咖啡酸对铜绿假单胞菌群体感应的抑制及毒力因子降低的研究

于福浩[1,2]，娄在祥[*1,2]，王洪新[1,2]，寇兴然[1,2]
（1. 江南大学 食品学院，江苏 无锡 214122；2. 江南大学 国家功能食品工程技术研究中心，江苏 无锡 214122）

摘要：为了研究咖啡酸对铜绿假单胞菌群体感应及毒力因子和信号分子的抑制作用。采用紫色色杆菌定性定量法判断咖啡酸对群体感应的抑制效果，采用国际标准方法测定其对毒力因子和生物膜的抑制作用，采用 UPLC-MS 分析其对群体感应信号分子产量的影响。结果表明，咖啡酸在亚抑菌质量浓度下能显著抑制紫色杆菌素的产量，这揭示了咖啡酸的抑群体感应活性。而且，咖啡酸对铜绿假单胞菌的游动能力、生物膜和毒力因子（绿脓菌素和鼠李糖脂）均有显著的抑制作用。当咖啡酸质量浓度为 0.4 mg/mL 时，对铜绿假单胞菌生物膜、绿脓菌素和鼠李糖脂的抑制率分别为 65.3%、66.4%和 31.8%；对信号分子 C4-HSL、C6-HSL、C8-HSL 和 3-oxo-C12-HSL 的抑制率也分别达到了 59.6%、49.2%、53.9% 和 52.2%。这些发现表明，咖啡酸有潜能成为有效的群体感应抑制剂，其抑制机制可能是干扰信号分子 AHLs 的合成以干扰群体感应，同时抑制生物膜和毒力因子的表达，降低细菌毒力。

关键词：咖啡酸；群体感应；信号分子；生物膜；毒力因子
中图分类号：Q 939.92　**文章编号**：1673-1689(2019)06-0056-08　**DOI**：10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.06.008

Effect of Caffeic Acid on Quorum Sensing and Virulence Factors of *Pseudomonas aeruginosa*

YU Fuhao[1,2]，*LOU Zaixiang*[*1,2]，*WANG Hongxin*[1,2]，*KOU Xingran*[1,2]
（1. School of Food Science and Technology，Jiangnan University，Wuxi 214122，China；2. National Functional Food Engineering Technology Research Center，Jiangnan University，Wuxi 214122，China）

Abstract：The inhibition effects of caffeic acid on quorum sensing （QS），virulence and signal molecules of *Pseudomonas aeruginosa* was studied. The effect on QS was determined using a biosensor bioassay with *C. violaceum*. The effect of caffeic acid on virulence factors and biofilm formation of *P. aeruginosa* was investigated using standard methods. Then，the production of quorum sensing signals was evaluated through UPLC-MS analysis. The results exhibited that caffeic acid significantly inhibited production of violacein in *C. violaceum* at the concentrations below the

收稿日期：2016-11-06
基金项目：国家自然科学基金项目（31201433，31601444）。
* **通信作者**：娄在祥（1983—），男，博士，副教授，硕士研究生导师，主要从事食品功能因子和功能食品研究开发。E-mail：louzaixiang@126.com
引用本文：于福浩，娄在祥，王洪新，等. 咖啡酸对铜绿假单胞菌群体感应的抑制及毒力因子降低的研究[J]. 食品与生物技术学报，2019，38(06)：56-63.

sub-MIC，which revealed anti-QS activity. Moreover，caffeic acid exhibited significant inhibition in swarming motility，biofilm formation and virulence factors （pyocyanin and rhamnolipid） of *P. aeruginosa*. When the concentration of caffeic acid was 0.4 mg/mL，the inhibition rate of biofilm，pyocyanin and rhamnolipid of *P. aeruginosa* was 65.3% ，66.4% and 31.8% ，respectively；the inhibition rate of C4-HSL，C6-HSL，C8-HSL and 3-oxo-C12-HSL was up to 59.6%，49.2% ，53.9% and 52.2%，respectively. These findings indicated that caffeic acid had the potential to be effective inhibitor on QS，biofilm formation and virulence factors of *P. aeruginosa*. The mechanism of the inhibition on QS appeared to be interfering with AHL activity and modulating the synthesis of AHLs.
Keywords：caffeic acid，quorum sensing，signaling molecule，biofilm，virulence

铜绿假单胞菌是临床上一种常见的条件致病菌，它能引起因生物膜和群体感应介导的毒力因子而产生的各种感染，被认为是医院中的第三大致病菌[1]。铜绿假单胞菌也是食物中的普遍致病菌，经常引起食物腐败和食源性疾病。因为抗生素的过度使用，许多铜绿假单胞菌对抗生素已经形成了很高的抗药性。因此，采用非抗生素、安全的天然化合物取代传统的药物，对控制致病菌来说是必要的。

