

灵菌红素对肺炎克雷伯菌生物膜的影响及机制研究

黄耀, 李迎丽*

重庆医科大学公共卫生学院, 重庆

收稿日期: 2025年1月20日; 录用日期: 2025年3月3日; 发布日期: 2025年3月12日

摘要

目的: 研究灵菌红素对肺炎克雷伯菌生物膜的影响及其机制, 以期为临床治疗肺炎克雷伯菌提供新的治疗思路。方法: 选择肺炎克雷伯菌NTUH-K2044菌株作为实验菌株, 进行药敏实验、生长曲线测定、生物膜抑制实验以及RT-PCR实验, 分析灵菌红素对肺炎克雷伯菌生长和生物膜的影响及相关机制。结果: 灵菌红素对肺炎克雷伯菌的MIC值为256 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 灵菌红素对肺炎克雷伯菌的MBIC为64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。灵菌红素在12 h内对肺炎克雷伯菌的I型菌毛基因(*fimA*, *fimH*, *fimK*)、III型菌毛基因(*mrkD*, *mrkH*)、荚膜多糖基因*rmpA*和毒力基因*magA*有抑制作用。灵菌红素在24 h时, 对肺炎克雷伯菌生物膜的相关基因(除*fimA*, *rmpA*外)有负向调控作用。结论: 灵菌红素能抑制肺炎克雷伯菌生长和生物膜形成, 其可能的机制是下调肺炎克雷伯菌生物膜的相关基因(*fimA*, *fimH*, *fimK*, *mrkD*, *mrkH*, *rmpA*, *magA*)表达量。

关键词

肺炎克雷伯菌, 灵菌红素, 生物膜

Research on the Impact and Mechanism of Prodigiosin on Biofilm Formation in *Klebsiella pneumoniae*

Yao Huang, Yingli Li*

School of Public Health, Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Jan. 20th, 2025; accepted: Mar. 3rd, 2025; published: Mar. 12th, 2025

*通讯作者。

文章引用: 黄耀, 李迎丽. 灵菌红素对肺炎克雷伯菌生物膜的影响及机制研究[J]. 微生物前沿, 2025, 14(1): 1-8.
DOI: 10.12677/amb.2025.141001

Abstract

Objective: To investigate the effects of prodigiosin on the biofilm of *Klebsiella pneumoniae* and its mechanism, so as to provide a new therapeutic idea for the clinical treatment of *Klebsiella pneumoniae*. **Methods:** The NTUH-K2044 strain of *Klebsiella pneumoniae* was selected as the experimental strain. Antimicrobial susceptibility tests, growth curve determination, biofilm inhibition experiments, and RT-PCR experiments were performed to analyze the effects of prodigiosin on the growth and biofilm of *Klebsiella pneumoniae* and the related mechanisms. **Results:** The MIC value of prodigiosin against *Klebsiella pneumoniae* was 256 µg/ml, and the MBIC was 64 µg/ml. Prodigiosin had inhibitory effects on the type I fimbrial genes (*fimA*, *fimH*, *fimK*), type III fimbrial genes (*mrkD*, *mrkH*), capsular polysaccharide gene *rmpA*, and virulence gene *magA* of *Klebsiella pneumoniae* within 12 hours. At 24 hours, prodigiosin had negative regulatory effects on the biofilm-related genes of *Klebsiella pneumoniae* (except for *fimA* and *rmpA*). **Conclusion:** Prodigiosin can inhibit the growth and biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae*, and its possible mechanism is to downregulate the expression of biofilm-related genes (*fimA*, *fimH*, *fimK*, *mrkD*, *mrkH*, *rmpA*, *magA*) of *Klebsiella pneumoniae*.

