

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.11.009

文章编号: 1005-8982 (2023) 11-0050-07

实验研究·论著

86株痤疮丙酸杆菌的耐药性及生物膜成膜能力分析*

吴志强¹, 王欢¹, 旷翎¹, 冯浩², 刘楚仪¹, 侯正利³

(1.长沙市第四医院 皮肤科, 湖南 长沙 410006; 2.湖南省人民医院 皮肤科, 湖南 长沙 410005; 3.长沙市第四医院 检验科, 湖南 长沙 410006)

摘要: **目的** 研究临床分离痤疮丙酸杆菌的耐药性及其生物膜成膜能力。**方法** 选取2020年12月—2022年1月长沙市第四医院皮肤科门诊诊治的114例痤疮患者为研究对象。分离出痤疮丙酸杆菌, 通过琼脂稀释法检测其对常用抗生素的耐药性; 采用结晶紫染色法检测其生物膜形成能力; 通过激光共聚焦显微镜观察生物膜结构; 选取8株生物膜成膜能力较强的菌株Pa01、Pa02、Pa03、Pa04、Pa05、Pa06、Pa07和Pa08检测体外抗生素的敏感性, 随机选取成膜能力阴性菌株(浮游菌)Pa12和成膜能力阳性菌株Pa03进行大鼠实验, 复制痤疮丙酸杆菌菌株感染模型。将感染模型大鼠随机分为2组, 每组6只, 分别皮下注射30 mg/kg的米诺环素(米诺环素组)或1% DMSO (溶媒组), 感染后第5天处死大鼠, 测量脓肿的面积, 并分离脓肿组织进行均浆计数和HE染色。**结果** 本研究共分离出86株痤疮丙酸杆菌, 分离率为75.4%。痤疮丙酸杆菌对甲硝唑和夫西地酸的耐药性最高, 分别为93.0%和90.7%; 对大环内酯类抗生素的耐药率为75.6%~88.4%。对米诺环素和多西环素的敏感性最高, 耐药率仅分别为7.0%和8.1%。86株临床分离痤疮丙酸杆菌中, 34株(39.53%)生物膜成膜能力阳性, 其中, 成膜能力强、中和弱的占比分别为9.30%(8/86)、12.79%(11/86)和17.44%(15/86)。不同成膜能力组的生物膜吸光度比较, 差异有统计学意义($P<0.05$), 且成膜能力强、中和弱组的吸光度比成膜能力阴性组均显著升高($P<0.05$); 对照组与米诺环素实验组(8 $\mu\text{g/mL}$)菌株Pa01、Pa02、Pa03、Pa04、Pa05、Pa06、Pa07和Pa08的生物膜总量比较, 差异有统计意义($P<0.05$)。成膜能力阴性菌株Pa12中, 米诺环素组的脓肿大小较溶媒组降低($P<0.05$), 米诺环素可显著抑制浮游菌Pa12脓肿的形成; 米诺环素组的菌株载量较溶媒组减少($P<0.05$), 米诺环素能显著降低其脓肿痤疮丙酸杆菌菌株载量。成膜能力阳性菌株Pa03中, 溶媒组和米诺环素组的脓肿大小和菌株载量比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 痤疮丙酸杆菌对米诺环素和多西环素的敏感性较高, 且该菌易形成生物膜导致耐药性增加。

关键词: 寻常痤疮; 痤疮丙酸杆菌; 耐药分布; 生物膜; 抗生素

中图分类号: R758.733

文献标识码: A

Clinical characteristics and drug resistance analysis of 86 clinical isolates of *Propionibacterium acnes**

Wu Zhi-qiang¹, Wang Huan¹, Kuang Ling¹, Feng Hao², Liu Chu-yi¹, Hou Zheng-li³

(1. Department of Dermatology, The Fourth Hospital of Changsha, Changsha, Hunan 410006, China;
2. Department of Dermatology, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha, Hunan 410005, China;
3. Department of Clinical Laboratory, The Fourth Hospital of Changsha, Changsha, Hunan 410006, China)

Abstract: **Objective** To explore the resistance characteristics and biofilm forming ability of

收稿日期: 2022-12-12

* 基金项目: 长沙市科技局科研项目(No: kq2004155); 湖南省财政厅项目(No: 2022CZT03)

