

中药协同抗生素抑制金黄色葡萄球菌生物膜形成研究进展*

王瑜豪¹, 于进洋¹, 王圣睿¹, 王啸², 史小涛², 袁彦浩², 谭红略²

1. 河南中医药大学研究生院, 河南 郑州 450046; 2. 河南省洛阳正骨医院, 河南 洛阳 471002

摘要: 细菌生物膜的产生是金黄色葡萄球菌耐药的主要因素, 大大增强了金黄色葡萄球菌对机体的免疫防御和对抗生素的抵抗能力, 而中药及其复方具有多路径、多靶点的特点, 可通过干预金黄色葡萄球菌群体感应系统、全局性调控因子、细胞外基质等方式调控其增殖、聚集和扩散, 使金黄色葡萄球菌无法生成完整的生物膜。同时, 中药具有较好的抑菌效果, 能与抗生素联合使用以应对感染、避免抗生素滥用和细菌耐药, 有效减少耐药菌株的产生, 促进创伤愈合。但目前中药协同抗生素抑制金黄色葡萄球菌生物膜形成的临床研究较少, 亟须加强中药抗金黄色葡萄球菌细胞膜的药理作用研究, 尤其是中药在细胞内的信号传递与调控机制研究, 同时进一步加强纳米材料与中药分子结合的临床试验, 以提高药物使用效率, 降低中药的不良反应, 为解决生物膜引起的难治性金黄色葡萄球菌感染提供新思路。

关键词: 中药; 抗生素; 金黄色葡萄球菌; 细菌生物膜

DOI: 10.16368/j.issn.1674-8999.2024.07.247

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-8999(2024)07-1484-08

Research Progress of TCM Combined with Antibiotics in Inhibiting Staphylococcus Aureus Biofilm Formation

WANG Yuhao¹, YU Jinyang¹, WANG Shengrui¹, WANG Xiao², SHI Xiaotao², YUAN Yanhao², TAN Honglue²

1. Graduate School of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou Henan China 450046; 2. Luoyang Orthopedic - Traumatological Hospital of Henan Province, Luoyang Henan China 471002

Abstract: The production of bacterial biofilm is the main factor of drug resistance of Staphylococcus aureus, which greatly enhances the immune defense to the body and the resistance to antibiotics. Traditional Chinese medicine and its compounds have the characteristics of multi-path and multi-target, which can prevent Staphylococcus aureus from forming complete biofilm by interfering with its quorum-sensing system, global regulatory factors, and extracellular matrix to regulate the proliferation, aggregation and spread of Staphylococcus aureus. At the same time, TCM has a good antibacterial effect, which can be used in combination with antibiotics to deal with infection, avoid antibiotic abuse and bacterial resistance, effectively reduce the generation of drug-resistant strains, and promote wound healing. However, there are few clinical studies on TCM combined with antibiotics in inhibiting staphylococcus aureus biofilm formation. It is urgent to strengthen the pharmacological research of TCM against Staphylococcus aureus cell membrane, especially the TCM effect on signal transduction and regulation mechanism in cells. In addition, the clinical trials of the combination of nanomaterials and TCM molecules should be further strengthened to improve the efficiency of drug use, reduce the adverse reactions, and provide new ideas for solving refractory Staphylococcus aureus infection induced by bacterial biofilm.

Key words: traditional Chinese medicine (TCM); antibiotic; staphylococcus aureus; bacterial biofilm

金黄色葡萄球菌(staphylococcus aureus, SA)不仅存在于医院环境中, 也普遍寄生于高等生物的皮肤

和中空器官中, 同时亦有大量细菌存在于空气和人居环境中。SA自身侵袭力不强, 但是在适宜条件下可诱发化脓性感染, 使滋生的细菌进入血液, 多见于慢性疾病患者, 尤其是长期消耗导致营养不良、免

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(U1804189)

疫功能低下,或严重创伤、烧伤、手术、昏迷卧床的患者。SA易产生耐药性,对过去敏感的常用抗生素产生耐药愈发普遍,根本因为其生物被膜的形成使感染易反复,短期内难以得到有效的治疗。目前,对该疾病的治疗已成为临床研究的重点和难点。

1 SA生物膜机理

SA生物膜的形成是一个不断循环交替、周而复始的动力学变化过程,其生长时间可分为初始黏附、趋于聚集、逐渐成熟、降解和扩散4个时期^[1-2]。SA往往附着于暴露的导管、内置物和生物材料表层,此过程即细菌的初期附着阶段。于细胞表面附着后,SA会产生胞外多糖,并在细胞内建立生物膜结构。此时,成熟的生物薄膜已经具备了完整的营养物质、传输通道和运输系统,而成熟的细胞膜在细胞外扩散的同时,细胞外水解酶将其分解,使其脱离细胞表面,从而形成一种漂浮微生物,定植于目标细胞的表层,继续附着、聚集、增殖、再生,形成新的SA生物膜^[2-3]。

与其他常见致病菌相比,SA最外面有生物膜这道天然保护屏障,可防止抗生素或抗菌药物的侵袭和抵抗。有着保护屏障的膜内细菌具有更强的耐药性,较其他微生物的对抗性更高,比普通浮游菌高10~1 000倍^[4-5]。SA生物膜的形成是多种因素相互作用的结果,其形成机制尚未明确,对其形成机制的探索有助于筛选抗SA感染药物,提高药物利用率,且对有效遏制葡萄球菌生物膜的生成具有重要意义^[6]。目前,相关研究认为,对SA生物膜的形成发挥调控作用的因素主要有群体感应系统、全局性调控因子、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)等^[7]。

