

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20195537

· 综述 ·

鲍曼不动杆菌生物被膜形成与调控的研究进展

蔺 飞^{1,2}, 余 彬³, 袁明勇¹, 凌保东²

(1. 成都医学院第一附属医院药学部, 四川 成都 610500; 2. 成都医学院结构特异性小分子药物研究四川省高校重点实验室, 四川 成都 610500; 3. 绵阳市中心医院药学部, 四川 绵阳 621000)

[摘要] 鲍曼不动杆菌是医院感染常见病原菌之一。鲍曼不动杆菌生物被膜形成可导致其在医院环境长期存在, 耐药性和致病性增强, 以及感染反复发生。生物被膜形成和调控是一个复杂的动态过程, 受多种因素影响与多种机制调控。对生物被膜形成过程的影响因素和调控机制进行研究, 可以帮助发现新的作用靶点, 寻找新的抗菌药物治疗鲍曼不动杆菌感染。本文就鲍曼不动杆菌生物被膜形成过程、影响因素和调控机制的研究进展进行综述, 以期为其感染防治提供方法及参考。

[关键词] 鲍曼不动杆菌; 生物被膜; 调控机制; 研究进展

[中图分类号] R378.99 R446.5

Research advances in *Acinetobacter baumannii* biofilm formation and regulation

LIN Fei^{1,2}, YU Bin³, YUAN Ming-yong¹, LING Bao-dong² (1. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China; 2. Sichuan Province College Key Laboratory of Structure-Specific Small Molecule Drugs, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China; 3. Department of Pharmacy, Mianyang Central Hospital, Mianyang 621000, China)

[Abstract] *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) is one of the common pathogens causing healthcare-associated infection (HAI). The formation of *A. baumannii* biofilm can lead to its long-term presence in hospital environment, increase drug resistance and pathogenicity, and repeated occurrence of infection. Biofilm formation and regulation is a complex dynamic process, which is influenced by multiple factors and regulated by various mechanisms. The study on influencing factors and regulatory mechanisms of biofilm formation is conducive to finding new targets and searching new antimicrobial agents for the treatment of *A. baumannii* infection. In this paper, the progress of biofilm formation, influencing factors and regulatory mechanisms of *A. baumannii* are reviewed in order to provide methods and references for controlling its infection.

[Key words] *Acinetobacter baumannii*; biofilm; regulatory mechanism; research advance

鲍曼不动杆菌是导致肺炎、脑膜炎、败血症、尿路感染、皮肤软组织感染等医院感染的条件致病菌^[1]。耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌在世界卫生组织(WHO)首份抗菌药物耐药“重点病原体”清单中, 被列为对人类健康构成最大威胁的、急需开发新抗

菌药物的 12 种重点耐药细菌之首。鲍曼不动杆菌可在干燥物体表面存活长达 36 d, 在生命和非生命的表面长期生存与生物被膜形成有关^[2-3]。研究^[3]证实, 鲍曼不动杆菌一旦形成生物被膜, 可介导对抗菌药物和消毒剂耐药, 导致其耐药性和致病性增强,

[收稿日期] 2019-06-25

[基金项目] 国家自然科学基金委面上项目(81373454)

[作者简介] 蔺飞(1992-), 男(汉族), 四川省泸州市人, 药师, 主要从事抗菌药物耐药机制研究。

[通信作者] 凌保东 E-mail: lingbaodong@cmc.edu.cn

以及感染反复发生。生物被膜状态的细菌最低抑菌浓度 (MIC) 值是浮游状态的 10~1 000 倍, 超过 80% 的临床细菌感染与生物被膜形成有关^[4], 已成为临床治疗最棘手的问题。本文就鲍曼不动杆菌生物被膜形成过程、影响因素和调控机制的研究进展进行综述, 以期为其感染防治提供方法及参考。

1 生物被膜的形成

生物被膜由细菌菌落包裹在自身分泌细胞外基质 (EPS) 并黏附于物体表面形成, 基质主要由碳水化合物、多糖、核酸、蛋白质和其他大分子物质等组成, 是细菌的第一道自我保护防线^[5]。生物被膜形成是一个复杂过程, 包括黏附期、聚集期、成熟期和脱落期四个阶段。浮游细菌受内外信号刺激, 激活相关调控机制促进细菌菌毛合成与分泌, 介导细菌黏附物体表面与菌落形成。菌落激活群体感应 (QS) 系统调控基因分泌自诱导信号分子, 诱导产生大量 EPS 包裹细菌不断增厚形成生物被膜。包裹细菌分泌相关物质促进生物被膜成熟, 并在一定条件下产生水解酶破坏 EPS, 细菌分散脱落形成浮游细菌, 浮游细菌在一定条件下又形成生物被膜。

2 生物被膜形成的影响因素与调控机制

鲍曼不动杆菌生物被膜形成是一个动态过程, 受 QS、细菌附属物 (纤毛和鞭毛)、膜表面蛋白 (生物被膜相关蛋白、外膜蛋白)、EPS (多糖蛋白、核酸)、营养 (离子、碳源、氮源)、耐药基因等影响和调控^[3,6]。

2.1 菌毛及相关调控系统 菌毛是细菌黏附的重要结构, 是菌落和生物被膜形成的基础。细菌之间、细菌与生命体和非生命体间的黏附是生物被膜形成第一步。鲍曼不动杆菌具有不同种类菌毛参与黏附, 并受多种机制调控^[1]。

2.1.1 菌毛 由基因 *csuA*/BABCDE 编码合成。*csuA*/BAB 编码菌毛亚单位; *csuC* 编码菌毛蛋白转运伴侣蛋白, 结合并抑制亚单位水解; *csuD* 编码含通道的引导分子, 结合黏附素, 与伴侣蛋白协同组装和分泌菌毛; *csuE* 编码黏附素, 参与菌毛形成、黏附和生物被膜形成。鲍曼不动杆菌 19606 形成长、短两种菌毛, 参与生物被膜形成, *csuE* 突变株仅表达短菌毛, 黏附上皮细胞能力显著高于野生株^[7]。鲍曼不动杆菌 MAR002 中 LH92_111085 编码长菌

