

细菌生物膜与慢性创面感染

于家傲 高欣欣

吉林大学第一医院烧伤外科, 长春 130021

通信作者: 于家傲, Email: yujiaao1973@126.com



【摘要】 细菌通常以生物膜的形式在慢性创面上定植、繁殖和侵袭性生长。有别于游离细菌, 生物膜内的细菌在表观遗传学、生物学行为, 特别是对抗抗生素和宿主免疫等方面均展现出独特的机制。本文介绍了细菌生物膜的组成和结构功能, 阐述了细菌生物膜的耐药机制, 论述了细菌生物膜感染创面的临床表现特点及生物膜的诊断方法, 分析了针对细菌生物膜的治疗策略。谨以此文提示临床医师重视细菌生物膜感染, 提倡对细菌生物膜进行深入研究, 以提高慢性创面的治疗质量。

【关键词】 细菌; 生物膜; 感染; 慢性创面

基金项目: 吉林省自然科学基金(20160101141JC)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.003

Bacterial biofilm and chronic wound infection

Yu Jia'ao, Gao Xinxin

Department of Burn Surgery, the First Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China

Corresponding author: Yu Jia'ao, Email: yujiaao1973@126.com

【Abstract】 Bacteria usually colonize, reproduce, and grow aggressively on chronic wounds in the form of biofilm. Different from free bacteria, bacteria in biofilm exhibit unique mechanism in epigenetics and biological behavior, especially in resistance to antibiotics and host immunity. In this article, we introduce the composition and structural function of bacterial biofilm, expound the drug-resistance mechanism of bacterial biofilm, discuss the clinical characteristics of bacterial biofilm infection wound and the diagnosis method of biofilm, and analyze the treatment strategy for bacterial biofilm. It is suggested that clinicians should pay more attention to bacterial biofilm infection and advocate in-depth study of bacterial biofilm in order to improve the quality of managing chronic wounds.

【Key words】 Bacteria; Biofilms; Infection; Chronic wound

Fund program: Natural Science Foundation of Jilin Province of China (20160101141JC)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.003

细菌是地球上的“原住民”。与人类相比, 其进化时间更长、适应能力更强, 其中包括对人类机体和人类对抗细菌手段的适应。在人类与细菌的长期“作战”中, 细菌往往在战略上会主动求变, 独辟蹊径地创造出保护自己的机制。而细菌生物膜正是细

菌用来保护自身, 侵袭人体的重要“武器”。

美国疾病控制中心 (Center for Disease Control in the United States) 数据显示, 60% 的慢性感染疾病与细菌生物膜相关, 60% 的慢性创面存在细菌以生物膜为形式的感染。细菌生物膜是细菌造成创面感染的主要形式, 也是导致皮肤慢性创面的主要因素, 更是感染难以被常规方法控制的主要原因^[1-6]。

1 细菌生物膜的发展变化及影响因素

1.1 细菌生物膜的发展变化

在自然界中, 细菌存在的状态不是一成不变的, 而是随着细菌外部环境和内在因素不断变换的。一般而言, 细菌表现为 4 种生存状态: 游离细菌, 即单体细菌分散相; 细菌黏附, 即单体细菌的聚集相; 细菌生物膜成熟, 即群体细菌的闭合相; 细菌生物膜播散, 即群体细菌的开放相。4 相的变化既是个体细菌内在生物学行为的转变过程, 也是细菌个体行为和群体效应间的转换过程。第 1、4 相是细菌的增殖、活跃状态, 而第 2、3 相是细菌的相对稳定、静息状态, 类似于中医中太阳、少阳, 至太阴、少阴的转换, 动中有静、静中有动; 而第 1、2 相的生物学特征以细菌个体特性为主导, 第 3、4 相以细菌生物膜的群体效应为主导。

