

藏羊源性粪肠球菌无细胞上清液对沙门氏菌的抑菌机制及转录组学分析

李培键, 龙金桃, 白小兰, 秦绍敏, 陈慧琳, 王震, 郑雨晨, 贺晓龙, 冶贵生*

(青海大学农牧学院, 青海西宁 810016)

摘要: 为探究益生性粪肠球菌无细胞上清液 (Cell-Free Supernatant, CFS) 对沙门氏菌的抑菌机制, 本研究采用琼脂扩散法评估粪肠球菌 CFS 的抑菌效果, 96 孔板法绘制沙门氏菌的生长抑制曲线, 通过扫描电镜观察菌体超微结构的变化, 转录组测序分析沙门氏菌差异基因的表达。结果表明: CFS 对沙门氏菌抑菌圈约为 16.30 mm, 30% (体积分数) 终浓度 CFS 抑制共培养体系中沙门氏菌的生长 ($P < 0.001$)。电镜结果显示处理组沙门氏菌菌体出现胞膜塌陷、表面褶皱等形态学损伤。转录组学测序结果显示, 与对照组相比, 处理组有 1 520 个差异表达基因, 其中 747 个基因上调, 773 个基因下调, 差异基因显著富集于碳水化合物代谢、氨基酸生物合成及双组分信号系统等通路。研究结果提示 CFS 可通过破坏沙门氏菌细胞膜完整性、干扰碳水化合物代谢 (三羧酸循环、丙酮酸代谢) 以及下调磷酸转移酶系统和有氧呼吸过程中关键基因的表达, 来抑制沙门氏菌细胞的能量供应从而发挥抑菌作用, 可为开发新型替抗制剂提供理论基础。

关键词: 无细胞上清液 (CFS); 沙门氏菌; 转录组学; 抑菌机制

中图分类号: S811.6

文献标识码: A

DOI 编号: 10.19556/j.0258-7033.20250516-03

沙门氏菌 (*Salmonella*) 可引发宿主肠炎、菌血症等系列病理反应, 其致病机制涉及 III 型分泌系统介导的肠黏膜定植与侵袭^[1-2]。抗生素的长期滥用导致多重耐药沙门氏菌 (*Multidrug-resistant Salmonella*, MDR) 检出率逐年攀升^[3], 这不仅加剧了临床治疗难度, 同时增加了由沙门氏菌感染导致的疾病传播^[4-5]。因此, 开发替代抗生素的新型抑菌剂迫在眉睫。

粪肠球菌 (*Enterococcus faecium*) 已被证实具有抑菌、免疫调节等多种益生特性^[6-9]。近年来, 基于益生菌及其代谢产物组成的“后生元”展现出独特优势, 以刺激机体免疫应答、调节肠道菌群平衡、协同或拮抗特定微生物生长等优点成为新型替抗产品^[10-13]。粪肠球菌无细胞上清液 (Cell-Free Supernatant, CFS) 作为后生元 (Postbiotics) 的潜在来源, 凭借其多靶点益生机

制 (调节菌群、抗菌、修复屏障等), 在食品、医药、农业等领域展现出广阔应用前景^[14-15]。

藏羊生活在高原高压高寒的特殊生态环境中, 具有较强的抗寒性与抗病能力, 其肠道益生菌具有耐高温、耐胆盐、生长速度快、产酸能力强、有较强的抑菌能力和良好的免疫调节能力^[16-17]。经前期鉴定藏羊源粪肠球菌具有较好的益生特性^[16], 而目前关于藏羊源粪肠球菌 CFS 对沙门氏菌抑菌机制的研究未见报道。因此, 本研究以具有益生特性的藏羊源粪肠球菌 CFS 为研究对象, 开展对沙门氏菌的抑菌效果研究, 探究 CFS 对沙门氏菌的抑菌机制, 以期期为开发安全、绿色的藏羊源粪肠球菌的绿色制剂提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 试验菌株 藏羊源粪肠球菌分离株由青海大学农牧学院青藏高原动物疾病研究室保存; 沙门氏菌 *Salmonella* CICC21495 购自中国工业微生物菌种保藏管理中心 (CICC)。

1.2 粪肠球菌 CFS 的制备 将冻存的粪肠球菌分离株复苏后, 按 1:100 的比例接种于 MRS 肉汤培养基 (蛋白胨、

收稿日期: 2025-05-16; 修回日期: 2025-06-25

资助项目: 青海省科技厅项目 (2024-ZJ-938)

作者简介: 李培键 (1999-), 男, 甘肃古浪人, 硕士研究生, 主要从事动物微生物学与免疫学研究, E-mail: lipeijian0816@163.com

* 通信作者: 冶贵生 (1977-), 男, 博士, 教授, 主要从事动物微生物学与免疫学研究, E-mail: qhxjygs@163.com

牛肉浸粉、酵母浸粉、葡萄糖、磷酸氢二钾、柠檬酸氢二钾、乙酸钠、硫酸镁、硫酸锰、吐温 80)，置于 37℃、170 r/min 的恒温摇床（THZ-100B，上海一恒科学仪器有限公司）培养 24 h。随后，将培养液在低温高速离心机（3-18K，湖南凯达科学技术有限公司）4℃、12 000 r/min 离心 10 min，收集上清液并使用 0.22 μm 过滤器过滤以除去菌体细胞，迅速放入 -80℃ 冰箱保存备用，保存不超过 1 个月。

