

一株海洋源长枝木霉菌 ST-27 的发酵产物对无乳链球菌的抑制作用研究

苏艳君¹, 郑诗婷², 吴鹏², 唐旭^{2*}

¹厦门医学院附属口腔医院, 厦门 361006;

²自然资源部第三海洋研究所 海洋生物资源开发利用工程技术创新中心, 厦门 361005

摘要: 本文采用分光光度法和琼脂扩散法, 初步研究了一株海洋源长枝木霉菌 ST-27 的发酵产物对无乳链球菌的抑制作用, 结果显示该发酵产物的二氯甲烷萃取物对无乳链球菌的抑制作用明显, 最小抑菌浓度 (MIC) 值为 0.312 mg/mL; 实验表明, 该萃取物对无乳链球菌的生物被膜形成具有重要影响, 进一步通过扫描电镜发现二氯甲烷萃取物作用后的无乳链球菌, 其大部分细胞表面有明显褶皱甚至出现破裂; 与临床上常见的抗生素的抑菌效果比较, 二氯甲烷萃取物的抑菌活性有明显的优势。

关键词: 长枝木霉菌; 发酵产物; 无乳链球菌; 抑菌活性

中图分类号: R914.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)11-1918-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.11.015

Study on the inhibition effect of *Trichoderma longibrachiatum* ST-27 ferment on *Streptococcus agalactiae*

SU Yan-jun¹, ZHENG Shi-ting², WU Peng², TANG Xu^{2*}

¹Stomatological Hospital of Xiamen Medical College, Xiamen 361006, China;

²Technology Innovation Center for Exploitation of Marine Biological Resources,

Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Xiamen 361005, China

Abstract: In this paper, the inhibition of the fermentation product of *Trichoderma longibrachiatum* ST-27 on *Streptococcus agalactiae* was studied by a spectrophotometry and agar diffusion method. The results showed that the dichloromethane extract from *T. longibrachiatum* ST-27 fermentation product had obvious inhibitory effect on *S. agalactiae*, and the minimum inhibitory concentration (MIC) value was 0.312 mg/mL. It was found that the extract had an important effect on the biofilm formation of *S. agalactiae*. From scanning electron microscope (SEM) images, it was observed that most of the cells of *S. agalactiae* treated with dichloromethane extract had obvious folds or even ruptures on their surface. Compared with the clinical common antibiotics, the extraction of dichloromethane has obvious advantages in antimicrobial activity. As a substitute for traditional antibiotics, the results of this study have great application potential in inhibiting *S. agalactiae*.

Key words: *Trichoderma longibrachiatum*; fermentation product; *Streptococcus agalactiae*; antibacterial activity

无乳链球菌 (*Streptococcus agalactiae*) 也称 B 族链球菌, 是能引起人和动物很多疾病的病原菌, 在健康成年人的下消化道和泌尿生殖道大约有 15% ~ 30% 的定殖率, 当人体免疫低下或缺陷时易发生无乳链球菌感染从而引发尿路感染、皮肤软组织等感染, 导致孕妇发生早产、胎膜早破、死胎等各种不良

妊娠结局及新生儿败血症和脑膜炎等严重的新生儿感染疾病^[1-3]。2010 年美国疾病控制与预防中心 (CDC) 推荐青霉素作为非青霉素过敏孕妇及新生儿无乳链球菌感染的首选治疗用药, 青霉素过敏的人群使用大环内酯类抗生素红霉素和 (或) 林可酰胺类抗生素克林霉素^[4]。Zhou 等^[5] 分析了不同类型无乳链球菌感染新生儿的临床特点及其对药物的敏感情况, 早发型无乳链球菌感染与晚发型无乳链球菌感染具有不同的临床特点, 建议临床应根据无

收稿日期: 2021-03-12 接受日期: 2021-08-20

基金项目: 厦门市海洋经济创新发展示范项目 (16CZY009SF05);

厦门南方海洋研究中心项目 (21CZP003HJ13)

