

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.12.040

鲍曼不动杆菌生物膜形成与耐药的关系及治疗的研究进展*

张志红^{1,2,3}, 张翔², 黄文辉²综述, 赵玲莉^{2Δ}审校

1. 青海大学研究生院, 青海西宁 810016; 2. 青海大学附属医院检验科, 青海西宁 810001;

3. 太原煤气化职工医院检验科, 山西太原 030000

关键词: 鲍曼不动杆菌; 生物膜形成; 耐药性; 抗菌药物

中图分类号: R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)12-1796-04

鲍曼不动杆菌是自土壤、水分离的一种革兰阴性非发酵菌,具有较强的生物膜形成能力和抗菌药物耐药性,可在生物、医疗器械及环境表面定植存活较长时间。鲍曼不动杆菌是医院感染重要的机会性致病菌之一,可引起肺部感染、菌血症、心内膜炎、尿路感染、脑膜炎、皮肤及软组织的感染,感染主要发生在免疫能力低下或院内重症患者。

近些年,关于鲍曼不动杆菌引起的社区获得性感染的报道也有所增加,有研究者从经过二次处理的市政废水中分离的菌株中检测出带有染色体定位的 blaOXA-51-like 基因和获得性质粒定位的 blaOXA-23-like 基因的泛耐药性鲍曼不动杆菌,提示泛耐药性鲍曼不动杆菌和耐药基因的潜在流行危害^[1]。

鲍曼不动杆菌生物膜形成率明显高于其他菌种,有生物膜的鲍曼不动杆菌对抗菌药物的耐受性较强。多重耐药(MDR)菌株、泛耐药菌株的出现是对人类健康的严重威胁。在世界卫生组织的“耐药菌清单”中,耐碳青霉烯的鲍曼不动杆菌位于首位,从医院分布特点来看主要来自于 ICU、呼吸科、神经外科,标本来源主要为呼吸道、血液、泌尿道。感染该菌的危险因素有针对革兰阴性菌的多次或长时间的抗菌药物用药史,机械通气的持续时间,侵入性手术和气管切开术,与发病率和病死率有较高的相关性。本文就鲍曼不动杆菌生物膜形成相关因素、耐药现状,以及二者之间的关系,抗菌药物联合用药治疗效果进行综述,从而为防治鲍曼不动杆菌的感染提供参考依据,为探索开发新型治疗方式,新药作用靶点,减毒疫苗制备提供方向。

1 鲍曼不动杆菌的生物膜形成和耐药性相关分析

1.1 生物膜形成相关因素 生物膜是一种附着在生物或非生物表面的细菌细胞群落,限制了药物扩散到作用部位,是鲍曼不动杆菌多重耐药的重要机制之一。以下介绍生物膜形成的相关因素。

1.1.1 Csus菌毛系统 CsusA/B 基因簇编码的菌毛,受 BfmS/BfmR 双组分系统调控,使细菌容易附着在非生物表面,有利于生物膜的形成。GGDEF 结构域蛋白 A1S3296 是一种主要的双鸟苷酸环化酶, AH-MAD 等^[2]发现 A1S3296 在鲍曼不动杆菌 17978 的生物膜调控中具有多种作用,过表达促进了 Csus 菌毛介导的生物膜形成,提示具有功能性的第二信使信号分子(Cyclic-di-GMP)对鲍曼不动杆菌生物膜的形成具有重要作用。因此, A1S3296 抑制剂的识别可能作为开发预防鲍曼不动杆菌生物膜形成和定植的消毒剂的方向。此外,日本的研究发现 Csus 操纵子阳性菌株产生的生物膜比阴性菌株形成的生物膜要成熟得多,在 Csus 操纵子阳性菌株之间,生物膜成熟度也存在很大差异。另外, Csus 操纵子基因的转录水平差异很大,提示除 Csus 和 BfmS/BfmR(双组分调节系统)以外,对生物膜形成及成熟度还涉及其他调控系统及因子^[3]。

1.1.2 外膜蛋白 外膜蛋白 A(OmpA)是革兰阴性菌外膜蛋白的主要成分,在调节鲍曼不动杆菌生物膜的形成、黏附、侵袭性及宿主的免疫应答中起关键作用, OmpA 过表达是鲍曼不动杆菌引起的院内肺炎和菌血症病死率的独立危险因素^[4]。外膜蛋白 Bap 是生物膜的初始附着和成熟的关键因素之一,可以影响生物膜的厚度和量。

