论著·基础医学

# 灵菌红素通过干扰代谢通路及下调生物膜相关基因抑制鲍曼不动杆菌生物膜形成

肖 雨[1],李迎丽[1,2],白群华[1,2],段 刚[2,3],李志峰[2,3],肖 虹[1,2] [1]重庆医科大学公共卫生学院,重庆;[2]高致病性病原微生物重庆市重点实验室,重庆;[3]重庆市疾病预防与公共卫生研究中心,重庆市疾病预防控制中心(重庆市预防医学科学院),重庆

[摘要] **目的** 鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*,Ab)是一种常见的条件致病菌,其生物膜的形成能显著增强细菌的耐药性和环境耐受性,从而给临床抗感染治疗带来挑战。灵菌红素(prodigiosin,PG)作为一种具有广谱抗菌活性的天然红色色素,其对Ab及其生物膜的具体作用机制尚不明确。本研究以黏质沙雷氏菌CM01来源的PG为实验对象,探究其对Ab的抑菌作用及其抗生物膜作用,并从表型及全基因组转录水平的层面,探究其潜在的分子机制与关键调控靶点。**方法** 本研究的实验菌株包括7株Ab临床菌株和1株Ab标准菌株。采用纸片扩散法评估Ab临床菌株的耐药性;采用微量肉汤稀释法测定PG对8株Ab的抑菌活性;采用结晶紫染色法检测PG对8株Ab的抗生物膜活性;利用棋盘实验法评估PG与替加环素联用对7株Ab的抗生物膜活性效果;采用苯酚-硫酸法和二喹啉甲酸法测定最小生物膜抑制浓度(minimum biofilm inhibitory concentration,MBIC)的PG处理后8株Ab胞外聚合物中的胞外多糖和胞外蛋白的含量;采用$H_2O_2$敏感性试验和细胞表面疏水性(cell surface hydrophobicity,CSH)实验测定MBIC浓度的PG处理对8株Ab的$H_2O_2$敏感性和Ab表面疏水性影响;采用转录组测序(RNA sequencing,RNA-Seq)分析1/2最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration,MIC)的PG作用Ab标准株后差异表达的基因。**结果** 7株Ab临床株中6株为多重耐药菌株;PG对8株Ab的MIC为64~128 μg/mL;PG对8株Ab生物膜形成的抑制浓度为0.1~1.0 μg/mL(抑制率>50%);PG与替加环素联用对7株Ab主要发挥相加作用,分数抑制浓度指数(fractional inhibitory concentration index,FICI)指数为0.5~1.0;经PG处理后,8株Ab胞外多糖含量的中位数由28.77 μg/mL降至14.90 μg/mL($P<0.05$),8株Ab胞外蛋白生成量的中位数由0.192降至0.164($P<0.05$),8株Ab表面疏水性从(41.31±6.51)%下降至(31.61±7.18)%($P<0.05$),8株Ab在$H_2O_2$条件下的存活细菌数由$6.7\times10^6$ CFU/mL降至$1.5\times10^4$ CFU/mL($P<0.05$)。转录组测序分析结果显示,与阴性对照组相比,实验组有1 342个差异表达基因($|Log_2FC|>1$,$P<0.05$),其中737个显著下调,605个显著上调,差异基因主要富集在氨基酸代谢、肽聚糖合成以及能量代谢等通路,与生物膜形成相关的多个基因显著下调。**结论** PG具有抑制Ab生长及抗生物膜活性,其机制是通过干扰氨基酸代谢、肽聚糖合成及能量代谢通路,下调生物膜相关基因表达,从而抑制胞外多糖和胞外蛋白的生成,降低细菌生存抗性,最终阻碍生物膜形成。

[关键词] 鲍曼不动杆菌;灵菌红素;生物膜;抗菌药物;转录组

[中图法分类号] R378.7;R966;R978.19 [文献标志码] A

[基金项目] 高致病性病原微生物重庆市重点实验室开放课题(2025ZDSYS004)

[通信作者] 肖 虹,E-mail:100120@cqmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2026,陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

**引用格式**:肖雨,李迎丽,白群华,等.灵菌红素通过干扰代谢通路及下调生物膜相关基因抑制鲍曼不动杆菌生物膜形成[J].陆军军医大学学报,2026,48(10):1383-1395.DOI:10.16016/j.2097-0927.202601020.

**Citation**:XIAO Y,LI Y L,BAI Q H,*et al*.Prodigiosin inhibits *Acinetobacter baumannii* biofilm formation by disrupting metabolic pathways and downregulating biofilm-associated genes[J].J Army Med Univ,2026,48(10):1383-1395.DOI:10.16016/j.2097-0927.202601020.

# Prodigiosin inhibits *Acinetobacter baumannii* biofilm formation by disrupting metabolic pathways and downregulating biofilm-associated genes

XIAO Yu[1], LI Yingli[1,2], BAI Qunhua[1,2], DUAN Gang[2,3], LI Zhifeng[2,3], XIAO Hong[1,2] [1]School of Public Health, Chongqing Medical University, Chongqing; [2]Chongqing Key Laboratory of Highly Pathogenic Microorganisms, Chongqing; [3]Chongqing Research Center for Disease Prevention and Public Health, Chongqing Center for Disease Control and Prevention(Chongqing Academy of Preventive Medical Sciences), Chongqing, China

[**Abstract**] Objective *Acinetobacter baumannii* (Ab), a common opportunistic pathogen, forms biofilms that enhance antibiotic resistance and environmental tolerance, posing challenges for clinical treatment. Prodigiosin (PG), a natural red pigment with broad-spectrum antimicrobial activity, has unclear mechanisms against Ab and its biofilms. This study investigated PG (derived from *Serratia marcescens* CM01) for its antibacterial/antibiofilm effects on Ab and explored its molecular mechanisms through phenotypic and whole-genome transcriptomic analyses. Methods Seven clinical Ab strains and one reference strain were studied. Antimicrobial susceptibility was assessed by disk diffusion; PG's minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined *via* microbroth dilution; antibiofilm activity (0.1 to 3.0 μg/mL PG) was quantified by crystal violet staining; synergistic effects of tigecycline were evaluated via checkerboard assay. Under minimum biofilm inhibitory concentration (MBIC), PG's impact on extracellular polymeric substances (EPS) was measured using phenol-sulfuric acid (exopolysaccharides) and bicinchoninic acid (extracellular proteins) assays. Hydrogen peroxide ($H_2O_2$) sensitivity and cell surface hydrophobicity (CSH) were assessed post-MBIC PG treatment. RNA sequencing (RNA-Seq) analyzed differentially expressed genes (DEGs) in Ab reference strain exposed to 1/2 MIC PG. Results Six of seven clinical *Ab* strains exhibited multidrug resistance. Prodigiosin (PG) demonstrated minimum inhibitory concentrations (MICs) of 64 to 128 μg/mL against all eight strains. Biofilm formation was inhibited at PG concentrations of 0.1 to 1.0 μg/mL (inhibition rate >50%). Synergy testing with tigecycline yielded fractional inhibitory concentration indices (FICI) of 0.5 to 1.0, indicating additive effects. PG treatment at minimum biofilm inhibitory concentration (MBIC) significantly reduced exopolysaccharide content (from 28.77 μg/mL to 14.90 μg/mL; $P<0.05$), extracellular protein production (from 0.192 to 0.164; $P<0.05$), and cell surface hydrophobicity [from (41.31±6.51)% to (31.61±7.18), $P<0.05$]. Bacterial survival under hydrogen peroxide stress decreased from $6.7\times10^6$ CFU/mL to $1.5\times10^4$ CFU/mL ($P<0.05$). RNA sequencing revealed 1 342 differentially expressed genes ($|Log_2FC|>1$, $P<0.05$) with 737 downregulated and 605 upregulated, showing significant enrichment in amino acid metabolism, peptidoglycan biosynthesis, and energy metabolism pathways. Key biofilm-associated genes were substantially downregulated. Conclusion PG inhibits Ab growth and biofilm formation by disrupting amino acid, peptidoglycan and energy metabolic pathways, downregulating biofilm-related genes, reducing EPS production, diminishing bacterial stress resistance, and ultimately impeding biofilm development.

