

基于 Web of Science 的环境领域中 VBNC 态细菌研究的文献计量学分析

王美程, 张旖旎, 卢嘉禾, 林志晗, 王小雨*

东北师范大学环境学院, 吉林 长春 130017

王美程, 张旖旎, 卢嘉禾, 林志晗, 王小雨. 基于 Web of Science 的环境领域中 VBNC 态细菌研究的文献计量学分析[J]. 微生物学通报, 2024, 51(6): 2243-2258.

WANG Meicheng, ZHANG Yini, LU Jiahe, LIN Zhihan, WANG Xiaoyu. Web of Science-based bibliometric analysis of VBNC state bacteria in environmental sciences[J]. Microbiology China, 2024, 51(6): 2243-2258.

摘要:【背景】活的但不可培养(viable but non-culturable, VBNC)状态是细菌应对不利环境压力的适应性反应, VBNC 在医学和食品领域已经备受关注, 但在环境领域中近 10 年才开始受到重视。目前, 采用文献计量学对环境领域 VBNC 态细菌的研究尚未见报道。【目的】调查国内外环境领域 VBNC 态细菌的研究现状, 归纳总结其研究热点、趋势与不足, 旨在为环境领域 VBNC 态细菌的研究提供借鉴。【方法】采用 CiteSpace、基于 R 语言的 Bibliometrix 工具包和 VOSviewer 对 Web of Science 核心合集数据库中 1994–2023 年发表的环境领域 VBNC 态细菌文献(416 篇)进行统计与可视化分析。【结果】近 30 年来, 环境领域 VBNC 态细菌研究发文数量呈线性增长($R^2=0.917$), 中国和美国主导了该领域的研究, 欧美科研机构较中国科研机构合作更密切, Oliver DJ、Yu X 是该领域发文最多的作者。研究热点集中于饮用水消毒过程中 VBNC 态细菌的灭活及污染物处理过程中 VBNC 态功能菌的复苏。【结论】环境领域 VBNC 态细菌的研究主要围绕 VBNC 的形成、灭活及复苏开展, 但 VBNC 的灭活技术和复苏方法仍十分有限, 如何提高饮用水中 VBNC 的灭活效率和强化污染物微生物修复过程中 VBNC 的复苏是环境领域 VBNC 态细菌今后研究的发展方向。**关键词:** 活的但不可培养细菌; Web of Science; 文献计量; 可视化分析; 环境生物修复

资助项目: 国家自然科学基金(52070037); 吉林省教育厅首批吉林省专业学位研究生教学案例立项建设项目; 东北师范大学研究生院经费 2022 年重点资助项目(I202101035)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (52070037), the Construction Projects of the First Batch of Professional Degree Postgraduates Teaching Cases in Jilin Province of the Jilin Provincial Department of Education, and the Key Foundation of Graduate School of Northeast Normal University in 2022 (I202101035).

*Corresponding author. E-mail: xywang@nenu.edu.cn

Received: 2023-12-10; Accepted: 2024-01-30; Published online: 2024-03-26

Web of Science-based bibliometric analysis of VBNC state bacteria in environmental sciences

WANG Meicheng, ZHANG Yini, LU Jiahe, LIN Zhihan, WANG Xiaoyu*

School of Environment, Northeast Normal University, Changchun 130017, Jilin, China

Abstract: **[Background]** Viable but non-culturable (VBNC) bacteria with adaptive responses to unfavorable environmental conditions have been extensively studied in the medical and food fields. However, environmental scientists have not paid attention to these bacteria until the last decade. Furthermore, few bibliometric studies in environmental sciences have been conducted regarding VBNC state bacteria. **[Objective]** The study investigated the research status of VBNC state bacteria in environmental sciences and summarized the research hotspots, trends, and shortcomings, aiming to provide references for the research in this field. **[Methods]** CiteSpace, Bibliometrix (a R package), and VOSviewer were used to statistically and visually analyze 416 available articles on VBNC state bacteria in environmental sciences that were published from 1994 to 2023 in the Web of Science Core Collection. **[Results]** In the last 30 years, the number of articles on VBNC state bacteria in environmental sciences showed linear growth ($R^2=0.917$). China and the United States led the research in this field. European and American research institutions embraced close cooperation, while Chinese research institutions mainly cooperated domestically and worked independently. Oliver DJ and Yu X were the authors with the highest number of articles in this field. The research hotspots in this field included the inactivation of VBNC state bacteria in the disinfection of drinking water and the resuscitation of VBNC state bacteria in the treatment of pollutants. **[Conclusion]** The available studies about VBNC state bacteria in environmental sciences have mainly focused on the formation, inactivation, and resuscitation of VBNC state bacteria, while the inactivation and resuscitation methods remain to be improved. How to improve the inactivation efficiency of VBNC state bacteria in drinking water and enhance the resuscitation of VBNC state bacteria during microbial remediation of pollutants deserves further research.

Keywords: VBNC state bacteria; Web of Science; bibliometrics; visual analysis; environmental bioremediation

活的但不可培养(viable but non-culturable, VBNC)状态是指细菌在固体培养基上失去可培养性但在应激条件下仍保持功能活力的特殊生理状态^[1]。休眠连续体假说认为 VBNC 态细菌是非芽孢形成菌在不良环境条件下形成的一种休眠状态^[2]。VBNC 态细菌对于环境中的物理化学因素具有更强的抵抗力, 当处于合适条件下,

VBNC 态细菌可重新恢复到可培养状态^[3]。自 1982 年 VBNC 态细菌在 *Escherichia coli* 和 *Vibrio cholerae* 中首次发现^[4]以来, VBNC 态致病菌对食品安全、人类健康造成的生物风险和威胁已成为微生物学领域的研究热点之一。

与食品和医疗领域受到的广泛关注不同, 环境领域 VBNC 态细菌在最近 10 年才开始受到研

研究者的重视^[5-6]。目前,环境领域 VBNC 态细菌研究主要集中在 2 个方面:(1) 给水领域中饮用水 VBNC 态细菌的消毒;(2) 环境污染修复领域 VBNC 态功能菌的复苏和利用。已有研究表明氯化化和氯胺化等传统消毒方法会诱导 *E. coli* 进入 VBNC 状态^[7]。Guo 等^[8]在饮用水处理厂输水管线中检测到了 VBNC 态致病菌 *Enterococcus faecalis* 和 *Pseudomonas aeruginosa*。因此,目前广泛应用的传统饮用水消毒技术尚无法完全消除 VBNC 态细菌对公共健康的影响。另一方面,环境污染修复领域的研究表明,大量的环境功能细菌可能处于 VBNC 状态,这无疑在很大程度上限制了环境功能菌的生物修复效率,如难降解有机污染物多氯联苯(polychlorinated biphenyls, PCBs)的降解菌 *Rhodococcus biphenylivorans* TG9 在厌氧条件下进入 VBNC 状态,导致 PCBs 的降解率甚至降低了约 30%^[9]。

文献计量学主要通过数学和统计学对文献数据进行分析,实现可视化的共现网络,可为推进相关领域的研究奠定坚实的基础^[10]。截至目前,采用文献计量学方法对环境领域 VBNC 态细菌的研究尚未见报道。因此,对环境领域 VBNC 态细菌的文献计量分析将有助于揭示该领域的研究现状和研究趋势,对未来环境领域 VBNC 态细菌的深入研究具有重要的参考价值。

本研究基于近 30 年来 Web of Science (WOS) 发表的有关环境领域 VBNC 态细菌的 416 篇文章,采用文献计量学方法对这些文献进行全面梳理与整合分析,总结环境领域 VBNC 态细菌的研究现状和热点,推测未来研究的发展方向,旨在为消除饮用水 VBNC 态细菌的生物风险、保障饮用水安全和促进污染物微生物修复过程中 VBNC 态功能菌的复苏提供借鉴。

1 材料与方 法

1.1 数据来源

本研究数据来源于 WOS 核心合集数据库,检索主题设置为“VBNC”,检索时间范围设置为“1994-01-01/2023-07-06”,共检索到 839 篇文献。采用检索文献类型“Article”、检索语种“English”及研究方向“Environmental Sciences Ecology”作为筛选条件进行筛选,剔除无关文献,最终获得有效文献 416 篇。将全部文献的全记录与引用的参考文献以纯文本格式导出。

