

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.01.11

金黄色葡萄球菌天然抗生物被膜物质研究进展

于娜,刘义明,王玉凤,陈孝杰*,李秀波*

(中国农业科学院饲料研究所/农业农村部动物源细菌耐药性监测重点实验室/国家饲料中药物基准实验室/

农业部动物产品质量安全饲料源性因子风险评估实验室,北京 100081)

[收稿日期] 2022-07-14 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2023) 01-0079-08 [中图分类号] S859.61

[摘要] 奶牛乳房炎是造成奶牛养殖业巨大经济损失的疾病,金黄色葡萄球菌是导致奶牛乳房炎感染的主要致病菌之一。以生物被膜的群落形式存在的金黄色葡萄球菌,更易逃避宿主免疫系统、降低药物敏感性,从而导致奶牛乳房炎反复发作,最终形成顽固性乳房炎。研究显示,天然抗生物被膜物质对金黄色葡萄球菌生物被膜的抑制作用明显,可作为新的抗菌药物应用于奶牛乳房炎的防治。对金黄色葡萄球菌生物被膜耐药机制和天然抗金黄色葡萄球菌生物被膜物质的最新研究进展进行了概述,以期对防治金黄色葡萄球菌导致的奶牛乳房炎提供参考。

[关键词] 奶牛乳房炎;金黄色葡萄球菌;生物被膜;耐药机制;天然抗生物被膜物质

Research Progress of Natural Antibiofilm Substances of *Staphylococcus aureus*

YU Na, LIU Yi-ming, WANG Yu-feng, CHEN Xiao-jie*, LI Xiu-bo*

(Feed Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences/ Key Laboratory of Animal Antimicrobial Resistance Surveillance,

Ministry of Agriculture and Rural Affairs, P. R. China/Veterinary Microorganism Laboratories/Laboratory of Quality and Safety Risk

Assessment for Products on Feed-origin Risk Factor, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100081, China)

Corresponding authors: CHEN Xiao-jie, E-mail: chenxiaojie@caas.cn; LI Xiu-bo, E-mail: lixiubo@caas.com

Abstract: Cow mastitis is the disease that causes huge economic losses in dairy farming. *Staphylococcus aureus* is one of the main pathogenic bacteria causing cow mastitis infection. *S. aureus*, which exists in the form of biofilm community, is more likely to escape the host immune system and reduce drug sensitivity, resulting in repeated attacks of cow mastitis, and finally form intractable mastitis. Studies have shown that natural antibiofilm substances have obvious inhibitory and scavenging effects on *S. aureus* biofilm, and can be used as a new antibacterial drug in the prevention and treatment of cow mastitis. This paper summarizes the mechanism of resistance of *S. aureus* biofilm and the latest research progress of natural anti-*S. aureus* biofilm substances, in order to provide reference for the prevention and treatment of cow mastitis caused by *S. aureus*.

Key words: cow mastitis; *S. aureus*; biofilm; mechanism of drug resistance; natural antibiofilm substances

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFD1800700); 中国农业科学院创新工程(CAAS-FRI-06)

作者简介: 于娜, 硕士研究生, 从事新兽药创制研究。

通讯作者: 陈孝杰, E-mail: chenxiaojie@caas.cn; 李秀波, E-mail: lixiubo@caas.com

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)是引起奶牛乳房炎最主要的病原菌之一,主要通过侵入并定植于奶牛乳腺上皮细胞引起奶牛乳房炎,引起慢性乳房内感染^[1]。金黄色葡萄球菌能够永久性损伤乳腺的泌乳组织,然后被非分泌组织取代,削弱了奶牛的产奶性能^[2]。在乳房炎的治疗过程中,由于养殖场用药不当等原因,导致牛乳中药物残留,且金黄色葡萄球菌及其分泌的毒素等可存在于牛乳中^[3],受污染的生牛乳可能会进一步沿着食物链,导致与之相关的食品污染^[4],造成严重的食源性疾病,威胁人类健康。

细菌生物被膜(Bacterial biofilm, BF)是一个有着复杂三维结构的微生物群,是细菌粘附于接触表面后分泌多糖基质、纤维蛋白、脂质蛋白以及胞外DNA(eDNA)等,并将其自身包绕其中,形成的大量细菌聚集群落^[5]。生物被膜内的细胞被自身产生的基质包裹,有利于在恶劣或极端环境中生存^[6]。生物被膜的胞外聚合物(Extracellular polymeric substances, EPS)能够阻碍抗生素以及其他药物的进入,免受免疫系统的攻击,从而使耐药性增加。因此,与游离的细菌相比,以生物被膜群落形式存在的细菌对抗生素的敏感性更低^[7],其引起的奶牛乳房炎感染更难治愈。