[**Key words**] *Acinetobacter baumannii*; prodigiosin; biofilms; anti-bacterial agents; transcriptome

Supported by the Open Project of Chongqing Key Laboratory of Highly Pathogenic Microorganisms (2025ZDSYS004). Corresponding author: XIAO Hong, E-mail: 100120@cqmu.edu.cn

鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*,Ab)是广泛分布于医院环境及自然环境中的条件致病菌,常引起免疫力低下患者的感染,其中以呼吸道感染最为常见。因其对消毒剂及恶劣环境的高耐受性,Ab已成为医院获得性感染的主要病原菌之一[1]。2023年中国细菌耐药监测网数据显示,Ab的临床分离率在革兰阴性菌中仅次于大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌[2]。Ab具有较强的生物膜形成能力,生物膜由胞外多糖、胞外DNA、胞外蛋白等组成,可为内部细菌提供物理和化学屏障,维持生物膜内细菌代谢[3]。生物膜不仅帮助

Ab在恶劣的环境中存活,还易在医疗植入器械和生物界面上形成感染定植,从而促进Ab耐药性的传播[4]。近几年多重耐药Ab的感染率一直呈持续上升趋势,生物膜形成是重要的耐药机制之一[5],可通过多种复杂的机制赋予Ab对抗生素的耐受性[6],因此亟须开发针对生物膜的治疗措施。

灵菌红素(prodigiosin,PG)是一种由3个吡咯环构成的天然红色色素[7],具有广谱的生物活性,尤其在抗菌、抗癌及抗感染等方面表现突出[8],说明PG可能是一种具有潜在治疗作用的天然活性物质。JARDAK等[9]从沙雷氏菌(*Serratia* sp. C6LB)中提取纯化PG,发现在亚抑菌浓度中,PG对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、铜绿假单胞菌等多种常见生物膜形成菌株均表现出高效抑制作用,抑制率达60%~80%。本课题组前期自黏质沙雷菌CM01分离纯化得到PG,并证实可有效抑制金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的生物膜[10-11]。然而PG对Ab及其生物膜的具体作用机制尚未得到系统地阐明。因此,本研究以黏膜质沙雷菌CM01来源的PG为研究对象,系统探究其对Ab的抑菌及抗生物膜作用,并揭示其潜在分子机制,旨在为开发针对Ab感染的新型抗生物膜策略提供实验依据与理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 试剂与仪器 本研究采用的主要试剂与仪器有:灵菌红素标准品(海源叶生物科技有限公司),灵菌红素(重庆医科大学环境暴露与人群健康实验室保存,提取方法参考课题组前期研究[10]),BCA蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司),乙酸乙酯(上海麦克林生化科技有限公司),结晶紫染剂(上海生工生物工程股份有限公司),二甲苯、浓硫酸、盐酸、氯化钠(重庆川东化工有限公司),乙酸(北京谨明生物科技有限公司),Simply P总RNA提取试剂盒(杭州博日科技股份有限公司),TB Green® Primer Ex *Taq*™ Ⅱ、PrimerScript™ RT Master Mix(日本TaKaRa生物股份有限公司),苯酚(上海麦克林生化科技有限公司),SIGMA 1-14离心机(德国西格玛实验室离心机有限公司),orvall ST16RS高速冷冻离心机(美国赛默飞世尔科技公司),HZQ-X100恒温震荡培养箱(苏州培英实验设备有限公司),SPX生化培养箱(上海龙跃仪器设备有限公司),UV-1750紫外可见分光光度计(日本岛津公司),Varioskan Lux多功能微孔板读数仪(美国赛默飞世尔科技公司),PE28pH计(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.1.2 细菌菌株和复苏条件 Ab标准菌株CICC10980由中国工业微生物菌种保藏管理中心赠予,Ab临床菌株7株(编号Ab1~Ab7)由重庆市疾病预防与控制中心赠予,质控菌株铜绿假单胞菌ATCC27853、金黄色葡萄球菌ATCC25923由重庆医科大学环境暴露与人群健康实验室保存。Ab保存于-80 ℃冰箱,试验前在LB培养基上37 ℃培养24 h复苏。

### 1.2 方法

1.2.1 7株Ab临床株的药敏实验 采用K-B纸片扩散法测定7株Ab临床株的耐药情况。取纯菌落配制成0.5麦氏浊度的菌液,用无菌棉签蘸取菌液,挤出多余水分后均匀涂布于穆勒-欣顿(Mueller-Hinton,M-H)培养基上,在固体培养基上分别贴上哌拉西林、替卡西林/克拉维酸、头孢他啶、美罗培南、多黏菌素B、环丙沙星、庆大霉素、阿米卡星、复方新诺明的标准药敏纸片。将贴好药敏纸片的平皿在15 min内放入培养箱,孵育20~24 h后观察结果。结果参照美国临床与实验室标准协会(clinical and laboratory standards institute,CLSI)发布的抗菌药物敏感性试验执行标准M100-S32[12],根据抑菌环直径的数值判断Ab临床菌株对上述9种抗生素的药敏表型:敏感(sensitive)、中介(intermediary)、耐药(resistant)或非敏感(non-sensitive)。金黄色葡萄球菌ATCC25923用于质量控制。

1.2.2 微量肉汤稀释法测定PG对Ab的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration,MIC)和最小杀菌浓度(minimum bactericidal concentration,MBC) 根据CLSI M100-S32测定PG对CICC10980和7株临床株的最低抑菌浓度和最小杀菌浓度。菌株经溶菌肉汤(lysogeny broth,LB)培养后,用M-H肉汤稀释到$5\times10^6$ CFU/mL。在96孔板中,每孔加入10 μL稀释后菌液和90 μL用M-H肉汤稀释的PG,直至PG终浓度为1、2、4、8、16、32、64、128和256 μg/mL。以10 μL菌液与90 μL含酸性乙醇(pH=3.0)的M-H肉汤混合物为阴性对照,以M-H肉汤(100 μL)为空白对照,以铜绿假单胞菌标准菌株ATCC27853为测试菌株,以美罗培南为阳性药物对照,同步测定美罗培南对该菌株的MIC值,以验证实验系统可靠性。37 ℃孵育20~24 h,以孔中培养液澄清、无细菌生长的最低药物浓度判定为MIC。在MIC测定完成后,吸取PG浓度≥MIC各孔中的混匀培养液100 μL,均匀涂布于M-H琼脂平板,继续培养24 h,以平板上无菌落生长的最低浓度判定为MBC。

1.2.3 结晶紫染色法检测PG对Ab的最小生物膜抑制浓度(minimum biofilm inhibitory concentration,MBIC) Ab的最小生物膜抑制浓度采用结晶紫染色法测定。菌株经LB活化培养后,用含1.5%葡萄糖的LB稀释至$5\times10^6$ CFU/mL。在24孔板中,每孔加入100 μL稀释后菌液和900 μL用含1.5%葡萄糖的LB肉汤稀释的PG,直至PG终浓度为0.10、0.25、0.50、0.75、1.00和3.00 μg/mL,以100 μL菌液加900 μL含酸性乙醇的LB肉汤为阴性对照,以LB肉汤(1 mL)为空白对照。37 ℃孵育24 h弃去培养液,PBS洗孔2次,室温干燥30 min,每孔加入1 mL 0.1%结晶紫溶液,室温染色10 min后弃去染液,用无菌水冲洗至无色,加入30%乙酸溶解生物膜,于595 nm下测定生物膜吸光度[*OD*(595)]值。在相同的条件下检测替加环素(tigecycline,TGC)对CICC10980的MBIC值。MBIC为能够抑制50%生物膜形成的最低药物浓度[13],根据公式计算各PG浓度下的生物膜形成抑制率:抑制率=[1−$OD(595)_{处理组}/OD(595)_{阴性对照组}$]×100%,以抑制率达到50%时对应的最低PG浓度为$MBIC_{50}$,后续实验中所使用的$MBIC_{PG}$,即指浓度为该菌株$MBIC_{50}$值的PG溶液。若低浓度段抑制率已达50%以上,后续浓度无显著增效时,仍以首次达到50%抑制的最低浓度计为$MBIC_{50}$。

同时,为明确转录组测序(RNA sequencing,RNA-Seq)所采用的1/2MIC浓度的PG对Ab生物膜形成的影响,按照上述方法,将PG终浓度调整为各菌株对应的1/2MIC,在相同条件下测定其对生物膜形成的抑制活性。

