

· 综 述 ·

细菌生物被膜耐药屏蔽及其防治

王 睿

细菌生物被膜(bacterial biofilm, BBF)是细菌为适应自然环境有利于生存而特有的生命现象。BBF 广泛存在于自然界,国外关于 BBF 研究是从研究细菌在建筑通水管道、河床吸附而形成 BBF 导致水源污染开始的。现代医学材料和许多慢性细菌感染性疾病的器官组织表面均发现 BBF 的存在。1987 年美国学者 Costerton 等^[1]首先提出 BBF 对人类的致病性问题,近年来国外在对生物医学材料相关感染(心脏瓣膜置换术、人工关节置换术、动静脉导管、气管插管、机械通气等合并感染)和某些慢性顽固性感染疾病(如慢性泛细支气管炎、囊性纤维化、亚急性细菌性心内膜炎、慢性骨髓炎、褥疮等)反复发作,以及难以控制的病因探讨中,提出 BBF 相关感染(bacterial biofilm associated infections)^[2]的概念。

BBF 下细菌无论其形态结构、生理生化特性等与普通浮游生长细菌显著不同,对多种抗菌药物显示了严重耐药性,常导致抗感染治疗失败。并且由于细菌在 BBF 保护屏蔽下可逃避抗菌药物杀伤作用和免疫细胞吞噬作用,从而成为院内感染难以清除的感染源。本文论述 BBF 与细菌耐药性的相关性。

1 BBF 的概念与结构特点

BBF 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,分泌多糖基质、纤维蛋白、脂蛋白等多糖蛋白复合物,使细菌相互粘连并将其自身克隆聚集缠绕其中形成的膜样物^[3]。BBF 感染主要包括生物医学材料相关感染和某些慢性感染。早在 1943 年, Zobel 就提出 BBF 并对其进行过描述, 1982 年, Costerton 证明了细菌在异物上具有粘附性,并得出粘附性与结合的牢固程度取决于细菌表面的生化特性及惰性表面的物理化学性质的结论; 1987 年他又提出了 BBF 致病性问题。同时人们在对应用生

物医学材料后感染的研究中也发现了 BBF 的存在^[4]。目前认为生物医学材料相关感染迁延不愈的主要原因是由细菌粘附于材料表面形成 BBF 所致。

细菌与其粘附的基底层一般均带负电,往往互相排斥,但范德华力和疏水力可使细菌靠近基底层面便于其粘附;特定的粘附素与受体也可以相互作用,促进细菌粘附;更主要是细菌的纤毛(fimbriae)通过非特异性的电引力或疏水作用与基底层无机物相结合,接着细菌分泌多糖蛋白复合物(glycocalyx)或称为胞外多糖(exopolysaccharids)与基底层牢固结合,使粘附更牢固而不可逆;细菌在细菌之间及细菌与基底层之间继续生长分裂,从而产生由多聚糖包围的 BBF^[5]。

由于大多数多糖蛋白复合物带负电荷,可从周围环境中吸引各种有机物和无机物,所以不同细菌及不同环境下 BBF 形态有所不同,如铜绿假单胞菌表面形成一种柔韧的、有一定厚度的、并突向介质内的多糖蛋白复合物;而克雷伯杆菌的多糖复合物则僵硬的且均匀完整地分布于细菌表面^[8]。然而不同 BBF 却有着相似的结构,都由水化的多阴离子基质和不同程度的包绕于其中的细菌细胞所组成^[6]。为了更好地了解 BBF 的结构特性,对其进行激光共聚焦显微镜(scanning confocal laser microscopy, SCLM)分析^[7]。在通过 SCLM 以原位(*in situ*)观察活体 BBF 时,发现 BBF 并非一层致密的膜,而是内有相互交通的水通道(water channels),这些通道可让细菌生存所需要的营养物质进入 BBF 的深层,代谢产物也可以经此排出;用 SCLM 对生长在 BBF 中的铜绿假单胞菌(PA)作断面图像扫描,观察到 BBF 由不同片状物组成,这些结构呈特殊排列,被膜高度亲水,游离端结构由 73%~98% 的细胞外物质和空隙组成。所以有人把这种结构形容为被膜“建筑物”^[8,9]。