* 通信作者 E-mail: tangxu@tio.org.cn

乳链球菌药敏结果合理选用敏感率较高的抗菌药物(青霉素、万古霉素、氨苄西林和美罗培南)治疗,避免使用耐药率较高的药物。Liu 等^[6]针对围产期妇女产前无乳链球菌感染情况及药物敏感性开展研究,发现无乳链球菌在围产期妇女阴道分泌物检出率达 4.74%, β -内酰胺类无耐药,但青霉素敏感度有下降表现。综上所述,目前临床上对无乳链球菌病的防治主要采用抗生素治疗手段,然而随着抗生素的大量使用,使无乳链球菌的耐药性增强^[7],例如克林霉素与红霉素以前曾作为治疗无乳链球菌的二线药物,现国内外均有研究报道其耐药率逐年上升^[8,9],并且国内耐药率一直显著高于国外^[10,11]。因此,使用生物手段,利用新型生物活性物质以应对病原菌及其耐药性的增强成为当前医药界的迫切需要。Lu 等^[12]以微生态防控的角度寻找水生动物无乳链球菌病的防治方法,他们以 21 株芽孢杆菌 *Bacillus* 作为来源菌株,筛选出一株对无乳链球菌有较强抑制作用的菌株 BA015,发现该菌株及其去菌体发酵液对无乳链球菌病的防治存在潜在应用价值。

木霉属真菌广泛分布于世界各地,种类十分丰富。木霉菌及其代谢产物对多种病原菌有很强的抑制作用,与化学抗生素相比,具有天然、无毒、无污染的特点,因此以木霉及其代谢产物为基础的生物抗生素成为研究热点。截止目前,从木霉菌中分离得到有抑菌效果的代谢物有 140 余种,例如木霉素、绿粘帚霉素、绿胶霉素等^[13,14]。海洋来源微生物已经成为分离新的活性代谢产物的重要资源,尤其是海洋来源真菌具有产次级代谢产物巨大潜能,其次级代谢产物大多具有较好的生物活性,包括抗菌、抗肿瘤活性等^[15]。相比陆地环境中被分离和鉴定的真菌,海洋环境中的真菌很少被分离和鉴定^[16,17]。海洋作为一个复杂多变的生态系统,具有不同于陆地的高压、高盐、低温、寡营养等特殊特性,这些因素使海洋微生物易产生不同于陆源生物且具有特殊功能的活性物质。因此,从海洋源微生物中寻找具有功效特异、结构新颖的生物活性物质的概率更大,是研究开发新型生物活性物质的重要资源^[18]。木霉菌是一种重要的生防菌,近年来国内外对其展开了大量的研究。本文自海洋底栖动物海绵中筛选获得一株抗革兰氏阳性菌的长枝木霉 ST-27,对其发酵产物抗无乳链球菌的性能进行了初步研究,为新型生物抑菌剂的开发提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 菌株与培养基

本文所用长枝木霉菌 ST-27 由自然资源部第三海洋研究所海洋生物资源开发利用工程技术创新中心实验室分离自海绵并保藏;无乳链球菌标准菌株 ATCC12386 和 CMCC(B)32116 购自广东省微生物菌种保藏中心。

长枝木霉 ST-27 的培养基配方:PDB 液态培养基:马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、H₂O 1 000 mL, pH 5.2 ± 0.2;PDA 固态培养基:24 g PDB 培养基、琼脂糖 12 g、H₂O 1 000 mL, pH 5.2 ± 0.2;FS1 培养基:大米 100 g、玉米面 0.15 g、大豆蛋白胨 0.45 g、海盐 1.5 g、H₂O 120 mL,详细配制方法为:玉米面、蛋白胨先用 1.5% 海盐水加热溶解,然后和大米一起用电饭煲蒸约 40 min,分装到 1 L 锥形瓶中,每瓶 200 g(相当于 100 g 大米原料),121 °C,高压灭菌 20 min。

无乳链球菌的培养基为 TSB 培养基:胰蛋白胨 17 g,大豆蛋白胨 3 g,NaCl 5 g,葡萄糖 2.5 g,KH₂PO₄ 2.5 g,H₂O 1 000 mL。

