



## 细菌生物被膜对抗生素耐药机制的研究进展\*

贾 宁<sup>1,2</sup> 徐志凯<sup>1</sup>

(第四军医大学 西安 710032)<sup>1</sup> (解放军总医院 北京 100853)<sup>2</sup>

**摘要:** 细菌生物被膜引发的感染已成为医院感染的主要原因之一, 具有耐药性和难治性的特点, 引起了基础和临床研究的极大关注。但是细菌生物被膜对抗生素的耐药机制目前还不十分明确, 对近年来生物被膜怎样和为什么会对抗生素如此耐药形成了几种可能机制进行综述。

**关键词:** 细菌, 生物被膜, 耐药机制

**中图分类号:** Q93   **文献标识码:** A   **文章编号:** 0253-2654 (2006) 01-0184-03

### Progress on the Mechanisms of Antibiotic Resistance of Bacterial biofilm\*

JIA Ning<sup>1,2</sup> XU Zhi-Kai<sup>1</sup>

(Department of Microbiology, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032)<sup>1</sup>

(Department of nosocomial infection and disease control, the General Hospital of PLA, Beijing 100853)<sup>2</sup>

**Abstract:** The infection caused by bacterial biofilm has becoming one of the most common nosocomial infection and gained much attention recently, with the characteristics of resistant to antibiotics and difficult to be cured. However, the mechanisms of antibiotic resistance of bacterial biofilm is still not very clear. In this paper we reviewed the current possible mechanisms of the antibiotic resistance of bacterial biofilm.

**Key words:** Bacteria, Biofilm, Mechanism of antibiotic resistance

细菌吸附于机体粘膜或插管、人工关节等生物医学材料表面, 分泌多糖基质、纤维蛋白、脂多糖等多糖复合物, 相互粘连并克隆产生的生物被膜 (Biofilm)。细菌生物被膜引发的感染成为医院感染的主要原因之一, 并且感染后果日趋严重。细菌形成的生物被膜可以由单一或多种分类群细菌组成, 例如口腔的生物被膜据估计约大于 500 种细菌组成, 而在肺囊性纤维化病晚期, 被膜则由铜绿假单胞菌形成, 生物被膜的产生使膜内菌不仅对抗生素的耐药性比浮游菌增加 10-1000 倍, 而且可以耐抗体的杀菌作用, 其引发的感染常常只有移走植入物才能控制, 增加了病人的痛苦和治疗费用<sup>1,2</sup>。

关于细菌生物被膜对抗生素的耐药机制目前还不十分明确, 但随着生物被膜引发的医院感染率的增加, 对其的关注程度也在加大, 本文对近年来生物被膜怎样和为什么会对抗生素如此耐药形成了几种可能机制综述如下。

\* 国家自然科学基金资助项目 (No. 30300296)

通讯作者 Tel: 010-89642138, E-mai: jianing@263.net

收稿日期: 2005-11-06, 修回日期: 2005-12-20

## 1 细菌生物被膜的屏障作用

生物被膜的主要特点在于形成胞外多糖基质,因而在其作用中首先想到的是其阻止抗生素接触包裹于被膜内细菌,但不同细菌形成的这种复合物对不同的抗生素分子的阻止渗透作用也不相同。铜绿假单胞菌形成的生物被膜对环丙沙星、哌拉西林和过氧化氢的渗透有屏障作用;而氨苄西林和环丙沙星可透过肺炎克雷伯菌形成的生物被膜,利福平可透过表皮菌形成的生物被膜,但却不能杀死膜内细菌,提示包埋于被膜中的细菌除了依靠生物被膜的屏障作用以外,一定存在着其它机制保护膜内细菌的生存<sup>[3,4]</sup>。

## 2 细菌生长缓慢与应激反应

当细菌缺乏营养时,其生长速度变缓,不再以指数增长,甚至表现为不增长,且对抗生素的耐药性增加。在成熟的生物被膜中可观察到细菌生长缓慢,膜内细菌的生理学特性与浮游菌差异很大,与细菌在膜内所处的位置不同有关,位于被膜表层的细菌获取的营养较丰富,代谢较活跃;而位于被膜深层的细菌由于所需营养和氧气获得受限而代谢缓慢,细菌形态变长,呈现多形性<sup>[6,7]</sup>。Duguid<sup>[5]</sup>等观察到浮游铜绿假单胞菌和膜内细菌对妥布霉素和环丙沙星的敏感性随生长速度的加快而增加;在低生长速度下,浮游菌和完整的生物被膜对环丙沙星同样耐药,但在高生长速度下,浮游菌比膜内细菌对环丙沙星更加敏感,一些研究还发现并非生长缓慢对所有抗生素的耐药性都有协助作用,铜绿假单胞菌生物被膜中细菌生长缓慢可增加对四环素的耐药性,但对妥布霉素的耐药性却没有影响。这种现象说明除了膜内细菌生长缓慢以外,还存在别的特性使膜内细菌对抗生素耐药性增加。