[通信作者] 侯正利, E-mail: houzhengli@foxmail.com

Propionibacterium acnes. **Methods** One hundred and fourteen acne patients from the outpatient clinic of the Fourth Hospital of Changsha from December 2020 to January 2022 were included in this study. The isolated *Propionibacterium acnes* were tested for resistance to commonly used antibiotics by agar dilution method. The ability of biofilm formation was detected by crystal violet staining. Observation of biofilm structure using laser confocal microscopy. Strains of Pa01, Pa02, Pa03, Pa04, Pa05, Pa06, Pa07, and Pa08 with positive biofilm-forming ability were selected for in vitro antibiotic susceptibility test. The biofilm-forming negative strain (planktonic bacteria) Pa12 and biofilm-forming positive strain Pa03 were randomly selected to construct *Propionibacterium acnes* rat infection model in vivo. The rats were divided into two groups (6 rats per group), one was treated with 30 mg/kg minocycline, the other was treated with 1% DMSO as a control. Five days post infection, the rats were euthanized and the abscess area and bacterial loads were measured. In addition, HE staining of the abscess was also performed. **Results** A total of 86 strains of *Propionibacterium acnes* were isolated in this study, with an isolation rate of 75.4%. *Propionibacterium acnes* showed the highest resistance rate to metronidazole and fusidic acid with 93.0% and 90.7%, respectively. The resistance rate of the bacterium to macrolide antibiotics ranged from 75.6% to 88.4%. The bacterium showed the highest susceptibility to minocycline and doxycycline with the resistance rate of 7.0% and 8.1%. Among the 86 clinical isolates, positive rate of biofilm-forming ability of *Propionibacterium acnes* accounted for 39.53% (34 strains), and the strong, moderate and weak biofilm forming strains were accounted for 9.30% (8/86), 12.79% (11/86), and 17.44% (15/86), respectively. The significance of absorbance was found among different biofilm forming ability groups ($P < 0.05$), and the absorbance at the groups with strong, moderate, and weak biofilm forming strains was significantly higher compared with the biofilm forming negative strains ($P < 0.05$). Significant differences ($P < 0.05$) of the biofilm biomass were found between the control group and minocycline treated groups (including Pa01, Pa02, Pa03, Pa04, Pa05, Pa06, Pa07, and Pa08). The abscess size of the minocycline treated group was reduced compared with the control group ($P < 0.05$) by Pa12 infection. And the bacterial loads in the abscess were also significantly decreased ($P < 0.05$). As in the infection model by the biofilm forming negative strain Pa03, no statistical difference was found in the abscess area and bacterial loads ($P > 0.05$). **Conclusion** *Propionibacterium acnes* has a high sensitivity to minocycline and doxycycline, and the bacterium is prone to forming biofilms resulting in increased drug resistance.

Keywords: acne vulgaris; *Propionibacterium acnes*; resistance distribution; biofilms; anti-bacterial agents

丙酸杆菌是常见的一种定植于健康人群皮肤组织的细菌^[1]。当皮肤微生态失衡或免疫系统功能低下时, 易导致机会性感染^[2], 其中, 以痤疮丙酸杆菌引起的感染最常见。痤疮丙酸杆菌是一种偏厌氧的革兰阳性条件致病菌^[3], 除引起寻常痤疮外, 还可引起多种感染或非感染性疾病, 如植入物相关感染、感染性心内膜炎等。痤疮丙酸杆菌的主要致病因子为脂肪酶, 其分泌的三酰甘油酯酶和溶血磷脂酶可使其穿过皮脂腺导致痤疮形成^[4]。

近年来, 随着抗生素的不合理使用, 痤疮丙酸杆菌的耐药率逐年升高。通过对西方国家 664 例患者携带的痤疮丙酸杆菌耐药性分析发现, 50.8% ~ 93.6% 的痤疮丙酸杆菌对包括四环素、大环内酯类抗生素、林可霉素和链霉素都表现耐药; 但不同国家的耐药率各异, 耐药率为 36.7% ~ 94.0%^[5]。因此, 实时分析不同地区的痤疮丙酸杆

菌对抗生素的耐药情况对指导合理使用抗菌药物具有十分重要的意义。

痤疮丙酸杆菌还具有较强的生物膜形成能力。其生物膜的主要组成成分包括菌体、胞外多糖、胞外 DNA、蛋白质和多糖残基等, 生物膜中的细菌因营养物质缺乏往往导致增殖不活跃^[6]。痤疮丙酸杆菌生物膜还能定植于皮脂腺, 当人体激素分泌状态改变导致皮脂腺分泌增加时, 生物膜中的痤疮丙酸杆菌可获得足够的营养, 代谢和增殖旺盛而成为浮游菌, 导致炎症和感染的发生发展^[7]。生物膜状态下的细菌因物理屏障、休眠体形成和耐药突变增加等原因导致其耐药性比相应的浮游菌高 10 ~ 1 000 倍不等, 成为临床诊疗中的棘手问题^[8]。