1.1.3 群体感应系统(QS) QS 是细菌之间通过“自动诱导物”的信号分子进行交流的模式,以维持种群密度。随着菌落数量的增加,自动诱导物的浓度也成比例增加。当达到阈值浓度,自动诱导物与细菌细胞内同源受体结合触发信号转导级联反应,使某些基因表达改变,这种变化有助于细菌适应许多不利的环境条件。

鲍曼不动杆菌的 QS 由 AbaI 诱导剂及其同源受体 AbaR 两部分组成,酰基-高丝氨酸内酯分子是自动

* 基金项目:青海省自然科学基金项目(2019-SF-133)。

Δ 通信作者, E-mail: zhaolingli640521@163.com。

本文引用格式: 张志红, 张翔, 黄文辉, 等. 鲍曼不动杆菌生物膜形成与耐药的关系及治疗的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(12):

诱导合酶 *AbaI* 基因的产物,对生物膜形成的后期非常重要。通过靶向 *AbaI* 合酶抑制剂、酰基-高丝氨酸内酯的酶促降解、调节 *AbaR* 的活性或者调节基因的表达破坏 QS,进一步调控生物膜的形成,并可能调控其他毒力因素,可作为潜在药物靶点^[5]。目前需要明确 QS 的影响因素及在生物膜形成的功能后果, QS 的诱导是否会改变细菌致病性等。

1.1.4 外排泵系统 生物膜形成和外排泵系统之间的关系研究较少,且结果具有争议性。苯丙氨酸-精氨酸 β -萘酰胺(PA β N)是一种外排泵抑制剂,最新的研究发现^[6]外排泵基因表达没有显示出与生物膜形成能力的直接关系,但 PA β N 有效地抑制了生物膜的形成并增强了生物膜的分散性。

1.1.5 其他因素 聚 β -(1,6)-的 N-乙酰葡萄糖胺受 PgaABCD 基因的调控,是生物膜重要的多糖之一,与生物膜的形成呈正相关。研究表明^[7]生物膜相关基因的表达和转录水平影响生物膜形成。参与生物膜形成的所有基因的表达水平与生物膜形成能力之间存在显著差异。

1.2 生物膜形成和耐药性的相关性分析 目前,生物膜形成能力与抗菌药物耐药性的关系结论不完全一致,可能与未细分鲍曼不动杆菌生物膜形成能力及缺乏公认的生物膜定量标准有关。QI 等^[8]研究发现非多重耐药菌株具有较多多重耐药菌株形成更强的生物膜的能力,具有高耐药性的分离菌株形成的生物膜始终很弱,耐药性的提高与形成的生物膜量无关。在生物膜形成和抗菌药物耐药性对医院环境中鲍曼不动杆菌存活的研究中,发现生物膜形成能力和除黏菌素以外的所有抗菌药物的耐药性之间形成显著的负相关关系,易感菌株比中介和耐药菌株均能形成更坚固的生物膜,属于同一克隆类型的菌株具有相似的生物膜形成能力和相似的抗菌药物耐药模式^[7]。还有研究指出抗菌药物耐药性和生物膜的形成之间存在高度相关性,耐药菌株具有更强的生物膜形成能力^[9-10]。

GREENE 等^[11]发现环境分离菌株较临床患者分离菌株产生更多的生物膜量。在临床分离菌株中,MDR 表型增加了其对环境的抵抗力,高生物膜表型协同提高耐受性;在环境分离株中,MDR 表型带有一个降低干燥耐受性的适应度代价,而高生物膜表型缓冲了这个代价。生物膜基因的表达可能会因环境条件而异,提示鲍曼不动杆菌生物膜形成并表现出多重耐药性的潜力可能与鲍曼不动杆菌在环境中的存活能力有关。

低于最小抑制浓度(MIC)的抗菌药物浓度定义为亚最低抑菌浓度(sub-MICs),感染治疗过程中,一定剂量的药物作用一段时间后,各种组织中的给药浓度通常会低于抗菌药物的相应 MIC。有研究发现 sub-MICs 的黏菌素和多黏菌素 B 诱导临床分离的

MDR 鲍曼不动杆菌的生物膜形成,通过聚 β -(1,6)-的 N-乙酰葡萄糖胺和外膜蛋白 Bap 的调节改变生物膜的形成,需要进一步的研究来确定在抗菌药物存在下这些基因的诱导机制^[12]。

2 抗菌药物选择

2.1 抗菌药物选择依据 鲍曼不动杆菌感染的患者选择抗菌药物时要综合考虑病原体对药物的敏感性、患者病情的严重程度、感染部位等因素;选择有肝肾毒性的药物时,同时要结合患者基本情况、肾功能,根据患者肌酐清除率调整抗菌药剂量。对于多药耐药菌、泛耐药菌需抗菌药物联合应用。

