

铜绿假单胞菌生物被膜形成的调控及 治疗对策研究进展

王文敏,徐志豪 综述

(浙江大学医学院附属第二医院、浙江大学呼吸疾病研究所,浙江 杭州 310009)

[摘要] 铜绿假单胞菌是医院内感染重要的致病菌。该菌易形成生物被膜,常给临床治疗带来很多困难。在生物被膜形成的细菌早期定植、蘑菇状结构形成以及细胞外基质生成的各个阶段均受多种分子及基因的调控,而密度感知信号系统整体调控生物被膜的形成。根据生物被膜的形成过程及调控机制,多种针对生物被膜的治疗对策已应用于临床,一些新药物和新方法也在研究之中。

[关键词] 假单胞菌,铜绿;生物膜;假单胞菌感染/药物治疗

[中图分类号] Q 936 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2010)01-0103-06

Research advances on regulation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and its therapeutic strategies

WANG Wen-min, XU Zhi-hao (Department of Respiratory Medicine, Institute of Respiratory Diseases, The Second Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310009, China)

[Abstract] *Pseudomonas aeruginosa* is an important pathogenic bacterium of nosocomial infections. The microbe easily produce biofilm which brings us much difficulties in clinical treatment. The formation processes of biofilm, including the stages of early bacteria planting, mushroom-like structure forming and extracellular matrix producing, are regulated by a series of molecules and genes. And quorum sensing system of the microbe is responsible for regulation of the whole process of biofilm formation. According to the process of biofilm formation and the mimetic associated regulation mechanism, several anti-biofilm therapeutic strategies have been applied in clinical medicine, and some novel drugs and methods are developed.

[Key words] *Pseudomonas aeruginosa*; Biofilms; *Pseudomonas* infections/drug therapy

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2010, 39(1):103-108.]

细菌生物被膜是指细菌黏附于物体表面后,分泌多糖基质、纤维蛋白、脂蛋白等多糖蛋白复合物,使细菌相互黏连并将其自身群落聚集缠绕其中形成的膜样物。生物被膜拥有相当复杂的构造,形成不连续的柱状或蘑菇状结构,通过其中复杂的通道网络获取营养物质,抵抗多种抗生素等的攻击,造成难治性感染。铜绿

假单胞菌是医院内感染最常见的细菌之一,其

收稿日期:2008-09-02 修回日期:2008-12-25

作者简介:王文敏(1978-),男,在读硕士,主要从事细菌感染研究。

通讯作者:徐志豪(1967-),男,博士,副教授,从事细菌感染研究;E-mail:zhihaox@sina.com

生物被膜形成常给临床治疗带来许多困难。

1 铜绿假单胞菌生物被膜的形成及调控机制

1.1 生物被膜的形成过程 生物被膜的形成过程包括3个方面:①浮游细菌黏附到表面形成单细胞层;②细菌通过群落生长或聚集形成微菌落,进而形成蘑菇状结构;③细菌分泌细胞外多聚物,形成基质,细菌深埋于基质内,成为成熟的生物被膜。细菌生物被膜结构坚实稳定,不易受到破坏,是细菌为了适应环境、维持自身发展所发生的形态变化。

1.2 生物被膜形成过程的分子及基因调控

1.2.1 调控细菌定植及生物被膜早期形成的分子及其基因 细菌的运动如颤搐运动、游动和群游运动(*swarming*)等,对细菌定植到物体表面形成微菌落非常重要。细菌依赖鞭毛联合在物体表面形成单细胞层,然后通过四型菌毛(*type IV pili*)的颤搐(*twitching*)运动聚集成微菌落。鞭毛介导的运动和四型菌毛的颤搐运动受许多因素调控,其中最重要的是细菌 *cyclic-di-GMP*。*cyclic-di-GMP* 是菌细胞的第二信使,能感受环境中的刺激信号,控制细菌的运动和毒力,促进细菌黏附到物体表面并维持细菌的群落状态^[1]。一些基因产物通过调控 *cyclic-di-GMP* 水平来调节细菌的运动。例如,四型菌毛的组装需要 *Fim X* 蛋白,该蛋白具有磷酸二酯酶的作用,能催化 *cyclic-di-GMP* 的合成^[2]。此外,细菌二鸟苷酸环化酶 *SadC* 与磷酸二酯酶 *BifA* 也通过调节 *cyclic-di-GMP* 水平来控制鞭毛的运动,从而调节细菌在表面定植^[3]。*Sad B* 基因则通过趋化簇 *IV* (*CheIV cluster*),以黏性依赖形式调节鞭毛的运动^[4]。