1.2 长枝木霉 ST-27 的发酵及其二氯甲烷萃取物的制备

本实验方法参考文献^[19]并做了适当的修改:将长枝木霉 ST-27 接种于 PDA 平板上 28 °C 恒温培养 2~3 天后,作为固态培养种子用打孔器打成每个 Φ 6 mm 的小圆饼加入含 50 mL PDB 培养基的 250 mL 锥形瓶中,28 °C、180 rpm 的摇床里培养 2 天,用作液体培养种子。每个含 200 mL FS1 培养基的 1 L 锥形瓶中接入 10 mL 种子液,在 28 °C 条件下培养 30~42 天。固态发酵结束后使用甲醇萃取,甲醇萃取液在 45 °C 水浴条件下旋蒸浓缩,浓缩液经二氯甲烷超声萃取,得溶剂萃取物。

1.3 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌的抑制效果

本实验方法参考文献^[20]并做了适当的修改:取“1.2”中制备所得长枝木霉 ST-27 发酵液的二氯甲烷萃取物用甲醇溶解成 50 mg/mL 母液备用,使用甲醇对配置好的母液进行二倍法稀释得到 25、12.5...0.195 3 mg/mL 稀释液备用。将无乳链球菌接种于 TSB 液态培养基中培养 10 h,使用培养基细菌浓度调节为 3.42×10^8 CFU/mL,后用 TSB 培养基稀释 1 000 倍备用。试验组中在 96 孔板的每孔分别加入 180 μ L 稀释菌液,20 μ L 不同浓度的 ST-27 二氯甲

烷萃取物或甲醇溶液,即二氯甲烷萃取物终浓度为 5、2.5、1.25...0.019 53、0 mg/mL;设置阳性对照组,每孔加入 180 μ L 稀释菌液和 20 μ L 甲醇;设置阴性对照组,每孔加入 200 μ L 灭菌 TSB 液态培养基;设置正常生长对照组,每孔加入 180 μ L 稀释菌液和 20 μ L 灭菌 TSB 液态培养基;各组设三组平行试验,测定起始 OD₆₀₀值,于 37 $^{\circ}$ C 恒温培养箱静置培养 20 h 后测定培养后 OD₆₀₀。抑菌率计算方式如下:

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照组 } \Delta OD - \text{试验组 } \Delta OD}{\text{对照组 } \Delta OD} \times 100\%$$

1.4 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌生物被膜的影响

取“1.2”中制备所得长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物用甲醇溶解成 200 mg/mL 母液备用,使用甲醇对配置好的母液进行二倍法稀释得到 100、50...0.195 3 mg/mL 稀释液备用。将无乳链球菌接种于 TSB 液态培养基中培养 10 h,使用培养基细菌浓度调节为 3.42×10^8 CFU/mL,后用 TSB 培养基稀释 1 000 倍备用。试验组中向 96 孔板的每孔中加入 180 μ L 稀释菌液,20 μ L 不同浓度的 ST-27 二氯甲烷萃取物或甲醇溶液,即二氯甲烷萃取物终浓度为 5、2.5...0.019 53 mg/mL,于 30 $^{\circ}$ C 恒温培养 72 h。取出 96 孔板,小心倒掉菌液(以免造成生物被膜脱落),无菌水清洗两遍,倒置晾干,每孔加 50 μ L 的 1% 的结晶紫染色 15 min。无菌水清洗,倒置晾干。每孔加 200 μ L 95% 乙醇溶液溶解结晶紫,酶标仪测定 OD₆₂₀ 值。

1.5 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌细胞形态的影响

取 OD₆₀₀ 值为 1 的无乳链球菌,稀释 1 000 倍后加入长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物至最终菌液中样品浓度为 2 MIC,设空白对照组,于 37 $^{\circ}$ C、180 rpm

摇床中培养 10 h 后经 3 000 rpm 离心 1 min,得到的菌液再经生理盐水清洗两遍,离心收集菌体,用 3% 戊二醛固定 2 h 后涂片,磷酸盐缓冲液洗涤 3 次,依次以 30%、50%、75%、95% 乙醇顺序脱水各 1 次,每次 10 min,然后以无水乙醇重复脱水 3 次,每次 5 min,使用 50%、70%、90%、100% 乙酸异戊酯逐级置换乙醇,每级置换 2 min,将样品放入 Hep-2 临界干燥器内,加液态二氧化碳作介质进行干燥,干燥后的标本放入高真空蒸发器中,喷金镀膜,经扫描电子显微镜下观察,拍照。

