

吴伟胜,李玉保,王守荣,等. 大肠杆菌噬菌体的研究进展[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):8-11.

doi:10. 15889/j. issn. 1002-1302. 2015. 08. 003

大肠杆菌噬菌体的研究进展

吴伟胜,李玉保,王守荣,朱育玮,庄 娇

(聊城大学农学院,山东聊城 252000)

摘要:大肠杆菌病为畜牧养殖业常见疾病之一,目前临床上主要依赖于抗生素进行控制。随着大肠杆菌耐药性增强以及人们对食品安全意识的提高,急需寻找安全、高效的抗生素替代品。噬菌体是能够感染细菌、真菌、放线菌或螺旋体等微生物的病毒总称,具有巨大的潜在应用价值。对近几年国内外有关大肠杆菌噬菌体的分布、分离纯化方法、保存方法、形态、pH 值稳定性、温度稳定性、分子生物学以及应用方面作了简要概述,并对以后的科研和应用进行了思考和展望。

关键词:大肠杆菌;噬菌体;研究进展

中图分类号:S852.61+2

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2015)08-0008-03

近年来,由于畜牧养殖业大量使用抗生素,导致病原微生物的耐药性升高^[1],同时,抗生素的使用对食品安全构成威胁。噬菌体作为一类能够感染和裂解大肠杆菌等微生物的病毒,具有宿主专一、不产生耐药性^[2]、使用安全^[3-4]等优势,在美国已应用于儿童腹泻疾病的治疗^[5]。因此,噬菌体有望在防控畜牧业肠道性疾病中替代抗生素。本文对近几年国内外关于大肠杆菌噬菌体的分离和保存方法、生物学特性等进行综述,希望能够对大肠杆菌噬菌体更深入的研究和应用提供思路和方法。

1 大肠杆菌噬菌体的分布

目前研究发现的病毒种类数量庞大,其中大部分是噬菌体^[6]。大肠杆菌噬菌体在我们生活的周围环境中普遍存在。到目前为止,学者们已经从不同的样品中分离出来多种大肠杆菌噬菌体,并对所分离的噬菌体进行了分类和命名。在养殖场的鸡粪^[7-8]和污水中^[9],以不同的大肠杆菌为宿主菌分离到不同种类的大肠杆菌噬菌体;在养猪场的粪便中,以产肠毒素性大肠杆菌 K88 为宿主菌分离并纯化了 1 株噬菌体 PK88-4^[10];在城市的污水中,以肠出血性大肠杆菌 O157:H7 为宿主菌分离出裂性噬菌体^[11]。此外,在医院的污水中,用大肠杆菌 E1~E17 共 17 种细菌做指示菌分离出 1 种广谱噬菌体 IME11^[12]。

2 大肠杆菌噬菌体的分离纯化方法

对于噬菌体的分离纯化,大致可以分为采样、富集、分离、纯化 4 个步骤。每个步骤又包含 1 种或多种不同的方法,可以根据自身的试验条件和试验状况将不同方法组合,进而得

到最佳的分离纯化方法。

2.1 采样

采样大致可以分为直接法、间接法和诱导法^[13]3 种。直接法是指直接从对象菌生活的生物体上采集样本的方法。李灏等^[14]、Connerton^[15]都采用直接法从发病鸡的肠道中采样并分别分离出大肠杆菌噬菌体和空肠弯曲杆菌噬菌体。间接法是指根据对象菌的特性,从相应的非生物环境中采集样本的方法。如从养鸡场的污水、粪便和土壤中采样进而分离噬菌体^[8-9,16-17]。诱导法是指用对象菌去感染生物体进而在生物体或其生活环境中采样的方法。郭海萍等用痢疾志贺氏菌感染小鼠,采取小鼠的粪便进而分离得到相应噬菌体。

