

布氏乳杆菌细菌素 BSX01 对金黄色葡萄球菌及其生物被膜形成的影响

江宇航^{1,2}, 周寰宇^{1,2}, 辛维岗^{1,2}, 徐美余^{1,2},
何秀^{1,2}, 张麒麟^{1,2}, 林连兵^{*1,2}

(1. 昆明理工大学 生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500; 2. 云南省高校饲用抗生素替代技术工程研究中心, 云南 昆明 650500)

摘要: 为评估布氏乳杆菌所产细菌素在食品工业中的应用潜力,通过培养布氏乳杆菌获得具有抑制金黄色葡萄球菌的抑菌活性物质,经纯化后鉴定其相对分子质量大小与抑菌特性,并对抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的形成进行探讨。结果发现,布氏乳杆菌在 37 °C MRS 培养基中培养至 20 h 后进入稳定期,在 26 h 时对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径达峰值,为 (26.36±0.86) mm。通过 ÄKTA pure 系统串联 Superdex 30 Increase 纯化后,鉴定得到抑菌活性物质(BSX01)的相对分子质量为 773.56,对多种蛋白酶敏感,推测为 I 类细菌素。在 pH 10(2 h)和 121 °C(30 min)处理后,BSX01 仍具有较好的抑菌活性,最小抑菌质量浓度(MIC)仅为 12.50 µg/mL。此外,BSX01 在 1/2 MIC 时可有效降低金黄色葡萄球菌生物被膜的形成,在 2 MIC 时能够完全抑制生物被膜的形成。基于上述结果,布氏乳杆菌产生的细菌素 BSX01 是食品工业中的潜在生物防腐剂和抑制食源性致病菌生物被膜形成的有效候选品。

关键词: 布氏乳杆菌;细菌素;金黄色葡萄球菌;抑菌特性;生物被膜

中图分类号:TS 201 文章编号:1673-1689(2023)11-0019-08 DOI:10.12441/spyswjs.20210419004

Effect of *Lactobacillus buchneri* Bacteriocin BSX01 on *Staphylococcus aureus* and Its Biofilm Formation

JIANG Yuhang^{1,2}, ZHOU Huanyu^{1,2}, XIN Weigang^{1,2}, XU Meiyu^{1,2},
HE Xiu^{1,2}, ZHANG Qilin^{1,2}, LIN Lianbing^{*1,2}

(1. School of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China;
2. Engineering Research Center of Alternative Feed Antibiotics Technology in Universities of Yunnan Province, Kunming 650500, China)

Abstract: This study aimed to evaluate the potential application of bacteriocins produced by *Lactobacillus buchneri* (*L. buchneri*) in the food industry. The substance with antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) was obtained through the cultivation of *L. buchneri*. After purification, its molecular weight and antibacterial characteristics were identified, and the inhibition

收稿日期: 2021-04-19 修回日期: 2021-07-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(31760042)。

* 通信作者: 林连兵(1969—),男,硕士,教授,博士研究生导师,主要从事噬菌体与肠道微生物研究。E-mail:linlb@kmust.edu.cn

of *S.aureus* biofilm formation was explored. The results showed that *L.buchneri* reached a stable period after cultivation in MRS medium at 37 °C for 20 h, and the diameter of inhibition zone against *S. aureus* reached the peak value of (26.36±0.86) mm at 26 h. After purification by ÄKTA pure system in tandem with Superdex 30 Increase, the molecular weight of the antibacterial active substance (BSX01) was identified as 773.56, which was sensitive to a variety of proteases and presumed to be a class I bacteriocin. BSX01 retained good inhibitory activity even after treatment at pH 10(2 h) and 121 °C(30 min), with a minimum inhibitory concentration(MIC) of only 12.50 µg/mL. In addition, BSX01 effectively reduced the formation of *S.aureus* biofilm at 1/2MIC, and completely inhibited the formation of *S.aureus* biofilm at 2MIC. Based on these results, the bacteriocin BSX01 produced by *L. buchneri* is demonstrated to be a potential bio-preservative and an effective candidate for inhibiting the formation of biofilm by foodborne pathogenic bacteria in the food industry.

