• 论 著 •

鲍曼不动杆菌生物被膜与耐药性的相关性分析

赖其伟, 黄丽芳

(韶关市第一人民医院检验科, 广东韶关 512000)

摘要:目的 探讨鲍曼不动杆菌生物被膜与其耐药性的相关性。方法 对 2011 年 6 月至 2014 年 8 月该院分离的鲍曼不动杆菌临床分布、生物膜形成情况及生物膜形成与耐药性的关系进行研究。结果 标本来源主要为痰液、分泌物、腹腔积液等; 强度为“+”生物膜菌株 56 株, 占 66.67% (56/84); 强度为“-”生物膜菌株 3 株, 占 3.57% (3/84), 所占比例最低, 96.43% 鲍曼不动杆菌具有较强的生物膜形成能力; 具有生物膜的菌株耐药性明显高于不具有生物膜的菌株, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 不同强度生物膜菌株的耐药性比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 鲍曼不动杆菌生物膜与其耐药性密切相关, 但不同强度生物膜与其耐药性无明显相关性, 值得对生物膜与其耐药性的关系进行更加深入的研究。

关键词: 鲍氏不动杆菌; 生物膜; 药物耐受性

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.02.004

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)02-0153-02

Acinetobacter baumannii biofilm and antimicrobial resistance correlation Analysis

Lai Qiwei, Huang Lifang

(Department of Laboratory, the First People's Hospital of Shaoguan City, Shaoguan, Guangdong 512000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between Acinetobacter baumannii biofilms and their drug resistance. **Methods** The clinical distribution, biofilm formation and the correlation between biofilm formation and drug resistance of Acinetobacter baumannii isolated in the hospital from June 2011 to August 2014 were studied. **Results** The types of specimens from which the Acinetobacter baumannii stains were isolated were mainly sputum, secretion and peritoneal effusion. There were 56 strains with "+" biofilm intensity accounting for 66.67% (56/84), and 3 strains with "-" biofilm intensity accounting for 3.57% (3/84) which was relatively lower. 96.43% of the Acinetobacter baumannii had strong ability of biofilm formation. The strains with the ability to form biofilm had stonger drug resistance than those without the ability ($P < 0.05$), no significant difference of drug resistance was observed among strains with biofilm of different intensity ($P > 0.05$). **Conclusion** Acinetobacter baumannii biofilms and their drug resistance are closely related, but biofilms intensity are not correlated with the drug resistance. Therefore, further study needs to be done on the relationship between biofilms of Acinetobacter baumannii and the drug resistance.

Key words: Acinetobacter baumannii; biofilms; drug resistance

鲍曼不动杆菌是一种在周围环境和人体皮肤表面常见的革兰阴性菌,也是一种常见条件致病菌^[1],该菌可引起医院获得性肺炎、伤口感染、菌血症等,临床研究发现,随着临床用药的增加鲍曼不动杆菌耐药性有逐渐升高的趋势,且这种耐药菌在全球各地的瘟疫中出现^[2-3],给人类对于该菌引起的感染的治疗带来了极大困难,鲍曼不动杆菌已成为临床治疗的一个难题,因此,寻找鲍曼不动杆菌的耐药性的相关因素并采取有效措施降低其耐药性具有十分重要的意义。越来越多的研究发现,鲍曼不动杆菌的耐药性与其细菌的生物被膜有着密切的关系^[4-5],因此,对鲍曼不动杆菌耐药性与生物被膜关系的研究成为一个重要的研究课题。本研究选择的对象为 2011 年 6 月至 2014 年 8 月本院临床送检标本中分离得到的鲍曼不动杆菌,对鲍曼不动杆菌的临床分布、生物膜形成情况及生物膜形成与耐药性的关系进行研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究选择的对象为 2011 年 6 月至 2014 年 8 月本院临床送检标本中分离得到的鲍曼不动杆菌,主要来自痰液、血液、下呼吸道分泌物、导管、胆汁等。科室主要包括呼吸科、脑外科、重症科、急诊科、骨科、肿瘤科、神经内科、消化科、心外科等。

1.2 生物膜的培养 将对数期生长的鲍曼不动杆菌接种到 96 孔板中,在培养箱中培养 24 h。采用结晶紫染色法测定生物膜形成能力,将接种的 96 孔板取出,用磷酸盐缓冲液 (PBS)

