乳杆菌抑菌和粘附性能的研究

俞涵丽[1,2]，妥彦峰[1]，艾连中[1]，吴正钧[1]，郭本恒[1]，陈卫[2]
（1. 光明股份有限公司，光明乳业研究院，乳业生物技术国家重点实验室，上海 200436）
（2. 江南大学食品学院，江苏无锡 214122）

摘要：本文以4株乳杆菌为研究对象，标准益生菌 *L. rhamnosus* GG 作为对照。研究它们对低酸和高浓度胆盐的耐受性，对抗生素的敏感性，对食源性病原菌的抑制能力以及对 Caco-2 细胞的粘附性。结果表明，其中 *Lactobacillus casei* 142，*L. plantarum* 89 的耐酸耐胆盐性能较好。四株乳杆菌对 *Listeria monocytogenes*，*Escherichia coli*，*shigella sonnei* 都有较好的抑制作用，同时它们对本研究中的 5 种抗生素都具有敏感性。本文采用 Caco-2 细胞模型，研究乳杆菌对 Caco-2 细胞的粘附能力，结果发现 *L.plantarum* 89，*L.plantarum* 27 和 *L.plantarum* 13 在 Caco-2 细胞上的粘附能力强（>20 cfu/cell），*L. rhamnosus* GG 的粘附数为 8（cfu/cell），而 *L. casei* 142 则不具有粘附性能。

关键词：益生菌；抑菌性；粘附性
文章篇号：1673-9078(2013)6-1247-1251

Antimicrobial and Adhesion Properties of Four *Lactobacillus* Strains

YU Han-li[1,2], TUO Yan-feng[1], AI Lian-zhong[1], WU Zheng-jun[1], GUO Beng-hen[1], CHEN Wei[2]
(1.State Key Laboratory of Dairy Biotechnology, Technicial Centre of Bright Dairy and Food Co.Ltd, Shanghai 200436, China) (2.The School of Food Science and Technology, Jiangnan University,Wuxi 214122,China)

Abstract: The present work explored the antimicarobial and adhesion property of four *lactobacillus* strains with probiotic potential and compared with the typical probiotic *L. rhamnosus* GG, by investigation of their acid and bile torelance, antibiotic susceptiblity, antagonism against important gastrointestinal pathogens and their ability of adhere to Caco-2 cell. *Lactobacillus casei* 142 and *L. plantarum* 89 can survived in both the acidic and bile salt environments. All *lactobacillu* strains tested were sensitive to the antibiotics used in this investigation and had strong antimicrobial effect against the pathogens. *L.plantarum* 89, *L.plantarum* 27 and *L.plantarum* 13 showed strong adhension abilities, with their adhension capacity to the Caco-2 cell being of ＞20 cfu/cell. However, *L. casei* 142 showed no adhesion ablity to Caco-2 cells. The results suggested the probiotic potential of the four strains.

Key words: probiotics; antimicrobial ability; adherence

益生菌是一种活的微生物，摄入充足的量后，对宿主产生一定的有益作用[1]。益生菌制剂可以有效防治致病菌引起的肠道疾病，并且具有安全无副作用等优点。它可以抑制病原微生物的生长，抑制肠道致病菌对肠上皮细胞的粘附，调节宿主免疫系统，以及预防和治疗炎症性肠病等[2]。乳杆菌是一类主要的益生菌，在代谢过程中产生有机酸[3]，过氧化氢以及蛋白类抑菌物质如抗菌肽和细菌素[4]。有机酸的产生，降低了肠道 pH，形成不利于致病菌成长的微环境，从而抑制致病菌的生长。细菌素抗菌肽物质则可以直接杀死致病菌。乳杆菌的粘附性对乳杆菌在肠道中的定植过程起了重要的作用，不仅可以阻止乳杆菌因肠道蠕动而被清除，而且乳杆菌还可以通过自凝集能力在肠道表面形成保护层，阻止致病菌与肠上皮细胞的接触，避免致病菌引起的炎症性肠病，同时乳杆菌在肠道中与致病菌竞争粘附位点和营养物质，抑制病原菌在肠道中的粘附和生长，还可通过替换作用将已粘附在肠道中的致病菌取代下来[5~6]，预防致病菌引起的肠道疾病。因此粘附性是乳杆菌作为益生菌的一种重要性能。

