

双歧杆菌的粘附特性及其对肠道致病菌的体外拮抗作用

刘国荣¹ 潘伟好¹ 畅晓渊¹ 林枫翔² 李平兰^{1*}

(1. 中国农业大学 食品科学与营养工程学院 教育部功能乳品重点实验室 北京 100083)

(2. 哈尔滨美华生物技术股份有限公司 黑龙江 哈尔滨 150018)

摘要: 本文采用体外细胞培养法,从实验室现有的20株不同生境来源的双歧杆菌中筛选具有较强粘附能力的菌株,并通过混合培养和牛津杯方法,研究了具有粘附特性的双歧杆菌对肠道致病菌的体外拮抗作用。结果显示,长寿老人源菌株 A03 和 I06 的粘附能力最强,其菌液对金黄色葡萄球菌及大肠杆菌均具有显著的抑制性,但是菌体及中和后的发酵液均没有抑菌性,说明受试菌主要通过其代谢产物中的有机酸来发挥其抑菌性能;此外,通过分析比较受试菌和肠道致病菌分别与 Caco-2 细胞粘附后释放的乳酸脱氢酶量,证实双歧杆菌与致病菌对细胞的作用具有本质上的区别,双歧杆菌的粘附能减缓致病菌对细胞所造成的损害。

关键词: 双歧杆菌,粘附特性,肠道致病菌,体外拮抗

In vitro Adherence Properties of *Bifidobacterium* Strains and Their Antagonistic Activity Against Enteropathogens

LIU Guo-Rong¹ PAN Wei-Hao¹ CHANG Xiao-Yuan¹ LIN Feng-Xiang² LI Ping-Lan^{1*}

(1. Key Laboratory of Functional Dairy Ministry of Education of the People's Republic of China, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

(2. Haerbin Meihua Shengwu Technology Co. LTD, Haerbin, Heilongjiang 150018, China)

Abstract: Twenty bifidobacterial strains were tested for adherence ability with cellular model systems *in vitro*. Strain A03 and I06 showed high adherence to the epithelial cells. The inhibitory effects of Strain A03 and I06 on enteropathogen *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were demonstrated by simultaneous incubation and antimicrobial testing. These antibacterial activities were mainly induced by organic acids produced by bifidobacteria. The release of LDH of Caco-2 cells which were differently treated with bifidobacteria and enteropathogen, suggested that the adherence of bifidobacteria were essentially different with those of enteropathogen, and the adhesion of strain A03 and I06 could prevent the harmful effect of *S. aureus* and *E. coli* on Caco-2 cells.

Keywords: Bifidobacteria, Adherence, Enteropathogens, Antagonistic activity

双歧杆菌是人体肠道最重要的生理性细菌之一,它粘附于肠道粘膜上皮细胞后,可进一步定殖并形成稳定的菌群。粘附是细菌与宿主细胞相互作用的第一步,也是其发挥生理功能的首要条件。双歧杆菌在肠道中的粘附及定殖,对维持肠道菌群的结构及功能起主导作用。而外源的双歧杆菌能否在肠道粘附和定殖是评定益生菌制剂效果的主要指标之一。它可与其它厌氧菌一起共同占据肠粘膜表面,与肠道上皮细胞紧密接触形成生物学屏障,构成并提高了肠道的定殖抗力,阻止致病菌、条件致病菌的定殖和入侵,提高了机体的抗感染能力。一般认为,致病菌粘附于细胞表面是其入侵人体并感染致病的第一步。此过程将引起宿主细胞出现形态结构和生理功能的变化。而双歧杆菌虽与肠道上皮细胞紧密接触,却对肠道上皮细胞并不构成损伤^[1-3]。

本研究采用体外细胞培养法,以实验室现有的不同生境来源的20株双歧杆菌为原材料,筛选具有较强粘附能力的菌株,并通过共培养、抑菌试验及检测粘附后细胞释放的乳酸脱氢酶,以探讨并证实具有粘附性的双歧杆菌在体内是如何对致病菌发挥其拮抗作用,有助于了解双歧杆菌的粘附所发挥的生物学效应。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