1.2 数据分析

本研究主要使用 CiteSpace (6.2.R2)软件、基于 R 语言的 Bibliometrix 工具包 (4.1) 和 VOSviewer (1.6.19)软件进行可视化分析。此外,关于总发文数量变化通过 Origin (2020)软件进行绘图。

使用 CiteSpace 对该领域发文数量、发文机构、关键词和共被引文献进行整理,并分别绘制相应图谱^[11]。可视化分析的参数设置:(1) 时间切片(time slicing)设置为 1994–2023 年,并设置为 1 年 1 个时间切片;(2) 节点类型(note types)依次选择机构(institution)、关键词(keyword)和被引文献(cited reference)进行分析,聚类方法设置为对数似然比(log-likelihood ratio);(3) 选择标准(selection criteria)设置为 g -index, $k=25$, 裁剪方式(pruning)选择寻径(pathfinder)和修剪切片网络(pruning sliced networks)^[12]。利用 Bibliometrix R 工具包针对该领域发文国家和作者进行分析,将 Bibtex 格式文件导入其中,依次选择国家(countries)和作者(authors),通过 Bibliometrix 在线平台 Biblioshiny 进行可视化分析,对文献进行全面的科学制图分析^[13]。运用 VOSviewer 将出现频次大于 5 次的关键词进行聚类分析,绘制得到关键词聚类图谱^[14]。

2 结果与分析

2.1 环境领域 VBNC 态细菌研究现状

2.1.1 环境领域 VBNC 态细菌的发文量

近 30 年来, WOS 核心合集数据库共发表 416 篇环境领域 VBNC 态细菌的文章, 发文数量与发文时间呈明显的正相关关系, 相关系数 $R^2=0.917$ (图 1)。过去 30 年, 环境领域 VBNC 态细菌发文数量呈“先少后增”的特征。1994–2015 年发文数量较少(200 篇), 在 1996 和 1997 年还出现了短暂空白期。2015 年后, 环境领域 VBNC 态细菌发文数量急剧增加(216 篇), 在不到 10 年间发文数量是前 20 年发文数量的 1.08 倍。因此, 2015 年对于环境领域 VBNC 态细菌的研究极为重要, 它成为环境领域 VBNC 态细菌研究的分水岭。这主要是缘于 Oliver 团队于该年对微生物的休眠状态进行了讨论, 并且认为细菌的 VBNC 状态与滞留状态可以用相似的休眠调控机制解释, 促进了环境领域中 VBNC 态细菌的研究^[15]。

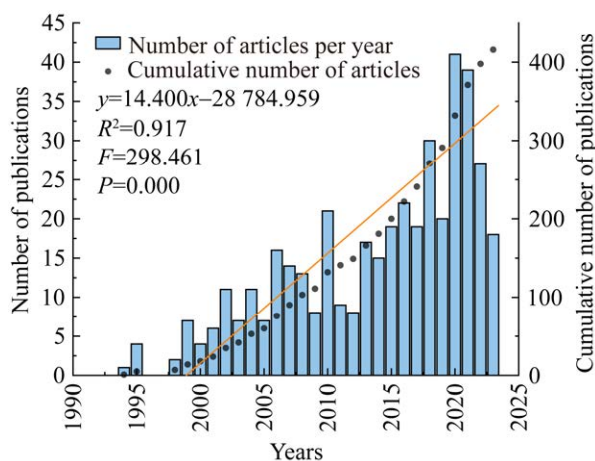


图 1 Web of Science 核心数据库环境领域中 VBNC 态细菌文献发表数量

Figure 1 Number of papers published in the Web of Science core collection database on the VBNC state bacteria in environmental sciences.

2.1.2 环境领域 VBNC 态细菌的发文国家分析

为探明不同国家对环境领域 VBNC 态细菌的研究现状, 从发文数量、首发年份及引用数量进行统计分析(表 1)。WOS 文献检索发现共有 57 个国家对环境领域中的 VBNC 态细菌开展了研究。其中, 中国(106 篇)、美国(74 篇)、法国(39 篇)、西班牙(28 篇)和意大利(26 篇)发文量位居前五。中国和美国发文数量占比分别是 26%和 18%。从首发年份看, 美国自 1994 年开始对环境领域 VBNC 态细菌进行了研究。相比之下, 中国开展研究的时间较晚, Wong 等^[16]于 2004 年发表了第一篇关于环境领域 VBNC 态细菌的文章, 开启了中国对环境领域 VBNC 态细菌的研究。从引文数量角度看, 美国文献的被引用数量最大, 表明其研究成果认可度高, 在该领域的研究中处于领先地位。中国文献被引用数量位居第二, 相关研究成果也发挥着较大的影响力。

表 1 Web of Science 核心数据库环境领域中 VBNC 态细菌国家发文数量和引用数量统计

Table 1 Statistics on the number of national publications and citations on the VBNC state bacteria in environmental sciences of the Web of Science core collection database

国家 Country	发文数量 Number of publications	首发年份 Starting year	引用数量 Citation number
中国 China	106	2004	2 480
美国 America	74	1994	3 250
法国 France	39	1999	923
西班牙 Spain	28	2002	526
意大利 Italy	26	2001	879
加拿大 Canada	23	2002	516
德国 Germany	22	2006	671
日本 Japan	20	1999	323
印度 India	14	2000	283
英国 England	14	2000	187

2.1.3 环境领域 VBNC 态细菌的发文机构与合作分析

为了解不同机构在环境领域 VBNC 态细菌的发文合作情况，将环境领域中 VBNC 态细菌发文机构进行共现分析(图 2)。发文排名前 5 的机构分别为中国科学院大学(36 篇)、美国北卡罗来纳大学(21 篇)、美国马里兰系统大学(19 篇)、法国国家农业食品与环境研究院(14 篇)和中国浙江大学(14 篇)。在机构合作研究方面，美国马里兰系统大学与其他机构合作最多，包括意

大利国家研究委员会和马尔凯理工大学等。其次，法国国家农业食品与环境研究院与法国国家科学院和法国研究型大学等机构合作密切。此外，国内的浙江大学与浙江师范大学合作较紧密，中国科学院大学与厦门大学也有相关的合作研究。总体而言，国内发文数量较多。但是与欧美国家相比，国内机构的合作研究较少，仍然以内部独立研究为主。因此，国内机构应加强国内外 VBNC 态细菌方面的合作研究，以谋求共同发展和提高。

