

抗菌肽的抗生物膜机理研究进展

汪文博, 王冠男, 蔡莎莎

济宁医学院 医药工程学院 医药组织工程实验室, 山东 济宁 272000

汪文博, 王冠男, 蔡莎莎. 抗菌肽的抗生物膜机理研究进展. 生物工程学报, 2020, 36(7): 1277-1282.

Wang WB, Wang GN, Cai SS. Current progress in antimicrobial peptides against bacterial biofilms. Chin J Biotech, 2020, 36(7): 1277-1282.

摘要: 生物膜, 也称为生物被膜, 是指附着于有生命或无生命物体表面被细菌胞外大分子包裹的有组织的细菌群体。与浮游菌相比, 生物膜内的细菌对抗生素的耐受性提高了 10-1 000 倍, 是造成目前细菌耐药的主要原因之一。作为一种新型抗菌制剂, 抗菌肽的使用为生物膜感染的治疗提供了一种新的思路 and 手段。抗菌肽在抑制生物膜形成、杀灭生物膜内细菌以及消除成熟生物膜的过程中发挥了独特的优势。文中分析了近 30 年的数据, 从细菌生物膜的结构入手, 对抗菌肽可能的抗生物膜机理进行了综述, 以期抗菌肽临床治疗生物膜感染提供一定参考。

关键词: 抗菌肽, 细菌生物膜, 机理

Current progress in antimicrobial peptides against bacterial biofilms

Wenbo Wang, Guannan Wang, and Shasha Cai

The Key Laboratory for Medical Tissue Engineering, College of Medical Engineering, Jining Medical University, Jining 272000, Shandong, China

Abstract: Microbial biofilm, a consortium of microbial cells protected by a self-produced polymer matrix, is considered as one main cause of current bacterial drug resistance. As a new type of antimicrobial agents, antimicrobial peptides provide a new strategy for the treatment of antibiotic resistant bacteria biofilm infections. Antimicrobial peptides have shown unique advantages in preventing microbial colonization of surfaces, killing bacteria in biofilms or disrupting the mature biofilm structure. This review systemically analyzes published data in the recent 30 years to summarize the possible anti-biofilm mechanisms of antimicrobial peptides. We hope that this review can provide reference for the treatment of infectious diseases by pathogenic microbial biofilm.

Keywords: antimicrobial peptides, bacterial biofilm, anti-biofilm mechanisms

Received: November 13, 2019; **Accepted:** January 20, 2020

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 31900328), College Students' Innovative Training Program of Jining Medical University (No. S201910443031).

Corresponding author: Shasha Cai. E-mail: biocaishasha@mail.jnmc.edu.cn

国家自然科学基金 (No. 31900328), 济宁医学院大学生创新训练计划项目 (No. S201910443031) 资助。

随着细菌耐药性的发展,尤其是当耐药性同时出现在细胞水平和群体水平时,针对耐药菌感染的治疗已经成为一项全球性的挑战。细胞水平的细菌耐药主要包括 3 个方面:细菌修饰抗生素作用的靶标蛋白,产生相应的酶灭活抗生素或者将抗生素类药物外排到细胞外,降低细菌体内药物的浓度^[1]。在群体水平上,细菌耐药的主要机制是细胞聚集形成生物膜,产生一个天然屏障,阻断抗生素^[1-2]。

生物膜是指微生物为适应周围环境,粘附于生命或非生命的介质表面,并被其自身分泌的胞外基质 (Extracellular polymeric substances, EPS) 包裹而形成的一种稳定复杂的三维网状结构^[3-5]。几乎所有的细菌都可以形成生物膜。1999 年 Costerton 等在 *Science* 杂志上明确提出细菌生物膜是引起细菌持续性感染的常见致病机制,且 60% 以上的临床感染病例都与细菌生物膜的形成有关。现在已知,细菌可在人体组织如牙齿、皮肤、肺、尿道等器官表面形成生物膜,引起一系列的顽固和复发性的感染性疾病,如龋齿、慢性支气管炎、难治性肺部感染、血栓性静脉炎和心内膜炎等^[1]。与浮游细菌相比,生物膜内的细菌对抗菌药物和宿主免疫系统具有很强的耐受性,用抗生素治疗很难将其彻底杀灭或者清除,且加大抗生素的用量不仅对生物膜内的细菌无效,还可能引起无法预知的毒副作用^[1]。因此寻找一种安全有效的抗生物膜药物或方法一直是医药领域研究的热点和难点问题。