游离细菌转变成生物膜的前提是细菌要足够接近某一物体表面, 在此过程中既有吸引力又有排斥力。在 10~20 nm 的距离, 细菌表面的负电荷会被绝大多数物体带负电荷的表面所排斥, 这种排斥力会被细菌与物体间的范德瓦尔斯力和细菌的菌毛、鞭毛所产生的机械力所抵抗。与物体表面相接触的细菌产生 ECM, 标志着进入黏附的不可逆阶段。一旦形成第 1 层生物膜, 环境中的相同或不同细菌就会聚集, 进而形成超过 100 层的蘑菇状或塔状不断增厚的生物膜。在生物膜中, 细菌会根据自身新陈代谢和对缺氧的耐受程度有序排列, 同时形成物质和信息交换的立体通道。表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌黏附的物体通常是创面的基质蛋白, 如纤维

连接蛋白、纤维蛋白原、玻璃粘连蛋白等。细菌胞壁上的肽聚糖成分与基质蛋白形成共价键连接。

细菌生物膜由成熟期向播散期的转变受多个方面因素影响,如营养缺乏、生存竞争、过度增殖等。生物膜的播散可发生在生物膜的局部,也可发生在整体,而播散出去的细菌又开始新的周期循环。

1.2 细菌各相转换过程的影响因素

环境压力是影响细菌换相的主要因素。当细菌周围的环境适合细菌生长时,细菌会呈现旺盛的新陈代谢和增殖状态,多以游离细菌形式出现;当细菌在抗生素或其他不利因素的环境下,会逐渐聚集,代谢和增殖也随之减慢;当环境压力持续存在或加剧的情况下,细菌通过进一步降低代谢水平和增殖速度,并主动分泌活性物质,构建有序的生物膜结构来保护自己;而外部环境压力改善时,细菌会上调自身代谢率,恢复增殖状态,适时突破生物膜,通过主动播散,释放细菌重现游离、活跃状态。

2 细菌生物膜的组成和结构功能

不同菌属形成的生物膜形态不一,但生物膜的细胞外聚合结构主要由细胞外多糖、蛋白质和细胞外 DNA(eDNA)组成。

2.1 细胞外多糖

生物膜的细胞外多糖可在细胞外合成,也可在细胞内合成后分泌到细胞外环境中。在电子显微镜下,细胞外多糖呈线状或长束状结构,黏附在细菌的表面并延伸至细菌间,形成网格状结构。生物膜内的其他物质,如碳水化合物、蛋白、核酸、脂类等,均黏附在其骨架上。

生物膜的多糖成分,绝大多数无菌种特异性。金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、鲍氏不动杆菌、肺炎克雷伯菌和大肠杆菌等细菌的生物膜多糖以甘露糖、半乳糖和葡萄糖最为常见,其次则为 N-乙酰氨基葡萄糖、半乳糖醛酸、果胶糖、海藻糖、鼠李糖以及木糖。

但是,某些特定多糖会存在于某种特定细菌生物膜中,并起着特殊的作用。荚膜异多糖可拉酸是肠道菌群的细胞杂多糖(heteropolysaccharide),其重复片段由 L-海藻糖、D-半乳糖、D-葡萄糖醛酸、D-葡萄糖和附有 O-乙酰基和丙酮酸的侧链组成。在胞质内,这些重复片段在糖基转移酶作用下进行组装,然后由 Wzx 将其从胞质移至胞膜;由 Wzy 负责初始聚合,Wzc 和 Wzb 再执行更高水平的聚合;然后,膜外蛋白 Wza 将荚膜异多糖可拉酸聚合物转运至细菌

外环境。

在铜绿假单胞菌的生物膜中主要有 3 种多糖:藻酸盐、Pel 和 Psl。藻酸盐由 L-古罗酸基团修饰的 D-甘露糖酸基团所组成。藻酸盐并不影响生物膜的早期形成,但可以保护铜绿假单胞菌,使其免受环丙沙星、庆大霉素、替卡西林和头孢他啶等抗生素的杀灭,同时抑制宿主的免疫反应。Psl 多糖由多个重复的 D-甘露糖、L-鼠李糖和 D-葡萄糖基团组成,促进生物膜的早期表面黏附过程,并稳定生物膜结构;生物膜成熟期,Psl 多糖则在已形成三维结构的菌落周围累积,为生物膜的播散做准备。Pel 多糖是一种富集葡萄糖并对纤维素敏感的 ECM,能对生物膜起支撑作用,并保护细菌生物膜免受破坏。生物膜各组分间相互影响,一种组分如果被过度生成,其余组分生成就会随之减少。

