DOI:10.3969/j.issn.2095-1833.2017.01.001

细菌生物被膜的研究进展及与群体感应的关系

李婷婷[1],国竞文[2],励建荣[2*],方旭波[3],牟伟丽[4],马永钧[5],劳敏军[5],沈琳[6]

(1. 大连民族大学生命科学学院,辽宁 大连 116600;2. 渤海大学食品科学与工程学院,辽宁省食品安全重点实验室,辽宁 锦州 121013;3. 浙江海洋大学,浙江 舟山 316022;4. 蓬莱京鲁渔业有限公司,山东 烟台 265600;5. 浙江兴业集团有限公司,浙江 舟山 316101;6. 大连东霖食品股份有限公司,辽宁 大连 116007)

摘要:细菌生物被膜是细菌耐药性形成的重要机制之一,是许多感染性疾病难以控制的主要原因,也是食品加工中存在的重大污染源。在生物被膜形成过程中,细菌的群体感应系统起重要作用。文章在现有的理论和研究基础上,就细菌生物被膜的特性以及群体感应系统在细菌生物被膜形成过程中的作用进行综述,旨在为通过群体感应抑制剂抑制生物被膜的形成提供全新的研究思路。[中国渔业质量与标准,2017,7(1):1-7]

关键词:细菌;生物被膜;群体感应;相互关系

中图分类号:S984.1+1 **文献标志码**:A **文章编号**:2095-1833(2017)01-0001-07

生物被膜(biofilm,BF)是指微生物黏附于有生命或非生命物体接触表面,当受到外界环境压力时,如营养极端匮乏或过剩、高渗透压、低 pH、氧化应激、抗菌素和抗菌剂等,被自身分泌的多糖基质、纤维蛋白、脂质蛋白等胞外黏质物包裹而形成的大量微生物聚集体[1-2]。生物被膜是细菌在自然条件下在物体表面生长时形成的一种自我保护状态,自然界中的任何细菌在成熟条件下都可以形成生物被膜,且 90% 以上的微生物是以生物被膜的形式生存生长的[3]。由于菌群中的特殊亚群-持留菌(persister cell)的存在[4],被膜菌的生物学特性、形态结构、致病性以及对环境因子的敏感性等均与浮游菌有很大差异,且对人类生活存在更严重的危害。在医学上主要表现为对多种抗生素耐药性增加和宿主免疫攻击的耐受能力增强,80% 以上的细菌性感染疾病过程中细菌是以生物被膜状态存在的[5],每年全球约有百万人因生物被膜感染发病或死亡[6];在食品加工上主要表现为使生物膜中的细胞对清洁剂和抗菌剂的抗性提高,生物被膜的三维结构是抗菌药物的天然屏障,与普通细菌相比,能够形成生物被膜的细菌对清洗和消毒剂的耐受力更强,为浮游菌的 10~1 000 倍[7],导致加工设备表面无法严格清洗消毒,被膜所含的细胞及孢子不断分离成为食品潜在的污染源[8-9]。

生物被膜造成了医疗、食品等领域大量人力、财力的浪费,已成为不可忽视的公共卫生问题,因此抑制生物被膜的形成和根除生物被膜具有重要意义。近年来研究发现多数细菌生物被膜的形成、发展需要群体感应信号分子的参与[2],因此,采用抑制细菌群体感应系统的方式能够抑制生物被膜的形成。群体感应抑制剂(QSI)通过提高生物被膜的敏感性与宿主感染生物被膜后的存活率来提高抗生素治疗的成功率[10],在降低细菌致病力的同时又不会使细菌产生抗药性,因此利用它来控制生物被膜的形成引起了人们广泛的关注。本文立足于生物被膜的形成及与群体感应的关系,阐明通过干扰细菌群体感应信号分子来破坏细菌生物被膜,旨在为解决由生物被膜引起的细菌耐药、耐清洁剂的问题提供全新的研究思路。

1 细菌生物被膜

1.1 生物被膜的组成及结构

生物被膜的组成成分包括多糖基质、脂蛋白、多糖蛋白及表面蛋白、纤维蛋白、胞外 DNA(eDNA)等。细菌依靠静电力以特异性或非特异性的方式黏连在细胞之间及表面,当黏连于细胞基质时就会形成大量不易溶解的胞外多聚物(EPS),当多种细菌的 EPS、