由于 BBF 具有如此复杂的结构,决定了它能适应物理的、化学的等多样性变化的内环境。这些发现对研究 BBF 的耐药屏蔽有着重要的意义。

2 BBF 相关感染^[10~15]

随着高科技生物医学材料的应用,生物医学材

收稿日期:2003-03-17

作者单位:100853 北京市,解放军总医院临床药理学研究室

作者简介:王睿,女,1948 年 11 月生,辽宁省抚顺市人,医学硕士,研究员,博士生导师,室主任。Tel:010-66937909

料相关感染发生率也逐年上升,根据流行病学调查,心脏外科生物材料(如人工瓣膜)植入术合并感染发病率为 33.7%,机械通气患者在气管插管处细菌定植并反复感染的发生率达 90%,留置导尿管 1 d 泌尿系感染的发生率为 3%~10%,中央静脉插管并发感染发生率为 2%~37%。此外,静脉导管、伤口引流管、人工关节置入等相关感染的发生率亦较高。80 年代北美研究表明,血管插管感染的发生率为 3.5%,髌关节成形术并发感染发生率为 11%。

生物医学材料相关感染是发病率和死亡率较高的难治性院内感染,治疗费用亦较高。英国相关药物经济学研究表明,仅动脉插管感染的治疗费用即达 1095 英镑,且一般的抗感染治疗效果不佳,最终常需将生物材料取出才能消除感染,从而使新技术推广受到限制,因此如何预防治疗生物医学材料相关感染已成为目前面临的严峻课题。生物医学材料相关感染与 BBF 形成密切相关。如果 BBF 在生物医学材料表面形成,抗菌药物浓度即使达到 1000 倍 MIC 以上,也不能杀灭被膜下细菌,以致感染难以控制。

日本小林^[2]在 BBF 的研究中,提出了 BBF 病的概念。他把临床上与 BBF 有关的疾病总称为 BBF 病(表 1)。如慢性支气管炎合并感染、慢性骨髓炎、褥疮、肾结石合并感染等。此类疾病由于 BBF 的存在,被膜内的细菌常常造成疾病的迁延不愈和急性发作,给临床治疗带来很大的困难。

表 1 常见细菌生物被膜感染疾病

BBF 感染疾病	形成生物被膜的细菌
牙髓	产酸 G ⁺ 球菌(如链球菌)
牙周炎	G ⁻ 厌氧口腔细菌
中耳炎	非典型流感嗜血杆菌
肌肉骨骼感染	G ⁺ 球菌(如葡萄球菌)
弥漫性泛细支气管炎	铜绿假单胞菌
胆道感染	大肠埃希菌
骨髓炎	混合细菌感染和真菌
细菌性前列腺炎	大肠埃希菌和其他 G 菌
心内膜炎	绿色链球菌
肺囊性纤维化	铜绿假单胞菌

由于 BBF 的存在,使被膜内细菌能够逃逸抗菌药物的杀伤作用和机体免疫系统的清除,成为潜在的感染源;在免疫力下降或其他诱因条件下被膜内细菌大量繁殖,从而造成感染的反复发作。由 BBF 导致的相关感染一般有以下几个特点:(1)通常有相

互转化的静止期和发作期;(2)抗菌药物治疗起初可能有效,但以后治疗常常失败;(3)致病菌主要来自皮肤和周围环境,其主要有金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、假单胞菌属、表皮葡萄球菌等。