在金黄色葡萄球菌中,生物膜相关性多糖是多糖胞间黏附素(polysaccharide intercellular adhesin, PIA),也称聚乙酰氨基葡萄糖,是由 β -1,6-氨基葡萄糖基团组成的线性聚合物。超过 80% 的表皮葡萄球菌的 PIA 基团 N 端被乙酰化,而其余的基团携带正电荷。有 4 个蛋白参与完成 PIA 的合成,即 IcaA、IcaB、IcaC 和 IcaD。具有 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶作用的 IcaA 和 IcaD 将 UDP-N-乙酰氨基葡萄糖合成 20 个基团的寡聚物;IcaC 再将其延长至超过 130 个基团,并将其转移至细菌外;IcaB 的去乙酰化作用导致多糖聚合物带正电荷,带正电荷的阳性基团在与细胞膜相互作用中起至关重要的作用。

2.2 蛋白质

蛋白是细菌生物膜的另一重要组成成分,担负着稳定生物膜结构和参与生理活动的重要功能。

变形链球菌生物膜中的葡聚糖蛋白,通过连接菌体和胞外多糖,对保持生物膜结构起到重要作用。淀粉样蛋白(amyloid)是一种不溶性蛋白,在生物膜的结构中也起到关键的支撑作用。铜绿假单胞菌的淀粉样蛋白 Fap 的过表达导致细菌的聚集和生物膜形成的增加。淀粉样蛋白 TasA 是枯草芽孢杆菌生物膜的主要成分,该蛋白形成的强力纤维可将生物膜紧紧聚合,并可抵抗外界强劲的破坏力。另一类淀粉样蛋白是生物膜相关性蛋白(biofilm-associated protein, Bap)家族,包括金黄色葡萄球菌的 Bap 蛋白和粪肠球菌的 Esp 蛋白。Bap 蛋白家族的作用涉及生物膜的形成和细菌的侵袭。铜绿假单胞菌的淀粉样蛋白半乳糖凝集素 lecA、L-岩藻糖结合凝集素 lecB 也在生物膜形成过程中起重要作用。

在细菌生物膜内,还存在一些关键的蛋白——降解酶。这些酶的底物包括多糖、蛋白、核酸、纤维素、脂类及其他基质成分和被包裹在生物膜内的物质。这些酶能够裂解生物聚合物,为生物膜提供碳和能量。生物膜在脱离和播散的过程中也需要酶对内部基质进行裂解。

2.3 eDNA

eDNA 不仅是通过死亡菌体被动溢出的,更主要是通过细菌主动分泌进入细菌外环境的,在生物膜的形成中起许多重要作用。当细菌与物体表面距离达几纳米时,eDNA 可增强细菌在物体表面的黏附。在铜绿假单胞菌生物膜搏动性扩张运动中,eDNA 起到协调细菌运动的作用。由于 eDNA 带有负电荷,能够整合金属离子和一些带正电荷的抗生素。例如,eDNA 能整合镁离子,激活 PhoPQ/PmrAB 系统,使铜绿假单胞菌、伤寒沙门菌和其他革兰阴性菌产生耐药性抗菌肽。在表皮葡萄球菌中 eDNA 可以防止万古霉素在生物膜内的扩散,保护生物膜内的细菌。细菌还可通过 eDNA 的基因水平转移(horizontal gene transfer)交换遗传信息,以获得新的生物学特性^[7]。

