

· 专家述评 ·

人工关节假体周围感染抗生素耐药机制分析

孙永强, 岳宗进

(河南省中医院, 河南 郑州 450002)

关键词 人工关节 假体相关感染 抗药性, 细菌 综述



(孙永强主任医师)

随着手术条件的改善、手术技术的进步及关节材料的改进,人工关节假体周围感染越来越少。而术后一旦感染,则是关节置换术后灾难性的并发症,即使及时使用足量、足疗程的抗生素也往往不能有效清除细菌,这

就是细菌生物膜惹的祸。细菌生物膜(bacterial biofilm, BF)是相对于单个分散的浮游状态的细菌生存形式而言的一种独特的细菌生存形式,系指细菌吸附于惰性物体如生物医学材料或机体黏膜表面后,分泌多糖蛋白复合物,使细菌相互粘连并将其自身克隆聚集缠绕其中而形成的膜样物^[1]。BF中具有通道,水、氧、营养物质和代谢产物可以经过这些通道循环。当细菌以BF形式存在时耐药性增强10~1000倍,应用抗生素不能有效清除BF,还可诱导抗生素产生耐药性,说明BF可以使细菌受到保护而逃避抗生素的杀伤。现将人工关节假体周围感染抗生素耐药机制分析总结如下。

1 BF的弥散阻挡作用

BF的弥散屏障是由多糖基质及膜内紧密结构细胞组成的,而且BF内细菌密度高,细菌之间的空间狭小,可阻挡抗生素及氧化自由基渗透入BF,且BF的多糖基质本身能有效地阻止外来大分子物质渗入,其聚合物也能与抗菌素结合,限制其弥散;“无效”抗生素通过改变细菌外膜蛋白尤其是膜上微孔蛋白的组成和数量,使菌体外膜通透性降低,阻碍抗生素进入菌体内而产生耐药性。很多情况下,并不能完全阻止抗生素进入BF内部,而只能延长其渗透时间^[2]。

2 BF的微量梯度变化作用

营养浓度的微量梯度变化是BF的一个重要特征,BF表层的氧几乎可被完全消耗,其深层为无氧环

境;酸性代谢产物在局部堆积使生物被膜内部的pH值显著下降,这种内外酸碱度的差异可以直接对抗抗生素的作用^[3]。例如Yoon等^[4]发现在有氧环境下,氨基糖甙类抗生素对同种微生物的杀灭作用明显大于无氧环境,同时供氧不足能引起膜内细菌生理学和表型变化,从而导致耐药性增加;在BF深层的细菌代谢活性很低,甚至处于“饥饿”“休眠”状态,不进行频繁的细胞分裂繁殖,往往体积较小,不易获得养分和氧气。随着代谢产物的堆积,这些细菌对各种物理、化学、生物学刺激及应激反应不敏感,可避免自身被抗生素杀灭。当停止使用抗生素后,这些细菌就会再次生长繁殖,成为感染复发的根源。

3 BF的表面强化作用

随着BF动态循环的形成,其表面的钙质、血小板、红细胞及纤维蛋白也不断地沉积,使其结构更加紧密,从而强化了BF的特性,进一步增加了BF弥散阻挡、微量梯度变化等作用,从而产生更加明显的耐药性。

4 BF的电荷作用

BF负电荷的胞外脂多糖可与大量的抗生素分子结合,使到达细菌部位的药物浓度显著降低。Harrison等^[5]研究发现,BF暴露于阳离子杀菌剂的前2~4h表现出两倍于浮游菌的耐药性。Høiby等^[6]研究发现,氨基糖苷类抗生素因带有正电荷,易被带有负电荷的藻酸盐复合物吸引而阻止其渗透;但有些抗生素则完全不受影响,例如利福平和大环内酯类抗生素^[7]。

5 BF的广谱耐药性细胞亚群作用

BF中会分化耐药性类似芽胞细胞分化状态的细胞亚群,具有广谱的耐药性,对物理和化学消毒剂有强大的抵抗力。正是这种高度耐药的亚群,进一步增强了细菌的耐药性。

6 BF的应激反应作用

在BF深层的细菌不能得到充分的营养,其生长代谢速度缓慢,不再以指数形式增长,甚至不生长,却对抗生素的耐药性增加。抗生素对细菌的敏感性随其生

长速度的加快而增加;在低生长速度下,浮游菌和完整的 BF 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敏感^[8]。而 BF 内的应激反应导致细菌的生理学改变,使其在各种环境下得到强有力的保护,从而抵抗环境改变和抗生素作用。