农业农村部制定了《全国兽用抗菌药使用减量化行动方案(2021-2025年)》来切实加强兽用抗菌药治理。为响应农业农村部兽用抗菌药使用减量化行动,降低抗生素的使用量,兽医研究者力寻新型抗菌剂。研究发现,中药成分及植物提取物、生物表面活性物质和噬菌体等天然抗生物被膜物质,能够通过改变生物被膜生成相关基因的表达、抑制生物被膜粘附和干扰群体感应途径等机制有效抑制金黄色葡萄球菌生物被膜。这为防治金黄色葡萄球菌引起的奶牛乳房炎提供了新的思路。

1 金黄色葡萄球菌生物被膜耐药机制

1.1 渗透屏障作用 生物被膜胞外聚合物(Extracellular polymeric substances, EPS)是由蛋白质、胞外多糖、eDNA和脂质等组成的一种生物大分子复杂混合物,能够降低细菌对抗菌药物的敏感性^[10]。

Campanac等^[9]研究发现,去除金黄色葡萄球菌生物被膜的EPS能使该菌对季铵化合物的耐药性显著下降。Jefferson等^[10]发现苯唑西林、头孢噻肟和万古霉素对金黄色葡萄球菌生物被膜的穿透扩散能力有限,证实了生物被膜的屏障作用,有助于降低细菌对某些抗生素的敏感性。生物被膜屏障作用的分子机制主要是胞外基质中特定大分子结合抗生素分子。此外,EPS会阻碍与其带相反性质电荷的抗生素的渗透^[11],EPS上的eDNA与抗生素物理作用,将基质中的抗生素与药物靶位屏障隔离,从而增加生物被膜对抗生素的耐药性^[12]。

1.2 新陈代谢降低和严谨反应 生物被膜耐受性机制主要包括细菌生长速率降低和营养限制下的严谨反应(stringent response)^[7]。生物被膜内细菌较普通游离细菌新陈代谢速度和生长速度降低,在抗生素处理下会进入休眠状态,仅维持核心代谢以适应环境胁迫^[13]。休眠状态下的细菌对抗生素敏感度降低甚至几乎完全不敏感,导致这些细菌亚群能够承受远高于MIC的抗生素浓度从而逃避抗生素的杀菌作用。严谨反应是细菌营养限制(缺乏氨基酸)时,核糖体在合成蛋白质时发生空转反应,(p)ppGpp合成酶通过与核糖体的相互作用,合成信号分子(p)ppGpp,以此使细菌对其生存环境做出适应性调控^[14]。细菌通过减缓生长来增加氨基酸合成,增加其耐药性。金黄色葡萄球菌生物被膜严谨反应的激活可能会减慢生物被膜内噬菌体的前进速度,有助于细菌细胞适应环境的改变^[15]。

1.3 群体感应 细菌在生物被膜内通过群体感应(quorum sensing, QS)系统进行“通讯”,传递各种信息以调控基因表达、细菌活动,来适应生存环境的改变。金黄色葡萄球菌最重要的QS系统是群体感应辅助基因调节系统(accessory gene regulator, agr),agr能够检测自诱导肽(autoinducing peptides, AIPs),进而调控生物被膜的成熟和分散^[16]。在细菌聚集过程中,细菌密度逐渐增加,AIPs的浓度也在增加,当AIPs达到阈值时,就会激活细菌生物被膜上的双组分信号转导系统agrC-agrA,再转化为菌体细胞内的生化信号,细菌产生适应性的生化反

应。金黄色葡萄球菌 *agr* 对其毒力表达具有双重调节作用。细菌在高细胞密度条件下, *agr* 能增加多种毒力因子的产生, 降低多种定殖因子的表达^[17]。当细菌密度比较低的时候, *agr* 上调细胞粘附蛋白和抵御宿主防御的相关蛋白, 直到不断增长的细菌群能够抵御宿主防御系统的攻击^[18]。Yarwood 等^[19]指出在金黄色葡萄球菌中, 群体感应缺失的 *agrD* 突变体对利福平的耐药性表现出特异性的下降。此外, 群体感应抑制剂金缕梅单宁 (2', 5-di-O-galloyl-d-hamamelose; HAM) 能抑制 Trap 群体感应受体, 可通过减少肽聚糖的合成、细胞壁厚度和生物被膜基质中 eDNA 含量, 来提高头孢菌素、万古霉素等抗生素抗菌效果^[20]。