1.6 常见抗菌药物对无乳链球菌的抑菌效果比较

用临床上常用的抗生素青霉素 (penicillin, PC)、四环素 (tetracycline, TC)、链霉素 (streptomycin, SM)、利福平 (rifampicin, RFP)、红霉素 (erythromycin, EM)、氨苄青霉素 (ampicillin, AMP)、卡那霉素 (kanamycin, KAN)、庆大霉素 (gentamicin, GEN), 采用药敏纸片法测定无乳链球菌标准菌株对各抗生素的敏感度,与长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物进行活性比较。配制 TSB 培养基,高温高压灭菌 20 min,待 TSB 培养基温度降至 55 $^{\circ}$ C 左右后以 1% 比例加入活化好浓度为 3.42×10^8 CFU/mL 的无乳链球菌。混匀后均匀倒板,每个平板 12 mL。待培养皿冷却后,每个培养皿放置一种抗生素,每种抗生素做三个重复。

2 实验结果

2.1 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌的抑制效果

如表 1 所示,长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对两株无乳链球菌表现出良好的抑制效果,抑菌圈均接近 30 mm,因此本次研究的后期实验采用无乳链球菌标准株 ATCC12386。

表 1 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对不同株无乳链球菌的抑制效果

Table 1 Inhibition effect of *T. longibrachiatum* ST-27 dichloromethane extract on *S. agalactiae*

菌株 Strain	抑菌圈大小 Inhibition zone diameter(mm)
无乳链球菌标准株 ATCC12386 Standard strain of <i>S. agalactiae</i> ATCC12386	29.846 \pm 0.46
无乳链球菌标准株 CMCC (B) 32116 Standard strain of <i>S. agalactiae</i> CMCC (B) 32116	28.913 \pm 0.78

由表 2 可知菌液加培养基和菌液加甲醇无差异,甲醇对无乳链球菌无抑制效果。抑菌率为 100% 的长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物最小浓度

为 0.312 mg/mL,由此可知,该萃取物对无乳链球菌的最低抑菌浓度(MIC)为 0.312 mg/mL。由图 1 并结合 SPSS 20.0 logit 回归模型可知,长枝木霉 ST-27

二氯甲烷萃取物对无乳链球菌的半数有效量(IC_{50}) 为 0.035 mg/mL。

表 2 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌的抑制作用
Table 2 Inhibition of the dichloromethane extract of ST-27 on *S. agalactiae*

质量浓度 Mass concentration (mg/mL)	吸光值 Optical density(OD_{600})		差值 ΔOD Difference in OD	抑菌率 Antibacterial rate (%)
	培养前 Before culture	培养后 After culture		
5	0.122 6 \pm 0.008 0 ^{Aa}	0.120 3 \pm 0.015 0 ^{Aa}	-0.002 3	100.00
2.5	0.124 5 \pm 0.003 0 ^{Aa}	0.121 3 \pm 0.003 0 ^{Aa}	-0.003 2	100.00
1.25	0.115 9 \pm 0.004 0 ^{Aa}	0.103 6 \pm 0.003 0 ^{Aa}	-0.012 3	100.00
0.613	0.116 0 \pm 0.003 0 ^{Aa}	0.102 9 \pm 0.002 0 ^{Aa}	-0.013 0	100.00
0.312	0.113 3 \pm 0.002 0 ^{Aa}	0.101 4 \pm 0.002 0 ^{Aa}	-0.011 8	100.00
0.156	0.107 1 \pm 0.003 0 ^{Aa}	0.276 1 \pm 0.083 0 ^{Bb}	0.169 8	73.72
0.078	0.110 6 \pm 0.005 0 ^{Aa}	0.332 0 \pm 0.015 0 ^{Bb}	0.220 8	65.82
0.039	0.108 2 \pm 0.003 0 ^{Aa}	0.364 4 \pm 0.045 0 ^{Bb}	0.259 7	59.80
0.02	0.110 1 \pm 0.002 0 ^{Aa}	0.629 9 \pm 0.076 0 ^{Cd}	0.524 6	18.79
+	0.110 3 \pm 0.002 0 ^{Aa}	0.752 6 \pm 0.025 0 ^{Bb}	0.643 8	-
-	0.050 1 \pm 0.002 0 ^{Aa}	0.050 1 \pm 0.002 0 ^{Aa}	0	-
*	0.110 2 \pm 0.003 0 ^{Aa}	0.756 0 \pm 0.003 0 ^{Aa}	0.646 0	-

