

文章编号: 1001-8689(2021)10-0917-05

细菌药物主动外排系统在生物被膜耐药中的作用

王清会 凌保东*

(结构特异性小分子药物研究四川省高校重点实验室, 成都医学院药学院, 成都 610500)

摘要: 细菌生物被膜的产生使传统抗菌药物难以对其进行有效的清除, 进而导致严重感染的复发和持续性感染, 是人类目前面临的又一新的挑战。生物被膜细菌中由于营养物质和代谢产物的积累, 促使药物主动外排系统相关基因表达明显增加, 使外排泵转运多种不同类型的化合物能力增强, 从而产生多重耐药表型, 是引起细菌耐药的主要机制之一; 外排泵基因的表达对生物被膜细菌的生长和耐药性增强方面有着重要作用。本文从生物被膜耐药的影响因素、药物主动外排系统参与生物被膜形成及其影响、外排泵抑制剂对生物被膜耐药的影响几个方面对细菌药物主动外排系统在生物被膜耐药中的作用进行综述。

关键词: 外排系统; 生物被膜; 细菌耐药

中图分类号: R978.1 **文献标志码:** A

Effect of bacterial efflux pump system on biofilm resistance

Wang Qing-hui and Ling Bao-dong

(Sichuan Province College Key Laboratory of Structure-Specific Small Molecule Drugs, Chengdu Medical College, Chengdu 610500)

Abstract The formation of bacterial biofilms makes it difficult for traditional antibacterial drugs to effectively remove them, which in turn leads to the recurrence of serious infections and persistent infections. It is yet another new global challenge facing humanity. The accumulation of nutrients and metabolic waste in the biofilm bacteria promotes a significant increase in the expression of related genes in the active efflux system of the drug, and enables the efflux pump to transport a variety of different types of compounds, resulting in multiple drug resistance phenotypes, which is caused by bacterial resistance one of the main mechanisms; the expression of efflux pump genes plays an important role in the growth of biofilm bacteria and the enhancement of drug resistance. In this paper, the factors affecting the biofilm resistance, the active drug efflux system participating in the biofilm formation and its impact, and the effect of the efflux pump inhibitor on the biofilm resistance are several aspects of resistance to the bacterial drug active efflux system in the biofilm. The role in the review is reviewed.

Key words Efflux pump system; Biofilm; Bacterial drug-resistance

“生物被膜(biofilm, BF)”于1978年由Costerton正式提出^[1]。其是由微生物所衍生的群落, 其特征是细菌能够附着于生物或者非生物的表面, 表现出相对于浮游菌在结构、基因表型和生化特性的改变^[2]。细菌生物被膜的产生引起细菌对抗菌药物耐药性的大幅度增强(可达到10到1000倍MIC)^[3-6], 进而

导致严重感染的复发和持续性感染, 是人类目前面临的又一新的挑战。生物被膜细菌中由于有害物质和代谢产物的积累, 促使药物主动外排系统相关基因表达明显增加, 使外排泵转运多种不同类型的化合物, 从而产生多重耐药表型, 是引起细菌耐药的主要机制之一; 外排泵基因的表达对生物被膜细菌的

收稿日期: 2020-10-22

基金项目: 国家自然科学基金(No. 81373454)

作者简介: 王清会, 女, 生于1991年, 在读硕士研究生, E-mail: wangqinghui8023@163.com

*通讯作者, E-mail: lingbaodong@cmc.edu.cn

生长和耐药性增强方面有着重要作用。本文对细菌生物被膜的形成,细菌主动外排系统与生物被膜耐药的关系进行了梳理,旨在为开发生物被膜感染疾病的治疗药物提供新思路。

1 生物被膜耐药的影响因素

1.1 生物被膜的形成

生物被膜的形成主要包括4个步骤:①初始黏附;②形成微菌落:微菌落的形成可以增加细菌群落的总表面积以进行营养物质的交换和废物清除,并促进生物被膜细菌向远端部位的扩散。③生长和成熟:形成微菌落的细菌开始产生构成基质的胞外多糖,刺激群体感应(quorum-sensing, QS)系统产生群体感应信号分子,从微菌落生长成多层细胞簇,进而形成成熟的生物被膜^[7]。④释放:细菌细胞从成熟生物被膜中剥落,脱离生物及非生物体表面,呈浮游菌状态,从而可在其他环境中再次形成生物被膜。