Keywords

Klebsiella pneumoniae, Prodigiosin, Biofilm

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KP)是一种肠杆菌科克雷伯菌属革兰阴性杆菌,同时也是一种条件致病菌,常见于环境(如水、土壤等)以及动物黏膜表面。在前抗生素时代,肺炎克雷伯菌是社区获得性肺炎的重要病原体,随着抗生素的出现及广泛应用,它已成为医院获得性感染的主要原因[1]。肺炎克雷伯菌根据其毒力水平可分为经典型肺炎克雷伯菌(classical *K. pneumoniae*, cKP)和高毒力型肺炎克雷伯菌(hypervirulent *K. pneumoniae*, hvKP)。与cKP相比, hvKP菌株通常表现出较强的抗菌特性,导致侵袭性感染如肝脓肿等[2]。本次研究所用的菌株 NTUH-K2044 是高毒力型肺炎克雷伯菌,具有高毒力和高黏性的特征,能够形成生物膜。

生物膜是包裹在胞外聚合物中的复杂微生物群落,它表现出对经典抗生素耐药性的提高并附着在医疗器械或非器械(组织)中造成感染引起疾病,对全球人类健康问题构成威胁[3]。生物膜基质主要由胞外多糖、外源DNA、蛋白质和脂质构成[4]。另外生物膜的形成主要分为附着、粘附、胞外聚合物的分泌、形成菌落生物膜成熟、细菌逃逸分散形成新的生物膜5个阶段[5]。细菌的生物膜一旦形成,它对外界环境中有害因子的抵抗力将大大增强,抑制其生长的抗生素浓度比没有形成生物膜时的状态要高10~1000倍[6][7]。有研究表明细菌的菌毛结构可以介导细菌粘附到外界表面以形成生物膜[8], KP生物膜的形成基础就是I型和III型菌毛介导的粘附作用,编码这些菌毛粘附特性的基因簇为*fim*和*mrk*[9]。I型菌毛主要由结构亚基*fimA*和少量辅助亚基*fimK*等以及甘露糖特异性粘附素*fimH*组成,*fimH*可介导甘露糖敏感性结合靶宿主细胞引起膀胱炎造成尿路感染,而*fimK*则主要表达菌毛尖端的粘附蛋白以此来发挥I型菌毛的粘附作用[10][11]。III型菌毛的结构亚基为*mrkA*,其粘附性主要由*mrkD*和*mrkH*基因来表达

[12]。而且似乎在 KP 生物膜的形成过程中 III 型菌毛基因簇 *mrk* 更为重要, 尤其是 *mrkD*, III 型菌毛的表达能够强烈促进生物膜的形成[13]。除了菌毛在生物膜的形成过程中发挥重要作用外, 细菌的荚膜多糖成分对生物膜的形成也很重要, 调节荚膜多糖表达的 *rmpA* 基因与 KP 的高黏表型有关, *rmpA* 的高表达促使 KP 的荚膜多糖分泌增多从而呈现出高黏表型。毒力因子 *magA* 也是一种 KP 黏液相关基因, 这两个基因的高表达均能显著增加 KP 的黏性使之能更容易附着在物体表面形成生物膜。

灵菌红素(Prodigiosins, PG)是一种粘质沙雷氏菌和其他革兰氏阴性菌的天然次级代谢产物, 通常都有 3 个吡咯环组成的甲氧基吡咯骨架结构, 具有抗癌、抗疟、抗细菌、抗真菌和抗原虫等多种生物学活性[14]。PG 在抗细菌方面有着提取纯化步骤简单和低毒性等优点, 而且有研究证明 PG 对铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、粪肠球菌等致病菌有良好的抗菌活性[15]。同时 PG 对金黄色葡萄球菌还有着良好的抗生物膜作用[16], 但目前 PG 是否能影响 KP 生物膜的形成及其影响的机制尚不清楚。本研究通过测定 PG 对 KP 的最小抑菌浓度(MIC)、最小生物膜抑制浓度(MBIC)、I 型和 III 型菌毛基因以及荚膜多糖基因、毒力基因的表达等, 初步探讨 PG 对 KP 生物膜的影响及其机制, 以期为 PG 抗 KP 生物膜相关感染提供理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 主要仪器与试剂

