

· 实验研究 ·

DOI: 10.13463/j.cnki.cczxy.2026.08.014

宣白承气汤对抑制耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的辅助作用与机制研究

曹自利¹, 金梦丽², 研 智², 周丽雅^{2*}

(1. 长沙市中医医院/长沙市第八医院, 长沙 410100; 2. 长春中医药大学基础医学院, 长春 130117)

摘要: **目的** 探讨宣白承气(XBCQT)对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)生物膜形成的影响,并评价其与万古霉素联用的协同抗菌作用。**方法** 采用最小抑菌浓度(MIC)、纸片扩散法和时间-生长曲线实验评价XBCQT对MRSA USA300的抗菌活性;采用结晶紫染色、苯酚-硫酸法及半固体琼脂平板法检测XBCQT对细菌生物膜形成的影响及作用机制;利用棋盘微量稀释法分析XBCQT与万古霉素的体外协同抗菌效应;建立MRSA感染小鼠肺炎模型,通过肺组织细菌负荷与病理损伤评估二者联用的体内抗感染效果。**结果** 抑菌实验结果显示,XBCQT对MRSA USA300菌株的亚抑菌浓度范围为0~10 mg·mL⁻¹。结晶紫染色结果显示,XBCQT可剂量依赖性地显著抑制MRSA生物膜的形成($P<0.05$)。机制研究表明,XBCQT可减少胞外多糖合成($P<0.05$);削弱细菌运动能力($P<0.05$)。XBCQT与万古霉素联用在体外具有较好的协同抗菌作用。体内实验结果显示,XBCQT联合万古霉素可进一步降低肺组织细菌载量,并减轻肺组织炎性损伤($P<0.001$)。**结论** XBCQT可通过抑制胞外多糖合成及细菌运动能力,有效阻断MRSA生物膜形成,发挥抗毒力作用;同时,其与万古霉素联用可增强对MRSA感染的抗菌效果。

关键词: 宣白承气汤;耐甲氧西林金黄色葡萄球菌;生物膜形成;万古霉素;协同抗菌

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 2095-6258(2026)08-0941-08

Study on the adjuvant effect and mechanism of Xuanbai Chengqi Decoction in inhibiting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

CAO Zili¹, JIN Mengli², YAN Zhi², ZHOU Liya^{2*}

(1. Changsha Hospital of Traditional Chinese Medicine/Changsha Eighth Hospital, Changsha 410100, China; 2. School of Basic Medical Sciences, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of Xuanbai Chengqi Decoction (XBCQT) on the formation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) biofilms and evaluate its synergistic antibacterial effect in combination with vancomycin. **Methods** The antibacterial activity of XBCQT against MRSA USA300 was evaluated using minimum inhibitory concentration (MIC) determination, disk diffusion assay and time-growth curve assays. Crystal violet staining, phenol-sulfuric acid method and semi-solid agar plate assays were employed to examine the impact of XBCQT on bacterial biofilm formation and its underlying mechanisms. The *in vitro* synergistic antibacterial effect of XBCQT and vancomycin was analyzed using the checkerboard microdilution method. A murine pneumonia model of MRSA infection was established, and the *in vivo* anti-infection efficacy of the combination therapy was evaluated by assessing bacterial load and pathological damage in lung tissues. **Results** The antibacterial test results showed that the sub-inhibitory concentration range of XBCQT against the MRSA USA300 strain was 0~

基金项目: 吉林省教育厅科学技术研究项目 (JJKH20250649KJ)

作者简介: 曹自利 (1986—), 女, 硕士, 主要从事中医药防治内科疾病的临床与机制研究

*通信作者: 周丽雅, 女, 教授, 博士研究生导师, 电子邮箱-Zhouliya1963@outlook.com

10 mg/mL. Crystal violet staining results demonstrated that XBCQT significantly inhibited MRSA biofilm formation in a dose-dependent manner ($P<0.05$). Mechanistic studies indicated that XBCQT reduced extracellular polysaccharide synthesis ($P<0.05$) and impaired bacterial motility ($P<0.05$). XBCQT combined with vancomycin exhibited notable synergistic antibacterial effects *in vitro*. Experiment results *in vivo* showed that XBCQT combined with vancomycin further reduced bacterial load in lung tissues and alleviated inflammatory damage ($P<0.001$). **Conclusion** XBCQT can effectively inhibit MRSA biofilm formation by suppressing extracellular polysaccharide synthesis and bacterial motility, thereby exerting an anti-virulence effect, and its combination with vancomycin enhances antibacterial efficacy against MRSA infection.

