

乳酸链球菌素联用美罗培南对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抑菌作用初探

李 静¹, 石 璐¹, 刘 金¹, 王 君², 答 嵘³, 韩 蓓^{1*}

¹西安交通大学医学部公共卫生学院, 西安 710061; ²铜川市疾病预防控制中心, 铜川 727031; ³西安交通大学第一附属医院检验科, 西安 710061

摘 要: 为研究乳酸链球菌素 (nisin, NIS) 与美罗培南 (meropenem, MEM) 联用对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 的抑菌作用, 本研究通过棋盘法联合抑菌试验计算部分抑菌浓度指数 (FICI) 来评价联用抑菌效果, 使用结晶紫染色定量检测药物联用对 MRSA 菌株生物膜生成的影响, 最后通过大蜡螟模型观察药物联用对 MRSA 感染的大蜡螟存活率的影响。结果显示, 在乳酸链球菌素组 (NIS)、美罗培南组 (MEM) 和联用组 (MEM+NIS) 中, MEM+NIS 组对三株 MRSA 分离株均表现为协同抑菌作用, 其 FICI 值分别为 0.375、0.5 和 0.375; 作用 6 h 时, MEM+NIS 组与 NIS 组均可抑制生物膜生成, 但组间均无统计学差异 ($P > 0.05$); 大蜡螟生存模型显示, 五天后, 三株 MRSA 菌株感染的大蜡螟幼虫的 MEM+NIS 组生存率分别为 30%、80%、30%, 其中 Yn2020051 和 Yn2020078, MEM+NIS 组的大蜡螟幼虫存活率均高于 NIS 组、MEM 组和阳性对照组 (PC), 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

关键词: 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 美罗培南; 乳酸链球菌素; 联用; 协同抑菌

中图分类号: R378.1 文献标识码: A

Inhibitory effects of nisin combined with meropenem on methicillin resistant *Staphylococcus aureus*

LI Jing¹, SHI Lu¹, LIU Jin¹, WANG Jun², DA Rong³, HAN Bei^{1*}

¹School of Public Health, Health Science Center of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China; ²Tongchuan City Center for Disease Control and Prevention, Tongchuan 727031, China; ³Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

Abstract: This study explored the antibacterial effect of nisin (NIS) combined with meropenem (MEM) on methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). The minimum inhibitory concentration (MIC) was detected by micro broth dilution method, and the partial inhibitory concentration index (FICI) was calculated by chessboard combined test to evaluate the inhibitory mode. Crystal violet staining test was used to quantitatively detect the effect of drug combination on the biofilm formation of MRSA strains. *Galleria mellonella* model infected by different treated MRSA was established to compare the survival rate. The results showed that the combination of MEM and NIS had synergistic inhibitory effects on the tested three MRSA strains, and the FICI values were 0.375, 0.5 and 0.375 respectively. After 6 hours of treatment, both the combination group (MEM+NIS) and the NIS group could inhibit biofilm formation without statistical difference ($P > 0.05$). The survival rate of *G. mellonella* showed that after five days, the survival rates of larvae infected by three MRSA strains were 30%, 80%, and 30% respectively. For strain Yn2020051 and Yn2020078, the MEM+NIS group had higher survival rate than that of NIS group, MEM group and positive control (PC) group ($P < 0.05$).

Key words: methicillin resistant *Staphylococcus aureus*; meropenem; nisin; combination; synergistic inhibitory

effect

与普通金黄色葡萄球菌相比，耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA）引发的感染有着更长的住院时间和更高的死亡率^[1]。2020年 CHINET 中国细菌耐药监测显示，国内主要地区医疗机构临床分离的金黄色葡萄球菌中，MRSA 的检出率较高，为 31.0%^[2]。万古霉素和达托霉素是临床上治疗 MRSA 感染最常用的抗生素，它们的单独用药方式被批准作为 MRSA 菌血症的单一疗法^[3]。有数据显示按照该标准治疗的效果十分有限，MRSA 菌血症和 MRSA 感染所致心内膜炎等严重的 MRSA 感染死亡率高，尤其是 MRSA 菌血症，其死亡率逐年攀升，目前已达 30%^[4]。与 β -内酰胺类抗生素相比，万古霉素的杀菌速度相对较慢、组织渗透性差且具有潜在的毒性^[5]；达托霉素具有急性肾损伤风险^[6]，这可能与治疗失败有关。此外，近年来临床上也发现了耐万古霉素金黄色葡萄球菌的菌株和耐达托霉素的菌株^[7]。因此迫切需要寻找开发治疗 MRSA 感染的新药和新方法。