将抗菌肽作为新型抗生物膜制剂应用于临床治疗越来越多地引起了国内外学者的关注^[6-7]。抗菌肽是生物体在长期的进化过程中为适应环境、求得生存而最早产生的一类活性分子,是宿主先天免疫防御的重要组成成分。这类活性多肽多是一些阳离子小肽,由 5-100 个氨基酸残基组成,分子量在 1-5 kDa 之间^[6-9]。由于抗菌肽具有多靶点、非特异性作用机制,不易引起细菌耐药性的

产生,其被认为是目前最有前途的抗生素替代品。除了广谱高效的杀菌活性,抗菌肽对多重耐药的细菌生物膜还表现出很强的活性^[6,10]。大量研究表明,抗菌肽不仅能在细菌生物膜形成的早期进行干扰,防止细菌最初的粘附,还能通过促使微生物细胞脱离或杀死微生物细胞来破坏成熟的生物膜^[11-12]。本文从生物膜的结构入手,结合其形成过程,对抗菌肽可能的抗生物膜机制进行了归纳和总结,以期为抗菌肽临床治疗生物膜感染提供参考。

1 抗菌肽抗生物膜的作用机理

1.1 抑制细菌细胞对附着表面的初始粘附

细菌生物膜的形成是一个动态过程,主要分为细菌可逆性的粘附定殖阶段、不可逆性的粘附集聚阶段、生物被膜的成熟阶段和细菌的脱落与再定殖阶段。其中,浮游细菌对物体表面的粘附是启动细菌生物膜形成的关键。研究发现,抗菌肽能抑制细菌细胞对附着表面的初始粘附,发挥抗生物膜活性^[11]。Cathelicidin 家族抗菌肽 LL-37 能够上调与 I 型菌毛生物合成相关的基因的表达,增加细菌的蹭行运动,降低其对塑料薄膜表面的黏附,从而抑制铜绿假单胞菌生物膜的形成^[13-14]。细菌素 Bovicin HC5 和 Nisin 可通过改变金黄色葡萄球菌生物膜表面的疏水性,降低其在食物表面的黏附作用^[15]。而抗菌肽 Citropin^[16]和 Mmelimine^[17]已被证明作为包埋材料能有效抑制病原菌在一些医疗器械表面的黏附,包括尿道管和隐形眼镜。葡萄球菌生物膜的形成是一个积聚而成的过程,这一过程主要依赖于葡萄球菌 *icaADBC* 基因编码的多糖胞间黏附素 (Polysaccharide intercellular adhesion, PIA) 分子的合成。研究表明,人源防御素 HBD-3 能够通过下调表皮葡萄球菌 *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 细胞内 *icaA*、*icaD* 以及 *icaR* 基因的表达,抑制 PIA 的表达,进而抑制其生物膜的形

成^[18]。此外,抗菌肽还可通过干扰细菌细胞与细胞之间的接触,抑制生物膜的形成。ABC 转运蛋白被报道与生物膜形成过程中细胞与材料以及细胞与细胞间的相互作用有关^[19-20]。Wang 等研究显示抗菌肽 Nal-P-113 能够通过影响 ABC 转运蛋白家族基因 (PG0280-PG0282) 的表达,减少细菌细胞之间的接触,从而抑制牙龈卟啉单胞菌 *Porphyromonas gingivalis* 生物膜的形成^[20]。

1.2 干扰生物膜形成相关信号分子的表达

1.2.1 调节细菌生物膜群体感应系统 (Quorum sensing, QS)

