· 基础实验研究论著 ·

铁离子对隐形眼镜上铜绿假单胞菌生物膜的影响*

张书楠[1]，王砚颖[2]，廖素华[3]，余文辉[1△]，吕　琪[1]，张春雷[1]，杨小红[1]
（1. 深圳市中医院检验科，广东深圳 518033；2. 深圳市中医院眼科，广东深圳 518033；
3. 北京大学深圳医院眼科，广东深圳 518033）

摘　要：目的　观察铁离子、乳铁蛋白及其与 $FeCl_3$ 混合溶液对隐形眼镜铜绿假单胞菌生物膜形成的影响。**方法**　通过静态生物被膜形成实验，在铜绿假单胞菌生物膜中加入不同浓度的游离铁、乳铁蛋白及其与 $FeCl_3$ 混合溶液条件下，以倍比稀释平板培养法检测活菌数评价其杀菌活性。再利用扫描电子镜观察正常状态、缺铁环境和部分缺铁环境下铜绿假单胞菌生物膜的微观形态。**结果**　乳铁蛋白对铜绿假单胞菌具有杀菌活性，同时抑制生物被膜形成，其作用与浓度成正相关；$FeCl_3$ 促进铜绿假单胞菌生长和生物被膜形成；乳铁蛋白与铁结合后其杀菌性减弱，对生物被膜形成的抑制作用减弱。**结论**　铁离子可以促进隐形眼镜铜绿假单胞菌生物膜形成，而一定浓度的乳铁蛋白及其与 $FeCl_3$ 混合溶液形成的缺铁状态，可抑制该生物膜的形成。

关键词：铜绿假单胞菌；　生物膜；　隐形眼镜；　铁离子
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.11.003　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2013)11-1351-03

Effects of iron ions on the biomembrane of Pseudomonas aeruginosa on contact lenses*

Zhang Shunan[1], *Wang Yanying*[2], *Liao Suhua*[3], *Yu Wenhui*[1△], *Lv Qi*[1], *Zhang Chunlei*[1], *Yang Xiaohong*[1]
(1. *Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong* 518033, *China*;
2. *Department of Ophthalmology, Shenzhen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong* 518033, *China*;
3. *Department of Ophthalmolog, Shenzhen Hospital of Peking University, Shenzhen, Guangdong* 518033, *China*)

Abstract: Objective　To study the effects of iron ions, lactoferrin and its mixed solution with $FeCl_3$ on the biomembrane formation of Pseudomonas aeruginosa on contact lenses. **Methods**　Different concentration of free iron, lactoferrin and its mixed solution with $FeCl_3$ were added to biomembrane of Pseudomonas aeruginosa during the static biomembrane formation experimentation. Viable bacterial count was performed using the double dilution method and plate culture assay to evaluate its bactericidal activity. Micromorphology of biomembrane of Pseudomonas aeruginosa on the condition of normal, iron-dificiency and partial iron-dificiency were observed by using scanning electron microscope. **Results**　Lactoferrin showed bactericidal activity toward Pseudomonas aeruginosa and inhibited the biomembrane formation. Its effect had positive correlation with concentration. $FeCl_3$ promoted the growth and biomembrane formation of Pseudomonas aeruginosa. The bactericidal activity and inhibition of biomembrane formation were reduced when lactoferrin combined with iron. **Conclusion**　Iron ions can improve the biomembrane formation of Pseudomonas aeruginosa on contact lenses, which would be inhibited by iron-dificiency resulted from a certain concentration of lactoferrin and its mixed solution with $FeCl_3$.