1.4 外排泵的外排作用 细菌生物被膜的外排泵是一种膜蛋白, 能将细菌内的有害物质 (抗生素、代谢废物、毒素等) 排出到外部环境, 以维持细菌细胞内稳定^[21]。研究表明, 外排泵排出药物是细菌产生抗生素耐药性的主要机制之一, 在生物被膜形成过程中, 外排泵协助生物被膜形成的方式有: EPSs 和/或 QS 分子的外排和群体猝灭 (quorum quenching, QQ) 分子分别促进生物被膜基质的形成和调节 QS; 生物被膜形成相关基因的间接调控; 有害分子外排 (如抗生素等); 通过促进或防止粘附到表面和其他细胞而聚集^[22]。金黄色葡萄球菌主要易化子超家族 (Major facilitator superfamily, MFS) 目前研究最多, 如 NorA 可以排出氟喹诺酮类药物和季铵盐化合物^[23]。

2 金黄色葡萄球菌天然抗生物被膜物质

2.1 中药成分及植物提取物 近年来, 中药成分及植物提取物对抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的研究越来越多, 目前了解到的大多是通过抑制生物被膜的 QS 系统和粘附阶段来实现的。研究表明, 一些酚类化合物^[24-25] (山奈酚、香芹酚) 和一些黄酮类化合物^[26-27] (黄芩苷、黄芩素) 可有效抑制生物被膜粘附阶段来抑制金黄色葡萄球菌生物被膜生成, 且黄芩素还能抑制生物被膜的 *agr* 系统。青

蒿琥酯可抑制 *agr* 系统合成 α -溶血素, 但不影响 *ica* 基因的表达^[28]。许多中药成分及植物提取物通过抑制生物被膜形成相关基因 *agr*、*ica*、*cid*、*sar* 等来减少生物被膜生成和粘附, 例如冬凌草甲素^[29]、大黄素^[30]、茶树精油^[31]、大蒜素^[32]、和人参皂苷^[33]。小檗碱、胡椒碱和芸香甙能够结合外排泵和生物被膜形成的 SasG G52-E2-G53 靶点, 对生物被膜的形成产生抑制作用^[34]。此外, 还有通过其他机制来抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的中药成分及植物提取物, 鱼腥草水提取物能下调 *cysM* 基因表达来干预半胱氨酸合成通路, 抑制金黄色葡萄球菌生物被膜形成^[35]; 穿心莲内酯可阻碍 *sarA* 蛋白二聚体的合成来抑制调控因子 *sarA*, 还可通过启动细胞壁压力响应机制 (Cell wall stress stimulon, CWSS), 即引起细菌持续性高水平地合成细胞壁而不能及时清除废旧的肽聚糖层, 使细胞壁出现干燥、粗糙、散乱、不均匀增厚, 导致难以维持渗透压而崩解死亡, 从而对生物被膜的产生进行双重抑制^[36]; 葡萄籽油提取物通过影响金黄色葡萄球菌 EPS 产率和运动性抑制生物被膜的生成^[37]。现将上述中药成分及植物提取物整理见表 1。

2.2 噬菌体 噬菌体是一种天然抗生物被膜剂, 噬菌体可通过刺激宿主细菌产生 EPS 降解酶, 分解细胞外基质中的蛋白质和多糖, 促进噬菌体穿透、复制和消除存在于细胞内的细菌^[38]。Jiang 等^[39]发现金黄色葡萄球菌噬菌体 WV 有较强的内溶酶活性, 能够刺激细菌产生 EPS 降解酶。噬菌体抑制奶源金黄色葡萄球菌生物被膜已在体外试验被证实, Gharieb^[40]等研究表明, vB-SauM-ME18 和 vB-SauM-ME126 这两个裂解噬菌体可抑制牛奶中多重耐药金黄色葡萄球菌的生长和生物被膜的产生。阮红日等^[41]在含有金黄色葡萄球菌的牛乳中加入噬菌体 vB-SauM-RS, 作用 48 h 后生物被膜内细菌浓度降低了 95.6%, 且结晶紫染色显示 OD_{600nm} 由 0.83 降至 0.36, 表明 vB-SauM-RS 对生物被膜具有良好的清除效果。

