

铜绿假单胞菌生物膜的研究热点及可视化分析^{*}

余 甜 时文静 谢 跃 陈晓青 李可可 张兴旺 李军春 陈玉纤 魏莲花

(甘肃中医药大学(宁夏医科大学(甘肃中医药大学 (甘肃省人民医院检验中心 兰州 730000)
兰州 730000) 银川 750004) 兰州 730000)

〔摘要〕 利用 CiteSpace 软件处理铜绿假单胞菌生物膜相关文献数据,对历年文献量、主要发表期刊、合作情况、共被引信息进行可视化分析,系统梳理该领域研究热点、现状、成果等,为相关研究提供参考。

〔关键词〕 铜绿假单胞菌;生物膜;可视化分析;CiteSpace

〔中图分类号〕 R-056 〔文献标识码〕 A 〔DOI〕 10.3969/j.issn.1673-6036.2019.01.015

Study Hotspots and Visualization Analysis of Pseudomonas Aeruginosa Biofilm YU Tian, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; SHI Wenjing, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; XIE Yue, CHEN Xiaoqing, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; LI Keke, ZHANG Xingwang, LI Junchun, CHEN Yuqian, WEI Lianhua, Laboratory Medicine Center, Gansu Provincial Hospital, Lanzhou 730000, China

〔Abstract〕 The paper processes related literature data on pseudomonas aeruginosa biofilm with the CiteSpace software, carries out visualization analysis of literature volume of previous years, periodicals in which they were published, cooperation and co-citation information, systematically arranges and organizes study hotspots, status quo and results in the realm to provide references for related study.

〔Keywords〕 pseudomonas aeruginosa; biofilm; visualization analysis; CiteSpace

1 引言

铜绿假单胞菌(Pseudomonas Aeruginosa, P. Aeruginosa)是革兰阴性菌中常见机会性致病菌,可以引起轻微感染,如中耳炎、外耳炎等;也可导致危重的感染,如菌血症、心内膜炎、脑膜炎、

烧伤感染和脓毒症。铜绿假单胞菌是医院感染主要原因,每年超过 200 万患者感染铜绿假单胞菌,其中约有 90 000 人死亡^[1]。这些感染中多与导管和插管等植入性医疗器械相关,其中尿路感染是医院感染的主要原因^[2]。铜绿假单胞菌是最早开始研究生物膜机制的模式菌株,研究铜绿假单胞菌生物膜的知识演变也可与其他菌的生物膜研究提供方向和思路。科学计量学是信息学的一个分支,定量分析科学文献中的模式以了解研究领域的新兴趋势和知识结构。CiteSpace 通过不同的算法将知识可视化用图谱呈现,揭示某个领域的基础知识、研究热点以及科学演变的过程。通过陈超美博士对软件的不断完善,可以分析文献耦合以及作者、期刊、文献共被

〔修回日期〕 2018-09-07

〔作者简介〕 余甜,硕士研究生,发表论文 2 篇;通讯作者:魏莲花,教授,硕士生导师。

〔基金项目〕 甘肃省科技支撑计划-社会发展计划项目兰州(项目编号:0708NKCA096)。

引情况,不同的节点类型之间还可进行组合式分析,挖掘出文献中隐藏的信息^[3]。

2 资料和方法

2.1 数据来源

在 Web of Science 数据库网站上选择核心数据库后,检索词为 "*Pseudomonas aeruginosa* *" and "biofilm *", 文章类型限定为 "Article", 时间默认为 1984–2017 年,共检索到 8 158 篇文献,检索结果的引文报告显示 H 指数为 186,每项平均指数 29.5,去除自引的被引频次总计 180 974,检索日期为 2018 年 1 月 5 日。将数据在 CiteSpace 软件中进行除重后仅保留 7 966 条记录,通过引用索引扩展数据集,扩展后的数据库共含有 172 580 条记录。

2.2 分析方法和参数设置

软件版本 CiteSpaceV,时间片段设置为 1 年,计算方法是片段内的 Cosine 方法,简化方法 Pathfind,节点类型分别选择科学领域、作者共被引图谱、机构、国家以及基金,不同的节点类型根据情况稍作参数调整并对结果进行可视化。进入可视化界面后,进行聚类分析,提取聚类标签(可从关键词、标题、摘要中提取),选择以年轮树的方式展现可视化结果。结果上方将不同的年份在图谱中用颜色标识出来,年轮的颜色和厚度代表所在年份发文数量、年轮的大小代表总体发表文献数量。另外知识图谱中用星号标注出来的节点是图谱中主要节点或重要节点。