本研究将观察寻常痤疮患者痤疮丙酸杆菌的耐药情况及生物膜形成能力, 为临床针对痤疮丙酸杆菌相关感染合理使用抗生素提供指导。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取2020年12月—2022年1月在长沙市第四医院皮肤科门诊确诊的114例寻常痤疮患者,年龄12~50岁,符合中国痤疮治疗指南(2019修订版)^[9]的寻常痤疮诊断标准,无其他基础疾病(如艾滋病、精神病和结核病等),且要求研究前1个月未使用任何抗菌药物治疗。

1.2 实验动物、仪器与试剂

雄性SD大鼠12只,体重300~400 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司[实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2022-0017]。厌氧培养罐购自广州尤德生物科技有限公司,VITEK 2 Compact全自动微生物鉴定系统购自法国梅里埃公司,电热恒温箱购自广州万宝集团有限公司,酶标仪购自美国Bio-Tek公司,激光共聚焦显微镜LSM800购自德国蔡司公司,麦氏比浊仪购自德国梅里埃公司。强化梭菌培养基和还原型布鲁氏菌血琼脂购自美国赛默飞公司,抗生素(红霉素、克林霉素、阿奇霉素、氯霉素、四环素、多西环素、米诺环素、甲硝唑、夫西地酸和克拉霉素)购自美国MCE公司,结晶紫染液购自天津化工一厂,SYTO9荧光染料购自美国赛默飞公司。

1.3 方法

1.3.1 菌株的培养及分离 将接种有粉刺、脓疱内容物的厌氧血琼脂平板迅速放置厌氧罐中,放入厌氧产气袋和厌氧指示剂,密闭厌氧罐后置于恒温箱中孵育48 h,采用平板划线法进行菌株分离。

1.3.2 菌株的鉴定与保存 取单个菌落用生理盐水调节为0.5麦氏浊度,用VITEK 2 Compact全自动微生物鉴定系统对细菌进行鉴定。将分离出的痤疮丙酸杆菌菌株套取至甘油磁珠中,震荡后弃去培养基,置于-80℃冰箱中保存。菌株的复苏通过磁珠接种于厌氧血琼脂平板,并放置厌氧罐36℃湿盒中恒温培养48 h后进行后续实验。

1.3.3 药敏实验 严格参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)M100-S23及M11-A7文件中细菌药敏实验标准,通过琼脂稀释法进行药敏实验。培养基采用还原型布鲁氏菌血琼脂。所选抗生素为红霉素、克林霉素、阿奇霉素、氯霉素、四环素、多西环素、米诺环素、甲硝唑、夫西地酸和克拉霉素。首

先,将抗生素溶于水或二甲基亚砜中配置成20 mg/mL的储存液,并分别依次倍比稀释后混入琼脂培养基制成0、2、4、8、16、32、64和128 μg/mL的含药培养基。这些浓度覆盖了药敏折点的判断值,因此,所有抗生素均制备这8个浓度。在制作药敏培养基同时复苏痤疮丙酸杆菌菌株,并接种于制备的药敏平板上,放置厌氧培养箱中恒温培养72 h后读取药敏实验结果。最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)的判读标准:将每个药敏实验平板与对照平板相对比,生长显著减少的实验平板对应的药物浓度即为MIC^[10]。

1.3.4 结晶紫染色检测生物膜成膜能力 挑取平板上的单个痤疮丙酸杆菌菌株于强化梭菌培养基37℃孵育24 h后进行实验。用强化梭菌培养基将菌悬液调节成约 0.5×10^8 CFU/mL后,加入200 μL菌悬液至平底96孔板中,厌氧条件下静置孵育48 h后,弃去上清液,每孔加入300 μL无菌生理盐水润洗3遍,室温晾干30 min,再加入20 μL 0.1%结晶紫溶液,静置染色30 min。继续用无菌生理盐水润洗3遍以去除浮游菌,吸干后加入200 μL 95%乙醇溶液,待与生物膜结合的结晶紫充分溶解后,酶标仪检测570 nm处的吸光度(A)值,即为生物膜的相对形成量。 $A \leq A_c$ 为不成膜, $A_c < A \leq 2 \times A_c$ 为弱成膜, $2 \times A_c < A \leq 4 \times A_c$ 为中等成膜, $A > 4 \times A_c$ 为强成膜。其中,对照组吸光度 $A_c(A_{\text{对照组}}) = A_{\text{空白组}} + 3 \times SD$ 。 $A_{\text{空白组}}$ 为不含菌的培养基对照组,SD为 $A_{\text{空白组}}$ 的标准差^[11]。