1.2.4 PG与TGC的棋盘实验 用含1.5%葡萄糖的LB肉汤将对数生长期的菌液浓度(同1.2.2所述,除Ab3因生物膜量过少未纳入)调节至$5\times10^6$ CFU/mL,取稀释后菌液(100 μL)接种于900 μL含PG和TGC的LB肉汤(含1.5%葡萄糖)的24孔板中。两种药物的终浓度均分别为各自MBIC的2、1、1/2、1/4和1/8倍,并以棋盘格法进行两两组合。同时设置阴性对照和空白对照,阴性对照为菌液与PG等体积的酸性乙醇溶剂,空白对照为LB肉汤。37 ℃下孵育24 h检测各组合的MBIC值。根据公式(FICI=组合中药物A的MBIC/单独药物A的MBIC+组合中药物B的MBIC/单独药物B的MBIC)计算分数抑制浓度指数(fractional inhibitory concentration index,FICI)。FICI判读标准:FICI≤0.5时,判定为协同作用;0.5<FICI≤1.0时,判定为相加作用;1.0<FICI≤4.0时,判定为无关作用;FICI>4.0时,判定为拮抗作用。

1.2.5 细菌生物膜胞外聚合物测定 参考孙家兴等[14]的方法提取Ab生物膜胞外聚合物。实验组每孔加入200 μL稀释后菌液(同1.2.3所述)和1 800 μL含1.5%葡萄糖的LB稀释的PG溶液(PG终浓度为MBIC),阴性对照组为200 μL菌液与1 800 μL含酸性乙醇的LB。37 ℃培养24 h后弃去培养液,无菌蒸馏水洗涤生物膜2次,每孔加入1 mL无菌蒸馏水,超声溶解生物膜。溶解液于80 ℃水浴30 min后,以10 625 ×*g*离心20 min收集上清液。采用苯酚-硫酸法[15]测定上清液中胞外多糖的含量;采用二喹啉甲酸法测定胞外蛋白,以样品在562 nm波长下的*OD*(562)表示蛋白质的相对含量。

1.2.6 细菌表面疏水性测定 参考马蓝[16]的方法,采用细胞表面疏水性(cell surface hydrophobicity,CSH)实验测定细菌对疏水表面的黏附能力。Ab实验组和阴性对照组的培养方法同1.2.4所述。培养后的菌液于4 ℃、10 625 ×*g*离心10 min收集菌体沉淀,PBS缓冲液重悬,600 nm下测定实验组和阴性对照组的初始*OD*(600)(记为*OD*1)。取1 mL菌液与1 mL二甲苯混合,涡旋振荡3 min,静置15 min待其充分分层,测定下层水相的*OD*(600)(记为*OD*2)。根据公式计算CSH:CSH=(1−*OD*2/*OD*1)×100%。

1.2.7 细菌对$H_2O_2$敏感性测定 参考VIJAYAKUMAR等[17]的方法,通过Ab在$H_2O_2$条件下的生存率评价其氧化应激能力。Ab菌液实验组和阴性对照组的培养方法同1.2.4所述。培养后的菌液于4 ℃、10 625 ×*g*离心10 min收集菌体沉淀,PBS缓冲液重悬菌体。向菌悬液中加入终浓度为1 mmol/L的$H_2O_2$,37 ℃孵育1 h后将实验组与阴性对照组的菌悬液调整至相同浓度并10倍梯度稀释。取50 μL各稀释度的菌液涂布于LB琼脂平板,37 ℃孵育24 h后人工计数菌落数。

1.2.8 RNA-seq分析 CICC10980经3次纯化后,接种于LB肉汤,于37 ℃、180 r/min振荡培养至对数期,此时实验组加入终浓度为1/2MIC(32 μg/mL)的PG溶液,阴性对照组加入PG等体积酸性乙醇。体系继续于37 ℃、180 r/min培养8 h后经4 ℃、10 625×*g*离心10 min收集菌体,并委托上海美吉生物医药科技有限公司进行转录组测序。测序文库采用TruSeq™ Stranded Total RNA Library Prep Kit制备。对原始下机数据进行包括碱基质量、错误率及分布等质控分析,获得高质量质控后读段(Clean Reads)并比对至参考

基因组,得到基因组比对读段(Mapped Reads)用于后续分析。基因表达水平采用FPKM法进行定量,并基于|$Log_2FC$|>1,且$P$<0.05的标准,利用DESeq软件筛选差异表达基因(differentially expressed Genes,DEGs)。对获得的DEGs进行GO富集分析与KEGG富集分析,并进一步筛选出与Ab生物膜形成密切相关的基因。

1.2.9 RT-qPCR实验验证生物膜相关差异基因的表达 利用RT-qPCR验证6个与生物膜形成相关基因的表达情况,差异基因的引物信息见表1。按照1.2.8所述方法收集菌体,参照细菌总RNA提取试剂盒说明书进行总RNA的提取,并使用NanoPhotometer® N50检测RNA样品的纯度与浓度,使用PrimeScript™ RT Master Mix试剂盒配制反转录反应体系合成cDNA,PCR扩增反应总体系10 μL:cDNA模板1.0 μL、TB Green® Primer Ex *Taq*™ Ⅱ 5 μL、DEPC水3.6 μL、正、反向引物各0.2 μL。反应条件:95 ℃预变性3 min,95 ℃变性10 s,57 ℃退火30 s,共进行39个循环。以*16S rRNA*为内参基因归一化各检测基因的循环阈值(Ct),采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法定量相对表达量,结果以差异基因的$Log_2FC$倍数变化表示,并与转录组测序结果进行对比。

1.3 统计学分析

计量资料以$\bar{x}\pm s$或$M(P_{25},P_{75})$表示,计数资料以例数表示。实验数据采用GraphPad Prism 9.5软件进行统计学分析。所有计量数据先进行Shapiro-Wilk正态性检验与方差齐性检验;符合正态分布且方差齐性的资料,两组间比较采用独立样本$t$检验,多组间比较采用单因素方差分析;不符合正态分布或方差不齐的资料,选用非参数检验进行组间比较。以$P$<0.05为差异具有统计学意义。

**表1 引物序列**

**Table 1 Primer sequences**

| Genes | Sequences(5'→3') |
|---|---|
| *ata* | Forward: TCGATAGCGTGAATGTCGGG |
| | Reverse: AATTGGCCTTTGTTCACCGC |
| *pgaA* | Forward: TGACCAGCGTTATGGGATCG |
| | Reverse: CTTGCCCACCATCCGTACTT |
| *bfmS* | Forward: AAGTGTTAGTGCTGGGTCCG |
| | Reverse: CGGATTTTGCGCTCTAACGG |
| *katE* | Forward: CAAGTGAAATGGCTGGTGCC |
| | Reverse: GCATGCACAATACGCTCAGG |
| *csuE* | Forward: GATTGTGGGAATCGGGGTGT |
| | Reverse: TCAAGCTTGGAAGCAAACGC |
| *bfmR* | Forward: ACCGATGGTAACCGTGCAAT |
| | Reverse: TCTGCACCCATTTCCAGACC |
| *16S rRNA* | Forward: CAGCTCGTGTCGTGAGATGT |
| | Reverse: CGTAAGGGCCATGATGACTT |

## 2 结果

2.1 Ab临床菌株的耐药性分析

根据CLSI的M100-S32测定和判读7株Ab对8类9种常用抗生素的耐药表型。7株Ab临床菌株中的6株为多重耐药菌株,其中5株对β-内酰胺类和碳青霉烯类等6类共计7种抗生素耐药,1株(Ab4)对7类共计8种抗生素耐药;全部7株都对多黏菌素B敏感,1株(Ab5)对全部8类9种抗生素敏感(表2)。提示本研究纳入的Ab临床菌株普遍呈现多重耐药特征,可为后续抗菌药物选择及机制研究提供菌株背景依据。

2.2 PG对Ab的MIC和MBC测定结果

采用微量肉汤稀释法测定PG对CICC10980及7株临床株的MIC与MBC。结果显示,PG对CICC10980的

**表2 7株Ab临床株的耐药性分析**

**Table 2 Antimicrobial resistance analysis of 7 clinical Ab isolates**

| Strain | PIP (Penicillins) | TIC-CLA (β-lactams) | CAZ (Cephalosporins) | MEM (Carbapenems) | POL (Lipopeptides) | CIP (Fluoroquinolones) | GEN (Aminoglycosides) | AMK (Aminoglycosides) | SXT (Folate inhibitors) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ab1 | + | + | + | + | − | + | + | + | − |
| Ab2 | + | + | + | + | − | + | + | + | − |
| Ab3 | + | + | + | + | − | + | + | + | − |
| Ab4 | + | + | + | + | − | + | + | + | + |
| Ab5 | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| Ab6 | + | + | + | + | − | + | + | + | − |
| Ab7 | + | + | + | + | − | + | + | + | − |

PIP: piperacillin; TIC-CLA: ticarcillin-clavulanic acid; CAZ: ceftazidime; MEM: meropenem; POL: polymyxin; CIP: ciprofloxacin; GEN: gentamicin; AMK: amikacin; SXT: trimethoprim-sulfamethoxazole. +: resistance; −: susceptibility