群体感应是一种细胞密度依赖的基因表达现象。细菌依赖于扩散性的信号分子监测周围同种或异种细菌的密度，当信号分子达到一定浓度阈值时可调控特定基因的表达。革兰氏阴性菌的群体感应系统中主要有合成酶蛋白和受体蛋白参与，合成酶蛋白分泌 N-酰基高丝氨酸内酯（AHL）作为自体诱导物，当这种自体诱导物密度积累到阈值时就与转录受体蛋白结合，启动相关基因的转录[2]。作为一个重要的调节系统，群体感应系统调控着一系列细菌的行为，如生物膜形成，毒力因子分泌，免疫逃逸和抗药性的产生[3-5]。研究发现，铜绿假单胞菌的生物膜形成和毒力因子分泌都是由群体感应系统调控的[6]，因此，以群体感应为靶点研发群体感应抑制剂已成为一种新的趋势[7-8]。这种新型群体感应抑制剂不会抑制细菌的生长，在降低细菌致病力的同时不使其产生抗药性，这对细菌耐药性的问题具有极重要的意义[9-11]。

绝大多数传统的群体感应抑制剂（如卤代呋喃酮等）被发现有毒害作用[12-13]。相反，从可食植物中筛选安全、无毒的活性成分作为群体感应抑制剂来干扰群体感应系统已经引起了越来越多的关注。咖啡酸普遍存在于植物中，主要来自柠檬皮、毛茛科植物升麻属根茎、缬草属植物根等。因此，本实验选用广泛存在于植物中的咖啡酸作为群体感应抑制剂，研究其对铜绿假单胞菌群体感应的抑制作用及抑制毒力因子分泌和生物膜形成的能力。

1 材料与方法

1.1 材料

咖啡酸（≥98%），购于西安小草植物科技有限责任公司；铜绿假单胞菌 CMCC（B）10104，购于中国微生物菌种保藏中心（中国，北京）；菌种 *Choromobacterium violaceum*（CV026），购于西班牙典型培养物保藏中心。

1.2 最小抑菌质量浓度 MIC 的测定

采用二倍稀释法测定咖啡酸对紫色色杆菌和铜绿假单胞菌的 MIC。将配置好的 LB 培养液（牛肉膏 10 g，胰蛋白胨 5 g，氯化钠 10 g，水 1 000 mL，调整 pH 为 7.2）分装到各个试管中，每管 1 mL。向第 1 管中加入 1 mL 药物原液，混匀后取出 1 mL 依次加到下一管中，最后一管弃掉 1 mL，形成咖啡酸一系列浓度，最后向试管中加入 10 μL 活化好的菌液。阳性对照不加药物，阴性对照组不加菌液。37 ℃恒温培养 24 h，观察细菌生长情况，以抑制细菌生长所含的最低药物质量浓度为最小抑菌质量浓度 MIC。

1.3 咖啡酸对细菌生长的影响

将紫色色杆菌于 LB 培养液中过夜培养，将已活化好的菌种分别接种于新鲜的 LB 培养液中，加入适量的咖啡酸，使咖啡酸的终质量浓度分别为 0.200、0.100、0.050、0.025 mg/mL，对照组不添加药物。实验组和对照组菌液的起始 OD_{600} 为 0.05，37 ℃振荡培养 24 h，每隔 2 h 分别取样测 OD_{600}。

1.4 对群体感应活性的影响

1.4.1 指示菌平板法定性检测咖啡酸的群体感应

活性　咖啡酸对群体感应的抑制效果用群体感应指示菌 *C. violaceum* 测定,并做适当的修改[8]。将群体感应指示菌 *C. violaceum* 活化后按 2%的接种量(体积分数)接种到新鲜 LB 培养液中,恒温振荡培养至 OD_{600} 为 1.0。LB 琼脂固体培养基融化后待冷却至 50 ℃,将对数期的菌液缓缓加入,轻轻混匀后倒平板。凝固后将 20 μL 浓度为 40 μmol/L 的信号分子 C6-HSL 涂布于平板表面,用滤纸片法检测,每个滤纸片(直径 6 mm)上分别滴加 10 μL 不同质量浓度的咖啡酸,37 ℃培养 24 h,观察纸片周围无色圈的直径。

1.4.2　定量检测咖啡酸的群体感应活性　咖啡酸对紫色杆菌素产量的影响根据已报道的方法测定,并做适当的修改[14-15]。将 100 μL 处于生长对数期的 *C. violaceum* 接种到 4 mL 含有信号分子 C6-HSL 的新鲜 LB 培养液中,同时添加不同质量浓度的咖啡酸,对照组不添加咖啡酸。37 ℃恒温振荡培养 24 h 后,取 1 mL 于离心管中,13 000 r/min 离心 10 min,弃掉上清液,沉淀加入 500 μL DMSO 使紫色杆菌素溶解出来,再在 13 000 r/min 的转速下离心 10 min,上清液中则含有紫色杆菌素,取上清液测其 OD_{585}。