NIS 是一种核糖体合成肽，是细菌次生代谢产物，具有广谱抗菌活性，作为食品防腐剂已经在世界范围内广泛使用^[8]，已有报道 NIS 对某些抗生素具有增效作用^[9]。MEM 属新型 β -内酰胺类抗生素，具有对 β -内酰胺酶稳定，不良反应少等优点，但并不常用于革兰氏阳性菌感染的治疗，本研究初步探索了 NIS 联用 MEM 对 MRSA 的抑菌效果及其潜在作用机制，为开发新的抗菌治疗方案提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 菌株、实验昆虫、培养基及试剂

16 株 MRSA 菌株由铜川市疾病预防控制中心提供；质控菌株金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 为实验室保存；体重为 300 ± 25 mg 的大蜡螟幼虫（*Galleria mellonella*）购于天津惠裕德生物科技有限公司。

使用 LB 培养基/LB 固体培养基 37 °C 过夜培养 MRSA 菌株；主要试剂有 nisin（Sigma-Aldrich，V900928）；美罗培南三水合物（上海源叶生物科技有限公司，T27M11K110264）；美罗培南药敏片 10 μ g/片（杭州微生物试剂有限公司，PD26）；37% 浓盐酸（洛阳昊华化学试剂有限公司，60606）；PBS、无水乙醇（上海麦克林生化科技有限公司，E875930）；甲醇（广州市金华大化学试剂有限公司，20160307），除 NIS 为 Sigma 分析纯试剂，其余试剂均为国产分析纯。使用 0.01 mol/L 的稀盐酸溶液将 NIS 配置为 0.1 g/mL 母液，无菌水配置 1.92 mg/mL 的 MEM 母液，0.22 μ m 无菌滤器过滤除菌，保存于 -20 °C。

1.2 方法

1.2.1 抑菌圈试验

从平板上挑取单菌落于 LB 液体培养基中，37 °C 恒温振荡培养 24 h，使用 LB 培养基调整菌液 OD₆₀₀ = 0.1，用无菌棉签蘸取稀释菌液均匀涂布于固体平板表面，平板上分别放置美罗培南药敏片、安装牛津杯后滴加 15 μ L 0.05 g/mL 的 NIS、MEM 药敏片加 15 μ L 0.05 g/mL

的 NIS，平板置于 37 °C 的恒温培养箱培养 16~18 h，测量各组抑菌圈直径并计算每株菌 MEM+NIS 组相比 MEM 组的抑菌圈增加倍数，计算公式：

$$\text{抑菌圈增加倍数} = \frac{A}{B} - 1$$

式中，*A*：联用组抑菌圈直径；*B*：单用组抑菌圈直径。

1.2.2 MIC 测定

用微量肉汤稀释法测定 NIS 和 MEM 分别对目标菌株的 MIC。平板上挑取单菌落于 LB 液体培养基中 37 °C 恒温振荡培养 24 h，使用 LB 培养基调整菌液的 OD₆₀₀ 为 0.1 备用，使用 LB 液体培养基稀释药液，使 NIS 终浓度分别为：51.2、25.6、12.8、6.4、3.2、1.6、0.8、0.4、0.2、0.1、0 mg/mL，MEM 终浓度分别为：1.024、0.512、0.256、0.128、0.064、0.032、0.016、0.008、0.004、0.002、0 mg/mL；处理孔每孔加入 150 μL OD₆₀₀ = 0.1 的菌液和 50 μL 药液，阴性对照孔为加入 200 μL 无菌 LB 液体培养基，每组设置三个重复，加样后置于 37 °C 的恒温培养箱 16~18 h 后观察，以肉眼不见液体浑浊所对应的最小药物浓度为该药物的 MIC 值。