Keywords: *Lactobacillus buchneri*, bacteriocin, *Staphylococcus aureus*, antibacterial characteristics, biofilm

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)属于革兰氏阳性球菌,是葡萄球菌属中的典型食源性致病菌代表,约有 20%~30%的人群携带此种病原菌^[1-2]。金黄色葡萄球菌污染食物后可通过食物处理者或食物表面感染人体或动物进而传播到整个食物链中,诱发皮炎、肺炎、骨髓炎和败血症等疾病发生,严重者可导致肌肉痉挛甚至休克^[2]。同时,金黄色葡萄球菌能够耐高温、耐高渗,对磺胺类药物具有很强的耐药性,这使得很难对金黄色葡萄球菌进行防控^[3-4]。金黄色葡萄球菌产生的主要毒素为肠毒素,其对大多数处理方法例如高温和低 pH 等具有相对较高的耐受性,进一步增加了食物中毒风险^[1,5]。此外,据欧洲食品安全局(EFSA)统计,欧洲 2017 年由金黄色葡萄球菌引起的食源性疾病事件有 27 起,造成了 352 人患病。我国 2011—2016 年食源性疾病预防监测数据分析表明,金黄色葡萄球菌引起的食源性疾病预防总次数为 314 次,疾病总数为 5 196 例,占细菌性食物中毒事件的 20%以上,仅次于副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)和沙门氏菌(*Salmonella*)^[6]。因此,找到有效方法减缓金黄色葡萄球菌污染造成的食品安全问题是十分重要的。

生物被膜是指细菌为了适应生存环境黏附于有生命或无生命戊糖的表面,产生多糖基质等胞外聚合物将其自身包围形成的大量细菌聚集膜样结构化群落,具有耐热和耐干燥等特性^[7-8]。细菌生物被膜形成的高密度结构使其在酸性和抗生素作用条件下也能很好生存,这严重阻碍了抗菌剂对细菌

的抑制和杀伤^[8-9]。当食品微生物形成生物被膜时,由于难以清洗和彻底去除,会出现餐厨设备表面破坏、传热效率低、能耗高等问题,这造成了极大的浪费^[9-10]。因此,如何有效清除生物被膜是食品工业面临的严峻考验^[11]。目前解决食源性致病菌形成生物被膜的相关研究主要集中在其形成能力和对环境耐受抗性等方面,关于借助微生物代谢产物抑制金黄色葡萄球菌等食源性致病菌形成的生物被膜研究较少。

布氏乳杆菌(*Lactobacillus buchneri*)是乳酸菌属中的一种,在食品发酵时具有增加有氧稳定性、提升发酵香味及抑制其他病原菌生长的效果^[12-13]。同时,乳酸菌属的部分细菌在生长过程中能够代谢生成抑菌活性物质,可有效抑制或杀灭多种致病性细菌,具有高效、无耐药性、无毒、无残留等优点^[14]。目前对乳酸杆菌细菌素作用于以金黄色葡萄球菌为代表的食源性致病菌及其对生物被膜形成的影响研究较少,这严重限制了乳酸杆菌细菌素在食品领域的应用范围^[14-15]。因此,作者在观测布氏乳杆菌生长及其抑制金黄色葡萄球菌活性的基础上,利用 ÄKTA 纯化系统串联 Superdex 30 Increase 及 MALDI-TOFMS,得到纯化后的布氏乳杆菌细菌素。进一步考察酶敏感性,对热、酸碱稳定性以及最小抑菌质量浓度等特性,并借助荧光倒置显微镜进一步评估了布氏乳杆菌细菌素对金黄色葡萄球菌生物被膜形成的影响,旨在为金黄色葡萄球菌及其生物被膜的清除提供一种高效的抑菌活性物。

1 材料与方法

1.1 实验材料

布氏乳杆菌分离自发酵豆粕,金黄色葡萄球菌分离自肉类加工制品,均由昆明理工大学生命科学与技术学院噬菌体与肠道微生物研究室保存。

1.2 主要试剂

MRS 培养基、LB 培养基:北京陆桥技术有限公司;磷酸盐缓冲液(PBS,pH 7.4):国药(上海)化学试剂有限公司;0.22 μm 滤膜:上海生工生物工程股份有限公司;胃蛋白酶、胰蛋白酶、蛋白酶 K、木瓜蛋白酶、过氧化氢酶:美国 Sigma 公司;BCA 试剂盒、ABP 试剂盒:上海贝博生物科技有限公司。

1.3 仪器与设备

Power Wave XS 微孔板扫描分光光度计:美国 BIO-TEK 有限公司;UV-900 AKTA 蛋白质纯化系统:瑞典 GE 公司;CHA-S 恒温振荡器:国华电器有限公司;CF16RXII 低温离心机、ES-2030 型冷冻干燥仪:日立(Hitachi)有限公司;PHSJ-3FpH 计:上海仪电科学仪器股份有限公司;荧光倒置显微镜:上海万衡精密仪器有限公司。

