

# 尿感方对尿道致病性大肠杆菌毒力特征的影响

贺 敏<sup>1</sup>, 蒋 健<sup>1</sup>, 乔 昀<sup>1</sup>, 陈君灏<sup>1</sup>, 元唯安<sup>1</sup>, 张雯霞<sup>1,2</sup>

(1. 上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203; 2. 上海市浦东新区周浦医院, 上海 201318)

**摘要:** **目的** 探讨尿感方对尿道致病性大肠杆菌毒力特征的影响。**方法** 以 CFT073 作为实验菌株, 通过细菌生长培养, 观察尿感方含药尿液对 CFT073 生长的影响。分别采用体外持留模型、微孔板法、平板法、ELISA 法和 RT-PCR 法检测尿感方含药尿液对 CFT073 持留能力、生物膜形成、泳动能力、内毒素释放水平、侵袭力和毒力相关基因(*fur*、*chuA*、*iha*、*fyuA*、*glt S*、*glt P*、*fimH* 和 *Lex A*) 的影响。**结果** 与未经干预的 CFT073 比较, 经空白尿液干预后的 CFT073 生长能力、持留能力、生物膜形成、泳动能力、侵袭力、内毒素释放水平和毒力相关基因 mRNA 表达均无明显差异 ( $P>0.05$ ); 与经 90% 空白尿液干预后的 CFT073 比较, 经 90% 尿感方含药尿液干预后的 CFT073 生长受到抑制 ( $P<0.05$ ); 与经 60% 空白尿液干预后的 CFT073 比较, 经 60% 尿感方含药尿液干预后的 CFT073 持留能力、生物膜形成、泳动能力、侵袭力和内毒素释放水平降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 毒力相关基因 *fur*、*chuA*、*iha*、*fyuA*、*glt S*、*glt P*、*fimH*、*Lex A* mRNA 表达下调 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。**结论** 尿感方可降低 CFT073 的持留能力、泳动能力和侵袭力, 抑制生物膜的形成和内毒素的释放, 下调毒力相关基因 *fur*、*chuA*、*iha*、*fyuA*、*glt S*、*glt P*、*fimH*、*Lex A* mRNA 表达, 影响 CFT073 的毒力特征。

**关键词:** 尿感方; 尿道致病性大肠杆菌; 毒力特征; 毒力相关基因

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)07-2350-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.07.039

尿路感染 (urinary tract infection, UTI) 是最常见的细菌感染性疾病之一, 迁延不愈和反复发作是 UTI 防治面临的主要问题。75%~95% UTI 的病原菌是尿道致病性大肠杆菌 (uropathogenic *Escherichia coli*, UPEC)<sup>[1]</sup>, UPEC 利用自身携带的一系列毒力因子在不利的尿道环境中生存和繁殖, 采取的策略主要包括运动、粘附、侵袭、营养物质摄取、持留、产生毒素、免疫逃逸等<sup>[2-3]</sup>。尿液是 UPEC 栖息环境的主要组成部分, 其中的物质会对细菌产生影响。因此, 就防治 UTI 而言, 研究尿液中的药物对 UPEC 的作用十分重要。

尿感方是治疗 UTI 的验方 (专利号 ZL200910201845.6), 具有抗菌、抗炎、免疫调节等多种药理作用<sup>[4-12]</sup>。课题组前期研究结果显示, 尿感方含药尿液无直接的杀菌作用, 但对细菌生物膜有一定的影响<sup>[8]</sup>。在前期研究的基础上, 本研究采用细菌学和分子生物学方法, 从 UPEC 的生长能力、持留能力、运动能力、侵袭力、生物膜形成、内毒素释放及毒力相关基因表达来评价尿感方对 UPEC 毒力特征的影响。

## 1 材料

1.1 动物 SD 大鼠, SPF 级, 雌雄各半, 体质量 (250±10) g, 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (沪) 2017-0005], 饲养于上海中医

药大学实验动物中心。研究经上海中医药大学动物实验伦理委员会审批通过 (伦理号 PZSHUTCM200807003)。

1.2 药物 马齿苋 (配方颗粒), 批号 20020481, 每袋 1.5 g, 相当于饮片 15 g; 蒲公英 (配方颗粒), 批号 20041181, 每袋 2 g, 相当于饮片 15 g, 均由江阴天江药业有限公司生产。