Key words: Pseudomonas aeruginosa;　biofilm;　contact lens;　iron ion

当今在全球有 1.25～1.40 亿隐形眼镜的佩戴者[1]，其中，在全球市场中以使用硅水凝胶镜片为隐形眼镜主要镜片类型[2]，然而，这些高分子材料的引入也没有解决由其导致的相关感染和炎症问题，细菌性角膜炎的发病率并没有改变[3-4]。铜绿假单胞菌是佩戴隐形眼镜的患者细菌性角膜炎的主要致病菌[5]，该菌有附着隐形眼镜并随后形成生物膜（BF）的能力。因此，研究预防和延迟铜绿假单胞菌形成生物膜策略显得尤为重要。本课题旨在研究铁离子、生物铁螯合剂乳铁蛋白及其与 $FeCl_3$ 混合溶液对隐形眼镜铜绿假单胞菌生物膜形成的影响。

1　材料与方法

1.1　菌株来源　试验菌株为铜绿假单胞菌（ATCC 9027），由中国医学菌种保藏中心提供。

1.2　仪器与试剂　德国 Sigma 1-15PK 小型台式冷冻离心机；WGP-350 型隔水恒温培养箱（上海安亭科学仪器厂）；MDF U50V 型低温冰箱（日本 Sanyo 公司）；Elx800 酶标仪（美国 Bio-Tek 公司）；岛津 UV-VIS 的分光光度计 UV-2600/2700（日本岛津分析仪器公司）；THZ-320 台式恒温振荡器（上海沪粤明科学仪器有限公司）；牛乳铁蛋白（BLF）购自 Sigma 公司。Na_2HPO_4、KH_2PO_4（广州化学试剂厂）、胰蛋白胨大豆肉汤培养基（TSB，广东环凯微生物科技有限公司）、LB 液体培养基：胰蛋白胨 10 g/L（美国 BD 公司）、MH 培养基（OXID）、PTSB 培养基（美国 BD 公司）、PBS 缓冲液，激光扫描共聚焦显微镜（Randianee2100，美国 Bio-Rad 公司）、12 孔细胞培养板（美国 Costar 公司）、比浊仪（法国 bioMerieux 公司）。

1.3　方法

1.3.1　铜绿假单胞菌生物膜形成模型的构建　硅水凝胶镜片经 PBS 冲洗后，放置于每孔含 4 mL 铜绿假单胞菌菌悬液的 12 孔细胞培养板中 37 ℃培养 2 h，当镜片黏附有铜绿假单胞菌（黏附期）时，取出这些黏附细菌的镜片经 PBS 冲洗后，放置含 1%的 TSB 液体培养基于摇床中 120 r/min 37 ℃分别培养 0、

* 基金项目：深圳市科技计划资助项目（201002131）。　作者简介：张书楠，女，主管检验技师，主要从事感染免疫学研究。　△ 通讯作者，E-mail：whyuchina@gmail.com。

8、16、20、24 h。在 PBS 洗下细菌生物膜转移到 1.5 mL 离心管中进行定量检测，生物膜经超声波 5 min 震荡后，用 PBS 连续稀释接种在 MH 琼脂平板上，37 ℃培养 24 h 计数菌落数。取出盖玻片，用 PBS 漂洗 3 次，去除浮游菌和培养基。

1.3.2　生物被膜定量检测　通过检测细菌在 PVC 培养板表面生长黏附的能力进行定量。取－80 ℃冻存 ATCC 9027 菌株 100 μL 接种于 5 mL 新鲜 LB 培养基，37 ℃震荡培养过夜；将菌液涂布于 LB 平板上，37 ℃孵育约 20 h，挑单克隆接种于新鲜 LB 培养基，37 ℃震荡培养过夜，然后用新鲜 LB 培养基洗涤、悬浮至 OD_{600} 为 0.05，继续培养至对数生长期，用新鲜 LB 培养基稀释至 OD_{600} 为 0.05。等份的 95 μL 细菌悬液被加入 96 孔 PVC 板，再加入 5 μL BLF、$FeCl_3$ 或 BLF＋$FeCl_3$，BLF 和 $FeCl_3$ 终浓度为 0、5、10、15、20、25、30 μmol/L。37 ℃孵育 24 h。每孔 200 μL 无菌纯水洗涤 3 次去除浮游细菌，静置风干。每孔加入 150 μL 0.1%(wt/vol)结晶紫在室温静置 15 min，然后用无菌纯水漂洗 3 次去除剩余结晶紫。每孔加入 200 μL 95%乙醇洗脱生物被膜上的结晶紫，静置 15 min。酶标仪检测 OD_{590}。以酒精做空白对照，以去除背景干扰。