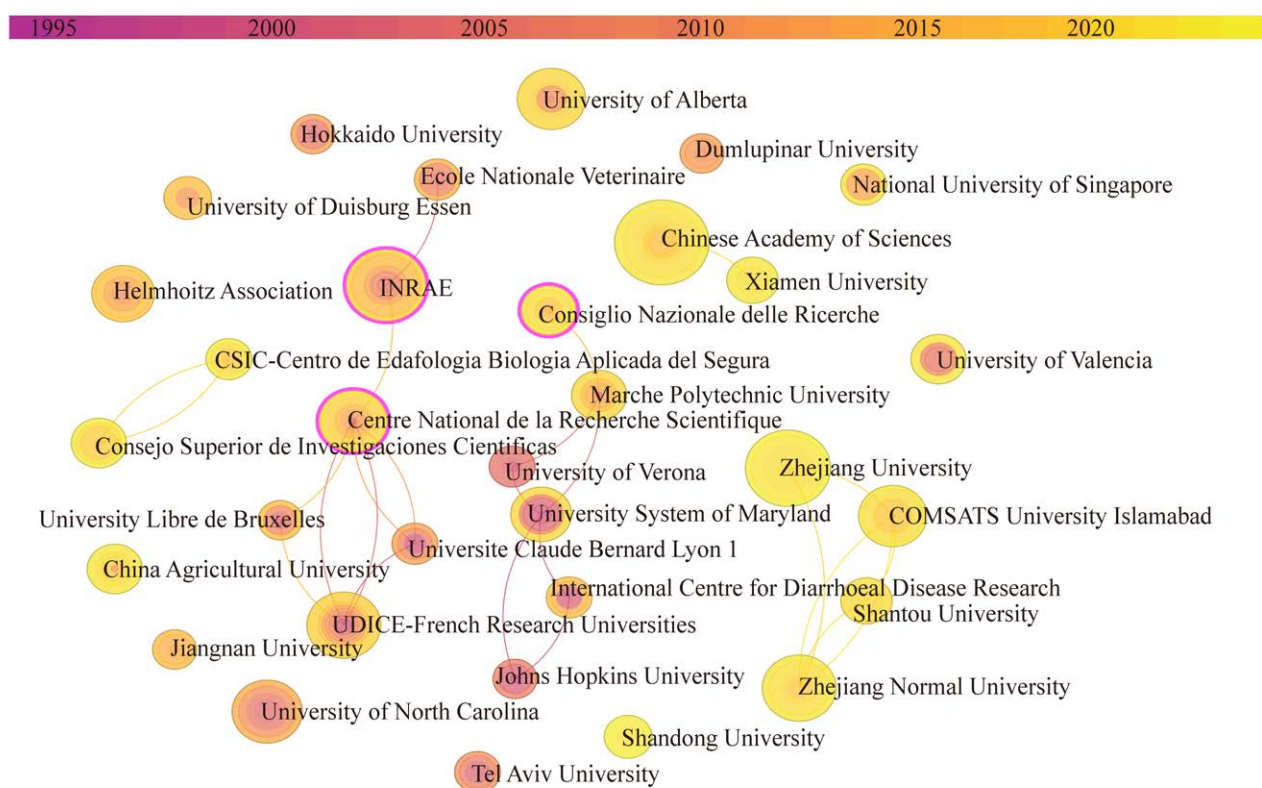


图 2 Web of Science 核心数据库环境领域中 VBNC 态细菌研究机构合作网络 图中节点表示发文机构，节点越大表示发文数量越多；节点颜色表示发文时间，越接近紫色代表发文时间越早，越接近黄色的代表发文时间越晚；节点之间连线表示机构间的合作关系；带有粉色轮廓的节点表示该节点更重要

Figure 2 Co-occurrence network of institutions on the VBNC state bacteria in environmental sciences of the Web of Science core collection database. The nodes represent the research institution, and the size of the nodes means the number of publications; the colors show the year of publications for each node; the line between the nodes indicates the connection between the research institution; the node with pink outline suggests they are more critical.

2.1.4 环境领域 VBNC 态细菌的发文作者

为明确环境领域 VBNC 态细菌发文作者、发文数量及其发文质量之间的关系,对环境领域中 VBNC 态细菌发文作者进行时区共现(图 3)。发文量最多的 3 位作者分别为 Oliver DJ (15)、Yu X (14)和 Su XM (13)。其中, Oliver DJ 发表文献的总被引用次数最多,共 1 999 次。其次, Yu X 与 Su XM 累计总被引次数分别 595 次和 408 次。需要指出的是, Oliver DJ 发文主要集中在 2015 年之前,而 Yu X 与 Su XM 的发文量主要集中在 2015 年后。因此,欧美等国学者对该领域研究时间较早,为后期提供了很多支持。中国学者对 VBNC 态细菌的研究虽然起步较晚,但是发文均集中于最近 8 年,并且近年来中国学者的总被引次数(2 509)是外国学者总被引次数(622)的 4 倍,

表明中国学者的研究更具有新颖性,对于环境领域 VBNC 态细菌未来研究方向更具引领作用。

2.2 环境领域 VBNC 态细菌的研究热点

2.2.1 环境领域 VBNC 态细菌的关键词共现

为判断环境领域 VBNC 态细菌的研究走向,构建了关键词共现网络(图 4)和关键词中介中心性(表 2)。关键词出现频率最高的分别是 VBNC (191)、*E. coli* (169)、bacteria (137)、survival (88)、cells (79)和 resuscitation (68)。作为经典模式研究微生物,*E. coli* 是 VBNC 态细菌研究最多的菌种,其生存和复苏研究较多。中介中心性反映关键词的重要程度,其数值越高表明该关键词越重要。中介中心性由大到小依次为 bacteria、cells、viability 和 drinking water (表 2)。关键词共现网络和关键词中介中心性分析表明,环境

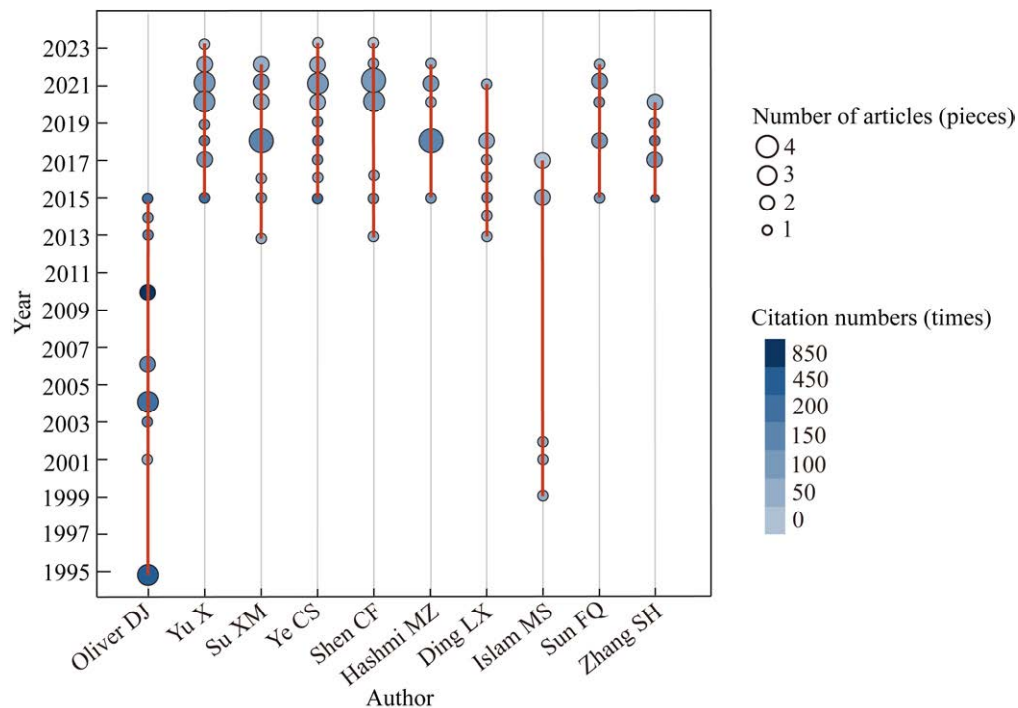


图3 Web of Science核心数据库环境领域 VBNC 态细菌研究作者发文时间节点图 图中节点大小表示发文数量,节点颜色表示引用次数,颜色越深表示被引次数越多

Figure 3 Timeline of authors' posting on the VBNC state bacteria in environmental sciences of the Web of Science core collection database. The size of nodes means the number of articles; the colors show the number of total citations, the darker the color, the more cited the node is.