2.2 耐药情况 流行病学研究结果显示,多重耐药鲍曼不动杆菌的感染在全球范围内呈现增长趋势^[13]。有研究表明,全球每年约 100 万例鲍曼不动杆菌感染者分离的菌株中,约 50%对包括碳青霉烯类在内的多种抗菌药物产生耐药性^[14]。近年来国内细菌耐药监测结果表明,耐碳青霉烯的鲍曼不动杆菌对亚胺培南和美罗培南的耐药性由 2005 年的 31.0%和 39.0%分别上升至 2019 年 73.6%和 75.1%^[15-16],即使 2012 年和 2017 年有轻微下降,但总体呈现出迅速增长趋势。耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌具有广泛耐药的特点,大部分抗菌药物耐药率均在 50%以上,常规药敏试验显示仅对替加环素、多黏菌素、头孢他啶-阿维巴坦敏感^[15]。

2.3 抗菌药物联合用药 鲍曼不动杆菌的感染,可根据药敏结果选择 β 内酰胺类抗菌药物。对于碳青霉烯类耐药鲍曼不动杆菌,根据体外药物敏感性试验常用的药物有舒巴坦、多黏菌素、替加环素。

LIU 等^[17]研究发现碳青霉烯类与其他抗菌药物联合用药对碳青霉烯类耐药菌株有协同作用;ZHU 等^[18]进一步研究发现对于亚胺培南耐药的分离菌株,亚胺培南联合用药的协同性和 MIC 值呈负相关,MIC 值增加时协同性降低;黏菌素联合用药时,除与米诺环素组合外,与其他的组合均未显示协同作用。

鲍曼不动杆菌对于多黏菌素的耐药性仍维持在较低水平,目前常用的有多黏菌素 B、多黏菌素 E。然而,在小鼠肺部鲍曼不动杆菌感染模型中,即使是对药物敏感菌,在最高耐受量的情况下多黏菌素也无法达到抑菌效果;同时,多黏菌素 B 单独治疗小鼠肺部感染效果也不佳^[19]。BAE 等^[20]发现与接受多黏菌素单独治疗相比,接受多黏菌素联合治疗效果更好,病死率更低,与 ZHU 等^[18]研究结论不同,这种差异可能是由于不同地理区域的抵抗机制不同及两研究的耐药菌株不同,需要大样本的试验来进一步验证。

在碳青霉烯类抗菌药物联合用药的研究中,KHALILI 等^[21]发现美罗培南/黏菌素组与美罗培南/氨苄青霉素-舒巴坦组的临床疗效和微生物清除率是相当的。有学者报道了一项黏菌素联合用药的前瞻性队列研究,结果显示联合舒巴坦(舒巴坦的最大

剂量为 6 g/d) 治疗组与联合碳青霉烯类药物治疗组相比病死率没有显著差异, 该研究虽不是随机研究, 提示了联合用药不可盲目选择^[22]。综上所述, 可能将舒巴坦作为联合用药的首选。

部分抗菌药物联合用药具有协同性, 同时结合当地流行特点、药敏试验结果及药物 MIC, 减少不恰当的药物联用, 有利于减少耐药菌株的产生。

3 小 结

鲍曼不动杆菌生物膜的形成是一个复杂的多基因调控的过程, 其在致病性和抗菌药物耐药性方面均起了重要作用。鲍曼不动杆菌通过内在机制和获得性机制使其对抗菌药物的耐药性变得复杂, 多重耐药菌可选用的抗菌药物极少, 多黏菌素和替加环素已成为其最后一线希望。通过对生物膜形成机制的研究, 找到作用靶点, 有望开发潜在替代治疗方案, 如减毒疫苗的制备。在鲍曼不动杆菌的感染中, 与抗菌药物耐药相关的生物膜形成机制有待进一步研究。

同时, 需要了解鲍曼不动杆菌其他毒力机制。TIPTON 等^[23]研究发现有荚膜的菌落对消毒剂、干燥环境、宿主免疫防御系统具有抗性; 在小鼠肺感染的模型中, 荚膜对于鲍曼不动杆菌的存活是必需的, 提示抑制荚膜合成的靶向方法可能具有减少医院定植和引起疾病的综合优势。CHIN 等^[24]对高毒力鲍曼不动杆菌 AB5075 的研究发现 TetR 型转录调节因子 ABUW_1645 的过度表达使高毒性不透明的 VIR-O 细胞完全转化为半透明无毒 AV-T 细胞, 并且完全无法切换回 VIR-O 表型, 可设计成锁定只能产生无毒力细胞的菌株有效地提供针对其他致命感染的保护作用, 作为针对鲍曼不动杆菌的减毒活疫苗, 为预防提供了方向。研究者需要开拓思维, 从多角度出发, 找到有效的解决困境的方法。