生物膜的各种成分不是杂乱无章的堆砌在一起,而是相互配合、有序地组成各种精细的结构和完善的机制。在结构上,通过搭建气体通道、水通道、营养物质通道完成了营养的汲取和废物的排除。在运行机制上,细菌间可通过信号小分子来调控基因的表达,从而以群体的形式对不断变化的环境条件做出集体反应。这种细胞间的信息沟通体系,被称为群体效应。群体效应在革兰阴性菌和革兰阳性菌中都很常见,但在相应效应分子、信号通道和作用机制上有很大差异。一般而言,革兰阴性菌会产生一种小的信号分子——酰基高丝氨酸内酯,在胞外浓度超过阈值后进入细菌胞内,与特定酶和毒力因子分泌基因的转录因子相结合。而在革兰阳性菌中,信号前体大分子被切割成功能信号小分子(10~20个氨基酸),信号小分子通过特定蛋白通道被转运至细菌胞体外。当其浓度超过特定阈值后,它与细菌表面的受体蛋白结合。信号分子的结合使受体蛋白磷酸化,受体蛋白再将其磷酸基转移到反应调节蛋白上,后者随后结合到 DNA 上的特定位点,激活多个群体效应的相关基因。在革兰阳性菌和革兰阴性菌中,群体效应的调控功能涵盖了细菌孢子产生、性状变化、活力控制和生物膜形成等许多方面。群体感应系统又可与细菌的环二鸟苷酸信号系统形

成复杂的多级信号网络,使得生物膜整体既可以通过被动的理化防御体系,又可通过主动的生物抵御机制,降低抗生素等不利因素的影响,保护其内的细菌^[8-10]。

3 细菌生物膜的耐药机制

生物膜内细菌对抗生素等不利因素的抵抗力是游离细菌的 3~4 个数量级别^[11]。游离铜绿假单胞菌在 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的妥布霉素中不能生存,而生物膜内的细菌可耐受 1 mg/mL 的妥布霉素^[12]。生物膜内的金黄色葡萄球菌对苯扎氯铵、次氯酸钠的耐受强度分别是游离菌的 50 和 600 倍^[13]。究其原因,生物膜对细菌的保护作用是多方面的,其机制可能包括以下几个方面。

3.1 ECM 的保护

细菌 ECM 会对细菌产生物理性的保护作用。研究显示,铜绿假单胞菌生物膜中的藻酸盐多糖可阻止人体白细胞对细菌的杀灭作用^[14]。

3.2 限制抗生素的膜内扩散

生物膜中带电荷的多糖和 eDNA 能锁定一些抗生素,限制其在生物膜内扩散,但针对的药物是有选择性的,如肺炎克雷伯菌生物膜可限制氨苄西林的渗透,而对环丙沙星的限制则较弱^[15]。但是,ECM 不能完全阻断药物渗透。

3.3 上调细菌外排泵的表达水平

外排泵使细菌能够将毒素包括抗生素,主动分泌出菌体以外。游离细菌也存在外排泵机制,但某些外排泵基因在生物膜环境下被进一步上调。研究显示,铜绿假单胞菌经典的外排泵基因 PA1874-1877 的表达水平在生物膜内明显上调,增加了该菌对妥布霉素、庆大霉素和环丙沙星的耐药性^[16]。

3.4 耐药基因的水平转移

细菌可以通过基因的随机突变或者通过捕获细胞外的抗生素耐药基因而获得抗生素耐药性。质粒、病毒、噬菌体是这种细胞间基因水平转移的重要载体,有些 eDNA 不经过载体也可以被传递到其他细胞中。在生物膜中,基因的水平转移频率明显高于浮游细胞。对金黄色葡萄球菌生物膜的研究表明,生物膜可以通过接合/活化等机制促进质粒携带的抗生素耐药基因的转移^[17]。

3.5 降低新陈代谢

生物膜深层的细菌通过降低新陈代谢率、繁殖率和分化率来减少对氧、养分的消耗。这种性能使得细菌可以有效抵抗某些以繁殖期细菌为目标的抗

生素,如 β 内酰胺类抗生素。特别是在细菌生物膜内的细菌有小部分是冬眠细菌,它们基本停止繁殖。但当抗生素压力降低时,冬眠细菌又可恢复繁殖性能,是后期创面感染反复发生的主要原因。可以认为,细菌的休眠状态也是一种适应外界不利环境的耐药表现。