3 BBF 耐药性

在 BBF 相关感染疾病的病灶中,细菌一部分以浮游生长的形态存在,而另一部分则以 BBF 的形式存在,有效浓度的抗菌药物能迅速杀灭浮游生长的细菌和 BBF 表面的细菌。但是 BBF 细菌产生的藻酸盐一方面可以通过氢键、范德华力、共价键吸附一部分抗菌药物,另一方面吸附于 BBF 藻酸盐的抗菌药物灭活酶如 β -内酰胺酶也可灭活一部分抗菌药物,这样就使到达 BBF 深处直接接触细菌的抗菌药物大大减少^[5,6];BBF 中细菌分裂迟缓,对抗菌药物不敏感^[7,8]。此外体外实验表明细菌形成 BBF 后可以逃避机体的免疫作用,表现在细菌形成 BBF 后由它诱导的补体转化及中性粒细胞呼吸爆发反应显著降低,从而可能产生免疫逃逸作用使细菌不易清除。

体外研究发现,固体物质表面的 BBF 在形成的第 1~5 天,细菌量不断增加,5d 后开始保持稳定,在 BBF 形成的第 2 天,细菌还对抗生素敏感,至第 7 天时,BBF 中细菌对抗生素十分耐药^[6]。临床资料尚表明,在 BBF 开始形成的 72 h 内,由于 BBF 未形成稳态,对各种抗菌药物相对比较敏感,治疗效果相对较好,以后的治疗效果就比较差^[17]。近年来,体外实验^[18]已明确,在 BBF 中生长的细菌无论其形态结构、生理生化特性、对抗菌药物的耐受性等都与普通浮游菌有显著不同;有些生长在成熟的 BBF 中的细菌如铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)竟可以耐受 1000~2000 倍于浮游菌 MIC 的浓度。这表明 BBF 形成后具有强大的耐药屏蔽作用。有关 BBF 耐药屏蔽的机制目前尚不十分明确,一般认为与以下几点有关。

3.1 与 BBF 内细菌的生理状态有关^[19-20] BBF 中细菌的生理状态各不相同,这是由细菌在“建筑物”式的 BBF 中的位置所决定的。处于 BBF 表层的细菌由于比较容易获得养分和氧气,且代谢物可以顺利的排出而代谢比较活跃,菌体比较大,与浮游菌性质差别不大。相反,在 BBF 深层的细菌被厚厚的多糖蛋白复合物所包绕,不易获得养分和氧气,代谢产物堆积,因此,总的来说这些细菌代谢活性很低,甚至处于休眠状态,不进行频繁的细胞分裂,往往体积较小,而对各种物理、化学、生物学、应激反应不敏

感,自然对药物也不敏感。在用微切片和显微镜技术(microslicing and microscopic techniques)、荧光探针和报告基因技术(fluorescent probe and reporter gene technologies)等技术观察分析BBF也证明其中细菌的生理状态具有显著的空间差异。由于BBF内细菌具有如此广泛的不同代谢状态,使其几乎在任何状况下都能使一部分幸存。另外,特定营养成分的缺失也可以影响细菌的生理状态,从而对抗生素的敏感性,比如在缺镁的情况下PA对多粘菌素B、EDTA、氨基糖苷类药物的耐药性显著升高。

3.2 与抗菌药物对BBF渗透屏障有关^[21-24] 当用抗生素等治疗BBF病时,虽然进入人体内的抗菌药物量远多于杀灭细菌所需要的数量,但BBF内细菌产生的多糖蛋白复合物如藻酸盐多糖,可如离子交换作用那样通过氢键、范德华力、共价键吸附一部分抗菌药物;同时,许多易于固定于BBF多糖蛋白复合物上的细菌产生的水解酶如 β -内酰胺酶、过氧化氢酶等被吸附其上,也可水解或钝化一部分抗菌药物,从而使渗入并接触到BBF下细菌的抗菌药物大大减少,达不到抑菌、杀菌浓度,而使药物失效。另外,多糖蛋白复合物还可以延缓大多数抗菌药物的扩散,并且其溶解物在BBF内的扩散要远比其在水中的扩散慢。Stewart等用数学模型预测:对于抗菌氧化剂次氯酸盐、过氧化氢等,由于其在BBF外层被失活的速度远比它扩散的快而产生显著的屏蔽作用,使得BBF细菌有足够的时间开启抗菌药物耐药基因如抗生素水解酶基因的表达。有研究表明,某些抗生素可诱导BBF内细菌产生 β -内酰胺酶的水平显著升高,而使细菌显示出高度的耐药性。