1.1.1 试验菌株: 受试菌: 20株双歧杆菌均由中国农业大学食品学院微生物教研室提供,受试菌株编号及来源见表1。指示菌: 金黄色葡萄球菌, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, ATCC菌种保藏中心; 埃希氏大肠杆菌, *Escherichia coli* CMCC(B)44102, 卫生部药品生物制品检定所。

1.1.2 细胞模型: 人结肠腺癌细胞系 Caco-2 细胞株, ATCC HTB-37, 购自协和医科大学基础所。

1.1.3 培养基: 改良 MRS 培养基用于双歧杆菌受试菌的培养; LB 培养基用于金黄色葡萄球菌及埃希氏大肠杆菌的培养。

1.1.4 培养液: MEM 培养液用于 Caco-2 细胞的培养, 购自美国 Gibco 公司。双抗(青霉素、链霉素溶液); 消化液(0.25% 胰蛋白酶, 0.03% EDTA, pH 7.6~8.0); pH 7.4 PBS 缓冲液。

1.1.5 试剂盒: 乳酸脱氢酶(LDH)测试盒, 购自南京建成生物工程研究所。

1.1.6 主要仪器: 牛津杯(10 mm×7.8 mm×6 mm)

(河南新乡美乐食品机械厂), 二氧化碳培养箱(Forma scientific), 飞鸽牌 TGL-16C 高速离心机(上海安亭科学仪器厂), pH S-25 型酸度计(上海精密科学仪器有限公司), 722S 分光光度计(上海棱光技术有限公司), 亨盖特厌氧装置(首都师范大学)等。

1.2 试验方法

1.2.1 双歧杆菌粘附力的测定: 采用体外细胞培养法, 参照Hidalgo J等^[4]的方法。

1.2.2 培养试验: 将受试双歧杆菌和致病菌 24 h新鲜培养物分别调整至 10^8 CFU/mL, 各取 0.4 mL 接种于 10 mL, pH 7.0 MRS 液体培养基中, 置于 37°C 温箱孵育 36 h, 其间每隔 12 h 分别取样, 检测双歧杆菌和致病菌的活菌数, 并同时设致病菌单独培养物为阳性对照, 双歧杆菌单独培养物为阴性对照。

1.2.3 牛津杯法测定双歧杆菌对致病菌的抑制作用^[5,6]: 1) 菌体细胞及上清液分别对指示菌的抑菌效果: 将待测双歧杆菌菌液于 8000 r/min 离心 10 min 后, 把离心沉淀下来的菌体细胞以相同体积的无菌生理盐水溶解并混匀, 分别以上清液及菌体细胞悬液进行抑菌试验, 比较两者与发酵液在抑菌圈上的差异。2) 排除有机酸的干扰: 将待测双歧杆菌菌液用 2.5 mol/L 的 NaOH 溶液中和至中性, 振荡均匀, 使 pH 值达到 6.5~7.0, 再进行抑菌试验, 比较中和前后出现的抑菌圈差异。3) 加热对抑菌效果的干扰: 将待测双歧杆菌菌液放入水浴 80°C 加热 10 min 后, 进行抑菌试验, 比较与其他处理的抑菌圈差异。

1.2.4 双歧杆菌与致病菌对 Caco-2 细胞膜通透性的影响: 方法同 1.2.1, 分别将 1 mL 双歧杆菌菌液、1 mL 致病菌悬液、1 mL 双歧杆菌与致病菌 1:1 混悬液与 1 mL Caco-2 细胞悬液混匀, 进行粘附试验, 设标准空白管及测定空白管, 3 个平行。置 37°C 分别孵育 2 h, 于 8000 r/min 离心 10 min, 取上清, 严格按照乳酸脱氢酶(LDH)测试盒的规定, 检测上清液中的 LDH 含量, 取其平均值。

1.3 数据的统计学处理

采用 SPSS11.5 软件对试验数据进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 双歧杆菌粘附能力的测定