收稿日期:2016-10-31;**接收日期**:2016-12-10

资助项目:国家自然科学基金(31301418);中国博士后科学基金(2014M552302)

作者简介:李婷婷(1978-),女,博士,副教授,硕导,研究方向为水产品贮藏加工及质量安全,tingting780612@163.com

通信作者:励建荣,博士,教授,博导,研究方向为水产品和果蔬贮藏加工及食品安全,lijr6491@163.com

宿主细胞或血小板混合在一起时便形成了混合的生物被膜,从而具备抵抗宿主的免疫反应及抗生素攻击的能力。

生物被膜的形态、紧密度及厚薄度因细菌种类及环境条件不同而有一定差异[11]。生物被膜不是细菌随意堆积形成的,而是一种相互协调构成高度分化结构的群体。生物被膜模型化后从外到内依次为:主体层(bulk of biofilm)、连接层(linking film)、调节层(conditioning film)及基质层(substratum)[12],细菌定植在"蘑菇"状的基质中。在细菌群落之间存在着充满环境液体的"水通道",利用此通道细菌可以与外界进行交流,获取营养物质或排出代谢废物[13-14]。

根据细菌在生物膜内形成的不同位置可以细分为:游离菌、表层菌和深层菌。表层菌获得氧气与营养物质较方便,代谢产物也易于排出,因而活动较为活跃、分裂较快、菌体相对较大且对抗菌药物敏感,游离菌性质与之相似;而深层菌由于被多糖蛋白复合物包围,不易获取营养物质且代谢产物易堆积,体积较小、分裂较慢,故处于静止或休眠状态。经研究发现,生物被膜中水合物含量只占约 15%,其余 85% 成分为胞外多聚物,它是生物被膜结构的基础,其作用是利于细菌形成生物被膜而早期吸附在物体表面,并作为细菌抵抗外界攻击的屏障[15]。

1.2 生物被膜的形成过程

生物被膜的形成是一个复杂的动态过程,受到多种因素的影响,通常在粗糙或涂有特殊物质的表面上更易形成生物被膜,细胞间信号分子与胞外多聚物的相互作用亦是生物被膜形成的关键所在[16]。细菌生物被膜的形成主要分为 3 个阶段。细菌黏附于接触表面生物被膜形成的第一阶段,这种黏附作用主要是细菌表面特定的黏附素蛋白识别接触表面受体的结果,具有选择性和特异性[17],由于这种接触并黏附的过程很快,因此完全控制生物被膜的形成几乎不可能。成熟是细菌生物被膜形成的第二阶段,生物被膜的结构由扁平不均一向高度结构化发展,此过程易受到细胞游动性及胞外聚合基质产生的影响。聚集和分散是生物被膜形成的第三阶段,通过胞外基质的聚集使膜内化学梯度急剧上升。由于细菌所处环境非常拥挤且养料有限,当受到某些外部因素的影响,部分细菌会从生物被膜上脱离,但是离开的细菌会重新开始黏附、成熟、聚集和分散这一过程,这样感染就在不断加重,这便是目前细菌生物被膜感染难以治疗和清除的原因之一。

1.3 生物被膜的特性

生物被膜具有高度的结构性、协调性、功能性与不均质性,其深处与浅处的细菌无论体积大小或代谢活性都有明显不同[18]。由于生物被膜内的细菌具有多种代谢状态,因而不同条件下均有细菌能够存活下来。生物被膜是稳定不同物种间相互作用或使其发生特征性变化的一种独特方式,具有影响生物群体的功能。如当需氧生物处于低氧环境中时,生物被膜会迫使其适应低氧应激环境以达到生存的目的[13];当细菌处于营养物质极度匮乏的饥饿环境时,生物被膜会产生应激应答反应,此种反应代表了细菌会采取促使进化及改变遗传差异的方式来抵抗不利环境。形成成熟生物被膜的细菌比浮游状态下的细菌更具耐酸性与抗饥饿能力,Welin 等[19]研究发现变异链球菌生物被膜细胞对酸的耐受能力普遍较强,是浮游状态细胞的 820 ~ 70 000 倍;Zhu 等[20]研究指出同时对变异链球菌浮游状态下与生物被膜状态下的细菌做无底物的饥饿处理后,其生物被膜状态下表现出更强的抗饥饿能力。此外,被膜菌与浮游菌在蛋白表达[21]、基因表达[22]方面都有一定的差异性。生物被膜的形成使得细菌在极端不利的环境中仍能抵抗外界压力、增强细胞耐受力,促使微生物学家对这种群落行为的形成过程进行全面系统的研究。