Keywords: Xuanbai Chengqi Decoction; methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; biofilm formation; vancomycin; synergistic antibacterial effect

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) 是临床常见的重要条件致病菌, 其感染迁延难愈的重要原因之一在于其具有较强的生物膜形成能力^[1]。生物膜由细菌分泌的胞外基质构成, 可为细菌提供物理屏障, 显著增强其对抗生素及宿主免疫系统的耐受性, 从而导致感染慢性化和反复发作。其中, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 因耐药谱广、生物膜形成能力强, 已成为临床治疗中的重要难题^[2]。

目前, 针对MRSA感染的治疗仍主要依赖万古霉素等传统抗生素。但由于生物膜的存在, 抗生素难以充分渗透至膜内, 治疗效果受限, 并易诱导细菌耐药性进一步加重。近年来, 通过干预细菌黏附、生物膜形成、毒力因子分泌及群体运动等致病关键环节, 削弱细菌致病能力, 从而提高其对现有抗生素的敏感性并降低耐药突变压力的抗毒力策略逐渐受到关注^[3-4]。目前, 中医药因其多靶点、低耐药选择压力的特点, 在抗毒力策略中展现出独特优势, 已有多种中药单体及复方被证实可通过抑制生物膜形成、群体感应及毒力因子分泌等途径削弱细菌致病力^[5]。

宣白承气汤 (Xuanbai Chengqi Decoction, XBCQT) 出自《温病条辨》, 由生石膏、生大黄、苦杏仁及瓜蒌皮组成, 具有清肺泄热、通腑降逆之功, 在临床上常用于治疗重症肺炎等呼吸系统感染性疾病^[6]。现代研究证实其具有抗炎、免疫调节、抗菌等多重药理活性^[7-9]。其组方药材中的活性成分, 如大黄酸^[10-11]、苦杏仁苷^[12]等也被报道具有抑制细菌毒力的潜力。然而, 目前关于XBCQT对MRSA抑制作用及其作用机制尚未明确。基于此, 本研究从抗毒力策略出发, 旨在探究XBCQT对

MRSA的抑制机制, 并进一步验证其与万古霉素联用的协同抗菌效果, 为中药复方作为抗生素辅助治疗策略干预MRSA感染提供实验依据。

1 材料

1.1 菌株

研究所用菌株为MRSA USA300 (菌株编号BAA-1717, 购自美国典型培养物收藏中心ATCC)。本研究的体外菌株实验均在吉林省中医院经批准的生物安全二级 (BSL-2) 实验室内进行, 严格遵循病原微生物实验的场地与操作规范。

1.2 动物

SPF级雌性BALB/c小鼠25只, 7~8周龄, 体重18~22 g, 购买于辽宁长生生物技术股份有限公司[SCXK (辽) 2025-0001]。本研究的动物饲养与无菌手术操作均在军事医学科学院完成。实验前, 小鼠于SPF级环境中适应饲养一周, 环境条件恒定为温度22℃、湿度40%、12 h/12 h明暗循环, 其间自由摄食饮水。本次动物实验经长春中医药大学实验动物伦理委员会审批通过 (批准编号: 2022212)。

1.3 药品与配制

XBCQT: 生石膏15 g, 大黄9 g, 苦杏仁6 g, 瓜蒌皮4.5 g。以上中药材均由长春中医药大学中药房提供。按方剂组成比例, 加水煎煮2次, 每次1 h, 合并滤液, 浓缩至含生药100 mg·mL⁻¹, 4℃保存备用。

阳性药物对照组: 万古霉素 (vancomycin, Van) 粉剂, 货号Y25829-250mg, 纯度≥98%, 购自上海源叶生物科技有限公司, 用DMSO配制成20 mg·mL⁻¹, 4℃保存备用。

1.4 试剂与仪器

结晶紫染色液 (货号: C0121-100ml)、细菌死活染色试剂盒 (DMAO/PI, 货号: C2030S) 和苏木

素伊红染色(HE)试剂盒(货号: C0105S)购自上海碧云天生物技术有限公司。胰蛋白胨大豆肉汤(trypticase soy broth, TSB, 货号: HB4114)、胰蛋白胨大豆琼脂(trypticase soy agar, TSA, 货号: HB0177)和CAMHB肉汤(货号: HB6231-1)培养基购自青岛海博生物技术有限公司。苯酚(货号: P1037)和硫酸(货号: 339741)购自美国Merck公司。

酶标仪(型号: Varioskan LUX)购自美国Thermo Fisher Scientific公司, 倒置显微镜(型号: CKX53), 数显气浴恒温振荡器(型号: CHA-S)购自常州市金坛友联仪器研究所, 恒温培养箱(型号: LC-SPX-150B)购自上海力辰仪器科技有限公司。全自动生物荧光扫描成像仪购自厦门埃美特科技有限公司。