1.2 生物被膜内部特征及其影响因素

微菌落作为大多数生物被膜菌的基本单位,其结构可因形成生物被膜细菌种类的不同以及外部环境营养物质的不同而有很大差异^[8]。生物被膜通常含有特殊的三维结构。外层是胞外多糖(exopolysaccharide, EPS),为生物被膜的存在提供物理屏障;中间层是EPS与基层生物被膜之间的界面,彼此联系的桥梁;基层是生物被膜细菌及其代谢产物。生物被膜中细菌往往伴随着耐药整合子的水平转移和耐药基因的突变,细菌凭借生物被膜特殊的结构,可以增强其对恶劣环境的耐受性,同时通过生物被膜中细菌的剥落向环境中释放耐药性增强的细菌,造成持续性感染和整体耐药性的增强^[9]。蔺飞等^[10]对临床分离的鲍曼不动杆菌生物被膜形成后耐药性的变化情况进行了研究,发现鲍曼不动杆菌形成生物被膜后对于碳青霉烯类、替加环素等抗菌药物的耐药性显著增强,这可能导致现有抗菌药物治疗感染的失败。

生物被膜的附着由鞭毛和菌毛系统介导,该系统为生物被膜细菌的初始附着提供了动力。有研究表明细菌菌毛系统的缺失会导致生物被膜形成能力显著下降^[11]。随着附着细菌数量的增加,开始产生群体感应信号因子^[12],在革兰阳性菌中, QS信号分子主要为甲基肽;在革兰阴性菌中QS信号分子主要为N-酰基高丝氨酸内酯(AHL)。QS系统起着促进生物被膜形成的重要作用,同时通过基因的水平转移和细菌密度的累积增强细菌对于抗菌药物的耐药性。同时细胞外多糖、淀粉样纤维、脂质和核酸共

同构成了生物被膜的细胞外基质,这些细胞外基质一方面维持了内部环境的稳定性,另一方面隔绝了外界有毒物质(如抗生素)的渗透,从而为细菌自身的生长提供了有利条件。在生物被膜中生长的细菌可能倾向于自诱导突变,与自诱导元件结合,从而调节生物被膜内相关基因的表达(如外排泵基因的表达),是细菌在生物被膜中耐药性增强的重要因素。

2 药物主动外排系统参与生物被膜形成及其影响

2.1 药物主动外排系统的组成及分类

细菌多重耐药的重要机制之一是药物主动外排泵相关基因的过度表达^[13]。细菌通过主动外排泵泵出有毒物质(包括抗菌药物、代谢产物等)来调节其内部环境的稳定,保护细菌自身免受损害;药物主动外排系统可以由单组分或多组分形成,大多数细菌可以表达几个不同的外排泵家族,也可能表达单个外排泵家族的多种类型^[14]。根据其组成、跨膜区域数量、能量和底物,细菌的外排泵家族主要分为耐药结节细胞分化家族(resistance-nodulation-cell division, RND)、主要协同转运蛋白超家族(major facilitator super family, MFS)、多药及毒性化合物外排家族(multidrug and toxic compound extrusion, MATE)、ATP-结合盒转运蛋白家族(ATP-binding cassette, ABC)和小型多重耐药家族(small multidrug resistance, SMR)5类^[15]。其中, ABC家族、MATE家族、MFS家族和SMR家族主要存在于革兰阳性菌中; RND家族、ABC家族和MFS家族主要存在于革兰阴性菌中,这些外排泵在临床相关的革兰阴性菌中高度表达,导致细菌多重耐药和泛耐药的产生。