乳杆菌为了能更好的发挥其益生作用，必须耐受胃肠道的恶劣环境，例如对低酸和高胆盐环境的耐受性。同时从安全角度考虑应该不携带抗生素抗性基因，以免抗性基因传递给致病菌，给致病菌引起的肠道疾病的治疗带来更大困难。

本文研究 4 株从新疆地区发酵乳制品中分离得到 *Lactobacillus* 菌株的耐酸耐胆盐性质，其体外抑制致病菌生长的能力，抗生素敏感性以及对 Caco-2 细胞的

收稿日期：2013-02-25
基金项目：上海市科委启明星跟踪人才计划项目（11QH1400700）
作者简介：俞涵丽（1987-），女，硕士研究生，食品生物技术；妥彦峰（1977-），男，博士，乳品科学
通讯作者：郭本恒

粘附性，以 *L. rhamnosus* GG 作为对照，研究这 4 株乳杆菌潜在的抑制肠道致病菌生长以及对 Caco-2 细胞粘附的性能。

1 材料与方法

1.1 材料

实验菌株：菌株 *Lactobacillus plantarum* 13、*L.plantarum* 27、*L.plantarum* 89、*L.casei*142 为光明乳业研究乳业生物技术国家重点实验室所保存期菌株，从新疆地区发酵乳制品中分离得到。菌株 *L. rhamnosus* GG 由哈尔滨工业大学食品学院张兰威教授赠予。

指示菌株：*Escherichia coli* ATCC43889、*Listeria monocytogenes* EGDe2、*shigella sonnei* ATCC 51371

1.2 方法

1.2.1 乳杆菌在低酸条件下生长的测定

用 HCl 将 MRS 液体培养基的 pH 分别调整到 2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 和 6.2（对照）。将培养液加入到 96 孔板中，以相同的接种量接种乳杆菌，在 37 ℃条件下培养，用 Spectra M5 酶标仪测定其在 18 h 时 600 nm 波长下的吸光值[7]。

1.2.2 乳杆菌对低 pH 的耐受性

将乳杆菌在 MRS 培养液中培养 18 h，10000 r/min 离心收集菌体，弃上清，用无菌的 PBS（pH 7.2）洗涤 2 次，将菌体重悬在 pH 2.0 的磷酸盐缓冲液中，在 37 ℃培养 2 h，稀释倾注平板法分别计 0 h 和 2 h 时的活菌数[8]。

存活率%=C_2/C_0×100%

注：C_2 指 2 h 的活菌数，C_0 指 0 h 的活菌数。

1.2.3 胆盐耐受性实验

将乳杆菌在 MRS 中培养 18 h，10000 r/min 离心收集菌体，弃上清，用无菌的 PBS（pH 7.2）洗涤 2 次，将菌体重悬在 0.3%的的胆盐缓冲液（pH 7.2）中，37 ℃培养 4 h，分别在 0 h 和 4 h 取样，稀释倾注平板法计活菌数量[8]。

存活率%=C_4/C_0×100%

注：C_4 指 4 h 的活菌数，C_0 指 0 h 的活菌数。

1.2.4 乳杆菌抑制致病菌生长

采用琼脂扩散法进行乳杆菌对致病菌的抑制实验[9]。乳杆菌上清液的制备：将乳杆菌活化 2~3 代，10000 r/min 离心收集上清。指示菌的准备：将致病菌活化 2~3 代，将菌液浓度调整至 10^7 cfu/mL，取 1 mL 菌液加入培养皿中，用 BHI 培养基倾注平板，待完全凝固后，每个平板打 5 个 ϕ 5 mm 的小孔，在每个孔中加入 100 μL 的上清液，以空白 MRS 培养基为阴性对照。置于 37 ℃培养箱中培养 24 h 后取出，观察抑菌圈的大小，每个样品做 3 个平行。

1.2.5 抗生素敏感性实验

抗生素敏感性实验采用琼脂扩散法，本文选择的抗生素是阿莫西林克拉维酸（20/10 μg），头孢菌素（30 μg），利福平（5 μg），红霉素（15 μg），氯霉素（30 μg）。将乳杆菌悬液调整到 1×10^7 cfu/mL，加 1 mL 菌悬液到无菌培养皿中，用 MRS 固体培养基倾注平板，凝固后，将抗生素纸片（Oxoid, Ltd., Basingstoke, United Kingdom）放置在平板的表面。将平板在 37 ℃培养箱中培养 24 h，然后用游标卡尺测定抑菌圈的大小[10]，根据抗生素纸片说明书的描述，进行中度敏感，高度敏感性能的判断。