1.3 CFS 抑菌能力的测定 本试验采用琼脂扩散法测定 CFS 对沙门氏菌的抑菌能力。将沙门氏菌活化后，将菌液浓度稀释至 1×10^6 CFU/mL，取 200 μL 均匀涂布于营养琼脂。使用 6 mm 孔径的无菌打孔器打孔，并在孔中加入 200 μL CFS。以新鲜 MRS 肉汤为阳性对照，以无菌水为阴性对照。4℃ 扩散 12 h 转至恒温培养箱（LRH-150，上海一恒科学仪器有限公司）中 37℃ 培养 16 h 后测量抑菌圈直径。

1.4 最小抑菌体积（MIV）的测定 在 Yang^[18] 的方法上进行改进测定 CFS 的 MIV。用普通肉汤培养基将病原菌浓度稀释至 1×10^6 CFU/mL。采用微量倍比稀释法将 CFS 稀释为原体积的 1/2、1/4、1/8、1/16、1/32、1/64、1/128。吸取 100 μL 菌液和 100 μL CFS 依次加入 96 孔细胞培养板中，每组 3 个重复，以新鲜 MRS 肉汤为对照。96 孔细胞培养板置于 37℃ 下孵育 24 h，利用酶标分析仪（PT-3502G，北京普天新桥技术有限公司）测量 600 nm 处的吸光值。

1.5 CFS 抑菌曲线的测定 将沙门氏菌培养至对数生长期（菌液浓度约为 10^6 CFU/mL），加入终浓度为 MIV 的 CFS，以加入等体积的 MRS 液体培养基作为空白对照。将各组样品置于恒温摇床中 37℃、170 r/min 培养，从 0 h 起每隔 2 h 连续测定沙门氏菌在 600 nm 处的吸光度，连续测 14 h。以时间为横坐标，OD_{600nm} 为纵坐标，绘制 CFS 抑菌生长曲线。

1.6 扫描电镜观察菌体形态 收集与 CFS 和 MRS 共培养 12 h 沙门氏菌菌体细胞。样品用低温高速离心机（3-18K，湖南凯达科学技术有限公司）进行离心（12 000 r/min，10 min，4℃）后弃上清，1×PBS 缓冲液清洗 3 遍，收集菌体。用 4% 多聚甲醛固定液（pH 7.0~7.4）4℃ 冰箱过夜固定后进行脱水及喷金处理。采用日本电子公司（JEOL）生产的 JSM-IT700HR 扫描电子显微镜对样品进行图像采集。

1.7 转录组学数据测序及分析 根据沙门氏菌生长曲线，将活化后的沙门氏菌菌液按 1% 接种至普通肉汤培养基中，于 37℃ 170 r/min 培养至对数生长初期（OD_{600 nm} ≈ 0.2），此时实验组加入粪肠球菌 CFS 并使其终浓度为 MIV，对照组添加等量 MRS 培养基（每组 3 个重复），于 37℃ 170 r/min 共培养 12 h 后，4℃ 12 000 r/min 离心 10 min 处理 12 h 的沙门氏菌样品。1×PBS 洗涤 3 次后，6 个样品送至北京诺禾致源科技股份有限公司进行转录组测序分析。用 Agilent 2100 bioanalyzer（安捷伦科技有限公司）精确检测 RNA 完整性和总量，去除核糖体 RNA 后将质量合格的 RNA 与 mRNA 用于后续建库测序，测序得到的原始数据经过滤、修剪、错误碱基修正得到 clean reads，测序数据量 ≥ 1 Gb。使用 Bowtie 2 将 clean reads 与沙门氏菌参考基因组进行对比以获得用于后续分析的 mapped Data（reads），用 FPKM 法（Fragments Per Kilobase Million）对基因表达定量。以 $|\log_2(FC)| > 1$ 且 $\text{padj} < 0.05$ 为标准，利用 DESeq 软件筛选差异表达基因（Differentially Expressed Genes，DEGs）。将得到的 DEGs 注释到 GO、KEGG 数据库中，获得 DEGs 的 GO 功能注释和代谢通路富集分析。

1.8 RT-qPCR 验证 以 16s rRNA 为内参基因，选取 8 个差异表达基因（4 个上调，4 个下调）进行 RT-qPCR，以验证转录组数据的可靠性。利用 Primer 5.0 设计特异性引物，委托公司合成特异性引物（表 1），并通过熔解曲线是否有单一峰验证引物特异性；提取 CFS 和 MRS 共培养 12 h 的沙门氏菌的总 RNA，反转录成 cDNA。25 μL qPCR 反应体系：TB Green Premix Ex Taq II（10 μmol/L）12.5 μL；上、下游引物（0.4 μmol/L）各 1 μL；模版 cDNA 2 μL；RNase-free ddH₂O 补足体系。Real-Time PCR 反应条件：95℃ 预变性 30 s；95℃ 变性 5 s，58℃ 退火 34 s，72℃ 延伸 30 s；共 40 个循环，使用 2^{-ΔΔCT} 法分析基因相对表达量。

1.9 统计分析 统计分析采用 SPSS Statistic 25 进行单因素方差分析，差异显著时采用 Duncan's 方法对各组间平均数进行多重比较，结果表示为平均值 ± 标准误。通过 GraphPad Prism 9 绘制结果图，以 $P < 0.05$ 表示具有统计学意义。