表 1 中药及植物提取物对 *S. aureus* 生物被膜的作用机制

Tab 1 Mechanism of action of traditional Chinese medicine and plant extracts on <i>S. aureus</i> biofilm	
名称	作用机制
山奈酚	部分抑制分选酶 A (SrtA) 的活性来减少粘附相关蛋白的锚定,通过下调粘附相关基因的转录水平,以减少粘附相关蛋白的表达
香芹酚	降低 <i>icaA</i> 、 <i>sarA</i> 和 <i>cidA</i> 基因转录水平抑制细胞间多糖黏附素的合成和胞外 DNA 的释放
黄芩苷	减少金黄色葡萄球菌的粘附,抑制和清除金黄色葡萄球菌生物被膜
黄芩素	下调 <i>agrA</i> 、 <i>RNAIII</i> 和 <i>sarA</i> 以及 <i>ica</i> 的基因表达,抑制 <i>agr</i> 系统
冬凌草甲素	抑制 <i>agrA</i> 和 <i>sarA</i> 基因的表达来调控 <i>icaA</i> 和 <i>cidA</i> 操纵子,进而影响该菌 PIA 合成和 eDNA 的释放
大黄素	下调 <i>cidA</i> 、 <i>icaA</i> 、 <i>dlbB</i> 、 <i>agrA</i> 、 <i>sarA</i> 和 <i>sortaseA</i> mRNA 基因的表达,影响 QS 系统的 AI-2 信号分子释放
茶树精油	抑制 MRSA 生物被膜形成过程中 PIA 和胞外 DNA 的分泌以及生物被膜形成相关基因 <i>agr</i> 、 <i>ica</i> 、 <i>cid</i> 、 <i>sar</i> 的表达
大蒜素	控制 <i>sarA</i> / <i>agr</i> 基因导的二元调节系统对生物被膜生成基因的转录表达
人参皂苷	下调 <i>agr</i> 、 <i>sarA</i> 、 <i>fmbA</i> 基因表达,减少细菌黏附性
小檗碱	能够结合外排泵和生物被膜形成的 SasG G52-E2-G53 靶点,抑制生物被膜的产生
胡椒碱	能够结合外排泵和生物被膜形成的 SasG G52-E2-G53 靶点,抑制生物被膜的产生
芸香甙	能够结合外排泵和生物被膜形成的 SasG G52-E2-G53 靶点,抑制生物被膜的产生
青蒿琥酯	抑制 <i>agr</i> 系统合成 α -溶血素,但不影响 <i>ica</i> 基因的表达
穿心莲内酯	阻碍 <i>SarA</i> 蛋白二聚体的合成来抑制调控因子 <i>SarA</i> ,启动细胞壁压力相应机制(CWSS)
鱼腥草水提取物	下调 <i>cysM</i> 基因表达,干预半胱氨酸合成通路
葡萄籽油提取物	影响金黄色葡萄球菌 EPS 产率和运动性

但在许多情况下,噬菌体并不能彻底消灭宿主细菌。Montañez-Izquierdo 等^[42]用噬菌体 P100 处理生物被膜 8 h 后解聚,但是 48 h 后浮游细菌仍然存活。有学者提出,使用噬菌体和噬菌体衍生产品与其他抗菌药物(包括抗生素、纳米颗粒和抗菌肽等)的联合治疗可能是去除生物被膜的有效方法^[37]。

2.3 抗菌肽 抗菌肽(Antimicrobial peptides, AMPs),是广泛存在于生物体内天然免疫系统的一类小分子多肽,其抗菌谱广、耐药性低。研究发现,抗菌肽主要通过抑制细菌细胞的初始粘附和干扰生物被膜形成相关信号分子的表达(调节细菌生物被膜 QS 系统、抑制细菌的严谨应答反应、杀死生物被膜内的细菌细胞)来抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的形成^[43]。例如,抗菌肽(T-La(FS)、RGD-T-La(FS)、T-La(S)、RGD-T-La(S))能降低金黄色葡萄球菌生物被膜相关基因 *icaA*、*flb* 基因的转录水平、抑制生物被膜胞外蛋白合成与分泌^[44]。蜂毒肽可以穿透金黄色葡萄球菌生物被膜

的肽聚糖层,破坏生物被膜,抑制生物被膜产生^[45]。蝎毒素抗菌肽 La39 的质量浓度在 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,作用 8 h 可有效地抑制金黄色葡萄球菌生长^[46]。回丽媛在体外试验中发现,抗菌肽 17BIPHE2 具有良好的抑制金黄色葡萄球菌生物被膜黏附、聚集作用,且能促进成熟生物被膜消散,17BIPHE2 辅助抗生素抗生物被膜作用更好^[47]。Alessandra 等^[48]发现,在抗菌肽 HBD-2 和 HBD-3 作用下,金黄色葡萄球菌的基因 *icaAD* 和生物被膜相关蛋白(Bap)显著减少,生物被膜的形成被有效抑制。

2.4 生物表面活性物质 生物表面活性物质是微生物在代谢中分泌的一类既有亲水基又含有疏水基的两亲性化合物,通过减少细胞表面疏水性、抑制电子传递链来改变细胞粘附能力,限制细胞的能量需求^[49]。研究显示,生物表面活性物质对金黄色葡萄球菌生物被膜的抑制作用,主要通过降低金黄色葡萄球菌生物被膜相关基因的表达和干扰群体感应系统中信号分子(AI-2)的释放来实现。例如,Surfactin(一种由枯草芽孢杆菌产生的生物表面