1.1 群体感应系统 群体感应系统是指在微生物体内,细菌根据某种特定信号分子的浓度监测自身及其他微生物数量的变化,当信号分子浓度达到一定阈值后,能在微生物体内激活相关基因的表达,从而启动相应的调节机制,调节微生物对外界环境的适应能力。群体感应系统是一种细胞间的信息传递机制,在细菌的生长、扩散过程中起着关键作用^[8-9],可以调整生物体内的营养物质、代谢产物和废弃物,并在一定程度上控制微生物的群落,以适应外部环境,增强生存能力。相关基础研究表明,群体感应在细菌生物膜的生成中发挥着关键的调节功能,不同种类的菌株可以引起菌群间反应,从而诱发生物膜的形成。在此基础上,可通过附属基因调节子(accessory gene regulator, Agr)进行细胞间的群体

反应。Agr体系包含PⅡ、PⅢ两种启动子^[10-12],其中,PⅡ的4个开放阅读框为AgrA、AgrB、AgrC、AgrD,其中AgrD和AgrB分别参与了信号分子自诱导肽(autoinducing peptide, AIP)的生成和处理,AIP在体外释放,当其含量到达某个临界点后,与受体组氨酸蛋白激酶AgrC结合,并发生连接反应,AgrC自动磷酸化后将磷酸基团传递给反应调控子AgrA;激活的AgrA与PⅡ、PⅢ基因结合,激发PⅡ、PⅢ的表达,而PⅡ的表达能放大该通路中的信号转导,大量AIP产生,使SA发生聚集,从而介导生物膜的形成^[13-14]。

Agr系统与SA生物膜及致病因素的产生密切相关^[15-16],筛选安全有效的群感效应抑制剂是阻止SA及其生物膜生长的关键。抑制细菌群体感应的途径主要有降解胞外或细胞膜上的信号分子、阻断信号分子作用于受体蛋白质以及抑制胞内信号分子合成等。

1.2 全局性调控因子 全局调控因子与SA生物膜的生成密切相关,包括葡萄球菌辅助调节子A(staphylococcal accessory regulator A, SarA)和转录因子SigB(Sigma B),其中,SarA由P1、P2、P3三个启动子调节^[17],可调节数百种不同细菌的基因,是目前已知的主要毒力调控系统,可一定程度上调节初始阶段的结合蛋白,并能加速或阻止相关毒素的产生^[18]。SarA基因的表达可明显促进SA生物膜的生成,SarA基因表达的降低对SA生物膜的生长具有显著影响。实验研究表明,SarA突变的SA生物膜生成率降低,其作用机理在于SarA能够通过多种基因的转录实现多靶点调节^[19-20],而非依靠单一的作用机理实现。SarA是细胞间黏附素(inter cellular adhesion, ica)的主要调控体系,其基因变异可导致SarA蛋白表达下降,对ica产生一定影响,从而抑制生物膜的生成^[21]。当然,SarA也可以通过调节细胞内与细胞膜有关的蛋白质的产生,从而提高生物膜的活性。SigB是细菌对外部环境影响产生应答的重要调节因素,也是其致病基因调控的主要因子之一^[22]。SigB对SA生物膜的早期附着具有一定的调节功能^[23],同时可以降低Agr体系中RNAIII水平,抑制胞外蛋白酶活力,进而促进生物膜的形成^[24]。

1.3 细胞外基质 细胞外基质是SA生物膜的重要结构,由细胞外多糖、脂质、环境DNA(envi ronmental DNA, eDNA)等构成,以胞外多糖、蛋白质等成分居多^[25-26]。在细菌的培养和成熟过程中,SA产生大量ECM,ECM数量随生物膜的形成和发育逐

渐增多,对细菌膜的发育及结构影响较大。ECM 是一种阻断外界干扰的物理防护,可有效防止外部抗生素及有毒成分进入膜内,从而增强细菌在复杂环境下的耐药性。icaADBC 通过控制基因的转录,所生成的多糖基团是由 SA 分泌的胞外多糖^[27-29],能够调节细胞间黏附,在生物膜的初始阶段发挥关键作用。临床分离和鉴别显示,ica 型阳性细菌对其抗性明显大于阴性,说明其在生物膜的生成中发挥关键作用。另外,eDNA 还参与了细菌的细胞分泌和细胞溶菌的分泌,促进细胞生长。eDNA 可以与蛋白结合,从而构成类似于纤维网的网络,对生物膜的稳定至关重要。研究发现,对 ECM 细胞生长的控制可有效阻止 ECM 的形成^[30-31],使完整的生物膜发生断裂和分解,进而导致细胞内的细胞膜发生断裂,逆转其耐药性。

2 中药对 SA 生物膜的影响

中药是一种具有多重作用、多靶点的天然药物,大量研究表明,中药及其复方可通过干预 SA 群体感应系统、全局性调控因子、细胞外基质等方式调控 SA 的增殖、聚集和扩散,使其不能生成完整的生物膜^[32]。