1.2.3 棋盘法联合抑菌试验

根据以上试验所得药物单独的 MIC，分别使用 LB 液体培养基稀释成 7 个浓度梯度的药液，每孔加入 50 μL 药液，使最终含药孔中药物的浓度为 2 MIC、1 MIC、1/2 MIC、1/4 MIC、1/8 MIC、1/16 MIC、1/32 MIC，再加入 150 μL 菌液，使菌液最终浓度为 OD₆₀₀ = 0.075，于 37 °C 的恒温培养箱培养 16~18 h 后观察，获得最佳抑菌组合时两个药物分别的 MIC 值，并计算部分抑菌浓度指数（fractional inhibitory concentration index, FICI）。计算公式如下：

$$\text{FICI} = \frac{A}{B} + \frac{C}{D}$$

式中，*A*：联用时 NIS 的 MIC；*B*：NIS 单用时 MIC；*C*：联用时 MEM 的 MIC；*D*：MEM 单用时 MIC。

FICI 的结果判定方法：当 FICI ≤ 0.5 为协同作用，0.5 < FICI ≤ 1 为累加作用，1 < FICI ≤ 2 为无相关作用，FICI > 2 为无关作用^[10]。

1.2.4 结晶紫半定量检测生物膜的形成量

使用 LB 液体培养基稀释 NIS 和 MEM 药液至需要的浓度，单独作用组：NIS 药液终浓度为 1.6 mg/mL（用于 Yn2020004）、3.2 mg/mL（用于 Yn2020051 和 Yn2020078）和 6.4 mg/mL（用于 Yn202025923）；MEM 药液的终浓度为 0.004 mg/mL（用于 Yn2020004 和 Yn2020051）、0.002 mg/mL（用于 Yn2020078 和 Yn202025923）；联用作用组：对于 Yn2020004，MEM 0.004 mg/mL、NIS 1.6 mg/mL，对于 Yn2020051：MEM 0.004 mg/mL、NIS 3.2 mg/mL，对于 Yn2020078：MEM 0.002 mg/mL、NIS 3.2 mg/mL，对于 Yn202025923：MEM 0.002 mg/mL、NIS 6.4 mg/mL。于平板上挑一单菌落于 LB 液体培养基中，37 °C 恒温振荡培养 24 h，将 OD₆₀₀ 调整至 1 备用，每孔加样总体积为 200 μL，其中 OD₆₀₀ = 1 的菌液为 150 μL，对照组（CK）则加菌液不加药液，每孔设置 3 个重复，加样完毕后放入 37 °C 的恒温培养箱，分别

为 6、12 和 24 h 检测生物膜。取出 96 孔板，使用移液器小心吸取掉菌液，再用无菌 PBS 冲洗 3 次，于室温晾干后加甲醇固定 15 min，弃液体后再次晾干，然后使用 1% 结晶紫染色 15 min，再使用无菌水洗涤 3 次至对照孔无色，晾干后加无水乙醇溶解，使用酶标仪在 595 nm 处测定吸光度。

$$\text{生物膜抑制率} = \frac{A-B}{B} \times 100\%$$

式中：A：PC 组生物膜形成量；B：处理组生物膜形成量。

1.2.5 大蜡螟感染模型

首先确定最佳染菌量，将新鲜待测菌液稀释到 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 CFU/mL 3 个浓度，大蜡螟分 5 组，每组 10 只，微量注射器从昆虫左后足注射 20 μ L 菌液入昆虫的腹腔，虫子置于无菌平皿中，37 $^{\circ}$ C 连续观察 3 天，虫体发黑为死亡，PBS 处理组作为 NC 组，以大蜡螟在 72 h 死亡率为 80% 的染菌浓度作为最终感染浓度。

在 MRSA 菌液中加入不同浓度的药物，一次性注射后放在无菌塑料平皿中，37 $^{\circ}$ C 连续观察 5 天，虫体发黑为死亡。药物最终浓度为棋盘试验结果显示的最佳浓度的 1/2，设置 NIS 组、MEM 组、MEM+NIS 组、PC 组和 NC 组，最终计算大蜡螟幼虫每组每日存活率，并使用 Graphpad 8.0 绘制生存曲线。

$$\text{大蜡螟幼虫每组每日存活率} = \frac{A}{B} \times 100\%$$

式中：A：该组该日大蜡螟幼虫存活数；B：每组大蜡螟幼虫起始总数。

1.3 数据处理

采用 SPSS 23.0 和 Graphpad 8.0 统计软件进行数据处理，以 $P < 0.05$ 认为有统计学差异。

2 结果

2.1 初步观察药物联用抑菌效果

通过比较 NIS 共同作用前后 MEM 抑菌圈扩大倍数来筛选，我们从 16 株 MRSA 菌株中筛选出了三株对 MEM 和 NIS 联合作用最敏感的菌株以作为实验菌株，编号分别为 Yn2020004、Yn2020051 和 Yn2020078，它们的抑菌圈扩大倍数分别为 0.38、0.62、0.25（见表 1 和图 1）。

