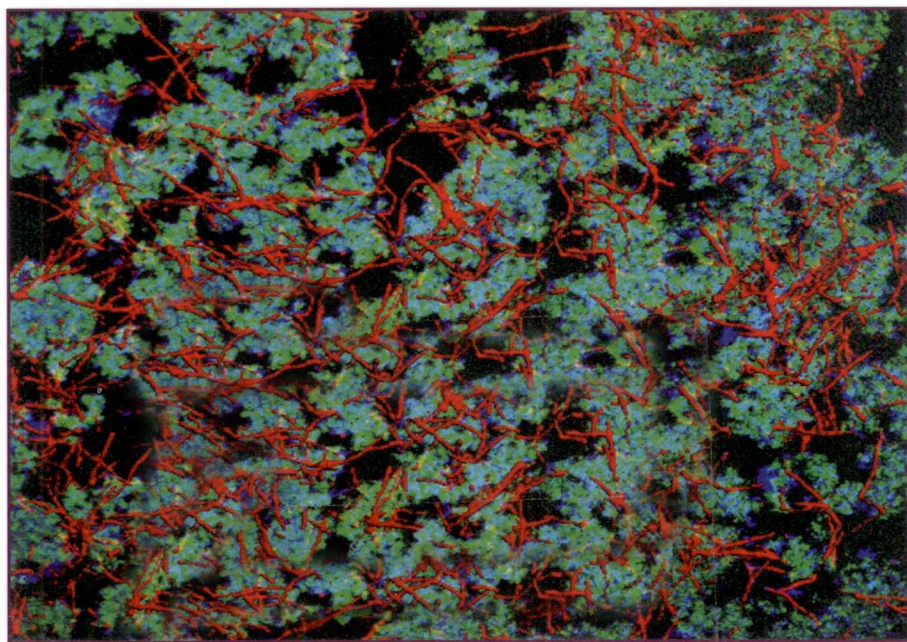


微生物生物膜与感染

Microbial Biofilm and Infection



主 编 周学东 施文元



人民卫生出版社

微生物生物膜与感染

Microbial Biofilm and Infection

名誉主编 闻玉梅 Bill Costerton Neils Høiby

主 编 周学东 施文元

编 委 (以姓氏笔画为序)

马旅雁	王人可	王世伟	亓庆国	刘 东
许 涛	孙桂芹	李 蒙	李 燕	李继遥
杨 亮	杨 蕾	杨维青	杨霁舟	肖丽英
肖晓蓉	吴 红	吴 旻	余加林	宋 超
宋志军	张 平	张真印	陈 力	武 侠
武有聪	周学东	胡 涛	施文元	秦 毅
贾文祥	徐 欣	彭宁宁	董 莹	谢 轶
薛 晶	瞿 涤			

主编助理 贾文祥

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物生物膜与感染/周学东等主编. —北京:
人民卫生出版社, 2012. 4

ISBN 978-7-117-15646-2

I. ①微… II. ①周… III. ①微生物-生物膜-
研究②感染-研究 IV. ①Q73②R63

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 028591 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

微生物生物膜与感染

主 编: 周学东 施文元

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 三河市宏达印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 24

字 数: 590 千字

版 次: 2012 年 4 月第 1 版 2012 年 4 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-15646-2/R · 15647

定 价: 116.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)



周学东教授,1987年毕业于华西医科大学,获医学博士学位。主要从事龋病病因及防治的基础与应用研究,在口腔微生物学、口腔微生态学等领域的研究具有较深造诣。先后主持国家“973”前期项目,自然科学基金重点项目,国家“十五”、“十一五”国家科技攻关项目,科技部国际合作项目,卫生部临床学科重点建设项目,四川省重点科技攻关项目等多项课题研究;主编《实用龋病学》、《实用口腔微生物学与技术》、《实用牙体牙髓病治疗学》、《口腔微生态学》、《中华口腔科学》等学术专著。任《*International Journal Of Oral Science*》、《中国口腔医学年鉴》、《华西口腔医学杂志》、《中国口腔医学信息》主编。

四川大学华西口腔医学院教授、博士研究生导师,四川大学华西口腔医学院院长,口腔疾病研究国家重点实验室主任,国务院学科评议组成员、教育部高等学校口腔医学专业教学指导委员会主任委员、中华口腔医学会副会长、四川省口腔医学会会长,国际牙医师学院中国区主席。

获四川省有突出贡献的中国博士、卫生部有突出贡献的中青年专家、四川省学术技术带头人、中国青年科技奖、四川省杰出创新人才奖、中国医师奖和国家教学名师奖,享受国务院政府特殊津贴。