1.3 菌株与细胞株 UPEC CFT073 (编号 ATCC700928) 购自上海北诺生物科技有限公司; HTB-9 细胞 (目录号 TCHu1) 购自中国科学院细胞库。

1.4 试剂 RPMI-1640 培养基、胎牛血清、0.25% 胰酶 (货号 11875135、10099-141、25200072, 美国 Gibco 公司); Difco noble 琼脂 (货号 214220, 美国 BD 公司); 庆大霉素、LB 琼脂平板、LB 液体培养基、M9 低盐培养基、D-葡萄糖溶液、氨苄西林钠溶液、结晶紫溶液、柱式细菌总 RNA 提取纯化试剂盒、溶菌酶、无水乙醇、DEPC 水、PBS [货号 A620217、B530111、B540111、A507024、B540154、B541011、E607309、B518655、A610308、A500737、B501005、E607008, 生工生物工程 (上海) 股份有限公司]; PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒、TB Green Premix Ex Taq™ II 试剂盒 (货号 RR047A、RR820A, 日本 TaKaRa 公司)。

1.5 仪器 细菌比浊仪 (法国 bioMerieux 公司);

收稿日期: 2023-02-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81874362, 82104635)

作者简介: 贺 敏 (1977—), 博士, 研究员, 从事中医药防治感染性疾病的临床、基础研究。Tel: (021) 20256053, E-mail: heminmiao@163.com

Cytation3 多功能酶标仪（美国伯腾仪器有限公司）；普通倒置显微镜（日本 Olympus 公司）；超净工作台、CO<sub>2</sub> 培养箱（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；Stepone plus 荧光定量 PCR 仪（美国 ABI 公司）；低温离心机 [大龙兴创实验仪器（北京）股份公司]。

2 方法

2.1 药物尿液制备 尿感方由马齿苋（生药量 70 g）、蒲公英（生药量 55 g）组成，称取适量，加入蒸馏水配制药液（生药量 1.69 g/mL），按前期建立的方法制备空白尿液和药物尿液<sup>[9-12]</sup>。将 20 只大鼠随机分为空白组和尿感方组（生药量 25.0 g/kg），每组 10 只，各组每天灌胃给药 2 次，连续 3 d，第 4 天早晨再灌胃给药 1 次，空白组灌胃等量蒸馏水，容量为 1.5 mL/100 g。末次给药前禁食不禁水 12 h，收集末次给药后 3 h 内尿液，4 000 r/min 离心 15 min，收集上清后 56 ℃水浴灭活 30 min，0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌，于-80 ℃保存。尿样行尿常规检查，结果异常或有白细胞或亚硝酸盐者则剔除。

2.2 生长测定 CFT073 接种于 LB 培养基，37 ℃培养过夜，分别接种于含不同尿液浓度的 LB 培养基（药物尿液或空白尿液，尿液终体积分数为 30%、60% 和 90%），同时设不含尿液成分的 LB 培养基作为对照（即未经干预），37 ℃培养 24 h 后取样，稀释涂板计数，重复 3 次。

2.3 持留能力测定 参考文献 [13-14] 报道，CFT073 接种于 LB 培养基，37 ℃培养过夜，接种于含 0.4% 葡萄糖的 M9 培养基中，37 ℃、200 r/min 培养过夜，分别取含 0.2% 葡萄糖、0.1 mg/mL 氨苄西林钠（10 MIC）的 M9 培养基（含药物尿液或空白尿液，尿液终体积分数为 30%、60%，对 CFT073 的生长无影响），将培养物稀释至 600 nm 波长处光密度值（OD<sub>600</sub>）为 0.1，同时设不含培氨苄西林和/或尿液成分的 M9 培养基（含 0.2% 葡萄糖）作为对照（即未经干预），37 ℃、200 r/min 培养，于 0、4、24 h 取样，稀释涂板计数，重复 3 次。