表 1 每株菌的 MEM+NIS 组相比 MEM 组的抑菌圈增加倍数

Table 1 Inhibition zone diameter increase multiple of the MEM + NIS group compared to the MEM group in each

菌株 Bacterial strain	strain 抑菌圈直径 Diameter of inhibitory zone (mm)			抑菌圈增加倍数 Enlargement of inhibitory zone
	MEM	NIS	MEM+NIS	
	Yn2020093	40	13	
Yn2020120	18	5	13	-0.28
Yn2020004	16	6	22	0.38
Yn2020067	23	25	22	-0.04

Yn2020110	37	20	37	0
Yn2020130	20	7	20	0
Yn2020002	20	7	20	0
Yn2020077	22	20	23	0.05
Yn2020070	28	6	22	-0.21
Yn2020051	13	7	21	0.62
Yn2020043	15	5	18	0.20
Yn2020078	12	5	15	0.25
Yn2020083	22	15	27	0.23
Yn2020065	27	6	25	-0.07
Yn2020098	35	5	38	0.09
Yn2020050	23	7	22	-0.04
ATCC 25923	39	22	43	0.10

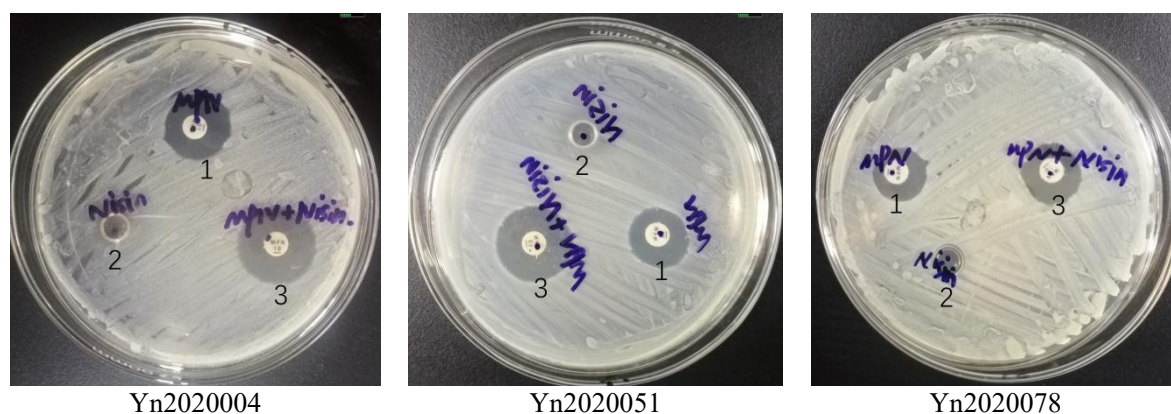


图 1 平板抑菌圈法筛选 MRSA 菌株

Fig. 1 Screening of MRSA strains by Disk Diffusion Testing

注：1：MEM；2：NIS；3：MPM + NIS。

2.2 测定药物 MIC 并判定药物联合作用方式

以 ATCC 25923 为标准株，通过微量肉汤稀释法测定两种药物单独作用菌株的 MIC，结果发现，MEM 单独作用于 Yn2020004、Yn2020051、Yn2020078 和 ATCC 25923 的 MIC 分别为 32、16、16 和 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，NIS 单独作用于 Yn2020004、Yn2020051、Yn2020078 和 ATCC 25923 的 MIC 分别为 6.4、12.8、12.8 和 12.8 mg/mL 。根据 MIC 结果进一步使用棋盘法联合抑菌试验来量化两种药物联用的抑菌效果，结果发现，当两种药物联用时，对于 Yn2020004，MEM 和 NIS 的 MIC 分别下降至 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 1.6 mg/mL ，对于 Yn2020051，MEM 和 NIS 的 MIC 分别下降至 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 3.2 mg/mL ，对于 Yn2020078，MEM 和 NIS 的 MIC 分别下降至 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 3.2 mg/mL ，而对于 ATCC 25923，MEM 和 NIS 的 MIC 分别下降至 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 6.4 mg/mL ，计算得出，Yn2020004、Yn2020051、Yn2020078 和 ATCC 25923 的 FICI 值分别为 0.375、0.5、0.375 和 0.75（表 2），认为两种药物联用时对三株 MRSA 均为协同抑制作