1.3.3　活菌检测　检测牛乳铁蛋白(BLF)的杀菌活性，取－80 ℃冻存 ATCC 9027 菌株 100 μL 接种于 5 mL 新鲜 LB 培养基，37 ℃震荡培养过夜；将菌液涂布于 LB 平板上，37 ℃孵育约 20 h，挑单克隆接种于新鲜 LB 培养基，37 ℃震荡培养过夜，然后用新鲜 LB 培养基洗涤、悬浮至 OD_{600} 为 0.05，继续培养至对数生长期，用新鲜 LB 培养基稀释至 OD_{600} 为 0.05。在 96 孔 U 型底 PVC 培养板，加入以 1 mmol/L 钾磷酸盐缓冲液(PPB，pH 值 7.0)以 2 倍倍比稀释的 BLF、$FeCl_3$、BLF＋$FeCl_3$ 溶液 50 μL，BLF 浓度从 128 μmol/L 开始直至 0.5 μmol/L，$FeCl_3$ 浓度与 BLF 的相同，加入到每一孔，每浓度 3 孔。在每孔中加入50 μL ATCC 9027 细菌悬液，在 37 ℃孵育 1 h。以 PBS 倍比稀释细菌悬液，接种于血液琼脂平板，37 ℃孵育 24 h，计数平板菌落数。以加 PPB 溶液组为对照组，计算活菌数的百分比。

1.3.4　不同浓度 $FeCl_3$ 及其与乳铁蛋白混合液对生物膜的影响　将上述生物膜形成模型建立的 TSB 液体培养基中加入 5～30 μmol/L $FeCl_3$，再分别加入相应浓度生物铁螯合剂乳铁蛋白(缺铁环境)，$FeCl_3$＋乳铁蛋白混合液(部分缺铁环境)，在 37 ℃摇床中培养 24 h，定量检测生物膜上菌落数，评价正常状态、缺铁环境和部分缺铁环境下铜绿假单胞菌生物膜生长情况。

1.3.5　形态学观察　扫描电镜观察正常状态、缺铁环境和部分缺铁环境下铜绿假单胞菌生物膜的微观形态。激光共聚焦扫描显微镜(CSLM)观察隐形眼镜上的铜绿假单胞菌生物膜。将生长有铜绿假单胞菌生物膜的隐形眼镜转移到含荧光染色剂的 12 孔细胞培养板中，在与染料孵化后，放置在一个 35 mm 直径的玻璃培养皿中，在激光共聚焦扫描显微镜下观察。每个生物膜标本逐层扫描，通过随机附带的专业软件处理，得到生物膜的断层扫描图像。

1.4　统计学处理　所有试验每次均做 3 份重复，在不同时间重复试验 3 次，统计学方法所涉及的计量数据，以 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间差异比较采用 t 检验；多组间比较采用方差分析，使用 SPSS Statistics 18.0 软件统计学处理实验数据。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结　　果

2.1　不同时间铜绿假单胞菌黏附结果　硅水凝胶镜片上的铜绿假单胞菌在 TSB 液体培养基中分别培养 0、8、16、20、24 h 后，黏附菌数分别为(9.20±0.75)、(31.0±6.4)、(173±15)、(174±21)、(172±32)×10^3 cfu/piece。硅水凝胶镜片上的铜绿假单胞菌在 TSB 液体培养基中培养 20 h 后细菌的黏附数量最多，培养 20～24 h 细菌的黏附数量基本稳定。