1.4 布氏乳杆菌的生长与抑制金黄色葡萄球菌活性曲线

将活化后的布氏乳杆菌以体积分数 3%接种于 500 mL 的 MRS 液体培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养,每 2 h(0~36 h)取发酵液 5 mL,以 MRS 培养基作空白对照,测定 OD_{600} 和 pH 值。同时,取发酵液 2 mL 于 8 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,经 0.22 μm 滤膜过滤去除菌体细胞^[16]。最后,以金黄色葡萄球菌为指示菌(10^7 CFU/mL),采用牛津杯双层平板法检测不同时间点的布氏乳杆菌细菌素(以下简称 BSX01)抑菌活性,每组设 3 个重复。

1.5 细菌素的提取与纯化

将布氏乳杆菌以体积分数 3%接种于 500 mL 的 MRS 液体培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、8 000 r/min 离心 10 min,收集上清液。用 0.22 μm 滤膜过滤去除菌体,将具有活性的无细胞上清液通过 AKTA pure 纯化系统,使用 Superdex 30 Increase 层析柱,平衡 2 个柱体积,在 pH 6.2 条件下洗脱,洗脱体积为 1.5 倍柱体积,280 nm 处检测细菌素含量,流量为 0.3 mL/min,每 0.5 mL 为一管进行收集,通过牛津杯双层平板法测定其抑菌活性。将多次初

步纯化得到的具有抑菌活性的收集液混合后,通过 Superdex 30 Increase 进行二次纯化,检测其抑菌活性^[6,16]。最后,将经过 2 次纯化得到的具有抑菌活性的收集液进行冷冻干燥,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

BSX01 的相对分子质量大小及蛋白质质量浓度的测定分别采用 MALDI-TOF MS 和 BCA 蛋白质检测试剂盒进行。细菌素相对分子质量大小测定:方法及流程参考文献[16],具体交由北京百派克生物科技有限公司进行;蛋白质质量浓度的测定:称取 1.0 mg 干粉溶于 1 mL ddH₂O 中,按照 BCA 蛋白质检测试剂盒^[6,17]说明绘制标准溶液曲线($y=1.062X+0.0163$, $R^2=0.9923$),计算每毫升溶液中的蛋白质质量,每个试样设置 3 组重复。

1.6 细菌素的酶敏感性

将上述纯化样品 pH 调至 7.0,加入过氧化氢酶和不同蛋白酶溶液(胃蛋白酶、胰蛋白酶、蛋白酶 K)使其终质量浓度为 1.0 mg/mL,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 2 h,然后于 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min 使蛋白酶活性丧失^[18]。以金黄色葡萄球菌为指示菌,利用牛津杯双层平板法检测不同酶溶液处理后的细菌素抑菌活性变化,记录抑菌圈直径。以未加酶溶液处理的 BSX01 作为对照,每个试样设置 3 组重复。

1.7 细菌素的热及酸碱稳定性测定

取上述纯化样品,分别按以下处理进行细菌的热及酸碱稳定性测定。37、60、80、100、121 $^{\circ}\text{C}$ 处理 30 min 后,自然冷却至室温;以 1 mol/L 的 HCl 或 NaOH 溶液调节 pH 至 2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0,分别置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 保温 2 h,调至 pH 6.5^[18-19]。采用牛津杯双层平板法检测经不同处理后的细菌素溶液对金黄色葡萄球菌的抑制能力,以未经处理的 BSX01 为对照,每个样品设置 3 组重复。

1.8 MIC 测定

BSX01 对金黄色葡萄球菌的 MIC 值按文献[6,20]的方法测定。将 BSX01 (1.0 mg/mL) 在无菌 PBS(pH 7.2)中连续稀释,并将 10 μL 稀释液与 90 μL 含金黄色葡萄球菌(10^7 CFU/mL)的 LB 培养基混合^[21]。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 h,在 600 nm 处测定吸光度,每组重复 3 次。MIC 定义为:BSX01 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 后未观察到指示菌菌株生长的最低质量浓度^[22]。每个样品设置 3 组重复。

1.9 细菌素对金黄色葡萄球菌生物被膜形成的影响

为观察细菌素对金黄色葡萄球菌生物被膜形

成的影响, 首先用终质量浓度分别为 0、1/2 MIC、1 MIC、2 MIC 的 BSX01 与 100 μL 金黄色葡萄球菌 (10^7 CFU/mL) 添加到 24 孔微量滴定板中, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下恒温孵育 30 h 后形成生物被膜。弃上清液以去除未附着金黄色葡萄球菌, 用 PBS 缓冲液 (pH 7.4) 洗涤微量滴定板上的多余残留, 得到金黄色葡萄球菌生物被膜。将金黄色葡萄球菌生物膜按照 ABP 试剂盒荧光成像检测的操作说明进行, 加入 1.0 μL 的 Nuc View Green 染料后在室温下对生物被膜染色 15 min, 弃染色液, 用 PBS 缓冲液 (pH 7.4) 洗涤 2 次以上, 去除游离的染色液, 置于荧光显微镜下观察金黄色葡萄球菌生物被膜形成情况^[7,23]。最后, 加入 100 μL PBS 缓冲液 (pH 7.4) 与各处理的金黄色葡萄球菌生物被膜混合后, 测 OD_{595} , 每个样品设置 3 组重复。

