

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20195067

曹晋桂 中国人民解放军空军特色医学中心疾病预防控制科主任, 现任全军医院感染学专业委员会主任委员, 国家卫生标准委员会消毒标准委员会委员, 国家医院感染管理专业质控中心专家委员会委员, 中国医院协会医院感染管理委员会副主任委员, 中国老年医学学会感染管理质量控制分会副会长, 卫生监督协会消毒与感染控制委员会常委, 北京市医院感染管理专业委员会副主任委员, 北京市海淀区医院感染管理质量控制与改进专家组主任委员, 中华医院感染学杂志常务编委。长期从事医院感染学和临床微生物学的工作, 先后作为主要专家参与起草和修订了《季铵盐类消毒剂卫生要求》《医院洁净室及其受控环境应用总则》《医院负压隔离病房环境要求》等 12 部国家标准, 先后主编或副主编专著 9 部, 发表 SCI 和统计源期刊论著 72 篇。

· 专家论坛 ·

细菌生物膜、滞留菌及其相关感染防控研究进展

曹晋桂, 刘 鹏

(中国人民解放军空军特色医学中心疾病预防控制科, 北京 100142)

[摘 要] 细菌生物膜是细菌不同于游离状态的一种特殊存在模式。由于细菌生物膜独特的理化性质, 使得其难于被检测、消除, 导致了临床上相当数量的难治性感染性疾病。生物膜中更是存在休眠状态的菌体—滞留菌, 滞留菌的耐药性使得感染更难以治愈。积极探索如何防治生物膜感染对临床治疗有实际的指导意义。目前, 针对如何预防生物膜相关感染有许多非特异性的策略, 包括: (1) 防止微生物污染医疗器械; (2) 最大程度减少微生物对医疗器械的黏附; (3) 直接移除感染源头。此外, 人们对通过物理手段、应用抗菌药物和抗菌多肽, 抑制瓦解生物膜等方法治疗生物膜感染进行了积极的探索研究。生物膜导致的持续性感染对常规抗菌药物耐受, 提示生物膜防控策略亟需改进, 新的防控策略亟需探索。

[关 键 词] 生物膜; 滞留菌; 感染防控; 研究进展

[中图分类号] R181.3⁺2 R446.5

Research progress of bacterial biofilm, persisters, as well as prevention and control for the related infection

CAO Jin-gui, LIU Peng (Department of Disease Prevention and Control, Air Force Medical Center, PLA, Beijing 100142, China)

[Abstract] Bacterial biofilm is a special existing mode of bacteria which is different from free state. Because of the unique physicochemical properties of bacterial biofilm, it is difficult to be detected and eliminated, which leads to a considerable number of refractory infectious diseases in clinical practice. There is dormant bacteria-persisters in biofilm which make infection more difficult to cure due to drug resistance. Actively exploring how to prevent and treat biofilm infection has practical guiding significance for clinical treatment. At present, there are many non-specific strategies to prevent biofilm-related infection, including: (1) preventing microbial contamination of medical devices; (2) minimizing microbial adherence to medical devices; (3) directly removing the source of infection. In addition, people have actively explored the treatment of biofilm infection by physical means, application of antimicrobial agents and antibacterial polypeptide, as well as inhibition and disintegration of biofilm. Resistance to conventional antimicrobial agents in persistent infection caused by biofilm suggests that biofilm prevention and control strategies need to be improved urgently, and new prevention and control strategies need to be explored urgently.