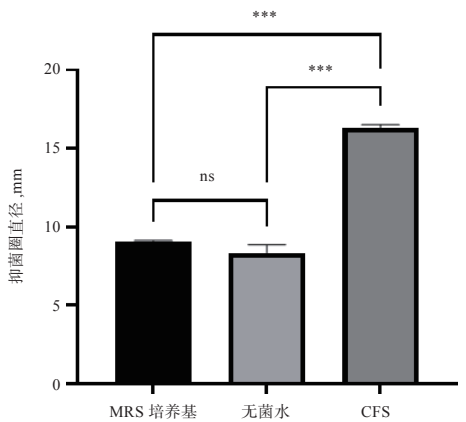
2 结果

2.1 CFS 抑制沙门氏菌的生长 添加藏羊源粪肠球菌

表 1 RT-qPCR 验证引物序列表

基因	中文名	引物序列 (5'→3')	产物长度 ,bp	退火温度 ,℃
<i>yjdB</i>	整合膜蛋白	F: TACTTCCCGCATACCACCTC R: TTTGCGCGGCATATCAGAAA	78	58
<i>malK</i>	麦芽糖转运蛋白	F: CATCTGCTGGAACGTAAGCC R: GACGTTTATGCAGGCGAGAA	175	55
<i>rfaZ</i>	脂多糖核心生物合成蛋白	F: TTGCCACGTTTCTATGACG R: TCAAGCTCCGAGGCTGTAAT	186	58
<i>tolC</i>	外膜蛋白	F: CCTCCATCAGCAGCATCAAC R: GTGGCATCCAGTACGTCAAC	121	58
<i>mgIC</i>	甲基 - 半乳糖苷转运蛋白	F: CCGGCTCTCATAATCACCT R: ACGGGTCTTATTCCACAGCA	73	50
<i>znuC</i>	锌输入 ATP 结合蛋白	F: GCCTCAGTTGCTGGTACTTG R: CGCCGGAACAGCAAATATGA	194	55
<i>dadA</i>	氨基酸脱氢酶亚基	F: GTAGTAGGACGCACCCGTTA R: GATCGTCGTAGGGTATCGCT	139	58
<i>pdhR</i>	丙酮酸脱氢酶复合物	F: ATTGTTGCTTCGTCGTCAGG R: ATTCAGGGTGATCGGAGAGC	101	58
<i>16s rRNA</i>	内参基因	F:GTAGTCCACGCCGTAAACGA R:CCGAAGGCACCAATCTATCTC	135	58

CFS 的琼脂孔周围出现明显抑菌圈，经测量 CFS 抑菌直径约为 16.30 mm，排除 MRS 培养基成分的干扰后，CFS 对沙门氏菌具有抑制效果 ($P<0.001$)，如图 1 所示。



* 代表 $P<0.05$, *** 代表 $P<0.001$, ns 代表差异不显著, 下同。

图 1 CFS 对沙门氏菌的抑制效果

2.2 CFS 对沙门氏菌 MIV 的测定 用微量倍比稀释法测定 CFS 的 MIV，如图 2 所示，CFS 添加量为 0%~3.75% 时，各处理组（添加 CFS）与对照组（添加 MRS）无显著差异，表明该添加量范围的 CFS 未能有效抑制沙门氏菌的增殖；当添加量为 7.5% 时，处理组与对照组差异显著，而 15% 和 30% 处理组与对照组间差异达到极显著水平，其中 30% CFS 处理组的沙门氏菌生长接近完全抑制状态。由以上可知，粪肠球菌 CFS 对沙门氏菌 MIV 约为 30%（体积分数），且 CFS 对沙门氏菌的生长抑制作用成剂量依赖型。

2.3 CFS 抑菌曲线 如图 3 所示，对照组沙门氏菌呈现

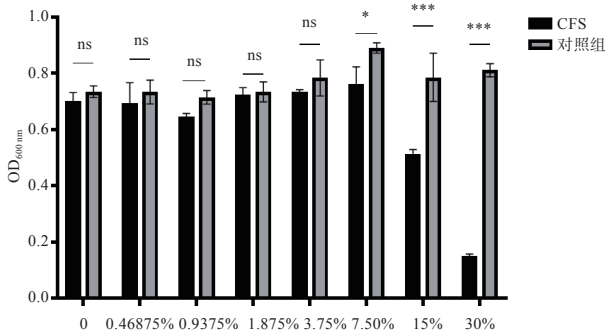


图 2 CFS 对沙门氏菌 MIV 的测定

典型指数生长特征，2 h 进入对数生长期。但添加 1/2 MIV CFS 显著抑制沙门氏菌生长，添加了 MIV 和 2 MIV 的 CFS 后细菌无明显生长趋势。

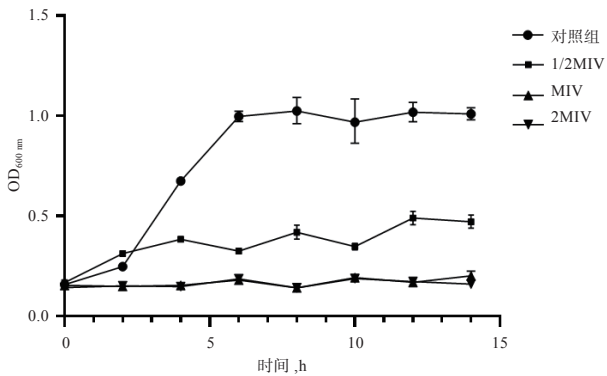
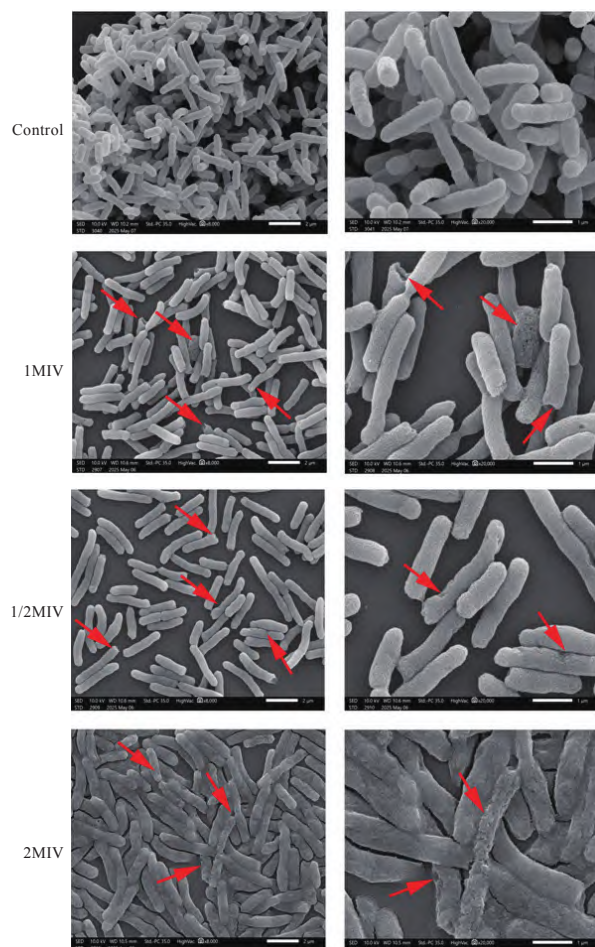