2.1 单味中药 黄芩具有清热燥湿、排毒等功效,可有效阻止 SA 生物膜的生成,2 048 mg · L⁻¹ 的黄芩水煎溶液可使 SA 生物膜和活菌数量显著下降^[33]。苦参总碱是苦参的主要有效成分之一,苦参具有抗炎、抗病毒的作用,可作为抗菌药物防治感染性疾病。王李俊等^[34]在离体条件下进行 SA 生物膜实验,研究苦参总碱对生物膜的抑制作用,并探讨其机理,发现苦参总碱下调了 2 种表皮葡萄球菌氧化应激响应基因 gpxA - 2 和 serp2195。隐丹参酮为丹参的主要活性组分,隐丹参酮组分对浮游的 SA 具有一定抑制作用。易辉等^[35]以万古霉素作为对照组,研究了在亚抑菌浓度下隐丹参酮对 SA 生物膜的影响,发现隐丹参酮对 SA 的最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 约为万古霉素的两倍;MIC 条件下,万古霉素和隐丹参酮对 SA 生物膜基质量、细菌代谢都有明显的影响,在药物相同的亚抑菌浓度下,隐丹参酮对 SA 生物膜的抑制作用优于万古霉素。熊果酸作为一种常见的抗炎活性物质,多见于野木瓜、熊果、夏枯草等天然中草药中,具有抗菌、抗炎、抗菌之功效^[36]。李洋等^[37]实验表明,在 MIC 为 0.27 mmol · L⁻¹ 时,熊果酸对 SA 生物膜的早期形成有一定的抑制作用,主要是对胞外多糖的合成有抑制作用,并通过与左氧氟沙星的联合

从而加强对 SA 细胞膜形成的抑制,破坏生物膜结构的完整性,增加抗生素对膜的渗透性。和厚朴酚是从传统药材姜厚朴中提炼出的有效成分,具有抗菌、抗炎症功效,Gu 等^[38]探讨了和厚朴酚对 SA 生长期及成熟期的抑菌机理,发现和厚朴酚能有效抑制生物膜生长期及成熟期的生长。此外,和厚朴酚能够通过调控细胞内 agrA 的表达从而抑制生物膜的生成。盐肤木,亦名五倍子,其叶子中的酒精萃取液具有抗炎、抗菌的作用。You 等^[39]通过实验研究盐肤木乙醇提液对 SA 生物膜的活性,发现 MIC 大于 0.05 g · L⁻¹ 时,盐肤木乙醇提取液可显著清除 SA 生物膜,调控 agrA、SarA 等细胞的活性。

此外,还有不少研究对中药及其提取物干预 SA 生物膜的剂量、浓度及联合用药进行了一定的探讨。纠敏等^[40]对冬凌草浸膏在不同加入时间、不同浓度条件下对 SA 生物膜的抑制效果进行实验研究,发现其对 SA 的抑菌效果与加入时间呈反比,随浓度的增加而增大。冯韬等^[41]研究了 6 味中药水提液和醇提液对 SA 生物膜的作用,发现达到一定浓度时,蒲公英、板蓝根及白公翁醇提液对 SA 生物膜的抑制作用不亚于常用的 β - 内酰胺类抗菌药物,而在低浓度下 (1/16MIC 或 1/32 MIC),部分中药提取物却可促进细胞生物膜的形成。崔新洁等^[42]观察了 24 种中草药水提取物的抗真菌活性,发现连翘、蒲公英、藿香、蜂房、毛冬青、高良姜、牡丹皮、苦参、吴茱萸、姜黄、附子、菟丝子、肉豆蔻、金银花、肉桂、冰片、当归、杜仲、鱼腥草及天冬等 20 种药材的水提液对 SA 在最低抑菌浓度为 200 g · L⁻¹ 条件下,对 SA 的抑制效果较弱;加入五倍子、苏木、黄芩、丹参水提取物后对 SA 的最低抑菌浓度均有显著影响。霍佳楠等^[43]分析不同浓度蒲公英水提取物对 SA 生物膜的影响,结果表明,1/2 MIC、1MIC 和 2MIC 的蒲公英水提取物对 SA 生物膜具有显著的杀灭效果,且随着含量的增加,杀灭效果也随之增强。喻华英等^[44]初步研究甘草浸膏对 SA 生物膜的作用,发现低浓度时,甘草浸膏促进生物膜生长的作用较好,高密度时可对其进行抑制。朱明等^[45]就新疆黑蜂胶浸膏对 SA 的作用进行了实验,发现在 MIC 为 6.25 g · L⁻¹ 时,其对 SA 生物膜具有显著的抑制作用,表明高含量的黑蜂胶可对 SA 的生物膜造成损伤,其抗菌力与一般的青霉素相当。

