

口腔乳酸杆菌的分离及其益生特性

杨娟, 堵国成, 陈坚, 方芳*

工业生物技术教育部重点实验室, 江南大学生物工程学院, 无锡 214122

摘要: 【目的】从口腔环境中筛选具有潜在益生特性的乳酸杆菌, 用于防治口腔疾病的益生菌疗法。【方法】利用选择性培养基从健康志愿者的唾液和牙菌斑样品中筛选得到乳酸杆菌, 然后验证他们对龋齿致病菌变异链球菌生长的抑制作用。同时考察分离得到的微生物是否具有可以定植或在口腔环境中生存的特性。【结果】本研究从牙菌斑样品中分离得到一株发酵乳杆菌 Y29。该菌能够抑制变异链球菌的生长, 并有自聚集和与其他口腔微生物共聚集形成生物膜的能力。此外, 发酵乳杆菌 Y29 可耐受 1.0 mg/mL 溶菌酶和 140 $\mu\text{g/g}$ 过氧化氢, 有利于其在可能含有多种抑菌物质的口腔动态环境中生存。【结论】发酵乳杆菌 Y29 在防治龋齿和保证口腔健康方面具有潜在的益生特性。

关键词: 发酵乳杆菌, 抑菌活性, 胞外多糖, 益生菌, 口腔健康

中图分类号: Q935 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2013)04-0403-06

人体口腔环境是一个多种微生物集合的群体, 这些微生物通过共生竞争拮抗等作用, 构成了复杂的生态系统^[1]。某些致病菌或对口腔健康不利的微生物在口腔中的过量生长往往会导致口腔疾病如龋齿、牙周炎和口臭的发生^[2]。长期服用抗生素的治疗方式不仅会破坏口腔生态系统的平衡, 同时也加剧了细菌耐药性问题的严重性^[3]。随着益生菌疗法在防治胃肠道感染疾病方面的优势越来越明显, 这种治疗方式也逐渐应用到口腔医学领域^[4-5]。益生菌疗法不仅可以通过不同的机制抑制致病菌的生长, 同时还能维持正常的口腔微生态菌群, 保障口腔健康。Caglar 等研究表明, 在 3 周内连续饮用含有罗伊氏乳杆菌的水或口服罗伊氏乳杆菌片剂均能够有效的减少试验对象唾液中的龋齿致病菌变异链球菌的数量, 进而

降低龋病的发生率^[6]。此外, 口腔中定植的乳杆菌还能够抑制牙周炎致病菌牙龈卟啉单胞菌和中间普雷沃菌的生长^[7]。

对于可以适用于口腔健康的益生菌, 需要具备的首要生物特性是能够抑制龋齿致病菌变异链球菌菌株的生长^[8], 从而可以在一定程度上降低龋病的发生率。其次, 口腔益生菌还应具有一定的合成胞外多糖的能力, 有助于口腔益生菌的自聚集或与其他口腔微生物^[9]在口腔中共聚集形成生物膜^[10-11]。此外, 根据口腔益生菌所处的口腔微环境, 也对其耐受溶菌酶、过氧化氢和服用药剂残留的抗生素的能力有一定要求。因此, 从口腔环境中筛选出具有益生特性的乳酸杆菌, 可以为益生菌疗法应用于防治口腔疾病方面提供实施的可能。

* 通信作者。Tel: +86-510-85918307; Fax: +86-510-85918309; E-mail: ffang@jiangnan.edu.cn

作者简介: 杨娟 (1988 -), 女, 江苏扬州人, 硕士研究生, 主要研究方向为人体益生菌。E-mail: wwwyangjie3436@126.com

收稿日期: 2012-10-31; 修回日期: 2012-12-07

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试验对象:唾液和牙菌斑样品的收集在无锡第二人民医院进行。样品分别取自口腔健康、3个月内没有服用抗生素、平均年龄24岁左右的志愿者。唾液样品取自通过咀嚼口香糖产生的刺激性唾液,牙菌斑样品为志愿者口腔不同位置所刮取的牙菌斑。样品获得后,添加终浓度为20%的甘油,保存于-80℃超低温冰箱。