MIC为64 μg/mL,MBC为128 μg/mL。其中4株Ab临床菌株(Ab2、Ab3、Ab5、Ab7)的MIC和MBC与CICC10980一致,另3株(Ab1、Ab4、Ab6)则表现出更高的MIC和MBC:Ab1的MIC为64 μg/mL,MBC为256 μg/mL;Ab6的MIC为128 μg/mL,MBC为128 μg/mL;特别是表2中耐药谱最多的Ab4,其MIC和MBC分别为128 μg/mL和>256 μg/mL。提示PG对受试Ab均具有抑菌与杀菌活性,且对多重耐药程度更高的菌株表现出相对更高的MIC与MBC,整体仍具备良好的抗菌潜力。

### 2.3 PG显著抑制Ab生物膜的形成

采用结晶紫染色法测定PG与TGC对CICC10980及临床菌株的$MBIC_{50}$。当TGC浓度为6.00~9.00 μg/mL时,对CICC10980生物膜的形成有抑制作用,其$MBIC_{50}$为6 μg/mL($P$<0.05,图1A)。当PG浓度为0.10~3.00 μg/mL时,对CICC10980的生物膜形成均有抑制,其$MBIC_{50}$为0.25 μg/mL($P$<0.05,图1B)。与TGC相比,要达到相同的抑制生物膜形成效果,PG的浓度仅为TGC的1/24。PG对Ab临床菌株的$MBIC_{50}$为0.1~1.0 μg/mL,其中Ab1和Ab2的$MBIC_{50}$为0.5 μg/mL(图1C、D),Ab3和Ab5的$MBIC_{50}$为0.1 μg/mL(图1E、G),而Ab4、Ab6和Ab7的$MBIC_{50}$为1.0 μg/mL(图1F、H、I)。综上,PG对Ab生物膜形成具有高效的抑制作用,且其$MBIC_{50}$有效浓度显著低于TGC。

采用结晶紫染色法检测转录组测序所用1/2MIC浓度的PG对Ab生物膜形成的影响。在1/2MIC浓度下,PG对CICC10980及7株临床菌株的生物膜形成均表现出显著抑制作用($P$<0.05,图2)。综上,在远高于$MBIC_{50}$的1/2MIC浓度下,PG仍可有效抑制Ab生物膜的形成。

### 2.4 PG与TGC联用对Ab生物膜发挥相加作用

采用棋盘稀释法测定PG与TGC联合应用对Ab的FICI。在7株菌中,5株(CICC10980、Ab2、Ab4、Ab5、Ab7)的FICI介于0.5~1.0,表现为相加作用;Ab6的FICI为0.375,表现出协同效应;仅1株(Ab1)的FICI为1.125,略高于1,未观察到协同或相加效应(表3)。总体而言,除Ab1外,其余6株菌在PG与TGC联合作用下,生物膜抑制效果优于单独用药,且联合用药时PG与TGC的浓度较单独使用时显著降低。

### 2.5 PG抑制Ab胞外聚合物的生成

采用苯酚-硫酸法和二喹啉甲酸法,分别测定$MBIC_{PG}$处理后Ab胞外多糖和胞外蛋白的含量。经$MBIC_{PG}$处理后,Ab胞外多糖总体显著下降,8株Ab胞外多糖含量的中位数由28.77 μg/mL降至14.90 μg/mL,差异具有统计学意义($P$<0.05),其中CICC10980和4株Ab临床菌株(Ab1、Ab4、Ab5、Ab7)的胞外多糖含量显著减少($P$<0.05,图3A)。$MBIC_{PG}$处理后Ab胞外蛋白含量显著减少,8株Ab胞外蛋白含量的中位数由0.192下降至0.164,差异具有统计学意义($P$<0.05),其中CICC10980和4株Ab临床菌株(Ab1、Ab5、Ab6、Ab7)的胞外蛋白含量显著减少($P$<0.05,图3B)。提示MBIC浓度的PG可抑制Ab胞外聚合物(胞外多糖和胞外蛋白)的产生。

### 2.6 PG降低Ab表面疏水性

为探究PG抑制Ab生物膜的机制,在MBIC浓度下测定了PG对Ab疏水性的影响。经$MBIC_{PG}$处理后,Ab表面疏水性总体显著下降,CSH从(41.31±6.51)%下降至(31.61±7.18)%,差异具有统计学意义($P$<0.05)。其中CICC10980和5株Ab临床株(除Ab1和Ab2外)的表面疏水性均显著下降($P$<0.05,图4)。提示MBIC浓度的PG可降低Ab表面疏水性。

### 2.7 PG显著提高Ab的$H_2O_2$敏感性

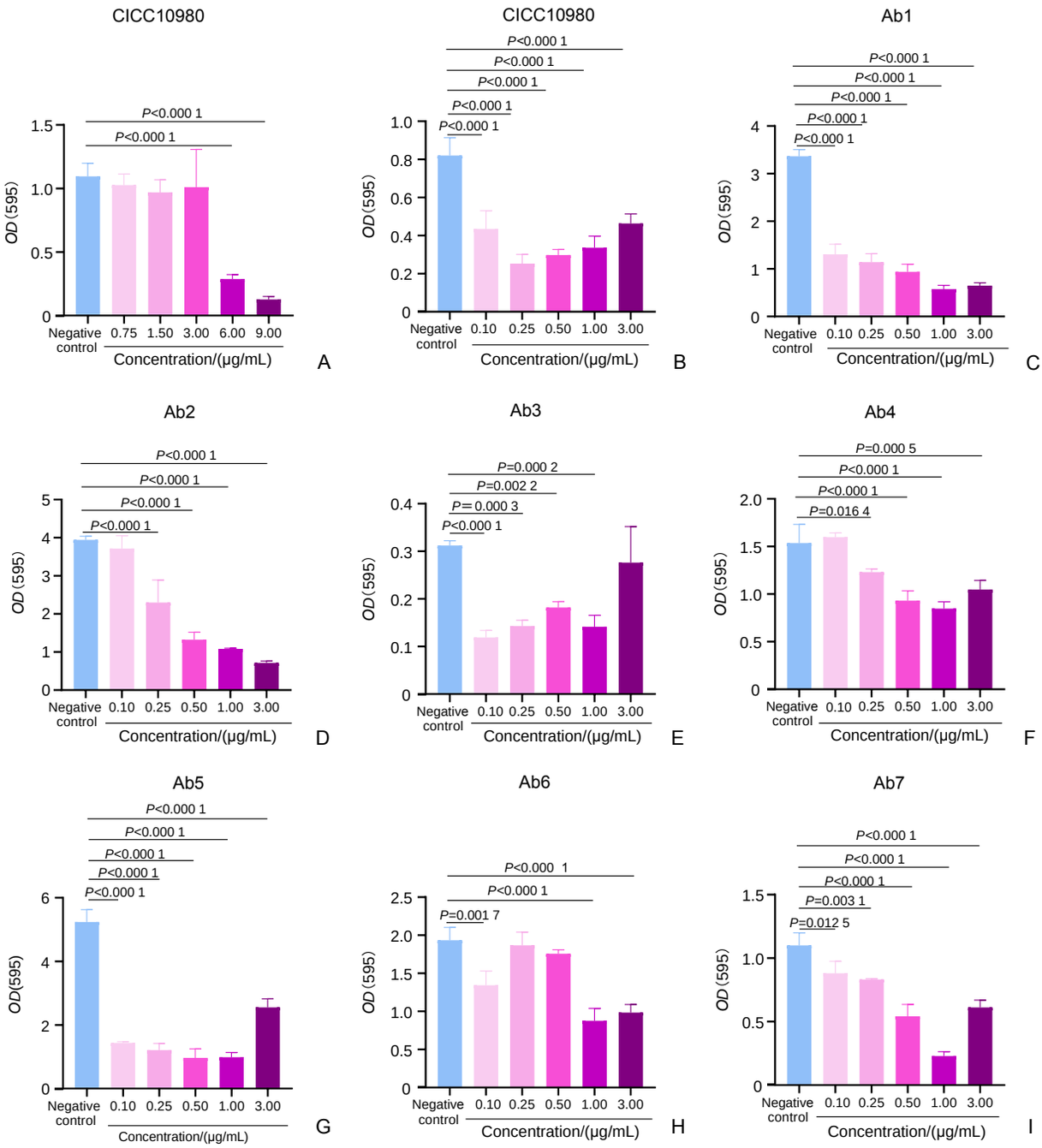
采用菌落计数法测定在$MBIC_{PG}$预处理下,Ab经$H_2O_2$作用后的存活菌落数,探究PG对Ab $H_2O_2$敏感性的影响。结果显示:与阴性对照组相比,经$MBIC_{PG}$处理后,Ab的存活细菌数总体水平显著降低,中位数从$6.7\times10^6$ CFU/mL下降至$1.5\times10^4$ CFU/mL,差异具有统计学意义($P$<0.05,表4)。提示MBIC浓度的PG处理使Ab的$H_2O_2$敏感性均显著增强。