3 结果分析

3.1 历年文献量

历年铜绿假单胞菌生物膜相关文献分布,见图 1。自 1984 年首次出现相关文献后,1984–2005 年文献数量增长较为缓慢,2005–2015 年 10 年来文献量均呈稳步增长,尤其后 5 年增幅较大。中国文

献数量共 619 篇,占 7.58%,排名第 2;而美国发表文献 2 936 篇,占 35.98%,位居第 1;英国 578 篇(7.08%),德国 570 篇(6.98%),加拿大 544 篇(6.67%)。从世界各国发表文献数量来看,美国相关研究开始较早,是铜绿假单胞菌研究领域先驱。我国随着新技术和理论成果发展,开始逐步关注铜绿假单胞菌的研究。总体而言相关研究正处于广受关注的阶段,一方面由于临床关于铜绿假单胞菌生物膜引起的持续感染是许多医院的一大难题,另一方面是因为相关研究前期理论发展以及近年来测序和 FISH 等技术推进课题研究。

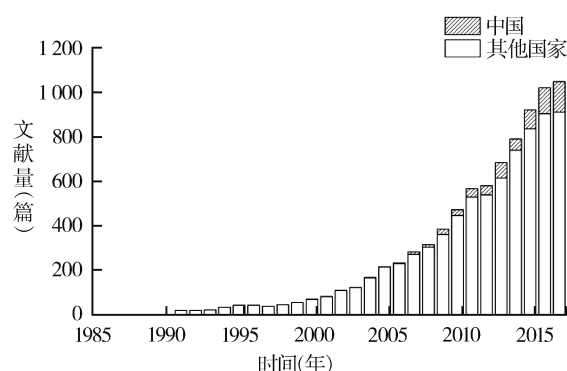


图 1 历年发表的相关文献分布

3.2 主要期刊

将软件的节点类型设置为期刊后,设置筛选参数后进行计量学分析得到期刊共被引图谱,见图 2。图谱中每一个节点表示一种期刊,节点大小设置为依照中心性大小排列,图谱中共显示 336 种期刊和 725 条被引期刊之间的连线。排名前 3 名期刊是《微生物学杂志》、《应用与环境微生物学》以及《美国科学院院报》。其中《微生物学杂志》期刊中心性和半衰期均列为第 1。从发表文献的期刊质量分析,文献影响因子的中位数为 4.3035,引用次数的平均值为 3 565.5,其次如《科学》、《细胞》、《自然》以及《自然》子刊等质量较高杂志近年来均有相关文献刊登。通过对期刊的总体分析,基本确定近年来刊登铜绿假单胞菌生物膜的期刊数量和质量均在高水平上,也正是铜绿假单胞菌生物膜研究进入高速发展的标志。

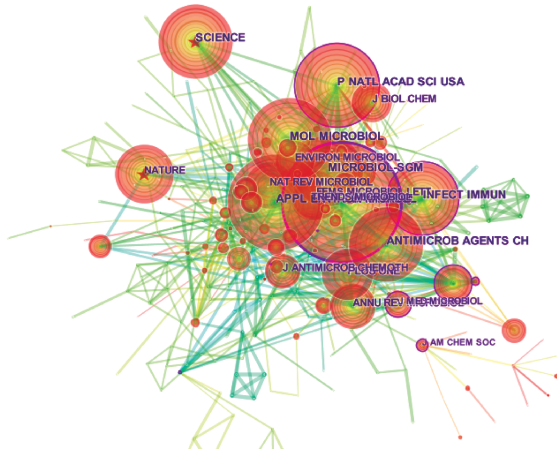


图 2 主要发表期刊

3.3 文献合作情况

铜绿假单胞菌生物膜相关文献合作关系中，分别将节点类型设置为国家、研究机构、作者，从宏观到微观全面了解铜绿假单胞菌生物膜研究领域合作情况，见图 3。图 3 - A 中共包含 68 个国家、315 条国家之间的连线，可以看出美国的文献数量和中心性均保持在较高的水准，主要合作国家分布在加拿大、德国、法国等，中国近年来的

