

谷胱甘肽与铜绿假单胞菌致病性的关系

张亚妮 梁海华 段康民*

(西北大学生命科学学院 陕西 西安 710069)

摘要: 铜绿假单胞菌由于对抗生素的固有耐药和多重抗药性, 已成为医院内感染的重要病原菌之一。谷胱甘肽是细胞内最重要的抗氧化剂, 保护细胞免受氧化压力的损害。但是在铜绿假单胞菌感染的组织中, 由于绿脓菌素等致病因子的存在, 可以导致谷胱甘肽的水平降低。同时, 谷胱甘肽又可以增强绿脓菌素的致病性。本文就谷胱甘肽与铜绿假单胞菌关系的最新研究进展并结合作者的工作, 对上述问题进行了综述和探讨。

关键词: 谷胱甘肽, 铜绿假单胞菌, 氧化压力, 绿脓菌素

The Relationship Between Glutathione and the Pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa*

ZHANG Ya-Ni LIANG Hai-Hua DUAN Kang-Min*

(Faculty of Life Sciences, Northwest University, Xi'an, Shaanxi 710069, China)

Abstract: *Pseudomonas aeruginosa* is one of the most common causes of nosocomial infection due to its intrinsic resistance to antibiotics. In the host, glutathione (GSH), one of the most important intracellular antioxidants, provides protection against high levels of oxidative stress. A decrease in GSH levels in tissues infected with *P. aeruginosa* has been observed while interactions between pyocyanin and GSH maybe partially attribute to *P. aeruginosa* infection. In this review, the relationship between GSH and the pathogenicity of *P. aeruginosa* has been discussed based on the author's own research results and the latest literature.

Keywords: Glutathione, *Pseudomonas aeruginosa*, Oxidative stress, Pyocyanin

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)是一种广泛分布于自然界中的革兰氏阴性菌, 对人类而言, 它属于条件致病菌。该菌极易在医院内人群中引起严重的急性和慢性感染, 被认为是病人在医院期间发生感染的第三大致病菌^[1]。由于铜绿假单胞菌的致病性以及对抗生素具有很强的耐药性, 临床治疗十分困难。

谷胱甘肽(Glutathione, GSH)是细胞内最重要的

抗氧化剂, 保护细胞和组织免受氧化压力的损害。但是在铜绿假单胞菌感染的组织中, 谷胱甘肽的水平远远低于正常组织^[2,3]。铜绿假单胞菌分泌的绿脓菌素可以消耗掉细胞内 50%的谷胱甘肽, 谷胱甘肽的缺失似乎有助于铜绿假单胞菌的感染^[3]。结合我们近年对谷胱甘肽和铜绿假单胞菌关系的研究结果以及相关文献报道, 对于它们之间的关系进行了以下整理和探讨。

1 谷胱甘肽的主要功能

大量资料已经证明, 机体在病态或受到病菌的侵袭时内部的氧化压力增高, 导致大量的自由基产生^[4,5]。自由基因为具有高度自由能, 性质活泼, 会以随机方式攻击并破坏核酸、蛋白质或脂质等重要分子, 进而促使细胞死亡和疾病的产生^[6]。为了避免这种氧化压力所引起的伤害, 生物体中存在多个抗氧化防御系统来移除活性氧与自由基, 并且修复自由基所引起的伤害。谷胱甘肽是由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸结合而成的三肽, 在维持细胞氧化还原动态平衡中起着关键的作用, 是活组织里第一道防御体系的抗氧化物质^[7]。它可通过巯基与体内的自由基结合, 直接使自由基还原, 并可促进超氧化物歧化酶合成, 加速自由基的清除。如当细胞内生成少量 H_2O_2 时, GSH 在谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GPx) 的作用下, 把 H_2O_2 还原成 H_2O , 其自身被氧化为氧化性谷胱甘肽(GSSG), GSSG 在谷胱甘肽还原酶(Glutathione reductase, Gr)催化作用下, 接受 H 还原成 GSH, 使体内自由基的清除反应能够持续进行。另一方面, 谷胱甘肽作为细胞内重要的抗氧化剂, 不仅可独立的作为信号分子传递信号, 而且也可传递氧化压力信号^[8], 因此 GSH 在细胞中有着举足轻重的地位^[9]。