通过对特定细胞系 Caco-2 的体外细胞粘附试验, 对上述 20 株不同来源双歧杆菌菌株的粘附力的测定结果如表 1。可以看出, 不同生境来源的双歧杆菌菌株与肠道上皮细胞的粘附能力各有不同, 粘附能

表 1 20 株双歧杆菌的粘附指数
Table 1 Adherence of 20 *Bifidobacterium* strains tested

菌株 Strain	来源 Origin	粘附菌数/细胞 Adherence ($\bar{x} \pm s$)	菌株 Strain	来源 Origin	粘附菌数/细胞 Adherence ($\bar{x} \pm s$)
BM-1	长寿老人肠道	5.23 ± 2.10 (gh)	WY-2	喂养婴儿肠道	4.68 ± 2.12 (gh)
BM-2	长寿老人肠道	16.29 ± 3.12 (d)	WY-3	喂养婴儿肠道	4.23 ± 2.43 (h)
BM-3	长寿老人肠道	6.22 ± 3.21 (gh)	WY-4	喂养婴儿肠道	5.03 ± 2.15 (g h)
BM-4	长寿老人肠道	9.97 ± 2.21 (f)	ZZ-1	断奶仔猪肠道	4.97 ± 2.17 (g h)
BM-5	长寿老人肠道	8.22 ± 2.72 (f)	ZZ-2	断奶仔猪肠道	7.48 ± 2.73 (g f)
BM-6	长寿老人肠道	15.93 ± 3.21 (d)	ZZ-3	断奶仔猪肠道	18.43 ± 4.51 (d)
BM-7	长寿老人肠道	36.73 ± 3.38 (c)	ZZ-4	断奶仔猪肠道	17.35 ± 3.73 (d)
I06	长寿老人肠道	48.13 ± 3.12 (b)	CP1	双歧杆菌制剂	12.73 ± 2.18 (e)
A03	长寿老人肠道	48.98 ± 5.11 (a)	CP-2	双歧杆菌制剂	12.87 ± 2.08 (e)
WY-1	喂养婴儿肠道	4.87 ± 1.95 (g h)	CP-3	双歧杆菌制剂	4.01 ± 2.52 (h)

注: 不同的字母表示在 5% 的水平上显著。

Note: The differences between the values with the same letters (in columns) are not statistically significant at $P=0.05$.

力最高的是长寿老人源的 A03 和 I06 菌株, 其粘附指数分别为(48.98±5.11)个/细胞和(48.13±3.12)个/细胞。15%的菌株其粘附平均值在 30 个/细胞以上, 30%的菌株的粘附平均值在 10~30 个/细胞之间, 30%的菌株粘附平均值介于 5~10 个/细胞之间, 而其余 25%的菌株的粘附平均值在 5 个/细胞以下。所有菌株的粘附力平均值为 14.62 个/细胞。上述数据说明了双歧杆菌对肠道上皮细胞的粘附性存在着菌株差异性。

2.2 双歧杆菌与致病菌混合培养试验

受试菌双歧杆菌 A03、I06 与金黄色葡萄球菌、

大肠杆菌共培养 12 h、24 h、36 h 后, 分别检测双歧杆菌与致病菌的活菌数, 其结果如表 2、3 所示。

双歧杆菌 A03、I06 菌株分别与金黄色葡萄球菌经 12 h、24 h、36 h 的共同培养。共培养 12 h 后, 与对照相比, 混合培养物中金黄色葡萄球菌的活菌数稍为减少, 双歧杆菌活菌数则稍高于对照; 经过 24 h 及 36 h 共培养后, 混合培养液中金黄色葡萄球菌数目下降且降幅极大, 在 36 h 处, 与 I06、A03 共培养的金黄色葡萄球菌分别降至 $3.78 \pm 0.00 \log \text{CFU/mL}$ 及 $6.73 \pm 0.00 \log \text{CFU/mL}$, 而同期的双歧杆菌活菌数却处于平稳的状态, 与对照无显著性差异。结果表明,