1.1.2 菌种:发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*) Y29,分离自口腔健康志愿者的牙菌斑样品。谷氨酸棒状杆菌(*Corynebacterium glutamicum*) ATCC13032,实验室保藏菌株。空肠弯曲杆菌(*Campylobacter jejuni*) NTTC11168由爱尔兰国立科克大学 Paul O'Toole 教授惠赠。变异链球菌(*Streptococcus mutans*) CGMCC 1.2499 购于中国普通微生物菌种保藏管理中心。

1.1.3 试剂和培养基:MRS培养基和BHI培养基购于英国OXOID公司。LB培养基(W/V):NaCl 1%,蛋白胨1%,酵母膏0.5%。

1.2 乳酸杆菌的分离

将唾液和牙菌斑样品稀释后涂布到MRS(pH 5.5)固体培养基上,于37℃(5% CO₂)培养24 h。然后挑取圆形边缘整齐且表面湿润光滑的菌落进行革兰氏染色。选取革兰氏阳性的杆菌进行分离纯化和抑制变异链球菌生长菌株的筛选^[12]。

1.3 具有抑制变异链球菌生长特性的乳酸杆菌的筛选

采用牛津杯法考察乳酸杆菌对变异链球菌生长的抑制,具体采用双层培养基,将1.5%(W/V)的琼脂培养基倒入平皿中,凝固后将无菌的牛津杯固定在适宜的位置,然后将0.7%(W/V)的BHI培养基与变异链球菌的混合物(10⁷CFU/mL)倾倒在底层培养基上。待凝固后取出牛津杯,在每个孔中加入100 μL待测菌株的发酵上清液。将上述平板在37℃(5% CO₂)的环境中培养过夜,根据抑菌圈的情况分析待测菌株对变异链球菌生长的抑制^[13-14]。最后提取可抑制变异链球菌生长的菌株的基因组DNA,用细菌16S rDNA通用引物(正向引物5'-3', AGAGTTTGATCCTGGCTCAG; 反向引物5'-3',

GGTTACCTTGTTACGACTT)进行扩增,然后对扩增产物进行测序。将测序得到的序列与NCBI数据库中16S rDNA基因核酸序列进行比对,取同源性大于95%的最高相似菌株所属菌种和属为待鉴定微生物的种和属。

1.4 细菌胞外多糖的分析

1.4.1 定性分析:将乳酸杆菌点种到添加10%(W/V)蔗糖的MRS固体培养基上,30℃静置培养2 d,用无菌牙签接触菌落并轻轻向外拉,观察拉丝情况。如菌落有拉丝说明该乳杆菌在培养过程中产胞外多糖,否则视为不产胞外多糖^[15]。

1.4.2 定量分析:将乳酸杆菌接种到添加10%(W/V)蔗糖的MRS液体培养基中,30℃培养48 h。取10 mL培养液,加入2 mL 80%(W/V)三氯乙酸,冰浴搅拌30 min。4℃、29000 × g离心20 min去菌体和蛋白,往上清液中加入3倍体积冰冻无水乙醇,4℃冷藏过夜,多糖呈絮状沉淀析出。4℃、28928 × g离心20 min,用10 mL蒸馏水溶解沉淀。采用苯酚-硫酸法测定胞外多糖的含量,以葡萄糖为标样制作标准曲线^[16]。

1.5 乳酸杆菌的分析

1.5.1 乳酸杆菌对溶菌酶的耐受性分析:采用牛津杯法考察乳酸杆菌对溶菌酶的耐受情况。下层培养基为1.5%(W/V)的琼脂,上层为0.7%(W/V)的MRS培养基与乳酸杆菌的混合物(10⁷CFU/mL)。利用牛津杯在上层培养基中打孔,然后在每个孔中加入100 μL的不同浓度的溶菌酶溶液(0.2-3.0 mg/mL)。将上述平板在37℃(5% CO₂)培养过夜,根据抑菌圈的情况分析乳酸杆菌对溶菌酶的耐受性^[17]。