1.3.5 激光共聚焦显微镜观察生物膜结构 挑取平板上的单个痤疮丙酸杆菌菌株于强化梭菌培养基37℃孵育24 h后进行实验。用强化梭菌培养基将菌悬液调节成约 0.5×10^8 CFU/mL后,加入1 mL菌悬液至6孔板中,盖上无菌盖玻片,将6孔板厌氧条件下静置孵育48 h后,弃去上清液,用生理盐水清洗去除浮游菌后,加入10 μmol SYTO9荧光染料室温避光染色10 min。于激光共聚焦显微镜下观察生物膜结构。

1.3.6 生物膜成膜能力较强菌株的耐药性检测 通过1.3.4中的结晶紫染色检测86株痤疮丙酸杆菌的生物膜的相对形成量后,选取8株生物膜成膜能力最强的临床菌株为实验组,进行耐药性分析,并依次编号为:Pa01、Pa02、Pa03、Pa04、Pa05、Pa06、Pa07

和 Pa08。其余菌株则按顺序随机编号。各实验组用强化梭菌培养基将菌悬液调节成约 0.5×10^8 CFU/mL 后,加入 200 μ L 菌悬液至平底 96 孔板中,厌氧条件下静置孵育 48 h 后,弃去上清液以构建生物膜。随后,加入 200 μ L 用强化梭菌培养基稀释的米诺环素 8 μ g/mL。设仅加 200 μ L 培养基的为对照组。各实验组和对照组均放入厌氧罐中,36 $^{\circ}$ C 静置孵育 48 h 后,弃去上清液,每孔加入 300 μ L 无菌生理盐水润洗 3 遍,室温晾干 30 min,再加入 20 μ L 0.1% 结晶紫溶液,静置染色 30 min。继续用无菌生理盐水润洗 3 遍以去除浮游菌,吸干后加入 200 μ L 95% 乙醇溶液,待与生物膜结合的结晶紫充分溶解后,酶标仪检测 570 nm 处的吸光度(A)值,即为生物膜的相对形成量。

1.3.7 体内脓肿感染模型 对临床菌株进行成膜能力检测后,随机选取成膜能力阴性菌株(浮游菌) Pa12 和成膜能力阳性菌株 Pa03 进行动物实验。挑取平板上的单个痤疮丙酸杆菌菌株于强化梭菌培养基 37 $^{\circ}$ C 孵育 16 ~ 18 h 后收集菌沉淀,并用无菌生理盐水漂洗 3 次,调为 3 McF,备用。在雄性 SD 大鼠背部皮下注射 500 μ L 备用菌悬液,第 2 天,相同部位再皮下注射 500 μ L 备用菌悬液以复制感染模型。次日,将感染模型大鼠随机分为 2 组,每组 6 只,分别皮下注射 30 mg/kg 的米诺环素(米诺环素组)或 1% DMSO(溶媒组),每 24 h 注射 1 次。感染后第 5 天处死大鼠,测量脓肿的面积,并分离脓肿组织进行均浆计数和 HE 染色^[12]。

1.4 统计学方法

数据分析采用 Excel 2013 和 Graphpad Prism 8.0 统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较采用 *t* 检验或方差分析,进一步两两比较用 Dunnett 检验;计数资料以构成比或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床分离痤疮丙酸杆菌的基本特征

从 114 例寻常痤疮患者中共分离出痤疮丙酸杆菌 86 株,分离率为 75.4%。痤疮丙酸杆菌在不同性别、年龄和疾病程度的分布不同(见表 1)。分离出痤疮丙酸杆菌的患者中男性占比 48.8%,女性占比 51.2%;不同年龄段的患者占比不同,年龄在 18 ~

21 岁患者占比 60.5%;疾病程度不同的患者占比不同,重型痤疮患者占比达 48.9%。

表 1 86 株痤疮丙酸杆菌相关因素的分布

因素	株数	占比/%
性别		
男	42	48.8
女	44	51.2
年龄		
12 ~ 18 岁	15	17.4
>18 ~ 21 岁	52	60.5
>21 ~ 24 岁	10	11.6
>24 岁	9	10.5
程度		
轻型	13	15.1
中型	31	36.0
重型	42	48.9

2.2 临床分离痤疮丙酸杆菌的耐药性分析

86 株痤疮丙酸杆菌对甲硝唑的耐药率最高,为 93.0%;其次为夫西地酸,为 90.7%。痤疮丙酸杆菌对大环内酯类抗生素和氯霉素也具有较高的耐药性,其耐药率为 75.6% ~ 88.4%,其中以米诺环素和多西环素的敏感性最高,其耐药率仅分别为 7.0% 和 8.1%。见表 2。