表 2 双歧杆菌与金黄色葡萄球菌混合培养的实验结果
Table 2 The growth (log CFU/mL) of bifidobacteria and *Staphylococcus aureus* in monocultures and co-cultures

处理 Treatments	金黄色葡萄球菌活菌数 Variable <i>Staphylococcus aureus</i> cells count			双歧杆菌活菌数 Variable bifidobacteria cells count		
	12 h	24 h	36 h	12 h	24 h	36 h
<i>S. aureus</i>	9.03 ± 0.00	9.16 ± 0.00	9.10 ± 0.00			
I06				7.57 ± 0.01	8.69 ± 0.01	8.93 ± 0.00
A03				7.72 ± 0.00	8.56 ± 0.04	9.03 ± 0.00
I06+ <i>S. aureus</i>	7.81 ± 0.01	5.81 ± 0.01	3.78 ± 0.00	8.94 ± 0.00	8.69 ± 0.00	8.03 ± 0.01
A03+ <i>S. aureus</i>	8.16 ± 0.00	7.74 ± 0.01	6.73 ± 0.00	8.60 ± 0.02	8.69 ± 0.01	8.57 ± 0.00

表 3 双歧杆菌与埃希氏大肠杆菌混合培养的实验结果
Table 3 The growth (log CFU/mL) of bifidobacteria and *Escherichia coli* in monocultures and co-cultures

处理 Treatments	大肠杆菌活菌数 Variable <i>Escherichia coli</i> cells count			双歧杆菌活菌数 Variable bifidobacteria cells count		
	12 h	24 h	36 h	12 h	24 h	36 h
<i>E. coli</i>	8.79 ± 0.01	8.89 ± 0.00	8.97 ± 0.00			
I06				7.57 ± 0.01	8.69 ± 0.01	8.93 ± 0.00
A03				7.72 ± 0.00	8.56 ± 0.04	9.03 ± 0.00
I06+ <i>E. coli</i>	8.20 ± 0.01	7.57 ± 0.01	4.48 ± 0.00	8.75 ± 0.02	9.13 ± 0.00	8.45 ± 0.00
A03+ <i>E. coli</i>	7.88 ± 0.01	7.53 ± 0.00	6.28 ± 0.00	8.96 ± 0.01	8.75 ± 0.01	8.60 ± 0.00

双歧杆菌与金黄色葡萄球菌共培养, 可显著地抑制金黄色葡萄球菌的生长, 且不影响双歧杆菌自身的正常生长, 此过程可能是由于双歧杆菌所产生的有机酸及抑菌物质能抑制金黄色葡萄球菌的生长。

经过 24 h 到 36 h 的混和培养, 双歧杆菌能明显地抑制大肠杆菌的正常生长。其中, 菌株 I06 与大肠杆菌的混合培养物, 经过 36 h 的培养, 其中的大肠杆菌能下降至 $4.48 \pm 0.00 \log \text{ CFU/mL}$, 明显低于同期的对照水平, 而双歧杆菌 A03 及 I06 的活菌数与对照相比并无明显下降。证明了双歧杆菌与大肠杆菌的共培养并不影响有益菌本身的正常生长, 同时亦提示了, 双歧杆菌的代谢产物对大肠杆菌亦具有显著的抑制作用。

2.3 牛津杯法测定双歧杆菌对致病菌的抑菌效果

使用牛津杯法分别测定了受试双歧杆菌 A03、I06 对金黄色葡萄球菌及大肠杆菌的抑菌作用。结果(表 4、5)进一步证实了菌株 A03、I06 对金黄色葡萄球菌及大肠杆菌的抑制作用。菌体细胞悬液及中和后培养液对致病菌均不具有抑制作用, 可见抑菌物质主要为受试双歧杆菌所代谢产生的有机酸。培养液经加热后其抑菌活性与发酵液相比无显著性差异, 进一步证明了抑菌作用并非由细菌素介导, 因为细菌素绝大多数为蛋白类物质, 对热敏感, 受热后其活性将显著降低。

表 4 不同处理对抑菌活性的影响

Table 4 Inhibitory activity after different treatment with *Staphylococcus aureus* as indicator bacterium

处理 Treatments	抑菌圈直径 Size of inhibition zone (mm)	
	A03	I06
发酵液 Fermented Culture	21.00	21.98
菌体细胞悬液 Cell suspension	0	0
培养乏液* Supernatant	20.10	21.78
中和后 Neutralized supernatant	0	0
80°C 加热 10 min 80°C, 10 min	20.08	20.44
CK(改良 MRS 液体培养基) Modified MRS medium	0	0

注: *: 除去菌体细胞后的发酵上清液。

Note: *: The cultural supernatant after removing the strain cells.