2.2　加入不同浓度 BLF、$FeCl_3$ 及其混合液对铜绿假单胞菌杀菌活性的影响　BLF 具有杀菌活性，且其杀菌活性与浓度呈正相关。低浓度游离铁离子的作用可以增强细菌活性，使生物膜细菌的黏附量增加，32 μmol/L 铁离子的作用最明显，细菌活性为(169.4±3.9)%，游离铁离子浓度超过 64 μmol/L 后，反而抑制细菌的黏附和生物膜形成，显示高浓度 $FeCl_3$ 将对铜绿假单胞菌的生长产生毒性作用。将 BLF 和 $FeCl_3$ 按 1∶1比例混合，形成铁饱和 BLF 混合液，则其抑菌活性减弱，终浓度从 0.50 μmol/L 上升到 128.00 μmol/L 时，活菌数从(92.6±0.86)%下降到(42.8±0.53)%，显示铁饱和 BLF 依然具有抑菌活性。见表 1。

表 1　不同浓度 BLF、$FeCl_3$ 及其混合液对铜绿假单胞菌杀菌活性的影响(%)

浓度(μmol/L)	BLF(缺铁)	$FeCl_3$	BLF＋$FeCl_3$(部分缺铁)
0.50	89.0±0.98	113.6±1.8	92.6±0.86
1.00	83.1±1.43	122.6±2.5	87.9±0.78
2.00	76.9±0.96	131.5±2.8	80.3±0.85
4.00	59.8±1.23	139.9±3.1	76.5±0.79
8.00	52.2±2.21	146.7±3.8	68.4±1.03
16.00	45.6±1.50	157.4±3.2	63.2±0.89
32.00	28.6±1.21	169.4±3.9	59.2±1.02
64.00	16.3±1.43	153.8±3.1	56.3±1.32
128.00	5.7±1.12	140.8±2.9	42.8±0.53

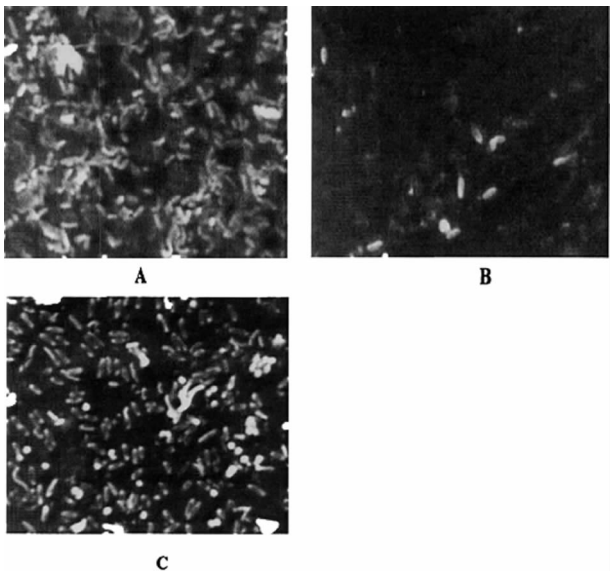
2.3　不同浓度 BLF、$FeCl_3$ 及其混合液对生物被膜形成的影响　BLF(缺铁)可以显著抑制生物被膜形成，铜绿假单胞菌生物膜菌数明显下降低；$FeCl_3$ 可以促进生物膜形成($P<0.01$)，其作用与浓度呈正相关；BLF＋$FeCl_3$(部分缺铁)仍然可以促进生物被膜形成，其作用与浓度呈正相关。缺铁环境下加入游离铁形成部分缺铁环境后，生物膜菌数较缺铁环境下显著增加，见表 2。

表 2　不同浓度 BLF、$FeCl_3$ 及其混合液对生物膜形成的影响(n)

浓度(μmol/L)	BLF(缺铁)	$FeCl_3$	BLF＋$FeCl_3$(部分缺铁)
0	1.36±0.05	1.36±0.05	1.36±0.05
5	1.12±0.03	1.84±0.07	1.59±0.04
10	0.94±0.04	2.55±0.08	2.02±0.06
15	0.83±0.04	2.97±0.09	2.26±0.05
20	0.76±0.05	3.23±0.12	2.52±0.08
25	0.65±0.04	3.76±0.15	3.03±0.12
30	0.51±0.03	4.52±0.23	3.36±0.15