图 3 CFS 对沙门氏菌抑菌生长曲线图

2.4 扫描电镜观察 CFS 对沙门氏菌菌体形态 使用 0、1/2 MIV、MIV、2 MIV 的 CFS 处理沙门氏菌后，沙门氏菌细胞结构的损伤随 CFS 浓度增大愈加明显。如图

4 所示, 0 处理组的沙门氏菌菌体为短杆状, 形态较为饱满, 菌体表面光滑, 呈现出典型的杆菌形态结构。经 1/2 MIV 的 CFS 处理后, 部分沙门氏菌菌体细胞膜和细胞壁发生轻微破损。随着 CFS 浓度升高到 MIV, 部分细菌表面出现皱缩和塌陷, 菌体变形。经浓度为 2 MIV 的 CFS 处理后, 菌体细胞膜和细胞壁完全发生破裂并伴有内容物的流出、菌体表面出现严重的凹陷, 丧失了原本杆状形态。说明 CFS 可显著破坏沙门氏菌的表现形态, 且破坏程度与 CFS 浓度呈正相关关系。



箭头所指为经 CFS 处理后沙门氏菌菌体细胞破损及塌陷部位。

图 4 不同浓度的 CFS 处理沙门氏菌的扫描电镜图

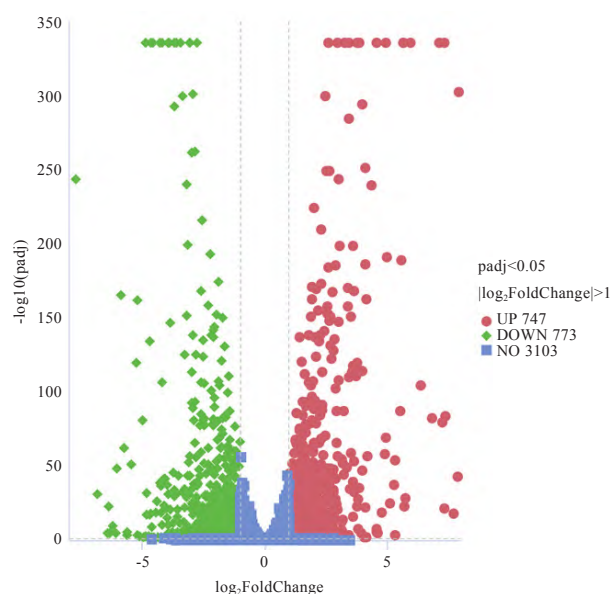
2.5 转录组结果分析

2.5.1 差异表达基因 (DEGs) 分析

以 $|\log_2(FC)| > 1$ 且 $\text{padj} < 0.05$ 为标准共筛选得 1 520 个差异表达基因, 其中 747 个基因显著上调、773 个基因显著下调, 下调基因略多于上调基因, 数据可视化火山图 (图 5)。

2.5.2 GO 富集分析

CFS 处理后的沙门氏菌筛选获得的 1 520 个差异表达基因被分为 471 个显著丰富的基因



$\log_2\text{FoldChange}$ 表示两组样本间表达差异的倍数变化值, Padj 值为基因表达量变化差异的统计学检验值; UP 为显著上调, Down 为显著下调, No 为不显著。

图 5 沙门氏菌两处理组间差异表达基因

分类群, 275 项对应于生物过程, 35 项对应于细胞组分, 161 项对应于分子功能。其中, 差异表达基因主要作用于生物学过程和分子功能。差异基因分布较多的生物过程 (Biological Process) 有细胞氮化合物 (Cellular Nitrogen Compound)、芳香族化合物 (Aromatic Compound) 等生物合成过程, 分子功能 (Molecular Function) 中差异基因主要富基在氧化还原酶活性 (Oxidoreductase Activity)、碳水化合物跨膜转运蛋白活性 (Carbohydrate Transmembrane Transporter Activity) 等, 而细胞组分 (Cellular Component) 主要集中在膜的固有成分 (Intrinsic Component of Membrane)、胞内细胞器 (Intracellular Organelle) 等。由此推测 CFS 可能影响沙门氏菌的分子生物合成过程、能量合成以及物质转运代谢等过程, 来抑制沙门氏菌生长。

2.5.3 KEGG 富集分析

KEGG 通路富集以 $\text{padj} < 0.05$ 作为显著性富集的阈值, 富集结果如图 7 所示, 结果显示 CFS 处理后沙门氏菌有 694 个 DEGs 注释到了 90 个 KEGG 代谢通路中。主要涉及磷酸转移酶系统 (Phosphotransferase System)、碳代谢 (Carbon Metabolism)、群体感应 (Quorum Sensing)、三羧酸循环 (TCA Cycle) 等代谢途径。