3.3 其它 有人推测BBF中的细菌可分化为不同的有自我保护功能的类型,这种类型对营养缺乏没有反应,而对其表面的生长过程有反应。此外,BBF表面钙质、血小板、红细胞及纤维蛋白的沉积,也可使BBF强化,使耐药性增加。BBF的耐药屏蔽是BBF相关感染难治性的重要原因,对其研究还在从不同方面进行。若能研制一种渗透性好、在BBF中有良好活性的药物,将是对其治疗上的一大突破。

4 BBF相关感染防治

BBF相关感染疾病的治疗非常棘手,目前主要通过抑制BBF的形成和对已形成稳态的BBF用能通过BBF的杀菌剂两方面来进行防治。

4.1 抗菌药物防治^[25-27] 对于BBF形成初期(72h),可应用敏感抗菌药物治疗。早期应用大剂

量或渗透性较强抗菌药物,如氟喹诺酮类药物可穿透胞外多糖,对生长缓慢的细菌有一定的杀菌作用,但不能完全清除BBF中的细菌。大环内酯类药物如14员环大环内酯类红霉素、克拉霉素、罗红霉素及15员环大环内酯类阿奇霉素,可抑制BBF主要成分多糖蛋白复合物合成酶,可抑制多糖蛋白复合物形成,破坏BBF结构,促进其他抗菌药物渗透,因此可小剂量大环内酯类药物与对感染菌敏感的药物合用治疗BBF相关感染^[11]。大环内酯类与氟喹诺酮类联合应用可抑制BBF的形成,从而提高氟喹诺酮类药物对BBF的渗透性和对BBF下细菌的杀菌活性。如弥漫性泛细支气管炎患者在80年代的5年生生存率不足20%,随后发现大环内酯类药物对BBF有较强的作用,在应用大剂量的大环内酯类药物后,其5年生生存率提高到80%以上。粘液型铜绿假单胞菌的藻酸盐的合成可以被米诺环素、妥布霉素、林可霉素及大环内酯类药物抑制。而非粘液型铜绿假单胞菌的多糖蛋白复合物的合成可以被大环内酯类药物、林可霉素抑制。有学者认为:对铜绿假单胞菌应用大剂量的哌拉西林和妥布霉素或亚胺培南、环丙沙星,对已形成稳态的BBF仍有一定疗效,但不能彻底清除BBF。

4.2 藻酸盐单克隆抗体的防治作用^[15,16,28-29] 单克隆抗体由于其高度的特异性,因此近年来对其在BBF方面的应用也进行了探讨,目前仅见关于藻酸盐单克隆抗体的研究,但尚处于体外试验阶段。国外已经有通过用铜绿假单胞菌中提取的藻酸盐或用铜绿假单胞菌免疫的方法制备藻酸盐的单克隆抗体,并研究了它对铜绿假单胞菌导致的BBF相关感染的作用。有研究表明,藻酸盐单克隆抗体可以降低细菌的粘附性,可与抗菌药物联用来治疗BBF相关感染,同时还发现抗菌药物-藻酸盐单克隆抗体与抗菌药物-藻酸盐裂解酶有协同作用。藻酸盐单克隆抗体可以逆转藻酸盐对淋巴细胞和中性粒细胞吞噬功能的抑制作用。同时有证据表明,藻酸盐单克隆抗体可以增加抗生素对于BBF的渗透性,从而产生与抗生素的协同作用来降低BBF相关感染的发生率。因此,应用藻酸盐单克隆抗体对BBF相关感染进行治疗可能是一种很有前途的方法。