2 谷胱甘肽与铜绿假单胞菌所产绿脓菌素的关系

绿脓菌素(Pyocyanin, PCN)是铜绿假单胞菌产生的吩嗪类化合物中的一种, 也是该菌重要的致病因子和促炎介质。在铜绿假单胞菌感染的患者痰液中和慢性耳炎的耳道分泌物中可以检测到高浓度的 PCN^[10,11]。利用转换宿主模型和鼠模型对 PCN 在体内致病作用方面的研究证实^[12], PCN 在铜绿假单胞菌的感染中起着决定性的作用, 它的危害已远远超过以前人们所想象的。PCN 可以在肺囊性纤维化 (Cystic fibrosis, CF)病人的肺部持续存在, 降低支气管黏液流动速度, 以有利于铜绿假单胞菌定植于呼吸道, 同时还可逐步降低呼吸道纤毛摆动, 最后发展为广泛的纤毛停滞, 进而导致上皮损伤^[13]。除此之外, PCN 对人类细胞产生更多种损伤, 可抑制机体清除病原菌的特异性免疫反应, 使感染时限延长或阻止细菌清除, 而炎症介质的分泌增加可对机体

产生有害反应改变宿主免疫反应, 使感染机体处于危险状态。PCN 具有氧化还原活性, 可以从 NADH 和 NADPH 接受电子, 并传递到 O_2 , 导致 O_2^- 和 H_2O_2 等过氧化物的产生, 这些过氧化物通过 GSH 的反应, 得以清除(图 1A)。但是, 最近的研究表明, PCN 可以直接与 GSH 反应, 产生自由基, 造成氧化压力^[14-16], 加重 PCN 对细胞的损伤(图 1B)。在肺上皮细胞和内皮细胞, PCN 也参与到 GSH 氧化还原系统中, 消耗掉细胞内的大部分 GSH, 增加细胞内 GSSG 的含量, 导致 GSH/GSSG 比例严重失衡, 而这进一步又导致 H_2O_2 的产生^[17]。另外在 A549 人肺泡上皮细胞株和人支气管上皮细胞, PCN 能钝化过氧化氢酶^[18], 提示氧自由基在 PCN 介导的损伤中具有重要作用。

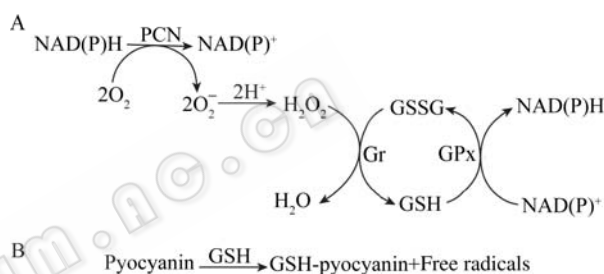


图 1 绿脓菌素和 GSH 在细胞中的关系^[19]

Fig. 1 The relationship between pyocyanin and GSH in cell^[19]

GSH 在肺细胞中除了保护细胞免受氧化损害之外, 对许多促炎性细胞因子基因表达也起着关键作用^[20]。并且, 研究证明 GSH 在小鼠中可以减弱白细胞介素-13(IL-13)诱导的哮喘^[21], CF 病人和谷胱甘肽合成过程中的酶的基因多态性也紧密相关^[22,23], 这些都表明谷胱甘肽和肺功能有很大的相关性。因此很多研究者认为可通过吸入 GSH 或其合成的前体 N-乙酰半胱氨酸来增加 CF 病人体内降低的谷胱甘肽水平, 减轻铜绿假单胞菌带给宿主的氧化损伤^[24-28]。而且大部分的研究认为, 不管是从病人体内方面还是从临床的角度出发, 谷胱甘肽对于肺部损伤病人是有益的^[22, 24, 26-30]。但是 O'Malley 研究认为绿脓菌素也可以直接氧化谷胱甘肽、半胱氨酸、N-乙酰半胱氨酸, 产生自由基 O_2^- 。因此细胞内的谷胱甘肽由于与 PCN 发生氧化还原反应而增加自由基对细胞的毒性, 所以用 GSH 等抗氧化剂来治疗 CF 病人, 是“火上浇油”^[19]。这些自由基同时进一步使得 GSH 转化为 GSSG, 从而降低 GSH 在上皮细胞