毛, 可促进生物被膜成熟和黏附, 生物被膜细胞中该基因表达是浮游细胞的 25 倍, 且基因失活菌株不形成长菌毛, 生物被膜形成减少^[8]。

鲍曼不动杆菌 17978 编码光相关菌毛 PrpAB-CD 基因 A1S_12091 缺失, 使运动及生物被膜形成能力降低, 但在黑暗中的塑料表面生物被膜形成能力增加; 菌毛蛋白亚基编码基因 *prpA* 黑暗中表达比光照下增加 2.2 倍^[9]。鲍曼不动杆菌 17978 表面多蛋白 IV 型菌毛参与细菌运动及黏附, 目前发现的基因有: *pilABCDEFGHIJ*、*pilMNOPQRST*、*pilU*、*pilW*、*pilYZ*, 影响和调控生物被膜机制尚不清楚^[10-11]。BfmSR 及 GacSA 双组分调控系统和外排泵调控影响菌毛合成^[4, 12-13]。

2.1.2 BfmSR 双组分调控系统 由 BfmS 和 BfmR 组成该调控系统, 反应调控子 BfmR 调控伴侣蛋白和引导分子表达, 感受器激酶 BfmS 感应外界条件如营养、干燥等变化, 调控菌毛组装。鲍曼不动杆菌 19606 BfmR 失活, *csu* 不表达, 菌毛不产生, 生物被膜形成受损; BfmS 失活不干扰 BfmR 表达, 但生物被膜形成减少^[12]。BfmSR 可与其他调控系统共同作用, 调控生物被膜形成和黏附宿主细胞。

2.1.3 GacSA 双组分调控系统 由反应调控子 GacA 和感受器激酶 GacS 组成该系统, 调控菌毛合成、细菌运动、生物被膜形成和黏附宿主细胞。GacS 调控 *csu* 表达, GacS 失活, 菌毛显著缩短, 生物被膜形成减少; GacA 失活, 显著影响菌毛形成和生物被膜结构^[13]。除调控 *csu* 外, 也调控 A1S_2213-17、I 型菌毛 A1S_1507、*motB* (A1S_1193)、*paa* 基因簇 (A1S_1335-49)、精氨酸代谢 (*ast*、A1S_3128-31) 和 *algZ* (A1S_0260) 等^[14]。

2.1.4 CheA/Y 双组分调控系统 A1S_2811 编码组氨酸激酶传出反应调控因子, 羧基端含四个组氨酸磷酸转移结构、CheA 调控因子和 CheY 信号受体。鲍曼不动杆菌 17978 Δ A1S_2811 菌株生物被膜形成、菌毛样结构数量和 EPS 量均减少, *csuA*/ABCDE 及 *abaI* 表达和信号分子乙酰高丝氨酸内酯 (AHLs) 合成也降低, 增加信号分子 AHLs 后生物被膜形成恢复^[10]。A1S_2811 通过调控 *csuA*/ABCDE 和 QS 调节基因 A1S_0112-0119 调控生物被膜形成^[10]。

2.2 QS 及相关调控系统 QS 是细菌自身群体密度信号感受系统, 是细菌自身分泌自诱导信号分子相互沟通的过程。信号分子感受细菌群体密度, 随密度增加而增加, 调控相应基因表达, 改变细菌生存

方式,可调控毒力因子、生物被膜形成和代谢产物产生等生长繁殖过程。

鲍曼不动杆菌分泌自诱导分子 AHLs 进行信息交流,引起聚集,促进鲍曼不动杆菌从浮游状态到生物被膜转化,主要作用于生物被膜形成中、后期。*abaI/abaR* 调控 AHLs 分泌,*abaI* 编码合成 AHLs,*abaR* 是合成受体,作为转录活化因子^[6]。已发现 6 种以上的 AHLs,以含 C₁₀ 或 C₁₂ 酰基的 AHLs 最常见,63% 不动杆菌属细菌至少分泌 1 种 AHLs^[15]。*abaI* 是细菌群体密度调控基因,*abaI* 失活,生物被膜形成减少 30%~40%^[16]。另一自诱导合成基因 *luxI/R*,在高 AHLs 活性临床菌株中存在;65 株鲍曼不动杆菌中 *luxI* 和 *luxR* 阳性率分别为 80%、61.5%,未研究对 AHLs 合成的调节机制^[17]。*luxI* 编码 LuxI 合成酶,调控 AHLs 合成,*luxR* 编码转录活化因子 LuxR 受体;*luxI/luxR* 与 *abaI/abaR* 是同源体。营养条件影响 AHLs 分子合成,醋酸钙不动杆菌 BD413 在基本培养基 (MMA) 和加 0.1% 胰蛋白胨的 MMA 培养下分别检测出 4 种和 3 种 AHLs 分子^[18]。高浓度铁抑制 AHLs 合成、分泌,铁浓度为 20、80 μmol 时,鲍曼不动杆菌 AHLs 浓度是 70、40 μmol^[19]。外排泵 AdeFGH 增加生物被膜中 AHLs 分子的转运。鲍曼不动杆菌分泌的非 AHLs 可减少生物被膜形成^[20]。

c-di-GMP 是细菌间相互交流的第二信使,主要调控细菌黏附、细菌间相互作用和生物被膜形成,低浓度 c-di-GMP 减少生物被膜形成和黏附^[3]。抑制 c-di-GMP 合成调控酶双胍基环化酶 (DGC) 可减少生物被膜形成,DGC 抑制剂可破坏已形成的生物被膜^[21]。此外,鲍曼不动杆菌 17978 QS 调控基因 A1S_0114 突变株不能形成成熟的生物被膜^[22]。A1S_0114 参与编码脂肽化合物 Acinetin 505 (Ac-505),介导黏附和生物被膜形成。A1S_0116 编码 RND 外排泵,促进 Ac-505 外排,促进生物被膜形成。A1S_0116 缺失和 Ac-505 对生物被膜形成和成熟的影响需进一步研究^[22]。