用，而对于 ATCC 25923 为相加作用。

表2 棋盘法联合抑菌试验测定各菌株对药物作用的MIC和FICI

Table 2 Determination of MIC and FICI of tested strain to drugs by chessboard method combined with antimicrobial test

菌株 Bacterial strain	药物单独作用的MIC		药物联合作用的MIC		FICI	抑菌作用方式 Mode of antibacterial effect
	MIC of single drug		MIC of combined drugs			
	MEM ($\mu\text{g/mL}$)	NIS (mg/mL)	MEM ($\mu\text{g/mL}$)	NIS (mg/mL)		
Yn2020004	32	6.4	4	1.6	0.375	协同作用
Yn2020051	16	12.8	4	3.2	0.5	协同作用
Yn2020078	16	12.8	2	3.2	0.375	协同作用
ATCC 25923	8	12.8	2	6.4	0.75	相加作用

2.3 测定药物联用对 MRSA 生物膜的影响

在培养到6 h时，NIS不论单用还是联用MEM，对Yn2020051和Yn2020078两株MRSA菌株和标准株ATCC 25923的生物膜形成均有抑制作用，NIS单用时对Yn2020051和Yn2020078的生物膜的抑制率分别为60.04%和62.73%，联用MEM时，对Yn2020051和Yn2020078的生物膜的抑制率分别为60.27%和71.52%（见表3）；对Yn2020051，NIS组、MEM组和MEM+NIS组的生物膜生成量均低于CK组，差异均有统计学意义（ $F = 26.295$ ， $P < 0.001$ ； $F = 4.405$ ， $P = 0.012$ ； $F = 16.452$ ， $P < 0.001$ ），对Yn2020078，NIS组和MEM+NIS组的生物膜生成量均低于对照组，差异均有统计学意义（ $F = 20.440$ ， $P < 0.001$ ； $F = 18.112$ ， $P < 0.001$ ），而MEM+NIS组与NIS组之间差异在四个菌株中均无统计学意义（ $P > 0.05$ ）（见图2）。

表3 结晶紫染色法半定量不同药物处理下MRSA在6 h的生物膜抑制率

Table 3 Semi-quantitative biofilm inhibition rate of MRSA at 6 h under different treatments by crystal violet staining (%)

分组 Group	菌株 Strain			
	Yn2020004	Yn2020051	Yn2020078	ATCC 25923
NIS	12.77	60.04	62.73	66.91
MEM	-13.37	22.78	7.14	5.24
MEM+NIS	12.71	60.27	71.52	64.09