文献数量有所上升但中心度较低，合作国家主要为日本、新加坡、荷兰等。图 3 - B 为研究机构知识图谱，共包含 402 个研究机构、400 条研究机构之间的连线，分析可得合作年限集中于 2010 - 2017 年，主要研究机构是美国几所著名大学以及丹麦、澳大利亚的学校，中国科学院在其中排名第 6。从合作情况来看，机构间的合作比国家合作频繁，其中华盛顿大学与其他国家合作尤为密切。图 3 - C 是作者之间的共被引图谱，设置参数后共筛选出 401 位作者，其中作者间连线共有 876 条，合作时间集中在 2010 年以后。从全世界铜绿假单胞菌生物膜的知识图谱来看，美国机构及学者是该领域的领先者，其引用频次和中心度均在首位，与其他国家合作频繁，合作国家集中在欧洲各国，合作时间集中在 2010 - 2017 年，侧面反映出铜绿假单胞菌生物膜近年来进入文献快速增长的时期。中国相关机构和作者在近几年也关注到铜绿假单胞菌生物膜的研究热点，从 2000 年后文献数量快速增长，从节点的中心度来看，其影响力和文献质量需要提升。整个图谱中国家之间合作较为频繁，将节点类型聚焦到研究机构合作情况有所下降。

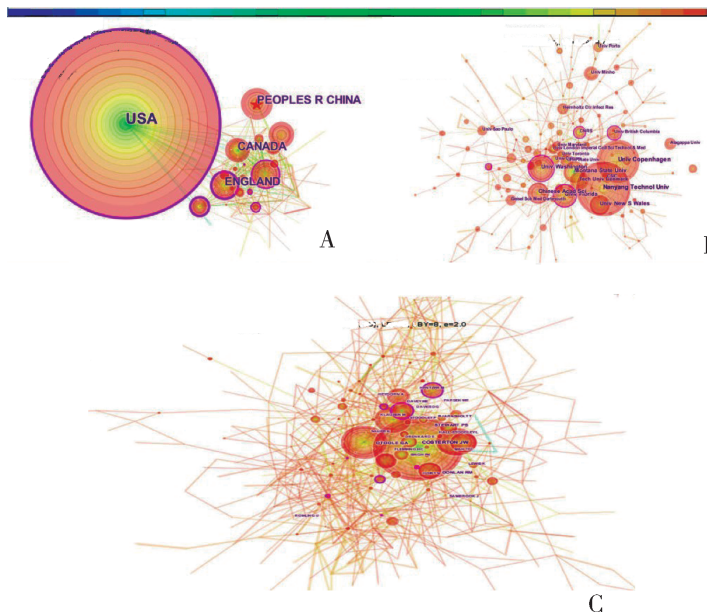


图 3 文献合作情况

注：图 A 是铜绿假单胞菌生物膜相关文献国家合作情况，图 B 为铜绿假单胞菌生物膜机构合作情况，图 C 为铜绿假单胞菌生物膜作者合作情况，图中节点类型分别为国家、机构、作者，节点大小代表文献引用量，连线代表节点之间有互引次数，连线越粗代表节点之间的互引次数越多，其中图中节点和连线之间的颜色均代表文献发表年份或互引发生年份