2.5.4 碳水化合物代谢和能量代谢调控相关差异表达基因变化

KEGG 代谢通路发现 CFS 处理会使沙门氏菌细胞的能量代谢通路发生显著变化, 最为明显的是参

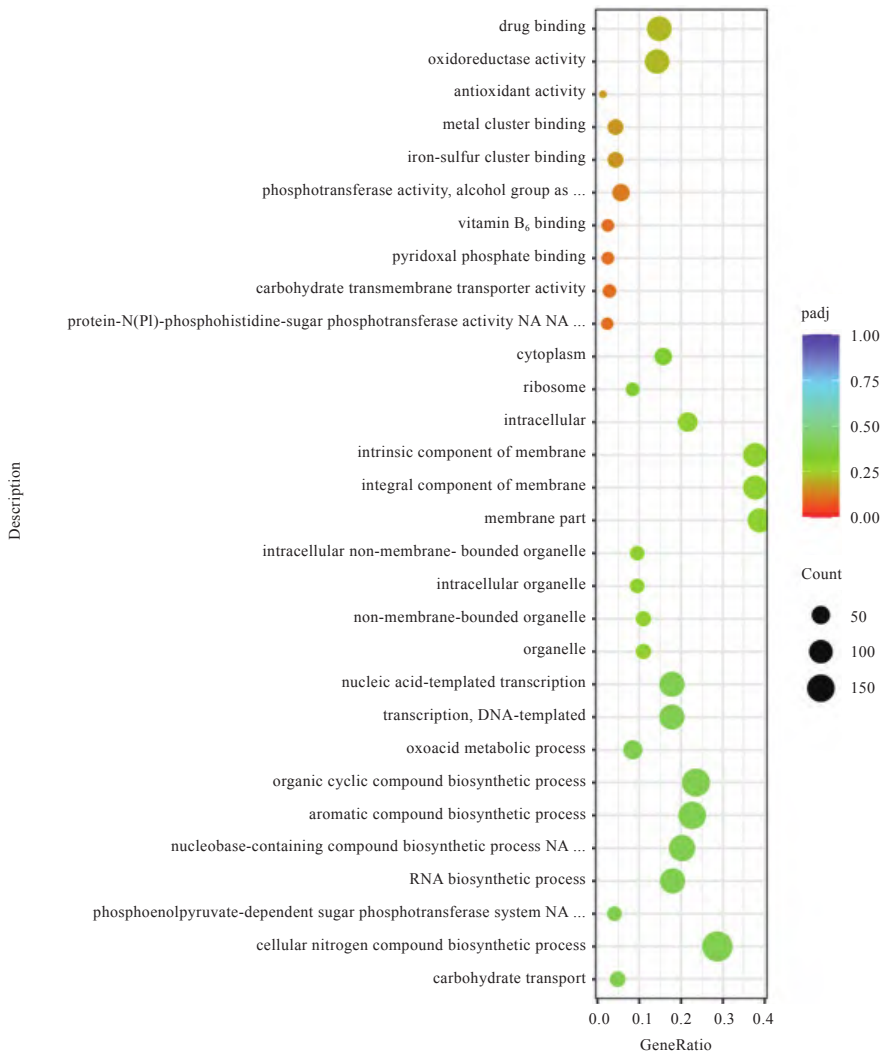


图 6 差异表达基因 GO 注释分类图

与三羧酸循环（TCA Cycle）通路中的 DEGs 中有 20 个基因均下调表达，包括编码琥珀酰 CoA 合成酶的基因（*sucB*、*sucC*、*sucD*、*sdhD*）、编码延胡索酸水化酶的基因（*fumC*、*frdA*、*frdD*、*frdB*、*fumA*）及编码柠檬酸合酶的基因（*glcA*）等；丙酮酸代谢（Pyruvate metabolism）通路中有 9 个基因上调表达，18 个基因下调表达，其中包括编码多功能醇脱氢酶的基因（*adhE*）及编码丙酮酸脱氢酶的基因（*aceE*、*aceF*）；糖是细菌的主要碳源^[19]，在沙门氏菌中其摄取与磷酸化主要通过磷酸转移酶系统（PTS）实现^[20]。本研究中，共有 31 个 DEGs 涉及 PTS 系统，有 14 个基因上调表达，17 个基因下调表达。其中编码葡萄糖醇 / 山梨醇特异性蛋白的基因（*slrB*、*srlA*、*srlE*）、编码编码甘露糖特异性酶基因（*manZ*、*manX*、*manY*）以及编码葡萄糖特

异性 PTS 系统的 EIICB 亚基的基因（*ptsG*）均下调表达。

综合以上结果，藏羊源粪肠球菌 CFS 可能通过抑制 TCA 循环中的酶活性、下调丙酮酸代谢关键酶编码的基因表达和抑制 PTS 系统中关键基因的表达来抑制沙门氏菌细胞的能量供应机制，从而抑制沙门氏菌的生长发育来获得抑菌效果。

2.5.5 RT-qPCR 验证转录组数据 为验证转录组数据的可靠性，以 16s rRNA 为内参，随机选取了 8 个差异表达基因（4 个上调，4 个下调）进行 RT-qPCR 验证。如图 9 所示，RT-qPCR 基因表达趋势与转录组数据中基因表达趋势一致，证明本研究转录组分析结果可靠。