1.4 生物被膜检测方法

由于细菌形成的生物被膜被自身分泌的胞外多糖包裹着,因此须通过特定的方法才能对其进行定性和定量研究。

1.4.1 生物被膜定性研究方法

1)试管法 菌液与试管的液面交界处是生物被膜的形成部位,生物被膜一旦形成则很难被清除,可通过结晶紫染色后用冰醋酸溶解,通过颜色深浅定量检测生物被膜大小[23]。此法简单快捷、所需实验条件较低,适用于生物被膜的初步定性检测。溶藻弧菌[24]、霍乱弧菌[25]都曾用此方法进行检测。

2)银染法 此法原理是利用 $AgNO_3$ 溶液等浸泡处理后,将细菌生物被膜中的多糖蛋白复合物染成灰褐色或黑色,通过银染初步判断不同培养阶段生物被膜中多糖蛋白复合物的变化规律,评价细菌的黏附性[26]。

3)扫描电镜(SEM)和透射电镜(TEM) 用电子束及电子透镜代替光束及光学透镜,通过高倍放大物质的细微结构,分辨率可达纳米级甚至更小。此法优点是可观察到细菌生物被膜的形态结构及胞外多糖

和蛋白的特征,但缺点是电子束的照射会使样品受到辐照损伤,且仪器造价过高。

4)激光共聚焦扫描显微镜(CSLM) 作为近年来发展起来的一项高级新技术,具有普通光镜及电镜无法超越的优势。CSLM 可对生物被膜进行分层扫描,对生物被膜的厚度、均一性、荧光强度等进行量化,且浮游细菌清晰可见。通过图象软件可以从各个角度观察生物被膜三维视图,结合计算软件将三维图象数据化,从而使生物被膜的特征量化。

1.4.2　生物被膜定量研究方法

1)微孔板法 微孔板可用于培养细菌生物被膜,其侧壁是生物被膜的形成部位,该法既能定性判断生物被膜的形成情况,也能定量计算生物被膜的形成能力,且有批量处理的优势[27]。

2)菌体计数法 通过计算生物被膜中菌体数量对生物被膜进行量化,利用超声或涡旋的机械方法,将生物被膜从与其黏附的表面结构分离,结合平板菌落法对生物被膜内的活菌进行计数。此法缺点是只能计算活菌,然而死菌也是生物被膜的重要组成部分,故此法可行性较低。

3)结晶紫染色法 此法利用的原理是结晶紫可与生物被膜牢固结合,不易被水洗脱,但可在冰醋酸中较好溶解,通过颜色深浅并利用酶标仪测定 OD 值来判断形成生物被膜大小[28]。该法简便快捷,适用于 96 孔板及试管法形成生物被膜的测定。

4)荧光法 利用不同的荧光燃料可以选择性地观察生物被膜,利用 Syto9 及碘化丙锭发出的不同荧光还可以区分生物被膜中的活菌与死菌[29]。

2　细菌的群体感应系统

群体感应(quorum sensing,QS)是细菌根据群体中细胞密度变化来调控自身基因表达的一种群体行为,是当细菌的数量达到一定密度时才会发生的感应现象[30]。当在特定的环境中细菌数量增加时,由细菌的 Lux I 蛋白所合成的信息分子浓度会随之增大,当信号分子的浓度积累到一定阈值时与细胞质中的受体蛋白结合,引起受体蛋白构象发生变化,靶基因与基因编码酶的表达被激活,进而表现出一系列的行为特征,如生物发光、质粒的接合转移、毒性基因的表达、细菌的群集泳动以及生物被膜的形成等[30-31]。介导微生物群体感应的信号分子有多种,不同种类的细菌利用不同结构的信号分子来调控群体感应系统基因的表达。常见的群体感应系统大致分为以下几类。

2.1　革兰氏阴性菌中的群体感应系统(AI-1)