中的含量。我们研究发现,在培养铜绿假单胞菌培养过程中添加 GSH,可以增加 PCN 的产量,所以,目前关于是否能用抗氧化剂治疗铜绿假单胞菌感染的病人还是模棱两可。

3 谷胱甘肽铜和绿假单胞菌的III型分泌系统关系

铜绿假单胞菌除了通过绿脓菌素引起机体复杂的病理生理改变外,还运用细菌特有的 III 型分泌蛋白系统(Type III secretion system, T3SS),将毒力蛋白注射入宿主细胞内,从而造成宿主许多疾病^[31,32]。铜绿假单胞菌 T3SS 的分子结构由细菌膜上的装置蛋白、转位子蛋白、被转移的效应分子和 T3SS 分子伴侣 4 类蛋白组成^[33]。装置蛋白横跨细菌细胞内外膜,形状向胞外的注射针头;通过装置蛋白的跨膜通道和转位子蛋白的转位作用,将毒力蛋白组成的效应分子分泌到胞外或直接注射到真核细胞内部。铜绿假单胞菌的效应分子有 4 种: ExoS、ExoT、ExoY 和 ExoU。前两种蛋白具有 ADP 核糖基转移酶活性,其中 ExoS 修饰宿主细胞 Ras 家族蛋白,能够导致细胞凋亡的发生; ExoT 修饰 CrkIPII 蛋白,抑制细胞的分裂。ExoY 具有宿主特异的腺苷酸环化酶的活性, ExoU 是急性细胞毒素,具有脂酶的活性。因此这 4 种效应分子在铜绿假单胞菌的致病过程起着关键作用,是主要的致病因子^[34]。我们通过在培养基中添加 GSH 对 32 个铜绿假单胞菌的毒性因子库作了筛选^[35],发现谷胱甘肽可以增加 *exoS* 和 *exoY* 基因的表达,相反在谷胱甘肽合成酶突变体中, *exoS* 和 *exoY* 的表达都下降,这一结果也说明铜绿假单胞菌细胞内谷胱甘肽可以促进 *ExoS* 和 *ExoY* 的表达。

T3SS 分泌系统所有基因都受到 ExsA 的直接调节^[28, 36]。而 ExsA 活性受到 3 个蛋白: ExsC、ExsE 和 ExsD 的反馈调控。我们进一步研究发现 *exsC* 基因在谷胱甘肽合成酶突变体中的表达也明显降低,然而 GSH 和 T3SS 之间是采取什么机理发挥作用,我们正在进一步研究当中。

4 谷胱甘肽改变铜绿假单胞菌对抗生素的敏感性

抗生素对于治疗各种感染性疾病是必不可少的,

但同时又不可避免给机体带来相应的附加损害,如宿主体内 GSH 含量的降低、氧化压力增加、肝和肾功能损害^[37-40]。这种附加损害可以用一些抗氧化剂来减轻^[41,42],因此,谷胱甘肽作为一种生物本身存在的抗氧化物质被广泛应用于食品和医疗上,帮助细胞抵御许多外来毒物、氧化压力^[26,43-46]。近年的研究表明,抗生素也可以导致细菌体内的氧化压力增加^[37,47]。在 LB 培养基中外加 10 mmol/L GSH 会显著降低大肠杆菌 MG1655 对庆大霉素、氨基青霉素、青霉素、环丙沙星、卡那霉素和链霉素等敏感性^[48,49],GSH 对细菌具有的这种保护作用似乎和细菌氧化压力有关。但是,谷胱甘肽对大肠杆菌中与氧化压力有关的突变体同样具有保护作用,如超氧化物歧化酶、过氧化氢歧化酶和烷基-过氧化物还原酶突变体。我们发现,在 LB 培养基中添加适量的 GSH,也可以降低铜绿假单胞菌对以上抗生素敏感性,并且氧化性谷胱甘肽也有相同的作用,这些都能够有力地说明谷胱甘肽对细菌的这种保护作用并不是通过改变细胞内氧化压力的途径,而且这些抗生素属于不同类别的抗生素,在细胞中作用的机理也是有区别的,因此谷胱甘肽可能以其它的机理来改变细菌对抗生素敏感性。