2.4　扫描电镜观察正常状态、缺铁环境和部分缺铁环境下铜绿假单胞菌生物膜的微观形态　正常状态可见铜绿假单胞菌呈球杆状，聚集成团，为浓厚的黏液样物质紧密包绕，生物膜形

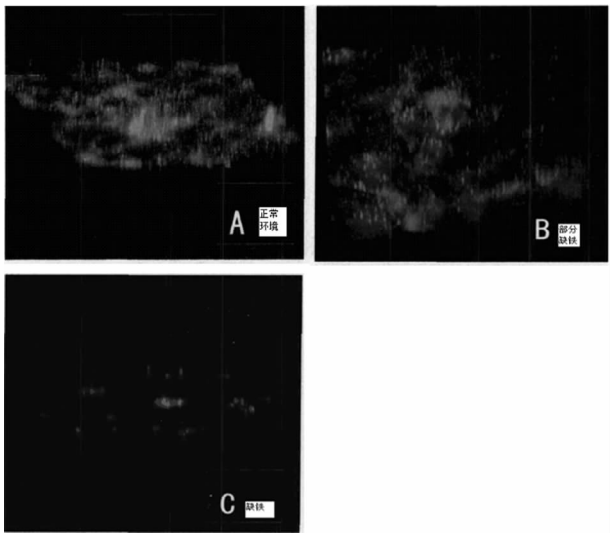
态完整。在 BLF 造成的缺铁状态下，铜绿假单胞菌只能形成散在小菌团；且在缺铁条件下加入少量铁离子后仍存在散在单个菌落，但菌团数量明显增加，见图 1。在乳铁蛋白造成的缺铁环境下，形成的菌团小且稀疏，仅有单个菌体附在硅胶膜表面，连菌团也未能形成，见图 1B。



A：正常环境；B：缺铁环境（加入 0.5 μmol/L 乳铁蛋白）；C：部分缺铁环境（0.5 μmol/L 乳铁蛋白＋0.5 μmol/L $FeCl_3$）。

图 1　不同铁离子浓度下铜绿假单胞菌生物膜的微观形态（×3 500）

2.5　激光共聚焦扫描显微镜（CSLM）观察铁离子对铜绿假单胞菌生物膜形成的影响　CSLM 三维成像结果（图 2）显示，经过 24 h 培养后，正常环境中铜绿假单胞菌形成多数大块状隆起（存活的细菌发出的绿色荧光），为成熟的被膜形态（图 2A）；铜绿假单胞菌在铁离子浓度回升（部分缺铁）时，显示出被膜形成增多的趋势（图 2B）；在乳铁蛋白造成的缺铁环境下，菌落数量急剧减少，几乎呈点状分布（图 2C）。



A：正常环境；B：部分缺铁环境（0.5 μmol/L 乳铁蛋白＋0.5 μmol/L $FeCl_3$）；C：缺铁环境（加入 0.5 μmol/L 乳铁蛋白）。

图 2　CSLM 观察不同铁离子浓度下铜绿假单胞菌生物膜的微观形态

3　讨　　论

乳铁蛋白（LF）主要存在于人和多数哺乳动物乳汁之中，能可逆性地结合铁，在体内可转运铁，又称“乳转铁蛋白”。LF 可以夺走细菌生长所需的铁质而抑制细菌的生长，或破坏细菌细胞膜而具杀死细菌的效果。LF 且可提升免疫力，抑制病毒所引起的感染。牛乳铁蛋白（BLF）可以与细菌竞争铁离子，进而抑制细菌的生长。铜绿假单胞菌是院内感染最常见的病原体，是医院获得性肺炎、呼吸机相关肺炎、医院获得性泌尿道感染、外科创伤感染，烧伤性感染和血液感染的主要病原体[6]。BLF 不仅可以抑制 PAE 生长，还可以抑制生物膜的形成[7]。