2.2 富集

富集也称增殖,即将对象菌悬液与样品液共同培养,增加样品液中噬菌体的含量,富集之后的样品液更易分离出噬菌体。郭秋菊等从生活污水中采样分离噬菌体,进行了富集和不富集的对照试验,结果显示,富集之后的样品很容易检测到噬菌体,而不经富集的样品未检测到噬菌体^[19]。虽然不经富集的样品中未检测到噬菌体,但并不表示样品中不含噬菌体。

2.3 分离

分离方法可以分为双层琼脂平板法、琼脂平板涂布法、琼脂平板倾注法 3 种^[13]。各种方法有自己的优缺点,学者们通常根据自己的试验条件和操作习惯进行选择。

2.4 纯化

纯化可以分为液体纯化法和平板纯化法^[13]。液体纯化法中,用无菌枪头或牙签挑单个噬菌斑,然后接入含对象菌的液体培养基中进行适温培养,再经过滤除菌即得到纯化噬菌体^[20]。平板纯化法中,也是用无菌枪头或牙签挑单个噬菌斑于缓冲液进行洗脱,洗脱液经适当稀释后再用双层琼脂平板法、琼脂平板涂布法或琼脂平板倾注法进行培养,如此操作 3~5 次,即可得到纯化噬菌体^[10,19]。

3 大肠杆菌噬菌体的保存方法

在对噬菌体的保存方法上,研究学者们尝试过很多种方法,不同的保存方法对噬菌体活性的保持影响很大。

收稿日期:2014-11-15

基金项目:国家自然科学基金(31101787);山东省自然科学基金(ZR2010CM035);大学生创新创业训练计划项目(SF2014198)。

作者简介:吴伟胜(1989—),男,山东聊城人,硕士,主要从事动物疫病发生机理与防控研究。E-mail:wuweisheng1211@qq.com。

通信作者:李玉保,博士,副教授,主要从事动物疫病发生机理与防控研究。Tel:(0635)8239917;E-mail:liyubao@lcu.edu.cn。

陈萍等取 3 组 500 μL 噬菌体裂解液: 第一组加入了 100 μL 氯仿, 第二组加入 500 μL LB 液体培养基, 第三组加入 CaCl_2 和 MgCl_2 至终浓度 10 mmol/L, 0.1% 明胶, 4 $^\circ\text{C}$ 保存 1 个月, 结果显示第三组噬菌体的活性很少降低, 效价最高^[21]。

有很多关于 -18 $^\circ\text{C}$ 保存噬菌体的研究。陈海阳将 1 株广谱大肠杆菌噬菌体 EX01 裂解液放于 -18 $^\circ\text{C}$ 低温保存, 每隔一周测定其效价, 结果显示噬菌体 EX01 在 35 d 时仍具有较高的效价, 56 d 时仍有感染性, 63 d 时感染性消失^[13]。郭秋菊等对比了在 -18 $^\circ\text{C}$ 保存已纯化的噬菌体平板或噬菌体悬液的 2 种方法。结果显示, 2 种方法都能保存 1 个月以上, 但平板保存法优于噬菌体悬液保存法^[19]。

另外报道显示, T4-Like 大肠杆菌噬菌体在 10 mmol/L 的镁离子中, 30 $^\circ\text{C}$ 保存超过 1 个月, 效价都没有降低^[22]。

4 大肠杆菌噬菌体的形态

噬菌体个体微小, 不具有细胞的完整结构, 只含有单一核酸。噬菌体按蛋白质结构可以分为无尾部的二十面体、有尾部的二十面体和线状体 3 种。无尾部的噬菌体外表由蛋白外壳组成, 核酸被包裹在内部。有尾部的噬菌体除了头部外, 还有尾部和基部: 尾部由 1 个中空针状结构及外鞘组成, 基部由尾丝和尾针组成。线状体噬菌体没有明显的头部结构, 而是由壳粒组成的盘旋状结构。

已知的噬菌体大多都是有尾部的二十面体。许多研究人员分别对从养殖场粪便中、河水中 and 污水中分离出的噬菌体进行了电镜拍照, 照片显示噬菌体都由头部和尾部组成, 且头部呈正多面体状, 直径 45 ~ 95 nm, 尾部粗长、含有尾鞘, 长 100 ~ 120 nm^[7, 10-11, 23-24]。

