

综述

文章编号: 1001-8689(2018)05-0497-05

大肠埃希菌生物膜形成与耐药机制的研究进展

张青¹ 马慧娜²

(1 天津医科大学天津肿瘤医院检验科, 国家肿瘤临床医学研究中心, 天津市“肿瘤防治”重点实验室, 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津 300060; 2 河北省军区门诊部, 石家庄 050011)

摘要: 生物膜细菌与浮游菌相比有着其独特的生理学特性、毒力作用及耐药机制, 对其耐药机制及治疗成为近年来的研究热点。大肠埃希菌(*Escherichia coli*)是医院感染的重要病原菌之一, 也是生物膜感染的常见病原菌。形成生物膜的大肠埃希菌具有高度的耐药性并能逃避免疫系统的攻击, 其感染易慢性化并难于控制。本文通过对大肠埃希菌生物膜形成与耐药机制研究特点进行阐述, 为寻找有效的控制手段, 指导抗生素合理使用提供理论依据。

关键词: 大肠埃希菌; 生物膜; 感染; 耐药

中图分类号: R978.1 **文献标志码:** A

Advances in research on *Escherichia coli* biofilm formation and antimicrobial resistance mechanisms

Zhang Qing¹ and Ma Hui-na²

(1 Medical Laboratory Department, National Clinical Research Center for Cancer, Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin's Clinical Research Center for Cancer, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060; 2 Clinic of Hebei Military Command, Shijiazhuang 050011)

Abstract Compared to their free living planktonic counterparts, the organisms within biofilms have their unique physiological characteristics. They are virulent and notorious for their resistance towards antibiotics, and their mechanisms of drug resistance and the prevention measures have become the focus of research in recent years. *Escherichia coli* are important pathogenic bacteria in hospital infections, and it is also the common pathogen of biofilm infections. *Escherichia coli* which forms the biofilm shows highly resistance and can escape the immune system attacks. The infections caused by *Escherichia coli* are easily to be chronic and difficult to control. The aim of this review focuses on the research progress of biofilms formation and its relevance with antibiotic resistance in *Escherichia coli*. It is of importance for finding effective management and guiding clinically proper drug application.

Key words *Escherichia coli*; Biofilm; Infection; Antibiotic resistance

细菌生物膜是指黏附于生物或非生物体表面, 由细菌分泌多糖基质、纤维蛋白、脂质蛋白等, 将其自身包裹其中而形成的高度组织化、系统化的膜样聚合物^[1]。生物膜细菌与浮游菌相比, 在生理学特性、耐药性及基因表达水平方面均有较大区别, 是细菌在不利环境下的一种特殊状态。在自然界的细

菌约99%以生物膜形式存在, 65%的人类细菌感染与生物膜形成有关。大肠埃希菌(*Escherichia coli*)是医院感染的重要病原菌之一, 并且其临床分离株的生物膜形成呈逐年升高的趋势^[2]。形成生物膜的大肠埃希菌引起患者慢性感染的风险更高, 同时对抗菌药物敏感性会降低, 临床上使用的杀菌药物推荐浓

收稿日期: 2017-12-01

基金项目: 国家自然科学基金(No. 30700829和81373318); 天津市自然科学基金(No. 16JCYBJC23900); 天津医科大学科研基金(No. 2016KYZQ03)

作者简介: 张青, 女, 生于1973年, 副主任技师, 主要研究方向为临床微生物学和肿瘤生物学, E-mail: zhq_0001@163.com

度通常难以完全根除形成生物膜的大肠埃希菌, 感染往往容易复发^[3-4]。本文对大肠埃希菌的生物膜形成、耐药机制的研究进展进行综述, 以期帮助临床寻找有效控制手段和指导合理用药起到重要作用。

1 生物膜的结构及形成

生物膜由细菌产生的细胞外基质以及分布在其中的细菌两部分组成。在大肠埃希菌中, 该基质由蛋白质成分组成, 包括各种黏附素以及淀粉样蛋白如弯曲菌毛, 它们可以与胞外多糖纤维素、聚- β -1,6-DN-乙酰葡萄糖胺(PGA)和荚膜异多糖酸发生交织^[5-6]。这一结构非常稳定, 可以有效提升细菌适应不利环境的能力, 使细菌增强对有害环境和外在压力的耐受能力。生物膜同时具有不均质性, 其深层和表层的细菌所处微环境有着显著差异, 所处位置不同的细菌在代谢强度及部分基因的表达水平上都有区别。因此, 不同细菌或同一细菌所处环境不同所产生的生物膜结构也存在差异。

