

金黄色葡萄球菌生物被膜研究进展

薛良, 晁生武*

青海大学附属医院烧伤整形外科, 青海 西宁

收稿日期: 2023年4月17日; 录用日期: 2023年5月9日; 发布日期: 2023年5月16日

摘要

金黄色葡萄球菌是常见的引起社区感染和医院感染的致病菌之一。随着抗生素的普及, 金黄色葡萄球菌的耐药性问题变得越来越突出。特别是当细菌在某些特定环境中形成生物膜, 导致抗生素的有效性受到影响, 甚至完全失去作用。本文就金黄色葡萄球菌生物被膜的研究进展进行综述, 期望为开发出新的抗菌药物提供参考依据。

关键词

金黄色葡萄球菌, 生物被膜, 耐药机制

Research Progress of *Staphylococcus aureus* Biofilm

Liang Xue, Shengwu Chao*

Department of Burn Plastic Surgery, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining Qinghai

Received: Apr. 17th, 2023; accepted: May 9th, 2023; published: May 16th, 2023

Abstract

The extensive use of antibacterial drugs has caused the drug resistance of *Staphylococcus aureus* to become increasingly serious in recent years, making it one of the most frequent pathogens causing both community and hospital infections. In particular, bacteria form biofilms under certain conditions to produce drug resistance, so that antibacterial drugs are ineffective or even ineffective. This paper reviewed the advancement of *Staphylococcus aureus* biofilm research to furnish a basis for the creation of novel antibacterial medications.

*通讯作者。

Keywords

Staphylococcus aureus, Biofilm, Drug Resistance Mechanism

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

“金葡菌”(Staphylococcus aureus, SA)被认定为 Firmicutes 门的一种革兰氏阳性细菌,具有非运动性,并且具有凝固酶阳性特征。尽管该细菌属共有 52 个种类,其中有 28 个亚种,但它仍被认定为目前在临床上应用最广泛的细菌。在 20%~40%的普通人群中,在鼻黏膜的人类共生微生物群中发现了金黄色葡萄球菌[1]。金黄色葡萄球菌是一种临床上重要的病原体,是一种机会性病原体,当皮肤和粘膜屏障被破坏时,例如,由于慢性皮肤疾病、伤口或手术干预,金黄色葡萄球菌可以进入底层组织或血液并引起感染。患有侵入性医疗设备(如外周和中央静脉导管)或免疫系统受损的人特别容易受到金黄色葡萄球菌感染。金黄色葡萄球菌具有很高的抗生素耐药性,是医院和社区感染的常见原因。社区获得的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(CA-MRSA)的流行率不断上升,加上金黄色葡萄球菌感染的重要严重性,导致频繁使用抗葡萄球菌抗生素,导致耐药率上升[2] [3]。中国细菌耐药监测网(CHINET) 2022 年全年细菌耐药检测结果显示,金黄色葡萄球菌的检出率位于主要临床分离菌的第 3 位,占总样本的 9.47%。2022 年 CHINET 数据显示耐甲氧西林的葡萄球菌(MRSA)检出率高达 28.7%,且 MRSA 对苯唑西林、青霉素的耐药率高达 100%。

金黄色葡萄球菌的耐药性可以通过生物膜的形成来显著提高,这种影响可以从实验结果中得出结论[4]。研究[5]表明,86.7%产生生物被膜的金黄色葡萄球菌具有多重耐药性。成熟生物被膜的建立,在慢性感染的持续性中起着重要作用。通过形成膜,并将细胞包裹在聚合物基质中,生物的抗菌素和免疫防御能力大大降低,从而使得感染变得更加难以根除。在感染期间,生物膜中的细胞扩散可能导致扩散到继发部位并使感染恶化[6]。

2. 金黄色葡萄球菌生物被膜

研究表明,17 世纪 Leeuwenhoek 就发现了细菌的生物被膜,而这一概念一直持续到 1978 年,直到 Costerton 等人提出并证实了一种新的理论,即细菌的生物被膜有别于细胞膜的理论[7]。细胞膜(cell membrane)主要由磷脂组成,将细胞与外界环境分离开来,其主要生物功能有物质隔离、物质交换和细胞通讯等[8]。而细菌生物被膜是微生物在生长过程中附着在物体表面而形成的由微生物的细胞及其分泌的聚合物等组成的膜样多细胞复合体。在生物被膜的保护下,细菌可以增强滋生对抗生素、环境压力及宿主免疫系统攻击的耐受能力[9]。在微生物实验条件下,细菌通常以浮游态生长。与此相反,在环境中发现的细菌超过 99%是以生物被膜形式存在的[10]。