4 烧伤创面细菌生物膜感染的特征

在烧伤等各种原因形成的皮肤慢性创面上,细菌的感染方式更易趋向于生物膜的形式^[18]。许多与创面相关的细菌,如金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠杆菌均可形成生物膜。而绝大多数细菌在体外 10 h 就可形成生物膜。电子显微镜扫描显示,在伤后 7 d 的烧伤创面中,细菌细胞壁上虽被覆有金属银离子,但已经形成了生物膜,并向深部侵袭生长。

在临床上,细菌生物膜感染的创面往往表现为不同程度的黏液渗出。由于在这些渗出液中,大多是死亡的炎性细胞、细菌和崩解的生物膜,所以实验室的微生物培养结果往往为阴性,而事实上绝大多数活菌及其生物膜已然定植在创面深部组织。在周围抗菌效力降低时,细菌生物膜可向更深部的组织播散侵袭。造成创面修复停止、延缓或退化,表现为创面迁延不愈或加深、扩大。甚至随细菌生物膜播散,大量细菌可以进入循环系统,形成全身性侵袭性感染。在周围抗菌压力较强时,细菌在生物膜的保护下,主动降低新陈代谢率,形成休眠菌株,在环境压力缓解时,重新进入繁殖阶段。

被细菌以生物膜形式感染的创面常表现以下 6 种特征:创面暴露时间较长,创面有黏液性渗出,创缘停止生长,普通局部和全身抗生素、抗菌敷料或创面常规处理方法效果不佳,微生物检查结果显示为多药耐药细菌或泛耐药细菌定植,合并反复的深部组织或全身性感染。

5 细菌生物膜的诊断

通过扫描电镜和激光扫描共聚焦显微镜获取的细菌生物膜形态影像资料是诊断细菌生物膜的金标准。但由于专业性较强,其使用尚未在临床上普遍开展。学者们正在探索采用微生物测序和分子测序方法对细菌生物膜进行检测。

应用常规的微生物培养方法,很难检出隐舍在生物膜内处于难以培养状态的细菌,而采用二硫苏糖醇化学解析方法和超声物理机械解析方法可提高

检查的特异性和敏感性。应用变性梯度凝胶电泳结合 16S 核糖体 RNA PCR 技术、细菌编码的 FLX 片段的焦磷酸测序分析技术、肽核酸荧光原位杂交技术、全核糖体扩增与克隆和 Sanger 测序技术、部分核糖体扩增和密度梯度凝胶电泳技术、部分核糖体扩增和焦磷酸测序技术等分子分析方法,可在 24 h 内针对生物膜特异性 16S 核糖体 RNA 及其基因做出精确的测定。现今,人们也正在试图应用 RNA 测序方法对细菌的转录水平进行测定,以此检测创面细菌抵抗抗生素的能力和形成生物膜的趋势^[19]。

6 细菌生物膜的对抗策略

创面治疗中,对抗细菌生物膜的最好方法仍然是及早清创、覆盖创面。但由于皮源紧张、患者不能耐受手术或其他原因未能及时、有效修复创面时,一旦发生生物膜相关性创面感染,传统的药物、敷料往往对细菌生物膜感染无效和起效甚微。这促使人们探索对抗细菌生物膜感染的新策略。

6.1 适时应用抗生素

目前绝大多数抗生素是针对繁殖期的细菌进行设计的,临床上对抗生素的选择也是遵循实验室游离细菌检测结果的,缺乏对抗生素在细菌生物膜内作用机制和效果的了解。所以临床上应该根据细菌所处的不同时期而针对性使用抗生素,应将传统的早期、足量、联合、全程使用抗生素的策略调整为早期、足量、联合、适时使用抗生素,将抗生素使用集中在细菌的第 1、4 相。

6.2 防止细菌的聚集和对表面的黏附

阻断细菌的初始聚集和对创面等物体表面的黏附,可从源头上预防细菌生物膜的形成。而现今,针对于此类药物的研究较少。笔者对细菌生物膜的研究显示,Prontosan[®]、络合碘等可有效影响金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌生物膜的初始形成,而 Prontosan[®] 在 12 h 内可持续稳定抑制细菌的聚集和黏附^[20]。银颗粒也可限制细菌生物膜的早期形成。