目前认为，乳铁蛋白的抑菌作用主要有铁剥夺、膜渗透和酶抑制 3 种机制。乳铁蛋白可以与病原性微生物竞争性地结合 Fe^{3+}，造成微生物生长的缺铁环境，使病原性微生物失去赖以生存的 Fe^{3+}，从而导致病原微生物的死亡[8]。

本研究发现，铜绿假单胞菌在 TSB 液体培养基中培养 20 h后细菌的黏附数量最多，培养 20～24 h 细菌的黏附数量基本稳定。这与谢红梅等[9]报道，固定其他条件不变，培养 8、24、72 h 的生物膜内活菌数与培养时间呈正相关略有不同。BLF 对铜绿假单胞菌具有杀菌活性，能显著抑制铜绿假单胞菌的生长。BLF 的浓度从 0.5 μmol/L 上升到 128.00 μmol/L 时，活菌数从（89.0±0.98）％下降到（5.70±1.12）％，显示其抑菌作用与浓度呈正相关。姚望等[10]报道，乳铁蛋白对牙龈卟啉单胞菌的 MIC 为 5 g/L，对牙龈卟啉单胞菌生长的抑制作用随着其浓度的增加而增强。研究表明，乳铁蛋白能防止铜绿假单胞菌形成生物被膜，而铁饱和的乳铁蛋白却不能防止铜绿假单胞菌形成生物被膜，说明乳铁蛋白抗生物被膜的形成能力与其铁结合能力有关[11]。

低浓度游离铁离子的作用可以增强细菌活性，使生物膜细菌的黏附量增加，32 μmol/L 铁离子的作用最明显，细菌活性为（169.4±3.9）％，游离铁离子浓度超过 64 μmol/L 后，反而抑制细菌的黏附和生物膜形成，显示高浓度 $FeCl_3$ 将对铜绿假单胞菌的生长产生毒性作用。本研究将 BLF 与 Fe^{3+} 按 1∶1 的比例混合，形成铁和 BLF 混合液，其对铜绿假单胞菌的抑制作用虽然弱于 BLF，但是也随着浓度升高而增强。Fe^{3+} 使 BLF 对生物膜的抑制作用减弱，显示 BLF 对生物膜的抑制作用至少部分与其螯合 Fe^{3+} 特性有关。许多细菌和真菌都通过分泌高亲和力螯合剂，特异结合 Fe^{3+}，称为铁载体[12]。PAE PAO1 菌株合成 2 种铁载体：一个是绿脓杆菌螯铁蛋白（Pch），是一种噻唑啉衍生物，它与 Fe^{3+} 螯合的稳定常数仅仅 105 mol^{-1}；另一个是荧光素（Pvd），是一种分子更加复杂的 2,3-二氨基-6,7-羟基喹啉衍生物，由一个荧光发色团和包涵稀有氨基酸 δ-N-羟基鸟氨酸的 2 个残基的辛肽组成，它与 Fe^{3+} 螯合的稳定常数高达 1 032 mol^{-1}。其中，Pvd 在从转铁蛋白中夺取铁的能力强于 Pch。

研究发现铁离子在铜绿假单胞菌生物膜的形成过程中起到至关重要的作用，低浓度游离铁离子的作用可以增强细菌的黏附量，以 32 μmol/L 铁离子的作用最明显。铁饱和 BLF 依然具有抑制作用，可能与 Pvd 对 Fe^{3+} 螯合的稳定常数大于 BLF 有关，Pvd 可以竞争性夺获与 BLF 螯合的 Fe^{3+}，因此，铁饱和 BLF 可能作为铜绿假单胞菌的铁源，从而使 BLF 的作用减弱。乳铁蛋白可阻止铜绿假单胞菌生物膜的形成，加入 0.5 μmol/L 乳铁蛋白后可明显抑制铜绿假单胞菌生物膜的生长。此外，群体感应（QS）是一种细菌细胞间信息传递机制，即细菌通过合成、分泌自诱导分子（AI）作为信号分子，当 AI 浓度随着细菌群体密度达到一定阈值时，启动特异性基因表达。目前已知 QS 能够调控细菌的多种重要功能（下转第 1356 页）