1.5　对群体感应调控的生物膜的影响

1.5.1　结晶紫染色法测定咖啡酸对生物膜抑制作用的影响　将铜绿假单胞菌于 LB 培养液中过夜培养。取 50 μL 菌液接于含 1 mL LB 培养液的 24 孔板中,同时加入不同浓度的咖啡酸,使其终质量浓度为 0.4,0.2,0.1,0.05 mg/mL,对照组不添加药物,37 ℃恒温静置培养 36 h。培养完吸出孔中液体,每孔加入 1 mL 的无菌 PBS 缓冲液清洗板孔 3 次,待干燥后每孔加 1 mL 1 g/dL 的结晶紫染色 5 min,吸出结晶紫染液,用流水洗掉多余染料,静置干燥完全,之后每孔加 1 mL 95%的乙醇,37 ℃烘箱中作用 30 min 以溶解结晶紫,570 nm 处测其吸光值[5,16]。

1.5.2　激光共聚焦显微镜观察生物膜　将铜绿假单胞菌于 LB 培养液中过夜培养。按取 500 μL 菌液接入 10 mL 新鲜 LB 培养液中,加入不同质量浓度的咖啡酸,使其终质量浓度为 0.40、0.20、0.10、0.05 mg/mL,同时将灭过菌的盖玻片作为粘附载体放入培养皿中,对照组不添加药物,37 ℃恒温静置培养 36 h。培养结束后将盖玻片从培养皿中取出,用去离子水轻轻洗涤,除去表面的游离细菌,将盖玻片放入已配好的染色剂(SYTO9 和 PI)中避光染色 30 min,后置于激光共聚焦显微镜下观察生物膜的形成情况[17]。

1.6　对群体感应调控的毒力因子产量的影响

将铜绿假单胞菌于 LB 培养液中过夜培养。将活化好的菌种接于新鲜 LB 培养液中,同时加入不同质量浓度的咖啡酸,使其终质量浓度为 0.40、0.20、0.10、0.05 mg/mL,对照组不添加药物(只含培养基和菌液),37 ℃振荡培养 24 h。培养后的菌液经不同处理测其对绿脓菌素和鼠李糖产量的影响。

1.6.1　对绿脓菌素产量的影响　培养后的菌液经离心,取 5 mL 上清液于 15 mL 离心管中,加入 3 mL 氯仿充分振荡以使两者充分混匀,静置后将氯仿层转入干净的 EP 管中,加入 1 mL 0.2 mol/L 的盐酸充分振摇,静置分层后取上层含有绿脓菌素的粉红色有机相测其 OD_{520}[18]。

1.6.2　对鼠李糖脂产量的影响　首先制作出鼠李糖标准曲线。配制鼠李糖标准品的梯度质量浓度溶液:0、50、100、200、300、400、500 μg/mL。取 1 mL 鼠李糖标准品加入到已配好的 0.19 g/dL 的苔黑酚—浓硫酸溶液中,定容至 10 mL。80 ℃下水浴半小时后取出置室温保持 15 min,测其在 421 nm 处的 OD 值,并制作鼠李糖标准曲线,1 mg 鼠李糖相当于 2.5 mg 鼠李糖脂。

培养后的菌液经 6 000 r/min 离心 10 min,除去菌体,过滤后取上清液用浓盐酸调至 pH 为 2,取 1 mL 加入 3 倍体积的乙酸乙酯萃取 2 次,将乙酸乙酯层混匀,旋转蒸发至干,最后加入 1 mL 的去离子水溶解。取 1 mL 按上述步骤测其在 421 nm 处的吸光值[19-21]。

1.6.3　对游动能力的影响　游动能力的测定采用的是双层平板法[22-23]。在平板底层倒入含质量分数 2%琼脂的 LB 琼脂培养基,上层倒入含咖啡酸的质量分数 0.3%琼脂的软琼脂培养基,咖啡酸的终质量浓度为 0.40、0.20、0.10、0.05 mg/mL,对照组不添加药物。在平板的中央接种 2 μL 的已活化好的菌液,37 ℃恒温培养 24 h,观察致病菌形成的浮游圈大小。

1.7　对信号分子的抑制作用

将铜绿假单胞菌于 LB 培养液中过夜培养。将活化好的菌液加到 6 mL 新鲜 LB 液体培养基中,同时加入不同质量浓度的咖啡酸,使其终质量浓度为 0.40、0.20、0.10、0.05 mg/mL,对照组不添加药物(只含培养基和菌液),37 ℃振荡培养 24 h。培养后将培