KP NTUH-K2044 菌株(实验室保存), 灵菌红素(实验室保存), LB 液体、固体培养基, MH 液体培养基, 结晶紫溶液, 5xPrimeScript™RT Master Mix (Takara), TB Green® Premix Ex Taq™ II (Takara), Simply P 总 RNA 提取试剂盒(BioFlux), 生化培养箱(龙跃), PCR 仪(T100™Thermal Cycler, BIO-RAD), 实时荧光 PCR 仪(CFX Connect™, BIO-RAD)。

2.2. 方法

(1) 测定灵菌红素对 KP 的最小抑菌浓度方法参考临床和实验室标准协会 M100-S28。从 24 h 培养的 LB 平板上挑取 3~4 个菌落在生理盐水中制成 0.5 麦氏浊度的菌液, 用 MH 肉汤将菌液稀释 100 倍。用 MH 肉汤将灵菌红素稀释到 2048 ug/ml 备用。在 96 孔板各孔中加入 50 ul 灵菌红素, 然后倍比稀释, 使每孔浓度依次为 1024、512、256、128 ug/ml。各孔加入稀释后的菌液 50 ul, 使每孔溶液的体积都为 100 ul。加入菌液后, 每孔灵菌红素的浓度为 512、256、128、64 ug/ml。阴性对照加入等体积的乙醇溶液, LB 液体培养基为空白对照。37°C 培养 16~20 h, 肉眼观察孔中无细菌生长的药物浓度为 MIC。

(2) 结晶紫染色法测定灵菌红素对 KP 生物膜的最小抑制浓度将 KP 用 LB 液体培养基培养到对数生长期(OD600 约 0.5), 用 LB 液体培养基稀释 100 倍。将稀释后的菌液加入 96 孔板中, 实验组加入终浓度为 1/2 MIC、1/4 MIC、1/8 MIC 的灵菌红素, 对照组加入等体积的无水乙醇(排除溶剂的干扰)。在 37°C 培养 24 h 后, 吸除培养液, 用 PBS 缓缓洗涤 3 次以除去浮游菌, 然后加入 100 ul 甲醇固定 15 min, 吸除后再加入 100 u 10.1% 的结晶紫染色 10 min, 吸除结晶紫并用 PBS 清洗两次除去未与生物膜结合的结晶紫, 最后加入 100 ul 33% 乙酸, 用酶标仪测定在 570 nm 处吸光度。

(3) 生长曲线将培养到对数生长期的菌液稀释后加入蜂窝板中, 并加入灵菌红素, 使每孔灵菌红素的浓度为 1/2 MIC、1/4 MIC、1/8 MIC。阴性对照加入无水乙醇来排除溶剂的影响。最后将蜂窝板放入微生物增长分析仪, 37°C 培养 24 h, 每 2 h 测定一次 OD600。

(4) RT-PCR 检测将细菌培养到对数生长期, 分别在 1 ml 菌液中加入 1/4 MIC 和 1/8 MIC 的灵菌红素; 外加阴性对照和空白对照, 阴性对照加入等体积的乙醇溶液。振摇混匀后于 37°C 培养 12 h 和 24 h。使用试剂盒提取细菌总 RNA, 用 5xPrimeScript™RT Master Mix 将 RNA 逆转录为 cDNA。设计 KP 生物

膜形成相关基因引物, 16SrRNA 为内参基因, 按 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量。引物见表 1。