[Key words] biofilm; persisters; prevention and control of infection; research progress

[收稿日期] 2019-01-25

[作者简介] 曹晋桂(1962-), 男(汉族), 湖南省桂阳县人, 主任技师, 主要从事医院感染管理研究。

[通信作者] 曹晋桂 E-mail: tmmulp@outlook.com

感染性疾病是由微生物侵袭机体开始,在临床实践中,治疗感染性疾病,重点关注如何抑制、消灭游离菌。但多年的临床实践发现,即使按照细菌培养及药敏试验结果选择抗菌药物,进行规范、合理的治疗,相当数量的感染性疾病仍难以彻底治愈。此种难治性感染促使人们对病原菌的致病机制进行更深入地探索。经过 20 多年的研究,发现在难治性的感染病灶中,细菌是以细菌生物膜的形式存在,并不表现为游离状态,此是导致细菌感染难治愈的关键。生物膜中更是存在休眠状态的菌体-滞留菌,滞留菌的耐药性使得感染更难以治愈。因此,探讨细菌生物膜(包括其中的滞留菌)的产生、检测、消除等方面的研究现状和发展趋势,对于更好地治疗感染性疾病具有重要意义。本文对细菌生物膜、滞留菌的研究现状和趋势,及其相关感染的防治方法策略进行综述。

1 感染性疾病中的细菌生物膜

1.1 细菌生物膜的结构特点 细菌生物膜是与游离状态相对,为适应环境而吸附于物体表面形成的一种特殊的具有三维立体结构的存在模式^[1],其结构包括内部的菌体和分布于外周的自身分泌的胞外基质(蛋白质、磷脂、肽聚糖、多糖、DNA 和 RNA 等)。生物膜是处于动态变化中,其发展按照黏附、成熟、维持、解离的环节进行循环。在结构上,生物膜具有异质性,即生物膜内各种化学物质,如代谢产物、信号分子,营养物质等的浓度由表面向内呈阶梯性变化,使得位于生物膜不同部位的细菌生理活性也不同。生物膜内存在的这种细菌代谢状态不均一,使得抗菌因子无论作用于哪个代谢环节,总有非此代谢状态的一部分细菌可以存活下来,从而导致感染难以消除,或导致感染的反复发作。

1.2 生物膜导致的临床感染类型 生物膜(包括滞留菌)导致的感染可以分为两类:器械相关的生物膜感染和非器械相关的慢性生物膜感染。植入性医疗器械已成为现代医疗不可分割的一部分。然而,对于机体来说,外物的植入常伴随着感染并发症。心脏起搏器、人工心脏瓣膜、血液透析器、人工关节、静脉导管、导尿管、气管插管、人工假乳等植入性医疗器械或装置均存在生物膜相关感染的风险,严重影响生活质量,甚至危及生命,其感染源可追溯至普遍存在于水、空气、土壤或人体皮肤上的微生物。器械表面的细菌定植一般发生于医疗器械植入机体后

24 h 内,而机体产生的如血小板、血浆及组织蛋白等形成的膜状物则会促进医疗器械上的细菌定植。无论导致感染的微生物来源于体内,还是体外,器械相关医院感染往往从细菌在器械表面的定植开始,然后经过系列复杂的变化,最终形成生物膜。实验^[2]表明,相对于浮游细菌,从生物膜脱离的细菌与细胞毒性、临床病死率存在更强的相关性。虽然难以获得所有医疗器械相关生物膜感染的具体统计数据,但是根据已获得的临床数据可估算出不同植入性医疗器械相关感染率:人工关节和隆胸相关感染率 2%,人工心脏瓣膜、起搏器及除颤器相关感染率 4%,人工心室分流器相关感染率 10%,心室辅助装置相关感染率 40%^[3]。细菌生物膜也可以引起亚临床感染,导致植入性医疗器械故障和医疗器械中生物材料的降解。非器械相关的慢性生物膜感染包括发生于囊性纤维化、慢性阻塞性肺疾病、肺结核等呼吸道疾病患者身上的慢性气道感染,慢性伤口感染,慢性中耳炎,慢性鼻窦炎,胆道感染和细菌性前列腺炎等。研究^[4]表明,在机体软组织中(如胃肠道或肺组织),生物膜细菌往往只能暴露于低于最小抑菌浓度的抗菌药物,此种暴露使得细菌基因型和表型产生多样性,对抗菌药物的抵抗力增加,最终导致生物膜中细菌对抗菌药物产生耐药和传播。