6.3 促进细菌生物膜的播散

促进细菌生物膜的播散是一种值得探索的生物膜特异性治疗策略。此方法旨在克服生物膜细胞所特有的适应性和内在的耐药机制。应该指出的是,通过这种策略释放大量细菌本身是具有危险性的,需要与有效抗生素配合使用,以便清除释放出来的大量游离细菌。促进细菌生物膜播散方法的最早的例子之一是一氧化氮的使用,一氧化氮通过触发下游转导信号,降低环二鸟苷酸合成,促进细菌从成熟

生物膜中播散^[21]。

消化生物膜的 ECM 也是破坏生物膜结构的方法,临床上可直接用脱氧核糖核酸酶处理生物膜,导致 eDNA 酶解,联合抗生素治疗有效清除细菌感染的成功报道^[22]。

6.4 细菌群体效应的干预

干预细菌群体效应是最近非常活跃的研究领域,其目的是阻止生物膜的成熟,从而使细菌失去对抗生素有效的防御。其方法包括筛选、合成降低群体效应的小分子,并利用此种小分子特异性阻断群体效应的受体。应用群体感应抑制剂可有效阻断酰基-高丝氨酸内酯信号转导,在实验室条件下限制铜绿假单胞菌生物膜的生长^[23]。然而,群体效应抑制剂作为一种新的治疗手段在临床上的应用尚不成熟^[24]。

6.5 抗生物膜肽

阳离子两性肽存在于多种生命形式中。最近以天然抗菌肽的结构机制为基础的研究显示,一些以长度为 12~50 个氨基酸,有 2~9 个正电基团和大约 50% 疏水氨基酸为特征的合成肽,能够优先且有效地杀死生物膜中的细菌^[25]。例如天然的人宿主防御肽 II-37 在其对铜绿假单胞菌 MIC 的八分之一浓度下,可有效抑制铜绿假单胞菌生物膜的生成和破坏已经形成的生物膜^[25]。目前,具有广谱抗菌活性的短肽也被陆续开发出来^[26]。有趣的是,虽然化学性质高度相似,但抗生物膜肽的结构与抗菌肽的结构截然不同。有些抗生物膜性能强的短肽,杀灭游离细菌的能力则较弱。

6.6 噬菌体疗法

噬菌体是一种不感染真核细胞的细菌病毒,其在细菌细胞内复制,导致细菌裂解。使用噬菌体杀灭感染细菌的方法正在被作为抗生素的替代方法。在对抗细菌生物膜感染中,使用噬菌体也被认为是一种有效的方法。其机制是:生物膜内、外,细菌胞体结构非常接近;而在生物膜内局部可以维持很高的噬菌体滴度;噬菌体感染也可在生物膜各细菌间迅速传播;此外,噬菌体还可导致 ECM 结构性破坏。

噬菌体具有较高的菌种特异性,其优势是只针对特定的病原细菌,而不影响正常菌群。然而,噬菌体作为治疗药物的一个潜在问题是耐噬菌体现象,克服或延缓其出现的方法是联合使用噬菌体。目前,噬菌体在临床中的使用还没有得到批准,其他尚待研究的问题是噬菌体治疗对机体免疫系统的影响,以及噬菌体溶解释放的遗传物质对其他常规治