近年来的研究发现, 细菌在增殖的过程中, 会产生一些次级代谢产物, 有些次级代谢产物可以作为化学信号在细菌细胞间传递信息。这种信号分子的浓度会随着细菌的增殖而在胞外积累, 当信号分子积累到一定的阈值浓度时, 可被细菌捕获重新进入细胞, 与相应的受体结合后调控目的基因的转录, 使细菌在多细胞水平上采取协调一致的统一行动来完成一些重要的生理学功能, 如生物发光、生物膜的形成等。这一过程称为群体感应或密度依赖的基因调控, 这一调控系统称为群体感应系统(quorum sensing, QS)^[7-8]。生物膜的形成过程一般分为3步: 黏附、发育和成熟和解离^[9]。细菌形成生物膜过程中, 通过QS调节, 细菌裂解释放大量游离DNA, 构成细菌生物膜的骨架, 维持生物膜的空间构象。生物膜内高浓度的细菌细胞呈紧密接触状态, 加之高浓度游离的DNA存在, 为细菌生物膜内基因的传递提供了有利条件。而生物膜中的大肠埃希菌通常先由鞭毛、I型菌毛和曲利多糖等进行介导黏附, 随后生物膜进行早期的发育和成熟^[4]。在细菌的黏附阶段时, 生物膜内细菌对于不良环境抵抗能力最弱, 是用药治疗的最佳时期。此外, 细菌的黏附能力与外界环境及黏附介质有关, 研究不同材料医疗器械上生物膜的形成能力, 对于预防医院感染有着重要意义^[3]。

2 大肠埃希菌生物膜的耐药机制

2.1 生物膜的屏障作用

生物膜的屏障作用主要是由细菌分泌产生的细胞

外基质来完成的, 这种主要由胞外多糖组成的三维结构可以有效限制生物膜内抗菌药物的浓度: (1)限制渗透作用: 由于细菌产生的胞外多糖等胞外基质, 形成了相对致密的网状结构, 把细菌包被在其中, 因此在细菌外部形成了分子屏障和电荷屏障, 可阻止或延缓某些抗生素的渗入^[10]。同时多糖蛋白复合物还可与一些药物反应, 具有中和药物的活性^[11]。(2)抗生素水解酶: 大肠埃希菌分泌的抗生素水解酶, 如 β -内酰胺酶、AmpC酶, 可以附着在胞外多糖上, 广泛分布在生物膜的细胞外基质中。有研究^[12]发现产ESBL的细菌形成生物膜的能力高于非产酶细菌, 其分离株几乎对所有的抗菌素都有较高的耐药率, 使得治疗更加困难, 增加了感染的死亡率和严重程度, 这可能也是临床上抗菌药物治疗失败的主要原因之一。因此, 联合用药是治疗生物膜细菌引起感染的最佳选择^[12]。

生物膜的屏障作用不仅只限于抗生素, 对于一些营养物质、酶类甚至一些信号分子同样有着阻断作用。使这些物质局部聚集并在生物膜内产生一个良好的微环境。基质的这些作用有助于产生生物膜的大肠埃希菌表型耐药的发展并导致持续感染^[13]。如营养消耗可导致细菌生长缓慢或停止分裂而处于休眠状态, 从而影响生物膜对抗生素的敏感性。同时胞外聚合物也可限制补体、大分子抗体等的进入, 从而抵抗机体免疫作用^[14-15]。

2.2 生物膜内物质浓度的梯度改变

生物膜具有不均质性, 其内部的微环境随着深度改变, 这种改变主要包括氧含量和营养物质浓度由外向内的梯度递减。生物膜深层的细菌由于营养物质的缺乏和代谢废物的累积, 使一部分细菌保持非增殖状态, 而抗生素难以杀灭这种处于非增殖期的细菌。随着酸性代谢废物的累积, 生物膜内部的pH环境变化较大, 使部分抗生素难以发挥作用^[16]。此外, 外界的氧气在生物膜外部就已经被基本消耗, 导致生物膜内部的细菌缺氧, 这种缺氧的细菌对抗生素的敏感性显著下降, 抗生素很难杀死生物膜内的缺氧细菌^[17]。由于以上的抗菌作用, 生物膜深层的细菌很难被抗生素完全清除, 一旦停止用药, 生物膜深层的细菌则可借助死亡细菌为营养迅速繁殖形成新的生物膜, 再次引发机体相关不良反应。Leung等^[3]对白念珠菌和大肠埃希菌的研究已证实该观点, 并发现将以上两种处于生物膜状态的细菌暴露在推荐浓度抗生素下5min后, 再给予观察对象良好营养条件进行培养, 新的生物膜则会在24h内产生。这一机制使生物膜细菌的感染往往反复发作, 难以通过抗生素药物达到根治。由