多数革兰氏阴性细菌的信号分子为 N-酰基高丝氨酸内酯(N-acylhomoserine lactone, AHLs)也叫做 AI-1。由一个相对稳定的高丝氨酸内酯环和一条长度为 4~18 个碳的酰基侧链组成,由于酰基侧链可能形成双键或第三个碳上容易被羟基或氧取代,因此 AHLs 具有特异性。LuxI/LuxR 系统是革兰氏阴性菌中研究最为透彻的 AI-1 型交流系统,目前已在许多细菌中发现类似费式弧菌 LuxI/LuxR 系统的群体感应系统,如根癌农杆菌的 TraI/TraR 系统,铜绿假单胞菌的 LasI/LasR 系统和 Rh1I/Rh1R 系统等[32]。

2.2　革兰氏阳性菌的群体感应系统(AIP)

革兰氏阳性菌的信号分子为寡肽类(autoinducing peptides, AIPs),它的结构与 AI-1 有所不同,是由自身分泌的经过修饰加工的前导肽。AIPs 不能自由出入细胞,需要在 ABC 转运系统的协助下才能穿过细胞壁,且具有密度依赖性的特点,当累积到一定浓度阈值时,被膜上的 AIP 信号识别系统则会启动相应调控机制[33]。革兰氏阳性菌的 QS 系统对细菌的多种行为都有调控,如调控金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的外毒素分泌[34],调控枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)芽孢的产生[35],调控突变链球菌(*S. mutans*)生物被膜的形成[36]。

2.3　细菌种属间的群体感应系统

细菌种属间存在另一类信号分子 AI-2(Autoinducer-2),用于不同种属细菌之间的相互交流。细菌通过环境中 AI-2 浓度了解环境中自身和其他细菌的数量,以此来调控自身表型的表达。AI-2 类信号分子是由 LuxS 蛋白质催化合成的呋喃酮酰硼酸二酯(furanosyl borate diester),特征基因为一段长度约 500 bp 的具有保守性的 *luxS* 基因[37]。研究表明牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)生物被膜的形成受到 *luxS* 基因的调控[38]。

2.4　其他群体感应机制

除此之外,细菌还存在另一些群体感应系统,如在一些肠道共生细菌、肠致病性大肠杆菌等革兰氏阴性菌中发现的以人类产生的肾上腺素/去甲肾上腺素为信号分子的 AI-3 型群体感应系统[39],在铜绿假单胞菌中发现的喹诺酮类信号分子[40],在弗氏柠檬酸杆菌(*Citorbacter freundii*)的培养上清中提取的二

酮哌嗪类化合物 DKPs(diketopiperazine)[41],在霍乱弧菌(*Vibrio choierae*)和哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)中发现的 CAI－1 型群体感应系统[42]。

3 生物被膜与群体感应的关系

根据生物被膜的形成过程,常见的控制生物被膜的方法主要有以下几种:阻止微生物黏附、抑制生物被膜的形成及清除已形成的生物被膜,常用的方法有运用物理超声法去除生物被膜、运用生物电效应与抗生素联合治疗被膜菌感染、降解生物被膜的细胞外基质、运用噬菌体抑制细菌生物被膜的生长、抑制细菌细胞间的信号转导系统(即群体感应系统),本文主要介绍通过群体感应抑制生物被膜形成的方法[43－44]。

3.1 生物被膜与群体感应的关系

1998 年,Davies 等[45]在 *Science* 中描述了铜绿假单胞菌 las 系统在细菌生物被膜形成中的作用,首次表述了 QS 与生物被膜关系。随着相关研究的扩展和深入,QS 系统在生物被膜形成中的调控机制也逐渐清楚。生物被膜的形成受到多种因素的影响,有研究表明在细菌由浮游态向生物被膜态转变的过程中存在着许多联系紧密的信号传导通路,其作用是协调细菌之间的各项生理活动和基因的表达,影响其致病性与耐药性以趋利避害[46]。群体感应系统是目前备受关注的细菌生物膜内信号转导系统,QS 在不同细菌中的共同调控位点即为生物被膜的形成与抗性[47]。当环境条件不利于细菌生长时,细菌间能够通过 QS 系统传递信息,建立壁垒(生物膜)并进行顽固化来适应不利条件。如果群体感应系统缺失,形成的生物膜就会变得稀薄。QS 系统除了影响成膜菌的数量外,对细菌生物膜胞外多糖聚合物(EPS)的含量以及细胞表面的疏水性(hydrophobicity)都有不同程度的影响。