2.3 痤疮丙酸杆菌的生物膜形成能力

86 株临床分离痤疮丙酸杆菌中,34 株生物膜

表 2 86 株痤疮丙酸杆菌对抗生素的耐药率

抗生素	敏感株数	中介株数	耐药株数	敏感率/%	中介率/%	耐药率/%
红霉素	19	0	67	22.1	0.0	77.9
克林霉素	21	0	65	24.4	0.0	75.6
阿奇霉素	14	0	72	16.3	0.0	83.7
氯霉素	16	3	67	18.6	3.5	77.9
四环素	74	0	12	86.0	0.0	14.0
多西环素	78	0	8	91.9	0.0	8.1
米诺环素	80	0	6	93.0	0.0	7.0
甲硝唑	2	4	80	2.3	4.7	93.0
夫西地酸	8	0	78	9.3	0.0	90.7
克拉霉素	10	0	76	11.6	0.0	88.4

注:敏感率(%)=(敏感菌株数/总菌株数)×100%;中介率(%)=(中介菌株数/总菌株数)×100%;耐药率(%)=(耐药菌株数/总菌株数)×100%。

成膜能力阳性，占比 39.53%，其中，成膜能力强、中和弱的占比分别为 9.30% (8/86)、12.79% (11/86) 和 17.44% (15/86)。不同成膜能力组的生物膜吸光度比较，差异有统计学意义 ($P<0.05$)，且成膜能力强、中和弱组的吸光度比成膜能力阴性组均显著升高 ($q=25.30$ 、 21.61 和 14.50 , $P=0.000$)，见表 3。激光共聚焦显微镜下观察生物膜结构 (见图 1)。由图可知，生物膜成膜能力强阳性菌株 Pa03 (图 1A) 和 Pa04 (图 1B) 均能形成具有三维结构的生物膜，Pa04 的生物膜厚度和荧光强度要高于 Pa03，提示其生物膜成膜能力更强。

表 3 痤疮丙酸杆菌的生物膜形成能力 ($\bar{x} \pm s$)

组别	株数	A 值
成膜能力阴性组	52	0.56 ± 0.13
成膜能力弱组	15	1.52 ± 0.25
成膜能力中等组	11	2.18 ± 0.44
成膜能力强组	8	2.73 ± 0.27
F 值		338.300
P 值		0.000

表 4 对照组与各实验组的生物膜相对形成量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Pa01	Pa02	Pa03	Pa04	Pa05	Pa06	Pa07	Pa08
对照组	2.52 ± 0.08	2.83 ± 0.13	2.76 ± 0.12	3.16 ± 0.16	2.70 ± 0.21	2.75 ± 0.16	2.87 ± 0.09	2.24 ± 0.10
实验组	1.80 ± 0.11	1.12 ± 0.10	2.02 ± 0.15	1.77 ± 0.10	1.96 ± 0.08	1.74 ± 0.16	2.20 ± 0.13	1.65 ± 0.08
t 值	9.252	18.000	6.807	12.890	5.705	7.834	7.129	7.838
P 值	0.001	0.000	0.002	0.000	0.005	0.001	0.002	0.001

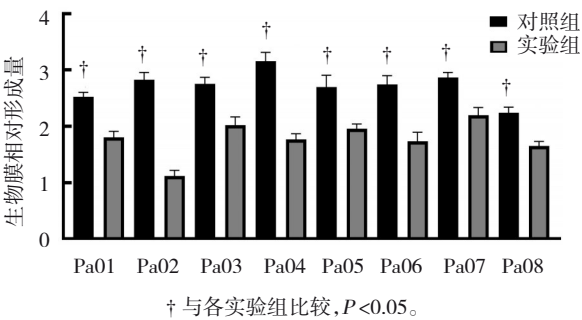


图 2 米诺环素对痤疮丙酸杆菌 48 h 生物膜的清除作用

2.5 痤疮丙酸杆菌生物膜的体内耐药性分析

成膜能力阴性菌株 Pa12 中，溶媒组的脓肿大小为 $(222.80 \pm 34.49) \text{mm}^2$ ，米诺环素组的脓肿大小为 $(32.80 \pm 25.79) \text{mm}^2$ ，两组比较，差异有统计学意