近来有人提出生物被膜内细菌的缓慢生长不是由于营养的限制,而是由生长速度启动的普遍应激反应(General stress response)<sup>[8]</sup>,应激反应导致细菌的生理学改变,使其在各种环境下得到保护。Foley<sup>[9]</sup>等在慢性铜绿假单胞菌生物被膜感染的肺囊性纤维化病人痰标本中检测到 *rpoSmRNA*,提示  $\sigma$  因子 RpoS 参与调节这种反应。 $\sigma$  因子 *rpoS* 最初仅在静止期细菌内表达,细菌密度高时可诱导产生 RpoS。Adams<sup>[10]</sup>发现 *ropS* 缺失的大肠杆菌不能形成正常的生物被膜,证实了 RpoS 的存在;另一种  $\sigma$  因子 AlgT 与 RpoS 作用相似,铜绿假单胞菌 RpoS 与 AlgT 缺失株形成的薄生物被膜对过氧化氢敏感,但形成的厚生物被膜对过氧化氢耐药,可见还有其他因素也与这种耐药性有关。

## 3 细菌传感效应(QS, quorum sensing)

传感效应的调节是同种或不同种细菌对它们当前所处环境、群体密度的感知、交流和反应的一种方式,当环境变化时,如细菌密度改变,或营养条件变化时,细菌表面产生和分泌某种特定的信号分子,一般称为信息激素或自身诱导素;信号分子由于细菌数目的增加、而持续产生聚集达到一定浓度后,细菌细胞内外感知并引发一系列的调节<sup>[11]</sup>。目前已知有5类信息激素: AHL (acyl homoserine lactones)、PQSs (heptyl-hydroxy-quinolones)、AI-2、循环二肽(cyclic dipeptide)和寡肽(oligopeptide)参

与QS, 其中AHL、PQSs和循环二肽存在于革兰阴性菌中, AI-2和寡肽革兰阴性和阳性菌中均存在。目前研究最多的是常见于革兰阴性菌的LuxR-LuxI系统, 自身诱导素为AHL; 最近发现的luxS系统, 在革兰阳性和阴性菌中均可见, 自身诱导素为AI-2。在革兰阳性菌中的QS系统要比革兰阴性菌多样化<sup>[17,19]</sup>。

QS在生物被膜的形成和成熟中起着一定作用, 但其在生物被膜耐药性中的作用目前还不太清楚, 不同的细菌以及所用抗生素的种类不同, QS在耐药性中的作用也有所不同。Davies<sup>[12]</sup>等发现铜绿假单胞菌*lasR-lasI* QS突变株不能形成正常结构的生物被膜且对SDS敏感性增加; 但Brooun<sup>[13]</sup>等实验结果显示铜绿假单胞菌QS突变株对清洁剂和抗生素没有影响; 最近Jeremy<sup>[14]</sup>等报道金黄色葡萄球菌QS突变株对利福平敏感, 对苯唑西林不敏感, 而该突变株的浮游菌对利福平的敏感性与亲代相比无显著差异。

#### 4 诱导产生生物被膜特异型

有人提出细菌在与生物医学材料粘附并聚集时可能被诱导产生一种膜特异型, 识别在膜内被激活或抑制的基因, 对抗生素的杀伤作用。外排泵是浮游菌抗生素耐药的机制之一, 如大肠杆菌*mar*操纵元的上调可引起多重耐药, 但对于膜内菌外排泵对抗生素耐药作用如何, Maira-litran<sup>[15]</sup>等对膜内菌*mar*操纵元的表达进行研究发现, *mar*和*acrAB*缺失不能完全相反地影响大肠杆菌生物被膜, 但*acrAB*的表达确实降低膜内菌对环丙沙星的敏感性。Brooun<sup>[13]</sup>等对MexAB-OprM泵缺失和超表达铜绿假单胞菌对氧氟沙星的敏感性研究发现, 在低浓度氧氟沙星下, 外排泵缺失株生物被膜对氧氟沙星的敏感性高于超表达株, 但对另一种喹诺酮类药物环丙沙星却没有差别, 由此可见膜内菌外排泵是否是其耐药的主要机制还需进一步研讨。

膜内菌另一种可被诱导的耐药性是在抗生素作用下膜蛋白产生或组成改变, 降低抗生素的渗透。编码外膜孔道蛋白OmpF、OmpC基因*ompB*缺失增加大肠杆菌对 $\beta$ -内酰胺抗生素的耐药性; OmpF缺失可增加对氯霉素和四环素的耐药性; 而且在营养不足的情况下, 大肠杆菌主要的外膜孔道蛋白OmpF、OmpC的比例会改变, 进而影响细菌对抗生素的固有耐药性。近来Otto<sup>[18]</sup>等报道大肠杆菌外膜蛋白OmpX突变, 可影响细胞表面结构如菌毛、鞭毛、多糖介导的细胞间接触的调节, 且伴有对多种抗生素的耐药性增加。Prigent-Combarat<sup>[16]</sup>等发现大肠杆菌膜内菌的*ompC*和渗透调节基因*proU*、*wcaB*的表达2倍于浮游菌, 说明膜内细菌确实生活在渗透压增高的环境中, 环境条件可促使膜内菌形成保护机制。

总之, 对生物被膜内细菌为什么和怎样形成抗生素耐药性目前还没有一个明确的解释, 生物被膜的组成和所使用的抗生素不同, 其耐药机制也不相同, 而且由于膜内细菌生存环境的多样性, 可能会形成不同的细菌群体, 进而表现出不同的耐药性机制。为了更好地控制生物被膜引发的感染, 对生物被膜耐药机制的研究还需进一步深入。

#### 参考文献(略)