1.2.6 粘附性实验

采有 Caco-2 细胞作为肠上皮细胞模型，进行乳杆菌的粘附性试验。Caco-2 细胞采用 DMEM（Dulbecco's modified Eagle's minimal essential medium）培养液培养，并添加 10% (*V/V*)热灭活（30 min, 56 ℃）的胎牛血清，1% (*V/V*)青链霉素。细胞于 CO_2 培养箱（5% CO_2 和 95%空气）中，37 ℃培养，1~2 d 换液一次。

用胰酶将培养瓶中的细胞消化转移到 12 孔细胞培养板中，37 ℃条件下于 CO_2 培养箱恒温培养至长成单层细胞。将乳杆菌活化两代，离心收集菌体，用无菌 PBS 洗 2 次，将菌体重悬在不含胎牛血清、不含抗生素的 DMEM 培养液中。同时用无菌 PBS 洗 Caco-2 细胞培养板 2 次，然后加入 1 mL 菌悬液，培养 1 h 后用无菌 PBS 洗涤 4 次，洗去未粘附的菌体，加入 1 mL 1%（*V/V*）Triton×100，使粘附的菌体同细胞分离，吹打混匀，梯度稀释平板计数法计粘附细菌数[11]。

1.3 数据统计

所有实验重复三次。数据分析采用 SPSS 16.0 中 One-Way（ANOVA）进行统计和显著性分析。结果用平均值±标准差（means±SD）表示。

2 结果与讨论

2.1 乳杆菌在低 pH 条件下的生长情况

四株乳杆菌在低酸条件下的生长情况见表 1，发现在 pH 2.0 和 3.0 的条件下，菌株的生长基本受到抑制，在 pH 4.0 的条件下，所有菌株能保持一定的生长。结果显示乳杆菌在低酸条件下基本无法生长繁殖。

2.2 乳杆菌对低 pH 和高浓度胆盐的耐受性结果

体外观察乳杆菌在低酸和高胆盐浓度条件下的存活情况，结果见表 2，四株乳杆菌在 pH 2.0 的条件下存活率在 0~17%之间，0.3%胆盐浓度下的存活率在 2~65%之间，其中 *L.casi* 142 和 *L.plantarum* 89 在低酸

和高胆盐的条件下均有较好的存活率，而 *L.plantarum*13 和 *L.plantarum* 27 则表现出强耐胆盐能力，但是其在低酸条件下不能很好的存活。LGG 在低酸和高胆盐条件下的存活率都比较低。这表明乳杆菌的耐酸耐胆盐性能存在菌株特异性。

表 1 乳杆菌在不同低酸条件下的生长情况[a]

Table 1 The growth of the *lactobacilli* strains in low pH

菌株	不同 pH 值培养液			
	2.0	3.0	4.0	6.2
L.plantarum 13	0.231±0.03	0.311±0.03	0.834±0.05	1.285±0.00
L. plantarum 27	0.212±0.05	0.236±0.02	0.699±0.00	1.245±0.00
L.plantarum 89	0.206±0.01	0.223±0.00	0.719±0.05	1.247±0.01
*L. casei*142	0.211±0.03	0.297±0.00	0.825±0.07	1.306±0.00
L. rhamnosus GG	0.203±0.04	0.189±0.02	0.787±0.11	1.259±0.00