3.4 文献共被引分析

铜绿假单胞菌生物膜文献其被引聚类知识图谱, 见图 4。共分析文献 7 954 篇及其参考文献 187 212 篇, 经过 CiteSpace 软件聚类分析后共得到 97 个不同大小聚类结果中网络模块度 (modularity) 值为 0.737 2, 表明聚类结果可信, 网络同质性 (silhouette) 平均值为 (0.280 3) 较低, 因此在聚类名称中选择 modularity 值 > 0.7 的聚类以提高聚类可信度。如 *pseudomonas aeruginosa* type vi 所在的聚类 #2 平均年份是 2010 年, 也是所有聚类中最近的年份, 聚类主题是抗菌药物耐药性。通过分析每个聚类中的核心文献可以得出 2007 – 2017 年主要研究内容和成果。聚类 #2 包含许多红色标识的节点印证爆发, 可视化网络显示引用文章标题和摘要中高频术语。通过可视化图谱标记可以将 #0、#2、#7、#5 聚类以及所包含文献的参考文献作为重点以确定 10 年来重点研究成果和新兴研究趋势。#0 的关键词为预防效果, 其中的核心文献是 Hassett DJ 等通过蛋白质组学相关技术帮助研究囊性纤维化患者体内的生物膜缺陷, 以研发相关疫苗组分或药物新靶标^[4]。Haddadin RN 和 Yoon MY 等人证实生物膜形成与抗菌药物的敏感性有密切关系, 为铜绿假单胞菌生物膜是其耐药产生原因提供重要证据^[5-6]。#2 的核心文献是 Winsor GL 等在 2011 年发表的文章, 该文章首次将铜绿假单胞菌数据库技术更新, 将铜绿假单胞菌全基因组及其注释信息与高精度计算预测和人工注释整合在一起, 可即时比较标准菌株和实验菌株之间的基因差异, 这种高精度的分析可以鉴定铜绿假单胞菌的核心基因组和大规模的进事件^[7]。Jones C 等在 2013 年发表的文章提出卡那霉素通过 Gac/Rsm 途径影响铜绿假单胞菌 VI 型分泌基因表达^[8]。此外在 #2 聚类中重点文献主题还包括第 2 信使 c-di-GMP 在生物膜中的影响和应用^[9]。#5 文献色关键词是环状二核苷酸类似物, 以第 2 信使 c-di-GMP 作为活动浮游生物和久坐的生物膜相关细菌“生活方式”之间决定的关键参与者, c-di-GMP 与前所未有的效应组分结合并控制多种目标, 包括转录、酶活性和细胞结构^[10]。聚类文献重点关注第 2 信使的下游靶标 (蛋白质和 RNA)。

其次在于合成 c-di-GMP 及其类似物旨在靶向这些大分子效应物发挥抗菌抑菌作用^[11]。#7 聚类关键词是慢性感染和铜绿假单胞菌生物膜, Malic S 等在 2011 年研究慢性感染和生物膜相互作用, 实验中研究 4 种不同感染菌株单独和混合感染时生物膜量^[12]。Jacobsen JN 等研究铜绿假单胞菌定植的慢性下肢静脉性溃疡患者的体液免疫应答^[13]。#8 聚类中的重点文献 Coyte KZ 等首次设计一种模拟体内环境的多孔模型, 结合实验和模型来显示多孔介质流体动力学可以显著影响细菌竞争和进化的原理^[14]。此外有学者在研究中使用最先进的显微镜技术对生物膜中单个细胞进行实时分辨成像, 单细胞技术可将基因广泛地连接至生物膜的精细结构, 提供评估细胞与细胞异质性以响应外部刺激的途径^[15]。

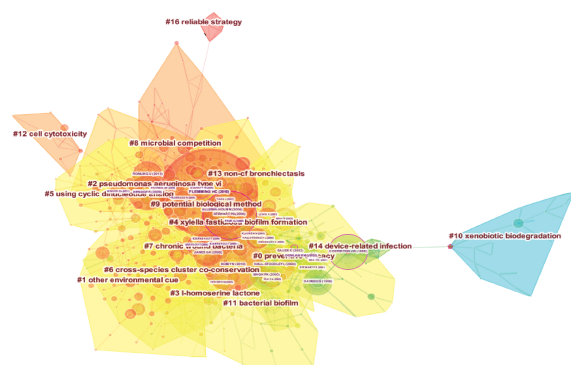


图 4 文献共被引聚类图谱

4 结论

铜绿假单胞菌生物膜产生机制比较复杂, 涉及微生物的致病性和耐药性等多个方面, 给患者治愈带来了极大的困难, 同时也带来了巨大的经济负担。现阶段相关研究进入到快速发展的阶段, 新的研究者进入此领域后很难把握住核心文献、重点文献以及研究前沿。本文利用 CiteSpce 软件处理 Web of Science 发表文献数据, 对铜绿假单胞菌生物膜研究概况、合作情况、关键词、文献共被引信息进行可视化分析, 从而系统和准确地梳理铜绿假单胞菌生物膜研究情况。通过分析可视化图谱的结果, 可以得出以下结论: 铜绿假单胞菌生物膜研究从 1984 年出现首篇相关文献以来, 2000 – 2017 年文献信息