2 实验方法

2.1 最小抑菌浓度测定

最小抑菌浓度测定(minimum inhibitory concentration, MIC)参考美国临床实验室标准化委员会标准^[13], 采用微量稀释法测定XBCQT对USA300菌株的MIC。将培养至对数期的USA300菌液($OD_{600}=0.8$)以每孔100 μL 的体积加到96孔板中, 随后在首孔中加入XBCQT药液, 使其终浓度为10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。通过2倍稀释法连续稀释6个浓度梯度至0.312 5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 另设置不含药物及空白培养基分别作为阳性和阴性对照。将加样好的96孔板置于37℃恒温培养箱中培养18 h, 使用酶标仪测定各孔 OD_{600} 值, 以判断细菌生长情况。

2.2 纸片扩散法评估药物敏感性

将培养至对数期的USA300菌株($OD_{600}=0.8$)均匀涂布于TSA琼脂板上, 随后将负载有15 μL 不同浓度XBCQT药液的无菌滤纸片(直径6 mm)贴于平板表面, 设置感染组(WT组)、XBCQT-L组(2.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、XBCQT-M组(5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、XBCQT-H组(10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), 和万古霉素组(Van组), 作为对照, 剂量为2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 随后将平板置于37℃恒温培养箱孵育18 h后, 用直尺测量并记录各纸片周围抑菌圈的直径。

2.3 时间-生长曲线测定

将复壮的USA300菌株按1:100稀释到TSB培养基中, 于37℃振荡培养至 $OD_{600}=0.3$ 。设置WT组、XBCQT-H组(10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、Van组(2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$),

置于37℃、220 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 恒温振荡摇床中培养24 h, 分别于0、1、2、3、4、5、6、7、8、10、24 h取样测定 OD_{600} , 绘制生长曲线。

2.4 结晶紫染色法观察生物膜形成能力

将复壮的USA300菌株以1:100比例传入配置好的TSB培养基, 于37℃振荡培养至 $OD_{600}=0.3$ 。设置WT组、XBCQT-L组(2.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、XBCQT-M组(5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、XBCQT-H组(10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)和Van组(2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), 37℃静置培养24 h。弃去上清, 以PBS轻柔洗涤2次以去除浮游菌体。随后加入结晶紫染色液, 室温孵育20 min。弃去染液, 以无菌水冲洗2次, 室温干燥, 于倒置光学显微镜下观察生物膜形态。随后每孔加入200 μL 无水乙醇溶解结合于生物膜上的结晶紫, 于酶标仪595 nm波长处测定吸光度值。

2.5 苯酚-硫酸法测定生物膜胞外多糖含量

将复壮的USA300菌株以1:100比例传入配置好的TSB培养基, 于37℃振荡培养至 $OD_{600}=0.3$ 。设置WT组、XBCQT-L组(2.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、XBCQT-M组(5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、XBCQT-H组(10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)和Van组(2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), 在6孔板中, 每孔加入500 μL 上述菌液, 37℃静置培养24 h。孵育结束后去除浮游菌体。随后加入5%苯酚(0.5 mL)和浓 H_2SO_4 (2.5 mL), 避光孵育1 h, 于酶标仪490 nm波长处测定吸光度值。

2.6 半固体琼脂迁移法评估USA300运动能力

将复壮的USA300菌株按1:100稀释到TSB培养基中, 设置WT组、XBCQT-L组(2.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、XBCQT-M组(5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、XBCQT-H组(10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)和Van组(2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), 上述含药菌液于37℃振荡培养24 h。每组取10 μL 菌液点种于0.5% TSA琼脂平板上, 37℃静置培养24 h后, 测量其从接种点开始的迁移距离。

2.7 棋盘微量稀释法测定XBCQT与万古霉素联合用药抗菌效果

参考文献[14], 将XBCQT与万古霉素分别用TSB培养基进行2倍比稀释, 各自浓度范围分别为0.625~10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和0.062 5~2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。采用棋盘法布局加样: 在96孔板中, 横向每孔加入50 μL XBCQT, 纵向每孔加入50 μL 万古霉素。随后每孔加入100 μL 菌液($OD_{600}=0.8$)。将96孔板置于37℃恒温培养箱中培养18 h, 使用酶标仪测定各孔 OD_{600}

值。按照协同作用参数 (Fractional Inhibitory Concentration Index, FICI) 的计算公式:

当 $FICI \leq 0.5$ 时为协同作用, $0.5 < FICI \leq 1$ 时为相加作用, $1 < FICI \leq 2$ 时为无关作用, $FICI \geq 2$ 时为拮抗作用^[15]。

2.8 肺炎模型实验

2.8.1 菌液制备 将复壮的 USA300 菌株 5000 rpm 离心 5 min 收集菌体, 用 PBS 重悬并调节 OD_{600} 至 1.0, 备用。

2.8.2 小鼠肺炎模型建立 参考文献^[16], 以少量乙醚对小鼠进行轻度麻醉, 随后经鼻滴入 30 μ L USA300 菌液 (1×10^9 CFU)。滴鼻期间使小鼠保持直立, 待菌液自然吸入后, 继续维持该姿势 30 s, 随后将小鼠放平, 使其自然苏醒。