施文元教授, 1992年毕业于美国威斯康星大学麦迪逊分校, 获遗传学博士学位, 现任美国加州大学洛杉矶分校牙学院教授, 口腔生物系主任; 美国加州大学洛杉矶分校分子生物学学院与微生物学系、免疫学与分子遗传学教授。美国 NIH、原核分子和细胞卫生学基金评审组在细菌信号传递方面的专家和永久成员, 国际著名口腔微生物学专家。

主要从事分子微生物学基础研究, 对口腔微生物的分子致病的基础机制和技术发展有新的造诣, 在分子微生物学领域取得多方面创新性成绩。在世界首位发现细菌有趋电性能力 (galvanotaxis), 并对其分子机制进行了创新性研究, 提出不同信号传递系统能相互交叉。

首次对牙菌斑生物膜中不同细菌间的相互作用进行了遗传和分子水平的研究, 目前大多用于不同口腔微生物的遗传工具。首次发现变异链球菌 (*S.mutans*) 的密度调控, 抗菌肽生产调控与疾病的关系, 把传统口腔微生物学带入了现代微生物学的行列。

获得多项 NIH 课题基金, 以及许多与技术转让及发展有关的科研基金, 申请专利 20 多个。先后在 Nature、MMBR、Nature Chemical Biology、PNAS、Mol. Microbiol 等顶级杂志发表文章近 130 篇。



病原生物引起的持续性感染中,细菌、真菌等形成的微生物生物膜在持续性感染中起着重要作用。存在于微生物生物膜中的细菌不仅对抗生素有高度的抵抗力,对机体免疫应答的吞噬细胞与抗体也有较高的抗性。因此,有关微生物生物膜的研究已经成为了当前病原微生物领域的热点之一。由周学东教授和施文元教授合作主编的《微生物生物膜与感染》专著,较全面系统地介绍了目前该领域的研究现状和进展。

该书紧密结合临床实际及诊治要点,内容不仅涉及微生物生物膜的基础理论、临床干预和治療措施,而且还介绍了现代先进的相关

研究技术和方法,为我们提供了一本难得的参考书。令人十分高兴的是,参编本书的作者都是活跃在教学与科研第一线的中青年学者,他们在微生物生物膜领域的研究具有较丰富的经验。我衷心希望读者们在阅读本书的过程中不断获得新的启迪,并在应用和研究的工作中有所创新。

中国工程院院士

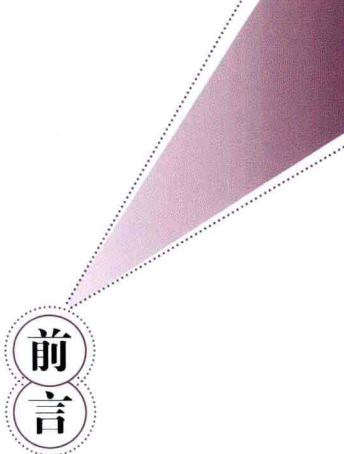
复旦大学上海医学院

教育部/卫生部医学分子病毒开放实验室

病原微生物学研究所

闻玉梅

2011年12月26日



前言

有关微生物生物膜及其引起的感染,日益受到了人们的重视。近年来在国外和国内多次召开了国际微生物生物膜学术研讨会;国内的学者们在微生物生物膜领域的研究,也取得了一系列新的进展和成果。借此东风,为了进一步推动该领域的深入研究,我们组织了国内外的中、青年华人学者们,对当前研究的热点以及他们在研究中的实际经验和体会,进行组稿并编写了这一本专著。主要内容包括了微生物生物膜的基础研究、检测微生物生物膜的常用技术和临床工作中防治生物膜形成的干预方法等,所涉及的领域有微生物学、口腔医学、临床医学、药学、分子生物学和检验医学等。因此,本书不仅供科研工作者、临床医生和教师作为参考书用,也可供研究生和医学生作为选修课本用。

本书特邀请当今世界上著名的微生物生物膜的三位杰出专家作为名誉主编。闻玉梅教授在葡萄球菌生物膜的研究独具特色,对微生物生物膜在持续性感染中的作用进行了深入研究。闻玉梅教授还欣然为本书写序,对我们青年学者提出了希望和勉励。Bill Costerton教授是细菌生物膜领域研究的开拓者,早在1978年就开始了该项研究,并首次提出了细菌生物膜的基本概念。Neils Høiby教授是开展细菌生物膜临床防治研究的主要代表人物,是世界上著名的临床微生物学专家。