1.10 数据分析

所有测得的数据均包含 3 次生物学重复, 以平均值 \pm 标准差 (SD) 表示。利用 Microsoft Excel 2010 和 IBM SPSS 22.0 统计软件分别对数据进行整理分析。数据对间显著性检验利用 t 检验 (Student's t Test) 进行; 采用 One-Way ANOVA 进行单因素方差分析和最小显著差异法 (Least-Significant Difference, LSD) 测验差异显著性^[19], 显著性水平阈值 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 布氏乳杆菌生长与 BSX01 抑制金黄色葡萄球菌活性曲线

将布氏乳杆菌于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 36 h, 分阶段测定其在 600 nm 下的吸光值度、pH 值及对金黄色葡萄球菌的抑菌效果, 结果见图 1。布氏乳杆菌培养 2 h 后进入对数生长期, 在 20 h 达到峰值, 然后菌体数量逐渐平稳, 达到稳定期; 对金黄色葡萄球菌的抑菌效果从 4 h 就开始出现, 到 26 h 时达到峰值, 抑菌圈直径稳定在 (26.36 ± 0.86) mm; pH 随着时间的推移逐渐下降, 在 28 h 达到 3.5 ± 0.3 , 并持续保持平稳。表明布氏乳杆菌在生长初期就开始产生酸类物质, 随着 pH 值的下降菌体量逐渐上升, 说明有机酸是布氏乳杆菌在生长过程中产生的一种必要代谢产物。此外, BSX01 对金黄色葡萄球菌的抑菌作用随着菌体量的增加逐渐增加, 特别是在布氏乳杆菌进入稳定期前后, 其抑菌圈直径大幅增大, 说明

BSX01 可能是布氏乳杆菌在生长后期产生的一种重要次级代谢产物。

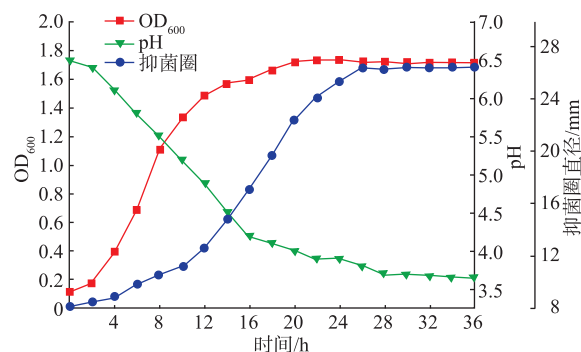


图 1 布氏乳杆菌的生长与 BSX01 拮抗活性曲线

Fig. 1 Curves of *Lactobacillus buchneri* growth and BSX01 antagonistic activity

2.2 BSX01 的提取及纯化

将具有抑菌活性的布氏乳杆菌上清液经 Superdex 30 Increase 分离纯化后, 得到 A1~A7 多个洗脱峰, 见图 2。经过牛津杯双层法检测后, A3、A4 洗脱峰对应的收集液具有明显的抑菌活性, 再将其进一步纯化上样后得洗脱峰 B1、B2, 检测后发现 B2 洗脱峰的抑菌圈直径明显优于 B1 洗脱峰, 因此收集 B2 洗脱峰对应的洗脱液进行后续实验。将 B2 洗脱液经冷冻干燥处理, 通过 MALDI-TOF MS 分析发现, 布氏乳杆菌代谢产生的主要抑菌活性物质的相对分子质量大小为 773.56, 这与马国涵等^[24]和 Li 等^[6]在大菱鲆和肉鸡肠道中发现的乳杆菌产生的抑菌活性物质的相对分子质量大小相似, 推测同为 I 类细菌素。因此, 布氏乳杆菌产生的抑菌活性物质可能是一类具有高抑菌活性的小分子多肽或小分子蛋白质。

2.3 BSX01 的酶敏感性

为进一步确定布氏乳杆菌产生的抑菌活性物质是一种蛋白质类细菌素, 作者首先用过氧化氢酶对 BSX01 进行处理, 发现其抑菌圈直径与对照相比未发生显著下降 ($P > 0.05$), 初步说明过氧化氢不是主要的抑菌活性物质。利用蛋白酶 K、胰蛋白酶和胃蛋白酶分别对 BSX01 进行处理, 结果发现 BSX01 经蛋白酶 K、胰蛋白酶和胃蛋白酶处理后, 抑菌圈直径与对照相比发生了显著下降 ($P < 0.05$), 尤其是经蛋白酶 K 处理后, 抑菌圈直径下降最为明显, 仅为 (9.83 ± 0.32) mm, 见图 3。结果说明布氏乳杆菌产生的 BSX01 对蛋白酶敏感, 存在着类蛋白质性质^[18,25],