4.3 酶学调控^[30-35] (1)藻酸盐合成酶:多种微生物均可产生藻酸盐,它是一种阴离子粘性多糖蛋白复合物,是BBF的主要成分。它的合成是以6-磷酸甘露糖为底物,经过磷酸甘露糖异构酶(PMI)、磷酸甘露糖变位酶(PMM)、甘露糖焦磷酸化酶(GMP)、甘

露糖脱氢酶(GMD)的催化,最后聚合、乙酰化后合成。因此我们可以通过调节各种合成酶的活性进而调控藻酸盐的合成。例如: Mg^{2+} , Mn^{2+} 等金属离子便可以影响合成酶的活性,有实验表明 Mg^{2+} , Mn^{2+} (0~20 mmol/L)可以提高 GMD、PMI 的活性,而 PMM 仅被 Mn^{2+} 催化。(2)藻酸盐裂解酶:藻酸盐裂解酶可由许多细菌产生,包括固氮菌属、克雷伯菌属、嗜麦芽窄食单胞菌、铜绿假单胞菌、环状土芽胞菌等。它作用于藻酸盐,使 4-O-葡萄糖苷键裂解形成含寡糖的不饱和醛酸,使藻酸盐减少。同时有证据表明^[21,22],藻酸盐裂解酶可以降低细菌的粘附性,由于细菌相互粘附是 BBF 形成的首要因素,若细菌不能相互粘附则可能影响 BBF 的生成。另外,藻酸盐裂解酶由于可以使藻酸盐减少,从而降低了藻酸盐对细菌的物理屏蔽作用,使抗生素容易进入 BBF 内部,杀灭膜内的细菌。目前藻酸盐裂解酶已经可以通过基因工程获得,因此应用藻酸盐裂解酶治疗 BBF 导致的相关感染具有一定意义。(3)蛋白水解酶:因 BBF 的主要骨架是多糖蛋白复合物,应用蛋白水解酶水解蛋白成分,可望破坏 BBF 结构。国外报道应用链激酶、尿激酶等抑制 BBF 形成。我室探讨了尿激酶或蚓激酶与氟罗沙星合用对铜绿假单胞菌 BBF 的抑制具有显著的协同作用。

4.4 基因调控^[36-38] 可以通过调控与藻酸盐合成酶和裂解酶有关的基因来治疗 BBF 相关感染。其中藻酸盐合成的基因全部位于细菌染色体上,到目前为止并未发现质粒的参与^[23-25]。研究表明至少有 24 个基因参与了藻酸盐的合成,并且分为 3 个基因簇,分别位于染色体 9min、34min、68min 处。对于铜绿假单胞菌,所有直接催化藻酸盐合成的基因全部位于其染色体的 34min 处(表 2)。目前,这 24 个基因均已经完成测序、克隆并能在细菌中表达,显示出生物活性。如藻酸盐合成基因基本由 algD 操纵子调控,而 algD 受到 AlgU 和 AlgR 的正调控,AlgU

和 AlgR 则受 algU、algR 的正调控。因此我们可以通过基因工程的方法使某些基因过度表达从而达到我们对 BBF 相关感染的防治目的。

4.5 生物医学材料的改进^[39-41] 生物医学材料的质地与 BBF 相关感染的发生有密切的关系。细菌容易在聚氯乙烯或聚乙烯导管上定植;某些材料表面不平,会促使凝固酶阴性葡萄球菌、不动杆菌、铜绿假单胞菌等细菌的粘附,从而形成 BBF。因此通过改变生物医学材料的质地,减少致病微生物的粘附。研究表明生物材料的表面能在 20~30 dyn/cm² 时,能增强抑制细菌、真菌生长的能力。因此选用低表面能的材料如:特富龙、高弹力硅胶或聚乌拉坦等可以降低 BBF 相关感染的发生率。镀银或涂布有洗必泰/磺胺嘧啶银的生物材料对细菌的粘附更有抑制作用。国外报道了含有特定抗菌药物的聚乌拉坦生物材料通过控释技术,缓慢释放抗菌药物,抑制细菌在生物材料上的定植。如氟喹诺酮类作为广谱抗菌药物,常用于此类材料,国外已有商品供应。但长期低浓度药物刺激是否可诱导细菌耐药性的产生,尚待探讨。