注:“-”阴性对照只加培养基;“+”阳性对照菌液加甲醇;“*”为菌液加培养基;“ \pm ”表示标准差,同行或同列数据中不同小写字母表示差异性显著($P < 0.05$),同行或同列数据中不同大写字母表示差异性极显著($P < 0.01$),含有相同大写字母和小写字母的表示差异不显著($P > 0.05$)。

Note:“-” Only medium was added for negative control;“+” Methanol was added to the positive control bacterial liquid;“*” Culture medium was added to bacterial liquid;“ \pm ” Standard deviation was denoted. Different lowercase letters in the same row or in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$). Different capital letters in the same row or in the same column indicate very significant difference ($P < 0.01$). Containing the same uppercase letter and lowercase letter indicates no significant difference ($P > 0.05$).

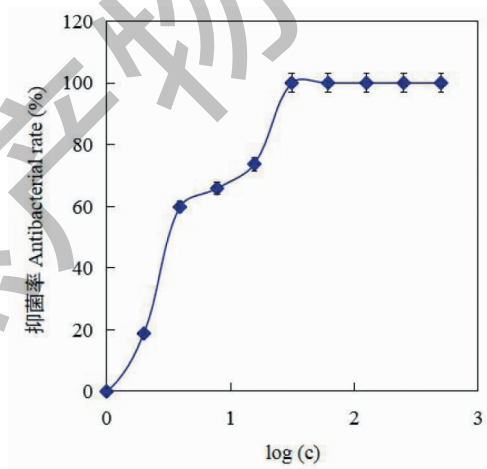


图 1 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌的抑制效果图

Fig. 1 Inhibition effect of ST-27 CH_2Cl_2 extract against *S. agalactiae*

2.2 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌生长的影响

由图 2 可知,空白对照组与加入 1/4 MIC、1/16 MIC 长枝木霉 ST-27 发酵液的二氯甲烷萃取物处理后的无乳链球菌生长曲线存在明显差异性。空白对

照组与 1/4 MIC 组均在 4 h 时达到稳定期,但 1/4 MIC 处理后的无乳链球菌的稳定期 OD_{600} 值较空白组低,对数期 OD_{600} 值增长较空白组平稳。而 1/16 MIC 组在 11 h 后达到稳定,对数期延长,稳定期其 OD_{600} 值与空白组差异不明显。因此可看出在 1/4

MIC 浓度下活性产物对无乳链球菌可有杀菌作用, 显抑制其生长速度的作用。
在 1/16 MIC 浓度下活性产物对无乳链球菌存在明

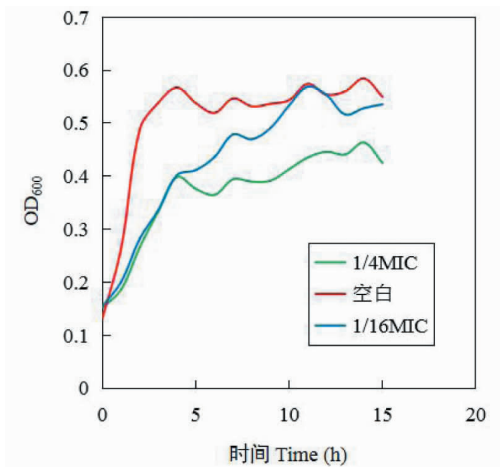


图2 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌生长曲线的影响

Fig. 2 Effects of ST-27 CH_2Cl_2 extract on growth curve of *S. agalactiae*

2.3 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌生物被膜的抑制效果

由图3可知, OD_{620} 随长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物的浓度上升而升高, 当浓度为 $\lg(c) = 3.4$ 即

1.25 mg/mL 时最高, 随后急剧下降, 由此可知长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌生物被膜形成具有重要的影响。