1.2.2 调控生物被膜蘑菇状结构的分子及其基因 定植的细菌经繁殖逐渐增多后,可形成蘑菇状结构,生物表面活性剂鼠李糖脂在此过程中起重要作用。附着于蘑菇状结构“柄”上不运动的细菌产生鼠李糖脂,该糖脂分布于“柄”的表面,有利于活动细菌移动至糖脂表面而形成“帽子”(“*cap*”);同时,鼠李糖脂也维持蘑菇状结构之间的开放通道^[5]。自动转运蛋白 *EstA* 是外膜结合酯酶,其能调节鼠李糖脂的生成^[6]。此外,鞭毛介导的运动和四型菌毛以

及菌细胞外 DNA 也参与“帽子”形成与生物被膜结构的成熟^[7]。

1.2.3 调控生物被膜基质形成的分子及其基因 细菌形成蘑菇状结构后,大量分泌多聚物——菌细胞外基质包绕在蘑菇状结构之外,形成稳固的生物被膜。基质主要由蛋白、多糖和核酸组成,其中藻酸盐是胞外基质多糖的主要成分之一。基质多糖在细菌定植形成微菌落时已开始分泌,在蘑菇状结构形成后分泌才大量增加。藻酸盐能清除自由基,保护细菌免受吞噬细胞的清除作用,影响生物被膜的抵抗性^[8]。藻酸盐产生受 *alg* 基因的调节。铜绿假单胞菌的 *alg* 基因根据功能分成3种,即合成基因、调节基因和基因转换基因。*algD*、*algG* 基因直接催化藻酸盐的合成;*algZ*、*algR* 和 *algB* 基因调节藻酸盐的合成;转换基因 *algT*、*mucA*、*mucB*、*mucC* 和 *mucD* 介导 *Alg* + 表型的转换。*algD* 基因编码 GDP-甘露糖脱氢酶,其活化是藻酸盐合成调节途径的关键点,受藻酸盐转换基因和调节基因的调控。*algT* 基因编码 σ^{22} 因子,正性调控自身的启动子 *PalgT* 以及 *algR* 等调节基因的表达;而 *muc* 基因则编码反 σ^{22} 因子或类似负性调节因子,抑制 *algT* 基因的表达。调节基因 *algR* 与 *algT* 结合后上调 *algD* 的转录和下游的合成基因^[9]。产藻酸盐黏液型菌株的增加主要是由于 *muc* 负性调节基因的突变,引起转换基因 *algT* 表达增加,并导致调节基因 *algR* 和合成基因 *algD* 的高水平的转录,从而引起细菌由非黏液型向黏液表型的转变。

在非黏液型菌株如铜绿假单胞菌 PAO1 和 PA14 株,几乎不产生藻酸盐,但能形成生物被膜,其原因主要是2个基因座 *pel* 和 *psl* 参与菌细胞外基质多糖的生成。其中,*pel* 参与富含葡萄糖基质物质的生成和菌膜(*pellicle*)的形成,*psl* 参与富含甘露糖基质物质的生成,以及生物被膜的形成和维持,从而将细菌固定于基质内^[8]。

pel 和 *psl* 的表达受 *wsp* 基因簇调控。*WspF* 负性调节 *WspA* 的甲基化,后者控制反应调节因子 *WspR* 的活化。灭活 *WspF* 可导致 *WspA* 的高度甲基化,同时 *WspR* 也相应活化,

从而引起 *pel* 和 *psl* 基因的过度表达。进一步的研究表明, *WspR* 具有类似二鸟苷酸环化酶的作用,参与了铜绿假单胞菌生物被膜的形成过程^[8]。

此外, *pel* 和 *psl* 的表达还受 *GacS/GacA/rsmZ* 系统控制,活化 *RetS* 的信号能抑制 *rsmZ* 的表达,而活化 *GacS* 的信号则诱导 *rsmZ* 的表达。高水平 *RsmZ* 可灭活 *RsmA*,引起 *psl* 和 *pel* 基因表达上调,低水平 *rsmZ* 则抑制 *psl* 和 *pel* 基因的表达。*LadS* 是混合感受器激酶,也调节 *rsmZ* 水平,间接影响 *psl* 和 *pel*^[8]。