4.6 其他 目前在 BBF 的研究中,还发现了许多其他体外对 BBF 有作用的处理方法。如各种理化因素、超声、弱电流的作用等。通过超声冰浴 30 min 或者在 100℃ 水浴中加热 30 min 可以将 BBF 的主要成分藻酸盐降解;用 1 mol/L 或 2 mol/L 的氢氧化钠 25℃ 作用 60 min 后藻酸盐抑制淋巴细胞的趋化性的抑制率降低;电流能增加某些抗生素的作用而且对浮游细菌有对抗作用的抗生素其活性能被电流进一步提高等。这些方法虽不具备临床治疗意义,但希望能对自然界 BBF 形成及 BBF 相关感染的治疗提供思路。

总之, BBF 相关感染的防治仍是临床上的一个亟待解决的难题。目前应用的抗菌药物并不能完全清除 BBF,因此除应用抗生素对 BBF 导致的相关感染的治疗外,也发现了许多其他可能有效的方法,但尚不成熟。随着对 BBF 研究的不断深入,可能开辟对 BBF 相关感染治疗的新途径。

参 考 文 献

- 1 Costerton JW, Cheung W, Geesey GG. Bacterial biofilm in nature and disease. *Ann Rev Microbiol*, 1987, 41:435-438.
- 2 小林宏行. 细菌と宿主のinteraction. 呼吸, 1990, 9:510-515.
- 3 Costerton JW, Leandowski Z, Caldwell ED, et al. Microbial biofilm. *Annu Rev Microbiol*, 1995, 49:711-713.

表 2 参与铜绿假单胞菌藻酸盐合成的主要基因

基因	基因产物
algA	PMI/GMP
algD	GMD
algF	O-乙酰化
algI	O-乙酰化
algJ	O-乙酰化
algG	甘露糖 CS-异构酶
algL	藻酸盐裂解酶