1.5.2 乳酸杆菌对过氧化氢的耐受性分析:在96孔培养板中加入MRS培养基,再分别添加不同浓度的过氧化氢溶液使得终浓度分别为20、40、60、80、100、140和180 μg/g。将乳酸杆菌培养物以5%(V/V)的接种量接种到96孔培养板中,37℃(5% CO₂)培养24 h,根据乳酸杆菌的生长情况判断乳酸杆菌对过氧化氢的耐受性^[18]。

1.5.3 乳酸杆菌对抗生素的敏感性分析:在96孔培养板中加入MRS培养基,再分别添加不同浓度的氨苄青霉素、氯霉素、四环素、卡那霉素和链霉素。将乳酸杆菌培养物以10%(V/V)的接种量接种到96孔培养板中,37℃(5% CO₂)培养24 h。根据乳杆菌的

生长情况判断乳酸杆菌对不同抗生素的敏感性^[19]。

1.6 乳酸杆菌的相关分析

1.6.1 乳酸杆菌及口腔微生物的自聚集能力分析^[20]:将乳酸杆菌、变异链球菌、空肠弯曲杆菌和谷氨酸棒状杆菌分别接种到 MRS、BHI、BHI 和 LB 的液体培养基中,37℃ 过夜培养,3000 × g 离心 15 min 后收集菌体,用磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) 清洗 2 次后将沉淀重悬到 OD_{600} 值为 0.60 ± 0.02 , 准确记录吸光值 (A_0)。在 24 孔板中每孔添加 1 mL 菌悬液,37℃ (5% CO_2) 环境下培养,每隔 1 h 测定上清液的在 600 nm 处的吸光值 (A_t),共计 3 h。利用下列公式^[21] 计算菌体自聚集能力:自聚集能力 = $(A_0 - A_t) / A_0 \times 100$ 。

1.6.2 乳酸杆菌与口腔微生物的共聚集能力分析^[20]:分别考察乳酸杆菌和三株口腔微生物变异链球菌、空肠弯曲杆菌和谷氨酸棒状杆菌的共聚集能力。将上述四株菌分别接种到对应的液体培养基中,37℃ 过夜培养,3000 × g 离心 15 min 后收集菌体,用磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) 清洗 2 次后将沉淀重悬到 OD_{600} 值为 0.60 ± 0.02 , 准确记录乳酸杆菌和口腔微生物的菌悬液的吸光值 (分别记为 A_x 和 A_y)。取调节后的乳酸杆菌和口腔微生物的菌悬液各 500 μ L, 混合后添加到 24 孔板中,37℃ (5% CO_2) 环境下培养,每隔 1 h 测定上清液的在 600 nm 处的吸光值 ($A_{(x+y)}$),共计 3 h。利用下列公式^[21] 计算乳酸杆菌和口腔微生物的共聚集能力:共聚集能力 = $[(A_x + A_y) - 2 \times A_{(x+y)}] / (A_x + A_y) \times 100$ 。

2 结果

2.1 具有潜在益生特性的口腔乳酸杆菌的筛选

通过在乳酸杆菌选择性培养基上培养来源于健

康志愿者的唾液和牙菌斑样品,一共分离得到 32 株革兰氏阳性杆菌。用牛津杯法检测的抑菌实验结果显示在添加有一株来源于牙菌斑样品的乳酸杆菌 Y29 培养物的上清液的孔周围出现明显抑菌圈,说明乳酸杆菌 Y29 在培养过程能分泌抑菌物质,从而抑制龋齿致病菌变异链球菌种的菌株的生长。经过 16S rDNA 序列分析和比对,确定乳酸杆菌 Y29 为发酵乳杆菌 (*Lactobacillus fermentum*)。