近年来,已有大量中药单体的抗菌活性被挖掘,在探索生物膜机理的过程中,中药单体及其有效成分相关研究已取得了一些成绩,为临床应用提供了一定的基础。

2.2 中药复方 中药复方是在中医辨证论治的基础上根据药物性能及相互关系配伍而成的,由主药、辅药、佐药以及引药组成,另加一味药以调和各种药物的性味,以发挥协同效应,达到最佳疗效。中药抑制 SA 生物膜的相关实验研究多为复方,周芳芳等^[46]通过黄连解毒汤联合抗生素的实验研究发现,黄连解毒汤联合苯唑西林后,对 15 株耐苯唑西林的 SA 具有显著抑菌效果,其中 11 株为协同作用,4 株为相加作用;联合庆大霉素后,对 11 株耐庆大霉素的 SA 中有 3 株为协同作用、6 株为相加作用、2 株无关;联合左氧氟沙星后,对 12 株耐左氧氟沙星的 SA 中有 1 株为协同作用、11 株为相加作用;联合克林霉素后,对 11 株耐克林霉素的 SA 中有 9 株为协同作用、1 株无关、1 株为拮抗作用,表明黄连解毒汤对 SA 有显著的抑菌效果。黄连解毒汤联合临床 4 种常用抗生素表现出显著的协同抑菌效果,根据部分抑菌浓度值,其联合抑菌作用由强到弱依次为苯唑西林、左氧氟沙星、庆大霉素、克林霉素。邢亚君^[47]研究认为,痰热清可多靶点协同抑制 SA 的分裂,增加分裂蛋白 Z(filamenting temperature – sensitive mutant Z, FtsZ)的含量,同时抑制锚定蛋白 FtsA(filamenting temperature – sensitive mutant A, FtsA)和 Z 环稳定蛋白的合成,使 SA 无法形成成熟分裂隔膜,细丝状散在分布于膜内和膜上,细菌分裂的进程受到阻滞。同时,痰热清可抑制肽聚糖的水解,导致即使形成成熟隔膜的细菌也无法完全分离,形成多胞体,使得分裂线的位置产生偏移。长时间无法分裂,可能造成细菌表面结构粗糙,菌体长度增大。刘月等^[48]通过建立纸片扩散(kirby – bauer, K – B)法研究不同煎煮时间银翘散水煎液的抑菌活性,筛选抑菌作用最强的水煎液,结果除浸泡 30 min 的银翘散水煎液无抑菌活性外,其余水煎液对 SA 均有一定的抑制作用,以煎煮 30 min 水煎液的抑菌作用最强。研究发现,中药血竭、五倍子及其复方制剂可诱导细菌生物膜凋亡,减少细菌生物膜内细菌数量,降低生物膜细菌黏附性,增强细菌对抗生素的敏感性,改善糖尿病足创面细菌生物膜的耐药性,促进创面愈合^[49]。

3 中药与抗生素联用对 SA 生物膜的影响

近年来,随着研究的不断深入,中药与抗生素联用应对 SA 及其生物膜的协同方案被广泛认可,成为新的研究方向。现有研究已从中药单体或复方中分离出大量有效成分,并与抗生素结合,在一定范围内对细菌生长具有抑制作用^[50]。

3.1 中药单体联合抗生素 多种中药单体具有抗菌效果,与抗生素联合杀菌效果明显,可一定程度上减少耐药,刺激抗菌药物活性。黄芩苷对 SA 生物膜有一定的损伤,与万古霉素、左氧氟沙星联合使用可显著提高其抗菌效果,主要是由于某些菌体的收缩和生物膜的三维结构被破坏^[51]。苦参及其他大豆中的苦参素、鱼腥草钠与红霉素联用可显著降低 SA 和标准菌,但其渗透能力不同,对相同种类细菌的杀菌效果存在差异^[52]。现有实验研究表明,不同类型的亚田基精胺对 SA 具有较高的敏感度,其在细胞内的化学成分及结构存在差异^[53]。五倍子具有收敛湿敛疮、止血的效果,李云超等^[54]利用激光共聚焦和特异的荧光标记法对 SA 表面生物膜进行研究,发现单体五倍子水煎液对钛表面 SA 生物膜的早期形成及生物膜活性均有抑制作用,可破坏其结构的完整性,同时可协同克林霉素去除 SA 在钛表面的生物膜。穆海霞等^[55]通过对五倍子、阿奇霉素进行体外抗菌实验发现,在 1MIC 的条件下,五倍子对 SA 生物膜没有影响,而与 1/4 MIC 阿奇霉素配合使用则能显著降低细菌的附着,破坏其生物膜。中药黄连为清热解毒药物的代表,临床上可用于牛皮癣、湿疮、流脓等 SA 感染性疾病的治疗。李奕铮等^[56]研究黄连水煎剂对体外建立的 SA 生物膜的作用,及联合苯唑西林钠对 SA 的作用,结果表明黄连水煎液能有效抑制 SA 生物膜的形成,联合苯唑西林钠可有效降低抗生素的最低抑菌浓度,与苯唑西林钠具有显著的协同效应。中药诃子具有敛肺止咳、降火利咽的作用,李永慧等^[57]联合诃子水提液与红霉素进行体外抗菌实验,结果表明诃子水提物对浮游态和生物被膜态 SA 的形成具有抑制作用,且与红霉素联用可增强其对 SA 的抑制和杀灭作用。

3.2 中药联合抗生素对 MRSA 的影响 甲氧西林的有效合成成功控制了耐青霉素 SA 的临床感染,但仅两年时间,临床上便分离出耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin – resistant staphylococcus aureus, MRSA),表明耐药问题已非常严重。中医药领域对 MRSA 已有不少前沿研究,如采用微量棋盘稀释法和动态时间杀灭实验评估中药的协同作用,发现 MRSA 对抗生素的耐药性可被多种中药化合物逆转,如桑根可与抗菌剂协同逆转 MRSA,对氨基糖苷类药物的耐药性有一定作用^[58]。鲁茹等^[59]提取 33 种常用抗菌中药制备提取物,作用于临床分离的 MRSA 菌株,发现与白及醇作用后能够增加 MRSA 对苯唑西林的敏感性,表明白及醇与抗生素配伍使