洗净,加入结晶紫染色 1 min,洗去染液,晾干后用酶标仪在 590 nm 处测定其吸光度值,判断细菌生物膜形成能力。

1.3 细菌耐药性研究 所用的抗菌药物为哌拉西林、庆大霉素、头孢他啶、妥布霉素、环丙沙星、氧氟沙星、氨基糖苷类、亚胺培南、左氧氟沙星、头孢哌酮/舒巴坦及多黏菌素 B (后 2 种药常在鲍曼不动杆菌感染时做药敏试验),上述药品均由中国药品生物制品检定所提供。通过上述抗菌药物的药敏纸片试验判断鲍曼不动杆菌对上述抗菌药物的耐药性,主要分为耐药、敏感和中介。

1.4 观察指标 本研究的观察指标主要包括鲍曼不动杆菌在临床标本的分布情况、鲍曼不动杆菌生物膜形成能力情况分布、鲍曼不动杆菌生物膜形成能力与其耐药性的关系等。

1.5 统计学处理 应用 SPSS16.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料以率或构成比表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鲍曼不动杆菌标本分布情况 痰液标本中分离鲍曼不动杆菌 62 株,占 73.81%;气管和喉中分离鲍曼不动杆菌数量最少,均占 1.19%。见表 1。

2.2 鲍曼不动杆菌生物膜形成能力分布情况 强度为“+”生物膜菌株 56 株,占 66.67%,所占比例最高;强度为“-”生物膜菌株 3 株,占 3.57%,所占比例最低;96.43% 鲍曼不动杆菌具有较强生物膜形成能力。见表 2。

表 1 鲍曼不动杆菌标本分布情况

标本来源	株数(n)	构成比(%)
腹腔积液	4	4.76
血液	3	3.57
分泌物	4	4.76
Bile	2	2.38
气管	1	1.19
喉管	1	1.19
痰液	62	73.81
导管	3	3.57
其他	4	4.76
总计	84	100.00

表 2 鲍曼不动杆菌生物膜形成能力分布情况 (n=84)

590 nm 处吸光度值	株数(n)	构成比(%)	生物膜强度
≤0.3	3	3.57	-
>0.3~0.5	56	66.67	+
>0.5~1.0	6	7.14	2+
>1.0~2.0	8	9.52	2+
>2.0	11	13.10	3+

2.3 鲍曼不动杆菌生物膜形成能力与其耐药性的相关性 具有生物膜菌株的耐药性明显高于不具有生物膜菌株,差异有统计学意义($P<0.05$);不同强度生物膜菌株耐药性比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 鲍曼不动杆菌生物膜形成能力与其耐药性的相关性 (%)

抗菌药物	-	1+	2+	3+
哌拉西林	55.4	66.7	66.5	65.9
庆大霉素	53.4	64.5	64.8	64.5
头孢他啶	51.3	63.7	63.5	63.8
妥布霉素	60.7	75.6	76.3	75.8
环丙沙星	47.8	68.7	68.9	67.8
氧氟沙星	67.8	85.6	87.6	86.9
氨曲南	65.3	79.8	79.4	78.9
亚胺培南	55.8	77.6	77.9	76.8
左氧氟沙星	56.7	75.8	76.2	76.9

3 讨 论

鲍曼不动杆菌是一种在自然界中广泛存在的革兰阴性菌,该细菌是一种常见不动杆菌,对营养要求不高,主要存在于生活中的水和土壤里,也存在于健康人的呼吸道、泌尿道及胃肠道中,该菌为条件致病菌^[6],在健康者中其致病能力较低,但在医院等医疗环境中其存活的周期很长,鲍曼不动杆菌通过吸附在医疗器械上从而引起不同组织部位的感染^[7]。临床对于鲍曼不动杆菌的治疗多采用广谱抗生素治疗,但是抗生素的长期应用使得患者的免疫力变低,反而导致鲍曼不动杆菌感染率升高,究其原因主要与鲍曼不动杆菌在长期接触抗生素的过程中产生的多药耐药性有关,在世界暴发的流行菌株感染中鲍曼不动杆菌都扮演着重要的角色,该细菌的耐药性增加了临床对其治疗的难度,加重了患者的负担,因此对鲍曼不动杆菌耐药性相关因素的研究具有十分重要的临床意义。