2.3 EPS 的分泌与调控 EPS 黏附包裹单个细菌而形成生物被膜,保护细菌不受环境有害物质侵害,构成和稳定生物被膜三维结构,当 AHLs 等信号分子分泌产生达到阈值,激活相应密度感应系统基因,分泌大量 EPS,分泌过程受多种机制调控^[3]。

2.3.1 O-糖基化系统 强大进化压力使 O-糖基化系统在鲍曼不动杆菌广泛存在,促进黏附和增加成熟生物被膜质量及密度。*pglC* 和 *pglL* 编码合成

的 O 型五糖组成糖蛋白和荚膜多糖。*pglL* 突变株 O-糖基化严重缺失,生物被膜形成明显下降^[23]。*pglC* 突变菌株不能合成糖蛋白,生物被膜结构异常和形成受阻^[24]。

2.3.2 多聚 β-1,6-乙酰葡萄糖胺 (PNAG) PNAG 促进生物被膜发展、成熟,是 EPS 主要成分,保持生物被膜完整性。*pgaABCD* 编码调控 PNAG,*pgaA* 编码外膜蛋白,*pgaB* 编码含脱乙酰基结构多糖蛋白,共同参与 PNAG 外膜转运;*pgaC* 含多次跨膜域和糖基转移酶 2 家族同源的细胞质域,参与 PNAG 合成和内膜转运^[25]。PNAG 不是静止下必需的,但在维持振荡下生物被膜完整中起重要作用^[26]。鲍曼不动杆菌 S1 与 S1Δ*pgaABCD* 菌株,静止下两者生物被膜形成无明显差别;振荡下,S1 菌株形成紧密环状黏附细胞,即形成强生物被膜,S1Δ*pgaABCD* 菌株环状黏附细胞不明显,恢复 *pgaABCD* 后即形成生物被膜^[26]。QS 调控基因 *abaI* 与 *pgaB* 表达变化趋势相同,临床菌株生物被膜形成可能与 *pgaB* 表达水平有关^[25]。

2.3.3 核糖核酸酶 (RNase) T2 家族蛋白 RNase T2 蛋白能促进鲍曼不动杆菌黏附和调控基因表达,促进生物被膜形成。干扰鲍曼不动杆菌 17978 RNase T2 蛋白编码区,其定植在聚苯乙烯、聚丙烯、玻璃和不锈钢表面菌量显著减少。编码基因 A1S_3026 突变株中,参与编码菌毛蛋白、分泌系统和其他功能蛋白等 29 个基因表达降低 50% 以上;野生菌株和基因恢复菌株 A1S_3026 表达量分别增加 6.6 倍和 155 倍,其余 28 个基因表达量上升^[27]。

2.3.4 细胞外 DNA (eDNA) eDNA 是 EPS 核酸的重要组成部分,对生物被膜形成开始和稳定不可或缺。序列分析和 DNA 酶处理分析发现,eDNA 和基因组 DNA 高度相似。细菌裂解液、细菌上清液、囊泡上清液和纯化 eDNA 可不同程度增加鲍曼不动杆菌 AIIMS7 生物被膜形成,最大增加 224.64%。如采用 DNase I 处理,则生物被膜形成下降 59.41%^[28]。

2.3.5 磷酸甘露糖苷酶/磷酸葡萄糖苷酶 (PMM/PGM) 鲍曼不动杆菌 AIIMS7 编码双功能酶 PMM/PGM 的基因 *algC*,在黏附和生物被膜成熟阶段高表达,对生物被膜形成具有重要作用。在 3~96 h 的培养过程中,*algC* 在生物被膜细胞中表达升高最高达 81.59 倍,浮游细胞仅升高 3.24 倍^[29]。

2.3.6 糖代谢和组氨酸代谢通路 Leloir 通路是鲍曼不动杆菌的糖代谢通路,由 GalM 介导 β-葡萄

糖转化为 α -葡萄糖, α -葡萄糖与磷酸根离子作用转化为一磷酸葡萄糖, 再由 GalU 介导转化为 UDP-葡萄糖, GalE 介导 UDP-葡萄糖与 UDP-半乳糖间相互转化, UDP-葡萄糖与 UDP-半乳糖参与 EPS 合成^[30]。GalM、GalU 和 GalE 通过调节 EPS 合成而影响生物被膜形成。磷酸盐转运蛋白 PstS 转运胞外磷酸根离子到胞内, 增加磷酸根离子浓度和磷酸化葡萄糖及 EPS 形成, 生物被膜细胞 *pstS* 表达升高^[30]。

EPS 也受 L 型氨基酸代谢影响, 9 种不同 L 型氨基酸中 L-组氨酸促进生物被膜形成。外膜蛋白 CarO 及 OmpA 转运胞外 L-组氨酸入内, HutU 介导代谢。鲍曼不动杆菌 17978 Δhut 菌株生物被膜形成减少, $\Delta hut-c$ 菌株生物被膜形成增加。加入 20 mmol L-组氨酸, $\Delta ompA$ 菌株生物被膜形成几乎不受影响, $\Delta carO$ 、 $\Delta dcaP$ 、 $\Delta oprD$ 和 $\Delta omp33$ 菌株生物被膜形成增加^[30]。磷酸核糖基甲酰亚氨基-5-氨基咪唑甲酰胺核糖核苷酸异构酶(HisA)调控组氨酸代谢, 对生物被膜调控机制尚不清楚^[30]。