2.2 口腔乳酸杆菌的益生特性分析

2.2.1 口腔乳酸杆菌胞外多糖的含量分析:具有一定的胞外多糖合成能力的菌株,容易独立或与其他微生物在特定环境中共聚集形成生物膜进而在口腔环境中定植。将发酵乳杆菌 Y29 在添加有 10% (W/V) 蔗糖的 MRS 固体培养基上 30℃ 静置培养 2 d 后,发酵乳杆菌 Y29 的菌落在外力作用下有拉丝出现,说明该菌在培养过程中产胞外多糖。此外,通过对发酵乳杆菌 Y29 培养液中游离的胞外多糖的分离提取及测定,发现它产游离胞外多糖含量为 125.56 mg/L。

2.2.2 口腔乳酸杆菌对抑菌物质的耐受能力分析:考察乳酸杆菌对溶菌酶耐受性的实验结果显示,0 - 1.0 mg/mL 的溶菌酶不影响发酵乳杆菌 Y29 的生长。发酵乳杆菌 Y29 可耐受溶菌酶的浓度,远远高于人体唾液中溶菌酶的含量 (1 - 57 μ g/mL)^[22]。此外,研究发现发酵乳杆菌 Y29 在添加 0 - 140 μ g/g 过氧化氢的培养基中能生长,而当过氧化氢浓度达到 180 μ g/g 时,发酵乳杆菌 Y29 表现为不生长。在考察发酵乳杆菌 Y29 对各种口服抗生素的耐受能力时发现,发酵乳杆菌 Y29 仅对卡那霉素和链霉素表现出耐受性,而对氨苄青霉素、氯霉素和四环素表现出敏感特性 (表 1)。

表 1. 发酵乳杆菌 Y29 对抑菌物质的耐受性

Table 1. The tolerance of *L. fermentum* Y29 to antimicrobial substances

Antimicrobial substance	Lysozyme	Hydrogen peroxide	Ampicillin	Chloramphenicol	Tetracycline	Kanamycin	Streptomycin
Tolerance	1.0 mg/mL	140 μ g/g	0 μ g/mL	1 μ g/mL	4 μ g/mL	64 μ g/mL	64 μ g/mL

2.2.3 口腔乳酸杆菌和其他口腔微生物的聚集能力分析:具有潜在益生特性的发酵乳杆菌 Y29、龋齿致病菌变异链球菌种的菌株以及两株口腔微生物空肠弯曲杆菌和谷氨酸棒状杆菌的自聚集能力及上述 3 株口腔微生物与发酵乳杆菌 Y29 的共聚集能力如

图 1 所示。结果显示随着培养时间的延长,四株菌的自聚集能力逐渐增强。同时通过比较相同培养时间下的 4 株菌的自聚集能力可以发现,变异链球菌的自聚集能力最强,高于发酵乳杆菌 Y29 和两株口腔微生物。变异链球菌种的菌株这种较强的自聚集

能力是造成口腔龋齿的因素之一。对于发酵乳杆菌 Y29, 它的自聚集能力强于空肠弯曲杆菌和谷氨酸棒状杆菌, 说明发酵乳杆菌 Y29 同这两种口腔微生物相比, 具有在口腔环境中快速的繁殖与生存的优势。此外, 将三株菌各自与发酵乳杆菌 Y29 的共聚集能力和它们自身的聚集能力进行比较时发现, 发酵乳杆菌 Y29 能够与龋齿致病菌变异链球菌种菌

株发生共聚集, 并且在一定程度上减少了变异链球菌种菌株的自聚集。而对于空肠弯曲杆菌和谷氨酸棒状杆菌, 在它们各自与发酵乳杆菌 Y29 发生共聚后, 对应菌株的聚集能力有所上升, 说明发酵乳杆菌 Y29 容易与某些口腔微生物共聚集, 从而达到在口腔环境中繁殖生存的目的。