用有望恢复抗生素的杀菌效力。杨露等^[60]观察麻黄附子细辛汤与头孢唑林联合应用于 MRSA 时对头孢唑林的增效作用,表明麻黄附子细辛汤联合抗生素具有更明显的抗菌效果,可能与激活耐药细菌生长有关。曾春晖等^[61]研究广西藤茶总黄酮单用及与 β -内酰胺类抗菌药物联用对 SA、MRSA、肺炎克雷白杆菌、乙型副伤寒杆菌等临床常见细菌的抗菌活性,发现单用广西藤茶总黄酮对 MRSA 的最低抑菌浓度为 $77.50\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,联合抗菌药物时,广西藤茶总黄酮与多种抗生素表现出协同作用,可知广西藤茶总黄酮与 β -内酰胺类抗菌药物合用对 MRSA 具有较强的体外抗菌活性。张新娟等^[62]采用倍比稀释法测定药物最小抑菌浓度,发现木犀草素对受试 MRSA 菌株均有抑制作用,最小抑菌浓度为 $32\sim128\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;木犀草素与某些喹诺酮类和氨基糖苷类抗菌药联用时,部分抑菌浓度指数 ≤ 0.5 ,呈现协同抑菌作用,且联用时的抗菌药用量较单用时明显减少,可见木犀草素具有良好的抗 MRSA 活性,且与喹诺酮类和氨基糖苷类抗菌药联用具有协同抑菌作用。黄之镨等^[63]研究《滇南本草》收录的24种中药材对 MRSA 等17株病原菌的体外抗菌活性,初步探讨它们联合用药的抑菌效果,结果发现,18种中药表现出不同程度的抑菌活性,其中,石榴皮、黄芩、金银花、旋复花、丹参抑菌效果显著,石榴皮对所选所有指示菌均有抑制作用,最低药物浓度多为 $3.125\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,联合用药后大部分表现出协同抑菌效果,丹参与黄芩联用抗菌范围最广,抗菌效果最强。陈晓坚等^[64]探讨复方四黄外洗液(大黄、黄连、黄芩、黄柏、虎杖、连翘)对 MRSA 的抑菌作用及其机制,采用 K-B 法测定不同浓度的复方四黄外洗液体外抑制 MRSA 生长的情况,检测不同浓度复方四黄外洗液作用下 MRSA 菌液中碱性磷酸酶(ALP)的活性及钾离子、镁离子的渗漏情况,结果发现复方四黄外洗液在较低浓度即可抑制 MRSA 在琼脂平板上的生长,高浓度时抑菌圈直径可达15 mm;复方四黄外洗液可以导致受试 MRSA 菌液 ALP、钾离子、镁离子检出量的改变,表明复方四黄外洗液对 MRSA 有显著的抑制作用,可能与影响菌体细胞壁及细胞膜的通透性有关。鲁婧等^[65]研究发现,黄芩射干汤水提取液($1\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$)对临床分离 MRSA 菌株有显著抑菌作用,在 PBP2a 蛋白的活性位点,相对分值 >0.8 的共计164个,其中可进行后期质量控制研究的化合物有16个,表明黄芩射干汤可能是通过影响 PBP2a 发挥对 MRSA 的抑菌作用。梁晓谊等^[66]实验发现黄连液(黄连、黄柏、黄

芩、栀子)及黄连液联合麝香应用于糖尿病足产 ESBLs 大肠埃希菌和 MRSA 时,具有显著的抑菌作用。

4 小结和展望

SA 是一种能够导致多种疾病和传染性疾病的病菌,对 SA 生物膜的处理是目前临床研究的难点。近年来,国内外学者对 SA 的生长机制及抗药机制进行了较为系统的研究,但均着重于生物膜的抗药性研究。现有研究表明,影响 SA 生物膜的主要因子是群体感应系统、全局性调控因子和细胞外基质。其中,群体感应器是细胞间的一种信息传递系统,在 SA 生物膜的生成及扩散过程中发挥着至关重要的作用,可以调节生物膜三维立体结构中的营养物质、代谢产物和废物的转运,主要是通过调节 SA 的群体行为响应外部环境变化,从而提高微生物在恶劣生态环境中的生存能力。作为 SA 的重要毒力基因表达调节体系,它可以通过合成或抑制细胞内的结合蛋白而提高或抑制其产生。ECM 是葡萄球菌生物膜的主要组成成分,可有效阻止外部抗生素及有毒物质的进入,从而增强其对复杂环境的抗逆性。多种中草药含有大量群体感应抑制剂,可抑制群体感应系统,下调相关基因的表达,使生物膜的形成受限^[67]。亦有研究表明,一些中药有效成分能够作用于全局调控因子,阻碍生物膜的生成^[68],抑制胞外多糖、脂质、环境 DNA 和表面蛋白结合,导致 ECM 这一生物膜的重要组成部分难以合成,破坏 SA 生物膜物理屏障^[69]。由此可见,中药能够干预细菌生物膜形成的3个主要调控因素。

SA 的耐药问题不仅表现在临床治疗上,在药物的开发方面有很大限制。目前,抗菌药物的研究虽已取得较大的进步,但新药研发仍需大量的人力、物力、财力和时间,且多数抗生素使用后会产生抗药性,尤其对 SA 具有很强的抗性;甚至许多耐药品种会增加研发成本,提高研发难度。因此,为有效抵御由 SA 引发的各种传染性疾病,亟须发掘新的方法以降低其耐药性。中医讲究整体观念和辨证论治,临床疗效已被证实,尤其是中药复方治疗各种感染性疾病疗效显著^[70]。与抗生素相比,许多中药有很好的抑菌效果^[71-72],具有多成分、多路径、多环节、多靶点等优势,很大程度上能够与抗生素联合使用,已逐渐成为应对感染、避免抗生素滥用和细菌耐药的重要途径,可有效降低耐药菌株的产生,促进创伤愈合^[73]。

但不容忽视的是,中药抑菌效果较差,临床试验

研究较少,亟须加强中药抗 SA 细胞膜的药理作用研究,尤其是中药在细胞内的信号传递与调控机制的相关研究。此外,纳米材料与中药进行分子结合的试验不断发展,有望提高药物的使用效率,降低中药的不良反应。同时,生命科学、化学生物学、材料科学的发展,为解决生物膜对多种药物产生的耐药问题提供了更多可能性^[74]。

参考文献:

[1] RAVICHANDRAN S, AVATAPALLI S, NARASIMHAN Y, et al. "Targeting" the search: an upgraded structural and functional repository of antimicrobial peptides for biofilm studies (B - AMP v2.0) with a focus on biofilm protein targets[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12:1020391.