2.4 外排泵与调控 鲍曼不动杆菌外排泵对多种抗菌药物有外排作用, 是重要的耐药机制。耐药结节分化(RND)家族和主要易化因子(MFS)超家族外排泵在生物被膜形成和 QS 等过程中扮演重要角色^[4]。生物被膜细胞中 RND 外排泵基因 A1S_0009、A1S_0116、A1S_0538 和 MFS 外排泵基因 A1S_1316 表达上升^[31]。A1S_1117、A1S_1751 和 *adeT* 在生物被膜细胞中表达, 而在浮游细胞不表达, *adeT* 缺失菌株生物被膜形成减少; A1S_1117 编码 MFS 糖转运蛋白促进糖外流, 增加 EPS 形成^[4]; A1S_1751 编码 AdeA 膜融合蛋白对生物被膜调控机制尚不明确。*abaI* 和 *abeG* 表达升高, 菌株生物被膜形成增强, AdeFGH 过度表达增加 AHLs 外排, 但对生物被膜形成的作用机制尚不明确^[32]。*adeABC*、*adeFGH* 和 *adeIJK* 表达升高, 菌株生物被膜形成明显减少, *adeG* 和 *adeJ* 突变株生物被膜形成增加, 但 *adeB* 突变株生物被膜形成仍减少^[4]。*adeABC* 和 *adeIJK* 表达升高, 菌株生物被膜形成减少, 菌毛编码合成基因表达降低, 菌毛数量减少, 编码促进生物被膜形成初期细菌黏附和菌落形成的菌毛蛋白 CsuA/BC 和 FimA 的基因 *csuA/BC* 和 *fimA* 低表达^[33]。鲍曼不动杆菌 AYE $\Delta adeB$ 菌株及 S1 $\Delta adeAB$ 菌株黏膜表面生物被膜形成显著减少; AdeRS 缺失导致 AdeABC 外排降低, 生物被膜形成减少^[34]。鲍曼不动杆菌 17978 $\Delta adeB$ 菌株

生物被膜形成显著增加。上述差异存在可能是不同菌株 AdeABC 表达差异导致^[4]。

2.5 细菌表面成分与调控

2.5.1 生物被膜相关蛋白 细胞表面生物被膜相关蛋白 Bap 介导细菌相互黏附, 促进生物被膜成熟和维持成熟结构, 参与形成聚丙烯、聚苯乙烯和钛等表面生物被膜三维结构和水通道, 通过增强细胞表面疏水性促进鲍曼不动杆菌黏附肺上皮细胞和新生角质细胞^[35-36]。此外, Bap 类似蛋白 BLP-1 和 BLP-2 调控黏附宿主细胞, BLP1 与 BLP2 失活严重影响生物被膜形成。鲍曼不动杆菌 AYE BLP1 与 BLP2 失活菌株生物被膜量明显降低, 厚度比 AYE 分别薄 4/5 及 1/2^[37]。

2.5.2 外膜蛋白 A(OmpA) OmpA 是鲍曼不动杆菌主要的外膜孔蛋白, 对生物被膜形成和发展是非必需的, 对黏附上皮细胞和聚苯乙烯表面形成坚固生物被膜则是必需的^[38]。OmpA、TonB 依赖性铜受体、EF-Tu、34 kDa Omp 称为纤维连接蛋白结合蛋白(FBP), 主要参与黏附宿主细胞, 这些蛋白活性降低将减轻对人肺上皮细胞的黏附作用^[35]。外膜蛋白 Omp33、CarO、OprD、DcaP、LysM、PstS、OprE3 和 OmpW 对生物被膜形成也有一定影响, 这些蛋白失活菌株生物被膜形成量均降低^[30]。*carO*、*oprD* 和 *dcaP* 缺失菌株生物被膜形成量少, 恢复后生物被膜形成增加; OprE3 和 OmpW 在生物被膜细胞中表达下降^[39]。磷酸胆碱相关外膜蛋白(Chop)通过活化血小板受体(PAFR)介导黏附人肺上皮细胞, 不表达 Chop 的鲍曼不动杆菌对非上皮细胞的黏附降低, 其是否参与生物被膜形成需进一步研究^[40]。

2.5.3 组蛋白类核结构(H-NS) H-NS 同源物转录抑制因子参与鲍曼不动杆菌黏附和生物被膜形成, 抑制鲍曼不动杆菌黏附人体细胞和气-液界面生物被膜形成, 但不抑制黏附聚苯乙烯表面^[41]。*hns*(A1S_0268)失活菌株具有较强黏附能力, 增加细菌表面疏水性, 介导生物被膜形成。

2.6 分泌系统与调控 分泌系统是革兰阴性细菌一种复杂的膜结合结构, 专门分泌和运送活性蛋白至细胞外或宿主细胞内。鲍曼不动杆菌中的分泌系统主要有 T1SS、T2SS、T4SS、T5SS、T6SS 和外膜囊泡等^[42]。含 T6SS 菌株能形成生物被膜, 增强鲍曼不动杆菌对抗菌药物耐受力。鲍曼不动杆菌临床菌株 T6SS 基因 *hcp* 阳性菌株 *hcp* 表达量是鲍曼不动杆菌 19606 的 0.0008~1.5 倍, *hcp* 表达量 19606