1.3 感染性疾病中生物膜的检测判定 临床上,许多感染性疾病并非仅由游离菌或生物膜单独导致,而是生物膜和游离菌混合存在。更重要的是,目前尚无法通过确定的理化标志物区分细菌处于游离状态还是生物膜状态,如何检测确定生物膜导致的感染并不容易。像检测游离菌一样,通过细菌培养诊断生物膜感染并不准确,当机体表现出明显的临床症状和体征时,细菌培养往往呈现阴性。此种临床表现与培养检测的“脱节现象”,可能与临床标本取材、培养条件不充分有关,但更可能是由于生物膜的生长模式与游离菌不同导致的,在体外培养生长时,生物膜本身的表型特征会迅速消失。鉴于此,Parsek 等^[5]为判定生物膜引起的感染而提出以下标准:(1)感染细菌具有附着物或附着表面;(2)在感染组织中,细胞外基质中可检测或观察到有细菌或小菌落包被于其中;(3)感染通常局限于特定部位;(4)抗菌药物对感染治疗无效或效果差,但游离细菌却易于被杀死。此外,根据细菌生物膜抗菌药物耐药性和宿主免疫反应耐受的特性,Stoodley 等^[6]建议对诊断标准作如下补充:(1)通过组化和分子生物学技术证实存在活性细菌聚集物;(2)机体组

织中分布有大菌落并伴炎性细胞浸润,证明对宿主免疫清除的抵抗。上述六点是判定生物膜感染的根据。

1.4 生物膜与机体免疫防御的关系 对于机体的免疫防御系统,无论是先天免疫,还是后天获得性免疫,生物膜的抵抗作用使病原菌能成功避免免疫清除,导致持续性或反复性感染。生物膜可通过影响免疫细胞功能、活力等,实现对先天免疫功能的影响。如藻酸盐,作为铜绿假单胞菌生物膜胞外基质的主要成分之一,可以抑制吞噬细胞发挥正常功能,从而降低其对菌体的杀灭效力,并且对抗体的包被具有抵抗效应;此外,藻酸盐能保护铜绿假单胞菌生物膜细菌免受 IFN- γ 介导的白细胞吞噬作用。白细胞发挥杀菌作用需要向细菌聚集处移动,而生物膜基质可以抑制多形核白细胞趋向细菌的移动聚集,从而干扰机体先天免疫功能的发挥。对机体获得性免疫的影响主要是通过 quorum-sensing 分子干扰 T 细胞而实现的。quorum-sensing 分子是生物膜中一类感受外界环境变化并协调整个菌落行为的信号系统;Ritchie 等^[7]在体内和体外用细菌 quorum-sensing 分子 N-3-氧代十二烷酰基-高丝氨酸内酯(N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone, OdDHL)刺激小鼠,发现 OdDHL 能提高机体的 IgG1 的产生,但会抑制 T 辅助细胞,使有增强机体免疫功能作用的细胞因子(IFN- γ 和 IL-4)产量下降,从而导致机体的后天免疫功能相应下降。

体液免疫对生物膜的作用还会引起变态反应,导致慢性炎症。免疫系统受生物膜刺激产生的抗体被生物膜外周屏障作用所阻挡,无法发挥杀菌作用,且无调理活性,反而与抗原结合形成的免疫复合物沉积于组织表面,导致组织溶解破坏,形成慢性炎症反应,加重临床感染症状。