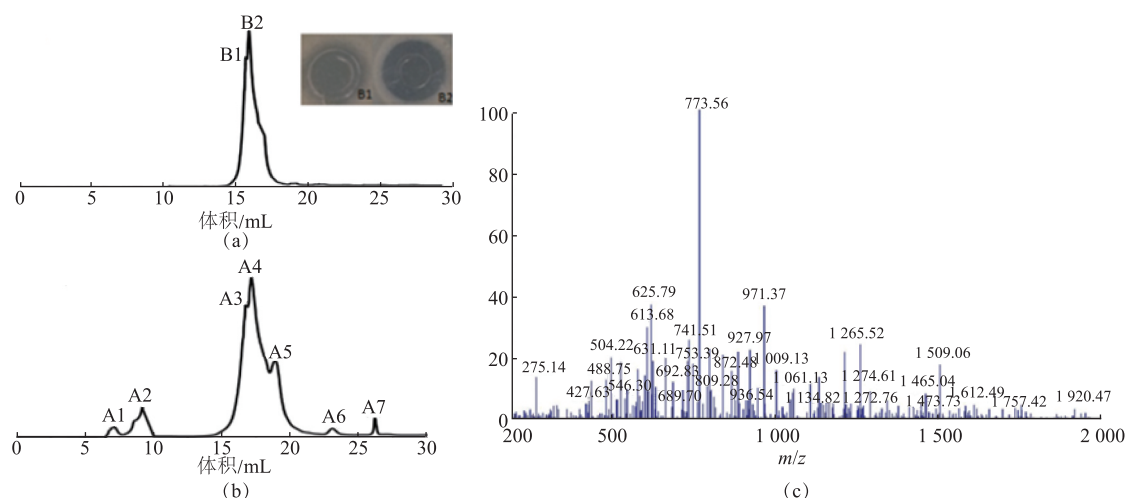
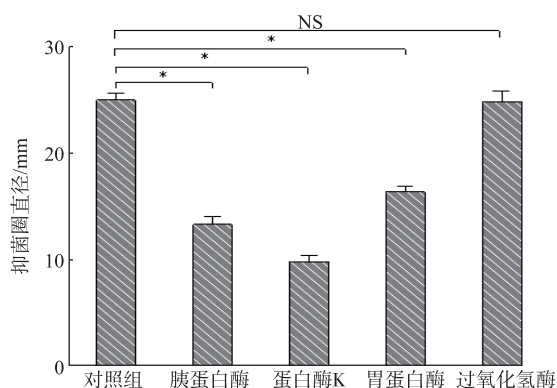