细菌胞外 DNA 也是生物被膜的基质成分之一,其产生依赖于 AHL、PQS 及鞭毛和四型菌毛等,来源于少量溶解的细菌。细胞外 DNA 主要位于蘑菇状结构的柄部分,尤其在柄与帽交界处,可维持生物被膜的结构稳定性^[10]。

1.3 密度感知信号系统对生物被膜形成的调控 铜绿假单胞菌通过基于酰基化同型丝氨酸内酯 (acyl-homoserine lactone, AHL) 的密度感知信号 (quorum-sensing, QS) 系统来调节毒力因子的表达及生物被膜的形成。目前已知有 2 个主要 AHL 系统: *las* 和 *rhl*, 分别有自己的合成酶 *LasI* 和 *RhlI*, DNA 结合调节因子 *LasR* 和 *RhlR*, 以及 AHL 信号分子 3-氧化十二烷酰基-L-同型丝氨酸内酯 (3-oxododecanoyl homoserine lactone, 3-oxo-C₁₂-HSL) 和 N-丁酰基-L-同型丝氨酸内酯 (N-butyryl homoserine lactone, C₄-HSL)。 *las* 和 *rhl* 构成级联调节系统, *rhl* 系统受控于 *las* 系统。研究表明密度感知信号系统是整体调节网络,直接或间接控制至少 400 个基因的表达。3-oxo-C₁₂-HSL 被细菌摄取后,与 *LasR* 转录激活因子相互作用形成 *LasR*-3-oxo-C₁₂-HSL 复合物,从而激活许多基因的表达,包括 *lasB*、*lasA*、*apr*、*toxA*、*xcp* 操纵子,以及 *rhlR* 和 *lasI* 本身。C₄-HSL 结合 *RhlR* 转录调节因子所形成的 *RhlR*-C₄-HSL,可调节鼠李糖脂合成操纵子 *rhlAB*、*rhlI* 本身,以及碱性蛋白酶、绿脓素、PA-IL 和 PA-III 凝集素、弹性蛋白酶的表达。铜绿假单胞菌还有非 AHL 的胞外喹诺酮信号 PQS (pseudomonas quinolone signal),但也包含在 AHL 信号环内。此外, *RpoS*、*GacA/S* 和 *Vfr* 等一些调节因子,也可影响 QS 的信号传

导^[11]。

密度感知信号系统存在于许多细菌之中,调节细菌的多细胞群落活动,对生物被膜的形成有重要影响。*lasI* 和 *lasIRhII* 变异株形成的生物被膜与野生型不同,易被去污剂 SDS 破坏^[11]。

2 治疗对策

根据铜绿假单胞菌生物被膜形成过程及调控机制,目前已制订出一些有效的治疗对策,如抑制细菌的定植、破坏 QS 系统和生物被膜、改变细菌铁代谢等。一些新药物和新方法也在研究之中,如保护性抗体、海洋产物提取物等。

2.1 抑制细菌定植 通过医学材料的改变使细菌不易定植于体内,是临床上常用的抑制细菌定植的手段。David 等研究发现,覆盖有放射性的纳米银颗粒塑料导管具有抗多种细菌生物被膜的作用,可减少留置导管发生感染并发病的危险^[12]。磺胺嘧啶银对于抑制成熟的铜绿假单胞菌生物被膜非常有效,但其对生物被膜细菌的杀菌浓度是浮游细菌的 10 ~ 100 倍。Berra 等研究发现,磺胺嘧啶银覆盖的气管导管 72 h 体外试验能阻止铜绿假单胞菌生物被膜的形成,在 24 h 内阻止机械通气羊的下气道细菌定植^[13]。除银之外,覆盖有洗必泰和硫酸鱼精蛋白的导管也有类似的抗生物被膜形成的作用^[14]。在紫外线照射下,覆有二氧化钛纳米颗粒的器械能抑制大肠杆菌、铜绿假单胞菌等生物被膜的形成。该方法目前多应用于骨科内固定器械^[15]。