1.5 生物膜相关感染难以治愈 目前,抗菌药物不能杀灭位于生物膜内部的细菌,从而无法有效治愈细菌生物膜导致的感染。而且停止应用抗菌药物后,生物膜作为细菌的潜伏区,成为感染复发的根源。即使提高抗菌药物作用浓度也难以杀灭生物膜细菌,特别是位于生物膜内部的细菌。生物膜导致的感染难以用常规方法治愈,除其存在较为隐蔽这一原因外,更重要的是因为机体的免疫系统对生物膜中细菌的杀伤效果有限,以及生物膜中的细菌对抗菌药物的敏感性大大降低^[8-9],表现出极强的耐药性。生物膜表现出耐药性的原因有四个方面:(1)生物膜胞外基质发挥的屏障作用。生物膜胞外基质主

要通过物理性阻碍、黏附或电荷性排斥,延缓抗菌药物渗入生物膜内部,减少与内部细菌接触的抗菌药物浓度,避免了对细菌的灭活^[10]。(2)生物膜内部的细菌随着环境的变化会调整生长状态,如可通过产生异质体等抵抗药物的作用。(3)生物膜周围或内部环境因素阻碍了抗菌药物对细菌的杀灭作用,如氨基糖苷类抗生素被摄取到细菌菌体中需要借助菌体呼吸产生的电势,而生物膜深处的厌氧环境使得该类抗生素无呼吸电势可依赖,难以进入菌体内部发挥杀菌效力。(4)几乎所有抗菌药物对生物膜深层营养物质缺乏区大量休眠静止的细菌无法发挥杀灭作用。此外,此类细菌偶尔也会脱离休眠,重塑生物膜^[11]。此类细菌即是近几年受到越来越多关注的滞留菌。在生物膜耐药机制及其造成的难治性持续性感染中,滞留菌发挥了极其重要的作用。

2 滞留菌的特点、耐药性及形成机制

滞留菌(persisters)的概念是 Joseph Bigger 于 1944 年最早提出的,他在研究中发现青霉素并不能完全彻底地杀灭金黄色葡萄球菌,无论青霉素的作用浓度加大到何种程度,仍然会有小部分金黄色葡萄球菌无法被杀灭,而且无法杀灭的这一小部分细菌增殖后恢复了对青霉素的敏感性,这一小部分细菌就被称作“滞留菌”。目前,主要认为是某些环境因素,如营养缺乏、生长两极分化、极端 pH 值及 DNA 损伤,导致细菌应激,促进了滞留菌的形成^[12-14]。某些由细菌本身导致的环境因素,如生物膜或巨噬细胞也可以促进滞留菌的形成,如生物膜中仅小部分细菌表现出滞留状态,原因可能是生物膜内部深处环境营养匮乏,促进细菌倾向于“滞留”^[15-16];巨噬细胞也可以导致细菌营养匮乏、pH 值变化,进而诱导滞留菌形成。然而,对于上述环境因素促进滞留菌形成的具体机制目前仍不清楚。在细菌生物膜中,滞留菌作为一种独特的、高度保护性的细菌表型,其抗菌药物耐受机制认识得较为充分。研究^[17]发现,抗菌药物无法杀灭滞留菌的原因与其他耐药菌有所不同,滞留菌并没有基因型的改变,而是特殊的生存状态下抗菌药物的作用靶点失去活性,使得抗菌药物无法发挥作用,属于表型改变导致的对抗菌药物的抗性。处于“休眠”状态的滞留菌内部细胞壁蛋白合成、翻译基本停止,并失去拓扑异构酶的活性,导致抗菌药物只能锚定于细胞壁却无法损伤目标蛋白的功能。通过这种方式,滞留菌以停