2.8.3 动物分组及给药方案 将 25 只小鼠随机分为对照组 (Control 组)、感染组 (WT 组)、万古霉素治疗组 (Van 组)、宣白承气汤治疗组 (XBCQT 组) 及万古霉素和宣白承气汤联合治疗组 (联合治疗组)。各组经滴鼻接种 USA300 菌液, 2 h 后开始给药。正常组与感染组灌胃等体积生理盐水; Van 组与 XBCQT 组分别灌胃万古霉素 ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) 或 XBCQT ($20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$); 联合治疗组同时灌胃 (万古霉素 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ + XBCQT $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)。连续给药 2 d, 每天 2 次。

2.8.4 菌落计数测定小鼠肺组织载菌量 脱颈处死小鼠后, 无菌条件下取肺组织, 加入适量 PBS 进行匀浆。将匀浆液梯度稀释后, 取 100 μ L 均匀涂布于 TSA 琼脂平板, 37°C 倒置培养 24 h。计数平板菌落数, 结果以每克肺组织菌落形成单位 (CFU $\cdot \text{g}^{-1}$) 表示, 并转换为对数值 ($\log_{10}$ CFU $\cdot \text{g}^{-1}$) 进行统计分析。

2.8.5 小鼠肺部组织病理形态检测及肺损伤评分 取小鼠左肺, 以 10% 福尔马林固定、石蜡包埋后, 制备病理切片并行 HE 染色, 于光学显微镜下观察组织病理学变化。各组肺组织损伤程度依据参考文献^[17]中的 Mikawa 法进行评分。评分包含以下四个指标, 每项按 0~4 分计分: 肺泡充血、肺出血、中性粒细胞浸润及间隔增厚。其中, 0 分表示损伤最轻, 1 分表示轻度损伤, 2 分表示中度损伤, 3 分表示重度损伤, 4 分表示最严重损伤。肺损伤总分为上述四项指标得分之和。

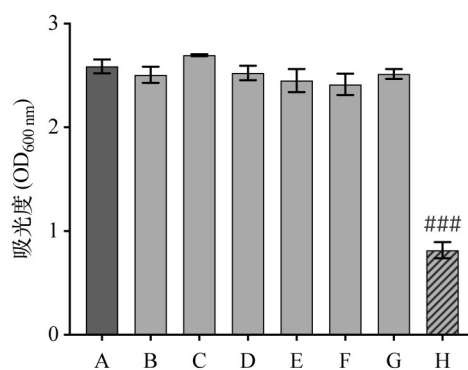
2.9 统计学方法

所有实验数据采用 SPSS 22.0 软件进行统计处理。经正态性检验其正态分布情况, 以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间的样本均数比较应用单因素方差分析 (One-way ANOVA)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。应用 Graph pad Prism 8.0 软件绘制统计图。

3 结果

3.1 XBCQT 的体外抑菌效果

3.1.1 MIC 结果 MIC 结果显示, 在测试浓度范围 ($0 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 内, XBCQT 对 USA300 生长无显著抑制, $MIC > 10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。见图 1。

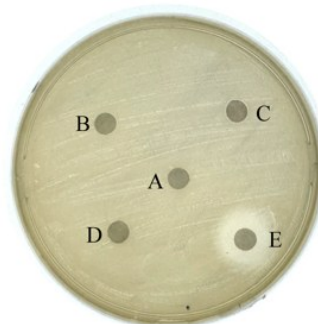


注: A. WT 组; B. XBCQT- $0.3125 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; C. XBCQT- $0.625 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; D. XBCQT- $1.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; E. XBCQT- $2.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; F. XBCQT- $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; G. XBCQT- $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; H. Van 组。与 WT 组比较, ### $P < 0.001$

图1 XBCQT对USA300的最小抑菌浓度测定

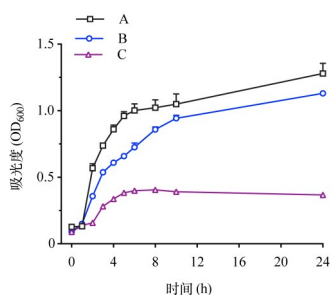
3.1.2 XBCQT 对 USA300 的抑菌效果评估 纸片扩散法结果显示纸片周围均未见明显抑菌圈, 而 Van 阳性对照组显示清晰的抑菌圈。见图 2。

3.1.3 XBCQT 对 USA300 的时间-生长曲线 结果见图 3。



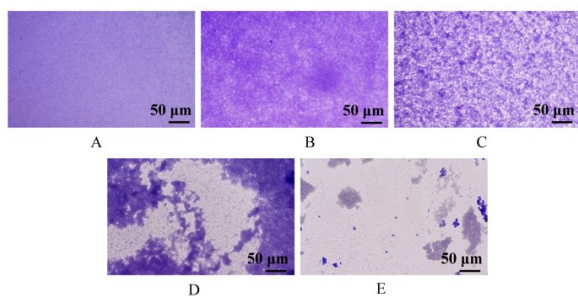
注: A. WT 组; B. XBCQT-L 组; C. XBCQT-M 组; D. XBCQT-H 组; E. Van 组