由于参加编写的作者较多,各位作者所站的视角不同,写作文风也不一致,所写的内容稍有重叠或不同的看法。本着百花齐放、百家争鸣和文责自负的原则,充分尊重作者的意见,请读者们能包容和理解。

最后,再次感谢各位作者在任务繁重的情况下仍然能挤出宝贵时间为本书撰稿,保证了本书的出版。限于我们的水平,本书中必定还有疏漏之处,诚恳希望读者和同道们指正。

周学东 施文元

2012年4月

目录

第一章 生物膜形成的机制	1
第一节 胞外多糖	1
一、铜绿假单胞菌中与生物膜形成相关的胞外多糖	2
二、其他细菌中与生物膜形成有关的胞外多糖	9
第二节 胞外 DNA	13
一、铜绿假单胞菌 eDNA 与生物膜的形成	13
二、链球菌生物膜中的 eDNA	14
三、金黄色葡萄球菌生物膜中的 eDNA	15
第三节 生物膜中的蛋白质	15
一、金黄色葡萄球菌 SasC	16
二、枯草芽胞杆菌 TasA 蛋白	16
三、凝集素	16
四、其他与黏附相关的表面蛋白	16
第四节 多聚体细胞附属物	18
一、鞭毛和Ⅳ型菌毛	18
二、纤毛	18
第五节 控制生物膜形成与发育的关键调控因子	20
一、cyclic-di-GMP	20
二、调控生物膜发育的关键蛋白	25
第六节 成熟生物膜的分解与散播	25
一、诱导生物膜分解与散播的信号	25
二、生物膜的分散机制	27

第二章 生物膜内微生物的相互作用及信号传递	35
第一节 细菌生物膜的复杂多样性	35
一、组成的多样性	35
二、结构的多样性	36
三、生理的多样性	36
第二节 生物膜内部微生物的相互作用	37
一、微生物细胞表面结构介导的相互作用	38
二、分泌大分子介导的相互作用	40
第三节 生物膜内部微生物的信号传递	43
一、营养物质和代谢产物介导的信号传导	43
二、无机物介导的信号传递	44
三、密度信号感应介导的信号传导	45
四、第二信使环鸟苷二磷酸(cyclic-di-GMP)在生物膜形成中的调控作用	52
第三章 生物膜与口腔感染性疾病	61
第一节 牙菌斑生物膜	62
一、牙菌斑生物膜的基本结构	62
二、牙菌斑生物膜的形成	62
三、牙菌斑生物膜的组成及特性	67
四、牙菌斑生物膜的物质代谢与致病性	71
第二节 牙菌斑生物膜与龋病	76
一、龋病是细菌性疾病	77
二、龋病微生物的基本生物学特性	78
三、人类龋病相关微生物	80
四、变异链球菌	81
第三节 牙周病与龈下菌斑生物膜	89
一、龈下生物膜形成的分子调控机制	90
二、龈下生物膜与宿主固有免疫	96
第四节 口腔生物膜与口腔黏膜感染性疾病	101
一、与口腔黏膜病相关的假丝酵母菌	101
二、与口腔黏膜病相关的细菌感染	105
三、与口腔黏膜病相关的螺旋体	108
四、口腔念珠菌病的治疗	109
第四章 生物膜内细菌遗传物质转移	115
第一节 生物膜中通过转化进行的基因转移	115

一、转化	115
二、生物膜中通过转化进行的基因转移	115
三、细胞外 DNA 对生物膜的稳定作用	117
第二节 生物膜中通过接合进行的基因转移	118
一、接合	118
二、通过接合进行的基因转移	118
三、接合性菌毛对生物膜的稳定作用	121
第三节 噬菌体与生物膜及基因转移	121
一、噬菌体与基因转移	121
二、噬菌体与生物膜及基因转移	122
第五章 生物膜与细菌耐药性	126
第一节 生物膜的渗透限制作用	127
一、胞外基质	128
二、蛋白质	128
三、多聚核苷酸	128
四、死细胞	128
第二节 生物膜的营养限制学说	129
第三节 基因表型学说	129
第四节 表达耐药表型学说	130
一、 β -内酰胺酶	130
二、主动外排机制	130
三、其他获得性耐药机制	131
第五节 密度信号感应系统	131
一、对革兰阴性菌生物膜的调控	131
二、对革兰阳性菌生物膜的调控	132
三、密度信号感应系统对细菌其他耐药机制的调节	132
第六节 生物膜环境的不均一性学说	133
第六章 生物膜与持续性感染	135
第一节 持续性感染概论	135
一、持续性感染已成为危害人类健康的主要问题	135
二、持续性感染的主要表现形式	136
三、持续性感染的形成机制	137
第二节 生物膜是一类特殊的持续性感染	142
一、生物膜的特点	142