注：[a]乳杆菌在不同低酸条件下培养 18h，测定其在 600 nm 波长下的吸光度值。

研究发现，人胃液的 pH 在 1~4 之间，因饮食结构不同而波动很大。食物通过胃的时间一般为 1~2 h[12]。十二指肠中胆盐的浓度在 0.03~0.3%之间。作为一种益生菌，其必须能耐受胃肠道的环境，以活菌的形态到达人体肠道，以便更好的发挥其益生功能。低酸环境可以抑制乳杆菌的代谢以及降低其生长和存活能力。一些研究证实乳杆菌暴露在 pH 2.0 的环境下 3 h 后，乳杆菌的生存能力显著降低[13]。本研究表明乳杆菌在 pH 2.0 的环境下培养 2 h 后其活菌数显著减少，基本与文献报道的相符合。*L. casei* 142 在低酸下的存活率高于其他菌株，达 17%，对低酸环境有很好的耐受性。评价乳杆菌对胆盐耐受性的过程中，发现这几株菌对 0.3%的胆盐均具有较好的耐受性。此结果与 Sahadeva[13]的研究结果相符合，在 pH 7.2 的条件下，乳杆菌能很好的耐受 0.3%的胆盐浓度。菌株 *L.plantarum* 89 和 *L.casi* 142 对胃酸和胆盐都有很好的耐受性，可以通过胃和十二指肠，以活菌形式进入宿主肠道发挥其有益功能。

表 2 乳杆菌在低 pH 和高浓度胆盐下的存活率

Table 2 Survival rate of the strains under the low pH and bile salts conditions

菌株	pH 2.0 的存活率/%	0.3%的胆盐存活率/%
L.plantarum 13	0.00±0.00	65.72±5.93*
L. plantarum 27	0.09±0.12	32.76±9.97
L.plantarum 89	4.26±2.00	41.66±16.49
*L. casei*142	17.00±2.36*	31.92±20.13
L. rhamnosus GG	0.39±0.38	2.03±0.04

注：*P<0.05 表示各菌株纵向比较差异显著。

2.3 乳杆菌抑制肠道致病菌的生长分析

乳杆菌在代谢过程中可以产生一些有机酸，如乙酸、丙酸、丁酸，它们降低了肠道的 pH，抑制致病菌的生长。同时乳杆菌还能产生一些抗菌肽、细菌素以及过氧化氢，对致病菌起杀菌作用。乳杆菌抑制致病菌的生长可以预防肠道炎症，维持肠道菌群的平衡，对宿主健康起重要的作用。本实验通过琼脂扩散法，观察乳杆菌对不同致病菌的抑制圈的大小，以 MRS（pH 6.2）为对照。

表 3 五株乳杆菌的抑菌实验结果

Table 3 Antimicrobial activity of the five strains on pathogens

菌株	*Listeria monocytogenes*	*Escherichia coli*	*shigella sonnei*
L.plantarum 13	+	+	+
L. plantarum 27	+	+	+
L.plantarum 89	++	+	+
*L. casei*142	+	++	+
L. rhamnosus GG	+	+	-

注：抑菌圈直径（mm）：>10：++抑菌作用强；6~10：+抑菌作用中等；<6：-无抑菌作用。

从表 3 可以看出四株乳杆菌的发酵上清对 *E.coli*、*L.monocytogenes* EGDe2、*S.sonnei* ATCC 51371 均有抑制效果。其中 *L.plantarum* 89 能显著抑制 *L.monocytogenes* EGDe2 的生长，*L. plantarum* 142 则对 *E.coli* 的抑制效果比较显著。本研究发现 LGG 对 *E.coli* 有较好的抑制效果，对 *L.monocytogenes* 和 *S.sonnei* ATCC 51371 的抑制效果较差，并且四株乳杆菌的抑菌性能都比 LGG 的抑菌能力强。Ehrmann 等报道有机酸是乳酸菌抑制有害肠道菌的主要因素[14]。乳杆菌产生有机酸使肠道 pH 下降，抑制致病菌的生长。双歧杆菌代谢产生的醋酸通过调节肠上皮细胞增强肠道防御功能，阻止侵袭性病原菌的入侵，维持肠道中正常菌群的平衡[15]。菌株 *L.plantarum* WS4 174 和 LB279 产生的短链脂肪酸和细菌素，抑制了 *E.coli* 和 *L.monocytogenes* 生长[16]。测定本研究中几株乳杆

菌发酵液的 pH 值，在 3.7~4.0 之间，同时将乳杆菌发酵液 pH 调节为 6.2 时，其抑制性能消失，因此初步推测乳杆菌在发酵过程中产生的有机酸抑制了致病菌的生长，但是具体是哪几种有机酸还需进一步的研究。