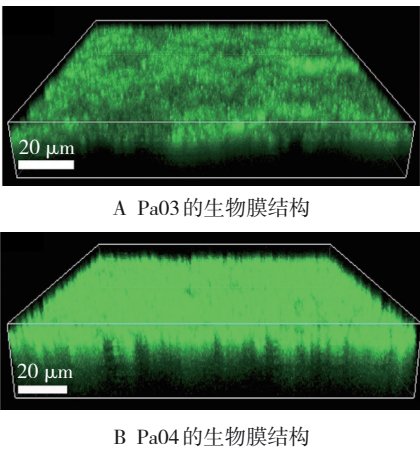


图 1 48 h 生物膜结构 (激光共聚焦显微镜 $\times 400$)

2.4 痤疮丙酸杆菌生物膜的体外耐药性分析

对 8 株成膜能力强阳性的临床菌株 (即菌株 Pa01、Pa02、Pa03、Pa04、Pa05、Pa06、Pa07 和 Pa08) 进行抗生素敏感性检测，发现米诺环素在 $8 \mu\text{g/mL}$ 的时候可显著清除已形成的 48 h 生物膜。对照组与各实验组菌株 Pa01、Pa02、Pa03、Pa04、Pa05、Pa06、Pa07 和 Pa08 的生物膜相对形成量比较，差异有统计意义 ($P<0.05$)。见表 4 和图 2。

义 ($t=9.870$, $P=0.000$)，米诺环素组的脓肿大小显著降低 (见图 3A)，米诺环素可显著抑制浮游菌 Pa12 脓肿的形成；溶媒组的菌株载量为 $(6.98 \pm 0.53) \text{Log}_{10}\text{CFU/abscess}$ ，米诺环素组的菌株载量为 $(3.48 \pm 0.32) \text{Log}_{10}\text{CFU/abscess}$ ，两组比较，差异有统计学意义 ($t=9.120$, $P=0.000$)，米诺环素组的菌株载量减少，米诺环素能显著降低其脓肿痤疮丙酸杆菌菌株载量 (见图 3B)。成膜能力阳性菌株 Pa03 中，溶媒组和米诺环素组的脓肿大小和菌株载量比较，差异无统计学意义 ($P>0.05$) (见图 3A 和 3B)。HE 染色结果显示，米诺环素可显著减少浮游菌 Pa12 相关脓肿组织中的炎症细胞浸润，并修复了部分受损组织，可以看到正常皮肤结构；而米诺环素对生物膜菌 Pa03 相关脓肿组织中的炎症细胞

浸润几乎无影响(见图 3C)。

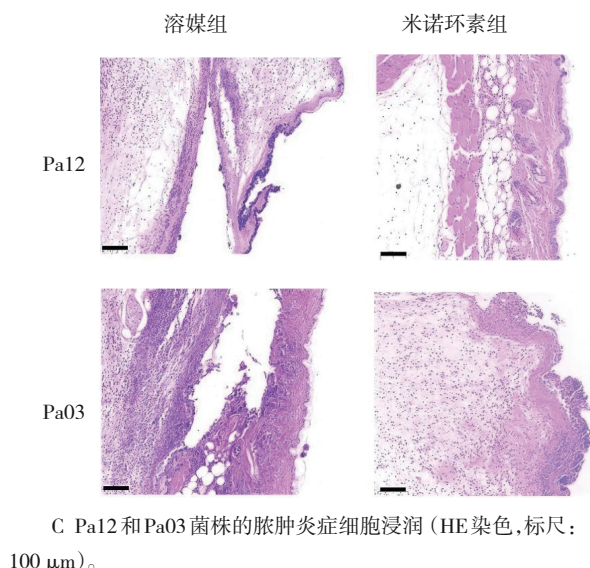
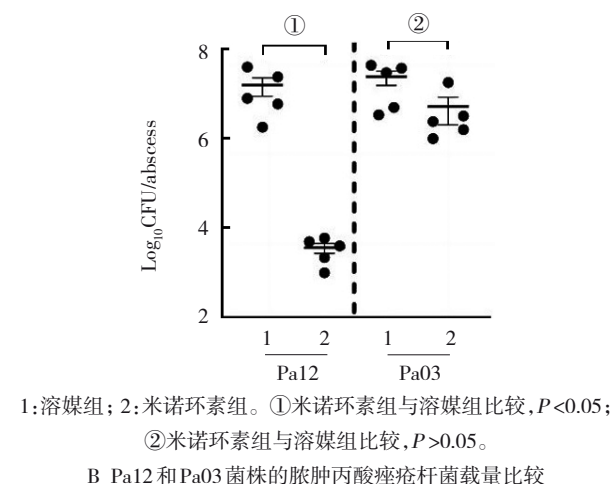
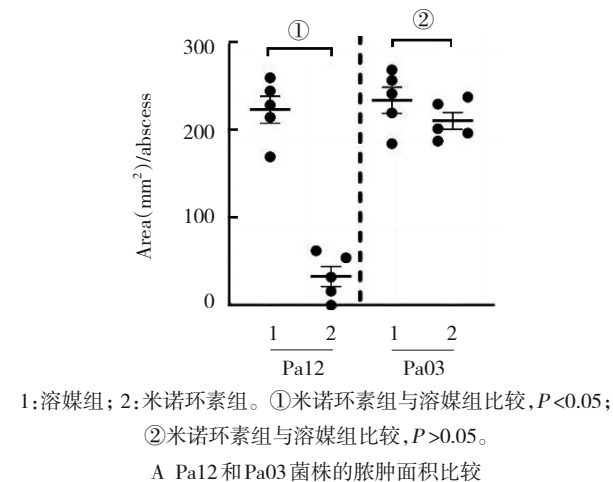