止生长增殖的代价成功地产生了抗菌药物抗性,得以存活下去。从滞留菌中提取 RNA 进行分析,结果显示,转录被下调的基因主要涉及能量生成和非关键功能,如鞭毛合成。由基因变异型耐药菌导致的抗菌药物耐药问题越发严重,目前研究较多;但对因表型改变而产生抗菌药物抗性的滞留菌研究则相对迟滞、不足。对临床感染疾病发生、发展,以及细菌耐药现象的持续观察和深入研究,研究者发现滞留菌在持续性感染/复发性感染中扮演着重要角色,对滞留菌的研究也逐渐深入。目前,已发现很多种细菌均存在滞留现象,如沙门菌属、假单胞菌属、布鲁菌属、葡萄球菌属、致病性大肠埃希菌和链球菌属^[18-20]。滞留菌受到更多地关注和重视,相关研究也逐渐增多,但仍缺乏突破性进展。对滞留菌的发生、发展,以及药物抗性机制尚未认识清楚,亦未找到有效消除临床感染病灶中滞留菌的方法。滞留菌的研究面临诸多困难和挑战,一是虽然发现滞留菌较早(1944年),但其近些年才受到关注,研究起步比较晚,需要时间探索;二是目前的研究技术及手段不能满足深入研究的需要,更先进的分离技术、检测技术、分析技术有待开发,以便研究者能更清楚、更透彻、更彻底地对滞留菌的理化特性及产生机制进行研究^[21];三是相对于菌群中其他细菌,滞留菌数量太少,受限于目前的实验技术,难以进行有效的研究操作。虽然面临着诸多困难和挑战,滞留菌的研究仍取得了不少成果,如滞留菌的产生机制,包括氧化应激反应、细胞代谢及毒素-抗毒素原件等^[22-23]。考虑到应激反应在滞留菌的形成过程中发挥着核心作用,对应激反应的抑制有望成为潜在的防治滞留菌的手段。随着研究的深入,相信滞留菌在持续性反复感染、生物膜形成及耐药性中的作用会逐渐清楚,对防控相关感染具有重要的指导意义。

3 生物膜感染的防治策略

积极探索如何防治生物膜感染对临床治疗有实际的指导意义。目前针对如何预防生物膜相关感染有许多非特异性的策略,包括:(1)防止微生物污染医疗器械;(2)最大程度减少微生物对医疗器械的黏附;(3)直接移除感染源头。医疗器械植入和操作时施行严格的卫生消毒措施能有效防止植入性医疗器械被微生物污染,进而避免生物膜形成。如对于中心静脉置管,操作指南已明确指出了预防器械相关感染的措施,包括置管时严格无菌操作,局部皮肤的

充分消毒,以及尽可能缩短置管留置时间。在置入长时间留存体内的假体装置(如骨科的人工关节)前预防性应用抗菌药物,能降低装置发生微生物感染的可能性^[24]。此外,通过改变植入性医疗器械表面材料组成,防止微生物定植于器械表面,避免生物膜形成也是预防生物膜感染的有效措施。在植入性医疗器械表面包被杀菌或抑菌物质成分(如万古霉素或银颗粒),但此类措施的临床效果并未获得明确评估^[25]。尽早移除不必要的植入性医疗器械能够降低器械相关感染发生的可能性,对于某些短期植入装置,如泌尿道置管或中心静脉置管,是预防生物膜相关感染的有效措施,但不适用于某些长期植入装置,如人工心脏起搏器或人工关节。对于已经产生生物膜感染的植入性医疗器械,尽快移除是唯一有效措施。在规范化治疗无法有效消除生物膜导致的机体组织感染时,通过手术清创或切除感染组织对生物膜进行物理性消除是唯一有效的治疗选择,如当植入性装置引起规范化抗微生物治疗难以治愈的心内膜炎或骨髓炎时。此外,目前对于生物膜感染的治疗策略有如下几种。

3.1 物理手段 目前,对于生物膜的物理清除手段主要包括超声、电击、光照等。通过使生物膜受到特定波长光照而失活是一种较为有效的手段,因为光照效应的产生并不受生物膜耐药机制的影响。Halstead等^[26]研究发现,蓝光(405 nm)对有临床意义的生物膜具有灭活作用,表明蓝光对于生物膜感染是一种潜在的有效治疗手段。