2.4 生物膜测定 实验菌制备：CFT073 接种于 LB 培养基，37 ℃培养过夜，分别接种于含有药物尿液或空白尿液的 LB 液体培养基（尿液终体积分数为 30%、60%，对 CFT073 的生长无影响），同时设不含尿液成分的 LB 培养基作为对照（即未经干预），CFT073 终浓度为 2×10<sup>7</sup> CFU/mL。

生物膜测定：各取 200 μL 加入 96 孔培养板，37 ℃培养 0、4、8、12、24 h，培养结束后用 PBS 冲洗 2 次，风干 10 min，每孔加入 0.1% 结晶紫溶液 200 μL，37 ℃孵育 15 min，再用 PBS 冲洗后风干，加入 95% 乙醇 200 μL，酶标仪检测 595 nm 波长处的光密度值（OD<sub>595</sub>），重复 3 次。

2.5 泳动能力检测 实验菌制备同“2.4”项，培养结束后收集细菌制成细菌悬液，测定 OD<sub>600</sub> 值为 0.1，取 4 μL 穿刺注射于动力平板（0.3% 琼脂的 LB 平板），37 ℃培养 12 h 后测量菌苔直径，重复 3 次。

2.6 内毒素水平检测 实验菌制备同“2.4”项，培养结束后收集上清，采用 Pierce™ LAL 发色内毒素定量试剂盒

检测内毒素水平，重复 3 次。

2.7 细菌入侵率检测 实验菌制备同“2.4”项，培养结束后收集细菌制成细菌悬液，通过 OD<sub>600</sub> 值估算细菌浓度。HTB-9 细胞予含 10% FBS 的 1640 培养基，37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养，实验前接种于 24 孔板（每孔 2.5×10<sup>5</sup> 个细胞），过夜培养，培养结束后用 PBS 清洗，加入细菌/细胞比例（MOI）为 100 的 CFT073，与细胞共同培养 2 h，培养结束后采用庆大霉素保护法清除胞外细菌，加入 0.25% 胰酶 37 ℃孵育 10 min，使细胞停止贴壁，再加入 0.3% Triton X-100，37 ℃孵育 15 min，取样本稀释涂板计数，重复 3 次。

2.8 毒力相关基因表达检测 尿液终体积分数为 60%，其余实验菌制备同“2.4”项，培养结束后收集细菌，采用 RT-qPCR 法检测各指标 mRNA 的相对表达量，总 RNA 的提取、逆转录和扩增均按说明书操作，重复 3 次。引物由武汉赛维尔生物科技有限公司合成，序列见表 1。

表 1 引物序列

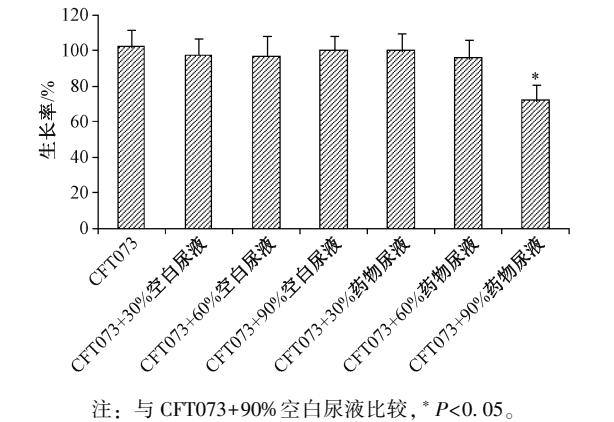
基因	序列
16S rRNA	正向 5'-CAAGGGCACAACCTCCAAAT-3' 反向 5'-GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAG-3'
<i>fur</i>	正向 5'-TCTGGCTACGGTATATCGCG-3' 反向 5'-CGTGGTGATGTTGCTGTGTT-3'
<i>chuA</i>	正向 5'-AAGCGCTTGCCCAATACCAGAGTA-3' 反向 5'-TATTCGATCGCTCACAGTGGCTT-3'
<i>iha</i>	正向 5'-TGCGAATAACCACTCTGGCTTC-3' 反向 5'-TAATCACAGAAACACTGGCGGC-3'
<i>fyuA</i>	正向 5'-GGTCTTGATGCCAAACCGTT-3' 反向 5'-GGTATAAACGTCGCGGCTT-3'
<i>glt S</i>	正向 5'-CGGAATTCATGTCGATACTTTAGCAACGC-3' 反向 5'-TCGAAGCTTTTACCAGCGCATTGACGATA-3'
<i>glt P</i>	正向 5'-CCGGAATTCATGCGTAACGAACCTGAACGG-3' 反向 5'-CGCGGATCCTTATTTTCAATCAACTGGATCAGGA-3'
<i>FimH</i>	正向 5'-GTGCCAATTCCTCTTACCGTT-3' 反向 5'-TGGAATAATCGTACCGTTGCG-3'
<i>Lex A</i>	正向 5'-AGCAGGTGTTCTATTACCGC-3' 反向 5'-TCATACTGTCGCCTACGACG-3'