目前的研究结果表明,在生物被膜形成的 3 个阶段中都有 QS 参与。洋葱伯克霍尔德菌(*Burkholderia cepacia*)H111 的 cepI/R QS 系统可以调控细菌生物被膜成熟[48],嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)的 ahyR/I acyl－HSL QS 系统对生物被膜成熟是必需的[49],霍乱弧菌用 QS 调控胞外多糖的产生,胞外多糖用 *vps* 操纵子编码,可以调控细菌的聚集和表面附着[50]。

在群体感应系统中,各类信号分子在调控生物被膜的形成中都起到非常重要的作用。郭红[51]报道凡纳滨对虾中的优势腐败菌不动杆菌 Aci－1 和 Aci－2 产生的 AHLs 可以调控其生物被膜的形成。信号分子 Autoinducers－2(AI－2)作为革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌共同识别的一类通用信号分子,在调控混合菌生物被膜的形成中具有重要作用[52]。Barrios 等[53]发现液化沙雷式菌(*Serratia liquefaciens*)和霍乱弧菌(*Vibrio cholera*)的生物被膜形成过程中的细胞聚集以及外聚合物的合成分别受群体感应信号分子 AI－2 的调控。王娜[54]研究发现金黄色葡萄球菌生物被膜的形成受到 QS 调控。金黄色葡萄球菌的 *agr* 操纵子中的 agrD 编码自诱导物(autoinducer, AI)从而编码 QS,当 AI 积累到一定阈值时,agrD 通过 TCS AgrCA 控制小的非编码 RNA－RNAIII 的表达,从而使生物被膜形成必需基因黏附素的表达下调。

3.2 利用群体感应抑制剂(QSI)调控生物被膜的形成

由于生物被膜的形成在卫生医疗以及食品安全等领域具有严重威胁,对此科研人员已做了大量抑制生物被膜的形成的研究,比如利用抗菌肽、香精油类等抑制生物被膜的形成[55－56]。群体感应抑制剂(QSI)是一种防治生物被膜形成的有效方法。QSI 以抑制细菌的群体感应系统为靶点,主要分为肽类化合物、非肽类小分子化合物(分为天然来源与人工合成两类)和蛋白质等。肽类化合物主要为针对革兰氏阳性菌利用的自诱导分子(小分子多肽 AIP)而产生的 AIP 类似物。天然非肽类 QSI 可从高等植物、动物组织及一些微生物所产生的次级代谢产物中提取;人工合成非肽类 QSI 主要分为 AHL 类似物、溴化呋喃酮类似物、AI－2 同系物等。蛋白质类 QSI 主要分为 QS 猝灭酶和 QS 猝灭抗体两类[57]。

细菌群体感应系统功能异常直接影响生物被膜的形成。研究表明由铜绿假单胞菌的 Lasl 和 rhll 突变体形成的生物被膜,其对抗生素的敏感性远强于标准菌株的生物被膜,与后者相比,前者形成的生物被膜非常不稳定,生物被膜内的大多数细菌易消散、脱离,其原因是由于铜绿假单胞菌的 Lasl 和 rhll 突变体中细菌存在不利于生物被膜形成的颤动能力缺陷[58]。葡萄球菌引起的感染疾病大多与细菌生物被膜形成有关。Kiran 等[59]指出葡萄球菌 QS 系统中激活肽 RAP 活性被 anti－RAP、anti－TRAP 抗体等抑制时,其毒性也被抑制。当靶分子 TARP 没有被表达或磷酸化时,细菌就无法黏附形成生物被膜,从而不能产生毒性引起感染疾病。Brackman 等[48]间接证实了伯霍尔德杆菌属(*Burkholderia*)的群体感应系统调

控其生物被膜的形成,研究发现以肉桂醛、白藜芦醇为群体感应抑制剂可以影响生物被膜的黏附能力。Lee 等[60]报道了 3 - 吲哚乙腈可以减少大肠埃希菌 O157:H7 细菌生物被膜的形成和铜绿假单胞菌毒性因子的表达。

4　结论与展望

综上所述,细菌生物被膜的形成是一个复杂的系统工程,受到多种信号分子的调控。QS 对革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌生物被膜的形成均有重要作用,并且在生物被膜的形成阶段始终伴随 QS 的调控,所以干扰 QS 系统将成为抑制生物被膜的有效手段。QSI 来源于天然或人工合成的小分子化合物,作用是竞争性干扰或破坏 AI 与受体蛋白的结合过程,降低 AI 在细菌中的浓度阈值,影响 QS 系统最终达到抑制生物被膜的目的。未来应加大对 QS 调控生物被膜的研究,寻找更多能够抑制细菌生物被膜的 QS 抑制剂,并对抑制机理进行更深入透彻的研究,为彻底治疗细菌生物被膜感染性疾病以及防治生物被膜对食品加工造成的灾害性污染带来新希望。

参考文献:

[1] 刘伟杰, 刘聪, 蒋继宏. 枯草芽孢杆菌形成生物被膜的研究进展[J]. 微生物学报, 2014, 54(9): 977 - 983.