参考文献

- [1] GOIC-BARISIC I, SERUGA MUSIC M, KOVACIC A, et al. Pan drug-resistant environmental isolate of *Acinetobacter baumannii* from Croatia[J]. *Microb Drug Resist*, 2017, 23(4): 494-496.
- [2] AHMAD I, NYGREN E, KHALID F, et al. A cyclic-di-GMP signalling network regulates biofilm formation and surface associated motility of *Acinetobacter baumannii* 17978[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 1991.
- [3] KISHII K, HAMADA M, AOKI K, et al. Differences in biofilm formation and transcription of biofilm-associated genes among *Acinetobacter baumannii* clinical strains belonging to the international clone II lineage[J]. *J Infect Chemother*, 2020, 26(7): 693-698.
- [4] SÁNCHEZ-ENCINALES V, ÁLVAREZ-MARÍN R, PACHÓN-IBÁÑEZ M E, et al. Overproduction of outer membrane protein A by *Acinetobacter baumannii* as a risk factor for nosocomial pneumonia, bacteremia, and

- mortality rate increase[J]. *J Infect Dis*, 2017, 215(6): 966-974.
- [5] SAIPRIYA K, SWATHI C H, RATNAKAR K S, et al. Quorum-sensing system in *Acinetobacter baumannii*: a potential target for new drug development[J]. *J Appl Microbiol*, 2020, 128(1): 15-27.
- [6] CHEN L, LI H, WEN H, et al. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii* was inhibited by PA β N while it had no association with antibiotic resistance[J]. *Microbiologyopen*, 2020, 9(9): e1063.
- [7] AMIN M, NAVIDIFAR T, SHOOSHTARI F S, et al. Association between biofilm formation, structure, and the expression levels of genes related to biofilm formation and biofilm-specific resistance of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from burn infection in Ahvaz, Iran[J]. *Infect Drug Resist*, 2019, 12(1): 3867-3881.
- [8] QI L, LI H, ZHANG C, et al. Relationship between Antibiotic resistance, biofilm formation, and biofilm-specific resistance in *Acinetobacter baumannii*[J]. *Front Microbiol*, 2016, 7(1): 483.
- [9] ZEIGHAMI H, VALADKHANI F, SHAPOURI R, et al. Virulence characteristics of multidrug resistant biofilm forming *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit patients[J]. *BMC Infect Dis*, 2019, 19(1): 629.
- [10] YANG C H, SU P W, MOI S H, et al. Biofilm formation in *Acinetobacter Baumannii*; genotype-phenotype correlation[J]. *Molecules*, 2019, 24(10): 1849.
- [11] GREENE C, VADLAMUDI G, NEWTON D, et al. The influence of biofilm formation and multidrug resistance on environmental survival of clinical and environmental isolates of *Acinetobacter baumannii*[J]. *Am J Infect Control*, 2016, 44(5): 65-71.
- [12] SATO Y, UNNO Y, UBAGAI T, et al. Sub-minimum inhibitory concentrations of colistin and polymyxin B promote *Acinetobacter baumannii* biofilm formation [J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0194556.
- [13] LIM C, TAKAHASHI E, HONGSUWAN M, et al. Epidemiology and burden of multidrug-resistant bacterial infection in a developing country [J]. *Elife*, 2016, 5(1): e18082.
- [14] SPELLBERG B, REX J H. The value of single-pathogen antibacterial agents [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12(12): 963.
- [15] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2019 年 CHINET 三级医院细菌耐药监测[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2020, 20(3): 233-243.
- [16] 张辉, 张小江, 徐英春, 等. 2005—2014 年 CHINET 不动杆菌属细菌耐药性监测[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2016, 16(4): 429-436.
- [17] LIU X, ZHAO M, CHEN Y, et al. Synergistic killing by meropenem and colistin combination of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Chinese patients in an in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2016, 48(5): 559-

563.

[18] ZHU W, WANG Y, CAO W, et al. In vitro evaluation of antimicrobial combinations against imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* of different MICs[J]. J Infect Public Health, 2018, 11(6): 856-860.

[19] PIPERAKI E T, TZOUVELEKIS L S, MIRIAGOU V, et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: in pursuit of an effective treatment[J]. Clin Microbiol Infect, 2019, 25(8): 951-957.

[20] BAE S, KIM M C, PARK S J, et al. In vitro synergistic activity of antimicrobial agents in combination against clinical isolates of colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(11): 6774-6779.