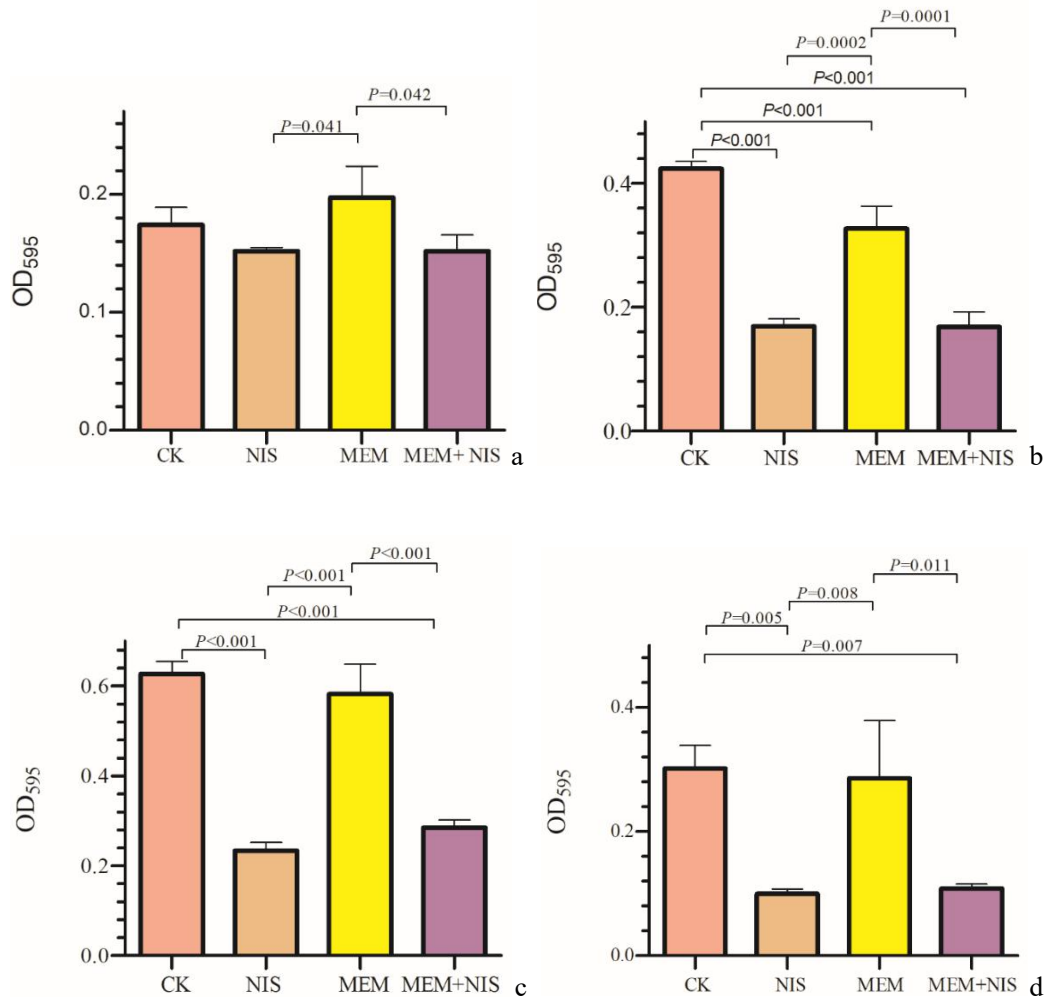


图2 结晶紫染色法半定量不同药物处理组MRSA的6 h生物膜生成量

Fig. 2 The biofilm producing of MRSA at 6 h under different treatments measured by semi-quantitative crystal violet staining

注: a. MRSA Yn2020004; b. MRSA Yn2020051; c. MRSA Yn2020078; d. *S. aureus* ATCC 25923.

2.4 大蜡螟染毒实验评价药物组合对MRSA毒力

通过预实验确定Yn2020004、Yn2020051、Yn2020078和ATCC 25923的接种浓度均为 1×10^7 CFU/mL, 接种体积均为20 μ L/只, 以该剂量感染后连续观察五天, 绘制大蜡螟的生存曲线。到第五天时, Yn2020004、Yn2020051和Yn2020078三株MRSA菌株和标准株ATCC 25923感染的大蜡螟的MEM+NIS组生存率分别为30% (3/10)、80% (8/10)、30% (3/10)和40% (4/10), NIS组的生存率分别为10% (1/10)、20% (2/10)、10% (1/10)和20% (2/10)、MEM组的生存率分别为20% (2/10)、10% (1/10)、0 (0/10)和20% (2/10), 而CK组的存活率分别为10% (1/10)、10% (1/10)、20% (2/10)和20% (2/10)。对Yn2020051, MEM+NIS组大蜡螟幼虫存活数高于NIS组、MEM组和CK组, 差异均有统计学意义($F = 5.439$, $P = 0.001$; $F = 4.767$, $P = 0.001$; $F = 8.820$, $P < 0.001$); 对Yn2020078, MEM+NIS组大蜡螟幼虫存活数高于NIS组、MEM组和CK组, 差异均有统计学意义($F = 4.989$, $P < 0.001$; $F = 5.167$, $P = 0.001$; $F = 3.934$, $P = 0.004$)。生存曲线见图3。