2.2 破坏 QS 系统 大蒜提取物能抑制密度感知信号系统,经其处理后的生物被膜对妥布霉素和多形核白细胞的敏感性提高^[16]。已有研究证明,卤代呋喃酮能通过抑制 AHL 而阻断生物被膜的形成,甲基链烷酸盐 (methyl alkanoate) 类似物的复合物能显著抑制铜绿假单胞菌 QS 信号传递和生物被膜形成^[17]。葡萄柚汁及其成分呋喃并香豆素 (furocoumarins) 能抑制 QS 自身诱导物 AHL 和噻吩二酯分子的活性,从而阻断铜绿假单胞菌等细菌的生物被膜形成^[18]。N-癸酰环戊氨 (N-Decanoyl cyclopentylamide, C10-CPA) 能抑制反应调节因子 *LasR*

和 RhlR 与自身诱导物 3-oxo-C₁₂-HSL 和 C₄-HSL 的相互作用,干扰 las 和 rhl QS 系统,还能抑制弹性蛋白酶、绿脓菌素、鼠李糖脂的产生和生物被膜的形成^[19]。

2.3 改变细菌铁代谢 铁是铜绿假单胞菌代谢的重要营养物质,对生物被膜的形成也非常重要,菌体内需有足够的铁才能启动生物被膜的形成。铁缺乏时铜绿假单胞菌形成的生物被膜薄且不充分^[20],但是高浓度的铁也能抑制细菌 DNA 的释放而抑制生物被膜的形成^[21]。Kaneko 等发现镓与铁在化学上有相似性,利用镓干扰转录调节因子 pvdS 的铁信号传导,可减少细菌铁摄入,抑制细菌生长和生物被膜的形成^[22]。Musk 等利用邻吡啶甲酸 (picolinic acid) 和乙酰羟肟酸 (acetohydroxamic acid) 螯合铁,通过雾化吸入在气道表面形成高浓度的铁,从而抑制铜绿假单胞菌生物被膜的形成^[23]。

2.4 抑制生物被膜基质的形成 Alkawash 等发现,藻酸盐裂解酶体外能降解藻酸盐,与抗生素共同作用时能明显加强抗生素对黏液型铜绿假单胞菌生物被膜的清除作用^[24]。抗藻酸盐血清也能够影响黏液型铜绿假单胞菌生物被膜的形态,与加替沙星联用有协同作用^[25]。黏液溶解剂氨溴索是临床常用的化痰药,研究发现该药物能减少藻酸盐的合成^[26]。脱氧核糖核酸酶 DNase1L2 能通过裂解细胞外 DNA 而抑制铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌在表皮上的定植和生物被膜的形成^[27]。

2.5 抗生素的应用 氟喹诺酮类清除生物被膜作用最强,而亚氨基培南和头孢他定作用较弱;大环内酯类对菌细胞外多糖基质的穿透力最强,氟喹诺酮类和 β-内酰胺类次之,氨基糖甙类最弱^[28]。大环内酯类本身不具有抗铜绿假单胞菌的作用,但具有较好的生物被膜穿透性,亚抑菌浓度就有抑制和破坏生物被膜的作用^[29],其中阿奇霉素还能抑制藻酸盐的产生和密度感知信号系统,增加对过氧化氢和补体系统的敏感性^[30],在抗生物被膜方面临床应用最广。吸入阿米卡星脂质体在生物被膜穿透性、靶向和持续性释放等方面比游离药物更具有优越性^[31],但对生物被膜的清除破坏作用仍不够理想。国内外研究发现,磷霉素与其它药物联合应用亦

具有一定的破坏生物被膜的作用^[32]。

2.6 保护性抗体 最近一项研究发现,细菌外膜蛋白 (OMP) Opr86 的抗体可抑制铜绿假单胞菌 PAO1 株及其它菌株的黏附及生物被膜形成^[33]。Opr86 是 Omp85 家族成员,其同类物可见于所有的革兰阴性菌。但此类研究报道甚少,其可行性有待进一步研究。

2.7 海洋产物 最近 Richards 等发现,含一个 2-氨基咪唑基序的海洋天然产物乳清群海绵定 (oroidin) 及其类似物,对铜绿假单胞菌 PAO1 和 PA14 株形成生物被膜有抑制作用,低浓度时亦能分散已形成的生物被膜,但本身并无抗生素的作用^[34]。之后,Huigens 等利用该提取物合成的小分子 TAGE 及衍生物,也具有抑制铜绿假单胞菌等多种细菌生物被膜形成的作用,同时对鼠源性细胞无细胞毒性^[35]。