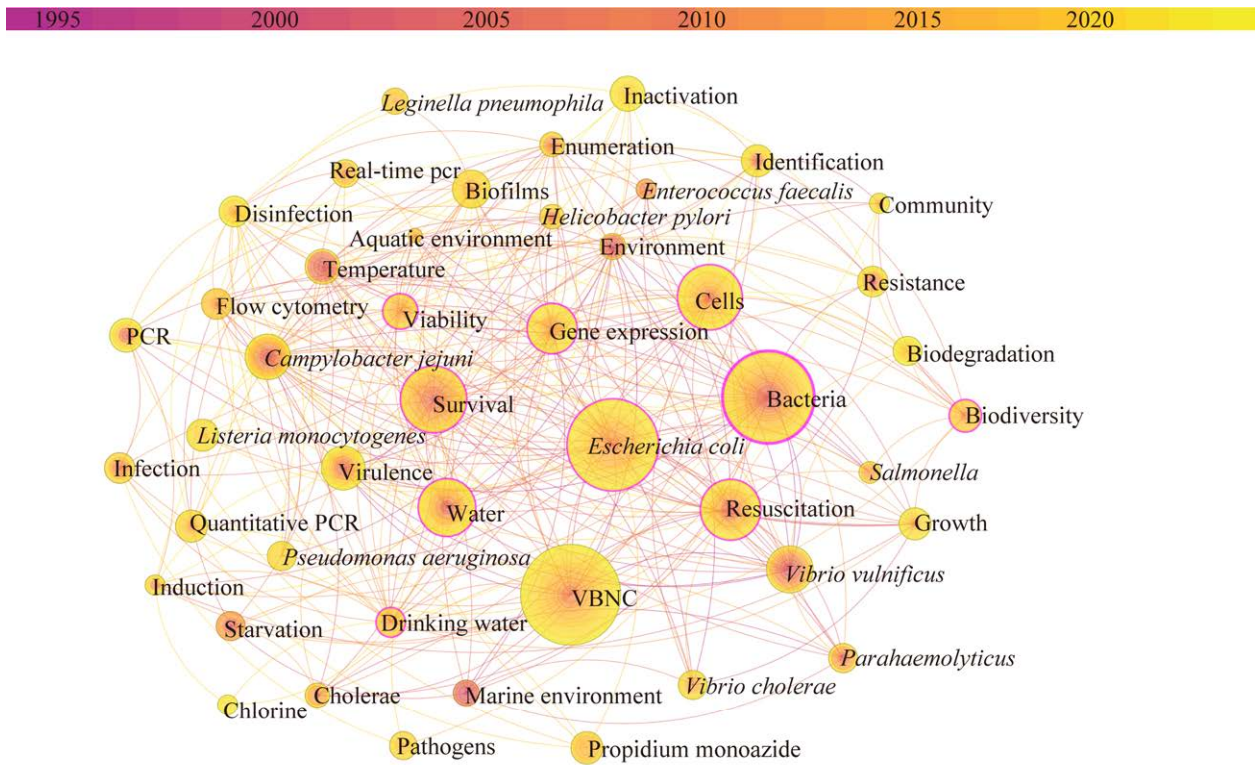


图 4 Web of Science 核心数据库环境领域 VBNC 态细菌关键词合作网络 图中节点表示关键词，节点大小表示该关键词出现的频次多少；节点之间的连线表示关键词之间的联系；节点颜色表示发文时间，越接近紫色代表发文时间越早，越接近黄色的代表发文时间越晚；带有粉色轮廓的节点表示该节点更重要

Figure 4 Co-occurrence network on VBNC state bacteria Keywords in environmental sciences of the Web of Science core collection database. The nodes represent keywords, and the nodes' size means the keywords' frequency; the line between the nodes indicates the connection between the keywords; the colors show the year of publications for each node; the node with a pink outline suggests they are more critical.

领域 VBNC 态细菌目前的研究集中在饮用水方向，且 VBNC 态致病菌的复苏给饮用水安全造成了潜在生物风险和威胁。

2.2.2 环境领域 VBNC 态细菌的关键词突现

为追踪环境领域 VBNC 态细菌的研究热点，对关键词进行突现分析，筛选得到 10 个突现性较强的关键词(图 5)。关键词突现性最强的三类关键词分别是 VBNC 态菌种(即研究对象)、检测方法和研究主题。

环境领域 VBNC 态细菌的研究对象主要包

括 *Vibrio vulnificus*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Enterococcus faecalis* 和 *Listeria monocytogenes* 等。其中，*V. vulnificus* 突现性最高，该菌为海洋性致病菌，可通过污染海鲜和饮用水引起严重的胃肠炎^[17]。其次，*P. aeruginosa* 在二次消毒后饮用水分配系统中可再生，构成潜在的健康风险^[18]。*E. faecalis* 作为粪便水污染指标微生物，其 VBNC 态细菌的存在将直接影响感染风险和公共健康监测^[19]。*L. monocytogenes* 是一种典型的食源性病原菌，其能够形成生物膜并

表2 Web of Science 核心数据库环境 VBNC 态细菌关键词中介中心性统计

Table 2 Statistics of the betweenness centrality of keywords on VBNC state bacteria in environmental sciences of the Web of Science core collection database

关键词 Keywords	中介中心性 Betweenness centrality	年份 Year
细菌 Bacteria	0.21	1994
细胞 Cells	0.17	1995
活力 Viability	0.15	2001
饮用水 Drinking water	0.14	1998
基因表达 Gene expression	0.14	1999
水 Water	0.13	1995
生存 Survival	0.12	1994
大肠杆菌 Escherichia coli	0.11	1995
复苏 Resuscitation	0.10	1998
生物多样性 Biodiversity	0.10	2006

进入 VBNC 状态, 从而引起难以治疗的细菌感染^[20]。需要指出的是, *E. coli* 作为常见菌, 其 VBNC 态研究在 1994–2023 年间一直被持续研究。因此, *E. coli* 并未构成突现。

VBNC 态细菌检测方法的建立是开展 VBNC 态细菌相关研究的基础。经典的细菌平板培养计数技术无法检测 VBNC 态细菌。传统操作上, VBNC 态细菌检测采用荧光染料染色与荧光显微镜/流式细胞仪相结合的方法。然而, 该方法的灵敏度受到 VBNC 状态下某些微生物代谢活性极低的限制, 导致染色计数与实际活性计数之间的相关性较差^[20]。因此, 叠氮溴化丙锭 (propidium monoazide, PMA) 结合 qPCR 扩增检测 VBNC 态细菌的方法 (PMA-qPCR) 最近受到

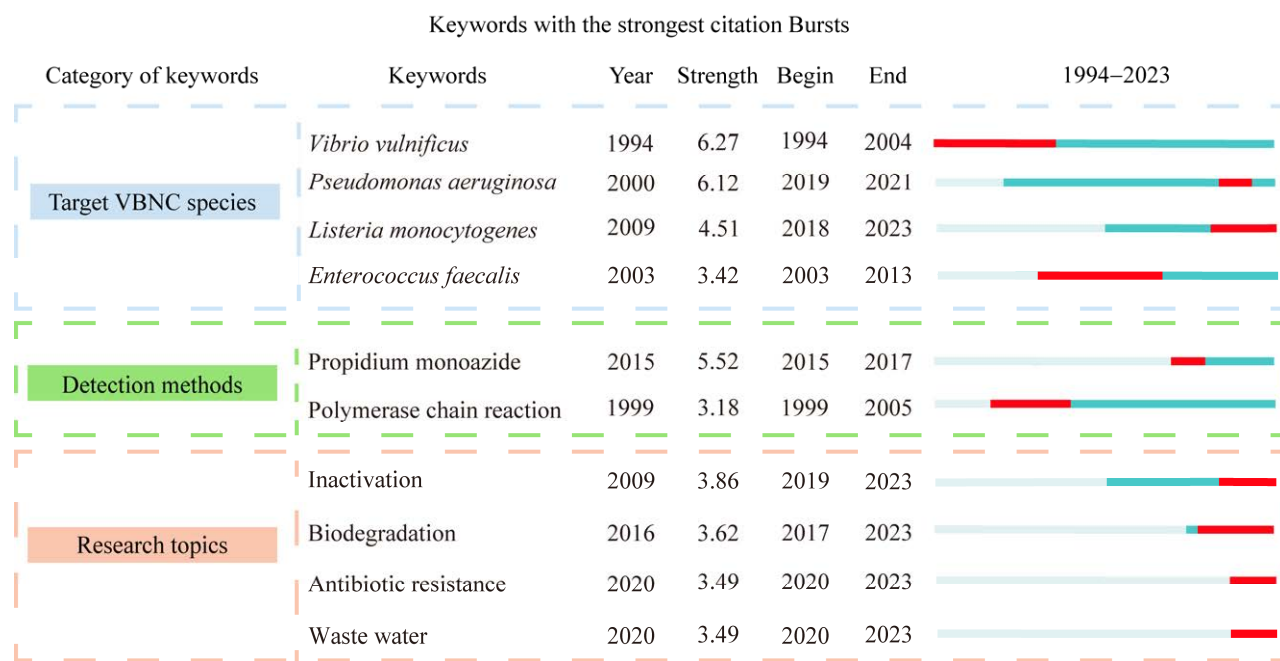


图5 Web of Science 核心数据库环境领域中 VBNC 态细菌关键词突现图 图中蓝色直线代表该关键词出现的时间区间, 蓝色之上覆盖的红色区域表示该关键词突现时间区间

Figure 5 Keywords with the strongest citation bursts on VBNC state bacteria in environmental sciences of the Web of Science core collection database. The blue line in the figure represents the time range in which the keyword appears, and the red area covered by the blue color indicates the time range in which the keyword is highlighted.