2.4 乳杆菌的抗生素敏感性实验

益生菌筛选的其中一个标准就是不存在抗生素抗性，避免将抗生素抗性基因传递到肠道微生物中的风险[17]。本文测定了四株乳杆菌和菌株 LGG 对阿莫西林克拉维酸、头孢菌素、利福平、红霉素和氯霉素的耐受性，发现五株菌对 5 种抗生素表现出不同的敏感性，其中五株菌对红霉素均表现为中度敏感，*L.plantarum* 27 和 *L.plantarum* 89 对利福平存在一定的抗性，*L.plantarum* 13 和 *L.casei* 142 则对利福平表现为中度敏感。其余的都表现出高度敏感效果。表明不同菌株对抗生素的敏感性具有菌株特异性，其中菌株 *L.plantarum* 13 和 *L. casei* 142 对五种抗生素都不存在抗性。

表 4 乳杆菌对抗生素的敏感性结果

Table 4 Antibiotic resistance of five *lactobacillis*

菌株	阿莫西林克拉维酸	头孢菌素	利福平	红霉素	氯霉素
L.plantarum 13	22.72(S)	21.36(S)	17.13(I)	20.33(I)	23.86(S)
L. plantarum 27	23.45(S)	18.95(S)	15.42(R)	16.85(I)	19.13(S)
L.plantarum 89	25.52(S)	22.09(S)	15.81(R)	19.24(I)	22.12(S)
*L. casei*142	27.21(S)	25.62(S)	19.91(I)	20.09(I)	19.91(S)
L. rhamnosus GG	25.54(S)	20.20(S)	22.50(S)	21.64(I)	19.20(S)

注：S 表示高度敏感；I 表示中度敏感；R 表示存在抗性。

2.5 乳杆菌的粘附性

研究乳杆菌在 Caco-2 细胞上的粘附性，结果见表 5。菌株间粘附性存在较大的差异，其中 *L. plantarum* 27 的粘附性为 53 cfu/cell，*L. plantarum* 13 和 *L. plantarum* 89 的粘附性分别为 24 和 30 cfu/cell，它们的粘附能力均高于 LGG（8 cfu/cell），而 *L. casei* 142 的粘附性为 0 cfu/cell，基本没有粘附性能。

表 5 乳杆菌对 Caco-2 细胞的粘附性

Table 5 Adhesion of *Lactobacillus* to Caco-2 cells

菌株	粘附性/(cfu/cell)
L.plantarum 13	24.77±3.37
L. plantarum 27	53.73±8.02*
L.plantarum 89	30±1.89
*L. casei*142	0±0
L. rhamnosus GG	8.35±0.42

注：*P＜0.05 表示各菌株纵向比较差异显著。

乳杆菌在肠道中的定植是其发挥益生功能的前提和基础。已有一些学者研究了乳杆菌体外粘附性和体内定植能力之间的相关性[18~19]。由于体内实验进行的难度大，常用体外粘附实验来指示乳杆菌在肠道中的定植能力。本文应用了 Caco-2 细胞模型来研究五株乳杆菌的粘附性。其中 *L. plantarum* 13，*L. plantarum* 27，*L. plantarum* 89 和 LGG 都表现出对 Caco-2 细胞的粘附性，*L. plantarum* 27 具有极强粘附性，*L. plantarum* 13 和 *L. plantarum* 89 也具有较好的粘附性，且在本实验条件下，其粘附性能均比 LGG 强。对 Caco-2 细胞粘附性较强的乳杆菌，在肠道中的定植能力也较好，可以更好的发挥其对宿主的益生作用。乳杆菌粘附到肠上皮细胞后，在肠道中定植，代谢产生有机酸，降低肠道 pH，形成不利于致病菌生长的微环境，从而抑制或杀死致病菌。同时与致病菌竞争粘附位点和营养物质，抑制致病菌在肠道中的定植和生长，维持肠道菌群平衡，因此菌株的粘附性是筛选益生菌的一个重要指标。本研究中 *L. casei* 142 对 Caco-2 细胞不具有粘附性，初步认为其在肠道中的定植能力较弱，在肠道中发挥的有益作用不如其他菌株。