活性剂),能降低生物被膜中碱溶性多糖的比例,显著下调了 *icaA* 和 *icaD* 的表达,调节自体诱导物 2 (AI-2)的活性,从而影响金黄色葡萄球菌中的群体感应系统表达^[50]。乳酸菌生物表面活性剂也被证实能够有效抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的产生,益生乳酸菌生物表面活性剂(BS)可通过调控 *cid* 操纵子、*ica* 操纵子和 *agr* 调节系统来抑制金黄色葡萄球菌生物被膜相关基因表达,且乳酸菌 BS 对金黄色葡萄球菌 QS 系统的 AI-2 信号分子释放具有抑制作用,影响 QS 系统^[27]。Merghni 等^[51]试验证明,金黄色葡萄球菌生物被膜形成 48 h 后,将其暴露于浓度为 25 mg/mL 的乳酸菌生物表面活性剂(BS-LBI 和 BS-LZ9)中,能显著减少金黄色葡萄球菌生物被膜的扩散。Xin 等^[52]从乳酸片球菌和植物乳杆菌中提取的生物表面活性剂能够影响生物被膜相关基因(*cidA*、*icaA*、*dltB*、*agrA*、*sortaseA* 和 *sarA*)的表达并干扰群体感应系统中信号分子(AI-2)的释放,从而抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的形成。Jiang 等^[53]研究表明,两种来源于瑞士乳杆菌的生物表面活性剂都能降低金黄色葡萄球菌生物被膜相关基因的表达,并干扰群体感应系统中信号分子(AI-2)的释放,且这两种生物表面活性物质在体内外均具有抗粘附和抑制生物被膜形成的作用。此外,生物表面活性物质也可以通过膜介导的细胞凋亡和生物被膜破坏对金黄色葡萄球菌进行双重抑制,Shu 等^[54]发现甘露糖基赤藓糖醇脂质(MEL)通过此机制双重抑制细菌粘附以去除生物被膜。

3 小结及展望

奶牛乳房炎严重制约着奶业的发展,影响奶牛健康和牛奶品质。以生物被膜形式存在的金黄色葡萄球菌使奶牛乳房炎反复发作,增加了奶牛乳房炎的防治难度。如何有效防治奶牛乳房炎是当前兽医研究者面临的一项重要任务,寻找安全、高效的抗生物被膜物质对防治奶牛乳房炎具有重要意义。

天然抗生物被膜物质与抗生素相比其优势在于安全、高效、毒副作用小且不易引起耐药性,因此

成为当前的研究热点。天然抗生物被膜物质已在体外实验中表明其能有效减少金黄色葡萄球菌生物被膜的形成,为防治金黄色葡萄球菌导致的奶牛乳房炎药物的开发提供了新的思路。不同的天然抗生物被膜物质可抑制相同或作用相同的生物被膜形成相关基因,也可通过作用于生物被膜形成的相同阶段抑制生物被膜的形成。未来,可以尝试天然抗生物被膜物质之间联用,以期产生协同或相加的效果。天然抗生物被膜物质与其他抗菌药物(包括抗生素、纳米颗粒等)联合使用,研究针对奶牛乳房炎主要致病菌金黄色葡萄球菌的抗生物被膜效果,或是防治奶牛乳房炎的一个新的研究方向。

迄今为止,对于金黄色葡萄球菌天然抗生物被膜物质的研究主要集中在体外研究。将来,我们可合理运用动物模型(例如:小鼠乳房炎模型等),进一步研究天然抗生物被膜物质在体内的作用机制和作用靶点,并将这些发现与体外研究成果联系起来,为天然抗生物被膜物质应用于金黄色葡萄球菌引起的奶牛乳房炎防治提供理论依据和数据支撑。

参考文献:

- [1] Molineri A I, Camussone C, Zbrun M V, et al. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis: Systematic review and meta-analysis[J]. Preventive Veterinary Medicine, 2021,188:105261.
- [2] 杨瑞钰. 奶牛乳房炎噬菌体“鸡尾酒制剂”的安全性评价[D]. 石河子大学, 2021.
Yang R Y. Safety evaluation of dairy cow mastitis bacteriophage "Cocktail Preparation" [D]. Shihezi University, 2021.
- [3] 刘冬. 奶牛乳房炎的发病原因及防治措施[J]. 现代畜牧科技, 2022(03):112-113.
Liu D. Causes and prevention measures of mastitis in dairy cows [J]. Modern Animal Husbandry Science & Technology, 2022 (03):112-113.
- [4] Wang W, Lin X, Jiang T, et al. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* cultured from raw milk taken from dairy cows with mastitis in Beijing, China [J]. Frontiers in Microbiology, 2018,9:1123.
- [5] Schilcher K, Horswill A R. Staphylococcal biofilm development: structure, regulation, and treatment strategies[J]. Microbiology