细菌生物被膜(Bacterial biofilm, BF),即一种复杂的微生物结构,它以多糖、蛋白质、胞外 DNA (Extracellular DNAs, eDNAs)构成细胞外基质(extracellular matrix, ECM),把细菌紧紧地封装起来,以防止它们暴露于不利的环境条件下,从而起到保护的作用[11]。与浮游生长模式相比,金黄色葡萄球菌的生物膜生长会增加对抗生素的耐药性。大多数细菌具有形成称为生物被膜的表面附着细胞群落的内在能力。机会性病原体金黄色葡萄球菌可以在许多宿主组织和植入的医疗设备上形成生物膜,通常会导致慢性感

染[12]。它们与许多疾病有关, 包括囊性纤维化、心内膜炎、骨髓炎、以及与中央静脉导管、导尿管、假肢心脏瓣膜和矫形器械有关的各种医院疾病[13]。生物膜感染带来的挑战是对宿主免疫反应和可用化疗的显著抵抗力, 研究表明, 多达 80% 的慢性细菌感染与生物膜有关[13]。有生物被膜生长的细菌的耐药性可能比同一菌株的浮游生物细菌高 10 至 1000 倍, 根除生物膜需要更高剂量的抗生素和更长的给药期[14]。

3. 金黄色葡萄球菌生物被膜形成

虽然参与细菌生物被膜发育的分子成分因细菌种类而异, 且葡萄球菌生物被膜发育是一个复杂的过程, 但一个被广泛认可的基本模型是由三个连续阶段组成: 1) 初始附着, 2) 细胞外基质的产生和细胞增殖, 以及 3) 生物被膜结构和细胞脱离[15]。

3.1. 初始附着阶段

表面附着是葡萄球菌生物被膜形成的第一阶段, 浮游态的葡萄球菌细胞附着在生物或非生物表面上。在感染期间, 葡萄球菌主要遇到由宿主基质组成的生物表面, 包括纤维蛋白原、纤维连接蛋白、体外连接蛋白和胶原蛋白[15]。细胞壁锚定蛋白(CWA)促进了与这些生物表面的结合, 其中最典型的组被称为识别粘附基质分子(MSCRAMM)的微分子成分。所有的 MSCRAMM 都包含一个 C-末端细胞壁靶向基序(LPXTG 基序), 该基序通过酶分酶 A 将蛋白质共价的固定在细胞肽聚糖上[16]。几个 MSCRAMM 通过对宿主基质成分的初始附着来促进生物膜的形成。

3.2. 细胞外基质的产生和细胞增殖

在单个细胞最初附着在表面上后, 这些细胞开始增殖, 导致所谓的微菌落形成。作为早期生物被膜成熟过程的一部分, 细菌也开始产生 EPS。EPS 主要由多糖、蛋白质、eDNA、太胆酸组成, 根据 EPS 的组成, 葡萄球菌生物被膜可以分为两大类: 由多糖基质组成的生物被膜和具有蛋白质基质的生物膜[17][18]。

3.3. 生物被膜结构和细胞脱离

当外部环境发生变化时, 具有生物膜的细菌会从内部释放出来, 并通过传播到周围的表面, 从而形成新的生物膜, 使得它们能够更好地适应新的环境条件[19]。生物被膜的形成是一种社会群体行为, 从最初的附着到成熟生物被膜的传播, 每一步都受到严格的监管[20]。生物被膜的形成主要监管机制之一是群体感应(quorum sensing, QS)系统。在金黄色葡萄球菌中, 它负责从生物被膜形成到分解的转换[21]。除了 QS, 大量的环境因素(例如 PH、营养因素等)以及调节系统(例如 Sae、SarA、Rot)参与了生物被膜形成的调节[22]。另外初始生物被膜形成后, 宿主免疫系统攻击入侵细菌, 导致宿主组织损伤, 进一步促进生物被膜的发育[23]。

4. 金黄色葡萄球菌生物被膜的耐药机制

耐药性的形成可能受到多种因素的影响, 包括营养限制、渗透障碍和群体感应。这些因素都会导致金黄色葡萄球菌的耐药性。

4.1. 营养限制作用

根据 Anderl [24]和其他研究人员的研究结果, 由于生物体的膜的流动性和内部的氧气和营养物质的浓度都很低, 导致在这样的环境条件下, 细菌的生长和代谢变得很缓慢。大多数的抗生素都无法有效地抑制这些细菌, 只会一定程度上消灭它们, 但无法完全消除它们, 并且在停止服用之后会很快再次患