养液 6 000 r/min 离心 10 min，取上清液用等量含 0.02 mol/L 冰乙酸的乙酸乙酯萃取 3 次，合并有机相。将上述得到的乙酸乙酯提取液在旋蒸仪内旋转蒸干，后用体积分数 50%的甲醇水溶液将其溶解，经 0.22 μm 膜过滤，采用超高效液相–串联质谱定性定量分析群体感应信号分子[24]。

2 结果与分析

2.1 最小抑菌浓度的测定结果

通过试管中细菌的生长情况判断药物对细菌的最小抑菌浓度(MIC)。观察阳性对照组明显浑浊，阴性对照组澄清,所以,未见试管浑浊的最低药物质量浓度即为最小抑菌质量浓度。如表 1 所示,咖啡酸对紫色色杆菌的最小抑菌质量浓度为 0.4 mg/mL,对铜绿假单胞菌的最小抑菌质量浓度为 0.8 mg/mL。

表 1 咖啡酸对细菌的 MIC

Table 1 MIC of caffeic acid on bacteria

质量浓度/(mg/mL)	紫色色杆菌	铜绿假单胞菌
3.2	–	–
1.6	–	–
0.8	–	–
0.4	–	+
0.2	+	+
0.1	+	+
0.05	+	+
0.025	+	+

注:+:浑浊,细菌生长;–:澄清,细菌生长受到抑制

2.2 咖啡酸对细菌生长的影响

为了研究咖啡酸对群体感应的抑制作用及对其调控的毒力因子的产生量的影响,实验应在亚抑菌质量浓度下进行。咖啡酸对紫色色杆菌的 MIC 为 0.4 mg/mL,因此实验采用最小抑菌质量浓度以下的 4 个质量浓度梯度，验证在此质量浓度下对紫色色杆菌的生长是否会产生影响,实验结果如图 1。从图中结果可以看出,在亚抑菌质量浓度下,咖啡酸对紫色色杆菌的生长几乎无明显影响。因此,接下来的实验可在亚抑菌质量浓度下进行。

2.3 咖啡酸的群体感应活性结果

群体感应的定性实验中,滤纸片周围无色圈的大小代表了咖啡酸抑制群体感应能力的强弱。从图 2 可以看出，含咖啡酸的滤纸片周围的紫色素的产量明显低于不加药物的滤纸片,且不影响细菌的生长。当质量浓度为 0.2 mg/mL 时,咖啡酸滤纸片周围无色圈的大小达到了 1.32 cm，表明咖啡酸有抑制紫色色杆菌群体感应的能力。

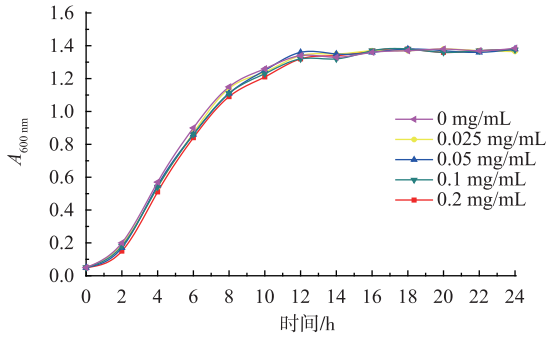


图 1 紫色色杆菌的生长曲线

Fig. 1 Growth curves of C. violaceum

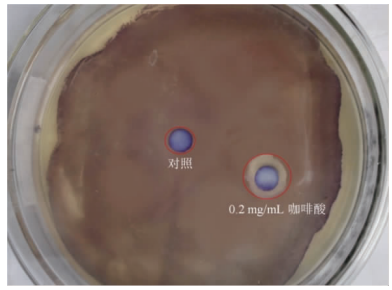
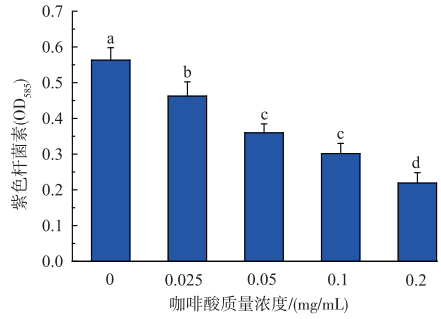


图 2 咖啡酸对紫色色杆菌群体感应的定性实验

Fig. 2 Qualitative QS inhibition assay of caffeic acid

由于紫色色杆菌其紫色素的产生是其群体感应系统调控的,因此检测紫色杆菌素的产量可以确定药物对细菌群体感应的作用。群体感应的定量实验结果如图 3，表明咖啡酸明显的抑制了紫色杆菌其紫色杆菌素的产量，抑制能力呈质量浓度依赖性。随着质量浓度的增大,咖啡酸对紫色杆菌素的抑制率从 17.9%增加到 61.1%，在质量浓度为 0.2 mg/mL 时,抑制率最大为 61.1%。