2.2 药物主动外排系统对生物被膜形成的影响

药物主动外排系统能转运多种不同类型的化合物,从而导致多重耐药表型的产生。由于生物被膜中氧气和营养物质受限及代谢产物的积累,促使细菌外排泵基因表达增强,利于排出对自身生长不利的物质^[16]。而随着外排泵基因表达的增强,生物被膜中的细菌对抗菌药物的敏感性下降。有研究表明,暴露于亚抑制浓度的抗生素有助于诱导细菌外排泵基因的表达,而生物被膜中细菌MIC值的大幅度提高,使常规抗生素浓度不足以杀灭细菌,这是生物被膜中细菌耐药的重要原因之一^[17]。

多项研究表明,外排泵基因的缺失会导致细菌生物被膜形成减少和生物被膜细菌对抗菌药物敏感性的增加。Liao等^[18]研究发现,在铜绿假单胞菌中转录调节因子BerR(一种MerR型转录激活因子)通过激活编码外排泵MexAB-OprM和MexEF-OprN基因

的表达, 导致生物被膜细菌高水平耐药。同时BerR还激活了编码多个ABC家族的外排泵基因, ABC家族PA1874-77多药外排转运系统的失活会影响铜绿假单胞菌的生物被膜结构, 并且有助于铜绿假单胞菌生物被膜恢复对妥布霉素的敏感性^[19]。在大肠埃希菌中, 外排泵基因*acrB*、*acrE*和*tolC*的缺失导致浮游细菌和生物被膜细菌生长表型的改变, 并增加了细菌对于抗菌药物的敏感性^[20]。Sirijant等^[21]研究发现在生物被膜状态下, 抑制外排泵基因的表达可以有效增强抗生素对伯克霍尔德菌的杀伤力。Saranathan等^[22]在鲍曼不动杆菌ATCC17978菌株中构建了*adeN*突变菌株, 与野生型相比, *adeN*基因的缺失抑制了生物被膜的产生。Lories等^[23]通过使用差分荧光诱导筛选鼠伤寒沙门菌的全基因组发现: 生物被膜中细菌外排泵基因的高表达会激活细菌细胞的应激反应系统, 从而导致生物被膜中细菌耐药性的增强。同时, 外排泵可以辅助细菌细胞间的QS信号分子的传导和依赖QS系统的毒力表型的产生, 协助细菌生物被膜的形成^[24]。外排泵基因在生物被膜特异性耐药中的作用在临床样本中进行了研究, 结果发现多因素共同介导了生物被膜中细菌的耐药^[25]。

然而并非所有细菌生物被膜中外排泵基因的表达均能影响生物被膜的形成能力, Türkel等^[26]在对肺炎克雷伯菌的研究中发现, 外排泵*kexD*的上调也与妥布霉素和氨曲南的耐药性有关, 但外排泵的上调或下调并没有增强生物被膜的形成能力。是否外排泵与生物被膜的关系与外排泵的类型或者不同的细菌种类相关, 具体细菌类型中不同外排泵参与生物被膜形成与耐药的具体机制仍需进行进一步的研究。

3 外排泵抑制剂(EPIs)对生物被膜耐药性的影响

3.1 外排泵抑制剂的分类

由于细菌外排泵基因在生物被膜中的高表达对生物被膜的形成和耐药性的产生之间存在密切的联系。外排泵抑制剂(*efflux pump inhibitors*, EPIs)作为一种可以抑制细菌外排泵的活性物质, 对细菌耐药性的影响不容小觑。现有的外排泵抑制剂主要分为两类: ①化学合成的EPIs, 主要有维拉帕米及其类似物、吩噻嗪类、质子载体如羧基氰化间氯苯胺(cccp)、2,4-二硝基苯酚(DNP)、氟喹诺酮类似物, 以及广谱外排泵抑制剂PA β N。②源于天然产物的EPIs, 主要有从植物中提取出来的吡啶类化合物利血平、胡椒碱类似物、小檗碱、粉防己碱、黄酮及类黄酮类化合物槲皮素、止泻木的提取物维丝碱、法尼醇、二萜类等^[27-28]。