株比无 T6SS 功能菌株高 100 倍^[42]。*hcp* 高表达菌株检测出 Hcp 蛋白,具有活跃 T6SS,而 *hcp* 低表达菌株未检测出 Hcp 蛋白。T6SS 阳性与阴性菌株生物被膜量分别为 (1.15 ± 0.51) 和 (0.54 ± 0.51) ,*hcp* 阳性无活性菌株与阴性菌株生物被膜形成无差异^[43]。鲍曼不动杆菌 T1SS 增强铁离子利用,降低铁离子浓度;铁离子在生物被膜形成早期起作用,低铁离子浓度环境中鲍曼不动杆菌 460 个基因表达上升^[42]。T5SS 是一种自动转运系统,*ata* 编码的不动杆菌三聚自主转运蛋白 Ata 属于该系统,促进生物被膜形成和黏附。鲍曼不动杆菌 17978 Δ *ata* 菌株生物被膜形成明显降低,临床菌株均有不同 Ata 分泌水平^[42]。以外膜蛋白为主的外膜囊泡也参与鲍曼不动杆菌黏附宿主细胞。鲍曼不动杆菌 AbH12O-A2 存在 FhaB/FhaC 双伴侣分泌系统,参与黏附;FhaB 是细胞外蛋白,由 FhaC 转运至细胞膜表面^[44]。

2.7 耐药基因与调控 *bla*PER-1 基因编码超广谱 β -内酰胺酶 (ESBLs),介导对多种抗菌药物耐药。多重耐药鲍曼不动杆菌临床菌株形成生物被膜和黏附肺上皮细胞,使其在医院环境中的长期生存和传播。*bla*PER-1 表达与鲍曼不动杆菌黏附肺上皮细胞、塑料表面及生物被膜形成呈正相关^[45]。生物被膜形成与 OXA-23、OXA-24、OXA-51 和 OXA-58 等碳青霉烯类耐药基因也存在相关性,插入序列 1、2、3 和 18 等诱导 OXA-23、OXA-51 等表达升高^[1]。整合子是鲍曼不动杆菌耐药原因之一,生物被膜细胞中 I 类整合子表达是浮游细胞的 4 倍,生物被膜细菌有活跃的基因捕获和重组,该情况是否会对生物被膜形成产生影响仍需进一步研究^[46]。

2.8 生长条件的影响 营养成分、温度、盐浓度、光照和 pH 值等生长条件和环境影响生物被膜形成。鲍曼不动杆菌 19606 BfmR 突变株在 LB 肉汤培养基中不形成生物被膜,在 Tris-M9 基础培养基中形成生物被膜^[6]。葡萄糖和亚浓度亚胺培南可诱导、增强鲍曼不动杆菌生物被膜形成,增加摄取、利用铁离子^[47]。5.0 g/L 氯化钠环境中形成生物被膜能力最强^[48]。通过 5 株鲍曼不动杆菌在三种缺铁培养基中的不同生物被膜形成情况证实,生物被膜形成具有菌株差异和生长条件依赖性^[49]。鲍曼不动杆菌在 28℃ 时,生物被膜形成明显强于 37℃,蛋白质组学分析 28℃ 下 629 个蛋白中 366 个表达上升,263 个表达下降,Csu 表达升高^[50]。

鲍曼不动杆菌 *blsA* 基因编码光受体蛋白 Bl-

sA,含 BLUF 结构域和 FAD 光感受体,调控光照下细菌运动和生物被膜形成^[51]。鲍曼不动杆菌 17978 光照下仅形成少量生物被膜,黑暗下生物被膜形成增加 4 倍;*blsA* 突变株黑暗和光照下均形成生物被膜^[52]。鲍曼不动杆菌还存在光调控 I 型菌毛 Pr-pABCD^[59]。

脂质和碳水化合物是 EPS 重要组成成分,低浓度乙醇诱导 OmpA 的产生和脂质大量合成,生物被膜碳水化合物含量增加。乙醇诱导塑料表面生物被膜形成比气-液界面和无乙醇更强、更复杂。鲍曼不动杆菌 17978 在含乙醇培养基上运动能力急剧下降,生物被膜形成率更高^[53]。乙醇还诱导产生吲哚乙酸 (IAA) 等酸性物质,降低培养基 pH 值,增加脂多糖和 EPS 形成。鲍曼不动杆菌 17978 和临床菌株在含乙醇培养基中,产生 IAA 比无乙醇中多^[53]。生物被膜可抵抗外界氧化,烷基过氧化物还原酶 C22 亚基和过氧化氢代谢基因 *katE* 在生物被膜细胞中表达升高^[30]。鲍曼不动杆菌振荡下生物被膜形成高于静止^[54]。

2.9 金属离子与调控 鲍曼不动杆菌的生理功能需要铁、锌、钙、镁、锰、铜等金属离子作为辅助因子辅助完成。已证实铁、钙、镁、锰、铜等金属离子影响鲍曼不动杆菌生物被膜形成^[55]。高铁浓度时细菌倾向于浮游生活;降低铁浓度,细菌运动能力降低,增加黏附和生物被膜形成。铁载体不动杆菌肽保护鲍曼不动杆菌在低铁离子浓度下存活,部分合成和分泌该载体基因在低铁离子浓度下表达上升,抑制生物被膜形成。铁螯合剂 2,2'-联吡啶 (DIP) 或乙二胺二邻羟基苯基乙酸 (EDDHA) 增加鲍曼不动杆菌 19606 生物被膜形成^[51]。鲍曼不动杆菌 17978 在低铁离子浓度下 *csuBCE* 表达下降,生物被膜形成减少^[56]。FepA 是铁转运外膜受体,生物被膜细胞中的表达是浮游细胞的 3.7 倍^[30]。鲍曼不动杆菌存在铁转运和作用的其他机制,目前并不清楚这些机制是否影响生物被膜形成^[57]。铁使 *adeA*、*adeB* 和 *adeC* 表达分别升高 16、10、8 倍,*luxI/R* 表达升高 4 倍以上^[51]。

锌离子可抑制鲍曼不动杆菌生物被膜形成,乳酸锌干扰 EPS 形成,氟化亚锡 (SnF_2) 减少生物被膜量,2 mmol/L 乳酸锌与 2.5 mmol/L SnF_2 明显减少鲍曼不动杆菌生物被膜形成^[58]。低浓度钙离子减少黏附及生物被膜形成,高浓度钙离子稳定、促进 EPS 及生物被膜形成,增加生物被膜结构聚集和降低分解^[6]。硫酸钙联合抗菌药物明显减少鲍曼不动