表中相同字母代表差异不显著(p>0.05),不同字母代表差异显著(p<0.05),下同。

图 3 定量检测咖啡酸对紫色色杆菌群体感应的抑制作用

Fig. 3 Inhibition effect of caffeic acid on violacein production in *C. violaceum* by quantitative assay

2.4 咖啡酸对生物膜的抑制作用结果

细菌生物膜对其产生抗药性具有重要作用。经培养后,24 孔板内壁上形成了一圈薄膜，用结晶紫染色后可通过吸光值的大小反映生物膜的形成量。如图 4 所示,在亚抑菌质量浓度下,随着咖啡酸质量浓度的增加,生物膜的形成量显著减少。且在质量浓度为 0.4 mg/mL 即 1/2 MIC 时，对生物膜的抑制率达到最大,为 65.3%。说明咖啡酸能不同程度的抑制铜绿假单胞菌生物膜的形成。

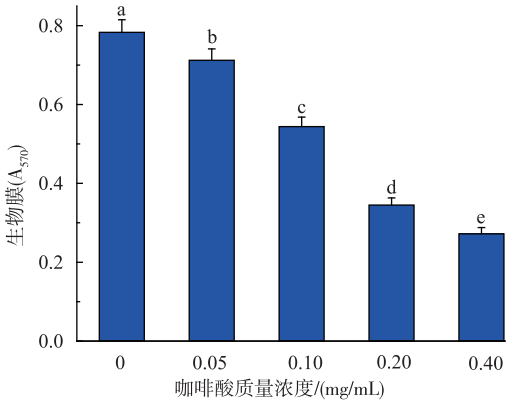


图 4　咖啡酸对铜绿假单胞菌生物膜的影响

Fig. 4　Effect of caffeic acid on biofilm in P.aeruginosa

用激光共聚焦观察铜绿假单胞菌生物膜的形成情况。对比不同质量浓度的咖啡酸对生物膜形成的影响,结果如图 5 所示。加入咖啡酸后铜绿假单胞菌形成生物膜的能力显著降低,且随着咖啡酸质量浓度的增加,抑制效果明显增强。在不添加药物的对照组中，铜绿假单胞菌形成的生物膜很致密,颜色很亮，在添加质量浓度为 0.1 mg/mL 咖啡酸的实验组中,菌体密度变得较疏松,亮度也减弱,在添加质量浓度为 0.4 mg/mL 咖啡酸的实验组中，效果更明显。

铜绿假单胞菌的生物膜无处不在,它是细菌产生抗药性的最重要的原因,生物膜是高度结构化的片状复合物,绝大多数细菌在适宜的条件下都能形成生物膜。生物膜的形成显著增加了膜内细菌对抗生素的耐药性，这对人体健康造成了严重的伤害。Sandasi 等[25]报道出药草、香料和重要药用植物中提取物能减少初始细胞粘附。Zeng 等[26]研究表明黄芩素,另一个天然黄酮醇,是一种能对铜绿假单胞菌生物膜产生剂量依赖性抑制作用的群体感应抑制剂。本实验也得出咖啡酸能不同程度的抑制铜绿假单胞菌生物膜的形成,对抑制细菌耐药性的产生提供了一定的理论依据。

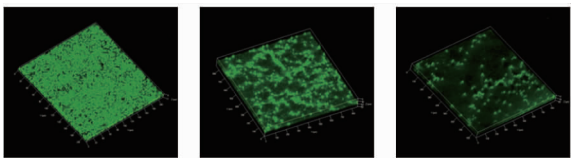


图 5　激光共聚焦观察咖啡酸对铜绿假单胞菌生物膜的抑制作用

Fig. 5　Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM) analysis:the inhibition of caffeic acid on biofilm formation of *P. aeruginosa*

2.5 咖啡酸对毒力因子的抑制作用结果

2.5.1　对绿脓菌素的抑制结果　绿脓菌素是铜绿假单胞菌的重要毒力因子之一,反映菌株的毒力大小，它涉及到正常铁离子的转运及多种细胞的功能,过量的绿脓菌素会导致细胞死亡。咖啡酸对铜绿假单胞菌的绿脓菌素产量的抑制结果如图 6 所示。在亚抑菌质量浓度下,随着咖啡酸质量浓度的增加,绿脓菌素的产量明显减少。咖啡酸在质量浓度为 0.05 mg/mL 即 1/16 MIC 时，对绿脓菌素的抑制率达到了 14.7%;在质量浓度为 0.4 mg/mL 即 1/2 MIC 时,对绿脓菌素的抑制率高达 66.4%,而对铜绿假单胞菌的生长无影响。说明咖啡酸抑制了群体感应调控的绿脓菌素的产生。