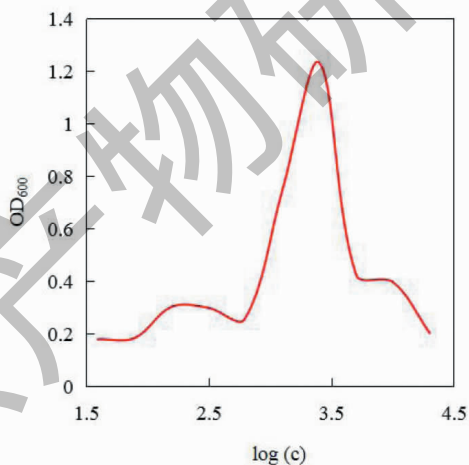


图3 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌生物被膜的影响

Fig. 3 Effects of ST-27 CH_2Cl_2 extract on the biofilm of *S. agalactiae*

2.4 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌生物形态的影响

由图4可知, 未经长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物处理的无乳链球菌呈表面光滑的球形菌, 经样品处理后的无乳链球菌在细胞形态上发生了明显变化, 主要表现为: 表面皱缩、粗糙, 个别无乳链球菌出现破裂现象 (见图4b 箭头所示)。Shan 等^[21] 通过

高倍数扫描电镜观察由万古霉素和抗菌肽处理过的无乳链球菌的表面形态, 结果显示细胞皱缩和破裂。由此可见活性产物对无乳链球菌的细胞形态有一定的作用, 可抑制无乳链球菌的生物被膜形成。

2.5 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物与临床常用抗生素的抑菌活性对比

二氯甲烷萃取物与临床常用抗生素的抑菌活性

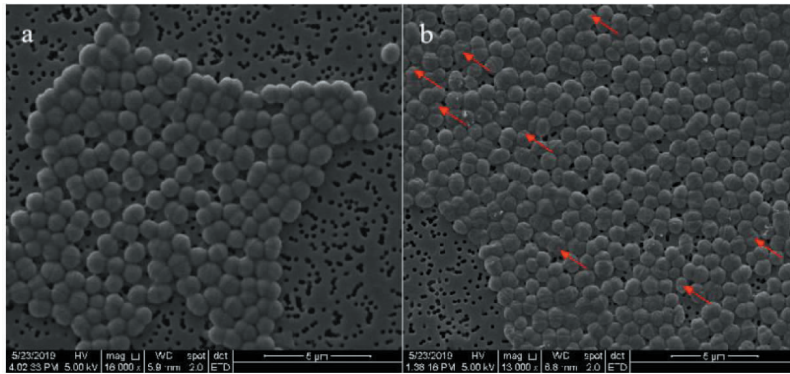


图4 无乳链球菌的扫描电镜图

Fig. 4 The scanning electron microscopy pictures of *S. agalactiae*

注: a 和 b 分别为经长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物处理前后的无乳链球菌。Note: a and b are the *S. agalactiae* before and after treatment with ST-27 CH_2Cl_2 extract.

的实验中所用抗生素药敏纸片规格均为 $30 \mu\text{g}/\text{片}$, 实验结果由图 5 可知, 无乳链球菌对四环素最敏感, 抑菌圈直径为 36.67 mm ; 利福平次之, 抑菌圈直径为 34.23 mm ; 链霉素对无乳链球菌无抑制作用。图 5 中数据可看出长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌的抑制活性可达到临床上无乳链球菌敏感的药物 80%, 表现出较强的抑制活性。另一方面, Hu^[22] 采集了 1 000 例孕晚期妇女的泌尿生殖道标本进行了无乳链球菌培养及药敏试验研究, 结果显示孕晚期妇女无乳链球菌感染率较高, 容易通过母婴垂直传播感染新生儿; 在实验室药敏结果显示无乳链球菌耐药性较高的三种抗生素依次为四环素 (86.44%)、红霉素 (73.73%)、阿奇霉素 (56.78%), 应早期选择合适抗生素治疗。Zhang 等^[23] 从 353 例的门诊及住院患者细菌培养分离的无乳链球菌进行耐药性分析, 结果显示耐药率最高的四环素 (91.5%)、对红霉素、克林霉素、环丙沙星、左旋氧氟沙星耐药率较高, 分别为 $72.0\% \sim 77.1\%$ 、 $61.9\% \sim 66.7\%$ 、 $23.7\% \sim 28.0\%$ 、 $22.9\% \sim 25.6\%$ 。