3.2 抗菌药物 抗菌药物自使用以来对于消除细菌感染,挽救生命起了不可估量的作用。随着长时间、大剂量地使用抗菌药物,耐药菌逐渐增多,尤其是多重耐药菌引起的感染难以用常规抗菌药物治疗,对公共卫生构成重大威胁。生物膜的形成及滞留菌的产生使得细菌的耐药问题越发严重,越发难治,抗菌药物对于生物膜及滞留菌导致的持续感染/反复感染显得效力不足。仅有几种抗菌药物对生物膜有一定作用。利福平在多个组织中具有良好的生物膜渗透性,并能杀灭附着于外来材料上的葡萄球菌属细菌。细菌基因快速变异,导致对利福平普遍产生耐药性,使得利福平不适于作为单药对生物膜感染进行治疗,但总的说来,作为辅助用药或预处理用药以提高抗菌药物敏感性,利福平的效果显著。作为预防性抗菌药物,达托霉素已用于预防骨科器械的相关感染,在治疗对万古霉素仍然敏感的生物膜感染中,达托霉素可以增加对生物膜基质的渗透

性,进而提高治疗效果^[27]。应用大环内酯类抗生素-克拉霉素对表皮葡萄球菌生物膜进行治疗,克拉霉素能够清除细菌菌落周围由糖-蛋白质复合物形成的基质;越来越多的临床和基础研究证据表明,大环内酯类抗生素具有抑制假单胞菌属细菌群体感应的潜能。在体内体外,喹诺酮类药物对葡萄球菌属细菌生物膜和革兰阴性菌生物膜均具有强大的作用,其对于停止生长的细菌具有强大的杀灭能力,对于成熟生物膜内的细菌胞体同样具有独特的杀灭能力,因为喹诺酮类能够渗透进生物膜细菌的胞外多糖。对细菌耐药机制,特别是生物膜/滞留菌对于抗菌药物的抗性机制,需要进行更深入地研究,以帮助开发出新型抗菌药物或新的用药方法来克服细菌对抗菌药物抗性,最终消除细菌、治愈感染。

3.3 抗菌多肽(antibacterial polypeptide) 抗菌多肽是生物体内经诱导而产生的有抗菌活性的小分子多肽物质。抗菌肽可通过改变细胞膜的通透性而杀灭细菌,与抗菌药物的作用机制不同,因而不产生耐药性^[28]。因此,抗菌肽的开发和应用越来越受到重视,是耐药菌防控研究的热点方向。研究发现,抗菌肽 cathelicidin LL-37 具有针对多种人类病原细菌的杀灭活性,并且具有有效的抗生物膜活性^[29];但毒副作用明显,在损伤细菌细胞膜的同时对机体正常组织细胞膜也产生影响,特别是对肾、神经系统有毒副作用。抗菌多肽领域的研究逐渐升温,取得了不少阶段性研究成果,但像抗菌药物一样普遍应用于临床,还有一定距离,主要是面临抗菌多肽来源、生产成本和技术等问题。

3.4 抑制和瓦解生物膜 抑制和瓦解生物被膜的形成是消除生物膜感染最根本的方法。目前的研究主要集中于两个方面:(1)降解生物被膜的基质,从而瓦解生物被膜,然后再结合抗菌药物治疗以彻底消除感染。生物膜的存活离不开基质的支撑和保护,干扰基质的合成甚至降解基质是防控生物膜感染的有效手段^[30-31]。如放线杆菌产生的可溶性糖苷水解酶 B 能够降解多糖细胞间黏附素,从而通过降解生物膜基质达到消除生物膜的目的。(2)阻断生物膜形成过程,如抑制细菌的黏附或者细菌群体感应 quorum-sensing 分子,抑制病原菌的群体响应,可以干扰整个菌落的理化代谢状态,并阻碍生物被膜的形成。因此,探索研究可抑制群体感知效应的蛋白质或者小分子是研发抗菌药物的重要方向。