2.9 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理，计量资料以（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，2 组间比较采用 *t* 检验，多组间比较采用方差分析。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 尿感方对 UPEC 生长能力的影响 如图 1 所示，培养 24 h 后，与未经干预的 CFT073 比较，添加空白尿液的 CFT073 数量无明显变化（*P*>0.05），提示空白尿液对 CFT073 的生长无明显影响；与添加 90% 空白尿液的 CFT073 比较，添加 90% 药物尿液的 CFT073 数量减少（*P*<0.05），其余浓度药物尿液的 CFT073 数量无明显变化（*P*>0.05），提示 90% 药物尿液对 CFT073 的生长有一定的抑制作用，其余浓度的药物尿液对 CFT073 的生长无明显影响。

3.2 尿感方对 UPEC 持留能力的影响 如表 2 所示，培养 4 h 后，不添加氨苄西林钠的 CFT073 生长达到稳定期，添加氨苄西林钠的 CFT073 活菌数稍有所减少；与添加氨苄



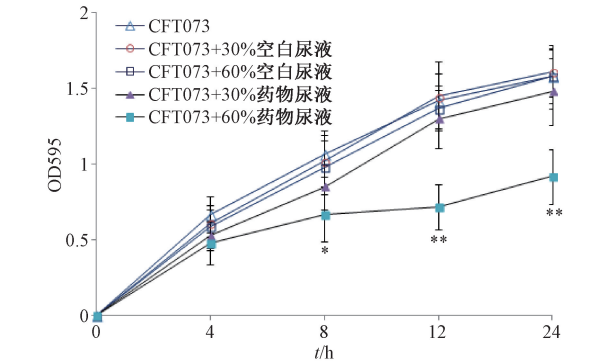
注：与 CFT073+90% 空白尿液比较，\*  $P<0.05$ 。

图 1 尿感方含药尿液对 UPEC 生长能力的影响  
( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

表 2 尿感方含药尿液对 UPEC 持留能力的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	活菌数(log10)/(CFU·mL <sup>-1</sup> )		
	0 h	4 h	24 h
CFT073	8.42±0.35	8.23±0.54	9.13±0.39
CFT073+氨苄西林钠	8.40±0.47	7.58±0.55	5.43±0.65
CFT073+30% 空白尿液	8.47±0.68	8.35±0.58	9.09±0.49
CFT073+30% 空白尿液+氨苄西林钠	8.45±0.39	7.69±0.45	5.98±0.51
CFT073+30% 药物尿液	8.37±0.42	8.27±0.55	8.97±0.39
CFT073+30% 药物尿液+氨苄西林钠	8.39±0.64	7.85±0.52	5.59±0.43
CFT073+60% 空白尿液	8.37±0.51	8.22±0.61	8.93±0.54
CFT073+60% 空白尿液+氨苄西林钠	8.29±0.68	7.41±0.49	5.78±0.61
CFT073+60% 药物尿液	8.32±0.35	8.25±0.40	8.89±0.43
CFT073+60% 药物尿液+氨苄西林钠	8.33±0.44	5.36±0.61*	2.27±0.53**

注：与 CFT073+60% 空白尿液+氨苄西林钠比较，\*  $P<0.05$ ，\*\*  $P<0.01$ 。



注：与 CFT073+60% 空白尿液比较，\*  $P<0.05$ ，\*\*  $P<0.01$ 。

图 2 尿感方对 UPEC 体外生物被膜形成过程的影响  
( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