3.2 外排泵抑制剂在生物被膜菌感染中的应用及作用机制

3.2.1 外排泵抑制剂对细菌外排泵的作用

在生物被膜中, EPIs与外排泵结合发挥作用时, 其作用机制主要包括: 一方面EPIs可以与底物结合在同一位点, 发挥竞争性抑制的作用, 当外排泵表达时, 优先排出EPIs, 减少了抗菌药物的流失; 另一方面, EPIs可以通过阻碍外排泵的功能来起作用^[29]。研究表明, EPIs可以减少铜绿假单胞菌和大肠埃希菌的生物被膜形成, 影响细菌在生物被膜中的抗生素耐药性^[30]。Singh等^[31]研究发现*NorA*外排泵的抑制剂boeravinone B不仅抑制外排泵基因*norA*介导的氟喹诺酮类药物外流, 而且还可抑制金黄色葡萄球菌的生物被膜形成。Jamshidi等^[32]通过计算机模拟揭示了外排泵抑制剂PA β N与外排蛋白AdeB之间的分子作用机制, 进一步解释了外排泵抑制剂与外排蛋白之间的紧密关系。Sirijant等^[21]研究发现在对洋葱伯克霍尔德菌外排泵的抑制可导致细菌在生物被膜中对头孢他啶和强力霉素的耐药性降低。同时, EPIs与抗菌光动力疗法(aPDT)的联合使用对金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌生物被膜的减少也有协同作用^[33]。Abd El-Baky等^[34]发现抗真菌药物酮康唑不具有抗菌活性, 但可通过抑制外排泵和生物被膜形成来增强氟喹诺酮类药物对金黄色葡萄球菌的抗菌活性。

3.2.2 外排泵抑制剂(EPIs)对细菌生物被膜的作用

最近的研究表明, EPIs除了抑制细菌外排泵基因的表达式, 还能通过影响生物被膜细菌的QS系统和毒力基因的表达, 减少生物被膜的产生, 同时降低细菌细胞毒性^[35]。Cadavid等^[36]发现对乙酰氨基酚、氢氯噻嗪和黄体酮等药物是肺炎克雷伯菌QS系统的调节剂, 可通过促进生物被膜的形成参与细菌耐药。Varga等^[37]研究表明三氟甲基酮(TF)具有QS信号分子抑制特性, 是通过抑制外排泵介导的, 该外排泵在QS信号分子到达其预定目标之前将其排出。这些研究表明, 抑制细菌的QS系统可能是抑制细菌生物被膜的一种有效的方法, 而EPIs由于其对于外排泵和生物被膜QS系统的双重抑制, 对生物被膜感染疾病的治疗有良好的协同效应^[38]。

3.2.3 外排泵抑制剂(EPIs)在生物被膜感染疾病中的应用

临床批准的利血平和维拉帕米均具有EPI活性, 然而, 它们在抑制外排泵所需的浓度下毒性很大, 不能应用于临床治疗, 但可应用于医疗设备(如导管), 防止细菌生物被膜的形成。Nzakizwanayo等^[39]

通过使用具有外排活性的药物使奇异变形菌在留置尿道导管上形成的生物被膜明显减少。Sidrim等^[40]用外排泵抑制剂氯丙嗪(CPZ)浸渍导管以控制大肠埃希菌, 奇异变形菌和肺炎克雷伯菌的生物被膜形成, 并增强了环丙沙星和美罗培南的抗生物被膜活性, 为氯丙嗪作为预防和治疗导管相关性尿路感染的佐剂提供了应用前景, 同时为临床预防和治疗导管和植入医疗器械相关性生物被膜细菌的定植提供了崭新的思路。Gupta等^[41]提出将纳米颗粒作为外排泵和生物被膜抑制剂, 一方面, 阻止了群体感应信号分子的产生, 从而降低了细菌的生物被膜形成能力; 另一方面, 它阻止了抗生素向细菌细胞外的流出, 从而提高了抗生素的抗菌作用。

