

铜绿假单胞菌生物膜抑制药研究进展

Research progress on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm inhibitor

王龙梓(WANG Long-zi)¹ 综述 王贵年(WANG Gui-nian)² 审校

(1 淄博职业学院药理学系, 山东 淄博 255314; 2 淄博市第一医院, 山东 淄博 255200)

(1 Pharmaceutical Sciences, Zibo Vocational College, Zibo 255314, China; 2 First Hospital of Zibo, Zibo 255200, China)

【关键词】 铜绿假单胞菌; 细菌生物膜; 藻酸盐; 抗药性; 微生物; 生物膜抑制药

【中图分类号】 R378.99⁺1 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-9638(2011)01-0074-03

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)是常见的医院感染致病菌,其严重的耐药性与产生细菌生物膜(bacterial biofilm, BF)密切相关。藻酸盐是 PA 生物膜的主要组成成分。研究发现,抗菌药物等可对 BF 及其主要成分藻酸盐产生抑制作用。本文综述了近年来 PA 生物膜及其抑制药物的研究进展。

1 PA 生物膜

1.1 PA 及其耐药性 PA 为革兰阴性专性需氧菌,在自然界分布广泛,是临床常见的条件致病菌,各种水、空气及正常人的皮肤、呼吸道和肠道等都有本菌存在。PA 作为医院感染的主要致病菌,受到国内外学者的关注。对 PA 作用较强的抗菌药物有半合成青霉素、第三代头孢菌素、氨基糖苷类和氟喹诺酮类药物等。

近年来,随着抗菌药物的广泛应用及细菌天然耐药的发展,PA 感染更为常见,而且难治。有研究显示^[1],PA 仍是医院感染的主要致病菌,极易耐药,应严格控制其医院感染的发生。而且,PA 作为一种条件致病菌,致呼吸道感染率有上升趋势,尤其是高龄、年幼、患慢性疾病、病情危重、免疫力受损的患者,在有侵入性诊治措施或医院监护病房中更为突出,已成为医院感染的重要致病原之一。

周田美等^[2]观察杭州市第一人民医院临床分离的 PA 耐药性变迁及相关耐药基因情况,发现 PA 对氨曲南、亚胺培南、头孢他啶、头孢吡肟、哌拉西

林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、环丙沙星、左氧氟沙星、庆大霉素和阿米卡星等常用抗菌药物的耐药率呈增高趋势,且多重耐药现象严重。多重耐药 PA 的耐药机制极为复杂,主要包括耐药基因突变、产生灭活酶、改变药物的作用靶点、药物渗透障碍与主动外排机制高表达、形成生物膜等。BF 作为细菌耐药的重要机制,最近受到了国内外学者的广泛关注。

1.2 PA 与 BF BF 又称菌膜,是指细菌在生长过程中附着于物体表面而形成的由细菌细胞及其分泌的含水聚合性基质(主要为胞外多糖)等所组成的膜样多细菌复合体。BF 是细菌为适应自然环境而形成的特殊存在形式,它是与游走细胞相对应的存在形式,绝大多数细菌在进化过程中逐渐形成了精细的黏附机制,分泌基质并相互粘连形成膜状物附着于病灶表面,从而形成生物膜的复杂团体,并借信号分子相互交流以协调它们的行为,其生化组成主要为藻酸盐多糖和蛋白复合物。

自然界中,BF 可由单一菌种形成,也可由多菌种共同形成,只要条件适宜,任何细菌均可形成生物膜。不同菌种形成生物膜的能力不同,人体内一些条件致病菌,如 PA、表皮葡萄球菌、大肠埃希菌等更易形成生物膜^[3]。

目前,抑制 BF 尤其是抑制 PA 生物膜药物的研究受到广泛重视。研究显示^[4],大环内酯类药物克拉霉素与氟喹诺酮类药物加替沙星联用可有效清除大鼠肺部 PA 生物膜感染。具有抗菌作用的中药双黄连溶液与加替沙星联用对 PA 生物膜有明显抑

【收稿日期】 2010-05-13

【作者简介】 王龙梓(1976-),男(汉族),山东省淄博市人,讲师,主要从事细菌耐药和脑血管药理学研究。

【通讯作者】 王龙梓 E-mail: wanglongzi76@163.com

制作用,而且两药有明显的协同作用^[5]。此外,祛痰药盐酸氨溴索与阿米卡星联用,增强了阿米卡星对生物膜内 PA 的杀菌作用^[6]。

1.3 藻酸盐(BF 的主要成分) BF 致病机制复杂,其对人体的致病性表现在 2 方面:(1)菌膜释放浮游菌,造成慢性感染急性发作,如慢性支气管炎急性发作;(2)BF 的主要成分藻酸盐会导致变态免疫性疾病,如弥漫性泛细支气管炎。藻酸盐具有抗原性,能刺激机体产生抗体。支气管扩张症及弥漫性泛细支气管炎患者中,血清抗藻酸盐抗体明显增高,尤其是痰菌阳性患者的抗体增高水平更为明显。这种抗原抗体反应现已证明是一种对机体有害的免疫反应^[7]。由此看来,BF 是慢性细菌感染的重要原因。对于 PA 而言,藻酸盐作为黏液型 PA 生物膜胞外基质的主要成分,在 PA 生物膜的形成中及耐药性方面起到重要的作用^[8]。