图 2 BSX01 的纯化与质谱图

Fig. 2 Purification and mass spectrum of BSX01

进一步证实了布氏乳杆菌细菌素 BSX01 为 I 类细菌素。



* 代表 $P < 0.05$, NS 代表无显著差异。

图 3 BSX01 的酶敏感性

Fig. 3 Enzyme sensitivity of BSX01

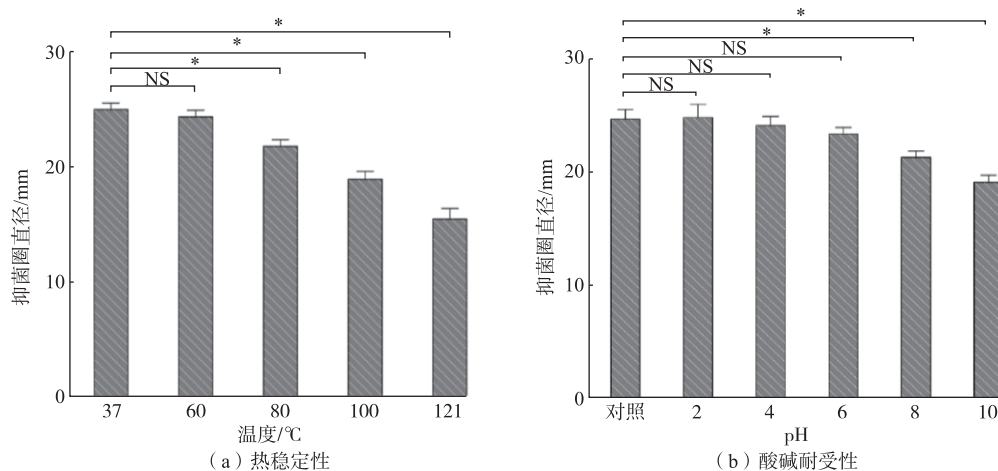
2.4 BSX01 的热及酸碱稳定性

细菌素抑菌活性的高低仅代表该细菌素有较好的抑菌效果,然而实际应用中细菌素的稳定性也是影响工业化生产的重要因素。对 BSX01 进行酸碱耐受与热稳定性测试,结果发现在过酸(pH 2.0)和过碱(pH 10.0)处理后,BSX01 仍保持一定的抑菌活性。随着 pH 值的上升,对金黄色葡萄球菌的抑菌活性逐渐下降,在 pH 10.0 时抑菌圈直径最低,为 (19.07 ± 0.64) mm。但在 pH 10 时,BSX01 仍保持 77.5% 的抑菌活性,较同类研究^[16,18]中经过相同处理后的抑菌活性更高,这说明 BSX01 在耐碱方面具有良好的耐受能力。同时,BSX01 在 37~121 °C 处理 30 min 后,随着温度的升高抑菌圈活性逐渐下降,

且在高温区段(80、100、121 °C)中抑菌活性损失较大,在 80 °C 时仅保留 76.0% 的抑菌活性。但 121 °C 加热 30 min 后,抑菌活性也仅损失了不到 40%,说明虽然 BSX01 在高温处理后抑菌活性会有所损失,但仍然能够保留较高的抑菌活性,显示出较宽的温度应用范围^[19],见图 4。

2.5 BSX01 的 MIC 及对金黄色葡萄球菌生物被膜形成的抑制作用

最小抑菌浓度对于细菌素实际应用具有重要的意义。通过将不同质量浓度纯化后的 BSX01 作用于金黄色葡萄球菌,确定得到最小抑菌质量浓度仅为 12.50 $\mu\text{g/mL}$,这与目前部分研究中抑制金黄色葡萄球菌的最小抑菌质量浓度一致^[6,21]。分别用 0、1/2MIC、1MIC、2MIC 的 BSX01 处理金黄色葡萄球菌,在 37 °C 培养 30 h 后通过荧光倒置显微镜进行观察,发现随着细菌素质量浓度的增加,生物被膜形成的密度逐渐下降,在 1/2MIC 的 BSX01 处理后,其生物被膜形成的密度较对照发生了较大幅度下降;当以 1MIC 的布氏乳杆菌细菌素处理后,生物被膜形成的密度较对照相比仅有稀疏的金黄色葡萄球菌菌体出现;以 2MIC 的 BSX01 处理后,几乎无肉眼可见的生物被膜形成,这说明 BSX01 质量浓度的提高能够有效抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的形成,且仅需要较低质量浓度的 BSX01。此外,600 nm 下的吸光度分别为 1.23 ± 0.14 、 0.66 ± 0.18 、 0.38 ± 0.29 和 0.23 ± 0.06 ,进一步证明了获得的 BSX01 以低浓度就能够有效抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的形成^[23]。



* 代表 $P < 0.05$, NS 代表无显著差异。

图 4 BSX01 的热稳定性与酸碱耐受性

Fig. 4 Thermal stability and acid-base tolerance of BSX01

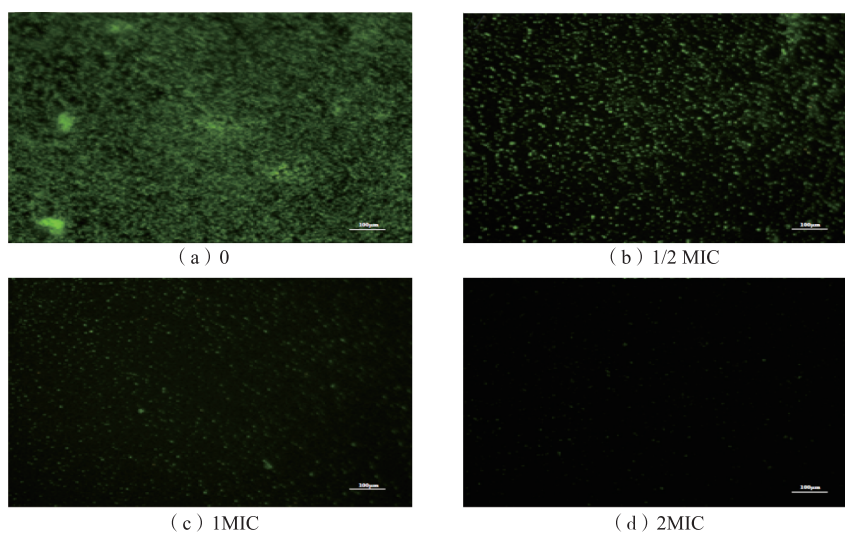


图 5 不同 MIC 的 BSX01 抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的形成

Fig. 5 Inhibition effect of BSX01 with different MIC on the formation of *Staphylococcus aureus* biofilm