EPIs可以减少生物被膜中滞留菌的数量, 与抗生素联合使用可有效治疗慢性感染性疾病^[42]。Zimmermann等^[43]通过筛选大约1200种不同药物的化合物库, 确定尼罗替尼(一种酪氨酸激酶抑制剂)显示出最佳的外排泵抑制活性, 抑制浓度分数指数为0.1875, 表明与环丙沙星具有协同作用。此外, 在0.39 $\mu\text{mol/L}$ 的情况下, 尼洛替尼与8 $\mu\text{g/mL}$ 的环丙沙星合用会导致生物膜形成和预先形成的成熟生物膜显著减少。

4 结语

细菌生物被膜的形成使耐药性明显增强, 细菌外排泵在其中发挥着重要作用, 外排泵抑制剂的研究与使用是解决这一问题的重要方法之一。而现有的外排泵抑制剂由于其安全性和特异性等问题, 不能应用于临床, 尽早地开发可应用于临床的外排泵抑制剂是科研人员亟待解决的难题。

参考文献

- [1] Costerton J W, Geesey G G, Cheng K J. How bacteria stick[J]. *Sci Am*, 1978, 238(1): 86-95.
- [2] Dassanayake R P, Falkenberg S M, Stasko J A, *et al.* Identification of a reliable fixative solution to preserve the complex architecture of bacterial biofilms for scanning electron microscopy evaluation[J]. *Plos One*, 2020, 15(5): e233973.
- [3] Xiong F, Zhao X, Wen D, *et al.* Effects of N-acyl-homoserine lactones-based quorum sensing on biofilm formation, sludge characteristics, and bacterial community during the start-up of bioaugmented reactors[J]. *Sci Total Environ*, 2020, 735: 139449.
- [4] Zarnowski R, Sanchez H, Covelli A S, *et al.* *Candida albicans* biofilm-induced vesicles confer drug resistance through matrix biogenesis[J]. *Plos Biol*, 2018, 16(10): e2006872.
- [5] Cepas V, Lopez Y, Munoz E, *et al.* Relationship between biofilm formation and antimicrobial resistance in gram-negative bacteria[J]. *Microb Drug Resist*, 2019, 25(1): 72-79.
- [6] Rahim K, Qasim M, Rahman H, *et al.* Antimicrobial resistance among aerobic biofilm producing bacteria isolated from chronic wounds in the tertiary care hospitals of Peshawar, Pakistan[J]. *J Wound Care*, 2016, 25(8): 480-486.
- [7] Singh N, Patil A, Prabhune A A, *et al.* Diverse profiles of N-acyl-homoserine lactones in biofilm forming strains of *Cronobactersakazakii*[J]. *Virulence*, 2017, 8(3): 275-281.
- [8] Busanello F H, Petridis X, So M, *et al.* Chemical biofilm removal capacity of endodontic irrigants as a function of biofilm structure: optical coherence tomography, confocal microscopy and viscoelasticity determination as integrated assessment tools[J]. *Int Endod J*, 2019, 52(4): 461-474.
- [9] Sabir N, Ikram A, Zaman G, *et al.* Bacterial biofilm-based catheter-associated urinary tract infections: Causative pathogens and antibiotic resistance[J]. *Am J Infect Control*, 2017, 45(10): 1101-1105.
- [10] 蔺飞, 杜冰洁, 高灿, 等. 鲍曼不动杆菌生物被膜对抗菌药物耐药性的影响[J]. *中国感染控制杂志*, 2018, 17(1): 1-5.
- [11] Pakharukova N, Tuittila M, Paavilainen S, *et al.* Structural basis for *Acinetobacter baumannii* biofilm formation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(21): 5558-5563.
- [12] Tan C H, Oh H S, Sheraton V M, *et al.* Convection and the extracellular matrix dictate inter- and intra-biofilm quorum sensing communication in environmental systems[J]. *Environ Sci Technol*, 2020, 54(11): 6730-6740.
- [13] Ghosh A, Roymahapatra G, Paul D, *et al.* Theoretical analysis of bacterial efflux pumps inhibitors: Strategies in-search of competent molecules and develop next[J]. *Comput Biol Chem*, 2020, 87: 107275.
- [14] Yu L, Li W, Xue M, *et al.* Regulatory Role of the two-component system BasSR in the expression of the EmrD multidrug efflux in *Escherichia coli*[J]. *Microb Drug Resist*, 2020, 26(10): 1163-1173.
- [15] Green A T, Moniruzzaman M, Cooper C J, *et al.* Discovery of multidrug efflux pump inhibitors with a novel chemical scaffold[J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2020, 1864(6): 129546.
- [16] Tang M, Wei X, Wan X, *et al.* The role and relationship with efflux pump of biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Microb Pathog*, 2020, 147: 104244.
- [17] Jo A, Ahn J. Phenotypic and genotypic characterisation of multiple antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* exposed to subinhibitory levels of oxacillin and levofloxacin[J]. *Bmc Microbiol*, 2016, 16(1): 170.
- [18] Liao J, Schurr M J, Sauer K. The MerR-like regulator BrIR confers biofilm tolerance by activating multidrug efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms[J]. *J Bacteriol*, 2013, 195(15): 3352-3363.