- and Molecular Biology Reviews, 2020,84(3):e00026–19.
- [6] Moormeier D E, Bayles K W. *Staphylococcus aureus* biofilm: a complex developmental organism [J]. Molecular Microbiology, 2017,104(3):365–376.
- [7] Hall C W, Mah T F. Molecular mechanisms of biofilm – based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria [J]. Fems Microbiology Reviews, 2017,41(3):276–301.
- [8] 刘静聪, 方金玉, 朱军莉. 细菌生物被膜基质的研究进展 [J]. 微生物学报, 2022,62(01):47–56.
- Liu J C, Fang J Y, Zhu J L. A brief review of biofilm matrix in structured microbial communities [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022,62(01):47–56.
- [9] Campanac C, Pineau L, Payard A, *et al.* Interactions between biocide cationic agents and bacterial biofilms [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002,46(5):1469–1474.
- [10] Jefferson K K, Goldmann D A, Pier G B. Use of confocal microscopy to analyze the rate of vancomycin penetration through *Staphylococcus aureus* biofilms [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005,49(6):2467–2473.
- [11] 薛佳怡. 细菌生物被膜对抗生素屏障能力的评估及其在活性化合物筛选中的应用[D]. 山东大学, 2020.
- Xue J Y. Evaluation for the permeability of bacterial biofilms to antibiotics and its application in the screening of active compounds[D]. Shandong University, 2020.
- [12] Chiang W C, Nilsson M, Jensen P O, *et al.* Extracellular DNA shields against aminoglycosides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57 (5): 2352–2361.
- [13] Amato S M, Fazen C H, Henry T C, *et al.* The role of metabolism in bacterial persistence [J]. Frontiers in Microbiology, 2014,5:70.
- [14] Haurlyuk V, Atkinson G C, Murakami K S, *et al.* Recent functional insights into the role of (p) ppGpp in bacterial physiology [J]. Nature Reviews Microbiology, 2015, 13 (5): 298–309.
- [15] Fernandez L, Gonzalez S, Campelo A B, *et al.* Low – level predation by lytic phage phiIPLA – RODI promotes biofilm formation and triggers the stringent response in *Staphylococcus aureus* [J]. Scientific Reports, 2017,7:40965.
- [16] Boles B R, Horswill A R. Agr – mediated dispersal of *Staphylococcus aureus* biofilms [J]. PLoS Pathogens, 2008, 4 (4):e1000052.
- [17] Tan L, Li S R, Jiang B, *et al.* Therapeutic targeting of the *Staphylococcus aureus* accessory gene regulator (agr) system [J]. Frontiers in Microbiology, 2018,9:55.
- [18] 万佳宏, 常佳伟, 魏彦琴, 等. 金黄色葡萄球菌 Agr 群体感应系统及其抗毒力治疗研究进展 [J]. 中国病原生物学杂志, 2020,15(01):115–118.
- Wan J H, Chang J W, Wei Y Q, *et al.* Advances in research on the Agr quorum sensing system in *Staphylococcus aureus* and antivirulence therapy based on that system [J]. Journal of Pathogen Biology, 2020,15(01):115–118.
- [19] Yarwood J M, Bartels D J, Volper E M, *et al.* Quorum sensing in *Staphylococcus aureus* biofilms [J]. Journal of Bacteriology, 2004,186(6):1838–1850.
- [20] Brackman G, Breyne K, De Rycke R, *et al.* The quorum sensing inhibitor hamamelitannin increases antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* biofilms by affecting peptidoglycan biosynthesis and eDNA release [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 20321.
- [21] Alav I, Sutton J M, Rahman K M. Role of bacterial efflux pumps in biofilm formation [J]. J Antimicrob Chemother, 2018,73(8): 2003–2020.
- [22] 王清会, 蔺飞, 袁明勇, 等. 外排泵抑制剂对泛耐药鲍曼不动杆菌生物被膜的影响 [J]. 成都医学院学报, 2021, 16 (03):273–277.
- Wang Q H, Lin F, Yuan M Y, *et al.* Effect of efflux pump inhibitor on the biofilm of extensively drug resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. Journal of Chengdu Medical College, 2021, 16 (03):273–277.
- [23] Poole K. Efflux – mediated antimicrobial resistance [J]. J Antimicrob Chemother, 2005,56(1):20–51.
- [24] 明迪. 山奈酚抑制金黄色葡萄球菌生物被膜形成的分子机制研究 [D]. 吉林大学, 2018.
- Ming D. Molecular mechanism of inhibitory effect of kaempferol on *Staphylococcus aureus* biofilms formation [D]. Jilin University, 2018.
- [25] 戴雨芸, 李超, 袁中伟, 等. 香芹酚抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的形成 [J]. 微生物学通报, 2020,47(03):813–820.
- Dai Y Y, Li C, Yuan Z W, *et al.* Inhibition of *Staphylococcus aureus* biofilm by carvacrol [J]. Microbiology China, 2020, 47 (03):813–820.
- [26] 韩佳慧, 刘唐娟, 罗劲, 等. 黄芩苷抗生物膜作用研究进展 [J]. 中成药, 2021,43(09):2438–2441.
- Han J H, Liu T J, Luo J, *et al.* Research progress on anti – biofilm effect of baicalin [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2021,43(09):2438–2441.
- [27] Chen Y, Liu T, Wang K, *et al.* Baicalein inhibits *Staphylococcus*