3 结论

本文主要探讨四株乳杆菌是否具有潜在的益生功能，研究了菌株的耐酸耐胆盐性质，抑菌性能，对抗生素的敏感性以及对 Caco-2 细胞的粘附性。结果表明：菌株 *L.plantarum* 89，*L.casei*142 具有很好的耐酸耐胆盐性能，且它们的发酵上清对致病菌生长的抑制效果较好，*L.plantarum* 89 对 Caco-2 细胞的粘附性强，然而 *L.casei* 142 对 Caco-2 细胞不具有粘附性。其中菌株 *L.plantarum* 13，*L.plantarum* 27 能耐受高浓度的胆盐环境，对致病菌也有很好的抑制作用，且它们能很好的粘附在 Caco-2 细胞上，但是对低酸环境的耐受性较差。同时这四株菌对实验用抗生素素敏感，敏感程度具有菌株特异性。因此认为菌株 *L.plantarum* 89 具有潜在的益生功能，但还需要进一步的动物实验加以验证。

参考文献

[1] Araya M, Morelli L, Reid G, et al. Guidelines for the evaluation of probiotics in food [J]. Report of a Joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, London, Ontario, Canada, 2002

[2] 王海波,马微,钱程,等.益生菌的研究现状及发展趋势[J].现代食品科技,2006,22(3):286-288

[3] Lindgren S E, Dobrogosz W J. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations [J]. FEMS

Microbiology Letters, 1990, 87(1): 149-63

[4] Kim M, Lee S J, Seul K J, et al. Characterization of antimicrobial substance produced by Lactobacillus paraplantarum KNUC25 isolated from Kimchi [J]. Korean Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 37:24-32

[5] Gueimonde M, Jalonen L, He F, et al. Adhesion and competitive inhibition and displacement of human enteropathogens by selected lactobacilli [J]. Food research international, 2006, 39(4): 467-71

[6] Collado M C, Meriluoto J, Salminen S. Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains [J]. European Food Research and Technology, 2008, 226(5): 1065-73

[7] Darilmaz D O, Beyatli Y. Acid-bile, antibiotic resistance and inhibitory properties of propionibacteria isolated from Turkish traditional home-made cheeses [J]. Anaerobe, 2011,18: 122-127

[8] Liong M, Shah N. Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of lactobacilli strains [J]. Journal of dairy science, 2005, 88(1): 55-66

[9] Jara S, Sanchez M, Vera R, et al. The inhibitory activity of Lactobacillus spp. isolated from breast milk on gastrointestinal pathogenic bacteria of nosocomial origin [J]. Anaerobe, 2011, 17: 474-477

[10] KiLi G B, Karahan A G. Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from the Fecal Samples of Healthy Humans and Patients with Dyspepsia, and Determination of Their pH, Bile, and Antibiotic Tolerance Properties [J]. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 2010, 18(4): 220-9

[11] Nueno-Palop C, Narbad A. Probiotic assessment of Enterococcus faecalis CP58 isolated from human gut [J]. International journal of food microbiology, 2011, 145: 390-394

[12] Guo X H, Kim J M, Nam H M, et al. Screening lactic acid bacteria from swine origins for multistrain probiotics based on in vitro functional properties [J]. Anaerobe, 2010, 16(4): 321-6

[13] Sahadeva R, Leong S, Chua K, et al. Survival of commercial probiotic strains to pH and bile [J]. International Food Research Journal, 2011, 18(4): 1515-22

[14] Ehrmann M, Kurzak P, Bauer J, et al. Characterization of lactobacilli towards their use as probiotic adjuncts in poultry [J]. Journal of applied microbiology, 2002, 92(5): 966-75

[15] Fukuda S, Toh H, Hase K, et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate [J]. Nature, 2011, 469(7331): 543-7

[16] Aguilar C, Vanegas C, Klotz B. Antagonistic effect of Lactobacillus strains against Escherichia coli and Listeria monocytogenes in milk [J]. J Dairy Res, 2010, 78: 1-8

[17] 贡汉生, 孟祥晨.益生菌的安全性评价[J].现在食品科技, 2005,21(4):76-79

[18] Castagliuolo I, Galeazzi F, Ferrari S, et al. Beneficial effect of auto - aggregating Lactobacillus crispatus on experimentally induced colitis in mice [J]. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2006, 43(2): 197-204

[19] Cesena C, Morelli L, Alander M, et al. Lactobacillus crispatus and its Nonaggregating Mutant in Human Colonization Trials [J]. Journal of dairy science, 2001, 84(5): 1001-1010