此外, 郭秋菊等从生活污水中分离了 3 种类型的噬菌体, 经电镜拍照显示: 一种类型的噬菌体尾部不能收缩, 头部为二十面体, 直径 110 ~ 120 nm, 尾长 220 ~ 230 nm, 尾宽 13 ~ 15 nm, 没有尾鞘、基板、尾丁、尾丝; 一种类型的噬菌体尾部可以收缩, 头部为三十面体, 直径 70 ~ 110 nm, 尾长 120 ~ 130 nm, 尾宽 18 ~ 22 nm, 有尾鞘、基板、尾丁和尾丝结构; 一种类型为短尾噬菌体, 头部直径约 20 nm, 尾长 2 ~ 3 nm^[19]。

5 大肠杆菌噬菌体稳定性

5.1 pH 值稳定性

噬菌体生长和其他微生物一样, 除了其他必要的生长条件外, 还需要有适合其生长的 pH 值。在其他生长条件相同的情况下, pH 值不同对噬菌体生长的影响也不同。何冕之将 Bp9B1226 噬菌体纯培养液分别加入不同 pH 值 (4、5、6、7、8、9、10、11) 的 LB 液体培养基中, 放于 37 $^\circ\text{C}$ 恒温水浴 24 小时, 用双层平板法测定噬菌体效价, 结果显示 Bp9B1226 噬菌体在 pH 值 = 6 ~ 9 时, 噬菌体效价指数无明显变化, 当 pH 值 < 5 或 pH 值 > 10 时, 噬菌体效价指数明显下降^[25]。另外, 代保英对大肠杆菌噬菌体 BpD 的 pH 值的稳定性也做了类似的试验, 结果显示: 在 pH 值 = 5 ~ 9 时, 噬菌体 BpD 活性较高, 尤其在 pH 值 = 7 ~ 8 时, 活性最高; 在 pH 值 < 5 或 pH 值 > 9 时, 活性明显下降^[26]。由此看出, 大肠杆菌噬菌体对 pH 值的适应范围较广。

5.2 温度稳定性

温度对噬菌体的感染力有很大影响, 找到噬菌体保持感染力的温度范围, 将会对进行噬菌体更深入的研究与应用起到关键作用。张培东等对大肠杆菌噬菌体 Bp6 的热稳定性做了测定, 他们将具有一定效价的噬菌体 Bp6 悬液分别经 40、50、60、70、80、90 $^\circ\text{C}$ 水浴 30 min 和 1 h, 随即将悬液冰浴冷却测其效价, 结果显示噬菌体 Bp6 在 40 $^\circ\text{C}$ 下作用 30 min 和 1 h 活性基本不变, 50 $^\circ\text{C}$ 和 60 $^\circ\text{C}$ 下作用 30 min 和 1 h 仍有较高活性, 70 $^\circ\text{C}$ 下作用 30 min 和 1 h 基本失去活性, 80 $^\circ\text{C}$ 和 90 $^\circ\text{C}$ 下作用 30 min 和 1 h 完全失去活性^[7]。何冕之^[25]和代保英^[26]也分别对相应的大肠杆菌噬菌体做了类似试验, 结果显示, 噬菌体对温度的稳定性比较高, 但长时间处于 70 $^\circ\text{C}$ 以上高温, 噬菌体的活性会迅速降低以至失去。

6 大肠杆菌噬菌体分子生物学

噬菌体所含的核酸可以分为 4 种: 单链 RNA (ssRNA)、双链 RNA (dsRNA)、单链 DNA (ssDNA) 和双链 DNA (dsDNA)。

在近几年的研究中发现, 多数大肠杆菌噬菌体的遗传物质为 DNA。尹雅菲等对分离出的 1 种宽谱噬菌体 IME11 做了遗传物质的鉴定, 他们分别用 DNase I 和 RNaseA 处理噬菌体 IME11 的遗传物质, 证明噬菌体 IME11 的遗传物质为 DNA, 并用限制性内切酶处理其遗传物质, 证明其遗传物质为 dsDNA^[12]。同时, 王冉等对分离出的 1 株噬菌体 PK88-4 也做了基因组分析及酶切鉴定, 证明噬菌体 PK88-4 的遗传物质为 dsDNA, 基因组大小约为 60 kb^[10]。