3 结 语

本研究证实了前期筛选得到的布氏乳杆菌在生长过程中产生了一种细菌素类代谢产物,其能够对金黄色葡萄球菌起到明显抑制作用。该细菌素(BSX01)的相对分子质量为 773.56,对蛋白酶敏感,具有类蛋白质性质,推测为 I 类细菌素,并对温度和 pH 表现出较高的耐受性,最低抑菌质量浓度仅为 12.50 $\mu\text{g/mL}$ 。同时,该细菌素在不同 MIC 的抑菌质

量浓度下均能明显抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的形成,在减缓金黄色葡萄球菌生物被膜形成方面效果显著。研究结果证实,布氏乳杆菌产生的细菌素类抑菌物质具有良好抑菌特性,具有高效的抑制金黄色葡萄球菌生物被膜形成能力,为将该细菌素应用于食品工业中防治以金黄色葡萄球菌为代表的食源性致病菌及其生物被膜引发的相关问题提供理论基础。

参考文献:

- [1] GARCÍA A, MARTÍNEZ C, JUÁREZ R I, et al. Methicillin resistance and biofilm production in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* in Mexico[J]. *Biomedica: Revista Del Instituto Nacional De Salud*, 2019, 39

- (3):513-523.
- [2] 黄欣悦,陈娟,马欣玥. 食品中金黄色葡萄球菌定量风险评估的研究进展[J]. 食品工业科技,2021,42(22):390-397.
HUANG X Y, CHEN J, MA X Y. Research progress of quantitative risk assessment of *Staphylococcus aureus* in food[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2021, 42(22):390-397. (in Chinese)
 - [3] YU H, LIU M, LIU Y, et al. Antimicrobial activity and mechanism of action of *Dracocephalum moldavica* l. extracts against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*[J]. **Frontiers in Microbiology**, 2019, 10:1249.
 - [4] ROBERTS S, GRAE N, MUTTAIYAH S, et al. Healthcare-associated *Staphylococcus aureus* bacteraemia: time to reduce the harm caused by a largely preventable event[J]. **The New Zealand Medical Journal**, 2020, 133(1509):58-64.
 - [5] 李雅倩,胡同平. 金黄色葡萄球菌毒力因子的研究进展[J]. 中华医院感染学杂志,2020,30(17):2712-2716.
LI Y Q, HUTONG P. Advance in study of *Staphylococcus aureus* virulence factors[J]. **Chinese Journal of Nosocomiology**, 2020, 30(17):2712-2716. (in Chinese)
 - [6] LI H W, XIANG Y Z, ZHANG M, et al. A novel bacteriocin from *Lactobacillus salivarius* against *Staphylococcus aureus*: isolation, purification, identification, antibacterial and antibiofilm activity[J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2021, 140:110826.
 - [7] LIU Y, YU H, CHENG Y L, et al. Non-destructive monitoring of *Staphylococcus aureus* biofilm by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy[J]. **Food Analytical Methods**, 2020, 13(9):1710-1716.
 - [8] 孙梦桐,吕欣然,崔天琦,等. 鱼类肠道中抑制哈维氏弧菌群体感应及生物膜形成的乳酸菌的筛选和鉴定[J]. 中国食品学报, 2020, 20(8):255-263.
SUN M T, LYU X R, CUI T Q, et al. Screening and identification of lactic acid bacteria with inhibitory activity of quorum sensing and biofilm of *Vibrio harveyi* from fish intestine[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2020, 20(8):255-263. (in Chinese)
 - [9] GONIK E, RODRÍGUEZ SARTORI D, DAVID GARA P, et al. *Staphylococcus aureus* biofilm eradication by the synergistic effect exerted by PEG-coated silicon dots immobilized in silica films and light irradiation[J]. **Nanotechnology**, 2021, 32(9):095105.
 - [10] SEETHALAKSHMI P S, RAJEEV R, KIRAN G S, et al. Promising treatment strategies to combat *Staphylococcus aureus* biofilm infections: an updated review[J]. **Biofouling**, 2020, 36(10):1159-1181.
 - [11] 赵朵,肖娜,裴曼君,等. 金黄色葡萄球菌生物被膜形成及检测方法研究[J]. 教育教学论坛,2020(47):388-390.
ZHAO D, XIAO N, PEI M J, et al. Research on the formation and detection methods of *Staphylococcus aureus* biofilm[J]. **Education Teaching Forum**, 2020(47):388-390. (in Chinese)
 - [12] FERRERO F, TABACCO E, PIANO S, et al. Temperature during conservation in laboratory silos affects fermentation profile and aerobic stability of corn silage treated with *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus hilgardii*, and their combination[J]. **Journal of Dairy Science**, 2021, 104(2):1696-1713.
 - [13] 张松,缪礼鸿,张明春,等. 浓酱兼香型酒醅中乳酸菌的分离鉴定及布氏乳杆菌生长特性分析[J]. 中国酿造,2020,39(7):46-50.
ZHANG S, MIAO L H, ZHANG M C, et al. Isolation and identification of lactic acid bacteria and growth characteristic of *Lactobacillus buchneri* in fermented grains of strong-sauce-flavor Baijiu[J]. **China Brewing**, 2020, 39(7):46-50. (in Chinese)
 - [14] ZHANG Y, QIN Y X, WANG Y, et al. *Lactobacillus plantarum* LPL-1, a bacteriocin producing strain, changed the bacterial community composition and improved the safety of low-salt fermented sausages[J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2020, 128:109385.
 - [15] KOMORA N, MACIEL C, PINTO C A, et al. Non-thermal approach to *Listeria monocytogenes* inactivation in milk: the combined effect of high pressure, pediocin PA-1 and bacteriophage P100[J]. **Food Microbiology**, 2020, 86:103315.
 - [16] RASHEED H A, TUOHETI T, ZHANG Y Z, et al. Purification and partial characterization of a novel bacteriocin produced by bacteriocinogenic *Lactobacillus fermentum* BZ532 isolated from Chinese fermented cereal beverage (Bozai)[J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2020, 124:109113.
 - [17] YI L H, DANG J, ZHANG L H, et al. Purification, characterization and bactericidal mechanism of a broad spectrum bacteriocin with antimicrobial activity against multidrug-resistant strains produced by *Lactobacillus coryniformis* XN8[J]. **Food Control**,