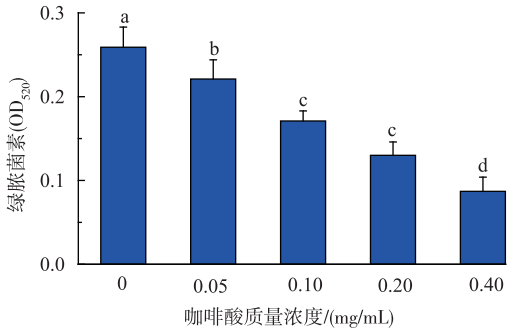


图 6　咖啡酸对铜绿假单胞菌绿脓菌素的影响

Fig. 6　Effect of caffeic acid on pyocyanin in *P.aeruginosa*

2.5.2　对鼠李糖脂的抑制结果　鼠李糖脂作为生物表面活性剂,可以增强细菌间的交流进而增强细菌的致病力,是铜绿假单胞菌群体感应调控的另一毒力因子。经咖啡酸作用的铜绿假单胞菌其鼠李糖脂含量减少。如图 7 所示，当咖啡酸质量浓度为

0.4 mg/mL 时,鼠李糖脂的抑制率可达 31.8%。表明咖啡酸对鼠李糖脂起到了一定的抑制作用。

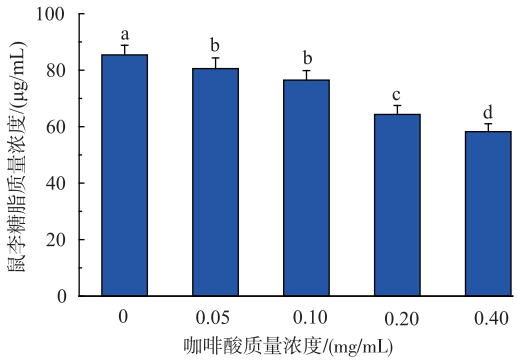


图 7　咖啡酸对铜绿假单胞菌鼠李糖脂的影响

Fig. 7　Effect of caffeic acid on rhamnolipid in *P.aeruginosa*

2.5.3　对游动能力的抑制结果　由鞭毛调节的细菌游动能力和生物膜的形成紧紧相关,生物膜的黏附过程是通过鞭毛运动开始的。由图 8 可以看出,未加药物的对照组，铜绿假单胞菌的游动能力良好,在加入咖啡酸的实验组中,细菌不能充分的扩散开,围绕接种位置形成菌圈,且随着质量浓度的增加,对游动能力的抑制作用增强。药物质量浓度均小于 MIC，因此咖啡酸对细菌的生长无抑制,表明咖啡酸对细菌鞭毛的抑制导致了游动能力的减弱。

2.6　对信号分子的抑制

用 HPLC–MS 对铜绿假单胞菌的信号分子进行分析。在亚抑菌质量浓度下,即咖啡酸质量浓度低于 0.8 mg/mL 时，铜绿假单胞菌的生长几乎不受影响。因此,培养后经 HPLC–MS 检测发现,咖啡酸处理过的铜绿假单胞菌其信号分子的量与对照组相比都有不同程度的降低。且随着咖啡酸质量浓度的增加,信号分子的产量也降低。如图 9 所示,当咖啡酸质量浓度为 0.4 mg/mL 时，对 C4–HSL,C6–HSL,C8 –HSL 和 3 –oxo –C12 –HSL 的抑制率分别为 59.6%,49.2%,53.9%,52.2%。当咖啡酸在质量浓度为 0.05 mg/mL 时，对 C4–HSL 的抑制率也达到了 22.7%。C4–HSL 信号分子调控着绿脓菌素和鼠李糖脂这 2 个毒力因子的产生,由于信号分子降低趋势同毒力因子的降低趋势一致,且信号分子是由信号分子合成酶合成,因此可推测药物通过抑制信号分子合成酶的分泌来抑制细菌毒力因子的产生,从而降低细菌毒力[27]。