此外, 有些关于大肠杆菌噬菌体的研究显示, 其遗传物质为 RNA。徐焰等对 1 株分离自医院污水的宽宿主谱大肠杆菌噬菌体和 1 株单一宿主谱噬菌体 I2 进行了遗传物质测定, 结果显示, 宽宿主谱大肠埃希菌噬菌体和 I2 噬菌体均为 6 000 bp 左右的单链 RNA^[27]。

7 大肠杆菌噬菌体的噬菌谱

根据噬菌体的噬菌谱不同, 可以大致将噬菌体分为宽宿主谱噬菌体和专一宿主噬菌体。

宽宿主谱噬菌体是指能够裂解多种宿主菌的噬菌体。徐焰等从医院污水中分离出 1 株大肠杆菌噬菌体, 经宿主范围测定, 发现该噬菌体可以裂解 5 株大肠杆菌, 所以可以确定该噬菌体为大肠杆菌宽宿主谱噬菌体^[28]。此外, 王礼伟等^[9]和杜崇涛等^[11]也分别从养鸡场污水和城市污水中分离出了大肠杆菌宽宿主谱噬菌体。

专一宿主噬菌体是指只能够裂解专一宿主菌的噬菌体。因其具有严格的宿主专一性, 在细菌的检测、细菌分型以及特异性裂解方面都有很强的优势^[29]。

8 大肠杆菌噬菌体的安全性

和抗生素相比, 噬菌体不易造成细菌的抗性。相关性研究表明, 细菌对噬菌体产生抗性的突变频率为 10^{-7} , 产生抗性的几率很小^[30], 而且噬菌体也可以为适应宿主菌产生适当的变异^[2]。

噬菌体在清除宿主菌的同时, 也不会影响动物体内周围的正常菌群。Chibani-Chennoufi 等用 4 种大肠杆菌噬菌体

饲喂小鼠,结果显示噬菌体几乎对正常菌群没有影响^[31]。Bruttin 等让 15 个志愿者服用 T4 噬菌体,受试者均无不良反应,且没有影响肠道内正常菌群^[3]。

9 大肠杆菌噬菌体的应用

噬菌体生物制剂在治疗疾病中有很多的优势:噬菌体的特异性强,能专一地裂解宿主菌,且不会破坏一些正常菌群;噬菌体的增殖周期比较短,产生子代噬菌体的数量大,对疾病的治疗会更加快速有效;在噬菌体将病原菌裂解之后,噬菌体会随着病原菌的清除而自动灭亡,不会残留在动物体内^[32]。Tanji 等用 3 株广谱噬菌体做成混合制剂,用于裂解体外培养的 *E. coli* O157:H7 菌,结果显示噬菌体混合制剂成功裂解了 *E. coli* O157:H7 菌,同时又把混合制剂饲喂被 *E. coli* O157:H7 感染的小鼠,小鼠肠道的 *E. coli* O157:H7 菌也被完全裂解^[33]。Smith 等用噬菌体 Φ9882 治疗经大肠埃希菌感染的小鼠,结果小鼠全部存活,而用生理盐水的对照组小鼠全部死亡^[34]。Smith 等用噬菌体 B85/1、B85/2 成功治愈了小牛大肠埃希菌引起的腹泻^[35]。