- 4 Habash M, Reid G. Microbial biofilms: their development and significance for medical device-related infections. *J Clin Pharmacol*, 1999, 39: 887-890.
- 5 Reid G, Habash MB. Urogenital microflora and urinary tract infections. In: Tannock GW, ed Medical importance of the normal microflora. London: Chapman & Hall, 1998. 423-424.
- 6 王睿. 细菌生物被膜相关感染的特点与防治. 国外医药抗生素分册, 1998, 19: 50-52.
- 7 小林宏行. 细菌菌膜的基础与临床. 中国临床药理学杂志, 1999, 15: 299-307.
- 8 Stenberg C, Christensen BB, Johansen J, et al. Distribution of bacterial growth activity in flow chamber biofilm. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65: 4108.
- 9 Xu KD, Stewart PS, Xia F, et al. Special physiological heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm is determined by oxygen availability. *Appl Environ Microbiol*, 1998, 64: 4035-4037.
- 10 Strathmann M, Wingender J, Flemming HC. Application of fluorescently labelled lectins for the visualization and biochemical characterization of polysaccharides in biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Microbiol Methods*, 2002, 50: 237-248.
- 11 雷兆文. 呼吸道 BBF 病: 慢性难治性肺部感染的关键环节. 国外医学呼吸系统分册, 1997, 17: 187.
- 12 Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 1999, 284: 1318.
- 13 Wang SY, Lauritz J, Jass J, et al. A ToxR homolog of vibrio anguillarum serotype O1 regulates its own production, bile resistance, and biofilm formation. *J Bacteriol*, 2002, 184: 1630-1639.
- 14 方向群, 刘又宁. BBF 与难治性感染性疾病. 中国结核和呼吸杂志, 1999, 22: 186.
- 15 Wang R, Chen Q. Effects on the bacterial biofilm of feroxacin combined with urokinase or earthworm kinase. *Jpn J Chemother*, 1999, 47(Suppl A): 46.
- 16 陈迁, 王睿. 细菌生物被膜实验方法的研究进展. 中国临床药理学与治疗学杂志, 1997, 4: 295-298.
- 17 Brown MR, Gilbert P. Sensitivity of biofilm to antimicrobial agents. *J Appl Bacteriol*, 1993, 74: 87-89.
- 18 Xu KD, McFeters GA, Stewart PS. Biofilm resistance to antimicrobial agents. *Micobiology*, 2000, 146(pt3): 547-549.
- 19 Liu WT, Nielsen AT, Wu JH, et al. *In situ* identification of polyphosphate- and polyhydroxyalkanoate-accumulating traits for microbial populations in a biological phosphorus removal process. *Environ Microbiol*, 2001, 3: 110-122.
- 20 Boyd A, Chakrabarty AM. Role of alginate lyase in cell detachment of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol*, 1994, 60: 2355-2359.
- 21 Stewart PS. A review of experimental measurements of effective diffusive permeabilities and effective diffusion coefficients in biofilms. *Biotechnol Bioeng*, 1998, 59: 261.
- 22 Nivens DE, Ohman DE, Williams J, et al. Role of alginate and its O acetylation in formation of *Pseudomonas aeruginosa* microcolonies and biofilms. *J Bacteriol*, 2001, 183: 1047-1057.
- 23 Stewart PS. Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996, 40: 2517-2573.
- 24 方向群, 刘又宁, 陈迁, 等. 阿奇霉素对生物被膜的抑制及对氟罗沙星的增效作用. 中华结核和呼吸杂志, 1998, 21: 538-540.
- 25 Ishida H, Ishida Y, Kurosaka Y, et al. *In vitro* and *in vivo* activities of levofloxacin against biofilm-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chmother*, 1998, 42: 1641-1644.
- 26 柴栋, 王睿, 裴斐, 等. 大环内酯类药物对铜绿假单胞菌生物被膜的影响. 中华医学杂志, 2001, 81: 934-935.
- 27 陈迁, 王睿, 方向群, 等. 罗红霉素与氟罗沙星联合应用对铜绿假单胞菌 BBF 的影响. 中华医学杂志, 1999, 79: 757-759.
- 28 裴斐, 王睿, 柴栋, 等. 抗藻酸盐血清对粘液性铜绿假单胞菌粘附性和生物被膜渗透性的影响. 中国临床药理学杂志, 2001, 17: 423-426.
- 29 裴斐, 王睿. 细菌生物被膜相关感染治疗进展. 中国药理学杂志, 2002, 37: 641-642.
- 30 Rasmussen TB, Manefield M, Andersen JB, et al. How *Delisea pulchra* furanones affect quorum sensing and swarming motility in *Serratia liquefaciens* MG1. *Microbiology*, 2000, 146: 3237-3244.
- 31 Poschet JF, Boucher JC, Firoved AM, et al. Conversion to mucoidy in *Pseudomonas aeruginosa* infecting cystic fibrosis patients. *Methods Enzymol*, 2001, 336: 65-76.
- 32 Martins LO, Brito LC, Sa-Correia I. Roles of Mn^{2+} , Mg^{2+} and Ca^{2+} on alginate biosynthesis by *Pseudomonas aeruginosa*. *Enzyme Microb Technol*, 1990, 12: 794-799.
- 33 Gacesa P. Enzymic degradation of alginates. *Int J Biochem*, 1992, 24: 545-552.
- 34 Hentzer M, Riedel K, Rasmussen TB, et al. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. *Microbiology*, 2002, 148: 87-102.
- 35 柴栋, 王睿. 藻酸盐裂解酶对粘液型铜绿假单胞菌生物被膜的影响. 国外医药抗生素分册, 2001, 22: 172-175.
- 36 王睿, 陈迁, 方向群, 等. 尿酸酶或蚓激酶与氟罗沙星联合应用对 BBF 的影响. 药学报, 1999, 34: 662-666.
- 37 Sauer K, Camper AK, Ehrlich GD, et al. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J Bacteriol*, 2002, 184: 1140-1154.
- 38 Gacesa P. Bacterial alginate biosynthesis, recent progress and future prospects. *Microbiology*, 1998, 144: 1133-1143.
- 39 Valk WJC, Liem KD, Geven WB. Seldinger technique as an alternative approach for percutaneous insertion of hydrophilic poly-