于普通的体外细菌培养不能反应生物膜菌真实的生长状态,使得常规药敏试验结果难以体现对药物耐药性真正的判断,这也正是有些感染即使分离到病原菌,临床医生根据抗生素敏感试验选择有效抗生素进行治疗,却导致治疗失败的重要原因之一。

2.3 形成生物膜大肠埃希菌的调控及表型改变

水平基因转移(horizontal gene transfer, HGT)是细菌快速获得性多重耐药的主要机制^[18]。许多来自不同菌群的质粒携带多重耐药基因可以在带质粒细胞(供体细胞)和无质粒细胞(受体细胞)间接合转移。大肠埃希菌在生物膜发育过程中耐药性会快速发生变化,这种变化既包括由质粒介导的基因转移,也包括由抗生素诱导的自然选择。Priget^[19]及同事使用不同的方法研究生物膜内大肠埃希菌与浮游菌的区别时,他们观察到有至少40%的基因发生了改变。这些改变包括:(1)*RpoS*基因的调控:*RpoS*基因是大肠埃希菌在压力环境下表达的一种调控基因,其产生的*RpoS*作为因子能直接或间接调控大肠埃希菌中约10%的基因表达,使细菌能够适应低营养物质等不利环境。Mika等^[5]发现*RpoS*表达阳性的大肠埃希菌生物膜内含有高密度的活性菌,这可能是由于生物膜深层的低营养环境可以诱导*RpoS*基因的表达,这一机制使耐药基因的传递更为便利,进而使生物膜内细菌更加适应所处的微环境。(2)耐药基因的传递:国内孙凤军等^[20]通过对生物膜内不同大肠埃希菌菌株 β -内酰胺酶类耐药基因分布的研究,发现同一种耐药基因广泛分布于多种不同的菌株中,这一发现提示生物膜内大肠埃希菌之间存在普遍的基因水平传递现象。研究者通过进一步研究发现,当外界环境改变引起生物膜形成能力变化时,质粒的传递也会有影响,并且生物膜下质粒对于大肠埃希菌的转化与游离菌有着不同的机制。(3)微孔蛋白改变:大肠埃希菌的微孔蛋白主要有OmpF和OmpC等,其中OmpF和抗菌药物的通透性相关,在抗生素压力选择下,生物膜内细菌会改变膜上微孔蛋白的组成和数量,使抗生素难以进入细胞内,从而使细菌产生耐药。

2.4 大肠埃希菌与其它菌群相互作用

生物膜通常是多菌种混合菌落,其中高细胞密度、有限的扩散和异质结构有利于细菌之间的物理和代谢接触。Rendueles等^[21]研究发现大肠埃希菌在生物膜中能特异性分泌大肠菌素,大肠菌素是大肠埃希菌分泌的一种质粒编码的细菌素并与肠杆菌密切相关,研究同时发现生物膜是影响大肠埃希菌在

复杂和多种群环境中生态相互作用的重要场所。这些研究表明生物膜为大肠埃希菌发展拮抗和协同相互作用提供了理想环境。另外,有研究表明戴尔福特菌、木糖氧化无色杆菌和大肠埃希菌共存时能促进生物膜的黏附^[22]。不仅如此,多种细菌间的相互作用还可导致生物膜内细菌对不利环境抵抗力更强,如大肠埃希菌可以和阴道加德纳菌共同形成生物膜,且这种多菌群生物膜内的细菌浓度要高于单菌群生物膜的细菌浓度^[23]。生物膜内细菌之间的紧密接触为遗传物质交流提供了有利的环境,一旦生物膜解离,获得耐药基因的菌株可能将导致细菌耐药性的播散。

3 大肠埃希菌生物膜治疗探索和策略

生物膜内耐药基因的高表达以及细胞外基质的扩散限制使得生物膜细菌难以用抗生素治疗。如在肾盂肾炎大肠埃希菌中,抗生素耐药机制已演变为一线药物如呋喃妥因、氨苄青霉素、喹诺酮类和磺胺/甲氧苄啶等敏感性降低。因此,迫切需要新的治疗策略来消除大肠埃希菌生物膜感染。