- [19] Poudyal B, Sauer K. The ABC of biofilm drug tolerance: the MerR-like regulator BrlR Is an activator of ABC transport systems, with PA1874-77 contributing to the tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to tobramycin[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018, 62(2): e01981-17.
- [20] Bay D C, Stremick C A, Slipski C J, *et al.* Secondary multidrug efflux pump mutants alter *Escherichia coli* biofilm growth in the presence of cationic antimicrobial compounds[J]. *Res Microbiol*, 2017, 168(3): 208-221.
- [21] Sirijant N, Sermswan R W, Wongratanacheewin S. *Burkholderiapseudomallei* resistance to antibiotics in biofilm-induced conditions is related to efflux pumps[J]. *J Med Microbiol*, 2016, 65(11): 1296-1306.
- [22] Saranathan R, Pagal S, Sawant A R, *et al.* Disruption of *tetR* type regulator *adeN* by mobile genetic element confers elevated virulence in *Acinetobacter baumannii*[J]. *Virulence*, 2017, 8(7): 1316-1334.
- [23] Lories B, Roberfroid S, Dieltjens L, *et al.* Biofilm bacteria use stress responses to detect and respond to competitors[J]. *Curr Biol*, 2020, 30(7): 1231-1244.
- [24] Rampioni G, Pillai C R, Longo F, *et al.* Effect of efflux pump inhibition on *Pseudomonas aeruginosa* transcriptome and virulence[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 11392.
- [25] Akinpelu S, Ajayi A, Smith S I, *et al.* Efflux pump activity, biofilm formation and antibiotic resistance profile of *Klebsiella* spp. isolated from clinical samples at Lagos University Teaching Hospital[J]. *BMC Res Notes*, 2020, 13(1): 258.
- [26] Turkel I, Yildirim T, Yazgan B, *et al.* Relationship between antibiotic resistance, efflux pumps, and biofilm formation in extended-spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*[J]. *J Chemother*, 2018, 30(6-8): 354-363.
- [27] Siriyong T, Srimanote P, Chusri S, *et al.* Conessine as a novel inhibitor of multidrug efflux pump systems in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2017, 17(1): 405.
- [28] Choudhury D, Talukdar A D, Chetia P, *et al.* Screening of natural products and derivatives for the identification of RND efflux pump inhibitors[J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2016, 19(9): 705-713.
- [29] Talebi-Taher M, Majidpour, Gholami A., *et al.* Role of efflux pump inhibitor in decreasing antibiotic cross-resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in a burn hospital in Iran[J]. *J Infect Dev Ctries*, 2016, 10(6): 600-604.
- [30] Reza A, Sutton J M, Rahman K M. Effectiveness of efflux pump inhibitors as biofilm disruptors and resistance breakers in Gram-negative(ESKAPEE) bacteria[J]. *Antibiotics(Basel)*, 2019, 8(4): 229.