图2 XBCQT对USA300的抑菌评估



注: A. WT组; B. XBCQT-H组; C. Van组

图3 XBCQT对USA300的时间-生长曲线

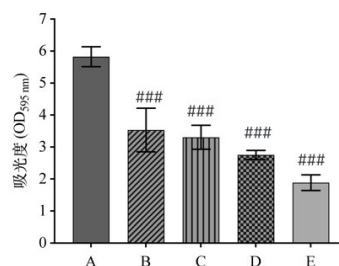


注: A. WT组; B. XBCQT-L组; C. XBCQT-M组; D. XBCQT-H组; E. Van组。与WT组比较, ### $P < 0.001$

图4 XBCQT对USA300生物膜形成能力的影响($\times 200$)

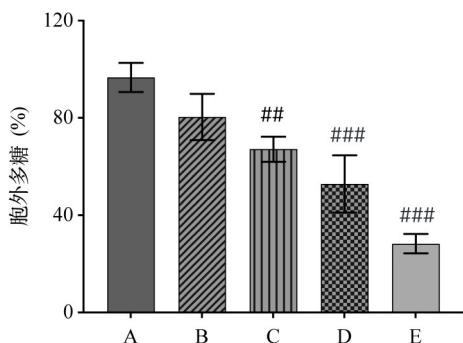
3.2 XBCQT对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌生物膜形成的影响

结晶紫染色法结果显示WT组在材料表面大量黏附、聚集,形成连续、致密且呈典型复层生长的生物膜结构。而经XBCQT处理后,生物膜的形成受到明显抑制,生物膜附着稀疏且结构疏松。XBCQT浓度越高,对生物膜抑制效应越好。 OD_{595} 下测得吸光度值,也表明XBCQT以剂量依赖性的方式抑制生物膜形成。见图4。



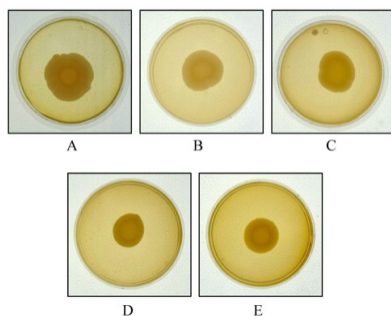
3.3 XBCQT对生物膜胞外多糖合成的影响

结果见图5。



注: A. WT组; B. XBCQT-L组; C. XBCQT-M组; D. XBCQT-H组; E. Van组。与WT组比较, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$

图5 XBCQT对USA300生物膜胞外多糖的影响



3.4 XBCQT对USA300迁移能力的影响

结果见图6。

3.5 XBCQT与万古霉素的体外协同抗菌作用

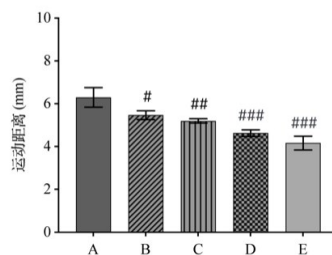
前期实验证实XBCQT对USA300的MIC $> 10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 万古霉素对USA300的MIC为 $2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。经棋盘微量稀释法结果显示XBCQT与万古霉素联用对USA300表现出协同抗菌作用,计算所得FICI值为0.375。根据协同作用判定标准($\text{FICI} \leq 0.5$),结果证实二者联用具有明确的协同效应。见图7。

3.6 小鼠肺部组织载菌量检测

结果见图8。

3.7 小鼠肺部组织病理形态检测及肺损伤评分

HE染色结果显示,WT组小鼠肺组织呈现明显



注: A. WT组; B. XBCQT-L组; C. XBCQT-M组; D. XBCQT-H组; E. Van组。与WT组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$

图6 XBCQT对USA300迁移能力的影响

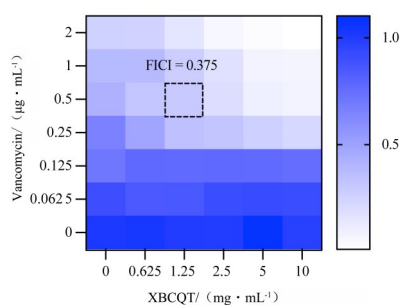
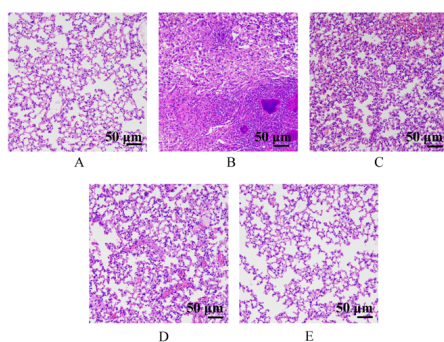