三者血浆 Hcy 水平均与健康对照组(11.32±6.05)μmol/L 之间差异均有统计学意义($P<0.05$),这与目前报道一致[9],发现血 Hcy 水平升高在 ACS 的发生中起着重要的作用,ACS 患者的 Hcy 水平明显高于健康人,因此,Hcy 升高可作为 ACS 的一个预测指标。但是血浆 Hcy 水平在各危险分层之间均无统计学意义($P>0.05$),其水平并没有随着疾病严重程度的增加而升高,反而呈现减低的趋势。近期有研究显示[10],血浆 Hcy 水平的检测结果受多种因素的影响,有主观因素,如患者的遗传缺陷、营养状态、体质、年龄、性别、生活方式等;客观因素也可能影响 Hcy 水平,如体位、温度以及保存的环境等,由于 ACS 患者入院时多为急诊采血,故在血浆 Hcy 检测过程中存在多种可能的影响因素,对检测结果造成了一定程度的影响。还有研究结果显示,约有 30%的 ACS 患者血浆 Hcy 水平会升高,该指标只能作为冠心病的危险因素,其升高仅可以增加患 ACS 的危险性[11]。目前有关血浆 Hcy 水平在 ACS 危险分层中的研究尚无报道,因此,血浆 Hcy 水平现阶段只可作为 ACS 的一个独立的危险因素,对 ACS 患者的疾病严重程度的评估暂无临床应用价值,需进一步探讨。

综上所述,Hcy 和 hs-CRP 的检测在 ACS 的早期诊断中均具有一定参考意义,血浆 hs-CRP 水平可以提示患者疾病的危险程度,有利于临床医师及时对高危患者进行重点监护和及时治疗;Hcy 在 ACS 患者危险分层中的临床应用仍需进一步深入研究。

参考文献

[1] 章结楼,叶山东. 糖尿病视网膜病变危险因素分析[J]. 中国临床保健杂志,2008,11(3):249-251.

[2] 邢艇,袁如玉. 急性冠脉综合征患者 GRACE 评分与血运重建的相互关系[J]. 天津医科大学学报,2010,6:235-237.

[3] 曾迎春,王立军,邹前福. 临床诊断急性心肌梗死 3 个常用"金指标"的价值对比分析[J]. 医学检验杂志,2010,7(5):430-431.

[4] 邓争荣,杨贵琦,陈新义. 同型半胱氨酸与高血压病,冠心病的相关性[J]. 西安交通大学学报:医学版,2002,23(5):469-482.

[5] Tang EW, Wong CK, Herbison P, et al. Global Registry of Acute Coronary Events(GRACE) hospital discharge risk score accurately predicts long-term mortality post acute coronary syndrome[J]. Am Heart J, 2007, 153(1):29-35.

[6] 吴梅君. 超敏 C-反应蛋白、同型半胱氨酸、D-二聚体水平与急性冠脉综合征的关系[J]. 浙江实用医学,2011,16(5):333-334.

[7] 赵云慧,秦毅,刘相星. C-反应蛋白在急性冠脉综合征危险分层中的价值[J]. 中国煤炭工业医学杂志,2009,9(12):1482-1483.

[8] 王琦武,唐建华,黄学成,等. 急性冠脉综合征患者同型半胱氨酸水平及其与炎症关系的探讨[J]. 广西医学,2009,31(2):211-212.

[9] 周晓云,杨海,陈远东,等. 急性冠脉综合征与同型半胱氨酸、超敏 C 反应蛋白的相关性研究[J]. 临床医学,2011,24(6):3452.

[10] 王宇. 血浆同型半胱氨酸临床常用检测方法及影响因素[J]. 检验医学与临床,2010,7(24):2808-2810.