二、微生物生物膜感染病(菌膜病)的诊断	143
三、抗生物膜药物的研发	143
四、细菌生物膜类持续性感染病	144
第三节 生物膜和持续性感染研究的动态和方向	146
一、持留菌和持续性感染	147
二、调节性T细胞的研究	148
三、窗口期和持续性感染的研究	149
 第七章 葡萄球菌生物膜与感染	153
第一节 葡萄球菌生物膜形成的过程	154
第二节 参与葡萄球菌生物膜形成的主要因子	156
第三节 葡萄球菌生物膜病的防治策略	167
 第八章 铜绿假单胞菌生物膜与感染	172
第一节 铜绿假单胞菌概述	172
一、铜绿假单胞菌的基因组	172
二、铜绿假单胞菌的耐药性	173
三、铜绿假单胞菌的致病机制	175
第二节 铜绿假单胞菌生物膜	177
一、运动性	177
二、基质	177
三、铜绿假单胞菌生物膜对抗生素的耐受	179
四、铜绿假单胞菌生物膜对免疫系统攻击的耐受	181
第三节 临床上常见的铜绿假单胞菌生物膜感染	182
一、囊性纤维化和弥漫性泛细支气管炎患者的慢性铜绿假单胞菌肺部感染	182
二、医院内感染	184
三、免疫抑制性感染	185
四、烧伤和伤口感染	186
第四节 铜绿假单胞菌生物膜感染的临床治疗	186
一、目前常用的治疗方法	186
二、试验性治疗的研究进展	188
 第九章 多重种属细菌生物膜与感染	193
第一节 常见多重种属细菌生物膜引发的感染	193
一、慢性难愈合性创面感染	193
二、肺部囊性纤维化患者的呼吸道感染	195

三、关节假体相关的感染	196
四、小儿上呼吸道的多种属细菌定植	196
五、慢性、反复发作性中耳炎	198
六、口腔医院感染相关的多种属生物膜	198
第二节 多重种属细菌生物膜的检测方法	199
一、以非培养法为基础的检测方法	199
二、以培养法为基础的检测方法	204
第三节 不同种属细菌在生物膜内的相互作用	204
第四节 混合种属细菌生物膜感染的治疗方案	205
一、清除细菌生物膜感染病灶	205
二、抗生素治疗	206
三、密度信号感应抑制剂治疗	206
四、免疫兴奋剂治疗	206
 第十章 临床内置导管的细菌生物膜感染	212
第一节 气管导管相关的细菌生物膜感染	212
一、气管导管相关感染	212
二、ETT-BF 与 VAP 的关系	213
三、口咽部、胃部细菌与 ETT-BF 细菌在 VAP 发病中的联系	214
四、ETT-BF 形成的应对措施	216
五、争议	219
六、展望	219
第二节 新生儿深动静脉置管细菌生物膜感染	225
一、新生儿深动静脉置管感染现状	225
二、新生儿深动静脉置管的导管材料	226
三、导管表面生物膜的发生	226
四、深动静脉置管生物膜感染的类型	229
五、CRBSI 的诊断方法	230
六、新生儿 ICRI 发生的危险因素	231
七、预防深动静脉置管生物膜感染	231
八、治疗深动静脉置管生物膜感染	234
第三节 细菌生物膜感染的临床干预	246
一、概述	246
二、抗菌药物	249
三、生物活性物质对细菌生物膜的干预	256
四、化学方法	260