了研究者的重视。该方法的基本原理是 PMA-qPCR 阻止死细胞 DNA 扩增,避免了 qPCR 同时扩增活死细菌 DNA 的缺点。因而具有更加快速准确的特点,成为目前比较流行的 VBNC 态细菌检测方法^[21]。然而,由于细菌在环境胁迫压力下胞膜通透性变大,可使 PMA 误入活细胞而导致 VBNC 计数偏低^[22]。因此,如何优化和改进 PMA-qPCR 是今后 VBNC 态细菌研究的重要方向之一。

环境领域 VBNC 态细菌研究主题集中在 inactivation、biodegradation、antibiotic resistance 和 waste water 上。其中, inactivation 突现强度为 3.86,从 2009 年开始,持续时间较长,VBNC 态细菌的存在会对公共安全产生不利影响,关于 VBNC 态细菌的灭活手段研究仍在持续进行。在 VBNC 态细菌研究中, biodegradation 作为关键词,在 2016 年出现且在次年突现,这表明随着 VBNC 态细菌在环境领域中研究的深入,环境污染微生物修复中功能菌进入 VBNC 状态影响修复效率问题已经开始受到关注。如何提高 VBNC 态细菌复苏效率使其最大可能地发挥修复效能,成为环境领域中继饮用水 VBNC 态细菌研究之外的新焦点^[23]。Antibiotic resistance 突现强度为 3.49,从 2020 年开始一直作为研究的热点,由于 VBNC 态细菌对抗生素在内的抗菌剂表现出明显的耐受性,所以无法通过传统的消毒技术完全去除,并且 VBNC 态细菌的存在也为抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)传播和转移提供了有利条件,对公共健康构成潜在风险^[24]。开发和改进有效的 VBNC 态细菌处理方法成为目前环境领域的研究重点。Waste water 近 3 年内出现且在出现后一直保持着较高热度,关于废水中 VBNC 态细菌的研究逐渐兴起。

2.3 环境领域 VBNC 态细菌研究前沿

2.3.1 环境领域 VBNC 态细菌的关键词聚类

为探究环境领域 VBNC 态细菌的研究趋势,对近 5 年内环境领域 VBNC 态细菌的高频关键词进行聚类分析(图 6)。高频关键词聚类分析表明环境领域 VBNC 态细菌分为四类:VBNC 态细菌的毒力(cluster 1)、生物膜中的 VBNC 态细菌(cluster 2)、VBNC 态细菌的复苏(cluster 3)和 VBNC 态的研究方向(cluster 4)。

VBNC 态细菌的毒力(cluster 1)包括 VBNC、bacteria、pathogens 和 virulence,此聚类主要描述了对 VBNC 态细菌/病原菌毒力的研究情况。VBNC 态细菌/病原菌是否表达毒力可能与菌种以及诱导条件有关。例如, *Listeria monocytogenes* 盐度诱导(4 °C和 30% NaCl)的 VBNC 态细菌其毒力基因(*hly* 和 *inlA*)可持续表达^[25]。然而,饥饿诱导的 *L. monocytogenes* (4 °C和丙酮酸钠) VBNC 态细胞对免疫缺陷小鼠和人结肠腺癌细胞并无毒力,只是在复苏后才恢复毒性^[26]。因此,VBNC 态细菌的毒力表达与否尚待进一步研究。

生物膜中的 VBNC 态细菌(cluster 2)主要包括 cells 和 biofilms,此聚类关注饮用水给水系统中生物膜中 VBNC 态细菌的发现与形成。Guo 等^[8]研究表明传统饮用水消毒过程并不能将某些致病菌完全杀死,给水管壁生物膜中某些致病菌种群持续处于 VBNC 状态,这增加了对生物致病菌的感染风险。例如,在饮用水给水系统中,处于生物膜状态的 *Pseudomonas aeruginosa* 在消毒剂余氯的诱导条件下更容易进入 VBNC 状态^[27]。此外,混合细菌生物膜在暴露于一氯胺条件下,更多的细菌进入 VBNC 状态^[28]。目前,关于生物膜中 VBNC 细菌的研究主要集中在生物膜中 VBNC 态细菌的发现与形成,与此相关的消毒技术方法还很缺乏,尚待学者进一步深入探究。

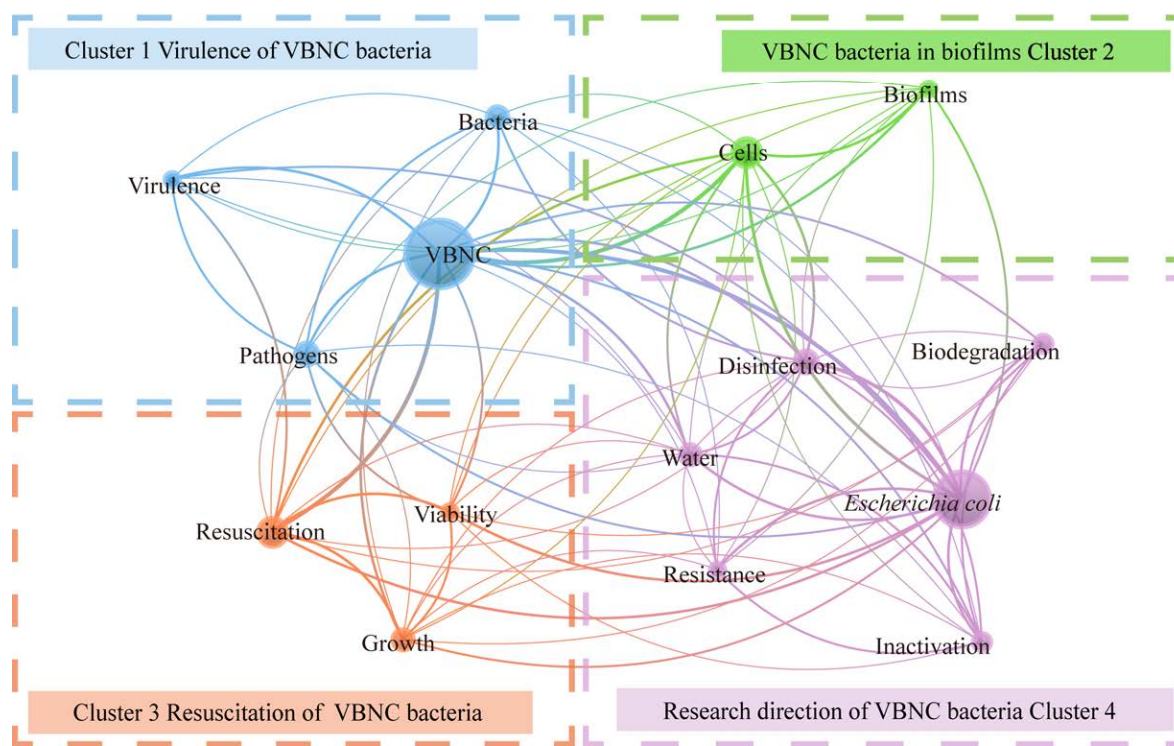


图6 Web of Science 核心数据库环境领域中 VBNC 态细菌关键词聚类分析 图中节点表示关键词,节点大小表示该关键词出现的频次多少;节点之间的连线表示关键词之间的联系;不同节点颜色代表不同聚类,相同颜色为一类

Figure 6 Clustering analysis of keywords on VBNC state bacteria in environmental sciences of the Web of Science core collection database. The nodes represent keywords, and the size of nodes means the frequency of the keywords; The line between the nodes indicates the connection between the keywords; The different node colors represent different clusters, and the same color is a class.

VBNC 态细菌的复苏(cluster 3)主要包括 resuscitation、viability 和 growth,其主要内容为 VBNC 态细菌的复苏方法。首先,利用富含营养的培养基复苏 VBNC 细菌的方法是最普遍也是最常见的,例如 VBNC 态的 *E. coli* 在添加了 LB 肉汤培养基后发生了复苏^[29]。此外,添加一些促进生长的物质也可以帮助 VBNC 态细菌复苏,包括过氧化氢酶、丙酮酸、群体感应自诱导剂呋喃糖硼酸二酯 2 (A1-2)、复苏因子 Rpf 及 YeaZ 蛋白等^[30]。其中,利用 Rpf 是较常见的 VBNC 态细菌复苏手段。Rpf 是 1994 年从 *Micrococcus luteus*

中分离出来的一种分泌蛋白,其在低浓度下可促进细菌的生长,因此也被称为生长因子。目前已经报道的包括 *Mycobacterium tuberculosis*、*Campylobacter* sp.、*Pseudomonas* sp.、*Helicobacter pylori*、*Legionella pneumophila* 和 *Vibrio* sp. 等几十余种菌均可以被 Rpf 复苏^[17-18,31]。此外,自然环境中 99% 以上的细菌处于 VBNC 状态而无法培养,VBNC 态细菌的复苏很可能进一步发现新的微生物资源,这有助于更全面地开发和利用微生物资源。总体来说,复苏 VBNC 细菌的研究大多是复苏条件的寻找,而 VBNC 细菌复苏机制方