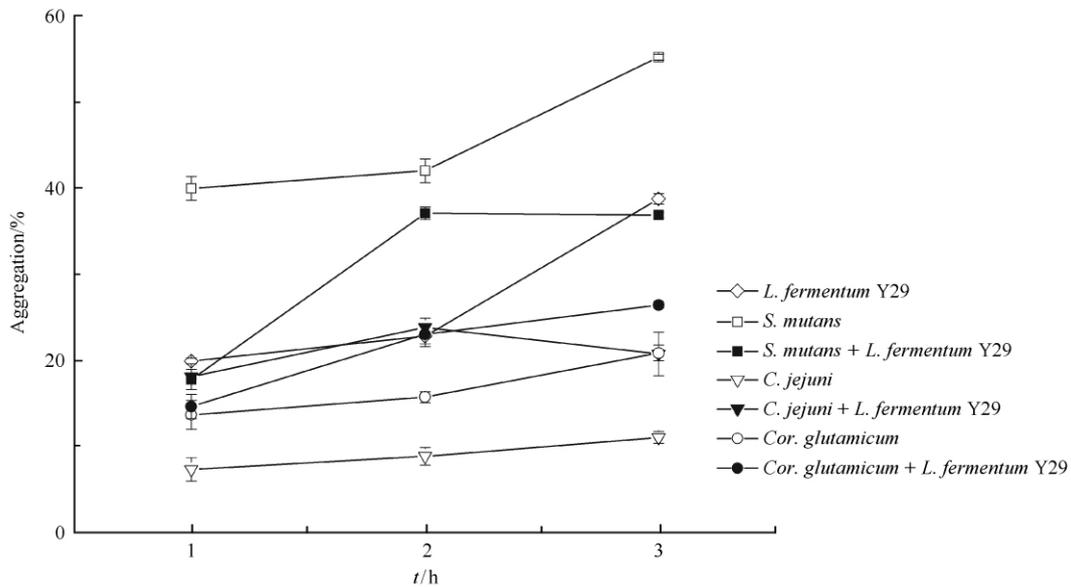


图 1. 发酵乳杆菌 Y29 的自聚集能力及共聚集能力评价

Figure 1. The auto-aggregations and co-aggregations of *L. fermentum* Y29 with other bacteria.

3 讨论

随着抗生素耐药性问题的加剧, 益生菌疗法为防治龋齿等口腔疾病方面提供了新的诊治方式。目前国外在应用益生菌疗法方面已有一些研究和尝试, 而国内在这方面开展的工作较少。本研究从健康人群的牙菌斑样品中筛选出一株具有潜在益生性的发酵乳杆菌 Y29。该菌能够抑制龋齿致病菌变异链球菌种的菌株的生长, 从而有可能在一定程度上降低龋病的发生率。菌株的聚集能力也是一个衡量是否可以作为口腔益生菌的条件, 它包括菌株的自我聚集的能力和不同菌株间的共聚集能力。其中自我聚集能力有助于菌株在口腔环境中快速的繁殖与生存。对于口腔益生菌而言, 菌株的自我聚集能力越高, 该菌株越容易在口腔环境中的繁殖与生存, 而对一些可能引起口腔疾病的微生物, 则希望它们的自我聚集的能力偏弱。此外, 口腔乳酸杆菌还可以通过

口腔中其他微生物共聚集形成生物膜的方式达到在口腔中繁殖生存的目的。发酵乳杆菌 Y29 在培养过程中可以产生的胞外多糖, 这有利于它在口腔中的自我聚集及与其他口腔微生物共聚集形成生物膜。在对几株微生物聚集能力的评价中发现, 发酵乳杆菌 Y29 表现出高于空肠弯曲杆菌和谷氨酸棒状杆菌等口腔微生物的自我聚集能力及与它们之间相互作用所形成的较强的共聚能力。这个特性有助于菌株较短的停留时间内在口腔中进行自我繁殖与生存^[23]。不仅如此, 发酵乳杆菌 Y29 能够与龋齿致病菌变异链球菌种的菌株形成共聚集, 并且降低变异链球菌种菌株的自聚集, 可以在一定程度上降低龋齿的发生率。此外, 发酵乳杆菌 Y29 对口腔微环境中长期存在的溶菌酶和过氧化氢有一定的耐受性, 具有在恶劣口腔环境中存活的能力。因此, 对这株具有潜在益生性的发酵乳杆菌 Y29 的分离和特性研究, 为益生菌疗法在防治口腔疾病和保障口腔健康提供了实施的可能性。虽然乳酸菌用于保持口腔