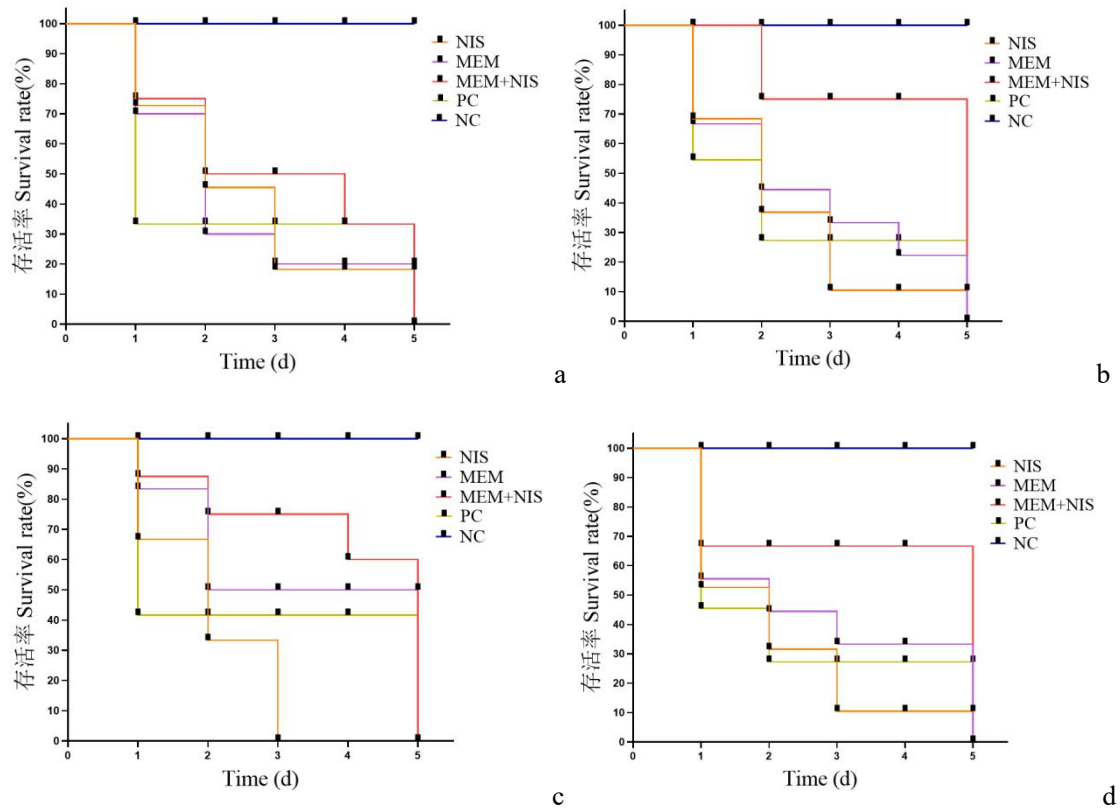


图3 NIS、MEM、MEM+NIS、PC和NC组的大蜡螟五日存活率

Fig. 3 Five-day survival rate of *Galleria mellonella* in NIS, MEM, MEM+NIS, PC and NC groups

注：a. MRSA Yn2020004； b. MRSA Yn2020051； c. MRSA Yn2020078； d. *S. aureus* ATCC 25923。

3 讨论与结论

NIS是由属于乳球菌属和链球菌属的一组革兰氏阳性菌所产生的细菌素，是一种天然多肽类化合物，可有效抑制引起食品腐败的大多数革兰氏阳性菌，尤其对产生孢子的革兰氏阳性细菌的抑制作用最明显^[11]。

NIS能在细菌细胞膜上形成通透性孔道，还能抑制细菌细胞壁的合成^[12]，MEM的抑菌机制主要为抑制细胞壁的合成，且不被细菌产生的 β -内酰胺酶水解^[13]，本研究显示，NIS单独作用于MRSA分离株和金黄色葡萄球菌标准株ATCC 25923时，表现出抗菌活性，这与之前报道研究结果一致，另外，本研究还显示了NIS与MEM联用时对于MRSA菌株的协同抑制作用，这可能与NIS能提高细胞膜的通透性有关。

抗感染治疗时，病灶部位的生物膜内抗生素的浓度越往内部越低，处于膜内深处的细菌在低浓度的抗生素的刺激下较易产生耐药性，这能提高耐药菌株产生的概率^[14]，同时，生物膜对菌体的保护导致抗菌药物难以进入，处于低代谢状态下的细菌对抗菌药物的敏感性降低，这正是临床上慢性感染病灶难以清除，病情反复和迁延不愈主要原因^[15]。本研究发现，NIS单独使用时能降低金黄色葡萄球菌产生生物膜的量，而MEM联合NIS时，与NIS单独使用相比，生物膜产生量并未显著减少，可能是由于生物膜的形成并非菌体随意积聚，从浮游状态到生物膜形成的各个阶段均受到胞外基质组分、各种复杂有序的信号传导通路和所处环境的