表 5 不同处理对抑菌活性的影响
Table 5 Inhibitory activity after different treatment with *Escherichia coli* as indicator bacterium

处理 Treatments	抑菌圈直径 Size of inhibition zone (mm)	
	A03	I06
发酵液 Fermented Culture	20.98	24.98
菌体细胞悬液 Cell suspension	0	0
培养乏液* Supernatant	20.76	25.12
中和后 Neutralized supernatant	0	0
80°C 加热 10 min 80°C, 10 min	20.98	24.60
CK(改良 MRS 液体培养基) Modified MRS medium	0	0

注: *: 除去菌体细胞后的发酵上清液。

Note: *: The cultural supernatant after removing the strain cells.

2.4 双歧杆菌与致病菌对 Caco-2 细胞膜通透性的影响

细胞膜是一种选择性透过性膜, 细胞膜通透性异常增加是细胞损伤的早期表现之一。乳酸脱氢酶的释放能较好地反映细胞膜的损伤程度。通过检测细菌粘附 Caco-2 细胞后释放的乳酸脱氢酶, 可以有助于了解细菌对细胞膜的影响。从表 6 及表 7 可见, 金黄色葡萄球菌及大肠杆菌对 Caco-2 细胞的粘附将导致较高水平的 LDH 释出, 远高于双歧杆菌 A03 和 I06 对 Caco-2 细胞所造成的影响, 证明了有益菌的粘附对细胞的影响远低于致病菌。除此之外, 双歧杆菌与致病菌共同粘附于 Caco-2 细胞后, LDH 的释出虽高于双歧杆菌的单一粘附, 却远低于致病菌的单一粘附, 此结果提示了双歧杆菌能与肠道上皮细胞保持着和谐共生关系, 其对 Caco-2 细胞的粘附能缓解致病菌对细胞膜的损伤, 从而发挥生物屏障的作用。

3 讨论

双歧杆菌作为构成肠道定殖抗力的主要细菌之一, 能够在肠道中形成优势菌群, 对于维护机体健康具有重要的意义。研究表明, 它对人体生理功能的调节主要是通过生物屏障与化学屏障两种途径共同作用, 从而防治各种致病菌与条件致病菌在肠道的定殖、入侵及生长繁殖^[3,7,8]。双歧杆菌的代谢产物主要是有机酸如乳酸及乙酸等, 导致肠道内的 pH

表6 双歧杆菌及金黄色葡萄球菌、大肠杆菌粘附对细胞释放LDH的影响

Table 6 Changes of LDH release of Caco-2 cells infected with bifidobacteria strains and *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* in monocultures and co-cultures

处理 Treatments	乳酸脱氢酶量 LDH(U/L)
A03	272.30 ± 39.84
I06	624.42 ± 6.64
<i>S. aureus</i>	1225.36 ± 19.92
A03+ <i>S. aureus</i>	745.56 ± 31.90**AA
I06+ <i>S. aureus</i>	774.65 ± 6.64 BB
<i>E. coli</i>	769.95 ± 13.28
A03+ <i>E. coli</i>	727.70 ± 6.64**AA
I06+ <i>E. coli</i>	727.70 ± 19.91 BB

注: *: (A03+*S. aureus*/*E. coli*)组与 A03 对照的差异显著性;
: (I06+*S. aureus*/*E. coli*)组与I06 对照的差异显著性; A: (A03+*S. aureus*/*E. coli*)组与 *S. aureus*/*E. coli* 对照的差异显著性;
B: (I06+*S. aureus*/*E. coli*)组与*S. aureus*/*E. coli*对照的差异显著性;
**、 、AA、BB: $P < 0.01$.