5 谷胱甘肽与群体密度感知系统的关系

在铜绿假单胞菌中,研究者发现了至少 3 套完整的群体感应系统(Quorum-sensing, QS),即 *las*、*rhl* 和基于 2-alkyl-4(1H)-quinolone (AHQ)为信号的系系统^[50,51]。QS 信号系统是指细菌可以感知周围同伴的存在,只有在细菌达到“法定数量”(Quorum)即一定密度才开始表现出一定的行为。它们在铜绿假单胞菌的早期感染中有很重要的作用,而且还控制 3%~10% 的基因表达,因此促使目前国内外学者设想希望通过控制 QS 来抑制致病菌致病因子的表达,从而达到治疗感染性疾病的目的。*Las*、*rhl* 两个信号系统分别由合酶(*lasI/rhII*)和相关转录调节物(*lasR/rhIR*)组成,*las*、*rhl* 分别产生特征性的 *N*-酰基高丝氨酸内酯(AHL)信号分子 *N*-(3-氧代十二酰)-*L*-高丝氨酸内酯(3OC12-HSL)和 *N*-丁酰基-*L*-高丝氨酸内酯(C4-HSL)。*LasR* 可激活 *lasI*, 形成一个正性自动调节环路。*LasR* 激活 *rhlR* 形成一个 QS 调节级联,在这个级联中激活 *rhl* 系统需要一个活化的

las 系统, 主要体现 LasR 激活 rhIR 导致了 *RhlR-RhlI* 系统的激活, 促使 *RhlI* 释放 C42-HSL, 与 RhlR 蛋白结合后也可调控下游一系列致病基因的表达。根据我们的研究发现, 谷胱甘肽合成酶基因在缺失 *rhlI* 基因、同时缺失 *lasI* 和 *rhlI* 基因的铜绿假单胞菌变异株中, 表达降低。这说明细胞内的谷胱甘肽也受 QS 系统调节。但是目前还没有证据表明细胞内的氧化压力平衡也受 QS 系统调节。

6 结论与展望

随着抗生素的大量使用, 细菌的耐药问题变得日益严重。而铜绿假单胞菌引起的院内感染, 也不断给临床医生提出新的困扰。在本文中, 我们就 GSH 对铜绿假单胞菌各方面的影响为主要内容进行了讨论。这些研究结果表明 GSH 可以增加铜绿假单胞菌的致病性, 也影响细菌对抗生素的敏感性。由于 GSH 已经被广泛在临床上应用, 因此谷胱甘肽在铜绿假单胞菌感染过程中所扮演的角色的研究, 对于揭示铜绿假单胞菌致病性机理是至关重要的, 也是十分迫切的。这些研究结果将为揭开 GSH 和铜绿假单胞菌关系的真正面纱提供一定的思路和参考价值, 最终使铜绿假单胞菌的感染得到解决。

参考文献

- [1] 黄 革, 肖云珍, 张燕萍. 老年病房 2000~2004 年铜绿假单胞菌耐药性变迁分析. 中国抗生素杂志, 2006, **31**(6): 346-348.
- [2] Armstrong JS, Jones DP. Glutathione depletion enforces the mitochondrial permeability transition and causes cell death in Bcl-2 overexpressing HL60 cells. *Faseb J*, 2002, **16**(10): 1263-1265.
- [3] Cantin AM, Hubbard RC, Crystal RG. Glutathione deficiency in the epithelial lining fluid of the lower respiratory tract in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis*, 1989, **139**(2): 370-372.
- [4] Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, **90**(17): 7915-7922.
- [5] Gyamfi MA, Yonamine M, Aniya Y. Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana: *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. *Gen Pharmacol*, 1999, **32**(6): 661-667.
- [6] Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA, et al. Redox regulation of cell survival. *Antioxid Redox Signal*, 2008, **10**(8): 1343-1374.