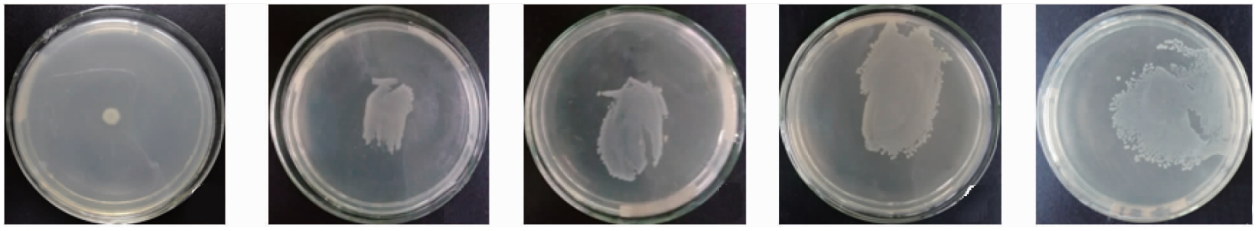


图 8　咖啡酸对铜绿假单胞菌游动能力的抑制作用

Fig. 8　Inhibition effect of caffeic acid on swarming motility of *P. aeruginosa*

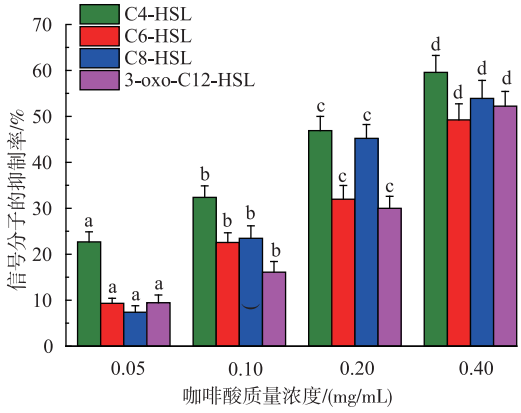


图 9　咖啡酸对铜绿假单胞菌信号分子的抑制作用

Fig. 9　Effect of caffeic acid on AHLs production in *P. aeruginosa*

3　结　语

研究了咖啡酸对铜绿假单胞菌群体感应及其调控的毒力因子和生物膜的抑制作用,发现其能显著抑制生物膜的形成，对毒力因子包括绿脓菌素、鼠李糖脂、游动能力等有显著的作用,也明显地抑制了群体感应信号分子的产量,推测其抑制机制可能是咖啡酸通过抑制信号分子合成酶的活性,进而抑制信号分子的合成。咖啡酸主要来源于植物中,且对群体感应具有良好的抑制效果。因此,咖啡酸作为一种安全、无毒害具有抑制群体感应潜能的天然化合物,在降低细菌致病力及细菌抗药性方面有很强的应用价值。

参考文献:

[1] WAGNER V E, IGLEWSKI B H. *P. aeruginosa* biofilms in CF infection[J]. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, 2008, 35(3): 124-134.

[2] HENTZER M, RIEDEL K, RASMUSSEN T B, et al. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound[J]. **Microbiology**, 2002, 148(1): 87-102.

[3] ANTUNES L C M, FERREIRA R B R, BUCKNER M M C, et al. Quorum sensing in bacterial virulence[J]. **Microbiology**, 2010, 156(8): 2271-2282.

[4] GONZALEZ J E, KESHAVAN N D. Messing with bacterial quorum sensing[J]. **Microbiology & Molecular Biology Reviews**, 2007, 70(4): 859-875.

[5] BUTTNER D, BONAS U. Regulation and secretion of *Xanthomonas* virulence factors[J]. **Fems Microbiology Reviews**, 2010, 34(2): 107-133.

[6] RUTHERFORD S T, BASSLER B L. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control[J]. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, 2012, 2(11): a012427.

[7] WELSH M A, EIBERGEN N R, MOORE J D, et al. Small molecule disruption of quorum sensing cross-regulation in *Pseudomonas aeruginosa* causes major and unexpected alterations to virulence phenotypes[J]. **Journal of the American Chemical Society**, 2015, 137(4): 1510-1519.

[8] TRUCHADO P, GIMENEZ-BASTIDA J A, LARROSA M, et al. Inhibition of quorum sensing (QS) in *Yersinia enterocolitica* by an orange extract rich in glycosylated flavanones[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2012, 60(36): 8885-8894.

[9] GERDT J P, BLACKWELL H E. Competition studies confirm two major barriers that can preclude the spread of resistance to quorum-sensing inhibitors in bacteria[J]. **ACS Chemical Biology**, 2014, 9(10): 2291-2299.

[10] SULLY E K, MALACHOWA N, ELMORE B O, et al. Selective chemical inhibition of agr quorum sensing in *Staphylococcus aureus* promotes host defense with minimal impact on resistance[J]. **PLoS Pathog**, 2014, 10(6): e1004174.

[11] ZHOU L, SLAMTI L, NIELSEN-LEROUX C, et al. The social biology of quorum sensing in a naturalistic host pathogen system [J]. **Current Biology**, 2014, 24(20): 2417-2422.

[12] CHANG C Y, KRISHNAN T, WANG H, et al. Non-antibiotic quorum sensing inhibitors acting against N-acyl homoserine lactone synthase as druggable target[J]. **Scientific Reports**, 2014, 4: 7245.