- [31] Singh S, Kalia N P, Joshi P, *et al.* Boeravinone B, A novel dual inhibitor of NorA bacterial efflux pump of *Staphylococcus aureus* and human P-Glycoprotein, reduces the biofilm formation and intracellular invasion of bacteria[J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 1868.
- [32] Jamshidi S, Sutton J M, Rahman K M. Computational study reveals the molecular mechanism of the interaction between the efflux inhibitor PA β N and the AdeB transporter from *Acinetobacter baumannii*[J]. *ACS Omega*, 2017, 2(6): 3002-3016.
- [33] de Aguiar C T, de Freitas L M, Almeida A, *et al.* Optimization of antimicrobial photodynamic therapy in biofilms by inhibiting efflux pump[J]. *Photomed Laser Surg*, 2017, 35(7): 378-385.
- [34] Abd El-Baky R M, Sandle T, John J, *et al.* A novel mechanism of action of ketoconazole: Inhibition of the NorA efflux pump system and biofilm formation in multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Infect Drug Resist*, 2019, 12: 1703-1718.
- [35] Kasper S H, Bonocora R P, Wade J T, *et al.* Chemical Inhibition of kynureninase reduces *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing and virulence factor expression[J]. *Acs Chem Biol*, 2016, 11(4): 1106-1117.
- [36] Cadavid E, Robledo S M, Quinones W, *et al.* Induction of biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13884 by several drugs: The possible role of quorum sensing modulation[J]. *Antibiotics (Basel)*, 2018, 7(4): 103.
- [37] Varga Z G, Armada A, Cerca P, *et al.* Inhibition of quorum sensing and efflux pump system by trifluoromethyl ketone proton pump inhibitors[J]. *In Vivo*, 2012, 26(2): 277-285.
- [38] Lu M, Yan H, Yu C, *et al.* Proton pump inhibitors act synergistically with fluconazole against resistant *Candida albicans*[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 498.
- [39] Nzakizwanayo J, Scavone P, Jamshidi S, *et al.* Fluoxetine and thioridazine inhibit efflux and attenuate crystalline biofilm formation by *Proteus mirabilis*[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 12222.
- [40] Sidrim J J, Amando B R, Gomes F I, *et al.* Chlorpromazine-impregnated catheters as a potential strategy to control biofilm-associated urinary tract infections[J]. *Future Microbiol*, 2019, 14: 1023-1034.
- [41] Gupta D, Singh A, Khan A U. Nanoparticles as efflux pump and biofilm inhibitor to rejuvenate bactericidal effect of conventional antibiotics[J]. *Nanoscale Res Lett*, 2017, 12(1): 454.
- [42] Pu Y, Zhao Z, Li Y, *et al.* Enhanced efflux activity facilitates drug tolerance in Dormant bacterial cells[J]. *Mol Cell*, 2016, 62(2): 284-294.
- [43] Zimmermann S, Klinger-Strobel M, Bohnert J A, *et al.* Clinically approved drugs inhibit the *Staphylococcus aureus* multidrug NorA efflux pump and reduce biofilm formation[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 2762.