目前国内外对鲍曼不动杆菌的耐药性研究较多,其中研究最多的是关于细菌的生物膜与其耐药性的关系。在本研究对本院分离得到的鲍曼不动杆菌的生物膜形成能力的测定及生物膜与耐药性的关系测定中发现,具有生物被膜的鲍曼不动杆菌的耐药性显著高于不具有生物被膜的细菌的耐药性,且不同

强度的生物被膜的鲍曼不动杆菌耐药性大小无明显差异。在鲍曼不动杆菌中生物膜是其一种特殊生长状态的体现,生物膜在鲍曼不动杆菌耐药机制的形成中具有非常重要的作用,细菌生物膜可以使得细菌逃避免疫系统的攻击,同时生物膜的存在还会导致该细菌的反复感染,增加治疗的难度^[8]。目前对于生物膜的耐药机制有以下几种可能的解释:(1)生物膜的存在对抗菌药物的渗透有限制作用,使达到生物膜内的抗菌药物浓度显著降低^[9];(2)细菌生物膜内营养的缺乏使细菌生长与代谢较游离态缓慢,对常见抗生素不敏感;(3)生物膜内细菌的群体效应调节某些基因的表达而导致耐药;(4)外排泵的表达增强,能主动将抗生素泵出细菌外^[10-11]。本研究结果也表明,鲍曼不动杆菌生物膜情况对其耐药性具有直接影响。

综上所述,通过本院分离得到的鲍曼不动杆菌的分布及耐药性研究,可以总结出生物被膜与鲍曼不动杆菌耐药性存在明显相关性,通过抗菌药物的药敏试验可以得到鲍曼不动杆菌对不同抗菌药物的耐药情况,因此,临床可以根据致病菌的耐药情况,合理选择抗菌药物,尽量减少耐药情况的发生。且具有不同强度生物被膜的鲍曼不动杆菌其耐药性大小无明显差异,具体机制尚有待于进一步研究。

参考文献

- [1] Huang Y, Wiradharma N, Xu K, et al. Cationic amphiphilic alpha-helical peptides for the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infection[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(34): 8841-8847.
- [2] Gentile V, Frangipani E, Bonchi C, et al. Iron and *Acinetobacter baumannii* Biofilm Formation[J]. *Pathogens*, 2014, 3(3): 704-719.
- [3] Ostorhazi E, Rozgonyi F, Szabo D, et al. Intramuscularly administered peptide A3-APO is effective against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in mouse models of systemic infections [J]. *Biopolymers*, 2011, 96(2): 126-129.
- [4] Alves MJ, Ferreira IC, Lourenco I, et al. Wild mushroom extracts as inhibitors of bacterial biofilm formation[J]. *Pathogens*, 2014, 3(3): 667-679.
- [5] Nait-Chabane Y, Marti S, Rihouey C, et al. Characterisation of pellicles formed by *Acinetobacter baumannii* at the air-liquid interface[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e111660.
- [6] Stowe SD, Thompson RJ, Peng L, et al. Membrane-permeabilizing activity of reverse-amide 2-aminoimidazole antibiofilm agents against *Acinetobacter baumannii*[J]. *Curr Drug Deliv*, 2015, 12(2): 223-230.
- [7] Chang KC, Kuo HY, Tang CY, et al. Transcriptome profiling in imipenem-selected *Acinetobacter baumannii*[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15: 815.
- [8] Milenkovic J, Hrenovic J, Goic-Barisic I, et al. Synergistic anti-biofouling effect of Ag-exchanged zeolite and D-Tyrosine on PVC composite against the clinical isolate of *Acinetobacter baumannii* [J]. *Biofouling*, 2014, 30(8): 965-973.
- [9] Wen H, Wang K, Liu Y, et al. Population dynamics of an *Acinetobacter baumannii* clonal complex during colonization of patients [J]. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(9): 3200-3208.
- [10] Salunke GR, Ghosh S, Santosh-Kumar RJ, et al. Rapid efficient synthesis and characterization of silver, gold, and bimetallic nanoparticles from the medicinal plant *Plumbago zeylanica* and their application in biofilm control [J]. *Int J Nanomedicine*, 2014, 9: 2635-2653.
- [11] 张达容, 陈远翔. 生物被膜阳性鲍曼不动杆菌分布及耐药性分析 [J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(7): 801-802.