Note: *: The differences between the values between (A03+*S. aureus*/*E. coli*) and A03 is statistically significant at $P = 0.05$;
: The differences between the values between (I06+*S. aureus*/*E. coli*) and I06 is statistically significant at $P = 0.05$; A: The differences between the values between (A03+*S. aureus*/*E. coli*) and *S. aureus*/*E. coli* is statistically significant at $P = 0.05$; B: The differences between the values between (I06+*S. aureus*/*E. coli*) and *S. aureus*/*E. coli* is statistically significant at $P = 0.05$; **, , AA and BB: The differences at $P < 0.01$.

值及氧化还原电位Eh有所下降,造成肠内的酸性环境,不利于致病菌生长繁殖,对肠道致病菌如大肠杆菌、痢疾杆菌、艰难梭菌和沙门氏菌等起到了抑制作用,从而调整肠道菌群失调,维持相对稳定的动态平衡^[9]。相反的,由于双歧杆菌自身具有一定的耐酸能力,在生物拮抗过程中,双歧杆菌的生长能够不受抑制^[10]。本试验中可明显地观察到受试双歧杆菌A03及I06能够产生大量的酸性物质,在共培养以及抑菌试验中,均能对金黄色葡萄球菌及大肠杆菌发挥显著的抑制作用,而对产酸的双歧杆菌本身的正常生长没有明显的影响,且已排除此过程中细菌素的存在,再次证明了受试菌株具有明显的抑菌性能。

双歧杆菌在发生粘附作用时,与肠粘膜上皮细胞紧密接触,两者之间必然发生相互作用,肠上皮细胞亦必然会随之有所改变。有研究表明,某些致病菌粘附于宿主细胞表面一定时间后,对细胞构成一定程度的损害,可引起宿主细胞一系列生理功能和形态结构的改变。细胞膜是一种选择性膜,具有

维持细胞内环境相对稳定的作用。细胞膜通透性的异常改变是细胞损伤的早期表现之一。在正常情况下,细胞内大分子物质乳酸脱氢酶LDH是不能通过或少量释出细胞膜的,但在细胞膜受损伤、通透性发生改变后,可通过受损的细胞膜大量释放出来,因此,检测LDH的释出能较好地掌握细胞膜的受损情况^[11]。试验中,我们采用了标准的LDH检测试剂盒分别测定了具有粘附性的受试双歧杆菌A03、I06,以及致病菌金黄色葡萄球菌及大肠杆菌对Caco-2细胞的损伤作用,还检测了同一试验条件下,双歧杆菌与致病菌共培养对细胞膜的损伤作用。试验结果表明,受试致病菌对Caco-2细胞膜的损伤作用远大于双歧杆菌,但在与双歧杆菌进行混合培养后,对细胞膜的损伤有着显著性的下降。其他研究报告中亦显示双歧杆菌粘附对宿主细胞通透性影响不大,而致病菌则可对宿主细胞膜造成损伤而增加其通透性^[12],本试验得到与其一致的结果。由此在一定程度上证明了双歧杆菌作为一种肠道内生理性细菌,能始终与肠道上皮细胞保持着和谐共生关系,其对细胞的粘附并不引起细胞损害,而肠道致病菌则能明显地导致肠道上皮细胞的损伤,这也是生理性细菌与肠道致病菌的不同生物学效应之一。而试验中具有粘附性的双歧杆菌均能明显地减弱致病菌对肠道上皮细胞的损伤,未有足够证据证明是由于双歧杆菌发挥了“位阻效应”所致,细菌粘附接触所导致的是细胞局部受损还是整个细胞膜发生功能性变化,目前尚未清楚,均有待于下一步试验的验证。