病, 显示出很高的耐药性。

4.2. 渗透障碍作用

最近的研究表明, 细菌的高度耐药性可归结为其胞外多聚基质的积累[19]。这些胞外多聚基质的存在使得细菌的生物被膜的密度极其紧凑, 并且它们的空隙极其紧凑, 从而提供了良好的外部条件, 使得它们无法进行渗透, 从而可以抵御大分子物质, 如酶、补体和抗菌药物的进攻, 从而使得这些细菌具备更强的抵御力, 从而使它们更容易抵御病原微生物的攻击。由于自身的防御机制, 使得抗生素无法有效地渗透到细胞中, 从而无法有效地消除病原体[25]。渗透障碍作用不仅可以降低细菌生物内膜内抗菌药物的浓度, 也能帮助内酰胺酶使抗菌药物作用失去活性。这种屏障作用和酶的降解效应共同发挥效应, 使细菌生物内膜耐药性得到增强。细胞外的多糖分子带有正电离子, 氨基糖苷类抗菌药物也带有正电离子, 这种同种电荷效应加强了电荷屏障作用的强度, 使抗菌药物的渗透作用难以进行[26]。

4.3. 群体感应作用

群体感应(quorum sensing, QS)是被膜菌为了应对外界环境变化, 通过相互交流调控基因表达的一种群体行为。细菌生物被膜 QS 系统中会利用“语言”进行交流, 这种“语言”通常是一类化学物质, 称为信号分子[19]。细菌之间的信息交流是通过一些小分子多肽或酯类实现的, 而这些小分子可以构建一个完整有效的生物膜, 从而使细菌之间的信息传递更加顺畅。然而, 一旦这种生物膜受到外界刺激, 就会导致细菌的耐药性和毒力大大提升, 从而影响到细菌的生存环境[27]。群体感应系统可以有效地调节细菌的生长和繁殖, 从而形成一种能够抵御外界抗药性的生物膜, 这种膜可以有效地阻止外界的药物侵害, 从而使细菌能够更好地抵御外界的药物, 从而对抗生素产生耐药[28]。

5. 金黄色葡萄球菌生物被膜防治与控制

金黄色葡萄球菌一旦形成生物被膜就很难有效根除。因此, 与植入物有关的葡萄球菌生物被膜感染通常需要手术清创和长期抗菌治疗[23]。除了传统的抗生素治疗方法, 研究人员还发现了许多新的物质, 它们能够预防或消灭葡萄球菌。这些物质可能会干扰 AgrQS 系统, 降低生物膜的稳定性, 或者对细菌产生杀伤作用。另一个非常有前途的策略是修改导管和植入物等生物材料表面, 以防止葡萄球菌粘附和随后的生物膜的形成。在这方面, 单独或组合涂有表面活性剂、抗生素或抗菌肽的植入物显示出有希望的效果[29]。

6. 小结

被膜的形成是由多种因子和多基因共同调控的过程。随着抗菌药物的广泛使用, 细菌的耐药性问题日渐严重, 如何合理地应用抗菌药物、研究细菌生物被膜的耐药机制, 严格把控细菌耐药在临床治疗具有重要的意义。相信随着研究的不断进展, 越来越多的先进技术可用于生物被膜的探索, 从而为细菌耐药性提供理论依据, 进而更有效地控制人类细菌感染。

参考文献

- [1] Lee, A.S., de Lencastre, H., Garau, J., et al. (2018) Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*. *Nature Reviews Disease Primers*, 4, Article No.18033. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>
- [2] Ahmad-Mansour, N., Loubet, P., Pouget, C., et al. (2021) *Staphylococcus aureus* Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments. *Toxins (Basel)*, 13, Article 677. <https://doi.org/10.3390/toxins13100677>
- [3] Lowy, F.D. (1998) *Staphylococcus aureus* Infections. *The New England Journal of Medicine*, 339, 520-532. <https://doi.org/10.1056/NEJM199808203390806>