- aureus* biofilm formation and the quorum sensing system *in vitro* [J]. *PLoS One*, 2016,11(4):e153468.
- [28] Qian Y, Xia L, Wei L, *et al.* Artesunate inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation by reducing alpha-toxin synthesis[J]. *Archives of Microbiology*, 2021,203(2):707-717.
- [29] 纠敏, 闫鹏, 李晶晶, 等. 冬凌草甲素对金黄色葡萄球菌生物膜的抑制机制[J]. *微生物学通报*, 2020,47(05):1565-1571.
- Jiu M, Yan P, Li J J, *et al.* Inhibition of *Staphylococcus aureus* biofilm formation by oridonin[J]. *Microbiology China*, 2020,47(05):1565-1571.
- [30] 焉鑫. 大黄素与乳酸菌生物表面活性剂干预金黄色葡萄球菌生物被膜形成研究[D]. 东北农业大学, 2017.
- Yan X. Effect of emodin and *Lactobacillus* biosurfactant against *Staphylococcus aureus* biofilm *in vitro* [D]. Dongbei Agriculture University, 2017.
- [31] 程峰, 刘宇, 杨珍, 等. 茶树精油对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌生物被膜的影响[J]. *食品工业科技*, 2021,42(14):107-112.
- Cheng F, Liu Y, Yang Z, *et al.* Effect of tea tree oil on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021,42(14):107-112.
- [32] 吴晓晓, 贾毅飞, 段真真, 等. 不同浓度大蒜素溶液对奶牛乳房炎金黄色葡萄球菌 N2 分离株生物被膜的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2019(14):128-129.
- Wu X X, Jia Y F, Duan Z Z, *et al.* The effect of different concentrations of allicin solution on the biofilm of *Staphylococcus aureus* N2 isolate in bovine mastitis [J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2019(14):128-129.
- [33] 张慧华, 姜新华, 方水晶. 人参皂苷对金黄色葡萄球菌生物被膜的抑制作用[J]. *中国现代医生*, 2018,56(22):16-18.
- Zhang H H, Jiang X H, Fang S J. The inhibitory effect of ginsenoside on bacterial biofilm of *Staphylococcus aureus* [J]. *China Modern Doctor*, 2018,56(22):16-18.
- [34] Jhanji R, Bhati V, Singh A, *et al.* Phytomolecules against bacterial biofilm and efflux pump: an *in silico* and *in vitro* study [J]. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 2020,38(18):5500-5512.
- [35] 廖芯, 李晨曦, 何佳, 等. 鱼腥草对金黄色葡萄球菌生物被膜干预作用研究[J]. *中兽医医药杂志*, 2022,41(02):26-29.
- Liao X, Li C X, He J, *et al.* The inhibition of Herba Houttuyniae on *Staphylococcus aureus* biofilm formation [J]. *Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine*, 2022,41(02):26-29.
- [36] 马强. 穿心莲内酯对金黄色葡萄球菌生物被膜抑制及对 β -内酰胺类抗生素增敏作用机制的研究[D]. 宁夏大学, 2021.
- Ma Q. The mechanism of Andrographolide on biofilms inhibition and sensitization of β -lactams in *Staphylococcus aureus* [D]. Ningxia University, 2021.
- [37] Song Y J, Yu H H, Kim Y J, *et al.* Anti-biofilm activity of grapefruit seed extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2019,29(8):1177-1183.
- [38] Amankwah S, Abdella K, Kassa T. Bacterial biofilm destruction: A focused review on the recent use of phage-based strategies with other antibiofilm agents [J]. *Nanotechnology Science Applications*, 2021,14:161-177.
- [39] Jiang Y, Xu Q, Jiang L, *et al.* Isolation and characterization of a lytic *Staphylococcus aureus* phage WV against *Staphylococcus aureus* biofilm [J]. *Intervirology*, 2021,64(4):169-177.
- [40] Ali Gharieb R M, Saad M F, Mohamed A S, *et al.* Characterization of two novel lytic bacteriophages for reducing biofilms of zoonotic multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* and controlling their growth in milk [J]. *LWT*, 2020,124:109145.
- [41] 阮红日, 王宇辉, 徐若扬, 等. 噬菌体 vB_SauM_RS 对乳源金黄色葡萄球菌生物被膜的清除作用[J]. *食品科学*, 2021,42(01):52-58.
- Ruan H R, Wang Y H, Xu R Y, *et al.* Effect of phage vB_SauM_RS on removal of milk-derived *Staphylococcus aureus* biofilms [J]. *Food Science*, 2021,42(01):52-58.
- [42] Montañez-izquierdo V Y, Salas-vázquez D I, Rodríguez-jerez J J. Use of epifluorescence microscopy to assess the effectiveness of phage P100 in controlling *Listeria monocytogenes* biofilms on stainless steel surfaces [J]. *Food Control*, 2012,23(2):470-477.
- [43] 汪文博, 王冠男, 蔡莎莎. 抗菌肽的抗生物膜机理研究进展[J]. *生物工程学报*, 2020,36(07):1277-1282.
- Wang W B, Wang G N, Cai S S. Current progress in antimicrobial peptides against bacterial biofilms [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2020,36(07):1277-1282.
- [44] 赵洋, 张欣, 夏雨婷, 等. 抗菌肽抑制金黄色葡萄球菌的黏附及生物被膜形成研究[J]. *畜牧兽医杂志*, 2021,40(06):25-32.
- Zhao Y, Zhang X, Xia Y T, *et al.* Inhibitory effect of antimicrobial peptides on adhesion and biofilm formation of *Staphylococcus aureus* [J]. *Journal of Animal Science and*