此外,还可以利用化学剂对细菌生物膜进行清除,主要包括有机酸(临床用乙酸治疗由铜绿假单胞

菌引发的感染,尤其是烧伤伤口感染^[32]和慢性溃疡^[33])、金属离子(银、铜、镓等)、表面活性剂(鼠李糖脂等)、多糖(Ⅱ型荚膜多糖等)、天然产物(植物化学物中的熊果酸、多酚成分等)。

总之,生物膜导致的持续性感染对常规抗菌药物耐受提示,生物膜防控策略亟需改进,新的防控策略亟需探索。而生物膜与宿主炎症反应、免疫应答间的相互关系仍不完全明确,需进一步研究他们的关系。探索机体抗生物膜感染免疫的特点,对深入认识细菌生物膜,开发出更好的持续性感染治疗策略提供帮助。

[参 考 文 献]

- [1] Pegalajar-Jurado A, Easton CD, Crawford RJ, et al. Fabrication of a platform to isolate the influences of surface nanotopography from chemistry on bacterial attachment and growth [J]. *Biointerphases*, 2015, 10(1): 011002.
- [2] Del Pozo JL. Biofilm-related disease[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2018, 16(1): 51-65.
- [3] Uppuluri P, Srinivasan A, Ramasubramanian A, et al. Effects of fluconazole, amphotericin B, and caspofungin on *Candida albicans* biofilms under conditions of flow and on biofilm dispersion[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(7): 3591-3593.
- [4] Andersson DI, Hughes D. Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2014, 12(7): 465-478.
- [5] Parsek MR, Singh PK. Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis[J]. *Annu Rev Microbiol*, 2003, 57: 677-701.
- [6] Stoodley P, Nistico L, Johnson S, et al. Direct demonstration of viable *Staphylococcus aureus* biofilms in an infected total joint arthroplasty. A case report[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2008, 90(8): 1751-1758.
- [7] Ritchie AJ, Yam AO, Tanabe KM, et al. Modification of in vivo and in vitro T- and B-cell-mediated immune responses by the *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing molecule N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone [J]. *Infect Immun*, 2003, 71(8): 4421-4431.
- [8] Seth AK, Geringer MR, Hong SJ, et al. In vivo modeling of biofilm-infected wounds: a review[J]. *J Surg Res*, 2012, 178(1): 330-338.
- [9] Li T, Zhang L, Han LI, et al. Early application of negative pressure wound therapy to acute wounds contaminated with *Staphylococcus aureus*: An effective approach to preventing biofilm formation[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(3): 769-776.
- [10] 母海钰. 基于氨基糖苷类抗生素的抗细菌生物膜和胞内寄生菌的药物设计和活性评价[D]. 陕西:西北农林科技大学,2016.