图7 XBCQT联合万古霉素对USA300抗菌作用

的气道周围炎性细胞浸润,肺泡结构严重破坏,肺泡间隔增厚,可见大量中性粒细胞浸润。经XBCQT、万古霉素治疗后,小鼠肺部炎性细胞浸润程度有所减轻,肺泡结构部分恢复,提示肺组织损伤得到一定缓解。



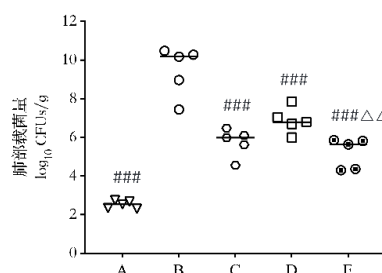
注: A. Control组; B. WT组; C. Van组; D. XBCQT组; E. 联合治疗组。与WT组比较,### $P < 0.001$; 与XBCQT组比较, $\Delta P < 0.05$; 与Van组比较, $\blacktriangle P < 0.01$

图9 各组肺部组织病理形态表现($\times 200$)及肺损伤评分

4 讨论

近年多项研究表明,许多中药复方抗MRSA感染的核心在于“抗毒力”,即通过抑制细菌的致病能力发挥作用,这与降低抗生素选择压力、延缓耐药的理念高度契合。例如,痰热清注射液^[18]在MRSA感染小鼠模型中能显著提高存活率,缓解感染症状。其机制并非直接强力杀菌,而是通过下调关键毒力基因实现,包括孔道毒素基因、黏附相关基因及全局毒力调控系统基因,从而全面削弱细菌的致病力。三臣散^[19]能有效抑制金黄色葡萄球菌的凝固酶、DNA酶等侵袭性酶活性,并干扰群体感应系统的功能。这种对细菌毒力因子表达和分泌的多环节抑制,不仅是其发挥治疗作用的重要基础,也为中药复方基于抗毒力策略防治MRSA感染提供了有力佐证。

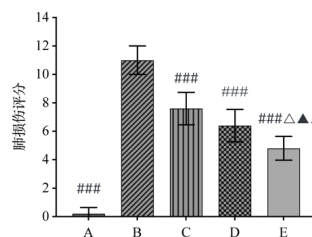
在MRSA的众多毒力因子中,生物膜的形成是其逃避宿主免疫清除、抵抗抗生素并导致感染慢性化的核心机制。当前,由金黄色葡萄球菌生物膜引



注: A. Control组; B. WT组; C. Van组; D. XBCQT组; E. 联合治疗组。与WT组比较,### $P < 0.001$; 与XBCQT组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$

图8 XBCQT联合万古霉素对小鼠肺部组织菌落数影响

联合治疗组小鼠的组织病理学改变较万古霉素单药组仍然要轻微,表明XBCQT与万古霉素联用一定程度上可增强后者的治疗效果。肺损伤评分结果见图9。



发的感染,如糖尿病足溃疡^[20]、感染性心内膜炎^[21]等,因其慢性化与难治性特点,已成为全球公共卫生领域的重大挑战。生物膜通过其独特的物理结构与微环境,可极大程度地庇护内部菌体,使其对抗生素的耐药性显著增加。以中药为代表的天然药物因其多成分、多靶点的作用特点,在“抗生物膜”领域展现出独特潜力。研究表明,银杏叶、绿原酸代谢物、桃金娘烯醇、穿心莲内酯及香芹酚等多种中药来源的活性成分,均被证实可通过不同机制抑制金黄色葡萄球菌生物膜的形成^[22-26]。这为本研究探索经典方剂XBCQT的抗生物膜作用提供了重要依据。

本研究通过抑菌实验证实,XBCQT对MRSA USA300菌株的最小抑菌浓度MIC大于 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,即在不高于 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的浓度下,XBCQT对浮游状态的MRSA生长无直接杀灭或抑制作用。故选择2.5、5、 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 三个浓度用于后续研究。本研究

发现, XBCQT能以剂量依赖的方式, 显著抑制MRSA生物膜的形成。这一抑制效应可能通过干预生物膜形成的关键环节而实现。首先, 胞外多糖作为生物膜细胞外基质的核心组分, 对维持生物膜的三维结构完整性与菌体保护功能至关重要^[27]。本研究表明, XBCQT可剂量依赖性地显著降低生物膜中胞外多糖的含量。这与许多植物来源抗生物膜活性成分的作用机制相似^[28], 提示抑制胞外多糖的合成可能是XBCQT瓦解已形成生物膜结构的关键机制之一。其次, 细菌的群体运动能力(如涌动迁移)对其在接触表面的早期黏附、扩散及复杂生物膜结构的形成具有重要影响^[29]。本研究显示, XBCQT可显著限制MRSA的迁移距离。这种对细菌运动性的抑制, 可能从源头上限制了生物膜在空间上的扩展与定殖范围。