综上所述, 近年来无乳链球菌对常用抗生素的耐药性不断提高, 因此, 长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物与临床上常用抗生素相比对无乳链球菌不但具有较强抑菌活性而且不易产生耐药性, 是开发出新的抑菌活性物质可以有效缓解无乳链球菌的耐药率升高的这一现状。但考虑到活性物质的浓度更高, 且成分复杂, 本次实验结果仅能说明长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物对无乳链球菌的抑制作用与临床上常见的抗生素具有一定的优势, 具备继续开发

研究的潜力。

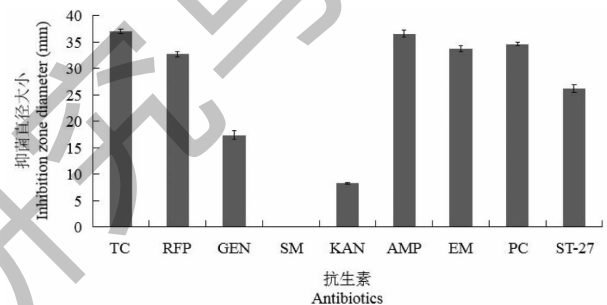


图5 无乳链球菌对长枝木霉 ST-27 二氯甲烷萃取物与临床常用抗生素的敏感性对比

Fig. 5 Comparison of sensitivity of *S. agalactiae* to ST-27 CH_2Cl_2 extract and common clinical antibiotics

3 讨论

本文初步研究了长枝木霉 ST-27 发酵产物二氯甲烷萃取物对无乳链球菌的抑菌效果。经抑菌实验检测出其对三株不同的无乳链球菌都表现出了良好的抑制作用, 对无乳链球菌标准株 ATCC12386 的 MIC 值为 0.312 mg/mL , 表现出良好的抑制活性, 与临床上常用抗生素相比也具有一定的优势。对无乳链球菌的生长曲线影响结果显示其在低浓度下对无乳链球菌有抑制作用, 高浓度下有杀菌作用, 结合扫描电镜结果可发现经过处理后的无乳链球菌的细胞形态有明显变化, 个别无乳链球菌出现破裂现象, 可证明该活性物质对无乳链球菌的抑制作用之一是作用其生物被膜, 为了进一步验证需要进一步采用透射电镜观察其超微结构。无乳链球菌在大自然中不仅以浮游的状态存在, 更多情况下也以生物被膜的形式存在, 而以生物被膜方式存在的细菌更适应外

界环境,有极高的耐药性,并能够逃逸宿主的免疫机制^[24]。本研究发现,长枝木霉 ST-27 发酵产物二氯甲烷萃取物对无乳链球菌生物被膜的形成具有重要的影响,基于此本研究对无乳链球菌的防治提供了新的思路。与此同时,长枝木霉 ST-27 发酵产物的二氯甲烷萃取物的成分尚未明确,根据相关文献报道^[25],木霉中分离得到具有抑菌效果的代谢产物主要分为两大类:小分子类物质,主要有芳香族化合物、聚酮类、丁烯酸内脂类等;大分子类物质如木霉素、胶霉素、抗菌肽等,在未来研究中,我们将对该萃取物的成分进一步分析,以期得到主要活性物并分析其结构。