3.1 黏附阻抗剂

弯曲菌毛^[6]是黏附在大肠埃希菌细胞表面的淀粉样纤维,它帮助保持细胞与细胞或细胞表面的相互作用并导致生物膜形成。纤毛^[6]是介导生物膜形成、结合和侵入宿主细胞的细胞外黏附纤维。抑制菌毛和纤毛的形成有助于生物膜大肠埃希菌的治疗。体内外试验显示^[24],I型菌毛合成受阻抑制生物膜的形成和黏附人膀胱癌细胞。另一项研究中^[25],针对菌毛亚单位CsgA设计合理的2-吡啶酮化合物防止大肠埃希菌生物膜的形成。菌毛富集在细菌生物膜基质中,它的抑制阻滞了细菌增殖、入侵并减少生物膜的生物数量。

3.2 噬菌体治疗

噬菌体大量存在于各种环境并易分离得到。它们的高突变率有助于适应宿主细菌在特定环境下生存的遗传变化。噬菌体能有效消除单一或混合菌的生物膜,并能有效溶解生长在医疗设备和过滤膜上的生物膜。已经有研究将相结合的噬菌体用于消除生物膜。Coulter等^[26]分别应用噬菌体感染和单独使用抗生素来减少生物膜数量,研究发现会导致大量的耐噬菌体和耐抗生素细胞的出现。相比之下,将大肠埃希菌生物膜暴露于妥布霉素或妥布霉素联合T4噬菌体24h后,联合应用比单独使用抗生素治疗产生生物膜大肠埃希菌存活率下降了99.99%,妥布霉素抗性细胞和耐T4细胞分别减少了99.99%和39%。该研究表明了噬菌体感染联合妥布霉素应用于产生生物

膜的大肠埃希菌,可明显降低耐噬菌体细胞和抗生素抗性细胞的产生。

3.3 植物素

从植物中提取的成分正被越来越多地成为可能的抗生物膜菌感染的治疗剂,因为它们可以用多样的作用机制杀死微生物,而细菌对其产生耐药性的可能性极小。Monte^[27]评估了7-羟基香豆素(7-hc)、吡啶-3-甲醇(I3C)、水杨酸和皂素等4种植物化学物质对大肠埃希菌的浮游菌和生物膜菌的抗菌活性。通过对表面电荷、疏水性、运动性和群体感应抑制等方面进行分析,发现7-hc和I3C是对抗大肠埃希菌最有效的植物提取物,最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)值为800 μ g/L。并且I3C和7-hc增加,大肠埃希菌泳动能力和滑行运动有显著改变($P<0.05$),这些运动的改变可能与细菌形成生物膜的能力降低有关。另外,将这4种植物提取物作为QS抑制剂进行测试,结果表明I3C和7-hc对大肠埃希菌的QS抑制和细菌活性均有显著影响,表明这两种植物提取物在细胞与细胞相互作用的干扰和生物膜的形成和控制中起着重要的作用。最近的一项研究^[28]发现没食子酸和肉桂酸有抑制大肠埃希菌细菌活性的作用。没食子酸和肉桂酸对大肠埃希菌的聚集均有抑制作用,从而降低了生物膜形成能力。在另一项研究中^[29],应用酚醛丰富的枫糖浆提取物(PRMSE)对包括大肠埃希菌在内的病原菌的抗生素活性进行了测试。转录组分析显示PMRSE对多重耐药基因以及与运动、黏附和生物膜形成相关基因均有效抑制。

3.4 抗菌肽

抗菌肽(AMPS)由不同的生物体产生的,是用以抵抗感染的先天免疫的重要组成部分。当细菌生长受到抗菌肽抑制时,细菌耐药性发展的机会非常有限。基于氨基酸残基形成一个螺旋的能力,黏附细胞表面并具有抗菌活性的特点,Thankappan等^[30]设计了一种针对大肠埃希菌感染的高赖氨酸肽(KABT-AMP)。生存性研究显示KABT-AMP对大肠埃希菌有显著的广谱抗菌活性,大肠埃希菌6h生存率为30.8%。同时,KABT-AMP也被证实对形成生物膜的临床分离株具有抗生物膜活性。Shanks等^[31]研究显示分离自弗氏柠檬酸杆菌中的细菌素对大肠埃希菌的浮游菌和生物膜菌均有抗菌性。