XBCQT方中生石膏辛甘大寒, 擅清肺胃气分邪热; 生大黄苦寒泻下, 功专通腑泄热; 杏仁苦微温, 能宣利肺气、润肠通便; 瓜蒌皮甘寒, 可清肺化痰、宽胸散结。诸药合用, 共奏清泄肺热、通腑降逆、宣肺化痰之效。方中组分大黄具有抗炎和抗病毒性能并被广泛用于治疗炎症^[30]。其整方也被证实可以通过促进阿克曼菌和抑制链球菌, 改善微生物稳态, 恢复Th17/Treg平衡, 从而缓解慢性阻塞性肺病的临床症状^[9]。中药在开发抗MRSA新型药物方面发挥了重要作用, 带来了许多新的思路。相较传统抗生素, 中药的优势在于其多途径作用机制, 如提升宿主免疫、中和细菌毒素致病性, 以及降低耐药产生风险, 从而为临床治疗感染性疾病提供了新的策略。

抗病毒药物与传统抗生素联合应用已成为当前应对多重耐药病原菌的重要策略之一^[31]。抗病毒疗法可与传统抗菌药物协同使用, 在降低各自用药剂量的同时, 也有助于减少病原菌产生耐药性的机会。已有研究表明, 黄芩苷与卡那霉素联用对MRSA USA300表现出显著协同抗菌效果, 其机制包括破坏细菌细胞膜、抑制肽聚糖合成以及减少生物膜形成^[32]。本研究证实, XBCQT与万古霉素联用在体外对MRSA具有优良的协同抗菌效应。更重要的是, 在MRSA诱导的小鼠肺炎模型中, 联合治疗展现出更为优异的协同增效作用。与万古霉素单药组相比, 联合治疗组肺部细菌载量降低(万古霉素组: $5.75 \pm 0.73 \log_{10} \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$; 联合治疗组: $5.20 \pm 0.79 \log_{10} \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$)。同时, 组织病理学评估证实, 联合

治疗显著改善了肺部炎性损伤。这表明XBCQT在体内复杂环境中仍能有效增强万古霉素的抗感染疗效, 提示其作为抗生素辅助治疗药物具有潜在的临床应用价值。

综上所述, 本研究阐明了XBCQT对MRSA抑制作用机制, 通过降低胞外多糖合成, 削弱细菌运动能力, 最终实现对MRSA生物膜合成的抑制作用, 同时可作为万古霉素的辅助治疗手段, 发挥协同抗菌效应, 为将其开发为针对耐药菌感染的“抗生素辅助治疗药物”提供了依据。

参考文献:

- [1] KAUSHIK A, KEST H, SOOD M, et al. Biofilm producing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in humans: Clinical implications and management[J]. *Pathogens*, 2024, 13(1): 76.
- [2] CRAFT K M, NGUYEN J M, BERG L J, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype[J]. *Medicinal Chemistry Communications*, 2019, 10(8): 1231-1241.
- [3] DEHBANIPOUR R, GHALAVAND Z. Anti-virulence therapeutic strategies against bacterial infections: recent advances[J]. *Germes*, 2022, 12(2): 262.
- [4] LI J, JIA T, YANG L. Targeting anti-virulence factor strategies of bacterial pathogens[J]. *Biosafety and Health*, 2025, 7(1): 1-4.
- [5] LIANG Y, ZHANG H, DAI S, et al. Inhibiting *Staphylococcus aureus* Virulence Factors: Advances in Traditional Chinese Medicines and Active Compounds[J]. *Current Microbiology*, 2025, 82(6): 247.
- [6] 黄聪锐, 林婕, 张琳琳, 等. 宣白承气汤调节肺部炎症作用机制的研究进展[J]. *吉林中医药*, 2025, 45(6): 735-739.
- [7] HUO J, WANG T, WEI B, et al. Integrated network pharmacology and intestinal flora analysis to determine the protective effect of Xuanbai - Chengqi decoction on lung and gut injuries in influenza virus-infected mice[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2022, 298: 115649.
- [8] ZHU H, WANG S, SHAN C, et al. Mechanism of protective effect of xuan-bai-cheng-qi decoction on LPS-induced acute lung injury based on an integrated network pharmacology and RNA-sequencing approach[J]. *Respiratory Research*, 2021, 22(1): 188.
- [9] ZHENG L, FU Y, WU J, et al. Modulation of gut microbiota by traditional Chinese medicine: A novel therapeutic approach for chronic inflammatory airway diseases[J]. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2025, 53(7): 2043-