Table 1. Primers for KP biofilm-related genes

表 1. KP 生物膜相关基因引物

引物名称	序列(5'-3')	序列来源
16SrRNA-F	ATGACCAGCCACACTGGAAC	文献[17]
16SrRNA-R	CTTCCTCCCCGCTGAAAGTA	
mrkA-F	TGAAGTTAAAGCGGCAGCAG	文献[17]
mrkA-R	TCAGTGTTCGCCAGGTAGC	
mrkD-F	GCCAACATTAGCACCTCGTTCTCC	文献[17]
mrkD-R	ATGCCAATGCCTTTCGCCATCC	
mrkH-F	AACGCCGTACTIONTATGCTTGC	文献[17]
mrkH-R	CGCTTGGCTTCTAAGATCAG	
fimA-F	CGATACCACCACGGTCAAC	文献[17]
fimA-R	CCGTAGTGTGCAATCATCC	
fimH-F	CCATCACCGCAGGATCGTTAATCG	文献[17]
fimH-R	CGTCGTTGTTGGCGTAAATGTTCC	
fimK-F	ACGGCGTTTGAACAGGAATG	文献[17]
fimK-R	AAGCAGCAGCCAGGTGTAG	
rmpA-F	CACACCTTTAGGGTAAAACCG	本研究
rmpA-R	AGAGTATTGGTTGACTGCAGGA	
magA-F	GAGCAATATGGCCAGTCCGA	本研究
magA-R	TTCCCACTCCCTCTCCAAGT	

2.3. 统计学方法

数据分析用 GraphPad Prism9.5.1 软件, 组间多重比较用到的统计学方法是单向方差分析(ANOVA), $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

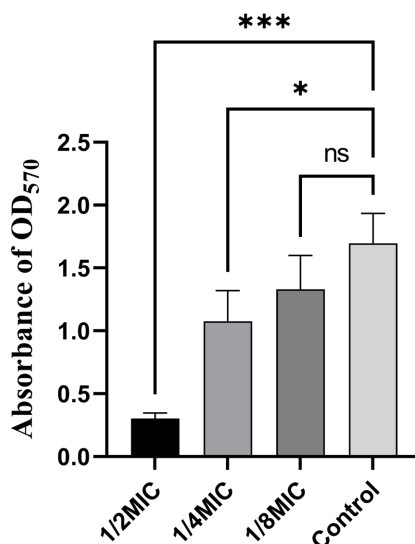
3. 结果

3.1. 灵菌红素对 KP 的 MIC 值

结果显示, 当灵菌红素浓度为 512 ug/ml 和 256 ug/ml 时, MH 液体培养基中无细菌生长; 当灵菌红素浓度在 256 ug/ml 以下时, MH 液体培养基中细菌生长。即灵菌红素对 KP 的 MIC 值为 256 ug/ml。

3.2. 灵菌红素对 KP 生物膜的最小抑制浓度

培养 24 h 后, 各组生物膜都有不同程度的生长。与对照组相比, 灵菌红素浓度越高对 KP 生物膜的抑制作用越大, 1/4 MIC 组和 1/2 MIC 组的生物膜形成量均下降且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。其中 1/4 MIC 是灵菌红素抑制 KP 生物膜形成的最小浓度即 MBIC。见图 1。



注: 与对照组比较, $^{ns}P > 0.05$, $^{*}P < 0.05$, $^{***}P < 0.0005$ 。

Figure 1. The formation of KP biofilm under different concentrations of prodigiosin
图 1. 不同浓度灵菌红素作用下 KP 生物膜的形成量

3.3. 生长曲线

为了进一步确定灵菌红素对 KP 的抑制作用, 构建生长曲线来评估 KP 在 1/2 MIC 浓度到 1/8 MIC 浓度下 48 h 内的生长情况。结果显示, 与对照组相比, 不同浓度的灵菌红素都会抑制 KP 的生长, 灵菌红素浓度越高对 KP 的生长抑制作用越大。见图 2。