面的研究仍需探索。

VBNC 态的研究方向(Cluster 4)依据重要性排序分别是 *E. coli*、water、disinfection、inactivation、resistance 和 biodegradation, 这表明 *E. coli* 是环境领域 VBNC 态细菌被持续关注的焦点。饮用水处理中 VBNC 态细菌无法通过传统消毒技术完全去除^[8]。同时, VBNC 态细菌具有很强的耐受性, 这可能促进 ARG 的转移, 增加环境健康风险^[24]。此外, 处于 VBNC 状态下的环境功能菌无法分离培养且难以发挥去除污染物功能。因此, 提高 VBNC 态功能菌的污染物生物降解能力受到广泛关注。目前, 已有研究报道采用添加 Rpf 刺激 VBNC 态功能菌的复苏, 从而提高了有机污染物生物降解能力。Cai 等^[32]研究发现, 在厌氧反应器中 Rpf 的添加促进了染料废水的生物降解, 降解效率提高了约 20%。

2.3.2 环境领域 VBNC 态细菌的高引用文献

为了解环境领域 VBNC 态细菌高热度文献, 通过被引频次高低将近 5 年内环境领域 VBNC 态细菌引用数量排名前 10 的文献进行了总结(表 3)。从研究内容上看, 6 篇文献(序号分别为 1、2、3、4、5 和 10)研究了饮用水处理和分配系统中细菌 VBNC 态的形成及复苏; 饮用水处理和分配系统中使用包括氯化、氯胺化及紫外等消毒方法可以使致病菌诱导进入 VBNC 状态; 在适宜条件下, 复苏后的 VBNC 态细菌仍然对饮用水安全产生影响, 可能对公众健康产生风险^[7,33-36,41]。其次, 有 3 篇文献(序号分别为 6、7 和 8)研究了复苏后 VBNC 态细菌的环境功能性及其应用, 研究表明在污染物修复环境中也存在大量 VBNC 态细菌, 极端环境诱导部分环境功能菌处于 VBNC 状态, 从而导致功能菌处理环境污染物的效率降低^[37-39]。因此, 可通过加深 VBNC 态细菌形成机制的认知和提高 VBNC 态细菌的复苏效率促进功能菌群在生态环境保护领

域的应用。最后, 有一篇文献(序号为 9)主要描述了“VBNC”和“持久性”这 2 种休眠策略, 并且提出 VBNC 细胞比持久细胞处于更深的休眠状态^[40]。然而, 关于“VBNC”及“持久性”近些年来一直存在争议, 部分学者认为二者同为常见的细胞生存状态。但是, Kim 等^[42]研究发现 VBNC 细胞和持久细胞之间的诱导应激, 细胞表型和代谢活性等存在显著差异。因此, 针对休眠状态的研究仍需要更多证据去解释它们的异同^[40]。

3 讨论

本研究基于 Web of Science 的环境领域中 VBNC 态细菌文献计量分析, 从发文数量、国家、机构、合作、作者、研究热点、研究趋势和不足等方面展示了近 30 年来环境领域 VBNC 态细菌研究的全貌。饮用水消毒和土壤修复及废水生物处理中 VBNC 态细菌既是当前的研究热点和技术瓶颈, 也是未来研究突破之处。

3.1 饮用水消毒中的 VBNC 态细菌

在给水管网的饮用水消毒过程中, 加氯、臭氧和环境变化这些因素可以导致机会病原菌进入 VBNC 状态, 截至目前, 已有超过 100 种微生物被证明进入 VBNC 状态, 包括粪便污染指示菌 *E. coli* 和 *E. faecalis*, 以及病原菌如 *P. aeruginosa*、*Salmonella enterica* 和 *Shigella sp.*等^[43]。Guo 等^[8]调查研究了中国东南部城市的 2 个饮用水处理厂出水情况, 水中检测到了 VBNC 态 *E. coli*、*E. faecalis*、*P. aeruginosa*、*S. enterica* 和 *Shigella sp.*, 且每 100 mL 水体中达 0–100 个细胞, 严重超过《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2022)^[44]。此外, 在给水管网的生物膜中 VBNC 态细菌的研究也备受关注。Fu 等^[45]调查我国某饮用水处理厂发现, 饮用水分配系统生物膜中存在 VBNC 态病原菌。

表3 Web of Science 核心数据库环境领域中 VBNC 态细菌高引用文献统计

Table 3 Statistics of highly cited articles on VBNC state bacteria in environmental sciences of the Web of Science core collection database

序号 Number	作者 Author	年份 Year	篇名 Title	期刊 Published journal	频次 Frequency	参考文献 References
1	Chen S, Li X, Wang YH, et al	2018	Induction of <i>Escherichia coli</i> into a VBNC state through chlorination/chloramination and differences in characteristics of the bacterium between states	Water Research	41	[7]
2	Guo LZ, Ye CS, Cui L, et al	2019	Population and single cell metabolic activity of UV-induced VBNC bacteria determined by CTC-FCM and D ₂ O-labeled Raman spectroscopy	Environment International	18	[33]
3	Highmore CJ, Warner JC, Rothwell SD, et al	2018	Viable-but-nonculturable <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>Salmonella enterica</i> serovar Thompson induced by chlorine stress remain infectious	mBio	16	[34]
4	Zhu L, Shuai XY, Xu LK, et al	2022	Mechanisms underlying the effect of chlorination and UV disinfection on VBNC state <i>Escherichia coli</i> isolated from hospital wastewater	Journal of Hazardous Materials	6	[35]
5	Ye CS, Lin HR, Zhang ML, et al	2020	Characterization and potential mechanisms of highly antibiotic tolerant VBNC <i>Escherichia coli</i> induced by low level chlorination	Scientific Reports	8	[36]
6	Su XM, Wang YY, Xue BB, et al	2019	Impact of resuscitation promoting factor (Rpf) in membrane bioreactor treating high-saline phenolic wastewater: performance robustness and Rpf-responsive bacterial populations	Chemical Engineering Journal	11	[37]
7	Su XM, Zhang S, Mei RW, et al	2018	Resuscitation of viable but non-culturable bacteria to enhance the cellulose-degrading capability of bacterial community in composting	Microbial Biotechnology	7	[38]
8	Giagnoni L, Arenella M, Galardi E, et al	2018	Bacterial culturability and the viable but non-culturable (VBNC) state studied by a proteomic approach using an artificial soil	Soil Biology and Biochemistry	6	[39]
9	Ayrapetyan M, Williams T, Oliver JD	2018	Relationship between the viable but nonculturable state and antibiotic persister cells	Journal of Bacteriology	16	[40]
10	Dietersdorfer E, Kirschner A, Schrammel B, et al	2018	Starved viable but non-culturable (VBNC) <i>Legionella</i> strains can infect and replicate in amoebae and human macrophages	Water Research	13	[41]

由于传统检测技术限制了 VBNC 态细菌的发现,因而相关的检测手段有待进一步更新。目前, PMA-qPCR 方法已广泛用于检测饮用水、废水甚至污泥中水生环境中的活病原体^[46-47]。

PMA 预处理还可与 16S rRNA 基因测序相结合,以描述环境和临床样本中细菌的存活^[46]。因此, PMA-qPCR 活细胞检测能够为给水处理厂中的实际消毒效率和参数改进提供更好的指导。然

而关于更有效的消毒技术的开发鲜有报道, 只有一篇文献提到了多手段联合消毒可能会减少 VBNC 态细菌的产生, Qi 等^[48]探究了超声波和氯联合消毒对 VBNC 态细菌的影响, 发现超声波和氯在消毒方面具有协同作用, 超声波和氯联合处理可能是去除 VBNC 细菌更有效的消毒技术。

3.2 土壤修复及废水生物处理中的 VBNC 态细菌

除了给水领域 VBNC 态细菌的研究, 土壤及废水处理过程中的 VBNC 态细菌研究则更关注发挥其潜在的环境功能。一方面, 由于环境功能菌在接种到污染土壤或水体中后, 环境压力会使其处入 VBNC 状态, 克服其在处理污染物应用中的活性不高造成处理效率低的问题, 对 VBNC 态细菌进行复苏至关重要^[49]; 另一方面, 自然界很多细菌处于 VBNC 状态, 其能力未被合理利用, 复苏更多的环境功能菌可为污染物的去除提供新方案。