五、物理方法	262
六、预防生物膜相关感染的方法	263
第十一章 念珠菌生物膜与感染	267
第一节 念珠菌生物膜概况	269
第二节 念珠菌生物膜的耐药机制	277
一、生物膜基质对药物的空间位阻和屏障作用	277
二、生物膜中的念珠菌的特殊生长状态	278
三、基因水平的耐药机制	278
四、生物被膜内细胞质膜脂质成分的影响	279
五、滞留菌的产生	279
六、其他可能存在的机制	279
第三节 念珠菌滞留菌的产生机制和防治策略	279
一、滞留菌的基本概念	279
二、念珠菌生物膜滞留菌的产生机制	281
三、念珠菌生物膜滞留菌的防治策略	283
第四节 研究念珠菌生物膜的基本方法	285
一、体外真菌生物膜研究模型的建立	285
二、生物膜形态学研究的方法	285
三、用线虫模型研究白念珠菌生物膜中的滞留菌	287
第十二章 致病菌生物膜感染的干预	290
第一节 微生态制剂在控制生物膜领域的应用	290
一、益生菌	291
二、益生元	292
三、低毒力菌株替代治疗	294
第二节 噬菌体治疗	298
一、噬菌体治疗的早期研究	298
二、噬菌体治疗在东欧国家的应用	299
三、噬菌体抗感染的动物实验模型	300
四、噬菌体与口腔微生物生物膜	300
五、噬菌体抗感染治疗尚存在的不足	300
第三节 天然药物防治生物膜研究进展	301
一、天然药物的来源	302
二、天然药物的分离、纯化以及人工合成	303
三、天然药物与细菌生物膜的控制	305

第四节 抗毒力治疗	317
一、细菌黏附和定植抑制剂	318
二、抑制细菌表面蛋白分泌	318
三、抑制细菌细胞壁对宿主先天免疫的耐受	319
四、细菌蛋白酶抑制剂	319
五、抗毒力治疗与口腔感染性疾病	321
第五节 光活化杀菌	321
第六节 靶向抗菌肽	323
第七节 密度信号感应系统和二元信号通路	325
 第十三章 生物膜研究的常用技术	 330
第一节 研究生物膜的体外模型	330
一、体外生物膜模型的种类	330
二、生物膜的观测和标记方法	332
三、研究生物膜的新型体外模型	336
第二节 研究生物膜的体内模型	337
一、生物膜感染体内模型的分类	338
二、制作生物膜感染动物模型的前期准备	339
三、常用生物膜感染动物模型介绍	339

生物膜形成的机制

马旅雁 王世伟 张真印 杨霁舟

(中国科学院微生物研究所微生物资源前期开发国家重点实验室 北京)

近十几年来,科学家们逐渐认识到在自然界中微生物主要是以群体的方式——即生物膜(生物被膜,biofilm)的方式存在。生物膜是依附于某载体表面的由胞外多聚物(extracellular polymeric substance, EPS)和基质网(matrix)包被的高度组织化、系统化的微生物膜性聚合物。与单细胞浮游状态的微生物不同,在载体表面增殖的微生物群体在整体上表现出一系列新的生物学特征并具有更强的适应外界环境的能力。这也是导致微生物产生抗药性及感染性疾病难以治疗的重要原因之一。研究生物膜形成的机制才能为预防 and 解决由生物膜引起的各种问题奠定良好的基础。

由细菌形成的生物膜不是一个简单的细胞集合体,它具有许多类似高等生物组织的功能。首先,生物膜内的细菌间有着信息的交流。它们通过胞外的密度信号感应(quorum sensing)的小分子信号物质来控制生物膜内细菌的密集度以及一些群体行为(如整个群体同时大量表达某种蛋白)(详见本书第二章)。其次生物膜可以形成具有三维结构微菌落(microcolony)(见图 1-4)。该微菌落有类似高等生物的发育周期。在该微菌落发育的后期,菌落的内部会形成单细胞的可游动的细菌。这些细菌类似植物的种子将最终被释放出来并去占领新的地盘。此外,细菌还有胞内信息分子 cyclic-di-GMP 控制着各种生理过程,包括生物膜的形成及发育(详见本章第五节)。

单细胞的微生物之所以可以聚集成膜,是因为微生物分泌的一些胞外多聚物质促使细胞相连并附着在载体。此外,胞外物质还相连成基质网,将单细胞包被在网络中成为一个整体的生物膜。迄今已知的促使生物膜形成的胞外基质有胞外多糖(exopolysaccharides)、胞外 DNA(extracellular DNA, eDNA)、蛋白质以及鞭毛(flagellum)、纤毛(fimbriae)、菌毛(Pili)等多聚体细胞附属物。本章分别介绍了这些影响生物膜形成的胞外物质以及它们促使生物膜形成的机制,并介绍控制生物膜形成与发育的几个关键调控因子以及成熟的生物膜如何分解并散播种子(seeding dispersal),从而又起始新的生物膜形成的机制。

第一节 胞 外 多 糖

胞外多糖是动植物组织中将细胞粘连在一起的主要组分。微生物生物膜也用它来将单个的菌体联合到一起。不同微生物产生的胞外多糖在单体结构、糖苷键的种类等方面均有