- [7] Forman HJ, Dickinson DA. Oxidative signaling and glutathione synthesis. *Biofactors*, 2003, **17**(1-4): 1-12.
- [8] Foyer CH, Noctor G. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell*, 2005, **17**(7): 1866-1875.
- [9] Rebrin I, Sohal RS. Pro-oxidant shift in glutathione redox state during aging. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, **60**(13-14): 1545-1552.
- [10] Buhl R, Vogelmeier C, Critenden M, et al. Augmentation of glutathione in the fluid lining the epithelium of the lower respiratory tract by directly administering glutathione aerosol. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1990, **87**(11): 4063-4067.
- [11] Reimer A, Edvaller B, Johansson B. Concentrations of the *Pseudomonas aeruginosa* toxin pyocyanin in human ear secretions. *Acta Otolaryngol Suppl*, 2000, **543**: 86-88.
- [12] Lau GW, Hassett DJ, Ran H, et al. The role of pyocyanin in *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Trends Mol Med*, 2004, **10**(12): 599-606.
- [13] Goldberg JB, Pier GB. The role of the CFTR in susceptibility to *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. *Trends Microbiol*, 2000, **8**(11): 514-520.
- [14] Gardner PR. Superoxide production by the mycobacterial and *pseudomonad* quinoid pigments phthiocol and pyocyanine in human lung cells. *Arch Biochem Biophys*, 1996, **333**(1): 267-274.
- [15] Hassan HM, Fridovich I. Mechanism of the antibiotic action pyocyanine. *J Bacteriol*, 1980, **141**(1): 156-163.
- [16] Britigan BE, Roeder TL, Rasmussen GT, et al. Interaction of the *Pseudomonas aeruginosa* secretory products pyocyanin and pyochelin generates hydroxyl radical and causes synergistic damage to endothelial cells. Implications for *Pseudomonas*-associated tissue injury. *J Clin Invest*, 1992, **90**(6): 2187-2196.
- [17] Schwarzer C, Fischer H, Kim EJ, et al. Oxidative stress caused by pyocyanin impairs CFTR Cl(-) transport in human bronchial epithelial cells. *Free Radic Biol Med*, 2008, **45**(12): 1653-1662.
- [18] O'Malley YQ, Reszka KJ, Rasmussen GT, et al. The *Pseudomonas* secretory product pyocyanin inhibits catalase activity in human lung epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2003, **285**(5): 1077-1086.
- [19] O'Malley YQ, Reszka KJ, Spitz DR, et al. *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin directly oxidizes glutathione and decreases its levels in airway epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, **287**(1): 94-103.
- [20] Biswas SK, Rahman I. Environmental toxicity, redox signaling and lung inflammation: The role of glutathione. *Mol Aspects Med*, 2009, **30**(1-2): 60-76.
- [21] Lowry MH, McAllister BP, Jean JC, et al. Lung lining fluid glutathione attenuates IL-13-induced asthma. *Am J*