10 展望

在抗生素使用泛滥的时代,耐药菌株增长的速度也越来越快。噬菌体作为一种生物制剂,无疑会在畜禽疾病的防治上起到很好的作用。到目前为止,全国各地的科研人员和技术人员在大肠杆菌噬菌体方面做了大量的工作,并取得了可喜的成果。但是,噬菌体在临床上的应用还有很漫长的科研之路。开发能对应相关疾病的噬菌体试剂或混合制剂,在某些情况下避免生物体内的非特异性免疫反应,这些都是摆在我们面前的难题。同时,由于噬菌体对宿主的高度特异性,寻找宽宿主谱噬菌体,研究噬菌体的溶壁酶都是我们努力的方向。相信在广大科研技术工作人员的共同努力下,噬菌体一定能在畜禽疾病防治方面起到重要的作用。

参考文献:

- [1] 邹玲,唐栋,刘文华,等. 鸡致病性大肠杆菌噬菌体的分离[J]. 中国畜牧兽医,2007,34(3):103-104.
- [2] 王盛,童贻刚. 噬菌体治疗研究进展[J]. 微生物学通报,2009,36(7):1019-1024.
- [3] Bruttin A, Brüssow H. Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005, 49(7): 2874-2878.
- [4] Borysowski J, Górski A. Is phage therapy acceptable in the immunocompromised host? [J]. International Journal of Infectious Diseases, 2008, 12(5): 466-471.
- [5] d'Herelle F. Bacteriophage as a treatment in acute medical and surgical infections[J]. Bulletin of the New York Academy of Medicine, 1931, 7(5): 329-348.
- [6] Breitbart M, Rohwer F. Here a virus, there a virus, everywhere the same virus? [J]. Trends in Microbiology, 2005, 13(6): 278-284.
- [7] 张培东,孙岩,任慧英,等. 大肠杆菌噬菌体的分离及其生物学特性[J]. 中国兽医杂志,2008,44(4):10-12.
- [8] 李冰,唐峰. 鸡大肠杆菌噬菌体分离及裂解性试验[J]. 中国家禽,2011,33(14):63-64.

- [9] 王礼伟,梁晏,屈勇刚,等. 一株鸡源致病性大肠杆菌噬菌体的分离及其生物学特性[J]. 江苏农业学报,2014,30(2):455-457.
- [10] 王冉,韩晗,张辉,等. 大肠杆菌 K88 噬菌体的分离鉴定及其生物学特性[J]. 华北农学报,2012,27(4):163-167.
- [11] 杜崇涛,王文东,刘军,等. 肠出血性大肠杆菌 O157:H7 噬菌体的分离纯化[J]. 吉林畜牧兽医,2008,29(4):6-8.
- [12] 尹雅非,张乐,庆宏,等. 新广谱大肠杆菌噬菌体 IME11 的分离及鉴定[J]. 生物医学工程与临床,2013,17(5):483-486.
- [13] 陈海阳. 大肠杆菌噬菌体的分离纯化及其在海水养殖中的应用[D]. 厦门:厦门大学,2013:4-5.
- [14] 李灏,谢慧君,孔健,等. 畜禽肠道致病菌噬菌体的生物学特性研究[J]. 微生物学通报,2004,31(2):10-13.
- [15] Connerton P. Natural campylobacter control with bacteriophage[J]. World Poultry, 2006, 26(6): 25-26.
- [16] 赵燕,任红卫,孔健,等. 噬菌体生态防治效果试验初报[J]. 中国兽医杂志,2005,41(3):18-20.
- [17] Huff W E, Rath N C, Balog J M, et al. Alternatives to antibiotics: utilization of bacteriophage to treat colibacillosis and prevent food-borne pathogens[J]. Poultry Science, 2005, 84: 655-659.
- [18] 郭海萍,陈振辉,黄艳梅,等. 污水中肠道杆菌噬菌体的分离及其生物学活性研究[J]. 南方医科大学学报,2007,27(10):1545-1546.
- [19] 郭秋菊,滕井华,许荣均,等. 大肠杆菌噬菌体的分离、纯化及其特性研究[J]. 厦门大学学报:自然科学版,2008,47(增刊2):273-277.
- [20] 钱存柔,黄仪秀,林稚兰,等. 微生物学实验教程[M]. 北京:北京大学出版社,1999:31-35.
- [21] 陈萍,沈明浩,王平. 出血性大肠杆菌噬菌体 933W 的分离鉴定和保存[J]. 中国兽药杂志,2007,41(6):19-21.
- [22] Bourdin G, Schmitt B, Marvin Guy L, et al. Amplification and purification of T₄-like *Escherichia coli* phages for phage therapy: from laboratory to pilot scale[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(4): 1469-1476.
- [23] 赵贵明,仇庆文,姚李四,等. 阪崎肠杆菌噬菌体的分离及其生物学特性[J]. 微生物学报,2008,48(10):1373-1377.
- [24] 刘霄飞,任慧英,刘文华,等. 大肠杆菌噬菌体 Bp7 裂解性能分析[J]. 中国农学通报,2010,26(9):18-21.
- [25] 何冕之. 大肠杆菌 K88、K99 广谱噬菌体的分离与生物学特性鉴定[D]. 武汉:华中农业大学,2012:25-26.
- [26] 代保英. 大肠杆菌 K88 噬菌体的分离、分类初步鉴定和生物学特性的测定[D]. 扬州:扬州大学,2009:44-45.
- [27] 徐焰,彭道荣,熊鸿燕,等. 一株宽宿主谱大肠埃希菌噬菌体的 RNA 比较分析及其环境微生物杀灭效应观察[J]. 中华流行病学杂志,2005,26(5):356-360.
- [28] 徐焰,熊鸿燕,宋建勇,等. 1 株宽宿主谱大肠杆菌噬菌体的生物学特性观察[J]. 第三军医大学学报,2003,25(23):2106-2108.
- [29] 秦天呈,姚彬,王文,等. 噬菌体治疗细菌感染的研究进展[J]. 四川生理科学杂志,2012,34(2):85-87.
- [30] Carlton R M. Phage therapy: past history and future prospects[J]. Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, 1999, 47(5): 267-274.
- [31] Chibani - Chennoufi S, Sidoti J, Bruttin A, et al. *In vitro* and *in vivo* bacteriolytic activities of *Escherichia coli* phages: implications for phage therapy[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2004, 48(7):2558-2569.