提示药物尿液可抑制 CFT073 生物膜的产生。

3.4 尿感方对 UPEC 泳动能力和内毒素水平的影响 如图 3 所示，与未经干预的 CFT073 比较，经空白尿液干预后的 CFT073 泳动能力和内毒素释放水平均无明显变化 ( $P>0.05$ )；与经 60% 空白尿液干预后的 CFT073 比较，经 60% 药物尿液干预后的 CFT073 泳动能力和内毒素释放水平均降低 ( $P<0.05, P<0.01$ )，提示药物尿液对 CFT073 的泳动能力和内毒素释放水平有一定的抑制作用。

3.5 尿感方对 UPEC 细菌侵袭力的影响 如图 4 所示，与

2352

西林钠和 60% 空白尿液的 CFT073 比较，添加氨苄西林钠和 60% 药物尿液的 CFT073 活菌数减少 ( $P<0.05$ )。培养 24 h 后，不添加氨苄西林钠的 CFT073 均生长到约  $1\times 10^9$  CFU/mL，与之相比，添加氨苄西林钠的活菌数减少 (相差 $>1\ 000$  倍)；与添加氨苄西林钠和 60% 空白尿液的 CFT073 比较，添加氨苄西林钠和 60% 药物尿液的活菌数减少 ( $P<0.01$ )，提示药物尿液可抑制 UPEC 持留菌的产生，而空白尿液对 UPEC 持留菌的产生没有影响。

3.3 尿感方对 UPEC 体外生物膜形成过程的影响 如图 2 所示，与未经干预的 CFT073 比较，经空白尿液干预后的 CFT073 生物膜量无明显变化 ( $P>0.05$ )。培养 8~24 h 后，与经 60% 空白尿液干预后的 CFT073 比较，经 60% 药物尿液干预后的 CFT073 生物膜量减少 ( $P<0.05, P<0.01$ )，

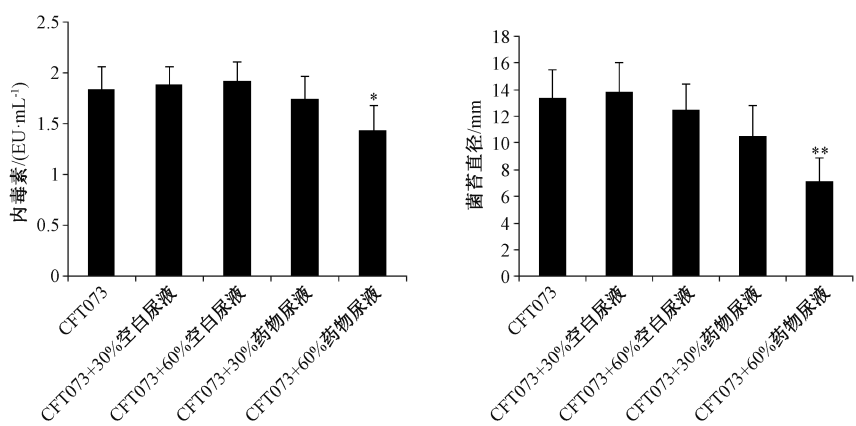
未经干预的 CFT073 比较，经空白尿液干预后的 CFT073 入侵率无明显变化 ( $P>0.05$ )；与经 60% 空白尿液干预后的 CFT073 比较，经 60% 药物尿液干预后的 CFT073 入侵率降低 ( $P<0.01$ )，提示药物尿液可减弱 CFT073 的侵袭力。

3.6 尿感方对 UPEC 毒力相关基因表达的影响 如图 5 所示，与未经干预的 CFT073 比较，经空白尿液干预后的 CFT073 *fur*、*chuA*、*iha*、*fyuA*、*glt S*、*glt P*、*fimH*、*Lex A* mRNA 表达无明显变化 ( $P>0.05$ )；与经 60% 空白尿液干预后的 CFT073 比较，经 60% 药物尿液干预后的 CFT073 *fur*、*chuA*、*iha*、*fyuA*、*glt S*、*glt P*、*fimH*、*Lex A* mRNA 表达下调 ( $P<0.05, P<0.01$ )。