[13] CHRISTENSEN Q H, GROVE T L, BOOKER S J, et al. A high-throughput screen for quorum-sensing inhibitors that target acyl-homoserine lactone synthases[J]. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 2013, 110(34): 13815-13820.

[14] CHOO J H, RUKAYAKI Y, HWANG J K. Inhibition of bacterial quorum sensing by vanilla extract [J]. **Letters in Applied Microbiology**, 2006, 42(6): 637-641.

[15] TAGANNA J C, QUANICO J P, PERONO R M G, et al. Tanninrich fraction from *Terminalia catappa* inhibits quorum sensing (QS) in chromobacterium violaceum and the QS-controlled biofilm maturation and LasA staphylolytic activity in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. **Journal of ethnopharmacology**, 2011, 134(3): 865-871.

[16] QUAVE C L, PLANO L R W, PANTUSO T, et al. Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. **Journal of Ethnopharmacology**, 2008, 118(3): 418-428.

[17] ABRAHAM S V P I, PALANI A, RAMASWAMY B R, et al. Antiquorum sensing and antibiofilm potential of *Capparis spinosa* [J]. **Archives of Medical Research**, 2011, 42(8): 658-668.

[18] ISHIDA T, IKEDA T, TAKIGUCHI N, et al. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* by N-acyl cyclopentylamides[J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2007, 73(10): 3183-3188.

[19] LAABEI M, JAMIESON W D, LEWIS S E, et al. A new assay for rhamnolipid detection—important virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2014, 98(16): 7199-7209.

[20] KOCH A K, KAPPELI O, FIECHTER A, et al. Hydrocarbon assimilation and biosurfactant production in *Pseudomonas aeruginosa* mutants[J]. **Journal of Bacteriology**, 1991, 173(13): 4212-4219.

[21] PEARSON J P, PESCI E C, IGLEWSKI B H. Roles of *Pseudomonas aeruginosa* las and rhl quorum-sensing systems in control of elastase and rhamnolipid biosynthesis genes[J]. **Journal of Bacteriology**, 1997, 179(18): 5756-5767.

[22] JAHID I K，LEE N Y，KIM A，et al. Influence of glucose concentrations on biofilm formation，motility，exoprotease production，and quorum sensing in *Aeromonas hydrophila*[J]. **Journal of Food Protection**，2013，76(2)：239-247.
[23] RAHMAN M R T，LOU Z，YU F，et al. Anti-quorum sensing and anti-biofilm activity of *Amomum tsaoko* (*Amommum tsao-ko Crevost et Lemarie*) on foodborne pathogens[J]. **Saudi Journal of Biological Science**s，2015.
[24] BUCHHOLTZ C，NIELSEN K F，MILTON D L，et al. Profiling of acylated homoserine lactones of *Vibrio anguillarum* in vitro and in vivo：influence of growth conditions and serotype[J]. **Syst Appl Microbiol**，2006，29(6)：433-445.
[25] SANDASI M，LEONARD C M，VILJOEN A M. The in vitro antibiofilm activity of selected culinary herbs and medicinal plants against *Listeria monocytogenes*[J]. **Letters in Applied Microbiology**，2010，50(1)：30-35.
[26] ZENG Z，QIAN L，CAO L，et al. Virtual screening for novel quorum sensing inhibitors to eradicate biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**，2008，79(1)：119-126.
[27] GUO X，ZHENG L，ZHOU W，et al. A case study on chemical defense based on quorum sensing：antibacterial activity of sponge-associated bacterium *Pseudoalteromonas* sp. NJ6-3-1 induced by quorum sensing mechanisms[J]. **Annals of Microbiology**，2010，61(2)：247-255.

会　议　消　息

会议名称：第九届微生物检测与控制技术交流会

会议时间：2019 年 7 月 18-20 日(17 日下午报到)

会议地点：上海 新桥绿地铂骊酒店

主办单位：中国微生物学会分析微生物专业委员会，中国检验检疫科学研究院农产品安全研究中心，食品伙伴网(烟台富美特信息科技股份有限公司)

会议简介：为提升我国相关企业的微生物检测与控制能力，保障食品质量安全，由中国检科院农产品安全研究中心、中国微生物学会分析微生物专业委员会、食品伙伴网联合主办的 2019“第九届微生物检测与控制技术交流会”，计划于 2019 年 7 月 18 日-20 日在上海 新桥绿地铂骊酒店 举办。

联系人：

张金凤女士　13370917540　邮箱：train03@foodmate.net　QQ：3103849236

李秀明女士　18153529010　邮箱：meeting7@foodmate.net　QQ：2848935414

报名网址：http://ctc.foodmate.net/show-242-15.html