·综 述·

气管导管细菌生物膜与呼吸机相关性肺炎的临床研究进展

马 丽[1],文仲光[2*]
([1]解放军医学院,北京 100853;[2]解放军总医院第一附属医院呼吸科,北京 100037)

【摘 要】 呼吸机相关性肺炎(VAP)病情严重,治疗花费高。气管插管术后留置的气管导管表面细菌黏附增殖常常引起肺实质感染。气管导管细菌生物膜的形成是导致VAP的主要原因。因此,本研究主要介绍影响气管导管细菌生物膜形成和进展的各种因素及在治疗VAP的作用。

【关键词】 气管导管;细菌生物膜;呼吸机相关性肺炎;治疗
【中图分类号】 R563.1 【文献标识码】 A 【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2016.11.211

Clinical research progress of endotracheal tube bacterial biofilm and ventilator-associated pneumonia

MA Li[1], WEN Zhong-Guang[2*]
([1]Medical School of Chinese PLA, Beijing 100853, China; [2]Department of Respiratory Diseases, First Affiliated Hospital of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100037, China)

【Abstract】 Ventilator-associated pneumonia (VAP) is commonly severe, and associated with high health care costs. After endotracheal intubation, endotracheal tube (ETT) provides an ideal surface for bacterial adhesion and proliferation, which then leads to parenchymal lung infection. The growth of biofilm on the inner lumen of the ETT is the main cause of VAP. This article introduced the factors affecting the formation and development of ETT biofilms and their roles in the treatment of VAP.

【Key words】 endotracheal tube; bacterial biofilm; ventilator-associated pneumonia; treatment

Corresponding author: *WEN Zhong-Guang*, *E-mail*: *drmali301@126.com*

呼吸机相关性肺炎(ventilator-associated pneumonia,VAP)是患者接受机械通气48 h后并发的肺实质感染。VAP是机械通气过程中常见而又严重的并发症之一,其发生率根据诊断标准、患者群体等不同可达9%~70%[1]。患者一旦发生VAP,则易造成脱机困难,从而延长住院时间,增加住院费用,严重者甚至威胁患者生命,导致患者死亡。文献报道VAP致死率为20%~71%[2,3]。VAP发病机制主要包括[4]:(1)误吸含大量细菌的口咽分泌物或胃内反流物;(2)致病菌通过呼吸道或接受侵袭性检查,如纤维支气管镜等直接进入;(3)胸膜腔等肺周围感染的直接扩散;(4)致病菌经血液进入下呼吸道和肺部。目前随着新型生物材料制成的气管导管的临床应用逐渐增多,细菌易在其表面黏附增殖,由此形成的生物膜在VAP的发生、发展中起到重要作用。本文就气管导管内细菌生物被膜(endotracheal tube bacterial biofilm, ETT-BF)的形成、微生物分布特点及与VAP发病关系和防治措施进展予以综述,以更好地治疗和预防VAP的发生。

1 ETT-BF的形成、形态及结构

细菌生物膜(bacterial biofilm, BF)是细菌在生长过程中为适应自然环境而吸附于医学生物材料或机体腔道黏膜表面形成的一种与浮游细胞相对应的生长方式,是细菌分泌多糖基质、纤维蛋白、脂蛋白等多糖蛋白复合物,并将自身包绕其中而形成的一种非结晶膜样融合物[5]。通过激光共聚焦显微镜观察活体BF时发现,在BF内有着互相交通的水通道,细菌生存所需要的营养物质和代谢物可经此进出BF深层。BF一旦形成,可以抵抗吞噬细胞作用,逃避宿主免疫作用,使得感染部位难以彻底清除,引起临床难治的反复发作性感染[6]。

收稿日期:2016-04-11;修回日期:2016-06-08
通信作者:文仲光,E-mail:drmali301@126.com

BF的形成是一个动态过程,其形成过程大致分为以下几个阶段。(1)黏附:微生物与周围材料表面发生特异性结合,黏附其上;(2)生长:细菌生长、分裂、繁殖,同时分泌胞外多糖(extracellular polymeric substance, EPS),形成微菌落;(3)成熟:多个微菌落互相融合发展,形成彼此之间有液体通道相连的成熟的BF;(4)播散:成熟BF部分脱落或释放浮游细菌,形成新的菌落。ETT内腔外壁的表面特性可影响到积聚物的吸附、累积和演变。扫描电镜发现细菌和ETT内壁并无直接的接触,而上呼吸道分泌物在管腔表面的黏附先于细菌的寄殖[7]。