- 2070.
- [10] ZHOU Y X, XIA W, YUE W, et al. Rhein: a review of pharmacological activities [J]. Evidence - based Complementary and Alternative Medicine, 2015, 2015(1): 578107.
- [11] JOUNG D K, JOUNG H, YANG D W, et al. Synergistic effect of rhein in combination with ampicillin or oxacillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2012, 3(4): 608-612.
- [12] USMAN AMIN M, KHURRAM M, KHAN T A, et al. Effects of luteolin and quercetin in combination with some conventional antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(11): 1947.
- [13] SADER H S, FLAMM R K, JONES R N. Antimicrobial activity of daptomycin tested against Gram-positive pathogens collected in Europe, Latin America, and selected countries in the Asia-Pacific Region (2011) [J]. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2013, 75(4): 417-422.
- [14] 诸斌, 李贞, 陈伟琴, 等. 氟康唑协同土槿皮甲酸抗白念珠菌活性研究[J]. 中国抗生素杂志, 2021, 46(12): 1127-1132.
- [15] SONG W, WANG L, ZHAO Y, et al. Hibifolin, a natural sortase A inhibitor, attenuates the pathogenicity of *Staphylococcus aureus* and enhances the antibacterial activity of cefotaxime [J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(4): e00950-22.
- [16] SONG W, WANG L, JIN M, et al. Punicalagin, an inhibitor of sortase A, is a promising therapeutic drug to combat methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2022, 66(6): e0022422.
- [17] MIKAWA K, NISHINA K, TAKAO Y, et al. ONO-1714, a nitric oxide synthase inhibitor, attenuates endotoxin-induced acute lung injury in rabbits [J]. Anesthesia & Analgesia, 2003, 97(6): 1751-1755.
- [18] YANG W, CUI K, TONG Q, et al. Traditional Chinese medicine Tanreqing targets both cell division and virulence in *Staphylococcus aureus* [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022, 12: 884045.
- [19] 范佳佳. 藏药三臣散对细菌性肺炎的抑菌作用及抗炎抗氧化作用机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2022.
- [20] KHAN M S, JAHAN N, KHATOON R, et al. The diabetic foot ulcer: biofilm, antimicrobial resistance, and amputation [J]. International Journal of Diabetes in Developing Countries, 2025, 45(3): 568-579.
- [21] KAUSHIK A, KEST H, SOOD M, et al. Infective endocarditis by biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-Pathogenesis, diagnosis, and management [J]. Antibiotics (Basel), 2024, 13(12): 1132.
- [22] 才红军. 穿心莲内酯对金黄色葡萄球菌调节子 SarA 抑制作用的初步研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2016.
- [23] 樊荣. 绿原酸代谢产物的抗菌作用及其机制研究[D]. 成都: 成都大学, 2023.
- [24] SELVARAJ A, JAYASREE T, VALLIAMMAI A, et al. Myrtenol attenuates MRSA biofilm and virulence by suppressing sarA expression dynamism [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2027.
- [25] SELVARAJ A, VALLIAMMAI A, MUTHURAMALINGAM P, et al. Carvacrol targets SarA and CrtM of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to mitigate biofilm formation and Staphyloxanthin synthesis: An in vitro and in vivo approach [J]. ACS Omega, 2020, 5(48): 31100-31114.
- [26] 曾铭. 绿原酸代谢产物抗耐药菌生物被膜和抑制毒力因子分泌作用及机制研究[D]. 成都: 成都大学, 2021.
- [27] GUPTA P, PRUTHI P A, PRUTHI V. Role of exopolysaccharides in biofilm formation [M]. ACS Publications, 2019: 17-57.
- [28] FARHA A K, YANG Q-Q, KIM G, et al. Inhibition of multidrug-resistant foodborne *Staphylococcus aureus* biofilms by a natural terpenoid (+)-nootkatone and related molecular mechanism [J]. Food Control, 2020, 112: 107154.
- [29] GUTTENPLAN S B, KEARNS D B. Regulation of flagellar motility during biofilm formation [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2013, 37(6): 849-871.
- [30] DAI L X, MIAO X, YANG X R, et al. High value-added application of two renewable sources as healthy food: The nutritional properties, chemical compositions, antioxidant, and antiinflammatory activities of the stalks of rheum officinale Baill. and Rheum tanguticum Maxim. ex regel [J]. Frontiers in Nutrition, 2021, 8: 770264.
- [31] PINTO H B, BRUST F R, MACEDO A J, et al. The antivirulence compound myricetin possesses remarkable synergistic effect with antibacterials upon multidrug resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Microbial Pathogenesis, 2020, 149: 104571.
- [32] MENG X, YU Z, NING C, et al. Synergistic antimicrobial effects of baicalin combined with kanamycin against MRSA: Underlying mechanisms and diminished colonization on lettuce [J]. Pharmaceuticals, 2025, 18(10): 1458.