当游离细菌粘附到附着物表面后,其会通过分泌 QS 信号分子监测周围环境的变化,调控自身相关基因的表达,分泌大量的 EPS 填充生物膜中细菌与细菌之间的空隙,为细菌生物膜提供机械稳定性^[21]。研究表明, QS 系统与细菌生物膜的形成、致病性相关毒力因子的表达以及多种耐药途径等密切相关^[22]。铜绿假单胞菌主要存在两种特征性的 QS 系统: Las 系统和 RhI 系统^[23]。研究发现,人源抗菌肽 LL-37 能够通过抑制 QS 关键信号分子的表达,显著下调包括 *las I* 和 *rhIR* 在内的 50 多个生物膜形成相关基因的表达,抑制铜绿假单胞菌生物膜的形成^[14]。

1.2.2 抑制细菌的严紧应答反应 (Stringent response)

高度磷酸化的鸟苷四磷酸和五磷酸 (简称 (p)ppGpp) 是介导细菌细胞对环境胁迫产生应激反应的重要胞内信号分子,通过控制一系列重要的细胞活动使细菌得以生存。(p)ppGpp 含量的任何变化都会严重影响细菌生物膜的形成和维持。研究发现,抗菌肽可通过作用于在革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌中普遍存在的严紧应激反应而发挥抗生物膜活性^[24]。抗菌肽 IDR1018、DJK-5 和 DJK-6 可通过阻止 (p)ppGpp 的生物合成,并促进其降解,进而抑制生物膜的形成^[25]。此外,抗菌肽 DJK-5 和 IDR-1018 还可通过抑制 *spoT* 启动子

的活性影响细菌的严紧应答,抑制铜绿假单胞菌生物膜的形成^[26]。

1.3 消除细菌生物膜内的胞外基质 (EPS)

大多数生物膜中,微生物仅占干重的 10%,其胞外基质 (EPS) 的含量却高达 90% 以上。EPS 多是由胞外多糖、核酸、蛋白质以及脂类等物质组成,其致密的结构构成了抗菌药物渗透的生理屏障,加之抗菌药物经常被 EPS 所捕获并滞留,极大降低了抗菌药物对生物膜内细菌的杀伤作用。研究发现,抗菌肽能够通过清除或破坏,发挥抗生物膜活性。蝉虫抗冻蛋白来源的多肽 P1 可降解链球菌产生的 EPS,消除其在聚苯乙烯或唾液包被的羟磷灰石材料上形成的生物膜^[27]。来源于红头丽蝇 *Calliphora vicina* 蛆虫的一种抗生物膜肽能够降解由耐药性的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌以及鲍曼不动杆菌产生的生物膜基质,但其具体的抗生物膜机制还未知^[28]。人肝源性抗菌肽 Hecidin-20 可通过靶标多糖胞间黏附素,降低表皮葡萄球菌的胞外基质含量,改变其生物膜的构架组成^[29]。另一类抗菌肽 S4 (1-16) M4Ka 被证明可通过分解膜脂、分散细菌以及抑制生物膜形成等发挥抗铜绿假单胞菌生物膜活性^[30]。鱼抗菌肽 Piscidin-3 则被报道可通过其 N 末端氨基酸与 Cu^{2+} 形成共价键,发挥核酸酶活性,破坏铜绿假单胞菌胞外 DNA,发挥抗生物膜活性^[31]。

1.4 杀死生物膜内的细菌细胞

作为小分子阳离子多肽,抗菌肽所具有的两亲性分子结构使得其既能透过脂双层结构,又能溶解在水环境中。抗菌肽对细菌的杀菌作用通常始于其通过静电作用与带负电的革兰氏阴性菌外膜中的脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 或革兰氏阳性菌细胞壁中的脂磷壁酸 (Lipoteichoic acid, LTA) 的相互作用^[6,32-34]。一旦抗菌肽分子穿过细菌的外膜/细胞壁,或在外膜/细胞壁上形成孔洞,细菌细胞就会因细胞结构的变化死亡^[6,35]。