3 讨论

粪肠球菌通过黏附于肠道表面形成屏障保护，在肠

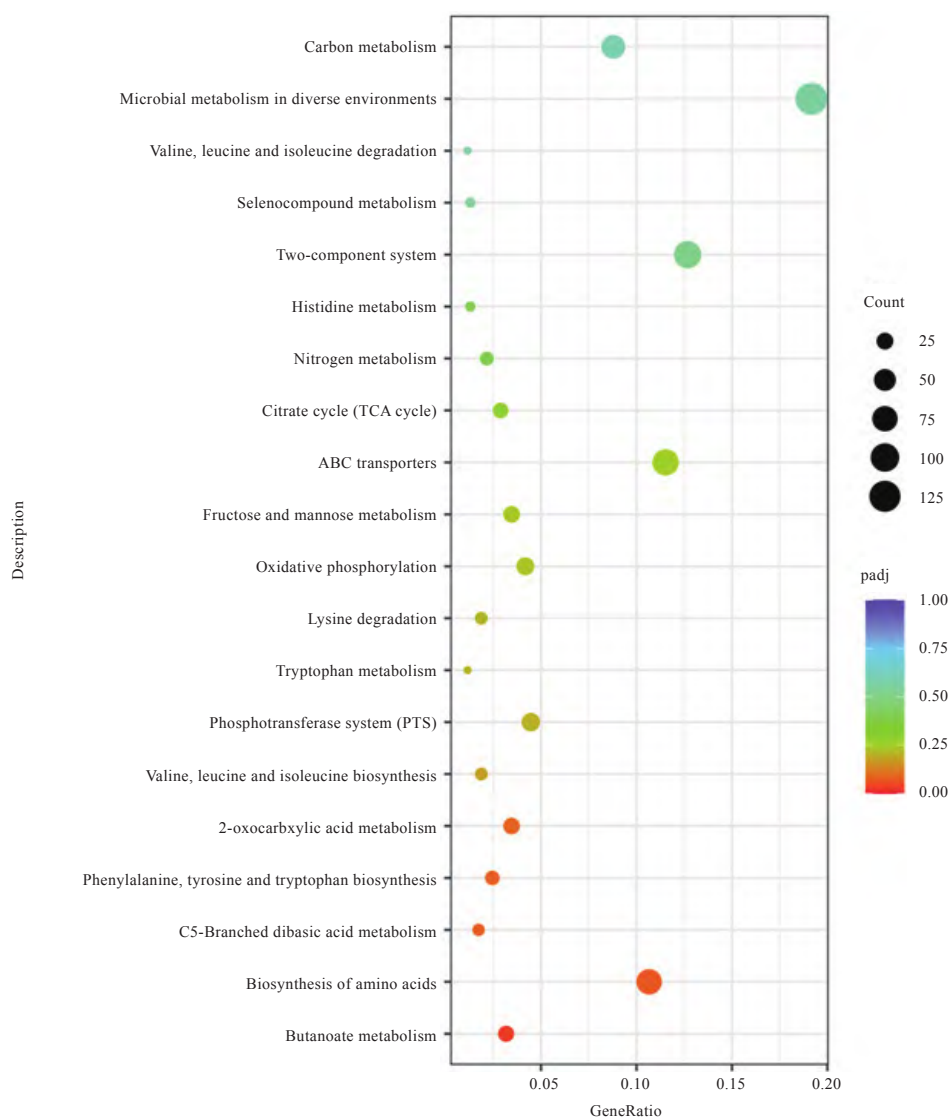


图 7 差异基因 KEGG 通路富集结果图

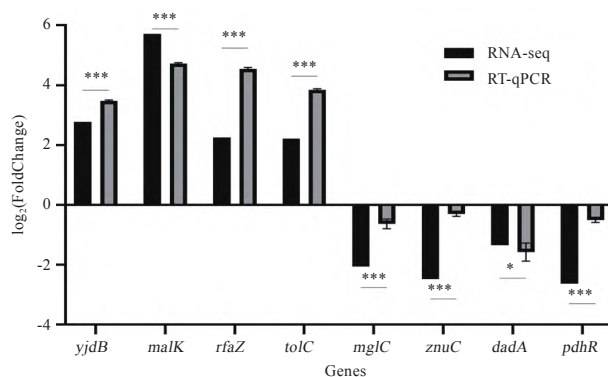


图 8 转录组数据 RT-qPCR 验证

道上皮形成生物膜,可以有效抑制肠道病原菌,维护宿主的肠道健康,且其产生的有机酸、细菌素等抑菌物质能通过破坏靶细菌细胞膜完整性、干扰细胞壁合成等方

式发挥抑菌作用^[15,21]。曹硕^[22]研究发现用粪肠球菌细菌素 CHQS 作用伊氏李斯特菌后,伊氏李斯特菌的生长被抑制,且菌体细胞受到严重损伤;许喜林等^[23]研究发现粪肠球菌 EF-ZA1107-06 能够产生有机酸,起到一定的抑菌作用。这表明有机酸、细菌素等对 CFS 抗菌活性具有重要作用。与之不同的是本研究粪肠球菌 CFS 对沙门氏菌细胞膜的损伤程度更严重。这可能由于 CFS 中包含多种具有协同作用的抑菌成分,如细菌素与有机酸的 pH 协同效应,或不同细菌素间的增效作用,这需要后续对 CFS 中抑菌活性物质进行分离纯化后确定。