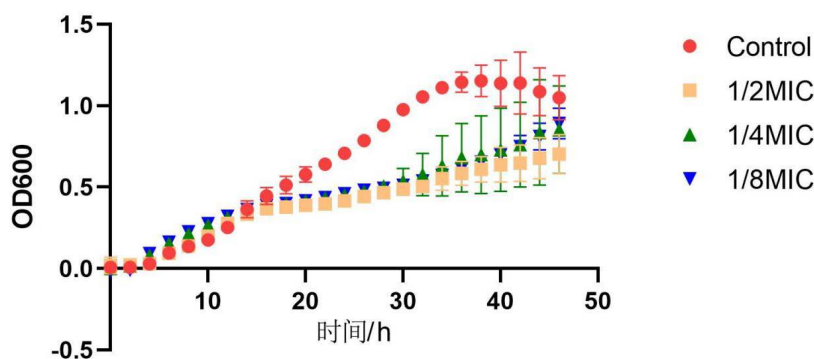
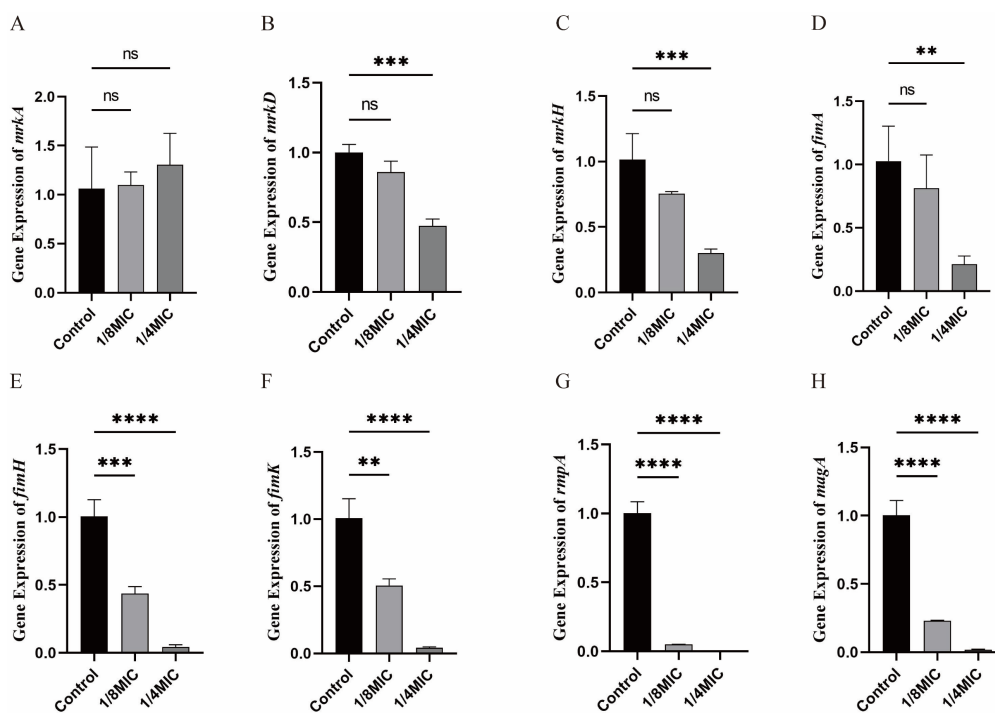


Figure 2. Growth curves of KP under different concentrations of prodigiosin
图 2. KP 在不同浓度灵菌红素下的生长曲线