- 2016, 67: 53-62.
- [18] 迟海, 李学英, 徐春霞, 等. 产细菌素乳酸菌的筛选、鉴定及抑菌特性研究[J]. 中国食品学报, 2020, 20(7): 181-187.
CHI H, LI X Y, XU C X, et al. Screening, identification and bacteriostatic characteristics of bacteriocin producers from lactic acid bacteria[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2020, 20(7): 181-187. (in Chinese)
- [19] 江宇航, 李宏伟, 杨晓洁, 等. 马尾松毛虫肠道产细菌素细菌的筛选及抑菌特性[J]. 微生物学通报, 2021, 48(1): 123-134.
JIANG Y H, LI H W, YANG X J, et al. Screening and antibacterial activity of bacteriocin-producing bacteria in intestine of *Dendrolimus punctatus*[J]. **Microbiology China**, 2021, 48(1): 123-134. (in Chinese)
- [20] ZHANG L G, WANG C, LIU H, et al. The important role of phagocytosis and interleukins for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to defense infection of *Aeromonas hydrophila* based on transcriptome analysis[J]. **Fish & Shellfish Immunology**, 2019, 92: 54-63.
- [21] YI L H, LI X, LUO L L, et al. A novel bacteriocin BMP11 and its antibacterial mechanism on cell envelope of *Listeria monocytogenes* and *Cronobacter sakazakii*[J]. **Food Control**, 2018, 91: 160-169.
- [22] 马欢欢, 吕欣然, 林洋, 等. 海水鱼肠道源性抗哈维氏弧菌乳酸菌的筛选与鉴定[J]. 食品科学, 2017, 38(8): 96-101.
MA H H, LYU X R, LIN Y, et al. Screening and identification of anti-*Vibrio harveyi* lactic acid bacteria derived from marine fish intestine[J]. **Food Science**, 2017, 38(8): 96-101. (in Chinese)
- [23] KIM N N, KIM W J, KANG S S. Anti-biofilm effect of crude bacteriocin derived from *Lactobacillus brevis* DF01 on *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*[J]. **Food Control**, 2019, 98: 274-280.
- [24] 马国涵, 马欢欢, 吕欣然, 等. 大菱鲆肠道中广谱拮抗活性乳酸菌的筛选及其细菌素鉴定 [J]. 食品科学, 2019, 40(6): 159-165.
MA G H, MA H H, LYU X R, et al. Screening for broad-spectrum antagonistic lactic acid bacteria from intestine of turbot and identification of bacteriocin produced by it[J]. **Food Science**, 2019, 40(6): 159-165. (in Chinese)
- [25] 刘静, 杨富民, 白斌芳, 等. 产细菌素乳酸菌菌株的来源及所产细菌素的分类研究进展[J]. 中国酿造, 2018, 37(6): 20-24.
LIU J, YANG F M, BAI B F, et al. Research progress on the source of bacteriocin-producing lactic acid bacteria and classification of the bacteriocin[J]. **China Brewing**, 2018, 37(6): 20-24. (in Chinese)