[2] FORSON A M, ROSMAN C W K, VAN KOOTEN T G, et al. Micrococcal nuclease stimulates *Staphylococcus aureus* biofilm formation in a murine implant infection model[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11:799845.

[3] SUGIMOTO S, SATO F, MIYAKAWA R, et al. Broad impact of extracellular DNA on biofilm formation by clinically isolated Methicillin - resistant and - sensitive strains of *Staphylococcus aureus*[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):2254.

[4] YONEMOTO K, CHIBA A, SUGIMOTO S, et al. Redundant and distinct roles of secreted protein eap and cell wall - anchored protein SasG in biofilm formation and pathogenicity of *Staphylococcus aureus*[J]. *Infect Immun*, 2019, 87(4):e00894 - e00818.

[5] SHUKLA S K, RAO T S. *Staphylococcus aureus* biofilm removal by targeting biofilm - associated extracellular proteins [J]. *Indian Journal of Medical Research*, 2017, 146(7):1 - 8.

[6] DONG X L, OVERTON C M, TANG Y A, et al. Visible light - activated carbon dots for inhibiting biofilm formation and inactivating biofilm - associated bacterial cells[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9:786077.

[7] YU H, LIU Y, YANG F W, et al. Combined an acoustic pressure simulation of ultrasonic radiation and experimental studies to evaluate control efficacy of high - intensity ultrasound against *Staphylococcus aureus* biofilm [J]. *Ultrason Sonochem*, 2021, 79:105764.

[8] RAJIVGANDHI G N, MARUTHUPANDY M, LI J L, et al. Photocatalytic reduction and anti - bacterial activity of biosynthesized silver nanoparticles against multi drug resistant *Staphylococcus saprophyticus* BDUMS 5 (MN310601) [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, 114:111024.

[9] ROY R, TIWARI M, DONELLI G, et al. Strategies for combating bacterial biofilms: a focus on anti - biofilm agents and their mechanisms of action [J]. *Virulence*, 2018, 9(1):

522 - 554.

[10] CHOUDHARY M, SHRIVASTAVA R, VASHISTT J. Eugenol and geraniol impede *Csu - pilus* assembly and evades multidrug - resistant *Acinetobacter baumannii* biofilms: In - vitro and in - silico evidence [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 636(Pt 2):10 - 17.

[11] SIALA W, RODRIGUEZ - VILLALOBOS H, FERNANDES P, et al. Activities of combinations of antistaphylococcal antibiotics with fusidic acid against staphylococcal biofilms in in vitro static and dynamic models [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018, 62(7):e00598 - e00518.

[12] WEI B Y, ZHANG T, WANG P Y, et al. Anti - infective therapy using species - specific activators of *Staphylococcus aureus* ClpP [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):6909.

[13] KISAKA S, MAKUMBI F E, MAJALIJA S, et al. The potential for the double risk of rabies and antimicrobial resistance in a high rabies endemic setting: detection of antibiotic resistance in bacterial isolates from infected dog bite wounds in Uganda [J]. *Antimicrob Resist Infect Control*, 2022, 11(1):142.

[14] ERSOY S C, OTMISHI M, MILAN V T, et al. Scope and predictive genetic/phenotypic signatures of bicarbonate (NaHCO_3) responsiveness and β - lactam sensitization in methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 64(5):e02445 - e02419.

[15] MCALLISTER T A, WANG Y X, DIARRA M S, et al. Challenges of a one - health approach to the development of alternatives to antibiotics [J]. *Anim Front*, 2018, 8(2):10 - 20.

[16] CORSELLO S M, BITTKER J A, LIU Z H, et al. The Drug Repurposing Hub: a next - generation drug library and information resource [J]. *Nat Med*, 2017, 23(4):405 - 408.

[17] VAN DEN DRIESSCHE F, BRACKMAN G, SWIMBERGHE R, et al. Screening a repurposing library for potentiators of antibiotics against *Staphylococcus aureus* biofilms [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2017, 49(3):315 - 320.

[18] GWISAI T, HOLLINGSWORTH N R, COWLES S, et al. Repurposing niclosamide as a versatile antimicrobial surface coating against device - associated, hospital - acquired bacterial infections [J]. *Biomed Mater*, 2017, 12(4):045010.

[19] BART G, ZELLER V, KERROUMI Y, et al. Minocycline combined with vancomycin for the treatment of methicillin - resistant coagulase - negative staphylococcal prosthetic joint infection managed with exchange arthroplasty [J]. *J Bone Jt Infect*, 2020, 5(3):110 - 117.

[20] DOMBACH J L, QUINTANA J L J, DETWEILER C S. Staphylococcal bacterial persister cells, biofilms, and intra

cellular infection are disrupted by JD1, a membrane – damaging small molecule[J]. *mBio*, 2021, 12(5) : e0180121.

[21] RICHTER K. Tackling superbugs in their slime castles: innovative approaches against antimicrobial – resistant biofilm infections[J]. *Microbiol Aust*, 2019; 165 – 168.

[22] ALVAREZ C, SULIMAN S, ALMARHOUMI R, et al. Regulatory T cell phenotype and anti – osteoclastogenic function in experimental periodontitis[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1) : 19018.

[23] XIONG Y Q, ESTELLES A, LI L, et al. A human Biofilm – Disrupting monoclonal antibody potentiates antibiotic efficacy in rodent models of both *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter baumannii* infections[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(10) : e00904 – e00917.