4 讨论

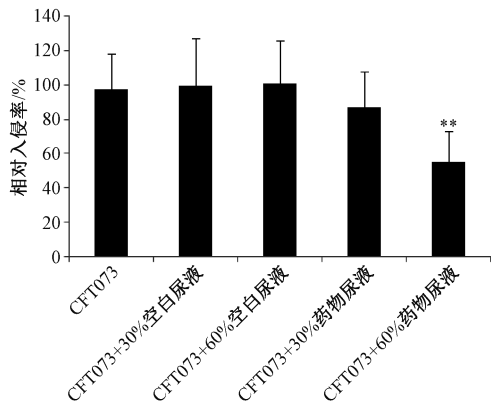
CFT073 是原型 UPEC 菌株，其系统发育群属于毒力最强的 B2 群<sup>[15]</sup>。本研究结果显示，当尿感方含药尿液的浓度达到 90% 时才开始对 CFT073 的生长有一定的影响，故选取不影响 CFT073 生长的尿感方含药尿液浓度进行一系列毒力特征研究。*Lex A* 的高表达会降低代谢相关基因的表达，使细菌代谢变慢，诱导持留菌的形成<sup>[16]</sup>。持留能力是细菌的一种本能反应，是细菌面临生存压力时采取的保护形式。持留菌处于休眠不分裂的状态，对抗生素具有高耐受性<sup>[13]</sup>。本研究结果显示，尿感方含药尿液下调了 *Lex A* mRNA 表达，降低了氨苄西林存在下 CFT073 产生的持留菌数量。细菌生物膜是复杂的微型群落，对传统抗生素、宿





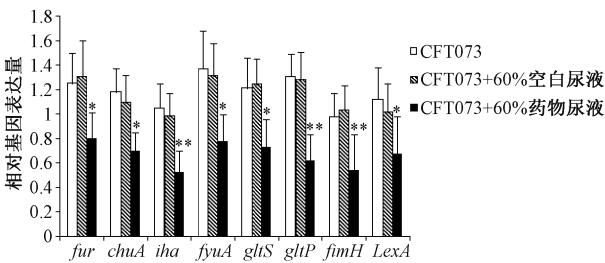
注：与 CFT073+60% 空白尿液比较，\*  $P<0.05$ ，\*\*  $P<0.01$ 。

图 3 尿感方对 UPEC 泳动能力和内毒素水平的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )



注：与 CFT073+60% 空白尿液比较，\*\*  $P<0.01$ 。

图 4 尿感方对 UPEC 细菌侵袭力的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )



注：与 CFT073+60% 空白尿液比较，\*  $P<0.05$ ，\*\*  $P<0.01$ 。

图 5 尿感方对 UPEC 毒力相关基因表达的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

主免疫防御和外部压力的敏感性均明显降低，UPEC 生物膜的形成是复发性尿路感染的一个关键易感因素<sup>[17]</sup>。本研究结果显示，对于未经干预的 CFT073，随着时间的延长，生物膜逐渐增多，12 h 时生物膜基本趋于成熟，尿感方含药尿液对形成期和成熟期的生物膜都有抑制作用。

泳动是细菌处于液体环境或低密度半固体环境的运动方式。细菌的运动能够帮助其摄取营养、选择靶点，实现向周围扩散和侵入宿主细胞，并在生物膜的形成阶段发挥重要作用<sup>[1-2,18]</sup>。本研究结果显示，尿感方含药尿液能降低 CFT073 的泳动能力，有助于抑制生物膜的形成。细菌内毒

素是革兰氏阴性菌细胞壁上的脂多糖和微量蛋白形成的复合物，能为细菌形成保护层以抵御抗生素的攻击，有利于持留菌的产生<sup>[19-20]</sup>。本研究结果显示，尿感方含药尿液降低了 CFT073 内毒素的释放水平，有助于尿感方抑制持留菌的产生。