2.8 其它 人类阳离子宿主防御肽 LL-37 除有调节天然免疫反应和抗菌活性外,远低于 MIC 的浓度也能在体外有效抑制细菌生物被膜的形成,其机制与减弱细菌附着力、刺激菌毛颤搐运动、抑制 Las 和 Rhl 系统有关^[36]。黄芩苷是传统中药提取物,小剂量时有抑制生物被膜和促进大肠杆菌 QS 信号分子受体 TraR 蛋白水解的作用,与氨苄西林联合有协同抗铜绿假单胞菌的作用^[37]。

References:

- [1] JENAL U, MALONE J. Mechanisms of cyclic-di-GMP signaling in bacteria [J]. *Annu Rev Genet*, 2006, 40: 385-407.
- [2] KAZMIERCZAK, BARBARA I L, MARIA B, et al. Analysis of Fim X, a phosphodiesterase that governs twitching motility in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Molecular Microbiology*, 2006, 60 (4): 1026-1043.
- [3] MERRITT J H, BROTHERS K M, KUCHMA S L, et al. SadC reciprocally influences biofilm formation and swarming motility via modulation of exopolysaccharide production and flagellar function [J]. *J Bacteriol*, 2007, 189 (22): 8165-8178.
- [4] CAIAZZA N C, MERRITT J H, BROTHERS K M, et al. Inverse regulation of biofilm formation and swarming motility by *Pseudomonas aeruginosa* PA14

- [J]. *J Bacteriol*, 2007, 189(9): 3603-3612.
- [5] MARY E D, NICKY C C, GEORGE A O. Rhamnolipid surfactant production affects biofilm architecture in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 [J]. *J Bacteriol*, 2003, 185(3): 1027-1036.
- [6] WILHELM S, GDYNIA A, TIELEN P, et al. The autotransporter esterase Est A of *Pseudomonas aeruginosa* is required for rhamnolipid production, cell motility, and biofilm formation [J]. *J Bacteriol*, 2007, 189(18): 6695-6703.
- [7] BARKEN K B, PAMP S J, YANG L, et al. Roles of type IV pili, flagellum-mediated motility and extracellular DNA in the formation of mature multicellular structures in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms [J]. *Environ Microbiol*, 2008, 10(9): 2331-2343.
- [8] CYNTHIA R, MATTHEW B, DANIEL J W. Role of polysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development [J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2007, 10: 644-648.
- [9] MUHAMMADI, NUZHAT A. Genetics of bacterial alginate: alginate genes distribution, organization and biosynthesis in bacteria [J]. *Current Genomics*, 2007, 8: 191-202.
- [10] MARIE A H, KIM B B, LIANG Y, et al. A characterization of DNA release in *Pseudomonas aeruginosa* cultures and biofilms [J]. *Molecular Microbiology*, 2006, 59(4): 1114-1128.
- [11] MARK E S, JON T M, ANNE K C. Molecular interactions in biofilms [J]. *Chemistry & Biology*, 2002, 9(8): 859-871.
- [12] DAVID R, BALU K, NATHAN B S, et al. Antimicrobial surface functionalization of plastic catheters by silver nanoparticles [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2008, 61(4): 869.
- [13] BERRA L, CURTO F, LAQUERRIERE P, et al. Antimicrobial-coated endotracheal tubes: an experimental study [J]. *Intensive Care Med*, 2008, 34(6): 1020-1029.
- [14] RABIH O D. Efficacy of combination of chlorhexidine and protamine sulphate against device-associated pathogens [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2008, 61(3): 651.
- [15] TSUANG Y H, SUN J S, HUANG Y C, et al. Studies of photokilling of bacteria using titanium dioxide nanoparticles [J]. *Artif Organs*, 2008, 32(2): 167-174.
- [16] THOMAS B, PETER Ø J, THOMAS B, et al. Garlic blocks quorum sensing and promotes rapid clearing of pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infections [J]. *Microbiology*, 2005, 151: 3873-3880.
- [17] KIM C, KIM J, PARK H Y, et al. Furanone derivatives as quorum-sensing antagonists of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, 80(1): 37-47.
- [18] GIRENNAVAR B, CEPEDA M L, SONI K A, et al. Grapefruit juice and its furocoumarins inhibits autoinducer signaling and biofilm formation in bacteria [J]. *Int J Food Microbiol*, 2008, 125(2): 204-208.
- [19] ISHIDA, TAKENORI, IKEDA, et al. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* by N-Acyl cyclopentylamides [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73(10): 3183-3188.
- [20] PATRIQUIN G M, BANIN E, GILMOUR C, et al. Influence of quorum sensing and iron on twitching motility and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *J Bacteriol*, 2008, 190(2): 662-671.
- [21] LIANG Y, BARKEN K B, SKINDERSOE M E, et al. Effects of iron on DNA release and biofilm development by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Microbiology*, 2007, 153(5): 1318-1328.
- [22] KANEKO Y, THOENDEL M, OLAKANMIL O, et al. The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(4): 877-889.
- [23] MUSK DJ JR, HERGENROTHER P J. Chelated iron sources are inhibitors of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and distribute efficiently in an *in vitro* model of drug delivery to the human lung [J]. *J Appl Microbiol*, 2008, 105(2): 380-388.
- [24] ALKAWASH M A, SOOTHILL J S, SCHILLER N L. Alginate lyase enhances antibiotic killing of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms [J]. *APMIS*, 2006, 114: 131-138.
- [25] WANG Rui, PEI Fei, CHAI Dong, et al(王睿, 裴斐, 柴栋, 等). Influence of anti-alginate serum combined with gatifloxacin on mucoid *Pseudomonas aeruginosa* biofilm morphology [J].