[24] LEE J, CARDA – DIEGUEZ M, IEMYT M, et al. Functional mgrA influences genetic changes within a *Staphylococcus aureus* cell population over time[J]. *J Bacteriol*, 2022, 204(10) : e0013822.

[25] LEE K, ZHANG L Y, YI Y, et al. Rupture of lipid membranes induced by amphiphilic Janus nanoparticles [J]. *ACS Nano*, 2018, 12(4) : 3646 – 3657.

[26] MIHU M R, CABRAL V, PATTABHI R, et al. Sustained nitric oxide – releasing nanoparticles interfere with methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* adhesion and biofilm formation in a rat central venous catheter model[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(1) : e02020 – e02016.

[27] GHAPANVARI P, TAHERI M, JALILIAN F A, et al. The effect of nisin on the biofilm production, antimicrobial susceptibility and biofilm formation of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Eur J Med Res*, 2022, 27(1) : 173.

[28] ABDELHADY W, BAYER A S, SEIDL K, et al. Reduced vancomycin susceptibility in an in vitro catheter – related biofilm model correlates with poor therapeutic outcomes in experimental endocarditis due to methicillin – resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(3) : 1447 – 1454.

[29] WEN H R, DAN M, YANG Y, et al. Acute toxicity and genotoxicity of silver nanoparticle in rats [J]. *PLoS One*, 2017, 12(9) : e0185554.

[30] LI X H, LEE J H. Antibiofilm agents: a new perspective for antimicrobial strategy [J]. *J Microbiol*, 2017, 55(10) : 753 – 766.

[31] ZAPOTOCZNA M, FORDE E, HOGAN S, et al. Eradication of *Staphylococcus aureus* biofilm infections using synthetic antimicrobial peptides [J]. *J Infect Dis*, 2017, 215(6) : 975 – 983.

[32] MEENU M T, KAUL G, AKHIR A, et al. Developing the natural prenylflavone artocarpin from *Artocarpus hirsutus* as a potential lead targeting pathogenic, multidrug – resistant *Staphylococcus aureus*, persists and biofilms with no detectable resistance[J]. *J Nat Prod*, 2022, 85(10) : 2413 – 2423.

[33] 王昭, 朱泽康, 聂蓉, 等. 黄芩素联合 nisin 对金黄色葡萄球菌生物被膜的体外作用[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(7) : 66 – 72.

[34] 王李俊, 杨琴, 叶敏, 等. 苦参总碱抗表皮葡萄球菌的作用机制研究[J]. *中草药*, 2019, 50(24) : 6032 – 6037.

[35] 易辉, 易玉玲, 祖瑞铃, 等. 亚抑菌浓度隐丹参酮对表皮葡萄球菌生物膜形成的影响[J]. *成都中医药大学学报*, 2017, 40(3) : 45 – 48, 127.

[36] 刘改枝, 李金鑫, 史礼君, 等. 熊果酸的结构修饰与生物活性研究进展[J]. *有机化学*, 2021, 41(8) : 2974 – 2989.

[37] 李洋, 徐硕超, 刘广锋, 等. 熊果酸对金黄色葡萄球菌生物膜形成的影响[J]. *广东药科大学学报*, 2017, 33(2) : 158 – 161.

[38] GU K X, OUYANG P, HONG Y X, et al. Geraniol inhibits biofilm formation of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* and increase the therapeutic effect of vancomycin in vivo[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 960728.

[39] YOU Y O, CHOI N Y, KANG S Y, et al. Antibacterial Activity of *Rhus javanica* against Methicillin – Resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 549207.

[40] 纠敏, 闫鹏, 李晶晶, 等. 冬凌草甲素对金黄色葡萄球菌生物膜的抑制机制[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(5) : 1565 – 1571.

[41] 冯韬, 何玉张, 李志强, 等. 6 味中药提取物对金黄色葡萄球菌生物膜形成的抑制作用[J]. *中国兽医杂志*, 2017, 53(1) : 16 – 19.

[42] 崔新洁, 夏瑾, 尤金彪. 24 味中药对金黄色葡萄球菌生物膜作用的研究[J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(5) : 1079 – 1081.

[43] 霍佳楠, 姜晓文, 许晶, 等. 蒲公英水提物对体外金黄色葡萄球菌生物膜形成的影响[J]. *中兽医医药杂志*, 2015, 34(1) : 12 – 15.

[44] 喻华英, 唐萧. 甘草提取物对奶牛乳房炎中金黄色葡萄球菌生物膜作用的研究[J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(9) : 3374 – 3377.

[45] 朱明, 于倩, 吴晔华, 等. 新疆黑蜂胶对金黄色葡萄球菌生物膜形成的影响[J]. *时珍国医国药*, 2014, 25(9) : 2053 – 2054.

[46] 周芳芳, 边巴央宗, 王蕾. 黄连解毒汤联合抗生素对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌体外抑菌效果研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2021, 7(11) : 1377 – 1382.

[47] 邢亚君. 痰热清注射液对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌

• 1490 •

细胞分裂影响及机制研究[D]. 北京:中国中医科学院, 2019.

[48] 刘月,顾永哲,罗云,等. 银翘散不同煎煮时间指纹图谱及对金黄色葡萄球菌抑菌活性的影响[J]. 中国药学杂志,2021,56(24):1981-1990.

[49] 王海波,李旭峰,缪东初. 中药干预糖尿病足创面细菌生物膜研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育,2022,20(4):201-203.

[50] 袁家威. 多种中药有效成分对假体周围感染临床分离金黄色葡萄球菌抑菌作用的研究[D]. 广州:广州中医药大学,2021.