### 2.8 PG调控Ab生物膜相关基因的差异表达

以$|Log_2FC|>1$,且$P$<0.05为标准筛选得到1 342个DEGs,其中737个显著下调,605个显著上调,下调基因略多于上调基因(图5A)。生物过程层面,DEGs显著富集于核糖磷酸、核苷酸、IMP以及碳水化合物衍生物的生物合成与代谢过程($P$ adjust均<0.05);细胞组分层面,DEGs富集于核糖体($P$ adjust<0.05)、核糖体亚基以及无膜细胞器等结构;分子功能层面,离子结合、酶活性以及RNA结合等条目虽呈现富集趋势,但差异无统计学意义(图5B)。综上,DEGs的GO富集结果提示PG可能通过干扰细菌的核糖磷酸的合成,进而影响CICC10980核苷酸及核酸的合成,最终阻碍细菌的生长和生物膜形成。

### 2.9 PG干扰Ab的代谢通路

为探究PG处理后差异基因的通路分布,对PG处理后的DEGs进行KEGG富集分析,结果显示,经PG处理,CICC10980的DEGs主要富集在丙酸代谢(propanoate metabolism)、苯丙氨酸代谢(phenylalanine metabolism)、缬氨酸、亮氨酸与异亮氨酸降解(valine,




A: Biofilm formation of CICC10980 treated with TGC; B to I: Biofilm formation of strain CICC10980 (B) and clinical isolates Ab1~Ab7 (C~I) treated with PG

**图1 PG和TGC对Ab生物膜形成的抑制作用**

**Figure 1 Inhibitory effects of PG and TGC on biofilm formation in Ab**

leucine and isoleucine degradation)、核糖体(ribosome)以及肽聚糖生物合成(peptidoglycan biosynthesis)等通路(图6)。提示PG抑菌作用可能与它干扰CICC10980的核心代谢过程有关,PG处理可能影响了细菌的细胞壁、氨基酸稳态及蛋白质合成等通路,这些通路的紊乱共同导致了细菌生长被抑制。

### 2.10 PG处理对生物膜形成相关基因表达的影响

通过转录组数据分析筛选获得6个与生物膜形成相关的显著DEGs($P$ adjust<0.05),结果显示:PG能显著下调黏附蛋白相关基因(*ata*、*csuE*)、多糖外排孔蛋白基因(*pgaA*)以及过氧化氢酶基因(*katE*)的表达量,而对bfm双组分系统相关基因(*bfmS*、*bfmR*)具有上调

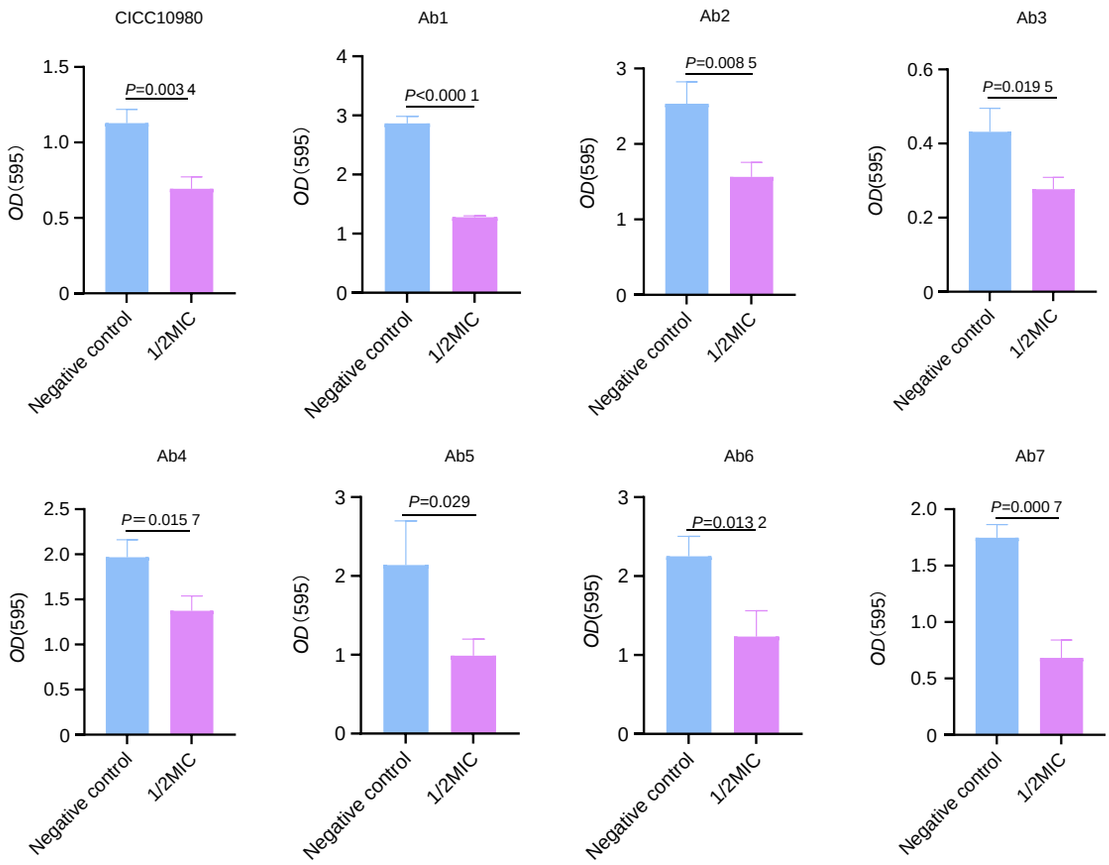



**图2 1/2MIC浓度PG对Ab生物膜形成的抑制作用**

**Figure 2 Inhibitory effects of prodigiosin at 1/2MIC concentration on Ab biofilm formation**

**表3 棋盘实验中PG和TGC对Ab生物膜的联合作用**

**Table 3 Interaction between PG and TGC against Ab biofilms in checkerboard assay**

| Strain | MBIC/(μg/mL) | | | FICI |
|---|---|---|---|---|
| | PG | TGC | Combination | |
| CICC10980 | 0.25 | 6.00 | 0.125 + 0.750 | 0.625 |
| Ab1 | 0.50 | 1.50 | 0.063 + 1.500 | 1.125 |
| Ab2 | 0.50 | 3.00 | 0.063 + 1.500 | 0.625 |
| Ab4 | 1.00 | 4.00 | 0.125 + 2.000 | 0.625 |
| Ab5 | 0.10 | 0.25 | 0.050 + 0.063 | 0.750 |
| Ab6 | 1.00 | 8.00 | 0.250 + 1.000 | 0.375 |
| Ab7 | 1.00 | 2.00 | 0.500 + 0.500 | 0.750 |

作用(表5)。提示PG可通过调控生物膜合成、胞外基质代谢及氧化应激相关基因的表达,参与调控Ab生物膜的形成过程。

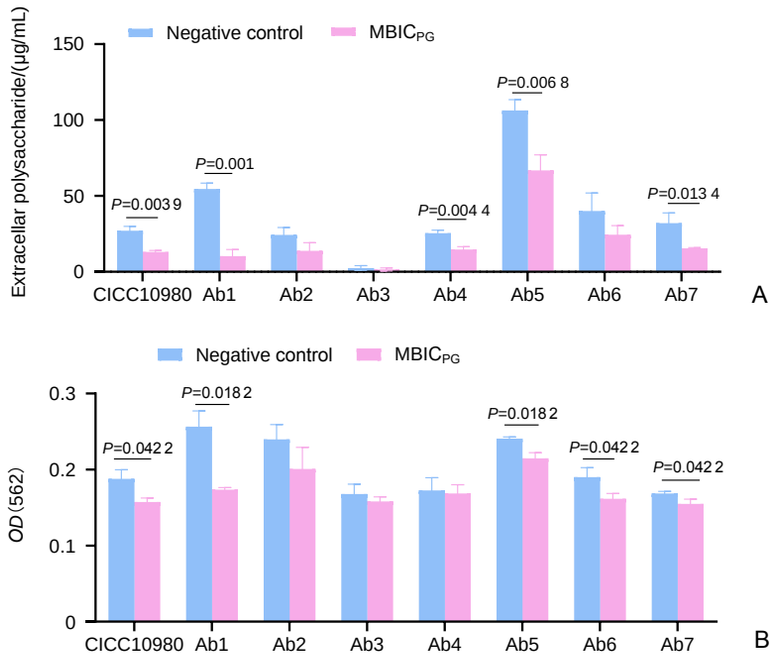
### 2.11 RT-qPCR验证PG对生物膜相关基因的调控作用

采用RT-qPCR技术,对转录组筛选出的6个生物膜形成相关DEGs进行验证。结果显示*bfmR*与*bfmS*在两种方法中均表现为表达上调,*katE*、*ata*、*csuE*及*pgaA*在两种检测方法中均表现为显著下调(图7)。提示RT-qPCR验证结果与转录组测序数据高度吻合,证实了本研究转录组测序数据的可靠性。