- [4] 闫兵, 潘一鸣, 张昌峰, 等. 临床分离金黄色葡萄球菌生物膜形成、毒性以及耐药性的研究[J]. 现代预防医学, 2016, 43(7): 1291-1294.
- [5] Neopane, P., Nepal, H.P., Shrestha, R., Uehara, O. and Abiko, Y. (2018) *In vitro* Biofilm Formation by *Staphylococcus aureus* Isolated from Wounds of Hospital-Admitted Patients and Their Association with Antimicrobial Resistance. *International Journal of General Medicine*, **11**, 25-32. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S153268>
- [6] Lister, J.L. and Horswill, A.R. (2014) *Staphylococcus aureus* Biofilms: Recent Developments in Biofilm Dispersal. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **4**, Article 178. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00178>
- [7] 刘琳, 谭小娟, 贾爱群. 细菌群体感应与细菌生物被膜形成之间的关系[J]. 微生物学报, 2012, 52(3): 271-278.
- [8] 徐国恒. 细胞膜的双层磷脂结构与功能[J]. 生物学通报, 2006, 41(9): 11-14.
- [9] 叶晓敏, 陆春. 霍乱弧菌群体感应系统影响生物膜形成的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2010, 30(1): 80-83.
- [10] Moormeier, D.E. and Bayles, K.W. (2017) *Staphylococcus aureus* Biofilm: A Complex Developmental Organism. *Molecular Microbiology*, **104**, 365-376. <https://doi.org/10.1111/mmi.13634>
- [11] Kim, S.K. and Lee, J.H. (2016) Biofilm Dispersion in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Microbiology*, **54**, 71-85. <https://doi.org/10.1007/s12275-016-5528-7>
- [12] Boles, B.R. and Horswill, A.R. (2008) Agr-Mediated Dispersal of *Staphylococcus aureus* Biofilms. *PLOS Pathogens*, **4**, e1000052. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000052>
- [13] Leid, J.G., Shirliff, M.E., Costerton, J.W. and Stoodley, P. (2002) Human Leukocytes Adhere to, Penetrate, and Respond to *Staphylococcus aureus* Biofilms. *Infection and Immunity*, **70**, 6339-6345. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.11.6339-6345.2002>
- [14] Hengzhuang, W., Wu, H., Ciofu, O., Song, Z.J. and Høiby, N. (2011) Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Colistin and Imipenem on Mucoid and Nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **55**, 4469-4474. <https://doi.org/10.1128/AAC.00126-11>
- [15] Schilcher, K. and Horswill, A.R. (2020) Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment Strategies. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **84**, e00026-19. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00026-19>
- [16] Mazmanian, S.K., Liu, G., Ton-That, H. and Schneewind, O. (1999) *Staphylococcus aureus* Sortase, an Enzyme That Anchors Surface Proteins to the Cell Wall. *Science*, **285**, 760-763. <https://doi.org/10.1126/science.285.5428.760>
- [17] O'Gara, J.P. (2007) Ica and beyond: Biofilm Mechanisms and Regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiology Letter*, **270**, 179-188. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00688.x>
- [18] Speziale, P., Pietrocola, G., Foster, T.J. and Geoghegan, J.A. (2014) Protein-Based Biofilm Matrices in Staphylococci. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **4**, Article 171. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00171>
- [19] 韩飞, 袁子添, 梁新丽, 等. 细菌生物被膜耐药机制及天然药物干预的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(14): 3560-3565.
- [20] Parsek, M.R. and Greenberg, E.P. (2005) Sociomicrobiology: The Connections between Quorum Sensing and Biofilms. *Trends in Microbiology*, **13**, 27-33. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.11.007>
- [21] Le, K.Y. and Otto, M. (2015) Quorum-Sensing Regulation in Staphylococci: An Overview. *Frontiers in Microbiology*, **6**, Article 1174. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01174>
- [22] Wolska, K.I., Grudniak, A.M., Rudnicka, Z. and Markowska, K. (2016) Genetic Control of Bacterial Biofilms. *Journal of Applied Genetics*, **57**, 225-238. <https://doi.org/10.1007/s13353-015-0309-2>
- [23] Archer, N.K., Mazaitis, M.J., Costerton, J.W., et al. (2011) *Staphylococcus aureus* Biofilms: Properties, Regulation, and Roles in Human Disease. *Virulence*, **2**, 445-459. <https://doi.org/10.4161/viru.2.5.17724>
- [24] Anderl, J.N., Zahller, J., Roe, F. and Stewart, P.S. (2003) Role of Nutrient Limitation and Stationary-Phase Existence in *Klebsiella pneumoniae* Biofilm Resistance to Ampicillin and Ciprofloxacin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **47**, 1251-1256. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.4.1251-1256.2003>
- [25] Kuchma, S.L. and O'Toole, G.A. (2000) Surface-Induced and Biofilm-Induced Changes in Gene Expression. *Current Opinion in Biotechnology*, **11**, 429-433. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(00\)00123-3](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(00)00123-3)
- [26] 张健, 林一民. 生物被膜的抗菌药物耐药机制及研究进展[J]. 检验医学与临床, 2015(24): 3771-3773.
- [27] 梁智, 曾春晖. 相关基因调控 MRSA 生物被膜形成的研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(5): 482-485.
- [28] 胡昌俊, 李德辉, 朱良苗. 群体感应系统在细菌生物被膜耐药性形成中的调控机制[J]. 检验医学与临床, 2014(4): 520-521.
- [29] Darouiche, R.O., Mansouri, M.D., Gawande, P.V. and Madhyastha, S. (2009) Antimicrobial and Antibiofilm Efficacy of Triclosan and DispersinB[®] Combination. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **64**, 88-93. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp158>