[2] Ma L, Wang J, Wang S, et al. Synthesis of multiple*Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix exopolysaccharides is post - transcriptionally regulated [J]. Environ Microbiol, 2012, 14(8):1995 - 2005.

[3] Costerton J W, Stewart P S, Greenberg E P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections [J]. Science, 1999, 284(5418):1318.

[4] Lewis K. Persister cells [J]. Annu Rev Microbiol, 2010, 64(1):357 - 372.

[5] 王娜. 嗜水气单胞菌浮游态和生物被膜状态比较蛋白质组学及相关蛋白特性分析[D]. 南京:南京农业大学, 2012.

[6] Dosler S, Karaaslan E. Inhibition and destruction of *Pseudomonas aeruginosa*, biofilms by antibiotics and antimicrobial peptides [J]. Peptides, 2014, 62:32 - 37.

[7] Houdt R V, Michiels C W. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface [J]. J Appl Microbiol, 2010, 109(4):1117 - 1131.

[8] Gunduz G T, Tuncel G. Biofilm formation in an ice cream plant [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2006, 89(3/4): 329 - 336.

[9] 闫寅卓, 魏巧思, 刘畅, 等. 浮游态与生物被膜态金黄色葡萄球菌中类胡萝卜素的差异[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(9):73 - 76.

[10] Brackman G, Cos P, Maes L, et al. Quorum sensing inhibitors increase the susceptibility of bacterial biofilms to antibiotics in vitro and *in vivo* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(6):2655 - 2661.

[11] Lin J, Huang S, Zhang Q. Outer membrane proteins: key players for bacterial adaptation in host niches [J]. Microbes Infect, 2002, 4(3):325 - 331.

[12] Habash M, Reid G. Microbial biofilms: their development and significance for medical device - related infections [J]. J Clin Pharmacol, 1999, 39(9):887 - 898.

[13] Niels, Hoiby, Oana, et al. The clinical impact of bacterial biofilms [J]. Int J Oral Sci, 2011, 3(2):55 - 65.

[14] Kuehn M, Hausner M, Bungartz H J, et al. Automated confocal laser scanning microscopy and semiautomated image processing for analysis of biofilms[J]. Appl Environ Microbiol, 1998, 64(11):4115 - 4127.

[15] Agger W A, Mccormick J D, Gurwith M J. Clinical and microbiological features of *Aeromonas hydrophila* - associated diarrhea[J]. J Clin Microbiol, 1985, 21(6):909 - 913.

[16] Simoes M, Simoes L C, Vieira M J. A review of current and emergent biofilm control strategies [J]. LWT - Food Sci Technol, 2010, 43(4):573 - 583.

[17] Kavanagh K, Reeves E P. Exploiting the potential of insects for in vivo pathogenicity testing of microbial pathogens[J]. FEMS Microbiol Rev, 2004, 28(1): 101 - 112.

[18] Zahller J, Stewart P S. Transmission electron microscopic study of antibiotic action on Klebsiella pneumoniae biofilm [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46(8): 2679 - 2683.

[19] Welin - Neilands J, Svensäter G. Acid tolerance of biofilm cells of *Streptococcus mutans* [J]. Appl Environ Microbiol , 2007, 73(17):5633 - 5638.

[20] Zhu M, Takenaka S, Sato M, et al. Influence of starvation and biofilm formation on acid resistance of *Streptococcus mutans*[J]. Oral Microbiol Immunol, 2001, 16(1): 24 - 27.

[21] Shemesh M, Tam A, Steinberg D. Differential gene expression profiling of *Streptococcus mutans* cultured under biofilm and planktonic conditions [J]. Microbiology, 2007, 153(5):1307 - 1317.

[22] Rathsam C, Eaton R E, Simpson C L, et al. Two – dimensional fluorescence difference gel electrophoretic analysis of Streptococcus mutans biofilms[J]. J Proteome Res, 2005, 4(6):2161 – 2173.