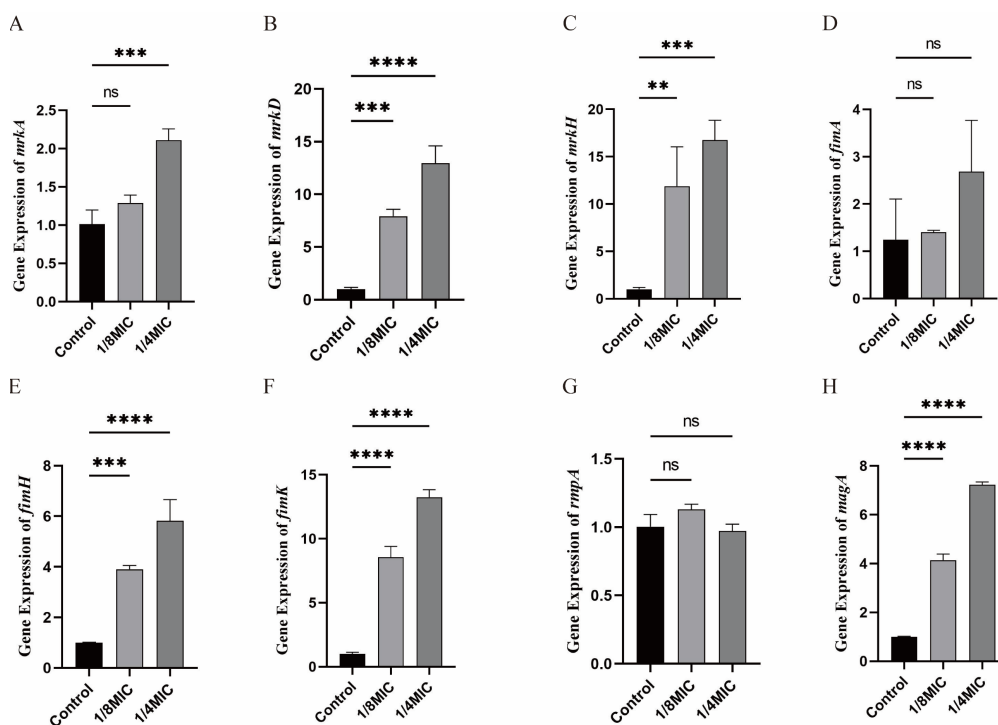
3.4. 灵菌红素对 KP 生物膜相关基因表达的影响

培养 12 h 后, 与对照组相比, KPI 型和 III 型菌毛基因 *fimA*、*mrkD*、*mrkH* 的表达量受到 1/4 MIC 灵菌红素的抑制作用, 1/8 MIC 灵菌红素则对这三个基因的表达量无抑制作用; *fimH*、*fimK* 的表达量受到不同浓度灵菌红素的抑制作用, 且抑制作用随浓度的升高而加大。但 *mrkA* 基因的表达量不受灵菌红素的影响。KP 荚膜多糖基因 *rmpA* 和毒力基因 *magA* 也受到不同浓度灵菌红素的抑制作用, 且抑制作用随浓度的升高而加大。见图 3。



注: 与对照组相比, $^{ns}P > 0.05$, $^{**}P < 0.05$, $^{***}P < 0.0005$, $^{****}P < 0.0001$ 。

Figure 3. The effect of different concentrations of prodigiosin on the expression of KP biofilm-related genes (12 hours)
图 3. 不同浓度灵菌红素对 KP 生物膜相关基因表达量的影响(12 h)



注: 与对照组相比, $^{ns}P > 0.05$, $^{**}P < 0.05$, $^{***}P < 0.0005$, $^{****}P < 0.0001$ 。

Figure 4. The effect of different concentrations of prodigiosin on the expression of KP biofilm-related genes (24 hours)
图 4. 不同浓度灵菌红素对 KP 生物膜相关基因表达量的影响(24 h)

培养 24 h 后, 与对照组相比, KPI 型和 III 型菌毛基因表达量(除 *fimA* 基因外)均受到灵菌红素的负向调控作用。KP 荚膜多糖基因 *rmpA* 的表达量不受不同浓度灵菌红素的影响, 毒力基因 *magA* 的表达量则受到不同浓度灵菌红素的负向调控作用。见图 4。

4. 讨论

KP 是一种重要的条件致病菌, 对多种抗生素具有耐药性, 时常威胁着人类健康。而生物膜是 KP 感染难以根除的重要原因, 它为细菌的增殖、分散提供了帮助[18]。所以, 探索抗 KP 感染的新疗法时, 抑制生物膜的形成是一种新思路。目前灵菌红素作为一种广谱抗菌物质被广泛研究[19], 本研究测得灵菌红素对 KP 的 MIC 为 256 ug/ml, 说明灵菌红素对 KP 的生长有抑制作用。同时检测得到灵菌红素对 KP 生物膜的 MBIC 是其 MIC 的 1/4, 说明灵菌红素所引起的生物膜量减少是通过抑制生物膜的活性而不是菌体的活性达成的。这表明在临床应用时, 灵菌红素并不会给 KP 带来过强的生存压力以致发生基因突变, 从而减小产生耐药性的风险。