疗方法效果的影响,噬菌体与宿主细菌之间的复杂相互作用机制^[27]。

7 小结与展望

数十亿年的选择性压力使生物膜成为细菌生长的常见状态。目前的研究尚未将细菌生物膜复杂的功能结构、生物膜内细菌独特的生长规律以及细菌、宿主和环境三者之间相互调控的机制阐述清楚。不过,这也将鼓励越来越多的研究者以系统性思维对不同细菌的生物膜进行深入的研究,也必将推进慢性创面的治疗。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Del Pozo JL. Biofilm-related disease[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2018, 16(1): 51-65. DOI: 10.1080/14787210.2018.1417036.
- [2] Snyder RJ, Bohn G, Hanft J, et al. Wound biofilm; current perspectives and strategies on biofilm disruption and treatments[J]. *Wounds*, 2017, 29(6): S1-17.
- [3] Salisbury AM, Woo K, Sarkar S, et al. Tolerance of biofilms to antimicrobials and significance to antibiotic resistance in wounds[J]. *Surg Technol Int*, 2018, 33: 59-66.
- [4] Han G, Ceilley R. Chronic wound healing: a review of current management and treatments[J]. *Adv Ther*, 2017, 34(3): 599-610. DOI: 10.1007/s12325-017-0478-y.
- [5] 付小兵. 细菌生物膜形成与慢性难愈合创面发生[J]. *创伤外科杂志*, 2008, 10(5): 416-417. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4237.2008.05.015.
- [6] 沈余明. 创面感染的防治[J/CD]. *中华损伤与修复杂志: 电子版*, 2015, 10(5): 380-383. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2015.05.002.
- [7] Nagler M, Insam H, Pietramellara G, et al. Extracellular DNA in natural environments: features, relevance and applications[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102(15): 6343-6356. DOI: 10.1007/s00253-018-9120-4.
- [8] Banerjee G, Ray AK. Quorum-sensing network-associated gene regulation in Gram-positive bacteria[J]. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 2017, 64(4): 439-453. DOI: 10.1556/030.64.2017.040.
- [9] Passos da Silva D, Schofield MC, Parsek MR, et al. An update on the sociomicrobiology of quorum sensing in gram-negative biofilm development[J]. *Pathogens*, 2017, 6(4): E51. DOI: 10.3390/pathogens6040051.
- [10] 陈昱帆, 刘诗胤, 梁志彬, 等. 群体感应与微生物耐药性[J]. *遗传*, 2016, 38(10): 881-893. DOI: 10.16288/j.yczs.16-141.
- [11] Rabin N, Zheng Y, Opoku-Temeng C, et al. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents[J]. *Future Med Chem*, 2015, 7(4): 493-512. DOI: 10.4155/fmc.15.6.
- [12] Nickel JC, Ruseska I, Wright JB, et al. Tobramycin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* cells growing as a biofilm on urinary catheter material[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1985, 27(4): 619-624. DOI: 10.1128/aac.27.4.619.
- [13] Luppens SB, Reij MW, van der Heijden RW, et al. Development of a standard test to assess the resistance of *Staphylococcus aureus* biofilm cells to disinfectants[J]. *Appl Environ Microbiol*,