崔海英,张雪婧,赵呈婷,等. 细菌生物膜的研究进展[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):11-14.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.004

细菌生物膜的研究进展

崔海英,张雪婧,赵呈婷,周 慧,李 伟,林 琳

(江苏大学食品与生物工程学院,江苏镇江 212013)

摘要:细菌生物膜是一种包裹在细胞外多聚物基质中的、黏附于有生命或无生命物体表面的细菌群体,相对于游离状态的细菌,生物膜状态下的耐药性更强,给临床治疗带来困难。近年来,细菌生物膜的研究得到了迅速发展,细菌生物膜的检测技术及清除方法日益完善且效果更佳。本文介绍了细菌生物膜研究的最新进展,包括细菌生物膜的耐药机理、检测技术、清除方法,并对生物膜的清除进行了展望,为研究细菌耐药性、控制生物膜感染提供了理论基础。

关键词:细菌生物膜;耐药机理;检测技术;清除方法

中图分类号: Q936 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)08-0011-04

抗生素的滥用导致细菌的耐药性增强,给临床治疗带来困难。美国疾病控制与预防中心的专家研究表明,65%~80%的人类细菌感染与生物膜相关,50%的院内感染与医疗器械装置上的生物膜相关联^[1-2]。在惰性表面形成生物膜后,生物膜保护细菌免受宿主的获得性免疫应答以及吞噬细胞的捕食,使其耐药性提高 10~1 000 倍^[3],引起了人们极大的关注。

细菌生物膜(bacterial biofilm, BBF)是指细菌为了适应生存环境,黏附于有生命或无生命物体表面后,被细菌胞外自身产生的多聚物基质包裹的有组织的细菌群体^[4-5]。细菌生物膜中水分含量可高达 97%;除了水和细菌外,生物膜中还含有蛋白质、多糖、肽聚糖、DNA、脂、磷脂等物质^[6]。本文就细菌生物膜的研究进展进行综述,涉及细菌生物膜的耐药机理、检测技术以及清除方法,并对细菌生物膜清除方法的发展趋势进行了展望。