细胞信号传导系统在生物被膜形成中具有重要作用。如在铜绿假单胞菌生物被膜形成过程中,细胞间信号传导系统(LasR-LasI信号系统)起到了关键作用,该系统主要参与BF的分化[8]。细菌密度感应系统是细菌通过监测其群体的细胞密度来调节其特定的基因表达,以保证生物被膜中营养物质的运输和废物的排出,避免细菌过度生长而造成空间和营养物质缺乏。酰化高丝氨酸内酯(acyl-homoserine lactone,AHL)已被证实为生物被膜内细胞间主要的信号传递分子。通过体外研究发现,群体感应系统健全的细菌能够产生有效抗菌的生物被膜;而群体感应系统缺陷的细菌,则不能产生完全的生物被膜,如果在群体感应系统缺陷的细菌中加入AHL,则细菌就又恢复了产生完整生物被膜的能力。如果在群体感应系统健全的细菌中加入群体感应拮抗剂,则形成结构稀松的不完整的生物被膜[9]。

Koerner[7]发现ETT腔壁上最早的非结晶层在插管后11 h就可以形成,插管24 h内即可发生细菌的管腔内定殖且逐渐增加,5 d后进入相对平衡状态。Inglis[10]发现BF主要位于通气机"Y"型接头靠近患者侧的环路和ETT内,呈不同厚度的非均匀分布,积聚最多的部位在管腔的下端,厚度可≥0.5 mm。

由于BF具有上述复杂的结构,决定了其微生物分布和相关感染的多样性、复杂性。从理论上讲,在ETT管腔内定殖的BF细菌来源可能有4个途径:(1)污染的上呼吸道分泌物经过非密闭的气囊,沿导管外壁渗漏至尖端,然后上行污染内腔[11];(2)已致肺部感染的病原菌,随气溶胶或痰液直接黏附于管腔内;(3)非严格无菌的护理操作带入;(4)呼吸环路的高污染冷凝液的倒流。通过对ETT-BF细菌类型的鉴定,已分离出的微生物包括上呼吸道寄殖菌丛、金黄色葡萄球菌、肠道菌群、铜绿假单胞菌、其他革兰氏阴性菌株及白色念珠菌属等。Feldman等[12]对21例患者ETT管腔内分泌物进行培养、鉴定,发现ETT-BF内不动杆菌9例,肺炎克雷伯杆菌属6例,铜绿假单胞菌5例,奇异变形杆菌3例。Gil-Perotin等[13]研究发现鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌是形成BF的最主要菌群。生物被膜相关感染的致病菌以铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌最为多见,而生物被膜中分离到的上气道寄殖菌丛本身并不参与生物被膜的形成。

2 ETT-BF的耐药机制

生长于BF中的细菌,其形态结构、理化特性、对抗菌药物的敏感性等都与普通细菌显著不同[12]。BF中的营养成分和氧供状态自外向内,呈梯度下降。BF表层细菌易获得营养成分和充足氧气,其代谢、分化及药物易感性都相似于浮游细菌,而BF深层的细菌难以获得足够的养分和氧气,细胞分裂迟缓,处于相对休眠状态,对包括抗生素在内的理化、生物刺激感受阈明显升高。与浮游生物相比,BF内细菌对抗菌药物的抗药性可提高10~1000倍[14]。BF的耐药机制如下:(1)BF具有屏障作用,由细菌合成的胞外基质和EPS等物质构成的独特三维结构,是阻止抗菌药物向内渗透的天然屏障;(2)BF中营养的缺乏使得细菌生长缓慢或停止分裂而处于休眠状态,细菌对抗菌药物敏感性降低;(3)BF细菌产生的多糖蛋白复合物可吸附部分抗菌药物,另外,吸附于BF多糖蛋白复合物的抗菌药物灭活酶,如β内酰胺酶,也可以灭活一部分抗菌药物;(4)包埋于BF多糖蛋白复合物中的细菌感染性和致病性增强;(5)抗生素无法到达导管部位,特别是ETT内壁;(6)由于浮游生长的细菌和BF表面的细菌被杀灭,患者临床症状缓解,可能终止抗菌治疗,没有抗菌药物抑制的BF细菌,就可能成为感染再发的根源而迁延不愈。

3 ETT-BF与VAP的关系

3.1 ETT-BF致VAP的机制

ETT-BF引起VAP的机制仍处于探讨之中,其病原来源、寄殖方式及移行途径是目前研究的热点。口咽部和胃内定殖菌的误吸是引起VAP的重要原因之一。研究认为,约有45%的正常人在睡眠中发生口咽分泌物的微量吸入,而在机械通气患者,尤其是伴有意识障碍、术后状态、鼻饲者高达90%[15]。在插入ETT后,ETT可直接损伤咽喉部,且跨越了咽喉部这一重要的屏障,使得气道自然防御功能被破坏,同时,削弱了咽下反射及上气道的过滤防御机能,且抑制吞咽活动,易使胃内容物反流,容易并发