健康有很多有利方面,但是这类微生物是产酸菌,由于他们在口腔的定植和长期存在产生的乳酸可能会导致牙齿脱矿及龋齿的产生。因此,应用这类微生物作为口腔益生菌有一定的局限性。合适的口腔益生菌不应为强的产酸者,或者不应为定植微生物。因此后续研究应确定发酵乳杆菌 Y29 在口腔中的定植情况和评价模拟条件下对牙釉质的损伤情况。此外,不同于其他以乳制品制品和口服片剂为载体的益生菌产品,口腔益生菌可以以牙膏、漱口水或口香糖等介质为赋予益生特性的载体,从而减少因乳酸引起的牙齿脱矿和龋病的发生。

参考文献

- [1] Han Y, Hao Y, Zhang C, Lu J. The relationship in growth between *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and cariogenic bacteria *in vitro*. *Shanghai Journal of Stomatology*, 2008, 17 (5): 515-519. (in Chinese)
韩耀伦, 郝玉庆, 张朝良, 陆峻君. 伴放线放线杆菌与致龋菌生长关系的体外研究. *上海口腔医学*, 2008, 17 (5): 515-519.
- [2] Ma X, Yang J. Study on the imbalance of oral cavity microecology and oral malodor. *Chinese Journal of Microecology*, 2008, 20 (5): 480-482. (in Chinese)
马旭东, 杨景云. 口腔微生态失衡导致口腔异味的研究. *中国微生态学杂志*, 2008, 20 (5): 480-482.
- [3] Lee DK, Park SY, An HM, Kim JR, Kim MJ, Lee SW, Cha MK, Kim SA, Chung MJ, Lee KO, Ha NJ. Antimicrobial activity of *Bifidobacterium* spp. isolated from healthy adult Koreans against cariogenic microflora. *Archives of Oral Biology*, 2011, 56 (10): 1047-1054.
- [4] de Vrese M, Schrezenmeir J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, 2008, 111: 1-66.
- [5] Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *European Journal of Oral Sciences*, 2005, 113 (3): 188-196.
- [6] Caglar E, Cildir SK, Ergeneli S, Sandalli N, Twetman S. Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 by straws or tablets. *Acta Odontologica Scandinavica*, 2006, 64 (5): 314-318.
- [7] Koll-Klais P, Mandar R, Leibur E, Marcotte H, Hammarstrom L, Mikelsaar M. Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. *Oral Microbiology and Immunology*, 2005, 20 (6): 354-361.
- [8] Sookkhee S, Chulasiri M, Prachyabrued W. Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 2001, 90 (2): 172-179.
- [9] Keijsers B, Zaura E, Huse SM, van der Vossen JBM, Schuren FHJ, Montijn RC, ten Cate JM, Crielaard W. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *Journal of Dental Research*, 2008, 87 (11): 1016-1020.
- [10] Bahat-Samet E, Castro-Sowinski S, Okon Y. Arabinose content of extracellular polysaccharide plays a role in cell aggregation of *Azospirillum brasiliense*. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 237 (2): 195-203.
- [11] Walter J, Schwab C, Loach DM, Ganzle MG, Tannock GW. Glucosyltransferase A (GtfA) and inulosucrase (Inu) of *Lactobacillus reuteri* TMW1.106 contribute to cell aggregation, *in vitro* biofilm formation, and colonization of the mouse gastrointestinal tract. *Microbiology*, 2008, 154 (1): 72-80.
- [12] 凌代文, 东秀珠. 乳酸细菌分类鉴定及实验方法. 北京:中国轻工业出版社, 1999: 6-16.
- [13] Koo OK, Eggleton M, O'Bryan CA, Crandall PG, Rieke SC. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* on frankfurters formulated with and without lactate/diacetate. *Meat Science*, 2012, 92 (4): 533-537.
- [14] Tagg JR, McGiven AR. Assay system for bacteriocins. *Applied Microbiology*, 1971, 21 (5): 943.
- [15] Tian F, Ding H, Ding N, Zhao J, Zhang H, Chen W. Fast screening and identification of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria. *Food and Fermentation Industries*, 2008, 34 (3): 15-19. (in Chinese)
田丰伟, 丁虎生, 丁纳, 赵建新, 张灏, 陈卫. 产胞外多糖的乳酸菌的简便筛选与鉴定. *食品与发酵工业*, 2008, 34 (3): 15-19.
- [16] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术. 第2版. 杭州:浙江大学出版社, 1999: 11-12.
- [17] Köll P, Mandar R, Marcotte H, Leibur E, Mikelsaar M, Hammarström L. Characterization of oral lactobacilli as potential probiotics for oral health. *Oral Microbiology and Immunology*, 2008, 23 (2): 139-147.
- [18] Bartels HA, Blechman H, Pokowitz W. Failure to demonstrate the anti-lactobacillus factor with streptomycin-resistant lactobacilli. *Journal of Dental Research*, 1966, 45 (4): 1227.