图 3 生物膜状态增强痤疮丙酸杆菌对米诺环素的耐药性

3 讨论

痤疮丙酸杆菌可引起寻常痤疮、结节病和生

物膜相关感染等多种疾病, 是临床诊疗中的常见难题。本研究结果显示痤疮患者痤疮丙酸杆菌的携带率为 75.4%, 其对甲硝唑和大环内酯类抗生素的耐药性较高。此外, 痤疮丙酸杆菌还具有较高的生物膜形成能力, 该菌形成的生物膜耐药性较高, 对所测试的大部分抗生素显示出较高的耐药性。

抗菌药物是治疗痤疮的主要药物之一, 米诺环素、多西环素、大环内酯类等抗菌药物有较好疗效, 但痤疮丙酸杆菌存在较高的耐药性, 影响了痤疮的治疗效果。本研究发现痤疮丙酸杆菌对许多抗菌药物有耐药性, 其中, 甲硝唑的耐药率最高, 为 93.0%, 其次为夫西地酸, 为 90.7%。而对部分四环素类抗生素的敏感性较高, 其耐药率仅为 7%~14%。张丽媛等^[12]通过对国内外报道的 13 篇相关研究进行 Meta 分析, 共纳入 1 770 例患者的数据 (包含 1 259 株临床分离痤疮丙酸杆菌), 发现我国分离的痤疮丙酸杆菌对四环素类抗生素的耐药性最低, 比如其中对米诺环素的耐药率仅为 2%, 对多西环素和四环素的耐药率仅为 6% 和 8%, 这与本研究的研究结果类似, 但是, 研究者还强调不同抗生素之间存在交叉耐药。因此, 临床治疗痤疮丙酸杆菌相关感染时, 在无相关禁忌证和过敏反应的前提下, 应尽量选择四环素类抗生素而避免选择耐药性较高的甲硝唑和大环内酯类抗生素。MERCIECA 等^[13]通过对马耳他分离的 100 株临床分离痤疮丙酸杆菌进行了耐药性分析, 其中主要包括了对四环素类抗生素、大环内酯类抗生素和复方新诺明的耐药性相关研究, 发现痤疮丙酸杆菌对阿奇霉素和克林霉素的耐药率最高, 分别达到了 18% 和 16%; 对多西环素和四环素的耐药性较低, 均为 2%; 对复方新诺明均敏感。因此, 国外痤疮丙酸杆菌的耐药率总体比中国分离菌株较低, 但耐药分布大致相同。

痤疮丙酸杆菌的生物膜形成能力较强, 常可黏附于医疗器械表面, 随着侵入性操作而引起生物膜相关感染。常见感染类型包括脑血管分流器相关感染、人工肩关节相关感染、人工髋关节相关感染、心血管植入物感染和乳房假体相关感染等等。针对痤疮丙酸杆菌相关的难治性生物膜相关感染, 目前尚无特效抗生素可以推荐。痤疮丙

酸杆菌一旦形成生物膜,其耐药性显著增加,常需要结合手术治疗加抗生素联合治疗,治疗周期须长达3~6个月,已成为临床诊疗中的显著难题^[14]。本研究结果也发现,痤疮丙酸杆菌有较强的生物膜形成能力,生物膜阳性菌株的占比为39.5%,且对8 μg/mL的多西环素均具有不同程度的耐药。有研究报道,虽然痤疮丙酸杆菌生物膜对四环素耐药,但当四环素联用鞣花酸时,可显著抑制痤疮丙酸杆菌生物膜的形成,并抑制其胞外多糖的分泌从而使生物膜内细菌对宿主免疫系统和其他抗生素更为敏感^[15]。针对难治性痤疮丙酸杆菌生物膜,除了传统抗生素的治疗,近年来研究者还发现噬菌体治疗、抗菌肽、益生元和光动力学治疗等途径也能一定程度上有效抵抗痤疮丙酸杆菌生物膜的形成^[16]。