参考文献

- Liu ZB, LU XD, Lin LP, et al. Research status and progress of *Streptococcus agalactiae* [J]. Lab Med Clin (检验医学与临床), 2016, 13: 2057-2068.
- Zhu JW, Zhang XF. Influence of prenatal antibiotic treatment of *Streptococcus agalactiae* infection in late pregnancy on neonates [J]. Med J Chin PAPF (武警医学), 2021, 32: 100-104.
- An XX. Research progress of neonatal *Streptococcus agalactiae* infection [J]. J Clin Exp Med (临床和实验医学), 2012, 11: 1670-1673.
- Wang X, Zhang XP, Yin M. Analysis of *Streptococcus agalactiae* infection and drug sensitivity in pregnant women [J]. J Pract Med (实用医学杂志), 2013, 29: 1682-1683.
- Zhou XP, Hu N. Analysis on clinical characteristics of different types of neonates infected with *Streptococcus agalactiae* and their sensitivity to drugs [J]. Anti Infect Pharm (抗感染药理学), 2021, 18: 330-334.
- Liu QQ, Zhao SD. Group B streptococcus infection and drug sensitivity analysis in vaginal secretions from perinatal pregnant women [J]. Chin J Clin Lab Mgt: Electron (中华临床实验室管理电子杂志), 2020, 8: 217-219.
- Huang Y, Zhang ZY, Wang YT, et al. Drug resistance of *Streptococcus agalactiae* isolated from female urogenital tract [J]. Lab Med (检验医学), 2017, 32: 994-998.
- Gao J, Liu XY. Drug resistance analysis on the drug resistance of *Streptococcus agalactiae* isolated from female urogenital tract [J]. Lab Med (检验医学), 2015, 30: 13-16.
- Lin YL, Chen ST, Xun Z, et al. Clinical distribution and drug resistance of 179 isolates of *Streptococcus agalactiae* [J]. Int J Lab Med (国际检验医学杂志), 2015, 36: 1376-1378.
- Elikwu CJ, Oduyebo O, Konig B. Antibiotic susceptibility profiles of group B streptococci (GBS) isolates from pregnant mothers in a tertiary institution in Nigeria [J]. Int J Infect Dis, 2014, 21: 348.
- Minami M, Nishiyama H, Ikegami S, et al. Trend of Invasive *Streptococcus agalactiae* at tertiary care hospital in Japan [J]. J Biosci Med, 2016, 4: 15-20.
- Lu XC, Du MY, Zhou WJ, et al. Antagonism and mechanism of *Bacillus subtilis* BA015 against *Streptococcus agalactiae* [J]. J Dalian Ocean Univ (大连海洋大学学报), 2021, 36: 103-109.
- Mukherjee PK, Hurley JF, Taylor JT, et al. Ferricrocin, the intracellular siderophore of *Trichoderma virens*, is involved in growth, conidiation, gliotoxin biosynthesis and induction of systemic resistance in maize [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 505: 606-611.
- Benitez T, Ricon AM, Carmen LM, et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains [J]. Int Microbiol, 2004, 7: 249-260.
- Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, et al. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants [J]. Physiol. Mol. Plant Path, 2008, 72: 80-86.
- Blunt JW, Copp BR, Keyzers RA, et al. Marine natural products [J]. Nat Prod Rep, 2013, 30: 237-323.
- Morrison-Gardiner S. Dominant fungi from Australian coral reefs [J]. Fungal Divers, 2002, 9: 105-121.
- Ameen F, AlNadhari S, Al-Homaidan AA. Marine microorganisms as an untapped source of bioactive compounds [J]. Saudi J Biol Sci, 2021, 28: 224-231.
- Wu YX, Cheng MH, Jiang HT, et al. Antibacterial activity of fractions and chemical constituents analysis of dichloromethane fraction from *Bletilla striata* [J]. Food Mach (食品与器械), 2017, 33: 76-79.
- Yang L, Cheng YF. Antibacterial test on extracts of tomato stems and leaves [J]. Food Mach (食品与器械), 2014, 30: 126-128.
- Shan YX, Yang N, Teng D, et al. The disinfection effect of antimicrobial peptide NZ2114 on *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mastitis and its biofilm [J]. Chin Anim Husb Vet Med (中国畜牧兽医), 2020, 47: 2284-2294.
- Hu FL. *Streptococcus agalactiae* infection and drug resistance in women in late pregnancy and influence on newborns [J]. Chin J Microcol (中国微生态学杂志), 2016, 28: 598-600.
- Zhang YL, Peng L, Tu SL, et al. The status of *Streptococcus agalactiae* infection and drug resistance in our hospital from 2016 to 2018 [J]. J Trop Med (热带医学杂志), 2021, 21: 36-38.
- Wang LJ, Xu QM, Jiu M, et al. Inhibition activity of *Rabdosia rubescens* extract on biofilm formation of *Staphylococcus aureus* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2017, 29: 1000-1005.
- Rajani P, Rajasekaran C, Vasathakunmari MM, et al. Inhibition of plant pathogenic fungi by endophytic *Trichoderma* spp. through mycoparasitism and volatile organic compounds [J]. Microbiol Res, 2021, 242: 126595.