[51] 石婷. 黄芩苷对 MRSA 感染导致脓毒症的保护作用及其机制研究[D]. 上海:上海中医药大学,2019.

[52] 许甘霏,王晶晶,吴大强,等. 鱼腥草素钠及其与红霉素联用对产膜表皮葡萄球菌 luxS, agr/ RNA Ⅲ 影响的研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(11):2131-2138.

[53] RAMON - PEREZ M L, DIAZ - CEDILLO F, CONTRERAS - RODRIGUEZ A, et al. Different sensitivity levels to norspermidine on biofilm formation in clinical and commensal *Staphylococcus epidermidis* strains [J]. *Microb Pathog*, 2015,79:8-16.

[54] 李云超,魏思敏,田启明,等. 五倍子提取物有效成分含量分析与体外抑菌活性比较[J]. 中国兽药杂志,2021,55(12):38-44.

[55] 穆海霞,陈俊清. 五倍子与阿奇霉素协同对金黄色葡萄球菌生物被膜的体外抗菌作用[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(1):93-94.

[56] 李奕铮,潘玲,廖蕴华. 黄连水煎剂对金黄色葡萄球菌生物膜的作用及与苯唑西林钠联合作用的研究[J]. 广州医药,2018,49(1):13-17.

[57] 李永慧,张志强,吴同磊,等. 中药诃子抑制金黄色葡萄球菌生物被膜形成机制研究[J]. 中华医院感染学杂志,2019,29(5):646-649.

[58] ZUO G Y, YANG C X, RUAN Z J, et al. Potent anti - MRSA activity and synergism with aminoglycosides by flavonoid derivatives from the root barks of *Morus alba*, a traditional Chinese medicine [J]. *Med Chem Res*, 2019, 28(9):1547-1556.

[59] 鲁茹,陆桂玉,林浙哲,等. 增强耐甲氧西林金黄色葡萄球菌抗生素敏感性的中药筛选[J]. 世界科学技术:中医药现代化,2018,20(12):2217-2223.

[60] 杨露,谢晓芳,胡荣. 麻黄附子细辛汤联合抗生素的体外抗耐甲氧西林金葡菌作用研究[J]. 成都中医药大学学报,2015,38(1):25-28,52.

[61] 曾春晖,杨柯,徐明光,等. 广西藤茶总黄酮与 β - 内酰胺类抗菌药物合用的体外抗菌活性研究[J]. 医药导报,2013,32(3):292-297.

[62] 张新娟,左国营,王涛,等. 木犀草素与抗菌药体外联用抗耐甲氧西林金葡菌的作用研究[J]. 药学进展,2012,36(4):173-179.

[63] 黄之锴,刘仲梅,杨梦兰,等. 24 种《滇南本草》收录中药的体外抗 MRSA 活性研究[J]. 时珍国医国药,2018,29(11):2561-2563.

[64] 陈晓坚,邱雄泉,陆丹倩,等. 复方四黄外洗液对 MRSA 的抑菌作用及其机制研究[J]. 时珍国医国药,2017,28(5):1106-1107.

[65] 鲁婧,任铭,高龙妹,等. 黄芩射干汤对 MRSA 抑菌作用及初步作用机制研究[J]. 实用中医内科杂志,2023,37(11):68-70,159.

[66] 梁晓谊,朱海英,刘笑梅,等. 两组中药方剂对糖尿病足产 ESBLs 大肠埃希菌和 MRSA 体外药物敏感性试验结果分析[J]. 检验医学,2015,30(3):261-264.

[67] XIANG Y Z, WU G, YANG L Y, et al. Antibacterial effect of bacteriocin XJS01 and its application as antibiofilm agents to treat multidrug - resistant *Staphylococcus aureus* infection [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 196:13-22.

[68] VIJAY K, KIRAN G S, DIVYA S, et al. Fatty acid methyl esters from the coral - associated bacterium *Pseudomonas aeruginosa* inhibit virulence and biofilm phenotypes in multidrug resistant *Staphylococcus aureus*; an in vitro approach [J]. *Front Microbiol*, 2021, 12:631853.

[69] AKHTAR F, KHAN A U. Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) against vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) biofilm disruption; a putative role of phagocytosis in infection control [J]. *Photodiagn Photodyn Ther*, 2021, 36:102552.

[70] 冯玉琦,李源睿,沈立新. 中药抗细菌感染相关研究进展[J]. 中华中医药杂志,2022,8(1):309-312.

[71] 于进洋,韩旭,谭红略. 中医药抑制葡萄球菌生物膜形成及机制研究进展[J]. 中医学报,2021,36(1):94-98.

[72] 吴波,卢登华,杨芳,等. 参卿止痒洗液体外抑菌作用研究[J]. 中医学报,2017,32(5):815-817.

[73] 靳汝辉,王小平,尹萌辰. 中药及单体对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的体外抑菌试验研究进展[J]. 中医学报,2012,27(10):1303-1305.

[74] 郑有坤,唐明秀,刘淑云,等. 小分子功能化的金纳米粒子对革兰氏阴性多药耐药细菌的抗菌特性[J]. 微生物学报,2021,61(2):406-416.

收稿日期:2024-01-22

作者简介:王瑜豪(1996-),男,河南洛阳人,硕士研究生,研究方向:中西医结合防治膝关节相关疾病。

通信作者:谭红略(1971-),河南洛阳人,医学博士,教授,主任医师,研究方向:中西医结合防治膝关节相关疾病。
E-mail:hnlc.love@163.com

编辑:吴楠