杆菌黏附和生物被膜形成^[59]。鲍曼不动杆菌维持铜离子平衡的 TonB 依赖铜离子受体失活菌株,生物被膜形成和黏附减少^[35]。1.3 mg/L 铜离子和 0.1 mg/L 银离子可杀灭医院供水系统中 99.9% 鲍曼不动杆菌生物被膜^[60]。金、铂、硝酸镓等金属离子可导致生物被膜细菌死亡^[61]。

2.10 表面性质的影响 物体是生物被膜载体,表面粗糙程度影响细菌黏附。鲍曼不动杆菌在不锈钢、玻璃、橡胶、聚丙烯、聚乙烯、聚碳酸酯等物体表面有不同生物被膜形成能力^[19, 35]。聚丙烯离心管上形成生物被膜能力强于玻璃管,不锈钢表面形成生物被膜能力比塑料表面强^[54, 62]。扫描电镜测定玻璃、橡胶、陶瓷、聚丙烯、不锈钢和聚碳酸酯等表面生物被膜形成量分别为 0.04、0.26、0.62、1.00、2.08 和 2.70 $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$,聚碳酸酯表面形成生物被膜能力强于其他材料^[19]。

2.11 其他 tRNA 尿苷 5-羧甲基氨基甲基修饰酶葡萄糖抑制分裂蛋白 A(GidA),通过 DNA 修复或调控某些基因影响鲍曼不动杆菌生物被膜稳定性,但具体作用机制尚不清楚^[39]。*xth* 编码外切脱氧核糖核酸酶 III,修复生物被膜内氧化导致的 DNA 损伤^[39]。小 RNA(sRNA)影响鲍曼不动杆菌生理过程,研究分离的 255 个 sRNA 中,9 个在生物被膜细胞中表达,生物被膜细胞中 sRNA 13573 表达比浮游细胞高 120 倍,sRNA 13573 参与生物膜形成和黏附肺上皮细胞 A549^[63]。

3 结语与展望

鲍曼不动杆菌生物被膜形成过程是其自身保护过程,此复杂的动态过程受多种因素影响和调控。众多调控机制的存在,导致鲍曼不动杆菌在临床环境和患者身体各部位的定植,从而引起感染的反复发生。对生物被膜形成过程影响因素和调控机制的研究可以帮助发现新的作用靶点,寻找新的抗菌药物治疗鲍曼不动杆菌感染。

[参考文献]

[1] Eze EC, Chenia HY, El Zowalaty ME. *Acinetobacter baumannii* biofilms: effects of physicochemical factors, virulence, antibiotic resistance determinants, gene regulation, and future antimicrobial treatments[J]. Infect Drug Resist, 2018, 11: 2277 - 2299.

[2] Longo F, Vuotto C, Donelli G. Biofilm formation in *Acineto-*

bacter baumannii[J]. New Microbiol, 2014, 37(2): 119 - 127.

[3] 马晓春,代军,徐磊,等.鲍曼不动杆菌生物膜形成机制研究进展[J].中国感染与化疗杂志,2018,18(1):124-128.

[4] Alav I, Sutton JM, Rahman KM. Role of bacterial efflux pumps in biofilm formation[J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(8): 2003 - 2020.

[5] Zhou G, Shi QS, Huang XM, et al. The three bacterial lines of defense against antimicrobial agents[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(9): 21711 - 21733.

[6] 杨长亮,黄前川.鲍曼不动杆菌生物膜形成的调节[J].中国感染控制杂志,2012,11(3):228-230,235.

[7] de Breij A, Gaddy J, van der Meer J, et al. CsuA/BABCDE-dependent pili are not involved in the adherence of *Acinetobacter baumannii* ATCC19606(T) to human airway epithelial cells and their inflammatory response[J]. Res Microbiol, 2009, 160(3): 213 - 218.

[8] Álvarez-Fraga L, Pérez A, Rumbo-Feal S, et al. Analysis of the role of the LH92_11085 gene of a biofilm hyper-producing *Acinetobacter baumannii* strain on biofilm formation and attachment to eukaryotic cells[J]. Virulence, 2016, 7(4): 443 - 455.

[9] Wood CR, Ohneck EJ, Edelmann RE, et al. A light-regulated type I pilus contributes to *Acinetobacter baumannii* biofilm, motility, and virulence functions[J]. Infect Immun, 2018, 86(9): e00442 - 18.

[10] Chen R, Lv R, Xiao L, et al. A1S_2811, a CheA/Y-like hybrid two-component regulator from *Acinetobacter baumannii* ATCC17978, is involved in surface motility and biofilm formation in this bacterium[J]. Microbiology Open, 2017, 6(5): e00510.

[11] Harding CM, Tracy EN, Carruthers MD, et al. *Acinetobacter baumannii* strain M2 produces type IV pili which play a role in natural transformation and twitching motility but not surface-associated motility[J]. MBio, 2013, 4(4): e00360 - 13.

[12] Tomaras AP, Flagler MJ, Dorsey CW, et al. Characterization of a two-component regulatory system from *Acinetobacter baumannii* that controls biofilm formation and cellular morphology [J]. Microbiology, 2008, 154(Pt 11): 3398 - 3409.

[13] Gebhardt MJ, Gallagher LA, Jacobson RK, et al. Joint transcriptional control of virulence and resistance to antibiotic and environmental stress in *Acinetobacter baumannii* [J]. MBio, 2015, 6(6): e01660 - 15.

[14] Cerqueira GM, Kostoulias X, Khoo C, et al. A global virulence regulator in *Acinetobacter baumannii* and its control of the phenylacetic acid catabolic pathway [J]. J Infect Dis, 2014, 210(1): 46 - 55.