[23] Jin H, Zhou R, Kang M, et al. Biofilm formation by field isolates and reference strains of Haemophilus parasuis [J]. Vet Microbiol, 2006, 118(1/2):117 – 123.

[24] Liu H, Wang Q, Liu Q, et al. Roles of Hfq in the stress adaptation and virulence in fish pathogen *Vibrio alginolyticus* and its potential application as a target for live attenuated vaccine[J]. Appl Microbiol Biotechnol , 2011, 91(2):353 – 364.

[25] Fong J C, Yildiz F H. The rbmBCDEF gene cluster modulates development of rugose colony morphology and biofilm formation in *Vibrio cholerae*[J]. J Bacterio, 2007, 189(6):2319 – 2330.

[26] 李乃静, 李胜岐, 何平, 等. 银染法鉴定细菌生物被膜[J]. 实用药物与临床, 2003, 6(1):37 – 38.

[27] Ruzicka F, Horka M, Hola V, et al. Capillary isoelectric focusing—useful tool for detection of the biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* [J]. J Microbiol Methods, 2007, 68(3): 530 – 535.

[28] Stewart P S, Costerton J W. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms: The Lancet[J]. Lancet, 2001, 358(9276):135 – 138.

[29] 陈朝喜. 细菌生物被膜定性和定量研究方法[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(9): 2177 – 2180.

[30] 许玉彬, 张颖, 王淼, 等. 细菌群体感应研究进展[J]. 河南农业科学, 2013, 42(12):16 – 19.

[31] Novick R P, Geisinger E. Quorum sensing in staphylococci [J]. Annu Rev Genet, 2008, 42(1):541 – 64.

[32] Winans S C, Bassler B L. Mob psychology [J]. J Bacteriol, 2002, 184(4):873 – 883.

[33] Miller M B, Bassler B L. Quorum sensing in bacteria [J]. Annu Rev Microbiol, 2001, 55(2):165 – 199.

[34] Lyon G J, Novick R P. Peptide signaling in *Staphylococcus aureus*, and other Gram – positive bacteria[J]. Peptides, 2004, 25(9):1389 – 1403.

[35] Kleerebezem M, Quadri L E. Peptide pheromone – dependent regulation of antimicrobial peptide production in Gram – positive bacteria: a case of multicellular behavior [J]. Peptides, 2001, 22(10):1579 – 1596.

[36] Rutherford S T, Bassler B L. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control[J]. Csh Perspect Med, 2012, 2(11):705 – 709.

[37] Chen X, Schauder S, Potier N, et al. Structural identification of a bacterial quorum – sensing signal containing boron[J]. Nature, 2002, 415(6871):545 – 549.

[38] Xavier K B, Bassler B L. LuxS quorum sensing: more than just a numbers game[J]. Curr Opin Microbiol, 2003, 6(2):191 – 197.

[39] Kendall M M, Sperandio V. Quorum sensing by enteric pathogens [J]. Curr Opin Gastroenterol, 2007, 23(1): 10 – 15.

[40] Diggle S P, Cornelis P, Williams P, et al. 4 – Quinolone signalling in *Pseudomonas aeruginosa*: Old molecules, new perspectives[J]. Int J Med Microbiol, 2006, 296(2/3):83 – 91.

[41] Holden M T G, Chhabra S R, Nys R D, et al. Quorum – sensing cross talk: isolation and chemical characterization of cyclic dipeptides from *Pseudomonas aeruginosa*, and other Gram – negative bacteria[J]. Mol Microbiol, 1999, 33(6):1254 – 1266.

[42] Waters C M, Bassler B L. Quorum sensing: cell – to – cell communication in bacteria[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2005, 21: 319 – 346.

[43] 陈小雪, 陈晶瑜, 韩北忠,等. 食品加工过程中细菌生物被膜的危害及控制[J]. 中国酿造, 2016, 35(1):1 – 4.

[44] 贾鸣, 胡晓梅, 胡福泉. 细菌生物被膜的耐药机制及控制策略[J]. 生命的化学, 2008, 28(3):315 – 317.

[45] Davies D G, Parsek M R, Pearson J P, et al. The involvement of cell – to – cell signals in the development of a bacterial biofilm [J]. Science, 1998, 280(5361):295 – 298.

[46] Hall – Stoodley L, Costerton J W, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases [J]. Nat Rev Microbiol, 2004, 2(2):95 – 108.