参考文献

- [1] Hutt P, Shchepetova IJ, Loivukene K, et al. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 2006, **100**: 1324–1332.
- [2] Lorella B, Monia O, Elena DM, et al. Screening of *Bifidobacterium* strains isolated from human faeces for antagonistic activities against potentially bacterial pathogens. *Microbiol Res*, 2003, **158**: 179–185.
- [3] Pramod KG, Jaya P, John S, et al. *In vitro* adherence properties of *Lactobacillus rhamnosus* DR20 and *Bifidobacterium lactis* DR10 strains and their antagonistic activity against an enterotoxigenic *Escherichia coli*. *International Journal of Food Microbiology*, 2001, **67**: 207–216.
- [4] Hidalgo J, Raub TJ, Borchardt RT. Characterization of the

- human colon carcinoma cell line (Caco-2) as a model system for intestinal epithelial permeability. *Gastroenterology*, 1989, **96**(3): 736-749.
- [5] 吕燕妮, 李平兰, 孙成虎, 等. 戊糖乳杆菌 31-1 菌株所产细菌素的理化及生物学特性. 中国农业大学学报, 2006, **11**(1): 39-43.
- [6] Liu GR, Lv YN, Li PL, *et al.* Pentocin 31-1, an anti-*Listeria* bacteriocin produced by *Lactobacillus pentosus* 31-1 isolated from Xuan-Wei Ham, a traditional China fermented meat product. *Food Control*, 2008, **19**: 353-359.
- [7] Servin AL. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiology Reviews*, 2004, **28**(4): 405-440.
- [8] Pan WH, Li PL, Liu ZY, *et al.* The correlation between surface hydrophobicity and adherence of *Bifidobacterium* strains from centenarians' faeces. *Anaerobe*, 2006, **12**: 148-152.
- [9] Rokiah MY, Formuzul H, Maznah I, *et al.* Isolation of *Bifidobacteria infantis* and its antagonistic activity against ETEC 0157 and *Salmonella typhimurium* S-185 in wening food. *Asia Pacific J Clin Nutr*, 2000, **9** (2): 130-135.
- [10] 郭 彤, 徐梓荣. 两歧双歧杆菌体外抑制断奶仔猪肠道病原菌的研究及其机理探讨. 畜牧兽医学报, 2004, **35** (6): 664-669.
- [11] Korzeniewski C, Callewaert DW. An enzyme-release assay for natural cytotoxicity. *J Immunol Methods*, 1983, **64** (3): 313-320.
- [12] 叶桂安, 杨希山, 郑跃杰, 等. 双歧杆菌及肠致病性大肠杆菌粘附的细胞膜通透性研究. 中国微生物学杂志, 2000, **12** (3): 132-133.

稿件书写规范

论文中计量单位的表示方法

为执行国务院发布的《关于在我国统一实行法定计量单位的命令》的规定, 计量单位和单位符号按国家技术监督局发布的《量和单位》GB3100-3102-93 执行。单位符号均用英文小写(正体), 不允许随便对单位符号进行修饰。现将本刊常用计量单位和符号介绍如下, 希望作者参照执行。

时间: 日用 d; 小时用 h; 分钟用 min; 秒用 s 等表示。

溶液浓度: 用 mol/L, 不用 M (克分子浓度)和 N(当量浓度)等非许用单位表示。

旋转速度: 用 r/min, 不用 rpm。

蒸汽压力: 用 Pa 或 kPa、MPa 表示。

光密度: 用 OD(斜体)表示。

生物大分子的分子量: 蛋白质用 D 或 kD, 核酸用 bp 或 kb 表示。

图表中数值的物理量和单位: 物理量符号采用斜体, 单位用正体并用括号括起, 例如: $t(h)$ (表示时间, 单位是小时)。带数值的计量单位: 计量单位不能省略, 跟数字之间加一空格($^{\circ}C$ 和 % 除外), 例如: $20\text{ cm} \times 0.3\text{ cm}$, 不能写成 $20 \times 0.3\text{ cm}$; $3^{\circ}C \sim 5^{\circ}C$ 不可写成 $3 \sim 5^{\circ}C$; $3\% \sim 6\%$ 不可写成 $3 \sim 6\%$ 等。