*fimH* 是介导 UPEC 侵入宿主细胞的主要因素，*fimH* 表达的改变会影响 UPEC 的侵袭力<sup>[21]</sup>。本研究结果显示，尿感方含药尿液下调了 *fimH* mRNA 表达，降低 CFT073 的侵袭力，与前期研究结果一致。铁是 UPEC 存活和致病性的关键营养物质，由于尿液环境的可溶性铁水平较低，铁的获取对 UPEC 至关重要。铁摄取调控因子 *fur* 作为细菌调控铁摄取、储存和代谢过程中重要的调控子，在维持细菌铁稳态、抗应激能力和致病性中发挥重要作用<sup>[22]</sup>。血红素外膜受体和铁载体是 UPEC 获取铁的主要机制，血红素外膜受体 *chuA* 和 *hma*，铁载体的肠杆菌素摄取受体 *iha*、Salmochelin 摄取受体 *iroN* 和三价铁螯合物外膜受体 *fyuA* 对于 UPEC 在尿道环境的铁获取过程中发挥重要作用<sup>[1-2,23-25]</sup>。本研究结果显示，尿感方含药尿液下调了 UPEC *fur*、*chuA*、*iha*、*fyuA* mRNA 表达，提示尿感方调节了 UPEC 的铁摄取系统，可能会对 UPEC 的致病性产生影响。在尿液中 UPEC 是以氨基酸和多肽作为碳源，而不是葡萄糖。谷氨酸进入 UPEC 胞内的方式主要是通过谷氨酸转运系统运输<sup>[1]</sup>。谷氨酸转运蛋白相关基因 *gltP*、*gltS* 与该转运系统关系密切，且还参与了细菌的持留<sup>[26-27]</sup>。本研究结果显示，尿感方含药尿液下调了 *gltP*、*gltS* mRNA 表达。

综上所述，尿感方在尿液中的药物成分或/和代谢物降低了 CFT073 的持留能力、泳动能力和侵袭力，抑制了其生物膜的形成和内毒素的释放，下调了毒力相关基因 *fur*、*chuA*、*iha*、*fyuA*、*gltS*、*gltP*、*fimH*、*LexA* mRNA 表达，对 UPEC 毒力特征产生了一定影响。

参考文献：

[ 1 ] Subashchandrabose S, Mobley H L T. Virulence and fitness determinants of uropathogenic *Escherichia coli* [ J ]. *Microbiol Spectr*, 2015, 3(4) : 1-32.

[ 2 ] Lüthje P, Brauner A. Virulence factors of uropathogenic *E. coli* and their interaction with the host [ J ]. *Adv Microb Physiol*, 2014, 65: 337-372.

[ 3 ] Agarwal J, Srivastava S, Singh M. Pathogenomics of uropathogenic *Escherichia coli* [ J ]. *Indian J Med Microbiol*, 2012, 30( 2 ): 141-149.

[ 4 ] 周贤慧, 孙怡婕, 高建东, 等. 尿感方治疗慢性尿路感染(下焦湿热证)的临床疗效观察[ J ]. 时珍国医国药, 2010, 21( 3 ): 688-689.

[ 5 ] 孙怡婕, 贺敏, 金若敏, 等. 尿感方治疗尿路感染的主要药效学研究[ J ]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17( 24 ): 144-146.

[ 6 ] 孙怡婕, 贺敏, 张珏, 等. 尿感方体外抗菌活性的初步研究[ J ]. 时珍国医国药, 2012, 23( 3 ): 625-626.

[ 7 ] 洪婷, 缪萍, 崔晨, 等. 尿感方对小鼠抗炎与免疫调节作用及对大鼠黏膜免疫的影响[ J ]. 上海中医药杂志, 2013, 47( 1 ): 66-69.

[ 8 ] 洪婷, 缪萍, 林云, 等. 尿感方对大肠杆菌生物膜形成及与毒力基因 *fim*、*usp*、*hlyA* 表达的影响[ J ]. 辽宁中医杂志, 2012, 39( 11 ): 2319-2323.

[ 9 ] 吴雨, 蒋健, 贺敏, 等. 尿感方对尿道致病性大肠杆菌感染膀胱上皮细胞感染早期分泌 IL-6、IL-8 的影响[ J ]. 中华中医药杂志, 2018, 33( 2 ): 534-537.

[ 10 ] 吴雨, 蒋健, 贺敏, 等. 尿感方清除受感染膀胱上皮细胞胞内尿道致病性大肠杆菌的作用[ J ]. 中成药, 2017, 39( 12 ): 2469-2474.