3.5 纳米颗粒

纳米颗粒稳定,具有较高的生物利用度,可作为抗菌药物有效地传递。纳米银灵活稳定,能抑制感

染的大肠埃希菌生物膜的形成。由于纳米银颗粒体积小,表面体积比大,多用于医疗设备和伤口敷料中。有研究将纳米银颗粒嵌入锂钒氧化物正交相管,在60~120 μ g/mL浓度时可限制大肠埃希菌生物膜的生长。通过扫描电子显微镜图像显示在细菌表面的纳米复合材料用表面摄动的形式,可以促进其作为备选生物医疗器材来预防感染性疾病的发生^[32]。

最近的一项研究中^[33],研究者分别从嗜麦芽窄食单胞菌和苍白杆菌属中提取出硒和碲纳米颗粒,发现这两种纳米颗粒对大肠埃希菌浮游菌和生物膜菌均形成了有效的抑制。

4 展望

随着人们对生物膜研究的不断深入,生物膜菌也越来越受到广泛关注,目前仍有诸多问题亟待解决。如生物膜的早期防治、更确切的耐药机制、多菌种生物膜内细菌的相互作用、生物膜内细菌表型的改变及生物膜形成与其他微生物学特征之间的联系等。伴随着基因芯片技术、荧光探针及激光共聚焦显微镜等新技术的发展,研究者们必将逐渐揭开大肠埃希菌生物膜耐药机制的神秘面纱。

参考文献

- [1] Soto S M. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm[J]. *Virulence*, 2013, 4(3): 223-229.
- [2] Tajbakhsh E, Ahmadi P, Abedpour-Dehkordi E, et al. Biofilm formation, antimicrobial susceptibility, serogroups and virulence genes of uropathogenic *E. coli* isolated from clinical samples in Iran[J]. *Antimicrob Resist Infect Control*, 2016, 5(1): 1-8.
- [3] Leung C Y, Chan Y C, Samaranayake L P, et al. Biocide resistance of *Candida* and *Escherichia coli* biofilms is associated with higher antioxidative capacities[J]. *J Hosp Infect*, 2012, 81(2): 79-86.
- [4] Sahlberg Bang C, Kruse R, Johansson K, et al. Carbon monoxide releasing molecule-2 (CORM-2) inhibits growth of multidrug-resistant uropathogenic *Escherichia coli* in biofilm and following host cell colonization[J]. *BMC Microbiol*, 2016, 16(1): 1-10.
- [5] Mika F, Hengge R. Small regulatory RNAs in the control of motility and biofilm formation in *E. coli* and *Salmonella*[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(3): 4560-4579.
- [6] Flemming H C, Neu T R, Wozniak D J. The EPS matrix: the "house of biofilm cells"[J]. *J Bacteriol*, 2007, 189(22): 7945-7947.
- [7] Rutherford S T, Bassler B L. Bacterial quorum sensing: Its role in virulence and possibilities for its control[J]. *Cold*

- Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2 (11): 705-709.
- [8] Darch S E, West S A, Winzer K, *et al.* Density-dependent fitness benefits in quorum-sensing bacterial populations[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(21): 8259-8263.
- [9] Lazăr V, Chifiriuc M C. Architecture and physiology of microbial biofilms[J]. *Roum Arch Microbiol Immunol*, 2010, 69(2): 95-107.
- [10] 贾文祥. 微生物膜研究的新进展[J]. 微生物学免疫学进展, 2012, 40(5): 1-9.
- [11] Costerton J W, Stewart P S, Greenberg E P. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections[J]. *Science*, 1999, 284(5418): 1318-1322.
- [12] Neupane S, Pant N D, Khatriwada S, *et al.* Correlation between biofilm formation and resistance toward different commonly used antibiotics along with extended spectrum beta lactamase production in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from the patients suspected of urinary tract infections visiting Shree Birendra Hospital, Chhauni, Kathmandu, Nepal[J]. *Antimicrob Resist Infect Control*, 2016, 5(1): 1-5.
- [13] Soto S M, Smithson A, Martinez J A, *et al.* Biofilm formation in uropathogenic *Escherichia coli* strains: Relationship with prostatitis, urovirulence factors and antimicrobial resistance[J]. *J Urol*, 2007, 177(1): 365-368.
- [14] Tyerman J G, Ponciano J M, Joyce P, *et al.* The evolution of antibiotic susceptibility and resistance during the formation of *Escherichia coli* biofilms in the absence of antibiotics[J]. *BMC Evol Biol*, 2013, 13(1): 1-7.
- [15] Franklin M P, McDonald I R, Bourne D G, *et al.* Bacterial diversity in the bacterioneuston (sea surface microlayer): The bacterioneuston through the looking glass[J]. *Environ Microbiol*, 2005, 7(5): 723-736.
- [16] Foulston L, Elsholz A K, DeFrancesco A S, *et al.* The extracellular matrix of *Staphylococcus aureus* biofilms comprises cytoplasmic proteins that associate with the cell surface in response to decreasing pH[J]. *MBio*, 2014, 5(5): e01667-14.
- [17] De Ber D, Stoodley P, oe F, *et al.* Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport[J]. *Biotechnol Bioeng*, 1994, 43(11): 1131-1138.
- [18] Król J E, Wojtowicz A J, Rogers L M, *et al.* Invasion of *E. coli* biofilms by antibiotic resistance plasmids[J]. *Plasmid*, 2013, 70(1): 110-119.
- [19] Prigent-Combaret C, Vidal O, Dorel C, *et al.* Abiotic surface sensing and biofilm-dependent regulation of gene expression in *Escherichia coli*[J]. *J Bacteriol*, 1999, 181(19): 5993-6002.
- [20] 孙凤军. 大肠埃希菌生物膜的形成及其耐药质粒传递和调控的研究[D]. 重庆: 第三军医大学博士学位论文, 2009: 20-30.
- [21] Rendueles O, Beloin C, Latour-Lambert P, *et al.* A new biofilm-associated colicin with increased efficiency against biofilm bacteria[J]. *ISME J*, 2014, 8(6): 1275-1288.
- [22] Azevedo A S, Almeida C, Pereira B, *et al.* Impact of delftia tsuruhatensis and *Achromobacter xylosoxidans* on *Escherichia coli* dual-species biofilms treated with antibiotic agents[J]. *Biofouling*, 2016, 32(3): 227-241.
- [23] Castro J, Machado D, Cerca N. *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* are able to incorporate and enhance a pre-formed *Gardnerella vaginalis* biofilm[J]. *Pathog Dis*, 2016, 74(3): 1-4.
- [24] Lo A W, Van de Water K, Gane P J, *et al.* Suppression of type 1 pilus assembly in uropathogenic *Escherichia coli* by chemical inhibition of subunit polymerization[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2014, 69(4): 1017-1026.
- [25] Andersson E K, Bengtsson C, Evans M L, *et al.* Modulation of curli assembly and pellicle biofilm formation by chemical and protein chaperones[J]. *Chem Biol*, 2013, 20(10): 1245-1254.
- [26] Coulter L B, McLean R J, Rohde R E, *et al.* Effect of bacteriophage infection in combination with tobramycin on the emergence of resistance in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms[J]. *Viruses*, 2014, 6(10): 3778-3786.
- [27] Monte J, Abreu A C, Borges A, *et al.* Antimicrobial activity of selected phytochemicals against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and their biofilms[J]. *Pathogens*, 2014, 3(2): 473-498.
- [28] Borges A, Saavedra M J, Simões M. The activity of ferulic and gallic acids in biofilm prevention and control of pathogenic bacteria[J]. *Biofouling*, 2012, 28(7): 755-767.
- [29] Maisuria V B, Hosseinidoust Z, Tufenkji N. Polyphenolic extract from maple syrup potentiates antibiotic susceptibility and reduces biofilm formation of pathogenic bacteria[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81(11): 3782-3792.
- [30] Thankappan B, Jeyarajan S, Hiroaki S, *et al.* Antimicrobial and antibiofilm activity of designed and synthesized antimicrobial peptide, KABT-AMP[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2013, 170(5): 1184-1193.
- [31] Shanks R M, Dashiff A, Alster J S, *et al.* Isolation and identification of a bacteriocin with antibacterial and antibiofilm activity from *Citrobacter freundii*[J]. *Arch Microbiol*, 2012, 194(7): 575-587.
- [32] Diggikar R S, Patil R H, Kale S B, *et al.* Silver-decorated orthorhombic nanotubes of lithium vanadium oxide: an impeder of bacterial growth and biofilm[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97(18): 8283-8290.
- [33] Zonaro E, Lampis S, Turner R J, *et al.* Biogenic selenium and tellurium nanoparticles synthesized by environmental microbial isolates efficaciously inhibit bacterial planktonic cultures and biofilms[J]. *Front Microbiol*, 2015, 6(3): 1-11.