通过抑菌实验证实 CFS 对沙门氏菌具抑菌作用,借助转录组学分析其抑菌机制。KEGG 与 GO 富集分析表明, CFS 可显著抑制碳水化合物代谢通路关键酶活

性,干扰PTS系统相关基因表达;同时,KEGG富集的双组分信号系统(TCS)通路基因亦发生改变。本研究,添加CFS后参与双组分信号系统的DEGs共88个,其中41个上调、47个下调。由组氨酸激酶(HK)和应答调控蛋白(RR)组成的ArcA/B系统参与细菌运动、毒力、营养获取及包膜应激等生理活动^[24-25]。作为传感器激酶的ArcB可感应微需氧/厌氧环境并自磷酸化,进而转磷酸化反应调节分子ArcA,磷酸化ArcA作为负转录调节因子抑制有氧呼吸途径相关酶靶操纵子表达,如抑制编码琥珀酸脱氢酶复合体的sdhABCD基因^[26-28]。当CFS与沙门氏菌共培养时,CFS中抑菌活性物质(有机酸、细菌素)改变沙门氏菌胞内微环境(pH降低、氧化应激),促使沙门氏菌arcB基因上调以调控细胞内稳态,细胞质中的RR蛋白通过下调arcA基因表达响应刺激,进而抑制下游三羧酸循环及有氧呼吸中sdhA、sdhB等编码琥珀酸脱氢酶基因表达,阻碍其能量代谢与有氧呼吸过程,此结果与CFS抑制TCA循环中酶活性的分析一致。

鞭毛是细菌运动的重要器官,同时也参与生物膜的形成以及一些毒力因子的表达调控^[29]。鞭毛缺失可能降低细菌的运动能力和生物膜形成能力,已有研究证明敲除鞭毛基因fliI会使菌落迁徙能力减弱,细菌运动能力下降,生成的生物膜附着能力下降,可能会导致其致病性降低^[30]。枯草芽孢杆菌KU43的CFS能够通过抑制单核增生李斯特菌编码鞭毛的关键基因FliG和flgE的表达,限制其泳动扩散,有效抑制单增李斯特菌生物膜形成的早期过程^[31]。本研究中,沙门氏菌鞭毛合成相关因子fliB、fliD、fliT、fliS、fliA均表达下调,推测CFS在作用沙门氏菌后,通过控制其鞭毛基因的表达,限制其泳动扩散,来抑制沙门氏菌生物膜初期的形成,进而有效降低沙门氏菌的致病性。

沙门氏菌生物被膜是其产生耐药性的关键因素,能够增强其对不良环境的抵抗力,因此益生菌CFS对沙门氏菌生物膜形成的干预机制成为研究热点。诸多研究已证实益生菌CFS可有效抑制沙门氏菌生物膜形成,如Liu等^[32]发现嗜黏液阿克曼氏菌的CFS能抑制鼠伤寒沙门氏菌运动,降低细胞疏水性及自聚集性,进而削弱生物膜形成。胞外多糖作为生物被膜核心成分,其合成依赖糖代谢等多种酶和转运系统的协同作用^[33],王晶^[34]通过基因敲除实验,明确了糖代谢与沙门氏菌生

物膜形成的关联;此外,编码外膜蛋白的ompW基因在生物膜形成、铁代谢调控及铁稳态维持中发挥重要作用^[35]。本研究中,外膜蛋白基因ompW较对照组下调约88%,提示其可能参与了对沙门氏菌生物膜形成的抑制过程。由此推测,藏羊源粪肠球菌的CFS在与沙门氏菌共培养时,一方面可能通过下调鞭毛相关基因表达,抑制生物膜初期形成;另一方面,通过干扰以糖代谢为核心,涉及TCA循环、PTS系统和TCS等通路的复杂调控网络,限制沙门氏菌生物膜的完整构建。但不足的是本研究未验证关键差异基因(arcA、ompW、sdhA等)的功能,需后续通过基因敲除实验进一步确认。

4 结 论

本试验结果显示,藏羊源粪肠球菌CFS可导致沙门氏菌细胞膜塌陷褶皱、内容物外泄,从而破坏细菌细胞完整性。通过抑制TCA循环酶活性、下调丙酮酸代谢关键酶编码基因及下调PTS系统关键基因表达,阻断能量供应以抑制沙门氏菌生长。此外,CFS还可通过下调鞭毛相关基因抑制生物膜初期形成,干扰糖代谢调控网络限制生物膜形成。

参考文献:

- [1] Worley M J. *Salmonella* type III secretion system effectors[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(6): 2611.
- [2] Guan L, Hu A, Ma S, et al. *Lactiplantibacillus plantarum* postbiotic protects against *Salmonella* infection in broilers via modulating NLRP3 inflammasome and gut microbiota[J]. Poult Sci, 2024, 103(4): 103483.
- [3] Oh H, Choi Y, Lee J. Antibiotic-resistant *Salmonella* in animal products jeopardize human health[J]. Food Sci Anim Resour, 2025, 45(2): 409-428.
- [4] Tazehabadi M H, Algburi A, Popov I V, et al. Probiotic bacilli inhibit *Salmonella* biofilm formation without killing planktonic cells[J]. Front Microbiol, 2021, 12: 615328.
- [5] Evangelista A G, Correa J A F, Dos santos J V G, et al. Cell-free supernatants produced by lactic acid bacteria reduce *Salmonella* population in vitro[J]. Microbiology(Reading), 2021, 167(11): 10.
- [6] 宋乐辉. 鸡源性粪肠球菌的分离及益生特性研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2023.
- [7] 周晓莉. 粪肠球菌EF-ZA1107-06的益生性及高密度培养的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2021.
- [8] Cai H, Wang Q, Han X, et al. In vitro evaluation of probiotic activities and anti-obesity effects of *Enterococcus faecalis* EF-1 in mice fed a high-fat diet[J]. Foods, 2024, 13(24): 4095.
- [9] Shehata A A, Tarabees R, Basiouni S, et al. Effect of a potential probiotic candidate *Enterococcus faecalis*-1 on growth perf-