生物膜藻酸盐在 BF 感染中扮演重要角色,是 BF 形成和发展的重要因素。研究显示^[9],细菌沉积和黏附是 BF 形成的关键步骤,屏蔽生物膜藻酸盐的作用可减少 BF 的出现。藻酸盐的过度表达可使黏液型 PA 形成更厚的 BF,更有利于形成菌落,而海藻酸钠酶则有助于消散这些菌落^[10]。PA 产生藻酸盐可创造水合微环境,增加细菌对缺水环境的耐受力,利于形成生物膜结构^[11]。

国外学者在对 BF 相关感染的研究中发现,细菌感染反复发作、难以治愈的原因与 BF 所致对抗菌药物的高度耐药和免疫逃逸密切相关^[12]。王睿等^[13]研究认为,PA 生物膜感染免疫逃逸可能与其分泌藻酸盐免疫抑制作用密切相关。有文献报道^[14],藻酸盐可保护 PA 生物膜内的细菌免受 γ -干扰素介导的巨噬细胞攻击。在典型的囊性纤维化合并生物膜病的患者中发现,患者对黏液型假单胞菌免疫反应低下,且无法消除藻酸盐层的调理素抗体,使 BF 中的细菌在藻酸盐的保护下,对吞噬细胞的吞噬作用不敏感。BF 对免疫功能的负性影响,有益于感染的发生、发展,且不利于抗感染治疗^[15]。

2 PA 生物膜抑制药:作用于藻酸盐

研究显示,肺囊性纤维化与 PA 感染密切相关。肺囊性纤维化是一种慢性呼吸系统疾病,亦是一种隐性遗传病。该病患者支气管黏膜上皮细胞清洁功能存在缺陷和障碍,易感染 PA,且在呼吸道黏膜上皮细胞层表面形成 BF,导致肺部慢性持续感染。大

环内酯类药物阿奇霉素应用于肺囊性纤维化小鼠模型可减轻肺部 PA 感染,其作用机制是阿奇霉素可抑制 PA 形成藻酸盐 BF,增加 PA 对抗菌药物的敏感性^[16]。

由此看来,减少 PA 形成生物膜中的藻酸盐成分,有利于抗菌药物杀灭 PA,从而有助于相关感染的控制。研究显示^[17],海藻酸钠酶通过减少 BF 中的 PA,促进抗菌药物杀灭细菌;藻酸盐的乙酰化抑制 PA 的表面定植^[18]。而且,多种对 PA 相关感染敏感的抗菌药物与药物对 PA 生物膜的主要成分藻酸盐的影响有关。

倪明等^[19]研究亚胺培南/西司他丁对黏液型 PA17 与非黏液型 PAO1 生物膜形成及其藻酸盐合成基因 *algD* 表达的影响。结果显示,亚胺培南/西司他丁对黏液型和非黏液型 PA *algD* 表达与生物膜形成的作用一致;虽可诱导 *algD* 表达上调,从而使藻酸盐合成增加,但若从生物膜形成的早期开始使用,仍可抑制和破坏生物膜的形成。李芳等^[20]探讨了氨溴索对 PA 临床分离株形成的 BF 主要成分藻酸盐的干预作用,研究其对藻酸盐合成过程中起重要作用的基因表达和合成过程中限速酶活性的影响,以及其对藻酸盐降解的影响。结果显示,氨溴索可以降低 PA 的 BF 藻酸盐含量,影响藻酸盐合成过程中重要基因 *algD*、*algU*、*algR* 和 *mucA* 的 mRNA 表达,降低藻酸盐合成限速酶 GMD 活性,但对藻酸盐的降解无影响。

3 展望

大量研究显示,BF 的产生是 PA 耐药的重要因素,其能够拮抗抗 PA 药物的作用,至今仍然未找到根除 PA 生物膜的有效方法。藻酸盐是 PA 生物膜的主要成分,在 PA 生物膜形成中发挥重要作用。通过对 PA 生物膜及其藻酸盐成分的研究,以期研发 PA 生物膜抑制药,从而有效治疗顽固性 PA 感染。

[参考文献]

- [1] 宁波,张虎,孙金杰. 空军总医院铜绿假单胞菌感染及耐药性分析[J]. 空军总医院学报,2008,24(2):87-89.
- [2] 周田美,余道军,董晓勤,等. 铜绿假单胞菌耐药性分析及耐药基因检测[J]. 中华临床感染病杂志,2009,2(3):154-158.
- [3] 唐俊妮,史贤明,王红宁,等. 细菌生物膜的形成与调控机制[J]. 生物学杂志,2009,26(2):48-50.