PTP-7 就是一类典型的具有细胞膜裂解作用的抗生物膜肽,它是 Gaegurin 5 的合成衍生物。研究表明,尽管 PTP-7 是一类阳离子小肽,但其活性不受生物膜基质中的酸性 pH 环境、带负电荷的胞外多糖或者是高金属离子浓度的影响。此外,PTP-7 还能穿透进入生物膜内部,并有效杀死生物膜内的细菌细胞^[36]。细菌素 Nisin A、Lacticin Q 和 Nukacin ISK-1 等则被发现能够通过破坏耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌 (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, MRSA) 生物膜内细胞的膜电位,引起细胞内 ATP 的释放,发挥抗生物膜活性^[37]。来源于嗜酸性粒细胞的阳离子肽 RN3 (5-17P22-36) 可通过引起生物膜内细菌细胞膜去极化发挥抗生物膜活性,但是其作用强度仅为对浮游细菌的 1/3–1/2^[38-40]。此外,Luca 等研究发现蛙皮来源的抗菌肽 Esc (1-21) 还能穿透生物膜内细胞的质膜,引起 β -半乳糖苷酶的释放,发挥抗铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 生物膜活性^[41]。

2 总结与展望

随着抗生素耐药菌株的大量出现,细菌生物膜感染成为新世纪抗感染治疗的新挑战。抗菌肽因其广谱、高效的优点在生物膜感染治疗方面展现出巨大的应用前景^[6,42]。但是目前关于抗菌肽抗生物膜的研究资料还很有限,未来需要更深入的研究去解析抗菌肽明确的作用机制,比如抗菌肽是如何干扰 QS 信号抑制生物膜形成的,是否会干扰 EPS 组分合成相关的信号通路,又是否能够靶标一些病原菌的毒力因子发挥抗生物膜活性等。计算机分子模拟技术的应用或许将有助于我们深入探究抗菌肽的作用机理。

此外,虽然有很多报道显示抗菌肽在体内体外表现出强而有力的抑制生物膜形成活性,但是很少有抗菌肽被报道对成熟生物膜有很强的作用。而在实际的临床治疗中,医生们经常要面对

的是已经形成的生物膜,因此如何加速抗菌肽对成熟生物膜的清除作用必将成为未来急需解决的问题之一。将药物协同应用或许提供了一种新的抗生物膜感染治疗思路。且已有研究表明,联合应用抗菌肽和抗生素不仅可以抑制生物膜的形成,更能有效诱导降解成熟的生物膜基质^[43-44]。

同时,抗菌肽自身在临床应用中面临着一些问题,如生理条件下活性降低,对血清、蛋白酶敏感等。因此,在抗菌肽生物合成时,用非天然和 D 型氨基酸分别替换活性肽分子中的天然和 L 型氨基酸,或者在给药时将多肽利用模拟肽技术做成脂质体纳米粒子剂型,在保证活性不变的情况下,延长其半衰期,或许是抗菌肽临床应用未来发展的方向。此外,真正将抗菌肽应用于临床抗生物膜感染治疗之前,还需要反复进行动物模型实验,确定其在体内某一特定位点给药时的最佳给药途径,以及给药剂量。

REFERENCES

- [1] Hall CW, Mah TF. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev*, 2017, 41(3): 276–301.
- [2] Bjarnsholt T, Ciofu O, Molin S, et al. Applying insights from biofilm biology to drug development - can a new approach be developed? *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12(10): 791–808.
- [3] Parrino B, Schillaci D, Carnevale I, et al. Synthetic small molecules as anti-biofilm agents in the struggle against antibiotic resistance. *Eur J Med Chem*, 2019, 161: 154–178.
- [4] Kolter R. Biofilms in lab and nature: a molecular geneticist's voyage to microbial ecology. *Int Microbiol*, 2010, 13(1): 1–7.
- [5] Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol*, 2009, 11(7): 1034–1043.
- [6] Wang JJ, Dou XJ, Song J, et al. Antimicrobial peptides: promising alternatives in the post feeding antibiotic era. *Med Res Rev*, 2019, 39(3): 831–859.