urethane central venous catheters in newborns. Parenter Enter Nutr, 1995, 19: 151-155.

40 Ramos C, Licht TR, Sternberg C, et al. Monitoring bacterial growth activity in biofilms from laboratory flow chambers, plant rhizosphere, and animal intestine. Methods Enzymol, 2001,

337:21-42.

41 Stickler DJ, Evans A, Morris N, et al. Strategies for the control of catheter encrustation. Int J Antimicrob Agents, 2002, 19: 499-506.

·论著摘要·

老年冠心病凝血纤溶活性变化的研究

杨秀英 徐海年 陈亮 王景明 王信 陈静玲

为探讨 D-二聚体(D-dimer, DD)、纤维蛋白原(fibrinogen, Fg)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、活化部分凝血激酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)在老年冠心病患者中的变化及相互关系,本研究测定了 50 例健康老年人和 80 例冠心病患者血浆中 DD、Fg 含量及 PT、APTT,并进行比较分析。

1 对象与方法

1.1 对象 对照组:50 例经临床检查、心脏多普勒超声、心电图、X 线、肝肾等检查结果正常的健康老年人,男 41 例,女 9 例,年龄 60~76 岁,平均(68.9±4.8)岁。冠心病组:80 例均为住院患者,根据 2000 年 12 月中华医学会心血管病杂志、中华心血管病杂志编辑委员会制定的“不稳定性心绞痛诊断和治疗建议”及 1979 年 WHO 冠心病诊断标准,诊断为:不稳定性心绞痛(UA)组 26 例,年龄 60~75 岁,平均(68.7±4.3)岁;稳定性心绞痛(SA)组 41 例;年龄 60~86 岁,平均(69.7±6.0)岁;急性心肌梗死(AMI)组 13 例,年龄 60~76 岁,平均(68.4±5.2)岁。

1.2 方法 对照组与冠心病组均抽取清晨空腹静脉血,离心并分离血浆。采用酶联免疫吸附法测定血浆中的 DD 含量,凝血仪测定 Fg、PT、APTT;统计方法:采用 t 检验。

2 结果

对照组与冠心病组 DD、Fg、PT、APTT 比较结果见表 1。

表 1 对照组与冠心病各组血浆 DD、Fg、PT、APTT($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	DD(mg/l)	Fg(g/L)	PT(s)	APTT(s)
对照组	50	0.11±0.04	3.16±0.29	12.15±0.74	36.76±4.07
急性心梗组(AMI)	13	0.18±0.07*	3.91±0.25*	10.68±0.67*	32.06±2.81*
不稳定性心绞痛组(UA)	26	0.14±0.06*	3.48±0.23*	12.08±0.72**	36.69±2.39**
稳定性心绞痛组(SA)	41	0.11±0.04**	3.14±0.3**	12.09±0.63**	36.68±3.56**

注:*与对照组、SA 组比较 P<0.01,**与对照组比较 P>0.05

收稿日期:2003-04-18

作者单位:261041 潍坊市,潍坊市人民医院老年病科

作者简介:杨秀英,女,1953 年 12 月生,山东省平度市人,医学本科,主任医师,科主任。Tel:0536-8192212