- [4] 柴栋,王睿,裴斐,等. 克拉霉素与加替沙星联用对大鼠铜绿假单胞菌生物被膜肺部感染的治疗作用[J]. 中国临床药理学与治疗学,2003,8(6):618-620.
- [5] 方颖,王彦,于景云,等. 双黄连溶液与加替沙星联用对铜绿假单胞菌生物被膜的影响[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(6):104-108.
- [6] 陈海荣,刘美娟,林松娟,等. 盐酸氨溴索联合阿米卡星对铜绿假单胞菌成熟生物膜的体外影响[J]. 潍坊医学院学报,2009,31(2):152-154.
- [7] 小林宏行,雷雨. 细菌菌膜的基础与临床[J]. 中国临床药理学杂志,1999,15(4):299-307.
- [8] 李芳,俞加林. 铜绿假单胞菌生物膜藻酸盐成分的致病作用[J]. 中国微生态学杂志,2007,19(4):400.
- [9] Herzberg M, Rezne T Z, Ziemba C, et al. Impact of higher alginate expression on deposition of *Pseudomonas aeruginosa* in radial stagnation point flow and reverse osmosis systems [J]. Environ Sci Technol,2009,43(19):7376-7383.
- [10] Hay I D, Gatland K, Campisano A, et al. Impact of alginate overproduction on attachment and biofilm architecture of a supermucoid *Pseudomonas aeruginosa* strain [J]. Appl Environ Microbiol,2009,75(18):6022-6025.
- [11] Chang W S, van de Mortel M, Nielsen L, et al. Alginate production by *Pseudomonas putida* creates a hydrated microenvironment and contributes to biofilm architecture and stress tolerance under water-limiting conditions [J]. J Bacteriol,2007,189(22):8290-8299.
- [12] Kharazmi A. Mechanisms involved in the evasion of host defence by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Immunol Lett, 1991, 30(2):201-205.
- [13] 王睿,柴栋,裴斐,等. 粘液型铜绿假单胞菌藻酸盐对免疫细胞功能影响[J]. 中华医院感染学杂志,2004,14(1):25-27.
- [14] Leid J G, Willson C J, Shirtliff M E, et al. The exopolysaccharide alginate protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria from IFN-gamma-mediated macrophage killing [J]. J Immunol,2005,175(11):7512-7518.
- [15] Kondoh K,Hashiba M. Inhibitory effect of macrolide antibiotics on biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho,1998,101(1):25.
- [16] Hoffmann N, Lee B, Hentzer M, et al. Azithromycin blocks quorum sensing and alginate polymer formation and increases the sensitivity to serum and stationary-growth-phase killing of *Pseudomonas aeruginosa* and attenuates chronic *P. aeruginosa* lung infection in Cftr (-/-) mice [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007,51(10):3677-3687.
- [17] Alkawash M A, Soothill J S, Schiller N L. Alginate lyase enhances antibiotic killing of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms[J]. APMIS,2006,114(2):131-138.
- [18] Tielen P, Strathmann M, Jaeger K E, et al. Alginate acetylation influences initial surface colonization by mucoid *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Microbiol Res, 2005,160(2):165-176.
- [19] 倪明,余冰,田德英,等. 亚胺培南/西司他丁对铜绿假单胞菌生物膜形成和藻酸盐合成基因表达的影响[J]. 内科急危重症杂志,2008,14(4):190-193.
- [20] 李芳,俞加林,邓兵. 氨溴索对粘液型铜绿假单胞菌生物膜藻酸盐作用的体外研究[J]. 中国微生态学杂志,2008,20(5):433-436.

• 信息 •

《中国感染控制杂志》被 WPRIM 收录

继被美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)等国际检索机构收录之后,我刊又被世界卫生组织西太平洋地区医学索引(Western Pacific Region Index Medicus,WPRIM)收录。

世界卫生组织(World Health Organization,WHO)为促进卫生信息的全球共享与利用,于2005年启动了全球卫生图书馆(Global Health Library,GHL)项目,旨在建立基于互联网的卫生虚拟图书馆,便捷地向全世界提供卫生相关信息。GHL的一项重要内容是建立全球医学索引(Global Index Medicus,GIM),提供全世界的医学文献题录及文摘。WHO将成员国分为非洲区、美洲区、中东区、欧洲区、东南亚区和西太区共6个区,每个区分别建立各自的医学索引,共同组成GIM,研究人员可以通过联合搜索引擎查找、下载所需要的相关信息。

WPRIM是GHL的一个重要组成部分,主要收录WHO西太平洋各成员国和地区所出版的覆盖卫生、生物医学领域的期刊及灰色文献的题录(包括文摘)信息。2006年12月,GHL中国委员会于北京成立,GHL中国委员会于2007年8月在中华医学会成立了“WPRIM中国生物医学期刊评审委员会”,其主要任务是通过期刊评审,向WPRIM推荐中国正式出版的优秀生物医学期刊,以便促进国内外的学术交流,更好地推动中国生物医学期刊事业的发展。