本研究通过收集临床分离痤疮丙酸杆菌,通过药敏实验和生物膜形成实验研究了这些菌株对临床常用抗生素的耐药率及其生物膜形成能力。并进一步通过生物膜清除实验研究了痤疮丙酸杆菌生物膜对抗生素的耐药性,有望为临床痤疮丙酸杆菌相关感染的治疗提供指导。

参 考 文 献 :

- [1] KULKARNI N A, CHETHAN H S, SRIVASTAVA R, et al. Role of probiotics in ruminant nutrition as natural modulators of health and productivity of animals in tropical countries: an overview[J]. Trop Anim Health Prod, 2022, 54(2): 110.
- [2] COENYE T, SPITTAELS K J, ACHERMANN Y. The role of biofilm formation in the pathogenesis and antimicrobial susceptibility of *Cutibacterium acnes*[J]. Biofilm, 2022, 4: 100063.
- [3] CASTILLO D E, NANDA S, KERI J E. *Propionibacterium (Cutibacterium) acnes* bacteriophage therapy in acne: current evidence and future perspectives[J]. Dermatol Ther (Heidelb), 2019, 9(1): 19-31.
- [4] PERRY A, LAMBERT P. *Propionibacterium acnes*: infection beyond the skin[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2011, 9(12): 1149-1156.
- [5] DRÉNO B, PÉCASTAINGS S, CORVEC S, et al. *Cutibacterium acnes (Propionibacterium acnes)* and *acne vulgaris*: a brief look at the latest updates[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2018, 32 Suppl 2: 5-14.
- [6] PORTILLO M E, CORVEC S, BORENS O, et al. *Propionibacterium acnes*: an underestimated pathogen in implant-associated infections[J]. Biomed Res Int, 2013, 2013: 804391.
- [7] MAYSLICH C, GRANGE P A, DUPIN N. *Cutibacterium acnes* as an opportunistic pathogen: an update of its virulence-associated factors[J]. Microorganisms, 2021, 9(2): 303.
- [8] HALL C W, MAH T F. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria[J]. FEMS Microbiol Rev, 2017, 41(3): 276-301.
- [9] 中国痤疮治疗指南专家组. 中国痤疮治疗指南(2019修订版)[J]. 临床皮肤科杂志, 2019, 48(9): 583-588.
- [10] TALEB M H, ABDELTAWAB N F, SHAMMA R N, et al. *Origanum vulgare* L. essential oil as a potential anti-acne topical nanoemulsion-in vitro and in vivo Study[J]. Molecules, 2018, 23(9): 2164.
- [11] WU G X, WANG Y W, WU C S, et al. Therapeutic efficacy of sesquiterpene farnesol in treatment of *Cutibacterium acnes*-induced dermal disorders[J]. Molecules, 2021, 26(18): 5723.
- [12] 张丽媛, 王奇飒, 朱纹懿, 等. 我国痤疮患者皮损中痤疮丙酸杆菌对抗生素耐药性的Meta分析[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2019, 35(9): 515-519.
- [13] MERCECA L, MANGION J, CEFAL J, et al. The antibiotic susceptibility profile of *Cutibacterium acnes* in maltese patients with acne[J]. J Clin Aesthet Dermatol, 2020, 13(6): 11-16.
- [14] ACHERMANN Y, GOLDSTEIN E J C, COENYE T, et al. *Propionibacterium acnes*: from commensal to opportunistic biofilm-associated implant pathogen[J]. Clin Microbiol Rev, 2014, 27(3): 419-440.
- [15] SIVASANKAR C, MARUTHUPANDIYAN S, BALAMURUGAN K, et al. A combination of ellagic acid and tetracycline inhibits biofilm formation and the associated virulence of *Propionibacterium acnes* in vitro and in vivo[J]. Biofouling, 2016, 32(4): 397-410.
- [16] ASLAN KAYIRAN M, KARADAG A S, AL-KHUZAEI S, et al. Antibiotic resistance in acne: mechanisms, complications and management[J]. Am J Clin Dermatol, 2020, 21(6): 813-819.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 吴志强, 王欢, 旷翎, 等. 86株痤疮丙酸杆菌的耐药性及生物膜成膜能力分析[J]. 中国现代医学杂志, 2023, 33(11): 50-56.

Cite this article as: WU Z Q, WANG H, KUANG L, et al. Clinical characteristics and drug resistance analysis of 86 clinical isolates of *Propionibacterium acnes*[J]. China Journal of Modern Medicine, 2023, 33(11): 50-56.