[11] Joseph J, Joseph L, Devi S, et al. Effect of anti-oxidant treatment on hyperhomocysteinemia-induced myocardial fibrosis and diastolic dysfunction[J]. J Heart Lung Transplant, 2008, 27(11):1237-1241.

(收稿日期:2013-02-27)

(上接第 1353 页)

如生物发光、生物膜形成、致病因子的产生等[13]。PAE 生物膜形成和 AmpC 基因诱导表达可能与 las QS 系统发挥的直接或间接调控作用有关[14]。

总之,本研究发现 Fe^{3+} 是铜绿假单胞菌重要的营养元素,Fe^{3+} 的缺乏将严重影响铜绿假单胞菌的生长和生物膜的形成。BLF 对铜绿假单胞菌具有杀菌作用,其作用部分与其螯合 Fe^{3+} 的特性有关。通过研究游离铁及 BLF 对铜绿假单胞菌生物膜形成的影响,探索预防生物膜形成的方法,可为减灭已经形成生物膜的病原体及相关疾病的治疗提供新策略。

参考文献

[1] Key JE. Development of contact lenses and their worldwide use[J]. Eye Contact Lens, 2007, 33(6 Pt 2):343-345.

[2] Woods CA, Jones DA, Jones LW, et al. A seven year survey of the contact lens prescribing habits of Canadian optometrists[J]. Optom Vis Sci, 2007, 84(6):505-510.

[3] Stapleton F, Keay L, Edwards K, et al. The incidence of contact lens-related microbial keratitis in Australia[J]. Ophthalmology, 2008, 115(10):1655-1662.

[4] Szczotka-Flynn L, Diaz-Insua M. Risk of corneal inflammatory events with silicone hydrogel and low Dk hydrogel extended contact lens wear: a meta analysis[J]. Optom Vis Sci, 2007, 84(4):247-256.

[5] Dutta D, Cole N, Willcox M. Factors influencing bacterial adhesion to contact lenses[J]. Molecular Vision, 2012, 18:14-21.

[6] Toutain-Kidd CM, Kadivar SC, Bramante CT, et al. Polysorbate 80 inhibition of Pseudomonas aeruginosa biofilm formation and its cleavage by the secreted lipase LipA[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(1):136-145.

[7] Ammons MC, Ward LS, Fisher ST, et al. In vitro susceptibility of established biofilms composed of a clinical wound isolate of Pseudomonas aeruginosa treated with lactoferrin and xylitol[J]. Int J Antimicrob Agents, 2009, 33(3):230-236.

[8] Tomita M, Bellamy W, Takase M, et al. Potent antibacterial peptides generated by pepsin digestion of bovine lactoferrin[J]. J Dairy Sci, 1991, 74(12):4137-4142.

[9] 谢红梅,胡必杰,周昭彦,等. 铜绿假单胞菌生物膜形成影响因素的研究[J]. 中华医院感染学杂志,2007,17(12):1475-1477.

[10] 姚望,张莉,马宁. 乳铁蛋白对牙龈卟啉单胞菌生长抑制作用研究[J]. 口腔医学研究,2012,28(1):24-26.

[11] Singh PK. Iron sequestration by human lactoferrin stimulates P. aeruginosa surface motility and blocks biofilm formation[J]. Biometals, 2004, 17(3):267-270.

[12] 蔡芸,倪淑欣,梁蓓蓓,等. 铁离子在铜绿假单胞菌生物被膜形成中的作用[J]. 中国临床药理学与治疗学,2007,12(8):861-864.

[13] 王瑶,戴岳,张勇,等. 群体感应信号分子降解基因对铜绿假单胞菌毒力和生物膜形成的影响[J]. 中国科学 C 辑:生命科学,2007,37(2):234-240.

[14] 赵京明,成炜,蒋捍东. 铜绿假单胞菌群体感应系统调控生物膜形成与 AmpC 基因表达的研究[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(9):1724-1727.

(收稿日期:2013-01-16)