- Respir Cell Mol Biol*, 2008, **38**(5): 509–516.
- [22] Chappell S, Daly L, Morgan K, *et al.* Genetic variants of microsomal epoxide hydrolase and glutamate-cysteine ligase in COPD. *Eur Respir J*, 2008, **32**(4): 931–937.
- [23] McKone EF, Shao J, Frangolias DD, *et al.* Variants in the glutamate-cysteine-ligase gene are associated with cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, **174**(4): 415–419.
- [24] Roun JH, Borok Z, McElvaney NG, *et al.* Glutathione aerosol suppresses lung epithelial surface inflammatory cell-derived oxidants in cystic fibrosis. *J Appl Physiol*, 1999, **87**(1): 438–443.
- [25] Tirouvanziam R, Conrad CK, Bottiglieri T, *et al.* High-dose oral N-acetylcysteine, a glutathione prodrug, modulates inflammation in cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, **103**(12): 4628–4633.
- [26] Wood LG, Fitzgerald DA, Lee AK, *et al.* Improved antioxidant and fatty acid status of patients with cystic fibrosis after antioxidant supplementation is linked to improved lung function. *Am J Clin Nutr*, 2003, **77**(1): 150–159.
- [27] Visca A, Bishop CT, Hilton SC, *et al.* Improvement in clinical markers in CF patients using a reduced glutathione regimen: an uncontrolled, observational study. *J Cyst Fibros*, 2008, **7**(5): 433–436.
- [28] Hartl D, Starosta V, Maier K, *et al.* Inhaled glutathione decreases PGE2 and increases lymphocytes in cystic fibrosis lungs. *Free Radic Biol Med*, 2005, **39**(4): 463–472.
- [29] Duijvestijn YC, Brand PL. Systematic review of N-acetylcysteine in cystic fibrosis. *Acta Paediatr*, 1999, **88**(1): 38–41.
- [30] Koike Y, Hisada T, Utsugi M, *et al.* Glutathione redox regulates airway hyperresponsiveness and airway inflammation in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, **37**(3): 322–329.
- [31] Cornelis GR. Type III secretion: a bacterial device for close combat with cells of their eukaryotic host. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2000, **355**(1397): 681–693.
- [32] Ma Q, Zhai Y, Schneider JC, *et al.* Protein secretion systems of *Pseudomonas aeruginosa* and *P. fluorescens*. *Biochim Biophys Acta*, 2003, **1611**(1-2): 223–233.
- [33] Collmer A, Badel JL, Charkowski AO, *et al.* *Pseudomonas syringae* Hrp type III secretion system and effector proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, **97**(16): 8770–8777.
- [34] 罗勤, 金守光. 铜绿假单胞菌型分泌系统的分子调控机制. *微生物学报*. 2008, **48**(10): 1413~1417.
- [35] Duan K, Dammel C, Stein J, *et al.* Modulation of *Pseudomonas aeruginosa* gene expression by host microflora through interspecies communication. *Mol Microbiol*, 2003, **50**(5): 1477–1491.
- [36] Drew R, Miners JO. The effects of buthionine sulphoximine (BSO) on glutathione depletion and xenobiotic bio-transformation. *Biochem Pharmacol*, 1984, **33**(19): 2989–2994.
- [37] Albesa I, Becerra MC, Battan PC, *et al.* Oxidative stress involved in the antibacterial action of different antibiotics. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **317**(2): 605–609.
- [38] Narayana K. An aminoglycoside antibiotic gentamycin induces oxidative stress, reduces antioxidant reserve and impairs spermatogenesis in rats. *J Toxicol Sci*, 2008, **33**(1): 85–96.
- [39] He Z, Li B, Yu L, *et al.* Suppression of oxidant-induced glutathione synthesis by erythromycin in human bronchial epithelial cells. *Respiration*, 2008, **75**(2): 202–209.
- [40] He ZY, Zou ZX, Yu L, *et al.* Effects of erythromycin on hydrogen peroxide-induced interleukin-8 synthesis and regulation of glutathione in human bronchial epithelial cells. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2005, **85**(14): 976–980.
- [41] Lucena MI, Andrade RJ, Martinez C, *et al.* Glutathione S-transferase m1 and t1 null genotypes increase susceptibility to idiosyncratic drug-induced liver injury. *Hepatology*, 2008, **48**(2): 588–596.
- [42] Farombi EO, Ugwuezunmba MC, Ezenwadu TT, *et al.* Tetracycline-induced reproductive toxicity in male rats: effects of vitamin C and N-acetylcysteine. *Exp Toxicol Pathol*, 2008, **60**(1): 77–85.
- [43] Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annu Rev Biochem*, 1983, **52**: 711–760.
- [44] Douglas KT. Mechanism of action of glutathione-dependent enzymes. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, 1987, **59**: 103–167.
- [45] Penninckx MJ, Elskens MT. Metabolism and functions of glutathione in micro-organisms. *Adv Microb Physiol*, 1993, **34**: 239–301.
- [46] Arrigo AP. Gene expression and the thiol redox state. *Free Radic Biol Med*, 1999, **27**(9-10): 936–944.
- [47] Becerra MC, Albesa I. Oxidative stress induced by ciprofloxacin in *Staphylococcus aureus*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **297**(4): 1003–1007.
- [48] Goswami M, Jawali N. Glutathione-mediated augmentation of beta-lactam antibacterial activity against *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother*, 2007, **60**(1): 184–185.
- [49] Goswami M, Mangoli SH, Jawali N. Involvement of reactive oxygen species in the action of ciprofloxacin against *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, **50**(3): 949–954.
- [50] Diggle SP, Crusz SA, Camara M. Quorum sensing. *Curr Biol*, 2007, **17**(21): 907–910.
- [51] Ochsner UA, Koch KA, Fiechter A, *et al.* Isolation and characterization of a regulatory gene affecting rhamnolipid biosurfactant synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *J bacterial*, 1994, **176**: 2044–2054.