- Veterinary Medicine, 2021,40(06):25–32.
- [45] Picoli T, Peter C M, Zani J L, *et al.* Melittin and its potential in the destruction and inhibition of the biofilm formation by *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from bovine milk [J]. Microbial Pathogenesis, 2017,112:57–62.
- [46] 朱晨刚, 贾庭. 蝎毒素抗菌肽 La39 的序列分析及功能鉴定 [J]. 生物学杂志, 2022,39(01):33–36.
- Zhu C, Jia T. Functional identification and bioinformation analysis of antimicrobial peptide from scorpion venom [J]. Journal of Biology, 2022,39(01):33–36.
- [47] 回丽媛. 抗菌肽 17BIPHE2 抑制金黄色葡萄球菌及铜绿假单胞菌生物被膜作用的研究 [D]. 宁夏医科大学, 2017.
- Hui L Y. The Inhibition of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by antimicrobial peptide 17BIPHE2 [D]. Ningxia Medical University, 2017.
- [48] Fusco A, Savio V, Stelitano D, *et al.* The intestinal biofilm of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* is inhibited by antimicrobial peptides HBD – 2 and HBD – 3 [J]. Applied Sciences, 2021,11(14):6595.
- [49] Mishra R, Panda A K, De Mandal S, *et al.* Natural anti – biofilm agents: Strategies to control biofilm – forming pathogens [J]. Frontiers in Microbiology, 2020,11:566325.
- [50] Liu J, Li W, Zhu X, *et al.* Surfactin effectively inhibits *Staphylococcus aureus* adhesion and biofilm formation on surfaces [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019,103(11):4565–4574.
- [51] Merghni A, Dallel I, Noumi E, *et al.* Antioxidant and antiproliferative potential of biosurfactants isolated from *Lactobacillus casei* and their anti – biofilm effect in oral *Staphylococcus aureus* strains [J]. Microbial Pathogenesis, 2017,104:84–89.
- [52] Xin Y, Shanshan G, Xingyang C, *et al.* Antimicrobial, anti – adhesive and anti – biofilm potential of biosurfactants isolated from *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus plantarum* against *Staphylococcus aureus* CMCC26003 [J]. Microbial Pathogenesis, 2019,127.
- [53] Jiang X, Yan X, Gu S, *et al.* Biosurfactants of *Lactobacillus helveticus* for biodiversity inhibit the biofilm formation of *Staphylococcus aureus* and cell invasion [J]. Future Microbiology, 2019,14:1133–1146.
- [54] Shu Q, Wei T, Lu H, *et al.* Mannosylerythritol lipids: dual inhibitory modes against *Staphylococcus aureus* through membrane – mediated apoptosis and biofilm disruption [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020,104(11):5053–5064.

(编辑:李文平)