[15] Bhargava N, Sharma P, Capalash N. Quorum sensing in *Acinetobacter*: an emerging pathogen[J]. Crit Rev Microbiol, 2010, 36(4): 349 - 360.

[16] Niu C, Clemmer KM, Bonomo RA, et al. Isolation and characterization of an autoinducer synthase from *Acinetobacter*

- baumannii[J]. J Bacteriol, 2008, 190(9): 3386–3392.
- [17] Modarresi F, Azizi O, Shakibaie MR, et al. Effect of iron on expression of efflux pump (adeABC) and quorum sensing (luxI, luxR) genes in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*[J]. APMIS, 2015, 123(11): 959–968.
- [18] González RH, Nusblat A, Nudel BC. Detection and characterization of quorum sensing signal molecules in *Acinetobacter* strains[J]. Microbiol Res, 2001, 155(4): 271–277.
- [19] Greene C, Wu J, Rickard AH, et al. Evaluation of the ability of *Acinetobacter baumannii* to form biofilms on six different biomedical relevant surfaces[J]. Lett Appl Microbiol, 2016, 63(4): 233–239.
- [20] Stacy DM, Welsh MA, Rather PN, et al. Attenuation of quorum sensing in the pathogen *Acinetobacter baumannii* using non-native N-Acyl homoserine lactones[J]. ACS Chem Biol, 2012, 7(10): 1719–1728.
- [21] Sambanthamoorthy K, Luo C, Pattabiraman N, et al. Identification of small molecules inhibiting diguanylate cyclases to control bacterial biofilm development[J]. Biofouling, 2014, 30(1): 17–28.
- [22] Rumbo-Feal S, Perez A, Ramelot TA, et al. Contribution of the *A. baumannii* A1S_0114 gene to the interaction with eukaryotic cells and virulence[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2017, 7: 108.
- [23] Iwashkiw JA, Seper A, Weber BS, et al. Identification of a general O-linked protein glycosylation system in *Acinetobacter baumannii* and its role in virulence and biofilm formation[J]. PLoS Pathog, 2012, 8(6): e1002758.
- [24] Lees-Miller RG, Iwashkiw JA, Scott NE, et al. A common pathway for O-linked protein-glycosylation and synthesis of capsule in *Acinetobacter baumannii*[J]. Mol Microbiol, 2013, 89(5): 816–830.
- [25] 郭海娜, 向军. 多聚 β -1-6-N-乙酰氨基葡萄糖对鲍氏不动杆菌生物膜形成及耐药的影响[J]. 中华烧伤杂志, 2015, 31(1): 45–47.
- [26] Choi AH, Slamti L, Avci FY, et al. The pgaABCD locus of *Acinetobacter baumannii* encodes the production of poly-beta-1-6-N-acetylglucosamine, which is critical for biofilm formation[J]. J Bacteriol, 2009, 191(19): 5953–5963.
- [27] Jacobs AC, Blanchard CE, Catherman SC, et al. An ribonuclease T2 family protein modulates *Acinetobacter baumannii* abiotic surface colonization [J]. PLoS One, 2014, 9(1): e85729.
- [28] Sahu PK, Iyer PS, Oak AM, et al. Characterization of eDNA from the clinical strain *Acinetobacter baumannii* AIIMS 7 and its role in biofilm formation [J]. Scientific World Journal, 2012, 2012: 973436.
- [29] Sahu PK, Iyer PS, Barage SH, et al. Characterization of the *algC* gene expression pattern in the multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* AIIMS 7 and correlation with biofilm development on abiotic surface[J]. Scientific World Journal, 2014, 2014: 593546.
- [30] Cabral MP, Soares NC, Aranda J, et al. Proteomic and functional analyses reveal a unique lifestyle for *Acinetobacter baumannii* biofilms and a key role for histidine metabolism[J]. J Proteome Res, 2011, 10(8): 3399–3417.
- [31] Rumbo-Feal S, Gómez MJ, Gayoso C, et al. Whole transcriptome analysis of *Acinetobacter baumannii* assessed by RNA-sequencing reveals different mRNA expression profiles in biofilm compared to planktonic cells[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e72968.
- [32] He X, Lu F, Yuan F, et al. Biofilm formation caused by clinical *Acinetobacter baumannii* isolates is associated with overexpression of the AdeFGH efflux pump[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(8): 4817–4825.
- [33] Yoon EJ, Chabane YN, Goussard S, et al. Contribution of resistance-nodulation-cell division efflux systems to antibiotic resistance and biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*[J]. MBio, 2015, 6(2): e00309–15.
- [34] Richmond GE, Evans LP, Anderson MJ, et al. The *Acinetobacter baumannii* two-component system AdeRS regulates genes required for multidrug efflux, biofilm formation, and virulence in a strain-specific manner[J]. MBio, 2016, 7(2): e00430–16.
- [35] 黎皓思, 潘频华. 鲍曼不动杆菌黏附相关机制研究进展[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(5): 496–500.
- [36] Zarrilli R. *Acinetobacter baumannii* virulence determinants involved in biofilm growth and adherence to host epithelial cells [J]. Virulence, 2016, 7(4): 367–368.
- [37] De Gregorio E, Del Franco M, Martinucci M, et al. Biofilm-associated proteins; news from *Acinetobacter* [J]. BMC Genomics, 2015, 16: 933.
- [38] Gaddy JA, Tomaras AP, Actis LA. The *Acinetobacter baumannii* 19606 OmpA protein plays a role in biofilm formation on abiotic surfaces and in the interaction of this pathogen with eukaryotic cells [J]. Infect Immun, 2009, 77(8): 3150–3160.
- [39] Shin JH, Lee HW, Kim SM, et al. Proteomic analysis of *Acinetobacter baumannii* in biofilm and planktonic growth mode[J]. J Microbiol, 2009, 47(6): 728–735.
- [40] Smani Y, Docobo-Pérez F, López-Rojas R, et al. Platelet-activating factor receptor initiates contact of *Acinetobacter baumannii* expressing phosphorylcholine with host cells[J]. J Biol Chem, 2012, 287(32): 26901–26910.
- [41] Eijkelkamp BA, Stroehner UH, Hassan KA, et al. H-NS plays a role in expression of *Acinetobacter baumannii* virulence features[J]. Infect Immun, 2013, 81(7): 2574–2583.
- [42] Elhosseiny NM, Attia AS. *Acinetobacter*: an emerging pathogen with a versatile secretome[J]. Emerg Microbes Infect, 2018, 7(1): 33.
- [43] Kim J, Lee JY, Lee H, et al. Microbiological features and clinical impact of the type VI secretion system (T6SS) in *Acinetobacter baumannii* isolates causing bacteremia[J]. Virulence, 2017, 8(7): 1378–1389.