- [19] Guglielmetti S, Taverniti V, Minuzzo M, Arioli S, Stuknyte M, Karp M, Mora D. Oral bacteria as potential probiotics for the pharyngeal mucosa. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76 (12): 3948–3958.
- [20] Gil NF, Martinez CR, Gomes BC, Nomizo A, De Martinis ECP. Vaginal lactobacilli as potential probiotics against *Candida* spp.. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2010, 41 (1): 6–14.
- [21] Shen S, Samaranayake L P, Yip H K. Coaggregation profiles of the microflora from root surface caries lesions. *Archives of Oral Biology*, 2005, 50 (1): 23–32.
- [22] Zhou J, Xu Y, Li X. The levels of lysozyme in saliva in the patients with oral candidosis. *Beijing Journal of Stomatology*, 2003, 11 (2): 97–103. (in Chinese)
周菊芬, 徐岩英, 李晓新. 口腔念珠菌病患者唾液溶菌酶水平的研究. *北京口腔医学*, 2003, 11 (2): 97–103.
- [23] Boris S, Suarez JE, Vazquez F, Barbes C. Adherence of human vaginal lactobacilli to vaginal epithelial cells and interaction with uropathogens. *Infection and Immunity*, 1998, 66 (5): 1985–1989.

Characterization of a probiotic *Lactobacillus* strain isolated from oral cavity

Juan Yang, Guocheng Du, Jian Chen, Fang Fang*

Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education; School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

Abstract: [Objective] From oral cavity we isolated and characterized probiotic lactobacilli that could probability be applied to therapy and prevention of oral diseases. [Methods] *Lactobacillus* strains were isolated by plating the saliva and dental plaque of healthy donors on selective medium. Then the target strains were tested for inhibiting the growth of a *Streptococcus mutans* strain belonging to cariogenic pathogen species. Other properties such as production of extracellular polysaccharide and resistance to the antibacterial substances were also investigated. [Results] *Lactobacillus fermentum* Y29, a strain with antimicrobial activity against *Streptococcus mutans*, was obtained from dental plaque. This strain was an extracellular polysaccharide producer, which corresponds to its aggregation ability. Moreover, *L. fermentum* Y29 showed resistance to 1.0 mg/mL lysozyme and 140 μ g/g hydrogen peroxide that may guarantee its persistence in the complex oral niche. [Conclusion] Probiotic properties were characterized of an oral isolate *L. fermentum* Y29, which provided a possibility for its application in prevention and treatment of oral diseases.

Keywords: *Lactobacillus fermentum*, antimicrobial activity, extracellular polysaccharide, probiotics, oral health

(本文责编:王晋芳)

* Corresponding author. Tel: +86-510-85918307; Fax: +86-510-85918309; E-mail: ffang@jiangnan.edu.cn

Received: 31 October 2012 / Revised: 7 December 2012