鼻窦炎,增加下呼吸道感染机会。

3.2 ETT-BF 引起 VAP 的防治对策

气管导管腔内 BF 的形成是 VAP 的高危因素之一。由于 BF 的理化特性,使其内部的细菌既不接受宿主免疫机制的作用,又逃避了抗生素的杀灭作用,因此,对 ETT-BF 相关感染的治疗目前仍是一个临床难题。多数报道仅限于动物实验。防治原则包括抑制 BF 形成及应用能透过 BF 的杀菌剂。

由于 ETT-BF 首先起始于黏附气管导管壁,可以应用抗细菌黏附生物医学材料或采用特殊内涂层减轻细菌的黏附性。导管表面也可应用抗细菌材料,如导管表面抗生素缓释,人们利用银的灭菌性能发现聚氨酯导管表面涂敷银后,细菌黏附数量大幅度下降,用此材料制作的 ETT 在离体实验中取得了良好抗菌效果。Guggenbichler 等[16]已将银制剂列为研制抗感染生物医学材料的首选物,这是因为银粒子可在较低浓度杀灭细菌,具有广谱抗细菌、真菌活性,且无耐药性的发生,能有效对抗细菌黏附定殖及 BF 形成,同时不易引起组织异物反应,已广泛用于治疗烧伤患者。含银静脉导管及导尿管的临床应用研究结果表明,此类导管显著降低了导管相关性感染的发生率。近年来,Berra 等[17]经过多次动物实验研究发现,用磺胺嘧啶银(silver sulfadiazine)和洗必泰(chlorhexidine)的混合溶液浸渍 ETT 可显著降低 ETT、气管、支气管、肺组织及呼吸回路中的细菌数量,延缓 ETT-BF 形成。荟萃分析证据表明使用镀银气管导管能减少 ETT-BF 形成,降低 VAP 的发生率[18]。含有无毒纳米银粒子及聚乙烯醇水凝胶涂层的气管导管对人体气管黏膜损伤小,并且能有效对抗细菌黏附,抑制 ETT-BF 形成[19]。最新研究表明具有 Sharklet 图案结构的气管导管能有效控制 ETT-BF 形成,Sharklet 图案结构是一种仅通过图案设计就能防止细菌黏附生长的工程化表面结构[20]。有研究表明应用新型吸引器及时清除气管导管远端内的黏液及分泌物可以有效抑制 BF 形成[21,22]。

在 BF 尚未形成稳态的 72 h 内,细菌对各种抗菌药物相对比较敏感,在感染初期,可应用抗生素来阻止和破坏 BF 的形成。应用大剂量或者渗透性强的抗菌药物,如喹诺酮类药物,可穿透 EPS,对生长缓慢的细菌有一定的杀菌作用,但不能完全清除 BF 中的细菌[23]。近来应用新型抗菌涂层的Gardine气管导管能有效控制 BF 形成[24]。

综上所述,ETT-BF 的形成及播散入肺是 VAP 的重要发病机制之一,而且有其致病特点,治疗相当困难。目前对于 ETT-BF 的发生发展、耐药机制及防治措施的研究正不断深入,但大多局限于体外研究,今后应重点从临床角度入手,系统研究影响 ETT-BF 形成和进展的各种因素,找出适合于临床应用的防治新方法。

【参考文献】

[1] Bauer TT, Ferrer R, Angrill J, *et al*. Ventilator-associated pneumonia: incidence, risk factors, and microbiology [J]. Semin Respir Infect, 2000, 15(4): 272-279.

[2] Cook D. Ventilator-associated pneumonia: perspectives on the burden of illness[J]. Intensive Care Med, 2000, 26(Suppl 1): S31-S37.

[3] Morehead RS, Pinto SJ. Ventilator-associated pneumonia [J]. Arch Intern Med, 2000, 160(13): 1926-1936.

[4] Fernandez JF, Levine SM, Restrepo MI. Technologic advances in endotracheal tubes for prevention of ventilator-associated pneumonia[J]. Chest, 2012, 142(1): 231-238.

[5] Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections [J]. Science, 1999, 284(5418): 1318-1322.

[6] De Souza PR, De Andrade D, Cabral DB, *et al*. Endotracheal tube biofilm and ventilator-associated pneumonia with mechanical ventilation[J]. Microsc Res Tech, 2014, 77(4): 305-312.

[7] Koerner RJ. Contribution of endotracheal tubes to the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia [J]. J Hosp Infect, 1997, 35(2): 83-89.