## 3 讨论

### 3.1 PG具有抑菌活性及抗生物膜活性

随着抗生素耐药性问题日益严峻,开发新型抗菌药物已成为应对耐药菌感染的关键策略。PG作为一种天然活性物质,因广谱生物活性而备受关注[18]。研究表明,PG对包括金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌在内的多种致病菌有显著抑制作用[19-20],但其确切的抑菌机制尚未完全阐明。本研究发现,64 μg/mL的PG可抑制部分多重耐药Ab的生长,当PG浓度为0.1~3.0 μg/mL,可显著抑制Ab生物膜的形成,且抑制生物膜的有效浓度远低于抑菌浓度,提示PG可能通过干扰生物膜形成发挥抑菌作用,是一种潜在的抗生物膜剂。该结果与谭新凤[21]关于PG抑制金黄色葡萄球菌及其生物膜的报道一致,共同支持了PG的抗




A: Extracellular polysaccharide content of Ab reference strain CICC10980 and clinical isolates Ab1 to Ab7 in the negative control and MBIC$_{PG}$ groups; B: Extracellular protein production of Ab reference strain CICC10980 and clinical isolates Ab1 to Ab7 in the negative control and MBICPG group

**图3　PG对Ab胞外聚合物生成的抑制作用**

**Figure 3　PG inhibits the production of extracellular polymeric substances in Ab**

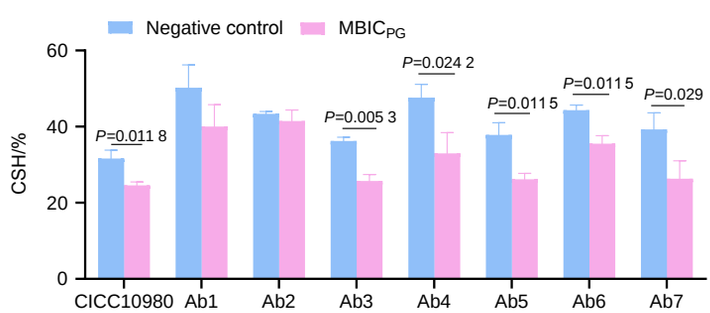



**图4　PG对Ab表面疏水性的降低作用**

**Figure 4　Reduction of Ab surface hydrophobicity by PG**

生物膜活性。本研究中PG对CICC10980及部分临床株的生物膜抑制作用并未呈现典型的浓度依赖性,在0.1~3.0 μg/mL内,低浓度即表现出较强的抑制效果,但抑制率不随浓度升高而增加,即使浓度升至32 μg/mL其抑制效果也未显著增强。类似现象在其他研究中也有报道[22-23],其可能原因:①高浓度PG发生自聚集遮蔽了活性位点;②低浓度PG对Ab作用靶点的调控已接近饱和,提高浓度无法增强抑制效果,反而可能因药物分子聚集、非特异性结合等因素导致抑制率回升。

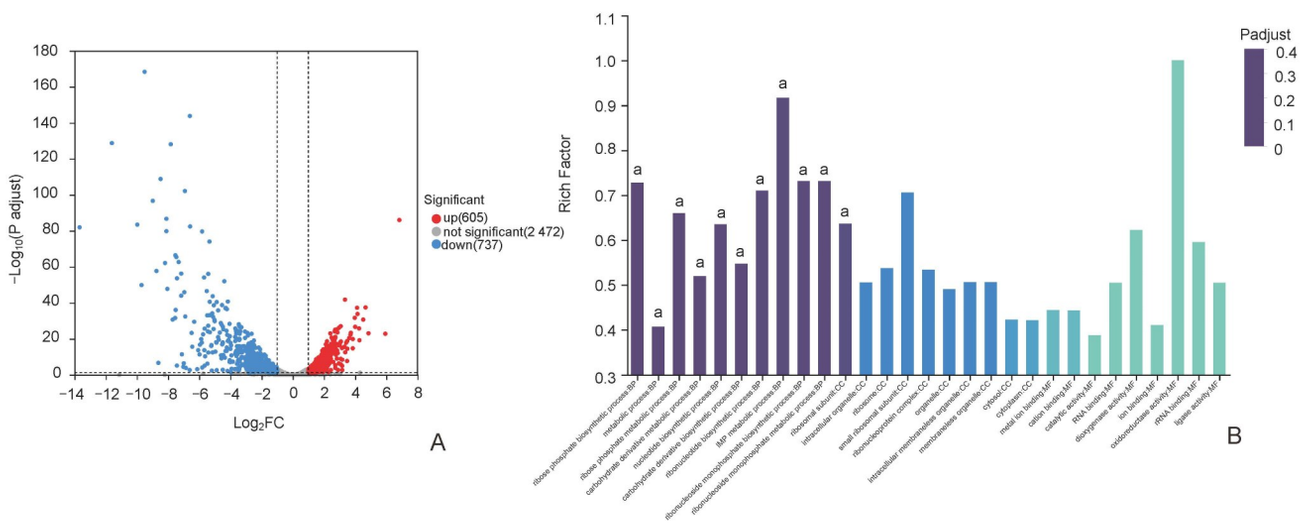
### 3.2　PG通过下调*csuE/ata/pgaA*抑制胞外基质合成

胞外多糖和胞外蛋白参与细菌生物膜的形成,并维持生物膜定植及结构完整性[24]。为探究PG的抗细菌生物膜机制,本研究检测了其对生物膜基质成分的影响。结果显示,经PG处理后Ab的胞外多糖与胞外蛋白含量均显著减少,表明PG具有破坏Ab生物膜基质的作用。这一表型变化可能与黏附蛋白相关基因(*csuE*、*ata*)及多糖转运基因(*pgaA*)的下调有关。*csuE*和*ata*是Ab胞外蛋白的核心编码基因,影响胞外蛋白的分泌与黏附活性,抑制其表达可减少胞外蛋白的合

表4　PG提高Ab的$H_2O_2$敏感性

**Table 4　PG enhances the sensitivity of Ab to $H_2O_2$**

| Strain | Viable bacterial count/(CFU/mL) | | *P* |
|---|---|---|---|
| | Negative control | $MBIC_{PG}$ | |
| CICCC10980 | $4.30\times10^7\pm0.22\times10^7$ | $2.16\times10^4\pm0.23\times10^4$ | <0.0001 |
| Ab1 | $8.67\times10^6\pm1.53\times10^6$ | $3.51\times10^4\pm0.59\times10^4$ | <0.0001 |
| Ab2 | $5.33\times10^6\pm1.01\times10^6$ | $9.40\times10^3\pm1.25\times10^3$ | <0.0001 |
| Ab3 | $4.55\times10^7\pm0.48\times10^7$ | $3.30\times10^7\pm0.34\times10^7$ | 0.021 |
| Ab4 | $2.13\times10^6\pm1.50\times10^7$ | $1.42\times10^5\pm0.28\times10^5$ | <0.0001 |
| Ab5 | $1.21\times10^7\pm0.35\times10^7$ | 0 | <0.0001 |
| Ab6 | $2.77\times10^6\pm0.17\times10^6$ | 0 | <0.0001 |
| Ab7 | $1.49\times10^6\pm0.13\times10^6$ | 0 | <0.0001 |




A: Volcano plot of differential expression levels; B: GO enrichment analysis results of differentially expressed genes in CICC10980. a: $P<0.05$