- [44] Pérez A, Merino M, Rumbo-Feal S, et al. The FhaB/FhaC two-partner secretion system is involved in adhesion of *Acinetobacter baumannii* AbH12O-A2 strain[J]. *Virulence*, 2017, 8(6): 959–974.
- [45] Sechi LA, Karadenizli A, Deriu A, et al. PER-1 type beta-lactamase production in *Acinetobacter baumannii* is related to cell adhesion[J]. *Med Sci Monit*, 2004, 10(6): BR180–4.
- [46] 唐夏, 王凌峰. 整合子在细菌生物膜耐药机制中的研究进展[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2016, 10(2): 260–263.
- [47] Nucleo E, Steffanoni L, Fugazza G, et al. Growth in glucose-based medium and exposure to subinhibitory concentrations of imipenem induce biofilm formation in a multidrug-resistant clinical isolate of *Acinetobacter baumannii* [J]. *BMC Microbiol*, 2009, 9: 270.
- [48] Pour NK, Dusane DH, Dhakephalkar PK, et al. Biofilm formation by *Acinetobacter baumannii* strains isolated from urinary tract infection and urinary catheters[J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2011, 62(3): 328–338.
- [49] Gentile V, Frangipani E, Bonchi C, et al. Iron and *Acinetobacter baumannii* biofilm formation[J]. *Pathogens*, 2014, 3(3): 704–719.
- [50] De Silva PM, Chong P, Fernando DM, et al. Effect of incubation temperature on antibiotic resistance and virulence factors of *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018, 62(1): e01514–17.
- [51] McConnell MJ, Actis L, Pachón J. *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2013, 37(2): 130–155.
- [52] Mussi MA, Gaddy JA, Cabruja M, et al. The opportunistic human pathogen *Acinetobacter baumannii* senses and responds to light[J]. *J Bacteriol*, 2010, 192(24): 6336–6345.
- [53] Fiester SE, Actis LA. Stress responses in the opportunistic pathogen *Acinetobacter baumannii* [J]. *Future Microbiol*, 2013, 8(3): 353–365.
- [54] 蔺飞, 杜冰洁, 高灿, 等. 鲍曼不动杆菌生物被膜对抗菌药物耐药性的影响[J]. *中国感染控制杂志*, 2018, 17(1): 1–5.
- [55] 袁伟曦, 刘海平, 曹顺旺, 等. 常见金属离子对鲍曼不动杆菌生物活性的影响[J]. *中国医药导报*, 2018, 15(35): 47–49, 57.
- [56] Eijkelkamp BA, Hassan KA, Paulsen IT, et al. Investigation of the human pathogen *Acinetobacter baumannii* under iron limiting conditions[J]. *BMC Genomics*, 2011, 12: 126.
- [57] Zimble DL, Penwell WF, Gaddy JA, et al. Iron acquisition functions expressed by the human pathogen *Acinetobacter baumannii* [J]. *Biomaterials*, 2009, 22(1): 23–32.
- [58] 于珊, 张妙坤, 马旅雁. 乳酸锌和氟化亚锡对铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌和变异链球菌生物被膜的抑制作用[J]. *生物工程学报*, 2017, 33(9): 1478–1488.
- [59] Howlin RP, Winnard C, Frapwell CJ, et al. Biofilm prevention of gram-negative bacterial pathogens involved in periprosthetic infection by antibiotic-loaded calcium sulfate beads in vitro[J]. *Biomed Mater*, 2016, 12(1): 015002.
- [60] Shih HY, Lin YE. Efficacy of copper-silver ionization in controlling biofilm- and plankton-associated waterborne pathogens [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76(6): 2032–2035.
- [61] Vaidya MY, McBain AJ, Butler JA, et al. Antimicrobial efficacy and synergy of metal ions against *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* in planktonic and biofilm phenotypes[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5911.
- [62] Orsinger-Jacobsen SJ, Patel SS, Vellozzi EM, et al. Use of a stainless steel washer platform to study *Acinetobacter baumannii* adhesion and biofilm formation on abiotic surfaces[J]. *Microbiology*, 2013, 159(Pt 12): 2594–2604.
- [63] Álvarez-Fraga L, Rumbo-Feal S, Perez A, et al. Global assessment of small RNAs reveals a non-coding transcript involved in biofilm formation and attachment in *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 [J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182084.

(本文编辑:文细毛)

本文引用格式: 蔺飞, 余彬, 袁明勇, 等. 鲍曼不动杆菌生物被膜形成与调控的研究进展[J]. *中国感染控制杂志*, 2019, 18(12): 1176–1183. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20195537.

Cite this article as: LIN Fei, YU Bin, YUAN Ming-yong, et al. Research advances in *Acinetobacter baumannii* biofilm formation and regulation[J]. *Chin J Infect Control*, 2019, 18(12): 1176–1183. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20195537.