1 细菌生物膜的耐药机理

1.1 细菌生物膜的屏障作用

细菌吸附在惰性表面后,自身会产生大量的多糖、脂类等

多聚物包裹在细菌外,从而形成了 1 层天然的屏障,这是生物膜的显著特点之一,这种特点可以防止抗生素嵌入在细菌外壁上。革兰氏阴性细菌(如大肠杆菌)比革兰氏阳性菌细胞膜外多 1 层细胞外膜(多聚糖),就可以有效阻止抗生素的进入,或降低进入药物的杀菌性。Suci 等利用红外光谱研究表明,抗生素环丙沙星渗透进生物膜的速度与渗透进游离细菌内部的速度相比有明显降低,这是由于部分环丙沙星被结合到生物膜组分中^[7]。还有研究表明,胞外多糖是带负电荷的,会吸收多肽链中带正电荷的氨基侧链,形成 1 道屏障,从而阻碍亲水性的抗生素渗透入菌体发挥杀菌作用,使抗生素的杀菌能力显著降低^[8]。

但是现在有越来越多的试验证明,屏障作用不是生物膜的主要耐药机理。Walters 等研究表明,氟喹诺酮类抗生素环丙沙星是能够穿透铜绿假单胞菌生物膜的^[9]。Anderl 等发现,尽管环丙沙星、氨基青霉素可以穿透整个有 β -内酰胺酶突变体的肺炎克雷伯菌生物膜,但是这个突变体仍然耐氨基青霉素^[10]。

1.2 细菌生物膜中表型的表达

一些细菌为了适应环境的改变,特定的基因表达能够使它们具有耐药性。生物膜细菌聚集、黏附以后,为了适应新的生存环境,特定的基因表达发生变化,使生物学行为发生改变,这称为生物膜表型。细菌特有的表型能够激发出生物膜的耐药机理,Beaudoin 等发现,铜绿假单胞菌 *ndvB* 基因与细胞外多聚糖的形成有关^[11],如果表达水平上发生了改变,多聚糖的形成会发生变化,就会导致抗生素远离生物膜外特定的靶细胞或者与其发生螯合反应,从而降低了抗生素的作用,提高了生物膜的耐药性。

另外,也有研究发现,大肠杆菌拥有编码群体感应的 2 个

收稿日期:2013-09-10

基金项目:国家自然科学基金(编号:31301573);教育部留学回国人员科研基金;中国博士后基金(编号:12M511223);江苏省自然科学基金(编号:BK20130493);江苏省教育厅高校自然科学基金(编号:12KJB550002);江苏大学高级人才引进启动基金(编号:11JDG050)。

作者简介:崔海英(1979—),女,吉林延边人,博士,副教授,研究方向为食品微生物。Tel:(0511)88780201;E-mail:cuihaiying@ujs.edu.cn。

[32] Miedzybrodzki R, Fortuna W, Weber - Dabrowska B, et al. Phage therapy of staphylococcal infections (including MRSA) may be less expensive than antibiotic treatment[J]. Postepy Hig Med Dosw, 2007, 61: 461-465.

[33] Tanji Y, Shimada T, Fukudomi H, et al. Therapeutic use of phage cocktail for controlling *Escherichia coli* O157:H7 in gastrointestinal tract of mice[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2005,

100(3): 280-287.

[34] Smith H W, Huggins M B. Successful treatment of experimental *Escherichia coli* infections in mice using phage; its general superiority over antibiotics[J]. Journal of General Microbiology, 1982, 128(2): 307-318.

[35] Smith H W, Huggins M B, Shaw K M. The control of experimental *Escherichia coli* diarrhoea in calves by means of bacteriophages[J]. Journal of General Microbiology, 1987, 133(5): 1111-1126.