[21] KHALILI H, SHOJAEI L, MOHAMMADI M, et al. Meropenem/colistin versus meropenem/ampicillin-sulbactam in the treatment of carbapenem-resistant pneumonia[J]. J Comp Eff Res, 2018, 7(9): 901-911.

[22] UNGTHAMMAKHUN C, VASIKASIN V, CHANGPRADUB D. Clinical outcomes of colistin in combination with either 6-g sulbactam or carbapenems for the treatment of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* pneumonia with high MIC to sulbactam, a prospective cohort study[J]. Infect Drug Resist, 2019, 12(1): 2899-2904.

[23] TIPTON K A, CHIN C Y, FAROKHYFAR M, et al. Role of capsule in resistance to disinfectants, host Antimicrobials, and desiccation in *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2018, 62(12): 1188-1190.

[24] CHIN C Y, TIPTON K A, FAROKHYFAR M, et al. A high-frequency phenotypic switch links bacterial virulence and environmental survival in *Acinetobacter baumannii* [J]. Nat Microbiol, 2018, 3(5): 563-569.

(收稿日期: 2020-08-17 修回日期: 2021-05-18)

• 综 述 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2021.12.041

线粒体通透性转换孔在 2 型糖尿病患者血小板高活性状态中的作用*

赵 玲¹, 彭玲玲², 王 智², 郭同兰² 综述, 梁 伟^{2△} 审校

1. 蚌埠医学院, 安徽蚌埠 233000; 2. 蚌埠医学院附属连云港市第二人民医院检验科, 江苏连云港 222000

关键词: 2 型糖尿病; 线粒体通透性转换孔; 血小板高活性
中图分类号: R587.1 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2021)12-1799-04

糖尿病是一种慢性、全身代谢性疾病, 其中心脑血管并发症是 2 型糖尿病(T2DM)患者最主要的死亡原因。已有研究表明, 糖尿病患者体内血小板处于高活性状态, 而线粒体通透性转换孔(MPTP)开放或激活在血小板高活性状态中发挥重要作用。本文主要综述 MPTP 在 T2DM 患者血小板高活性状态中作用。

1 MPTP 概述

1.1 MPTP 总体特征及其组成 有研究者报道, 当血小板线粒体暴露在高钙、磷酸盐、氧化或其他应激条件下, 血小板线粒体发生急性肿胀和解偶联, 在这种情况下可观察到线粒体肿胀并伴随着 MPTP 打开, 会导致线粒体膜电位的丧失、caspase 的激活及不可逆的细胞死亡^[1]。MPTP 通道是电压门控的非选择性通道, 除受基质钙超载和活性氧(ROS)激活外, 血小板 MPTP 的开放还受一些相关蛋白、离子及与这些蛋白和通道本身的控制^[2-3]。

近来研究发现, MPTP 是由腺嘌呤核苷酸转位酶

(ANT)、电压依赖性阴离子通道和亲环蛋白 D 蛋白(CypD)、磷酸盐载体、外膜转位蛋白、己糖激酶和 BCL-2 构成^[3]。每种组成 MPTP 结构的蛋白质敲除模型表明, 构成 MPTP 的这些蛋白质并不是引起 MPTP 活性所必需的, 这些被提议的组成 MPTP 的蛋白质成分中的大多数可能是 MPTP 调节者, 而不是引起 MPTP 通道活化的必要组成成分^[3-4]。有研究者认为 MPTP 传导核心是 ATP 合成酶的 c 亚基, 但也有一些研究者认为这可能是由于大的 ATP 合成酶二聚体形成了 MPTP 传导核心的另一种结构, 关于 MPTP 的主要成孔蛋白结构尚未确定, 而且 ATP 合成酶在 MPTP 中的作用目前尚存在争议^[5-7]。

1.2 MPTP 功能 线粒体是具有双层膜结构的真核细胞器, 其主要功能是通过氧化磷酸化为机体供能, 此外线粒体还参与多种细胞功能如 ROS 产生、脂肪酸 β 氧化、细胞内 Ca²⁺ 的平衡调节、胆固醇及激素的合成等^[8]。各种原因引起线粒体数目、结构、质量、功能的变化均可导致线粒体功能障碍^[9]。MPTP 是存

* 基金项目: 江苏省卫生健康委员会医学科研课题面上项目(H2018073); 安徽省教育厅重点项目(KJ2018A1008)。
△ 通信作者, E-mail: hslwys@163.com。
本文引用格式: 赵玲, 彭玲玲, 王智, 等. 线粒体通透性转换孔在 2 型糖尿病患者血小板高活性状态中的作用[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(12): 1799-1802.