图5　PG干预后CICC10980差异表达基因分布特征

**Figure 5　Distribution characteristics of differentially expressed genes in CICC10980 after PG intervention**

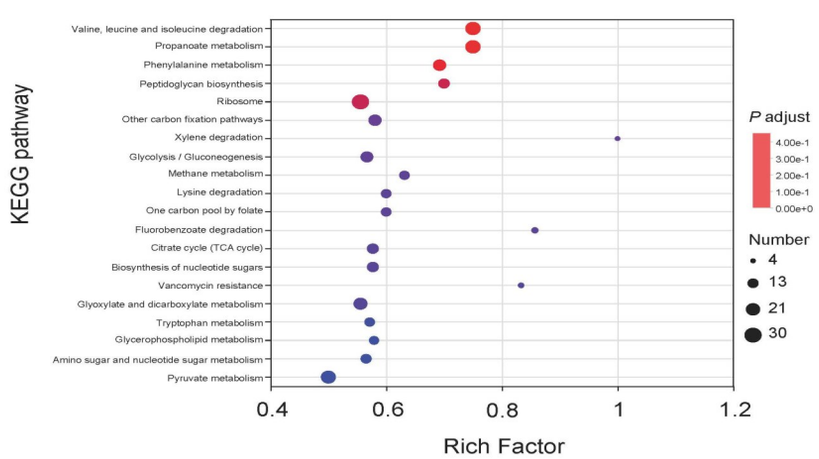



图6　PG干预后CICC10980差异表达基因的KEGG通路富集分析

**Figure 6　KEGG pathway enrichment analysis of differentially expressed genes in CICC10980 after PG intervention**

表5 PG处理后与生物膜形成有关的显著差异基因

Table 5 Significantly differentially expressed genes related to biofilm formation after PG treatment

| Functional description | Gene ID | Gene name | $Log_2FC$(PG/control) | *P* adjust | Regulation |
|---|---|---|---|---|---|
| Trimeric autotransporter adhesin | FQU82_RS05495 | *ata* | −1.36 | 0.000 3 | down |
| Csu pilus tip adhesin | FQU82_RS12905 | *csuE* | −2.83 | <0.000 1 | down |
| PNAG polysaccharide efflux pore protein | FQU82_RS12580 | *pgaA* | −1.04 | 0.025 3 | down |
| Catalase (CAT) family | FQU82_RS08520 | *katE* | −2.18 | <0.000 1 | down |
| Two-component system histidine kinase | FQU82_RS03905 | *bfmS* | 1.04 | 0.000 3 | up |
| Two-component system response regulator | FQU82_RS03900 | *bfmR* | 1.28 | 0.000 7 | up |

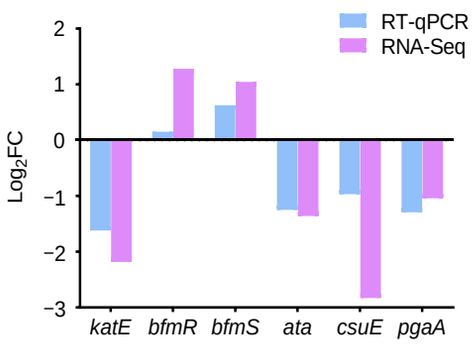



图7 RT-qPCR验证结果

Figure 7 RT-qPCR validation results

成与分泌[25];*pgaA*参与胞外多糖外排,其表达水平与胞外多糖含量呈正相关,是抗生物膜的关键靶点[26]。因此,PG可能通过下调*csuE*、*ata*以及*pgaA*的表达,导致胞外多糖和胞外蛋白合成分泌受阻,从而抑制Ab生物膜的形成。与槲皮素类似,PG也能抑制胞外基质形成,但槲皮素通过下调*SarA*,促进胞外蛋白酶与核酸酶释放,降解已形成的胞外基质[27]。而覆盆子酮则通过破坏卷曲菌毛与纤维素的合成,干扰鼠伤寒沙门氏菌生物膜结构组装与运动性[28],这提示PG与其他天然化合物的作用机制存在差异。

### 3.3 PG下调*katE*增强Ab对$H_2O_2$的敏感性

此外,本研究发现PG能够显著增强Ab对$H_2O_2$的敏感性,这与过氧化氢酶基因*katE*显著下调的机制一致。*KatE*是细菌抵抗氧化应激的关键酶,尤其在生物膜环境中保护菌体免受活性氧攻击[29]。提示PG可能通过抑制*katE*的表达,削弱生物膜的抗氧化屏障,使生物膜更易被清除。该结果与VIJAYAKUMAR等[17]的研究结论一致,该研究发现5-羟甲基糠醛通过下调*katE*减弱Ab的氧化应激耐受能力。

### 3.4 基于转录组揭示PG多通路协同抑菌与抗生物膜机制

为进一步系统解析PG作用机制,本研究通过转录组测序结合KEGG和GO富集分析,探究了1/2MIC浓度的PG处理下Ab差异表达基因的通路分布。结果显示,差异基因显著富集于丙酸代谢、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸降解以及肽聚糖生物合成等通路。缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸是合成蛋白质的必需底物[30],肽聚糖是细菌细胞壁的核心结构组分[31]。这些通路提示PG可能通过限制氨基酸的供应以及破坏细胞壁完整性,协同导致细菌生理功能受阻、抗性下降,从而产生抑菌活性。此外,PG处理后差异基因也在羧酸代谢、单糖代谢及蛋白质磷酸化修饰等通路中显著富集。胞外多糖和胞外蛋白的合成依赖于单糖代谢和磷酸化等过程[32-33],PG对这些通路的影响说明其既具有直接抑菌作用,也能干扰生物膜的合成。

本研究也存在一些局限性,一方面是研究仅在体外水平验证了PG的作用效果,未开展体内感染模型实验验证其抗Ab感染活性;另一方面是转录组学分析仅初步揭示了差异通路,未进一步验证关键基因的功能。在未来研究中可通过动物感染模型验证PG的体内抗菌效果,并结合基因敲除、蛋白互作分析等技术进一步研究PG的具体作用靶点与调控通路,为PG的临床应用提供更全面的实验数据。

综上所述,PG具有良好的抑菌和抗生物膜活性,可能通过多靶点协同发挥抗生物膜作用,使Ab生物膜结构易被破坏和清除,显示出良好的应用潜力。本研究为其进一步开发为靶向生物膜的新型抗菌药物提供了理论依据。

**利益冲突** 本文所有作者声明不存在利益冲突

**参考文献:**

[1] 马晨, 韩丹, 张祎, 等. 鲍曼不动杆菌临床分布及耐药性变迁分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18(9): 1079-1082, 1087. DOI:10.13350/j.cjpb.230916.
MA C, HAN D, ZHANG Y, *et al*. Analysis of clinical distribution and drug resistance changes of *Acinetobacter baumannii* [J]. Chin J Pathog Biol, 2023, 18(9): 1079-1082, 1087. DOI:10.13350/j.cjpb.230916.

[2] 郭燕，胡付品，朱德妹，等. 2023年CHINET中国细菌耐药监测[J]. 中国感染与化疗杂志，2024，24(6)：627-637. DOI:10.16718/j.1009-7708.2024.06.001.
GUO Y，HU F P，ZHU D M. *et al*. Antimicrobial resistance profile of clinical isolates in hospitals across China：report from the CHINET Antimicrobial Resistance Surveillance Program，2023[J]. Chin J Infect Chemother，2024，24(6)：627-637. DOI:10.16718/j.1009-7708.2024.06.001.

[3] 王以琴，李杰，陈伶利. 鲍曼不动杆菌生物被膜形成与耐药机制研究进展[J]. 中国病原生物学杂志，2024，19(8)：985-989. DOI:10.13350/j.cjpb.240825.
WANG Y Q，LI J，CHEN L L. Research progress on biofilm formation and drug resistance mechanism of *Acinetobacter baumannii*[J]. Chin J Pathog Biol，2024，19(8)：985-989. DOI:10.13350/j.cjpb.240825.

[4] ASSEFA M，AMARE A. Biofilm-associated multi-drug resistance in hospital-acquired infections：a review[J]. Infect Drug Resist，2022，15：5061-5068. DOI：10.2147/IDR.S379502.

[5] 胡维，刘科，朱毅，等. 鲍曼不动杆菌生物被膜防治进展[J]. 中国抗生素杂志，2023，48(2)：144-151. DOI:10.13461/j.cnki.cja.007458.
HU W，LIU K，ZHU Y，*et al*. Advances in the prevention and treatment of *Acinetobacter baumannii* biofilms[J]. Chin J Antibiot，2023，48(2)：144-151. DOI:10.13461/j.cnki.cja.007458.