- [11] Conlon BP, Rowe SE, Lewis K. Persister cells in biofilm associated infections[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2015, 831: 1-9.
- [12] Ezraty B, Vergnes A, Banzhaf M, et al. Fe-S cluster biosynthesis controls uptake of aminoglycosides in a ROS-less death pathway[J]. *Science*, 2013, 340(6140): 1583-1587.
- [13] Nguyen D, Joshi-Datar A, Lepine F, et al. Active starvation responses mediate antibiotic tolerance in biofilms and nutrient-limited bacteria[J]. *Science*, 2011, 334(6058): 982-986.
- [14] Helaine S, Cheverton AM, Watson KG, et al. Internalization of *Salmonella* by macrophages induces formation of nonreplicating persisters[J]. *Science*, 2014, 343(6167): 204-208.
- [15] Amato SM, Brynildsen MP. Nutrient transitions are a source of persisters in *Escherichia coli* biofilms[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e93110.
- [16] Syal K, Flentie K, Bhardwaj N, et al. Synthetic (p)ppGpp analogue is an inhibitor of stringent response in *Mycobacteria* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(6) pii: e00443-17.
- [17] Palmer GH, Bankhead T, Lukehart SA. 'Nothing is permanent but change'- antigenic variation in persistent bacterial pathogens[J]. *Cell Microbiol*, 2009, 11(12): 1697-1705.
- [18] Wakamoto Y, Dhar N, Chait R, et al. Dynamic persistence of antibiotic-stressed mycobacteria [J]. *Science*, 2013, 339(6115): 91-95.
- [19] Fauvart M, De Groote VN, Michiels J. Role of persister cells in chronic infections; clinical relevance and perspectives on anti-persister therapies[J]. *J Med Microbiol*, 2011, 60(Pt 6): 699-709.
- [20] Cohen NR, Lobritz MA, Collins JJ. Microbial persistence and the road to drug resistance[J]. *Cell Host Microbe*, 2013, 13(6): 632-642.
- [21] Allison KR, Brynildsen MP, Collins JJ. Heterogeneous bacterial persisters and engineering approaches to eliminate them [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2011, 14(5): 593-598.
- [22] Wu Y, Vulk M, Keren I, et al. Role of oxidative stress in persister tolerance[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(9): 4922-4926.
- [23] Ma C, Sim S, Shi W, et al. Energy production genes *sucB* and *ubiF* are involved in persister survival and tolerance to multiple antibiotics and stresses in *Escherichia coli*[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2010, 303(1): 33-40.
- [24] Alijanipour P, Heller S, Parvizi J. Prevention of periprosthetic joint infection; what are the effective strategies? [J]. *J Knee Surg*, 2014, 27(4): 251-258.
- [25] Chen M, Yu Q, Sun H. Novel strategies for the prevention and treatment of biofilm related infections[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(9): 18488-18501.
- [26] Halstead FD, Thwaite JE, Burt R, et al. Antibacterial activity of blue light against nosocomial wound pathogens growing planktonically and as mature biofilms[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2016, 82(13): 4006-4016.
- [27] Meije Y, Almirante B, Del Pozo JL, et al. Daptomycin is effective as antibiotic-lock therapy in a model of *Staphylococcus aureus* catheter-related infection[J]. *J Infect*, 2014, 68(6): 548-552.
- [28] Nguyen LT, Haney EF, Vogel HJ. The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action[J]. *Trends Biotechnol*, 2011, 29(9): 464-472.
- [29] Duplantier AJ, van Hoek ML. The Human cathelicidin antimicrobial peptide LL-37 as a potential treatment for polymicrobial infected wounds[J]. *Front Immunol*, 2013, 4: 143.
- [30] Baker P, Whitfield GB, Hill PJ, et al. Characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* glycoside hydrolase PslG reveals that its levels are critical for Psl polysaccharide biosynthesis and biofilm formation[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(47): 28374-28387.
- [31] Yu S, Su T, Wu H, et al. PslG, a self-produced glycosyl hydrolase, triggers biofilm disassembly by disrupting exopolysaccharide matrix [J]. *Cell Res*, 2015, 25(12): 1352-1367.
- [32] Nagoba BS, Selkar SP, Wadher BJ, et al. Acetic acid treatment of pseudomonal wound infections - a review[J]. *J Infect Public Health*, 2013, 6(6): 410-415.
- [33] Bjarnsholt T, Alhede M, Jensen PØ, et al. Antibiofilm properties of acetic acid[J]. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2015, 4(7): 363-372.

(本文编辑:左双燕)

本文引用格式:曹晋桂,刘鹏.细菌生物膜、滞留菌及其相关感染防控研究进展[J].中国感染控制杂志,2019,18(5):369-374. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20195067.

Cite this article as: CAO Jin-gui, LIU Peng. Research progress of bacterial biofilm, persisters, as well as prevention and control for the related infection[J]. *Chin J Infect Control*, 2019, 18(5):369-374. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20195067.