[47] Kalia V C. Quorum sensing inhibitors: An overview [J]. Biotechnol Adv, 2012, 31(2):224 – 245.

[48] Brackman G, Hillaert U, Van Calenbergh S, et al. Use of quorum sensing inhibitors to interfere with biofilm formation and development in *Burkholderia multivorans* and *Burkholderia cenocepacia* [J]. Res microbiol, 2009, 160(2): 144 – 151.

[49] Lynch M J, Swift S, Kirke D F, et al. The regulation of biofilm development by quorum sensing in *Aeromonas hydrophila* [J]. Environ Microbiol, 2002, 4(1): 18 – 28.

[50] 叶晓敏, 陆春. 霍乱弧菌群体感应系统影响生物膜形成的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2010, 30(1):80 – 83.

[51] 郭红. 凡纳滨对虾特定腐败菌中 AHLs 介导的群体感应与调控的初步研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.

[52] Stankowska D, Czerwonka G, Rozalska S, et al. Influence of quorum sensing signal molecules on biofilm formation in *Proteus mirabilis* O18 [J]. Folia Microbiol, 2012, 57(1):53 – 60.

[53] Barrios A F G, Zuo R, Hashimoto Y, et al. Autoinducer 2 controls biofilm formation in Escherichia coli through a novel motility quorum – sensing regulator (MqsR, B3022) [J]. J Bacteriol, 2006, 188(1): 305 – 316.

[54] 王娜. 嗜水气单胞菌浮游态和生物被膜状态比较蛋白质组学及相关蛋白特性分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.

[55] Kwieciński J, Eick S, Wójcik K. Effects of tea tree (Melaleuca alternifolia) oil on *Staphylococcus aureus*, in biofilms and stationary growth phase[J]. Int J Antimicrob Agents, 2009, 33(4):343 – 347.

[56] Schlafer S, Raarup M K, Wejse P L, et al. Osteopontin reduces biofilm formation in a multi – species model of dental biofilm [J]. Plos One, 2012, 7(8): e41534 – e41534.

[57] 孙琦, 梁经纬, 王琳,等. 细菌群体感应抑制剂的研究进展[J]. 化学与生物工程, 2016, 33(2):15 – 21.

[58] 赵京明. Las 密度感知系统调控铜绿假单胞菌生物被膜形成和产酶基因表达的研究[D]. 山东: 山东大学, 2014.

[59] Kiran M D, Adikesavan N V, Cirioni O, et al. Discovery of a quorum – sensing inhibitor of drug – resistant staphylococcal infections by structure – based virtual screening [J]. Mol Pharmacol, 2008, 73(5):1578 – 1586.

[60] Lee J H, Cho M H, Lee J. 3 – Indolylacetonitrile decreases *Escherichia coli*, O157: H7 biofilm formation and *Pseudomonas aeruginosa* virulence [J]. Environ Microbiol, 2011, 13(1):62 – 73.

Research progress of bacterial biofilm and its relationship with quorum sensing

LI Tingting[1], GUO Jingwen[2], LI Jianrong[2*], FANG Xubo[3], MOU Weili[4], MA Yongjun[5], LAO Minjun[5], SHEN Lin[6]

(1. College of Life Science, Dalian Minzu University, Dalian 116600, China; 2. Liaoning Provincal Key Laboratory of Food Safety, Food Science Research Institute, Bohai University, Jinzhou 121013, China; 3. Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China; 4. Penglai Jinglu Fishery Co., Ltd, Yantai 265600, China; 5. Zhejiang Xingye Group, Zhoushan 316022, China; 6. Dalian Donglin Food Co., Ltd, Dalian 116007, China)

Abstract: Bacterial biofilm is one of the important mechanisms of the formation of bacterial resistance. Biofilm is the main reason that many infectious diseases are difficult to control, and it is also a major source of pollution in the process of food processing. In the biofilm formation process, the quorum sensing system plays an important role. Based on the existing theory and research, the characteristics of bacterial biofilm and the role of population sensing system in bacterial biofilm formation were reviewed in order to provide a new study idea for the inhibition of biofilm formation by population induction inhibitors. [Chinese Fishery Quality and Standards, 2017, 7(1):1 – 7]

Key words: bacteria; biofilm; quorum sensing; relationship

Corresponding author: LI Jianrong, lijr6491@163.com