影响, MRSA生物膜的破坏主要是NIS在起作用, MEM并未起到协同增效作用。

本研究通过模式生物大蜡螟的感染模型发现, NIS与MEM联用后可显著提高被MRSA感染的大蜡螟的存活率, 这初步证明NIS与MEM在体内对MRSA的毒性有显著的抑制, 根据上述研究, 有可能与药物联用降低了体内菌的成活率有关, 已有研究发现, NIS与抗菌药物联用能显著降低金黄色葡萄球菌肠毒素(SEC)的产生^[16], 本研究中大蜡螟生存率的上升也有可能与此有关。

病理学和毒理学研究均显示, NIS对于人体是安全无毒的, 因此其具有较高的应用价值, 本研究发现其与MEM共同使用有协同抑制MRSA的作用, 希望能为临床上改进治疗方案提供参考。

参考文献

- 1 Lakhundi S,Zhang K.Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*:molecular characterization,evolution,and epidemiology[J].Clin Microbiol Rev,2018,31(4):e00020-18.
- 2 Hu FP,Guo DY,Zhu DM,et al.CHINET surveillance of bacterial resistance:results of 2020[J].Chin J Infect Chemother(中国感染与化疗杂志),2021,21:377-387.
- 3 Geriak M,Haddad F,Rizvi K,et al.Clinical data on daptomycin plus ceftaroline versus standard of care monotherapy in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia[J].Antimicrob Agents Chemother,2019,63(5):e02483-18.
- 4 Tong SYC,Lye DC,Yahav D,et al.Effect of vancomycin or daptomycin with vs without an antistaphylococcal β -Lactam on mortality,bacteremia,relapse,or treatment failure in patients with MRSA bacteremia:a randomized clinical trial[J].JAMA,2020,323:527-537.
- 5 Pujol M,Miró JM,Shaw E,et al.MRSA bacteremia(BACSARM) trial investigators.Daptomycin plus fosfomycin versus daptomycin alone for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia and endocarditis:a randomized clinical trial[J].Clin Infect Dis,2021,72:1517-1525.
- 6 Moise PA,Culshaw DL,Wong-Beringer A,et al.Comparative effectiveness of vancomycin versus daptomycin for MRSA bacteremia with vancomycin MIC > 1 mg/L:a multicenter evaluation[J].Clin Ther,2016,38(1):16-30.
- 7 Casanova NG,Ruiz MS,Bellido JLM.Mechanisms of resistance to daptomycin in *Staphylococcus aureus*[J].Rev Esp Quimioter,2017,30:391-396.
- 8 Hansen JN.Nisin as a model food preservative[J].Crit Rev Food Sci Nutr,1994,34:69-93.
- 9 Jahangiri A,Neshani A,Mirhosseini SA,et al.Synergistic effect of two antimicrobial peptides,nisin and P10 with conventional antibiotics against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* and colistin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates[J].Microb Pathog,2021,150:104700.
- 10 Liao WL,Sun Y,Chen T,et al.*In vitro* inhibitory activity and biofilm inhibition effects of EDTA-2Na combined with antibacterial agents against *Pseudomonas aeruginosa*[J].Chin J Antibiotics(中国抗生素杂志),2021,46:137-142.
- 11 Shin JM,Gwak JW,Kamarajan P,et al.Biomedical applications of nisin[J].J Appl Microbiol,2016,120:1449-1465.
- 12 Mulders JW,Boerrigter IJ,Rollema HS,et al.Identification and characterization of the lantibiotic nisin Z,a natural nisin variant[J].Eur J Biochem,1991,201:581-584.
- 13 Smith CA,Stewart NK,Toth M,et al.Structural insights into the mechanism of carbapenemase activity of the OXA-48 β -Lactamase[J].Antimicrob Agents Chemother,2019,63(10):e01202-19

- 14 Hall CW and Mah TF.Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria[J].FEMS Microbiol Rev,2017,41:276-301.
- 15 Alves PJ,Barreto RT,Barrois BM,et al.Update on the role of antiseptics in the management of chronic wounds with critical colonisation and/or biofilm[J].Int Wound J,2021,18:342-358.
- 16 Angelopoulou A,Field D,Pérez-Ibarreche M,et al.Vancomycin and nisin A are effective against biofilms of multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* isolates from human milk[J].PLoS One,2020,15:e0233284.

收稿日期：2021-09-23

基金项目：陕西省自然科学基金（2019JM-445）；中央高校基本科研业务费交叉合作项目（xjh012019054）；

陕西省卫生健康科研基金项目（2018E007）

*通信作者 E-mail: hanbei@mail.xjtu.edu.cn