目前, 已有研究确定了许多促使 VBNC 态细菌复苏的条件, 例如复苏促进因子 Rpf、丙酮酸和群体感应(quorum sensing, QS), 还包括改变环境温度及添加过氧化氢酶等方法^[30], 但关于其复苏细菌在实际环境中处理污染物的应用性能还有待进一步开展研究, 目前, 利用 Rpf 复苏环境功能菌是处理土壤及水体中污染物的唯一手段。在土壤 PCBs 生物修复模拟研究中, 原土在接种了 *R. biphenylivorans* TG9^T 再添加 Rpf 后, PCBs 降解效率提高了 20%^[50]。在废水处理过程中, 研究者分别在活性污泥和生物膜反应器中添加了 Rpf, 促进了有机污染物和氮磷营养物质的去除。Su 等^[51]发现向活性污泥中添加 Rpf 功能菌对耐盐苯酚降解能力提高了约 22%。序批式反应器中添加 Rpf 也提高了 12% 的脱氮除磷处理效率^[52], 以及向膜生物反应器中加入 Rpf 对含盐含酚废水的处理能力从 54.7% 增加到 100%^[37]。

因此, Rpf 是一种具有前景的 VBNC 态细菌复苏剂, 可有效改善生物处理性能。

然而, 关于 Rpf 促进土壤污染物生物修复的报道主要集中在增强 PCBs、四氯乙烯及总石油烃等生物降解上, 水处理中则关注染料废水、持久性有机污染物等污染物的 VBNC 环境功能菌的复苏研究, 研究范围较局限, 未来有关其在处理污染物的应用潜能还需深入探究。同时, Rpf 具体的作用机制尚未明确, 目前认为 Rpf 作用于细菌细胞壁, 通过降解 VBNC 细胞的细胞壁肽聚糖从而引发复苏可能是其主要机制^[53]。此外, 目前通过刺激环境领域 VBNC 态功能细菌复苏来提高污染物处理效率的手段仅有 Rpf 一种, 因此, 寻找快速有效的 VBNC 态细菌复苏手段仍然值得深入研究。

4 结论与展望

环境领域 VBNC 态细菌的研究主要集中于饮用水安全上, 灭活 VBNC 态致病菌是其主要的研究内容。但传统的消毒手段无法根除 VBNC 态病原菌, 由于目前大多研究关注于 VBNC 态细菌的形成及其机制的探究, 而关于新型消毒技术灭活 VBNC 细菌的研究未来需要进行深入探索, 多手段联合消毒可能是一个突破口。此外, VBNC 态功能性细菌处于休眠状态而无法发挥其自身处理环境污染物的功能也逐渐引起学者重视, 寻找快速有效的 VBNC 态细菌复苏手段仍然值得深入研究。因此, VBNC 态细菌在环境领域应重点关注以下几点: (1) 为减少饮用水安全风险, 应完善 VBNC 态细菌的检测手段, 开发更有效的消毒方式, 以降低其带来的环境健康问题; (2) 为发挥细菌的环境功能性, 应寻找促进 VBNC 态细菌的复苏及提高其活性的有效办法, 为达到预期处理效率提供合适条件。

REFERENCES

- [1] OLIVER JD. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2010, 34(4): 415-425.
- [2] EPSTEIN SS. Microbial awakenings[J]. Nature, 2009, 457: 1083.
- [3] LI L, MENDIS N, TRIGUI H, OLIVER JD, FAUCHER SP. The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens[J]. Frontiers in Microbiology, 2014, 5: 258.
- [4] XU HS, ROBERTS N, SINGLETON FL, ATTWELL RW, GRIMES DJ, COLWELL RR. Survival and viability of nonculturable *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* in the estuarine and marine environment[J]. Microbial Ecology, 1982, 8(4): 313-323.
- [5] 包秋华, 刘倩宇. 基于 Web of Science 细菌活但非可培养态研究文献的可视化分析[J]. 食品科学, 2023, 44(5): 248-256.
BAO QH, LIU QY. Visual analysis of research literature on viable but non-culturable state in bacteria based on Web of Science[J]. Food Science, 2023, 44(5): 248-256 (in Chinese).
- [6] 阚玉敏, 蒋娜, 白凯红, 李健强, 罗来鑫. 细菌有活力但不可培养状态及其机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2020, 47(3): 880-891.
KAN YM, JIANG N, BAI KH, LI JQ, LUO LX. Research progress on viable but non-culturable state of bacteria[J]. Microbiology China, 2020, 47(3): 880-891 (in Chinese).
- [7] CHEN S, LI X, WANG YH, ZENG J, YE CS, LI XP, GUO LZ, ZHANG SH, YU X. Induction of *Escherichia coli* into a VBNC state through chlorination/chloramination and differences in characteristics of the bacterium between states[J]. Water Research, 2018, 142: 279-288.
- [8] GUO LZ, WAN K, ZHU JW, YE CS, CHABI K, YU X. Detection and distribution of VBNC/viable pathogenic bacteria in full-scale drinking water treatment plants[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 406: 124335.
- [9] FAN JH, JIA YY, XU DD, YE Z, ZHOU JH, HUANG JH, FU YL, SHEN CF. Anaerobic condition induces a viable but nonculturable state of the PCB-degrading Bacteria *Rhodococcus biphenylivorans* TG9[J]. The Science of the Total Environment, 2021, 764: 142849.
- [10] DONTU N, KUMAR S, MUKHERJEE D, PANDEY N, LIM WM. How to conduct a bibliometric analysis: an overview and guidelines[J]. Journal of Business Research, 2021, 133: 285-296.
- [11] CHEN CM. CiteSpace II: detecting and visualizing emerging trends and transient patterns in scientific literature[J]. Journal of the American Society for Information Science and Technology, 2006, 57(3): 359-377.
- [12] 李芳, 谭施言, 马琼, 由凤鸣, 付西, 任益锋. 微生物与肺癌研究的知识图谱构建及可视化分析[J]. 微生物学通报, 2024, 51(1): 354-370.
LI F, TAN SY, MA Q, YOU FM, FU X, REN YF. Knowledge graph construction and visualization of the associations between microbiota and lung cancer[J]. Microbiology China, 2024, 51(1): 354-370 (in Chinese).
- [13] ARIA M, CUCCURULLO C. Bibliometrix: an R-tool for comprehensive science mapping analysis[J]. Journal of Informetrics, 2017, 11(4): 959-975.
- [14] van ECK NJ, WALTMAN L. Software survey: VOS viewer, a computer program for bibliometric mapping[J]. Scientometrics, 2010, 84(2): 523-538.
- [15] AYRAPETYAN M, WILLIAMS TC, OLIVER JD. Bridging the gap between viable but non-culturable and antibiotic persistent bacteria[J]. Trends in Microbiology, 2015, 23(1): 7-13.
- [16] WONG HC, WANG P. Induction of viable but nonculturable state in *Vibrio parahaemolyticus* and its susceptibility to environmental stresses[J]. Journal of Applied Microbiology, 2004, 96(2): 359-366.
- [17] SUN H, ZHU CL, FU XD, KHATTAK S, WANG JY, LIU ZH, KONG Q, MOU HJ, SECUNDO F. Effects of intestinal microbiota on physiological metabolism and pathogenicity of *Vibrio*[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 947767.
- [18] MAO GN, SONG YH, BARTLAM M, WANG YY. Long-term effects of residual chlorine on *Pseudomonas aeruginosa* in simulated drinking water fed with low AOC medium[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 879.
- [19] SIGNORETTO C, LLEÒ MM, TAFI MC, CANEPARI P. Cell wall chemical composition of *Enterococcus faecalis* in the viable but nonculturable state[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(5): 1953-1959.
- [20] WIDEMAN NE, OLIVER JD, CRANDALL PG, JARVIS NA. Detection and potential virulence of viable but non-culturable (VBNC) *Listeria monocytogenes*: a review[J]. Microorganisms, 2021, 9(1): 194.
- [21] KUMAR SS, GHOSH AR. Assessment of bacterial viability: a comprehensive review on recent advances