[8] Dickschat JS. Quorum sensing and bacterial biofilms [J]. Nat Prod Rep, 2010, 27(3): 343-369.

[9] Modarresi F, Azizi O, Shakibaie MR, *et al*. Iron limitation enhances acyl homoserine lactone (AHL) production and biofilm formation in clinical isolates of Acinetobacter baumannii [J]. Virulence, 2015, 6(2): 152-161.

[10] Inglis TJ. Evidence for dynamic phenomenia in residual tracheal tube biofilm[J]. Br J Anaesth, 1993, 70(1): 22-24.

[11] Adair CG, Gorman SP, Byers LM, *et al*. Eradication of endotracheal tube biofilm by nebulised gentamicin [J]. Intensive Care Med, 2002, 28(4): 426-431.

[12] Feldman C, Kassel M, Cantrell J, *et al*. The presence and sequence of endotracheal tube colonization in patients undergoing mechanical ventilation [J]. Eur Respir J, 1999, 13(3): 546-551.

[13] Gil-Perotin S, Ramirez P, Marti V, *et al*. Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response: a state of concept[J]. Crit Care, 2012, 16(3): R93.

[14] Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents[J]. Nat Rev Drug Discov, 2003, 2(2): 114-122.

[15] Rello J. Bench-to-bedside review: therapeutic options and issues in the management of ventilator-associated bacterial pneumonia [J]. Crit Care, 2005, 9(3): 259-265.

[16] Guggenbichler JP, Boswald M, Lugauer S, *et al*. A new technology of microdispersed silver in polyurethane induces antimicrobial

activity in central venous catheters [J]. Infection, 1999, 27(Suppl 1): S16 – S23.

[17] Berra L, De Marchi L, Yu ZX, *et al*. Endotracheal tubes coated with antiseptics decrease bacterial colonization of the ventilator circuits, lungs, and endotracheal tube [J]. Anesthesiology, 2004, 100(6): 1446 – 1456.

[18] Li X, Yuan Q, Wang L, *et al*. Silver-coated endotracheal tube *versus* non-coated endotracheal tube for preventing ventilator-associated pneumonia among adults: a systematic review of randomized controlled trials[J]. J Evid Based Med, 2012, 5(1): 25 – 30.

[19] Loo CY, Young PM, Lee WH, *et al*. Non-cytotoxic silver nanoparticle-polyvinyl alcohol hydrogels with anti-biofilm activity: designed as coatings for endotracheal tube materials [J]. Biofouling, 2014, 30(7): 773 – 788.

[20] May RM, Hoffman MG, Sogo MJ, *et al*. Micro-patterned surfaces reduce bacterial colonization and biofilm formation *in vitro*: potential for enhancing endotracheal tube designs[J]. Clin Transl Med, 2014, 3: 8.

[21] Berra L, Coppadoro A, Bittner EA, *et al*. A clinical assessment of the Mucus Shaver: a device to keep the endotracheal tube free from secretions[J]. Crit Care Med, 2012, 40(1): 119 – 124.

[22] Liu W, Zuo Z, Ma R, *et al*. Effect of mechanical cleaning of endotracheal tubes with sterile urethral catheters to reduce biofilm formation in ventilator patients[J]. Pediatr Crit Care Med, 2013, 14(7): e338 – e343.

[23] Ichimiya T, Yamasaki T, Nasu M. *In-vitro* effects of antimicrobial agents on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation [J]. J Antimicrob Chemother, 1994, 34(3): 331 – 341.

[24] Raad II, Mohamed JA, Reitzel RA, *et al*. The prevention of biofilm colonization by multidrug-resistant pathogens that cause ventilator-associated pneumonia with antimicrobial-coated endotracheal tubes[J]. Biomaterials, 2011, 32(11): 2689 – 2694.

（编辑：周宇红）

·消 息·

《中华老年多器官疾病杂志》关于录用稿件优先数字出版的启事

为缩短学术论文发表周期，提高学术成果的传播和利用价值，争取科研成果的首发权，《中华老年多器官疾病杂志》已启用优先数字出版（online first）平台。

编辑部会将已被录用并完成排版校对的论文先于印刷版在杂志网站优先数字出版。同时，印刷版一经确定卷、期、页码，将上传至网络出版平台并取代优先出版的数字版。若有作者参阅本刊优先数字出版文献并引为参考文献的，请务必在其引用格式中标注数字出版的时间和网址，以确认该文的首发权。若有不同意优先数字出版的作者，请投稿时特别说明。

地址：100853 北京市复兴路28号，《中华老年多器官疾病杂志》编辑部

电话：010-66936756

网址：www.mode301.cn

E-mail：zhlndqg@mode301.cn