研究表明, 灵菌红素对多种细菌都有抗生物膜活性作用, 其抑制铜绿假单胞菌的生物膜活性机制主要为抑制细胞外多糖的产生以及下调有关生物膜形成的基因表达水平[20]。本研究中, 结晶紫半定量实验结果显示, 1/2 MIC 和 1/4 MIC 浓度的灵菌红素对 KP 生物膜也有显著的抑制作用, 且抑制作用随浓度增加而增加, 说明灵菌红素能够抑制 KP 生物膜的形成。根据生物膜形成的五个阶段来看, 随着时间的推移, 成熟的生物膜开始分散, 灵菌红素从最初抑制 KP 生物膜的活性开始转为抑制膜内细菌的生长活性, 这体现在 KP 生长曲线在 18 h 左右开始下滑。

本研究中, 用 1/4 MIC 和 1/8 MIC 浓度的灵菌红素处理 KP 菌体 12 h 后检测 *fimA*、*fimH*、*fimK*、*mrkA*、*mrkD*、*mrkH*、*rmpA*、*magA* 基因的表达量差异, 发现 1/4 MIC 这一浓度也就是 MBIC 对除了 *mrkA* 基因外的所有基因都有抑制作用, 虽然灵菌红素并没有下调 *mrkA* 的水平, 但 III 型菌毛的粘附作用主要是通过 *mrkD* 和 *mrkH* 来完成, 灵菌红素均能显著下调这两者的水平, 说明灵菌红素是可能通过抑制 I 型和 III 型菌毛从而来抑制 KP 生物膜的生长。但灵菌红素调控这些基因的具体机制还需进一步研究。有意思的是, 当我们把灵菌红素的处理时间拉长到 24 h 时, 相关基因的表达量反而会被上调或者保持不变, 这可能与灵菌红素的活力有关或者与其浓度有关, 在生长曲线上也能看出 1/4 MIC 和 1/8 MIC 这两个浓度的抑制作用会在 24 h 左右消失, 其具体的原因有待进一步的研究发现。

5. 结论

综上所述, 本研究发现灵菌红素能够有效抑制 KP 的生长和其生物膜的形成。其可能的是灵菌红素通过抑制 *mrkD*、*mrkH*、*fimA*、*fimH*、*fimK*、*rmpA* 以及 *magA* 等生物膜相关基因的表达, 从而减少 I 型和 III 型菌毛的合成或粘附作用的产生, 使生物膜的粘附能力下降, 而表现出抗生物膜活性。本研究为阐明灵菌红素抗 KP 生物膜活性机制提供了线索, 并为 KP 感染的治疗提供了新的思路。

参考文献

- [1] Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L. and Wang, H. (2020) The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**, Article 6278. <https://doi.org/10.3390/ijerph17176278>
- [2] Han, X., Yao, J., He, J., Liu, H., Jiang, Y., Zhao, D., et al. (2024) Clinical and Laboratory Insights into the Threat of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **64**, Article ID: 107275. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2024.107275>
- [3] Zhao, A., Sun, J. and Liu, Y. (2023) Understanding Bacterial Biofilms: From Definition to Treatment Strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **13**, Article 1137947. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947>
- [4] Schilcher, K. and Horswill, A.R. (2020) Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment

- Strategies. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **84**, e00026-19. <https://doi.org/10.1128/membr.00026-19>
- [5] Kranjec, C., Morales Angeles, D., Torrissen Mårli, M., Fernández, L., García, P., Kjos, M., *et al.* (2021) Staphylococcal Biofilms: Challenges and Novel Therapeutic Perspectives. *Antibiotics*, **10**, Article 131. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020131>
- [6] Høiby, N., Bjarnsholt, T., Givskov, M., Molin, S. and Ciofu, O. (2010) Antibiotic Resistance of Bacterial Biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **35**, 322-332. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011>
- [7] Silveira, G.G.O.S., Torres, M.D.T., Ribeiro, C.F.A., Meneguetti, B.T., Carvalho, C.M.E., de la Fuente-Nunez, C., *et al.* (2021) Antibiofilm Peptides: Relevant Preclinical Animal Infection Models and Translational Potential. *ACS Pharmacology & Translational Science*, **4**, 55-73. <https://doi.org/10.1021/acscptsci.0c00191>
- [8] Horng, Y., Dewi Panjaitan, N.S., Chang, H., Wei, Y., Chien, C., Yang, H., *et al.* (2022) A Protein Containing the DUF1471 Domain Regulates Biofilm Formation and Capsule Production in *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, **55**, 1246-1254. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2021.11.005>
- [9] Kot, B., Piechota, M., Szveda, P., Mitrus, J., Wicha, J., Gruzewska, A., *et al.* (2023) Virulence Analysis and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae* Isolates from Hospitalised Patients in Poland. *Scientific Reports*, **13**, Article No. 4448. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31086-w>
- [10] Lopatto, E.D.B., Pinkner, J.S., Sanick, D.A., Potter, R.F., Liu, L.X., Bazán Villicaña, J., *et al.* (2024) Conformational ensembles in *Klebsiella pneumoniae* FimH Impact Uropathogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **121**, e2409655121. <https://doi.org/10.1073/pnas.2409655121>
- [11] 孙晓雨. 茯苓多糖在貂源肺炎克雷伯菌菌毛粘附蛋白黏膜免疫中的佐剂效应[D]: [硕士学位论文]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [12] 王一鸣. 丁香酚抑制猪源肺炎克雷伯菌 AI-2 信号分子和 MrkD 蛋白机制研究[D]: [博士学位论文]. 长春: 吉林农业大学, 2019.
- [13] Schroll, C., Barken, K.B., Krogfelt, K.A. and Struve, C. (2010) Role of Type 1 and Type 3 Fimbriae in *Klebsiella pneumoniae* Biofilm Formation. *BMC Microbiology*, **10**, Article No. 179. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-179>
- [14] Islan, G.A., Rodenak-Kladniew, B., Noacco, N., Duran, N. and Castro, G.R. (2022) Prodigiosin: A Promising Biomolecule with Many Potential Biomedical Applications. *Bioengineered*, **13**, 14227-14258. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2084498>
- [15] Lapenda, J.C., Silva, P.A., Vicalvi, M.C., Sena, K.X.F.R. and Nascimento, S.C. (2014) Antimicrobial Activity of Prodigiosin Isolated from *Serratia Marcescens* UFPEDA 398. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **31**, 399-406. <https://doi.org/10.1007/s11274-014-1793-y>
- [16] 严静. 沙雷氏菌 CM01 来源灵菌红素对临床耐药金黄色葡萄球菌抗生物膜活性及机制研究[D]: [硕士学位论文]. 重庆: 重庆医科大学, 2023.
- [17] 刘冬梅, 郭梦雨, 费冰, 等. 黄连素抑制肺炎克雷伯菌生物膜形成作用机制研究[J]. 中国现代医药杂志, 2024, 26(1): 6-10.
- [18] Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M.A., *et al.* (2018) Bacterial Biofilm and Associated Infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, **81**, 7-11. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012>
- [19] Clements, T., Ndlovu, T. and Khan, W. (2019) Broad-Spectrum Antimicrobial Activity of Secondary Metabolites Produced by *Serratia Marcescens* Strains. *Microbiological Research*, **229**, Article ID: 126329. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126329>
- [20] Ma, Z., Xiao, H., Li, H., Lu, X., Yan, J., Nie, H., *et al.* (2024) Prodigiosin as an Antibiofilm Agent against the Bacterial Biofilm-Associated Infection of *Pseudomonas Aeruginosa*. *Pathogens*, **13**, Article 145. <https://doi.org/10.3390/pathogens13020145>