进入快速发展时期,文献数量和质量均在上升。发表文献的相关期刊质量普遍较高,影响因子的中位数在 4.303 5,其中也有《自然》、《科学》、《细胞》等顶级期刊。主要的研究国家有美国、中国、加拿大、法国、德国以及其他欧洲国家,国内发表文献数量在快速增加,但是文献的中心性偏低,质量有待于提高。20 世纪后期激光共聚焦显微镜进入到生物膜研究领域后体外生物膜模型建立、生物膜结构等是铜绿假单胞菌生物膜的研究热点,这些发现证明生物膜不是普通的细菌聚集,而是一个复杂的体系。2005 年前后随着测序、FISH 技术以及分子生物技术学的发展,研究热点从结构转向生物膜的机制,如胞外聚合物、胞外 DNA、菌群、群体感应抑制剂以及纳米银,现阶段生物膜的研究前沿主要集中在生物膜相关基因、胞外 DNA、药物研发以及生物膜内菌群的信号交流等。

参考文献

- 1 Palavutitotai N, Jitmuang A, Tongsai S, et al. Epidemiology and Risk Factors of Extensively Drug - resistant *Pseudomonas Aeruginosa* Infections [J]. Plos One, 2018, 13 (2): e0193431.
- 2 Walker J T, Jhutti A, Parks S, et al. Investigation of Healthcare - acquired Infections Associated with *Pseudomonas Aeruginosa* Biofilms in Taps in Neonatal Units in Northern Ireland [J]. Journal of Hospital Infection, 2014, 86 (1): 16 - 23.
- 3 Chen C. (2017) Science Mapping: a systematic review of the literature [J]. Journal of Data and Information Science, 2017, 2 (2): 1 - 40.
- 4 Hassett D J, Limbach P A, Hennigan R F, et al. Bacterial Biofilms of Importance to Medicine and Bioterrorism: proteomic techniques to identify novel vaccine components and drug targets [J]. Expert Opinion on Biological Therapy, 2003, 3 (8): 1201 - 1207.
- 5 Haddadin R N, Saleh S A, Mahmoud R A, et al. Multiple Drug Resistance and Strength of Attachment to Surfaces in *Pseudomonas Aeruginosa* Isolates [J]. Letters in Applied Microbiology, 2010, 51 (1): 48 - 53.
- 6 Miyoung Y, Kangmu L, Seokhoon J, et al. Heterogeneous

- Virulence Potential and High Antibiotic Resistance of *Pseudomonas Aeruginosa* Strains Isolated from Korean Pneumonia Patients [J]. Journal of Microbiology, 2010, 48 (4): 518 - 525.
- 7 Winsor G L, Lam D K, Fleming L, et al. *Pseudomonas* Genome Database: improved comparative analysis and population genomics capability for *Pseudomonas* genomes [J]. Nucleic Acids Research, 2011, 39 (Database issue): 596 - 600.
 - 8 Jones C, Allsopp L, Horlick J, et al. Subinhibitory Concentration of Kanamycin Induces the *Pseudomonas Aeruginosa* Type VI Secretion System [J]. Plos One, 2013, 8 (11): e81132.
 - 9 Bouffartigues E, Moscoso J A, Duchesne R, et al. The Absence of the *Pseudomonas Aeruginosa* OprF Protein Leads to Increased Biofilm Formation Through Variation in c - di - GMP Level [J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6 (630): 1715 - 1720.
 - 10 Shanahan C A, Strobel S A. The Bacterial Second Messenger C - di - GMP: probing interactions with protein and RNA binding partners using cyclic dinucleotide analogs [J]. Organic & Biomolecular Chemistry, 2012, 10 (46): 9113 - 9129.
 - 11 Ho C L, Koh S L, Chuah M L C, et al. Rational Design of Fluorescent Biosensor for Cyclic di - GMP [J]. Chembiochem, 2011, 12 (18): 2705.
 - 12 Malic S, Hill K E, Playle R, et al. In Vitro Interaction of Chronic Wound Bacteria in Biofilms [J]. Journal of Wound Care, 2011, 20 (12): 574 - 577.
 - 13 Jacobsen J N, Andersen A S, Sonnested M K, et al. Investigating the Humoral Immune Response in Chronic Venous Leg Ulcer Patients Colonised with *Pseudomonas Aeruginosa* [J]. International Wound Journal, 2011, 8 (1): 33 - 43.
 - 14 Coyte K Z, Tabuteau H, Gaffney E A, et al. Microbial Competition in Porous Environments can Select Against Rapid Biofilm Growth [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2017, 114 (2): E161.
 - 15 Yan J, Sharo A G, Stone H A, et al. *Vibrio Cholerae* Biofilm Growth Program and Architecture Revealed by Single - cell Live Imaging [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113 (36): E5337.