- and challenges[J]. *Microbiology*, 2019, 165(6): 593-610.
- [22] OKADA A, TSUCHIDA M, RAHMAN MM, INOSHIMA Y. Two-round treatment with propidium monoazide completely inhibits the detection of dead *Campylobacter* spp. cells by quantitative PCR[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 801961.
- [23] 张云鸽, 梅荣武, 张宇, 丁林贤, 苏晓梅. 高盐含酚废水生物处理技术的研究进展及应用前景[J]. *环境工程*, 2018, 36(5): 11-15, 83.
- ZHANG YG, MEI RW, ZHANG Y, DING LX, SU XM. Research progress of biological treatment technologies for phenolic wastewater with high salinity and their application prospects[J]. *Environmental Engineering*, 2018, 36(5): 11-15, 83 (in Chinese).
- [24] CAI YW, LIU JY, LI GY, WONG PK, AN TC. Formation mechanisms of viable but nonculturable bacteria through induction by light-based disinfection and their antibiotic resistance gene transfer risk: a review[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2022, 52(20): 3651-3688.
- [25] ZOLFAGHARI M, REZAEI M, MOHABBATI MOBAREZ A, FOROZANDEH MOGHADDAM M, HOSSEINI H, KHEZRI M. Virulence genes expression in viable but non-culturable state of *Listeria monocytogenes* in fish meat[J]. *Food Science and Technology International*, 2020, 26(3): 205-212.
- [26] LINDBÄCK T, ROTTENBERG ME, ROCHE SM, RØRVIK LM. The ability to enter into an avirulent viable but non-culturable (VBNC) form is widespread among *Listeria monocytogenes* isolates from salmon, patients and environment[J]. *Veterinary Research*, 2010, 41(1): 8.
- [27] QI Z, HUANG ZH, LIU CG. Metabolism differences of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa* in viable but nonculturable state induced by chlorine stress[J]. *The Science of the Total Environment*, 2022, 821: 153374.
- [28] NG WJ, TAN CT, BAE S. Effects of monochloramine on culturability, viability and persistence of *Pseudomonas putida* and tap water mixed bacterial community[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021, 105(9): 3799-3810.
- [29] WEI CJ, ZHAO XH. Induction of viable but nonculturable *Escherichia coli* O157:H7 by low temperature and its resuscitation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2728.
- [30] ZHANG XH, AHMAD W, ZHU XY, CHEN JX, AUSTIN B. Viable but nonculturable bacteria and their resuscitation: implications for cultivating uncultured marine microorganisms[J]. *Marine Life Science & Technology*, 2021, 3(2): 189-203.
- [31] SU XM, CHEN X, HU JX, SHEN CF, DING LX. Exploring the potential environmental functions of viable but non-culturable bacteria[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2013, 29(12): 2213-2218.
- [32] CAI JF, PAN AD, LI YL, XIAO YY, ZHOU Y, CHEN CJ, SUN FQ, SU XM. A novel strategy for enhancing anaerobic biodegradation of an anthraquinone dye reactive blue 19 with resuscitation-promoting factors[J]. *Chemosphere*, 2021, 263: 127922.
- [33] GUO LZ, YE CS, CUI L, WAN K, CHEN S, ZHANG SH, YU X. Population and single cell metabolic activity of UV-induced VBNC bacteria determined by CTC-FCM and D₂O-labeled Raman spectroscopy[J]. *Environment International*, 2019, 130: 104883.
- [34] HIGHMORE CJ, WARNER JC, ROTHWELL SD, WILKS SA, KEEVIL CW. Viable-but-nonculturable *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovar Thompson induced by chlorine stress remain infectious[J]. *mBio*, 2018, 9(2): e00540-18.
- [35] ZHU L, SHUAI XY, XU LK, SUN YJ, LIN ZJ, ZHOU ZC, MENG LX, CHEN H. Mechanisms underlying the effect of chlorination and UV disinfection on VBNC state *Escherichia coli* isolated from hospital wastewater[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423(Pt B): 127228.
- [36] YE CS, LIN HR, ZHANG ML, CHEN S, YU X. Characterization and potential mechanisms of highly antibiotic tolerant VBNC *Escherichia coli* induced by low level chlorination[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 1957.
- [37] SU XM, WANG YY, XUE BB, HASHMI MZ, LIN HJ, CHEN JR, WANG Z, MEI RW, SUN FQ. Impact of resuscitation promoting factor (Rpf) in membrane bioreactor treating high-saline phenolic wastewater: performance robustness and Rpf-responsive bacterial populations[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 357: 715-723.
- [38] SU XM, ZHANG S, MEI RW, ZHANG Y, HASHMI MZ, LIU JJ, LIN HJ, DING LX, SUN FQ. Resuscitation of viable but non-culturable bacteria to enhance the cellulose-degrading capability of bacterial community in composting[J]. *Microbial Biotechnology*, 2018, 11(3): 527-536.

- [39] GIAGNONI L, ARENELLA M, GALARDI E, NANNIPIERI P, RENELLA G. Bacterial culturability and the viable but non-culturable (VBNC) state studied by a proteomic approach using an artificial soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 118: 51-58.
- [40] AYRAPETYAN M, WILLIAMS T, OLIVER JD. Relationship between the viable but nonculturable state and antibiotic persister cells[J]. *Journal of Bacteriology*, 2018, 200(20): e00249-18.
- [41] DIETERSDORFER E, KIRSCHNER A, SCHRAMMEL B, OHRADANOVA-REPIC A, STOCKINGER H, SOMMER R, WALOCHNIK J, CERVERO-ARAGÓ S. Starved viable but non-culturable (VBNC) *Legionella* strains can infect and replicate in amoebae and human macrophages[J]. *Water Research*, 2018, 141: 428-438.
- [42] KIM JS, CHOWDHURY N, YAMASAKI R, WOOD TK. Viable but non-culturable and persistence describe the same bacterial stress state[J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(6): 2038-2048.
- [43] DONG K, PAN HX, YANG D, RAO L, ZHAO L, WANG YT, LIAO XJ. Induction, detection, formation, and resuscitation of viable but non-culturable state microorganisms[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2020, 19(1): 149-183.
- [44] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 生活饮用水卫生标准: GB 5749—2022[S]. 北京: 中国标准出版社, 2022.
State Administration for Market Regulation, Standardization Administration of China. Standards for drinking water quality: GB 5749—2022[S]. Beijing: Standards Press of China, 2022 (in Chinese).
- [45] FU YL, PENG HX, LIU JQ, NGUYEN TH, HASHMI MZ, SHEN CF. Occurrence and quantification of culturable and viable but non-culturable (VBNC) pathogens in biofilm on different pipes from a metropolitan drinking water distribution system[J]. *The Science of the Total Environment*, 2021, 764: 142851.
- [46] CHIAO TH, CLANCY TM, PINTO A, XI CW, RASKIN L. Differential resistance of drinking water bacterial populations to monochloramine disinfection[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(7): 4038-4047.
- [47] van FRANKENHUYZEN JK, TREVORS JT, FLEMMING CA, LEE H, HABASH MB. Optimization, validation, and application of a real-time PCR protocol for quantification of viable bacterial cells in municipal sewage sludge and biosolids using reporter genes and *Escherichia coli*[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2013, 40(11): 1251-1261.
- [48] QI Z, LIU CG. Ultrasound treatment reducing the production of VBNC bacteria in the process of chlorine disinfection: efficiency and mechanisms[J]. *Chemical Research in Chinese Universities*, 2023, 39(3): 425-433.
- [49] SU XM, BAMBA AM, ZHANG S, ZHANG YG, HASHMI MZ, LIN HJ, DING LX. Revealing potential functions of VBNC bacteria in polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2018, 66(4): 277-283.
- [50] YE Z, LI HX, JIA YY, FAN JH, WAN JX, GUO L, SU XM, ZHANG Y, WU WM, SHEN CF. Supplementing resuscitation-promoting factor (Rpf) enhanced biodegradation of polychlorinated biphenyls (PCBs) by *Rhodococcus biphenylivorans* strain TG9^T[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263(Pt A): 114488.
- [51] SU XM, WANG YY, XUE BB, ZHANG YG, MEI RW, ZHANG Y, HASHMI MZ, LIN HJ, CHEN JR, SUN FQ. Resuscitation of functional bacterial community for enhancing biodegradation of phenol under high salinity conditions based on Rpf[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 261: 394-402.
- [52] LIU YD, SU XM, LU L, DING LX, SHEN CF. A novel approach to enhance biological nutrient removal using a culture supernatant from *Micrococcus luteus* containing resuscitation-promoting factor (Rpf) in SBR process[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(5): 4498-4508.
- [53] WANG YH, SHI JL, TANG LJ, ZHANG YF, ZHANG YJ, WANG XY, ZHANG XM. Evaluation of Rpf protein of *Micrococcus luteus* for cultivation of soil Actinobacteria[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2021, 44(5): 126234.