- [7] Yin YS, Chen HH, Cao LY, et al. Progress in strategies to combat antimicrobial resistance. *Chin J Biotech*, 2018, 34(8): 1346–1360.
尹业师, 陈华海, 曹林艳, 等. 细菌耐药性应对策略研究进展. *生物工程学报*, 2018, 34(8): 1346–1360.
- [8] Bals R. Antimikrobielle peptide und peptidantibiotika. *Med Klin*, 2000, 95(9): 496–502.
- [9] Brown KL, Hancock REW. Cationic host defense (antimicrobial) peptides. *Curr Opin Immunol*, 2006, 18(1): 24–30.
- [10] Batoni G, Maisetta G, Esin S. Antimicrobial peptides and their interaction with biofilms of medically relevant bacteria. *Biochim Biophys Acta (BBA) Biomembranes*, 2016, 1858(5): 1044–1060.
- [11] Segev-Zarko L, Saar-Dover R, Brumfeld V, et al. Mechanisms of biofilm inhibition and degradation by antimicrobial peptides. *Biochem J*, 2015, 468(2): 259–270.
- [12] Yasir M, Willcox MDP, Dutta D. Action of antimicrobial peptides against bacterial biofilms. *Materials*, 2018, 11(2): 2468.
- [13] de la Fuente-Núñez C, Korolik V, Bains M, et al. Inhibition of bacterial biofilm formation and swarming motility by a small synthetic cationic peptide. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(5): 2696–2704.
- [14] Overhage J, Campisano A, Bains M, et al. Human host defense peptide LL-37 prevents bacterial biofilm formation. *Infect Immun*, 2008, 76(9): 4176–4182.
- [15] de Jesus Pimentel-Filho N, de Freitas Martins MC, Nogueira GB, et al. Bovicin HC5 and nisin reduce *Staphylococcus aureus* adhesion to polystyrene and change the hydrophobicity profile and Gibbs free energy of adhesion. *Int J Food Microbiol*, 2014, 190: 1–8.
- [16] Cirioni O, Giacometti A, Ghiselli R, et al. Citropin 1.1-treated central venous catheters improve the efficacy of hydrophobic antibiotics in the treatment of experimental staphylococcal catheter-related infection. *Peptides*, 2006, 27(6): 1210–1216.
- [17] Willcox MDP, Hume EBH, Aliwarga Y, et al. A novel cationic-peptide coating for the prevention of microbial colonization on contact lenses. *J Appl Microbiol*, 2008, 105(6): 1817–1825.
- [18] Sutton JM, Pritts TA. Human beta-defensin 3: a novel inhibitor of *Staphylococcus*-Produced biofilm production. *J Surg Res*, 2014, 186(1): 99–100.
- [19] Andersen RN, Ganeshkumar N, Kolenbrander PE. Cloning of the *Streptococcus gordonii* PK488 gene, encoding an adhesin which mediates coaggregation with *Actinomyces naeslundii* PK606. *Infect Immun*, 1993, 61(3): 981–987.
- [20] Wang HY, Lin L, Tan LS, et al. Molecular pathways underlying inhibitory effect of antimicrobial peptide Nal-P-113 on bacteria biofilms formation of *Porphyromonas gingivalis* W83 by DNA microarray. *BMC Microbiol*, 2017, 17(1): 37.
- [21] Zhao C, Wang N, Wang WZ, et al. Wastewater treatment based on biofilm regulation by Lux type quorum sensing system—a review. *Chin J Biotech*, 2017, 33(9): 1596–1610.
赵畅, 王宁, 王文昭, 等. 基于 Lux 型群体感应系统干预的生物被膜调控在污水处理中的研究进展与前景. *生物工程学报*, 2017, 33(9): 1596–1610.
- [22] Al Akeel R, Mateen A, Syed R. An alanine-rich peptide attenuates quorum sensing-regulated virulence and biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *J Aoac Int*, 2019, 102(4): 1228–1234.
- [23] Yu S, Ma LY. Iron uptake and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Chin J Biotech*, 2017, 33(9): 1489–1512.
于珊, 马旅雁. 铜绿假单胞菌铁摄取与生物被膜形成研究进展. *生物工程学报*, 2017, 33(9): 1489–1512.
- [24] Pletzer D, Coleman SR, Hancock REW. Anti-biofilm peptides as a new weapon in antimicrobial warfare. *Curr Opin Microbiol*, 2016, 33: 35–40.
- [25] de la Fuente-Núñez C, Reffuveille F, Haney EF, et al. Broad-spectrum anti-biofilm peptide that targets a cellular stress response. *PLoS Pathog*, 2014, 10(5): e1004152.
- [26] Pletzer D, Wolfmeier H, Bains M, et al. Synthetic peptides to target stringent response-controlled virulence in a *Pseudomonas aeruginosa* murine cutaneous infection model. *Front Microbiol*, 2017, 8: 1867.
- [27] Ansari JM, Abraham NM, Massaro J, et al. Anti-biofilm activity of a self-aggregating peptide against *Streptococcus mutans*. *Front Microbiol*, 2017,