[ 11 ] 吴雨, 蒋健, 贺敏, 等. 尿感方抗尿道致病性大肠杆菌侵袭膀胱上皮细胞的作用研究[ J ]. 中草药, 2018, 49( 9 ): 2084-2089.

[ 12 ] 朱盼盼, 蒋健, 陈君灏, 等. 尿感方对膀胱上皮屏障及关键连接蛋白表达的影响[ J ]. 中成药, 2022, 44( 10 ): 3307-3310.

[ 13 ] Leatham-Jensen M P, Mokszycki M E, Rowley D C, *et al.* Uropathogenic *Escherichia coli* metabolite-dependent quiescence and persistence may explain antibiotic tolerance during urinary tract infection[ J ]. *mSphere*, 2016, 1( 1 ): 1-22.

[ 14 ] Sun J, Deering R W, Peng Z, *et al.* Pectic oligosaccharides from cranberry prevent quiescence and persistence in the uropathogenic *Escherichia coli* CFT073 [ J ]. *Sci Rep*, 2019, 9( 1 ): 19590.

[ 15 ] Luo C, Hu G Q, Zhu H. Genome reannotation of *Escherichia coli* CFT073 with new insights into virulence [ J ]. *BMC Genomics*, 2009, 10: 552.

[ 16 ] Li B, Smith P, Horvath D J Jr, *et al.* SOS regulatory elements are essential for UPEC pathogenesis [ J ]. *Microbes Infect*, 2010, 12( 8-9 ): 662-668.

[ 17 ] Zhao F, Yang H, Bi D, *et al.* A systematic review and meta-analysis of antibiotic resistance patterns, and the correlation between biofilm formation with virulence factors in uropathogenic *E. coli* isolated from urinary tract infections [ J ]. *Microb Pathog*, 2020, 144: 104196.

[ 18 ] Sudarshan S, Hogins J, Ambagaspitiye S, *et al.* The nutrient and energy pathway requirements for surface motility of nonpathogenic and uropathogenic *Escherichia coli* [ J ]. *J Bacteriol*, 2021, 203( 11 ): 1-48.

[ 19 ] Brandenburg K, Schromm A B, Weindl G, *et al.* An update on endotoxin neutralization strategies in Gram-negative bacterial infections [ J ]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2021, 19( 4 ): 495-517.

[ 20 ] Marshall J C. Endotoxin in the pathogenesis of sepsis [ J ]. *Contrib Nephrol*, 2010, 167: 1-13.

[ 21 ] Greene S E, Hibbing M E, Janetka J, *et al.* Human urine decreases function and expression of type 1 pili in uropathogenic *Escherichia coli* [ J ]. *mBio*, 2015, 6( 4 ): 1-9.

[ 22 ] Banerjee R, Weisenhorn E, Schwartz K J, *et al.* Tailoring a global iron regulon to a uropathogen [ J ]. *mBio*, 2020, 11( 2 ): 1-18.

[ 23 ] Garcia E C, Brumbaugh A R, Mobley H L. Redundancy and specificity of *Escherichia coli* iron acquisition systems during urinary tract infection [ J ]. *Infect Immun*, 2011, 79( 3 ): 1225-1235.

[ 24 ] Robinson A E, Heffernan J R, Henderson J P. The iron hand of uropathogenic *Escherichia coli*: the role of transition metal control in virulence [ J ]. *Future Microbiol*, 2018, 13( 7 ): 745-756.

[ 25 ] Gao Q, Wang X, Xu H, *et al.* Roles of iron acquisition systems in virulence of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: salmochelin and aerobactin contribute more to virulence than heme in a chicken infection model [ J ]. *BMC Microbiol*, 2012, 12: 143.

[ 26 ] Mobley H L, Donnenberg M S, Hagan E C. Uropathogenic *Escherichia coli* [ J ]. *EcoSal Plus*, 2009, 3( 2 ): 1-40.

[ 27 ] 李托弟. 大肠埃希菌在妥舒沙星作用下形成持留的关键基因研究 [ D ]. 兰州: 兰州大学, 2012.