7 BF 的基因表型作用

BF 细菌与浮游菌相比,出现了 BF 环境所特有的基因表达模式,即对生长表面的粘附触发了部分细菌亚群基因表达的变化,使其生物学行为也随之改变,这称为 BF 表型。这是由独特基因所控制的,即形成了基因-表型构架^[9]。在铜绿假单胞菌中,mucA 基因的失活突变,使细菌从非黏液表型变为黏液表型,而因此带来的大量的藻酸盐使 BF 结合得更为牢固^[10]。也有相关检测证实,BF 特有的表型能够激活其耐药机制。BF 内某些细菌粘附表面会发生一种生物学反应,使 BF 内的细菌与浮游菌不同,且有独特的 BF 保护,使其产生耐药性。有研究表明,抗生素可以有效清除 BF 中大部分细菌,但部分耐药株却可以抵抗抗生素作用而存活下来。而这些存活的少量细菌,可以进一步繁殖而生成更多的细菌和 BF。

8 抗生素灭活酶作用

有的细菌能分泌抗生素分解酶,使之丧失抗菌效能,其中尤以 β -内酰胺酶引起的耐药性最为重要。许多抗生素水解酶可以固定在 BF 上,使进入膜内的抗生素被灭活。Anderl 等^[11] 研究结果显示,氨苄西林对 BF 的渗透性降低实际上是由于 β -内酰胺酶的作用,因为氨苄西林很容易通过由 β -内酰胺酶缺陷变异菌株形成的 BF。

9 细菌传感效应

细菌传感效应被认为在 BF 耐药性上起作用。传感效应是同种或不同种细菌通过各种信号传导系统对它们当前所处环境、群体密度的感知与交流,使菌体间相互协调生理活动以趋利避害。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信号分子,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,同时细菌为了生存而发生菌株的改变,从而产生耐药性。

10 抗生素外排泵作用

许多细菌能产生抗生素外排泵,这种泵能够将穿过细菌外膜的抗生素及时排出细菌体外,从而避免了抗生素与细菌的接触。Sobel 等^[12] 发现铜绿假单胞菌有 3 套外排泵系统。Rahmati 等^[13] 研究发现在绿

脓杆菌和白假丝酵母菌 BF 的发生发展过程中,其抗生素外排泵的基因表达高于浮游菌,表明 BF 的形成可能有助于抗生素外排泵的生成。

综上所述,BF 的高耐药性是多因素参与的,而且 BF 发展不同时期可能有不同的机制在起作用,但都不是惟一的,可能是多因素协同作用所致。目前这方面的研究仍然存在很多问题,还需进一步的探讨,以便我们在临床中更合理地选择抗生素,有效地控制好临床感染。

11 参考文献

- [1] 裴斐,王睿,柴栋,等. 抗藻酸盐血清对粘液型铜绿假单胞菌粘附性和生物被膜渗透性的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2001,17(6):423-426.
- [2] Stewart PS, Roe F, Rayner J, et al. Effect of catalase on hydrogen peroxide penetration into pseudomonas aeruginosa biofilms[J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66(2): 836-838.
- [3] 刘航涛,王万明. 细菌生物被膜在不可吸收内植物感染中的作用[J]. 生物骨科材料与临床研究, 2007, 4(1): 24-26.
- [4] Yoon SS, Hennigan RF, Hilliard GM, et al. Pseudomonas aeruginosa anaerobic respiration in biofilms: relationships to cystic fibrosis pathogenesis[J]. Dev Cell, 2002, 3(4): 593-603.
- [5] Harrison JJ, Turner RJ, Ceri H. Persister cells, the biofilm matrix and tolerance to metal cations in biofilm and planktonic Pseudomonas aeruginosa [J]. Environ Microbiol, 2005, 7(7): 981-994.
- [6] Høiby N, Krogh Johansen H, Moser C, et al. Pseudomonas aeruginosa and the in vitro and in vivo biofilm mode of growth[J]. Microbes Infect, 2001, 3(1): 23-35.
- [7] 范春,牛其昌,王颖. 铜绿假单胞菌生物膜耐药机制及防治[J]. 国外医药抗生素分册, 2004, 25(5): 230-232.
- [8] 张海英,熊盛道,熊维宁. 抗生素单一或联合用药诱导铜绿假单胞菌释放内毒素的比较研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26(1): 18-22.
- [9] 李睿明. 抗感染治疗新靶点—细菌生物膜[J]. 医学与哲学, 2006, 27(4): 42-44.
- [10] Whiteley M, Bangera MG, Bumgarner RE, et al. Gene expression in Pseudomonas aeruginosa biofilms [J]. Nature, 2001, 413(6858): 860-864.
- [11] Anderl JN, Franklin MJ, Stewart PS. Role of antibiotic penetration limitation in Klebsiella pneumoniae biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin [J]. Antimicrob Agents and Chemotherapy, 2000, 44(7): 1818-1824.
- [12] Sobel ML, Hocquet D, Cao L, et al. Mutations in PA3574 (nalD) lead to increased MexAB-OprM expression and multidrug resistance in laboratory and clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(5): 1782-1786.
- [13] Rahmati S, Yang S, Davidson AL, et al. Control of the AcrAB multidrug efflux pump by quorum-sensing regulator SdiA [J]. Mol Microbiol, 2002, 43(3): 677-685.