- 8: 488.
- [28] Gordya N, Yakovlev A, Kruglikova A, et al. Natural antimicrobial peptide complexes in the fighting of antibiotic resistant biofilms: *Calliphora vicina* medicinal maggots. PLoS ONE, 2017, 12(3): e0173559.
- [29] Brancatisano FL, Maisetta G, Di Luca M, et al. Inhibitory effect of the human liver-derived antimicrobial peptide hepcidin 20 on biofilms of polysaccharide intercellular adhesin (PIA)-positive and PIA-negative strains of *Staphylococcus epidermidis*. Biofouling, 2014, 30(4): 435–446.
- [30] Quilès F, Saadi S, Francius G, et al. *In situ* and real time investigation of the evolution of a *Pseudomonas fluorescens* nascent biofilm in the presence of an antimicrobial peptide. Biochim Biophys Acta (BBA) Biomembranes, 2016, 1858(1): 75–84.
- [31] Libardo MDJ, Bahar AA, Ma BY, et al. Nuclease activity gives an edge to host-defense peptide piscidin 3 over piscidin 1, rendering it more effective against persisters and biofilms. FEBS J, 2017, 284(21): 3662–3683.
- [32] Shai Y. Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by alpha-helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides. Biochim Biophys Acta (BBA) Biomembranes, 1999, 1462(1/2): 55–70.
- [33] Peschel A, Sahl HG. The co-evolution of host cationic antimicrobial peptides and microbial resistance. Nat Rev Microbiol, 2006, 4(7): 529–536.
- [34] Schüller F, Benz R, Sahl HG. The peptide antibiotic subtilin acts by formation of voltage-dependent multi-state pores in bacterial and artificial membranes. Eur J Biochem, 1989, 182(1): 181–186.
- [35] Tennessen JA. Molecular evolution of animal antimicrobial peptides: widespread moderate positive selection. J Evolution Biol, 2005, 18(6): 1387–1394.
- [36] Kharidia R, Liang JF. The activity of a small lytic peptide PTP-7 on *Staphylococcus aureus* biofilms. J Microbiol, 2011, 49(4): 663–668.
- [37] Okuda KI, Zendo T, Sugimoto S, et al. Effects of bacteriocins on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57(11): 5572–5579.
- [38] Pulido D, Prats-Ejarque G, Villalba C, et al. A novel RNase 3/ECP peptide for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm eradication that combines antimicrobial, lipopolysaccharide binding, and cell-agglutinating activities. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(10): 6313–6325.
- [39] Venge P, Bystrom J, Carlson M, et al. Eosinophil cationic protein (ECP): molecular and biological properties and the use of ECP as a marker of eosinophil activation in disease. Clin Exp Allergy, 1999, 29(9): 1172–1186.
- [40] Acharya KR, Ackerman SJ. Eosinophil granule proteins: form and function. J Biol Chem, 2014, 289(25): 17406–17415.
- [41] Luca V, Stringaro A, Colone M, et al. Esculentin(1–21), an amphibian skin membrane-active peptide with potent activity on both planktonic and biofilm cells of the bacterial pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. Cell Mol Life Sci, 2013, 70(15): 2773–2786.
- [42] Reffuveille F, De La Fuente-Núñez C, Mansour S, et al. A broad-spectrum antibiofilm peptide enhances antibiotic action against bacterial biofilms. Antimicrob Agents Chemother, 2014, 58(9): 5363–5371.
- [43] Jorge P, Grzywacz D, Kamysz W, et al. Searching for new strategies against biofilm infections: Colistin-AMP combinations against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* single- and double-species biofilms. PLoS ONE, 2017, 12(3): e0174654.
- [44] Beloin C, Renard S, Ghigo JM, et al. Novel approaches to combat bacterial biofilms. Curr Opin Pharmacol, 2014, 18: 61–68.

(本文责编 陈宏宇)