- 2002, 68 (9):4194-4200. DOI: 10.1128/AEM.68.9.4194-4200.2002.
- [14] Leid JG, Willson CJ, Shirtliff ME, et al. The exopolysaccharide alginate protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria from IFN-gamma-mediated macrophage killing [J]. *J Immunol*, 2005, 175(11):7512-7518. DOI: 10.4049/jimmunol.175.11.7512.
- [15] Anderl JN, Franklin MJ, Stewart PS. Role of antibiotic penetration limitation in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44(7):1818-1824. DOI: 10.1128/aac.44.7.1818-1824.2000.
- [16] Zhang L, Mah TF. Involvement of a novel efflux system in biofilm-specific resistance to antibiotics [J]. *J Bacteriol*, 2008, 190(13):4447-4452. DOI: 10.1128/JB.01655-07.
- [17] Savage VJ, Chopra I, O'Neill AJ. *Staphylococcus aureus* biofilms promote horizontal transfer of antibiotic resistance [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(4):1968-1970. DOI: 10.1128/AAC.02008-12.
- [18] Kennedy P, Brammah S, Wills E. Burns, biofilm and a new appraisal of burn wound sepsis [J]. *Burns*, 2010, 36(1):49-56. DOI: 10.1016/j.burns.2009.02.017.
- [19] Hurlow J. The benefits of using polyhexamethylene biguanide in wound care [J]. *Br J Community Nurs*, 2017, 22 Suppl 3:S16-18. DOI: 10.12968/bjcn.2017.22.Sup3.S16.
- [20] Wu YK, Cheng NC, Cheng CM. Biofilms in chronic wounds: pathogenesis and diagnosis [J]. *Trends Biotechnol*, 2018; S0167-7799(18)30307-X. DOI: 10.1016/j.tibtech.2018.10.011.
- [21] Panariello BHD, Klein MI, Alves F, et al. DNase increases the efficacy of antimicrobial photodynamic therapy on *Candida albicans* biofilms [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2019, 27:124-131. DOI: 10.1016/j.pdpdt.
- [22] Barraud N, Schleheck D, Klebensberger J, et al. Nitric oxide signaling in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms mediates phosphodiesterase activity, decreased cyclic di-GMP levels, and enhanced dispersal [J]. *J Bacteriol*, 2009, 191(23):7333-7342. DOI: 10.1128/JB.00975-09.
- [23] Bassegoda A, Ivanova K, Ramon E, et al. Strategies to prevent the occurrence of resistance against antibiotics by using advanced materials [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102(5):2075-2089. DOI: 10.1007/s00253-018-8776-0.
- [24] Kalia VC, Patel S, Kang YC, et al. Quorum sensing inhibitors as antipathogens: biotechnological applications [J]. *Biotechnol Adv*, 2018, 37(1):68-90. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.006.
- [25] Sharma K, Pagedar Singh A. Antibiofilm effect of DNase against single and mixed species biofilm [J]. *Foods*, 2018, 7(3):42. DOI: 10.3390/foods7030042.
- [26] Pfalzgraff A, Brandenburg K, Weindl G. Antimicrobial peptides and their therapeutic potential for bacterial skin infections and wounds [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:281. DOI: 10.3389/fphar.2018.00281.
- [27] Pires DP, Melo L, Vilas Boas D, et al. Phage therapy as an alternative or complementary strategy to prevent and control biofilm-related infections [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2017, 39:48-56. DOI:10.1016/j.mib.2017.09.004.

(收稿日期:2018-10-11)

本文引用格式

于家傲,高欣欣. 细菌生物膜与慢性创面感染 [J]. *中华烧伤杂志*, 2019, 35(12):842-847. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.003.

Yu JA, Gao XX. Bacterial biofilm and chronic wound infection [J]. *Chin J Burns*, 2019, 35(12):842-847. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.12.003.

· 读者 · 作者 · 编者 ·**中华医学会杂志社关于线图与散点图及条图的制作要求**

请在 Photoshop 软件中完成图片制作, 图片不合层并储存为 TIFF 文件格式。图片单栏排放时宽为 7 cm, 图片通栏排放时宽为 16.5 cm; 主线(图中线)与辅助线(坐标轴线)粗细比约为 2:1; 纵、横标目的量和单位符号应齐全, 置于坐标轴的外侧居中排列; 标值置于坐标线外侧, 标值的截止应覆盖图中全部曲线; 标值线朝内, 长短粗细一致; 坐标名称与标值数列的间距约 2 mm, 坐标标值与坐标轴线的间距约 1 mm; 图中文字、数字的字体字号为 Photoshop 软件中的宋体 7 点。线图和散点图纵横轴都必须标注原点值, 从 0 或任意值开始, 标值应符合数学原则、等距或有一定规律。线图的横轴表示某一连续自变量, 如时间、年龄; 纵轴表示因变量, 例如某事物的率或频数。以 $\bar{x} \pm s$ 表示的数据图应有标准差线, 图中注释用的角码符号一律采用单个右上角码的形式, 按英文字母小写形式顺序选用 a、b、c……在图注中依照先纵后横的顺序依次标出。曲线超过 1 条需附图例。散点图内点数应与图题中总数一致。条图中表示数值的轴必须从 0 开始, 等距标注不能折断; 直条宽度应相等, 间隙也应相等并与直条宽度相同; 复式条图、分段条图需使用图例, 同组直条间不留间隙。

本刊编辑委员会