli with potential as probiotics[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(3): 1522-1527
- [9] Wu HF, Mao SY, Yao W, et al. Lactic acid production and antagonistic effect of lactic acid bacteria from piglet intestine[J]. Microbiology China, 2005, 32(1): 79-84 (in Chinese)  
吴慧芬, 毛盛勇, 姚文, 等. 猪源乳酸菌产乳酸及其抑菌特性研究[J]. 微生物学通报, 2005, 32(1): 79-84
- [10] Xiong T, Song SH, Huang JQ, et al. Tolerance of *Lactobacillus plantarum* NCU116 in stimulated digestive environments[J]. Food Science, 2011, 32(11): 114-117 (in Chinese)  
熊涛, 宋苏华, 黄锦卿, 等. 植物乳杆菌 NCU116 在模拟人体消化环境中的耐受性[J]. 食品科学, 2011, 32(11): 114-117
- [11] Wang JC, Guo Z, Yan LY, et al. Comparison of transit tolerance and fermentation properties of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang with commercial probiotic strains[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2009, 9(5): 14-23 (in Chinese)  
王记成, 郭壮, 闫丽雅, 等. 益生菌 *Lactobacillus casei* Zhang 与商业益生菌对胃肠转运耐受性及发酵特性的比较[J]. 中国食品学报, 2009, 9(5): 14-23
- [12] Ministry of Health of the People's Republic of China. WS/T 125-1999 Standard of antibiotics susceptibility test (Kirby-Bauer method)[S]. Beijing: China Standard Press, 2000 (in Chinese)  
中华人民共和国卫生部. WS/T 125-1999 纸片法抗菌药物敏感

试验标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2000

[13] Shao JH, Yang YH, Li L, et al. Phenotype investigation on a strain of *Lactobacillus reuteri*[J]. China Dairy Industry, 2012, 40(3): 28-30 (in Chinese)  
邵景海, 杨郁荭, 李亮, 等. 一株罗伊氏乳杆菌的生物学特性研究[J]. 中国乳品工业, 2012, 40(3): 28-30

[14] Li Q, Wang Y, Liu XL, et al. Isolation of a broad-spectrum antibacterial lactic acid bacterium and evaluation of probiotic properties[J]. Microbiology China, 2015, 42(2): 332-339 (in Chinese)  
李清, 王英, 刘小莉, 等. 一株广谱抑菌活性乳酸菌的筛选及特性研究[J]. 微生物学通报, 2015, 42(2): 332-339

[15] Pan XD, Chen FQ, Wu TX, et al. The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT[J]. Food Control, 2009, 20(6): 598-602

[16] Bengmark S. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora[J]. Gut, 1998, 42(1): 2-7

[17] Bjorkman PJ. Colonization of the Human Gastrointestinal Tract by Two Formulations of *Lactobacillus reuteri* Dissertation[M]. Helsinki, Finland: University of Helsinki, 1999: 1025-1035

[18] Li PL, Yang H, Zhang C. Study on adhesion ability of lactic acid bacteria to the colonic adenocarcinoma cell line HT-29[J]. Journal of China Agricultural University, 2002, 7(1): 19-22 (in Chinese)  
李平兰, 杨华, 张箴. 乳酸菌体外粘附人结肠腺癌细胞系 HT-29 细胞的研究[J]. 中国农业大学学报, 2002, 7(1): 19-22

### 2016 年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表(2-1)

序号	会议名称	主办/协办单位	时间	人数	地点	联系方式
1	鼠疫菌生态与遗传研讨会	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	3 月	100	北京	
2	2016 年全国微生物毒素与急危重症学术会议	中国微生物学会微生物毒素专业委员会	4 月	400	上海	陈德昌 13901674318
3	生物过程优化与放大研讨会	中国微生物学会生化工程模型化与控制专业委员会	4 月	260	湖北宜昌	尤舸浩 13908607687
4	第四届全国食用昆虫与微生物转化废弃物及高效利用研讨会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	5 月 13-15 日	120	湖北武汉	吴悦 027-87287254
5	第二届噬菌体学术研讨会	中国微生物学会医学微生物学与免疫学专业委员会	5 月	150	湖北武汉	童贻刚 133611272813
6	第二届合成微生物学与生物制造学术研讨会	中国微生物学会分子微生物学与生物工程专业委员会	6 月	200	浙江杭州	李永泉 13735591622
7	第七届传染病基础与技术论坛	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	6 月	400	待定	吕相征 lvxz@cma.org.cn
8	酿造食品的营养化学学术研讨会	中国微生物学会酿造分会	6 月	120	浙江杭州	张秀梅 13503213265
9	第十届全国海洋生物技术与创新药物学术讨论会	中国微生物学会海洋微生物学专业委员会	8 月	250	江苏南京	王梁华 13386271017
10	工业企业微生物安全控制技术与实践研讨会	中国微生物学会工业微生物学专业委员会	8 月	200	北京	010-53218310
11	第八届全国微生物资源学术暨国家微生物资源平台运行服务研讨会	中国微生物学会微生物资源专业委员会	8 月 22-25 日	400	内蒙古 呼和浩特	阮志勇 13001101231
12	第二届真菌感染与宿主免疫学术研讨会	中国微生物学会真菌学专业委员会	9 月	200	浙江宁波	李祥 13811495603