- ormance, intestinal microbiota, and immune response of commercial broiler chickens[J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2020, 12(2): 451-460.
- [10] 安思雨, 刘晓蕊, 方琼亚, 等. 乳酸菌合生元及其在动物生产中的应用研究进展 [J]. *饲料工业*, 2025, 46(5): 19-24.
- [11] Żolkiewicz J, Marzec A, Ruszczynski M, et al. Postbiotics-A step beyond pre- and probiotics[J]. *Nutrients*, 2020, 12(8): 2189.
- [12] Hu A, Huang W, Shu X, et al. *Lactiplantibacillus plantarum* postbiotics suppress *Salmonella* infection via modulating bacterial pathogenicity, autophagy and inflammasome in mice [J]. *Animals*, 2023, 13(20): 3215.
- [13] 舒鑫. 植物乳杆菌后生元缓解仔猪沙门氏菌性炎症的作用效果及机理 [D]. 杭州: 浙江农林大学, 2024.
- [14] Yi E J, Nguyen T T M, Jin X, et al. Human milk-derived *Enterococcus faecalis* HM20: A potential alternative agent of antimicrobial effect against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Microorganisms*, 2024, 12(2): 306.
- [15] 杨珍珠, 陶乐仁, 赵陆恺, 等. 产细菌素 Enterocin Y3 粪肠球菌对小鼠肠道菌群及代谢功能的影响 [J]. *中国食品学报*, 2024, 24(2): 99-109.
- [16] 陈晓慧, 徐淑琴, 马祥兆, 等. 欧拉型藏羊源粪肠球菌的分离鉴定及药敏实验 [J]. *食品工业科技*, 2021, 42(22): 133-139.
- [17] He X, Ye G, Xu S, et al. Effects of three different probiotics of Tibetan sheep origin and their complex probiotics on intestinal damage, immunity, and immune signaling pathways of mice infected with *Clostridium perfringens* type C[J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1177232.
- [18] Yang K M, Kim J S, Kim H S, et al. *Lactobacillus reuteri* AN417 cell-free culture supernatant as a novel antibacterial agent targeting oral pathogenic bacteria[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 1631.
- [19] 郑佳佳, 薛松, 杨晴晴, 等. 细菌半乳糖代谢通路及对细菌毒力的影响研究进展 [J]. *微生物学报*, 2025, 65(1): 17-28.
- [20] 翟立公, 李港回, 黄菊, 等. 基于比较转录组学分析 NaCl 胁迫影响德氏沙门氏菌的耐渗机制 [J]. *微生物学报*, 2023, 63(8): 3219-3234.
- [21] 车笑吟, 涂会鑫, 杨舒涵, 等. 产细菌素粪肠球菌 EF-3 的分离鉴定及其细菌素理化特性 [J]. *中国兽医杂志*, 2023, 59(9): 73-76.
- [22] 曹硕. 粪肠球菌细菌素 CHQS 抑菌活性与作用机理的研究 [D]. 天津: 天津大学, 2019.
- [23] 许喜林, 钟舒莹, 周晓莉, 等. 粪肠球菌 EF-ZA1107-06 的安全性评价及益生特性研究 [J]. *华南理工大学学报 (自然科学版)*, 2022, 50(11): 52-61.
- [24] 贺曦, 陈晓慧, 徐淑琴, 等. A 型产气荚膜梭菌 KdpD/E 双组份系统调节毒素基因表达的研究 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2022, 17(6): 626-630.
- [25] Murret-labarthe C, Kerhoas M, Dufresne K, et al. New roles for two-component system response regulators of *Salmonella enterica* serovar typhi during host cell interactions[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(5): 722.
- [26] Brown A N, Anderson M T, Bachman M A, et al. The ArcAB two-component system: Function in metabolism, redox control, and infection[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2022, 86(2): e0011021.
- [27] Iuchi S, Aristarkhov A, Dong J M, et al. Effects of nitrate respiration on expression of the Arc-controlled operons encoding succinate dehydrogenase and flavin-linked L-lactate dehydrogenase[J]. *J Bacteriol*. 1994, 176(6): 1695-1701.
- [28] 刘正. 琥珀酸脱氢酶物种差异性及其抑制剂作用机理研究 [D]. 武汉: 华中师范大学, 2023.
- [29] Minamino T, Kinoshita M. Structure, assembly, and function of flagella responsible for bacterial locomotion[J]. *EcoSal Plus*, 2023, 11(1): eesp00112023.
- [30] 李琴, 周静茹, 张旭华, 等. 铜绿假单胞菌鞭毛基因 *flhI* 的敲除对其鞭毛形成及生物膜生成的影响 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2023, 39(9): 837-842.
- [31] Park Y J, Kim Y J, Yu H H, et al. Cell-free supernatants of *Bacillus subtilis* and *Bacillus polyfermenticus* inhibit *Listeria monocytogenes* biofilm formation[J]. *Food Control*, 2023, 144: 109387.
- [32] Liu J, Zhu W, Liu H, et al. Anti-biofilm and anti-virulence potential of cell free supernatant of *Akkermansia muciniphila* against *Salmonella*[J]. *Food Sci Hum Wellness*, 2024, 13(5): 2677-2689.
- [33] 景泰铭. 三种益生菌无细胞上清液对大肠杆菌生物被膜影响形成的比较研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2023.
- [34] 王晶. 糖代谢相关基因在沙门菌生物被膜形成中的作用及其分子机制 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2024.
- [35] 葛雷, 仇汝龙, 范志宇, 等. 鼠伤寒沙门菌 *ompW* 基因缺失株与回补株的构建及其生物学特性 [J]. *畜牧兽医学报*, 2025, 56(4): 1865-1875.

(责任编辑: 周会会)