[6] 张杰，张伟鹏. 鲍曼不动杆菌耐药机制及其研究方法[J]. 中国抗生素杂志，2026，51(2)：171-183. DOI:10.13461/j.cnki.cja.007980.
ZHANG J，ZHANG W P. Drug resistance mechanisms of *Acinetobacter baumannii* and corresponding research methodology[J]. Chin J Antibiot，2026，51(2)：171-183. DOI:10.13461/j.cnki.cja.007980.

[7] VAZE N，DEMOKRITOU P. Using engineered water nanostructures（EWNS）for wound disinfection：Case study of *Acinetobacter baumannii* inactivation on skin and the inhibition of biofilm formation[J]. Nanomedicine，2022，42：102537. DOI:10.1016/j.nano.2022.102537.

[8] YIP C H，YARKONI O，AJIOKA J，*et al*. Recent advancements in high-level synthesis of the promising clinical drug，prodigiosin[J]. Appl Microbiol Biotechnol，2019，103(4)：1667-1680. DOI:10.1007/s00253-018-09611-z.

[9] JARDAK M，ATOISSI A，MSALBI D，*et al*. Antibacterial，antibiofilm and cytotoxic properties of prodigiosin produced by a newly isolated *Serratia* sp. C6LB from a milk collection center[J]. Microb Pathog，2022，164：105449. DOI:10.1016/j.micpath.2022.105449.

[10] YAN J，YIN Q，NIE H，*et al*. Prodigiosin as an antibiofilm agent against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. Biofouling，2023，39(4)：444-458. DOI:10.1080/08927014.2023.2226613.

[11] MA Z W，XIAO H，LI H L，*et al*. Prodigiosin as an antibiofilm agent against the bacterial biofilm-associated infection of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Pathogens，2024，13(2)：145. DOI:10.3390/pathogens13020145.

[12] Performance standards for antimicrobial susceptibility testing-32nd edition：CLSI M100-Ed32[S]. Clinical And Laboratory Standards Institute.

[13] 云莉，倪雅丽. 茴香醛对变异链球菌的抗菌活性和抗生物被膜活性[J]. 热带生物学报，2022，13(6)：614-621. DOI:10.15886/j.cnki.rdswxb.2022.06.011.
YUN L，NI Y L. Antimicrobial and antibiofilm activity of p-methoxybezaldehyde against *Streptococcus mutans*[J]. J Trop Biol，2022，13(6)：614-621. DOI:10.15886/j.cnki.rdswxb.2022.06.011.

[14] 孙家兴，李秋莹，崔方超，等. 没食子酸和咖啡酸对腐败希瓦氏菌生物被膜形成及致腐性的协同抑制作用[J]. 中国食品学报，2025，25(4)：61-71. DOI:10.16429/j.1009-7848.2025.04.007.
SUN J X，LI Q Y，CUI F C，*et al*. Synergistic inhibition of Gallic acid and caffeic acid on the biofilm formation and spoilage ability of *Shewanella putrefaciens*[J]. J Chin Inst Food Sci Technol，2025，25(4)：61-71. DOI:10.16429/j.1009-7848.2025.04.007.

[15] ISMAIL M M，HASSAN M，MOAWAD S S，*et al*. Exploring the antivirulence activity of pulverulentone A，a phloroglucinol-derivative from *Callistemon* citrinus leaf extract，against multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Antibiotics，2021，10(8)：907. DOI:10.3390/antibiotics10080907.

[16] 马蓝. 干酪乳杆菌NA-2胞外多糖抑制大肠杆菌O157：H7生物膜形成的机制研究[D]. 北京：中国农业科学院，2022.
MA L. Study on the mechanism of exopolysaccharide from *Lactobacillus casei* NA-2 inhibiting the formation of biofilm in *Escherichia* coli O157：H7[D]. Beijing：Chinese Academy of Agricultural Sciences，2022.

[17] VIJAYAKUMAR K，THIRUNANASAMBANDHAM R. 5-Hydroxymethylfurfural inhibits *Acinetobacter baumannii* biofilms：an *in vitro* study[J]. Arch Microbiol，2021，203(2)：673-682. DOI:10.1007/s00203-020-02061-0.

[18] LIN S R，CHEN Y H，TSENG F J，*et al*. The production and bioactivity of prodigiosin：quo vadis?[J]. Drug Discov Today，2020，25(5)：828-836. DOI：10.1016/j.drudis.2020.03.017.

[19] LAPENDA J C，SILVA P A，VICALVI M C，*et al*.

Antimicrobial activity of prodigiosin isolated from *Serratia marcescens* UFPEDA 398[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2015, 31(2): 399-406. DOI:10.1007/s11274-014-1793-y.

[20] HERRÁEZ R, MUR A, MERLOS A, *et al*. Using prodigiosin against some gram-positive and gram-negative bacteria and *Trypanosoma cruzi*[J]. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis, 2019, 25: e20190001. DOI: 10.1590/1678-9199-JVATITD-2019-0001.

[21] 谭新凤. 粘质沙雷氏菌次级代谢产物灵菌红素抑菌活性研究[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2023.
TAN X F. Study on the antibacterial activity of prodigiosin, a secondary metabolite of *Serratia marcescens*[D]. Jinan: Qilu University of Technology, 2023.

[22] ZAI Y, XI X P, YE Z M, *et al*. Aggregation and its influence on the bioactivities of a novel antimicrobial peptide, temporin-PF, and its analogues[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(9): 4509. DOI:10.3390/ijms22094509.

[23] HWANG H J, LI D D, LEE J, *et al*. Compounds that have an anti-biofilm effect against common bacteria at very low concentrations and their antibiotic combination effect[J]. Antibiotics, 2023, 12(5): 853. DOI: 10.3390/antibiotics 12050853.

[24] KOVACH K, DAVIS-FIELDS M, IRIE Y, *et al*. Evolutionary adaptations of biofilms infecting cystic fibrosis lungs promote mechanical toughness by adjusting polysaccharide production[J]. NPJ Biofilms Microbiomes, 2017, 3: 1. DOI:10.1038/s41522-016-0007-9.

[25] SMITRAN A, LUKOVIC B, BOZIC L, *et al*. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: biofilm-associated genes, biofilm-eradication potential of disinfectants, and biofilm-inhibitory effects of selenium nanoparticles[J]. Microorganisms, 2023, 11(1): 171. DOI: 10.3390/microorganisms11010171.

[26] CHOI A H K, SLAMTI L, AVCI F Y, *et al*. The pgaABCD locus of *Acinetobacter baumannii* encodes the production of poly-beta-1-6-N-acetylglucosamine, which is critical for biofilm formation[J]. J Bacteriol, 2009, 191(19): 5953-5963. DOI:10.1128/JB.00647-09.

[27] KASHI M, NOEI M, CHEGINI Z, *et al*. Natural compounds in the fight against *Staphylococcus aureus* biofilms: a review of antibiofilm strategies[J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1491363. DOI:10.3389/fphar. 2024. 1491363.

[28] RAYAN M, ABU LAFI S, FALAH M, *et al*. Alkyl gallates as potential antibiofilm agents: a review[J]. Molecules, 2023, 28(4): 1751. DOI:10.3390/molecules28041751.

[29] VATANSEVER F, DE MELO W C M A, AVCI P, *et al*. Antimicrobial strategies centered around reactive oxygen species: bactericidal antibiotics, photodynamic therapy, and beyond[J]. FEMS Microbiol Rev, 2013, 37(6): 955-989. DOI:10.1111/1574-6976.12026.

[30] DUTTA S, CORSI I D, BIER N, *et al*. BrnQ-type branched-chain amino acid transporters influence *Bacillus anthracis* growth and virulence[J]. mBio, 2022, 13(1): e03640-e03621. DOI:10.1128/mbio.03640-21.

[31] VOLLMER W, BLANOT D, DE PEDRO M A. Peptidoglycan structure and architecture[J]. FEMS Microbiol Rev, 2008, 32(2): 149-167. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2007.00094.x.

[32] FAN Y Z, SHI J K, SONG X, *et al*. Engineering UDP-sugar synthesis pathways for exopolysaccharide biosynthesis in *Streptococcus thermophilus* AR333[J]. J Sci Food Agric, 2025, 105(8): 4657-4664. DOI:10.1002/jsfa.14206.

[33] ZHANG W P, SUN J, DING W, *et al*. Extracellular matrix-associated proteins form an integral and dynamic system during *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2015, 5: 40. DOI: 10.3389/fcimb.2015.00040.

(**收稿**:2026-01-08;**修回**:2026-03-15)
(编辑 汤锦波)