- Natl Med J China (中华医学杂志), 2002, 82 (18): 1276-1278. (in Chinese)
- [26] FANG L, JIALIN Y, HUA Y, et al. Effects of Ambroxol on alginate of mature *Pseudomonas aeruginosa* biofilms [J]. **Current Microbiology**, 2008, 57(1): 1-7.
- [27] ECKHART L, FISCHER H, BARKEN K B, et al. DNase1L2 suppresses biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and *staphylococcus aureus* [J]. **Br J Dermatol**, 2007, 156 (6): 1342-1345.
- [28] ABDI-ALI A, MOHAMMADI-MEHR M, AGHA-ALAEI Y. Bactericidal activity of various antibiotics against biofilm-producing *Pseudomonas aeruginosa* [J]. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 2006, 27(3): 196-200.
- [29] WOZNAK D J, KEYSER R. Effects of subinhibitory concentrations of macrolide antibiotics on *Pseudomonas aeruginosa* [J]. **CHEST**, 2004, 125 (Supplement): 62-69.
- [30] HOFFMANN N, LEE B. Azithromycin blocks quorum sensing and alginate polymer formation and increases the sensitivity to serum and stationary-growth-phase killing of *Pseudomonas aeruginosa* and attenuates chronic *paeruginosa* lung infection in Cfr mice [J]. **Antimicrob Agents Chemother**, 2007, 51(10): 3677-3687.
- [31] MEERS P, NEVILLE M, MALININ V, et al. Biofilm penetration, triggered release and *in vivo* activity of inhaled liposomal amikacin in chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infections [J]. **J Antimicrob Chemother**, 2008, 61(4): 859-859.
- [32] XU Zhi-hao, LIU Fu-guang, WANG Xuan-ding, et al (徐志豪, 刘富光, 王选锭, 等). Effects of erythromycin and fosfomycin on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm *in vitro* [J]. **Chin J Tuberc Respir Dis** (中华结核和呼吸杂志), 2001, 24 (6): 342-344. (in Chinese)
- [33] TASHIRO Y, NOMURA N, NAKAO R, et al. Opr86 is essential for viability and is a potential candidate for a protective antigen against biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. **J Bacteriol**, 2008, 190(11): 3969-3978.
- [34] RICHARDS J J, BALLARD T E, MELANDER C. Inhibition and dispersion of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms with reverse amide 2-aminoimidazole oroidin analogues [J]. **Org Biomol Chem**, 2008, 6(8): 1356-1363.
- [35] HUIGEN I RW, MA L, GAMBINO C, et al. Control of bacterial biofilms with marine alkaloid derivatives [J]. **Mol Biosyst**, 2008, 4(6): 614-621.
- [36] OVERHAGE J, CAMPISANO A, BAINS M, et al. The human host defence peptide LL-37 prevents bacterial biofilm formation [J]. **Infect Immun**, 2008, 76(9): 4176-4182.
- [37] ZHIRUI Z, LI Q, LIXIANG C, et al. Virtual screening for novel quorum sensing inhibitors to eradicate biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2008, 79 (1): 119-126.

[责任编辑 黄晓花]